# ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

# ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

# ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Δ/ντης: Αν. Καθηγητής Ε. ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ


**Διδακτορική Διατριβή**

**«ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗΣ-1 (ET-1) ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ (VEGF) ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΙΜΑΤΩΣΗΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ(DPI) ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.»**

Υπό


## ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ Δ. ΛΙΑΚΟΥ

Γενικής Χειρουργού, 2012


Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2012


Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

# ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ, ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ, ΗΓΗΣΑΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙΝ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΐΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ' ΕΩΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣΙ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΐΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙΝ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΥΣ ΝΟΜΩι ΙΗΤΡΙΚΩι, ΑΛΛΩι ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗι ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ. ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΗι, ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΙΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗι ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΙΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ, ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗι, Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΚΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩι ΠΑΡΑ ΠΑΣΙ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΕΙ ΧΡΟΝΟΝ, ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

© 2012 Λιάκου Παρασκευή

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

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

**Εγκρίθηκε από τα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής (4η/ 9/5/2012):**

***1ος Εξεταστής*: Χατζηθεοφίλου Κων/νος**, Καθηγητής Χειρουργικής
***(Επιβλέπων)*** Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

***2ος Εξεταστής*: Γερμενής Αναστάσιος**, Καθηγητής Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

***3ος Εξεταστής*: Τεπετές Κων/νος**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

***4ος Εξεταστής*: Αθανασίου Ευάγγελος**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

***5ος Εξεταστής*: Τζοβάρας Γεώργιος**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

***6ος Εξεταστής*: Καραχάλιος Θεόφιλος**, Καθηγητής Ορθοπαιδικής
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

***7ος Εξεταστής*: Ρασιδάκης Γεώργιος**, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογοανατομίας
Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

***ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ***

*Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και επιβλέπων μέλος ΔΕΠ της εν λόγω διατριβής κ.* ***Χατζηθεοφίλου Κων/νο*** *για την δυνατότητα που μου έδωσε να πραγματοποιήσω αυτή την εργασία. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά: τον Καθηγητή Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και μέλος της τριμελούς εισηγητικής επιτροπής κ.* ***Γερμενή Αναστάσιο*** *για την υποστήριξη του εργαστηρίου Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και τη διενέργεια των ορολογικών πειραμάτων, τον Καθηγητή Ακτινολογίας και Πρόεδρο της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ.* ***Φεζουλίδη Ιωάννη*** *για την υποστήριξη του εργαστηρίου Ακτινολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, και τον Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ.* ***Κουκούλη Γεώργιο*** *για το υλικό καρκινωμάτων παχέος εντέρου, που μου παρείχε ώστε να γίνει εφικτή η πραγματοποίηση της έρευνας αυτής.*

*Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ.* ***Τεπετέ Κων/νο****, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για την ανεκτίμητη επιστημονική καθοδήγηση και βοήθειά του κατά τη διενέργεια των πειραμάτων. Επίσης, στον Επίκουρο Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ.* ***Ρασιδάκη Γεώργιο****, για τη διεξαγωγή σημαντικού τμήματος των πειραμάτων της παρούσας εργασίας αλλά και τη συνεχή επιστημονική υποστήριξή του.*

*Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό της Πανεπιστημιακής Χειρουργικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας για την παροχή ενός συναδελφικού εργασιακού περιβάλλοντος καθώς και τα μέλη του τεχνικού και επιστημονικού προσωπικού των εργαστηρίων Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, Ακτινολογίας και Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής Πανεπιστημίου Αθηνών, για τη συνδρομή τους στη διενέργεια των πειραμάτων της παρούσας μελέτης.*

*Λιάκου Παρασκευή*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

# ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

<table>
<tr><td colspan="3">Παρασκευή Δ. Λιάκου</td></tr>
<tr><td><u>ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ</u></td><td colspan="2">Ημερομηνία γέννησης: 2/ 09 /1974<br>Τόπος γέννησης: Πρέβεζα<br>Εθνικότητα: Ελληνική<br>Γλώσσες: Αγγλικά<br>Οικογενειακή κατάσταση: Έγγαμος<br>Διεύθυνση: Τσιμπρικίδη 2, Μελίσσια Τ.Κ. 15127<br>Τηλ: 210 6096349<br>6973- 219140<br>E-mail: liakoup@hotmail.com</td></tr>
<tr><td><u>ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ</u></td><td>Τίτλος</td><td>Ημερομηνία</td></tr>
<tr><td>Τμήμα Ιατρικής<br>Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών<br>(Πανελλήνιες εξετάσεις 1993, Αποφοίτηση1999)<br><br>Ειδικότητα στη Γενική χειρουργική</td><td>Πτυχίο Ιατρικής<br><u>Βαθμός Άριστα ( 8.96)</u><br><br>Γενική Χειρουργός</td><td>Ιούλιος 1999<br><br>Οκτώβριος 2007</td></tr>
</table>

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

| | |
|---|---|
| **Αύγουστος 1999** | **Άδεια ασκήσεως επαγγέλματος** (Νομαρχία Αθηνών) |
| **Σεπτ. 1999- Ιαν. 2001** | **Υπηρεσία Υπαίθρου:** Τρίμηνη άσκηση Γενικό Νοσοκομείο Λήμνου<br>Άγονο Περιφερειακό Ιατρείο Ατσικής, Νήσου Λήμνου |
| **Απρ. 2001- Ιουλ 2007** | **Ειδικότητα Γεν. Χειρουργικής** |
| Απρ 2001- Απρ. 2003 | **Β' Χειρουργική Κλινική, 401 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Αθηνών** |
| Ιουν 2003- Ιουλ 2007 | **Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική, Περ. Πανεπ. Γεν. Νοσ. Λάρισας** |
| **Φεβ 2002- Μαιος 2002** | **International Research Scholarship**<br>University of Southern California (USC), Keck Medical School ,<br>Χειρουργική Κλινική,<br>Τμήμα Τραύματος και Εντατικής Θεραπείας |
| **Μάιος 2005** | **Υποψήφια Διδάκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας** |
| Οκτ 2008- Ιουν 2009 | Γεν. Χειρουργός, Ιασώ General, Β' Χειρουργική Κλινική |
| Νοεμ 2009- Νοεμ 2010 | Επικ. Επιμελήτρια, Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών<br>Μονάδα Μαστού, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο» |
| Οκτ 2010-<br>Μάϊος 2010 | Συνεργάτης ΕΛΚΕ, Μονάδα Μαστού, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»<br>Τακτικό Μέλος Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας |

## ΙΑΤΡΙΚΟΙ ΣΥΛΛΟΓΟΙ:

Ιατρικός Σύλλογος Λάρισας, Αθηνών. British General Medical Council, London.

## ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ – ΒΡΑΒΕΙΑ

**I.** Αποφοίτηση με το **μεγαλύτερο βαθμό** για τα 6 έτη φοίτησης (8.96). **Τιμητική ανάγνωση του Όρκου του Ιπποκράτη και Ορκωμοσία των Φοιτητών κατά την Τελετή Αποφοίτησης (Ιούλιος 1999).**

**II.** Βραβείο από τον **Πρόεδρο της Δημοκρατίας και την Ακαδημία Αθηνών** για άριστη επίδοση κατά τη φοίτηση στην Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών
( Φεβρουάριος 2000).

**III.** Βραβείο/ Υποτροφία για άριστη επίδοση από το **Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών για 6 έτη φοίτησης**

**IV.** Βραβείο από την **έδρα της Ανατομίας** για άριστη επίδοση

**V.** Υποτροφία από το **Ίδρυμα Ζωσιμά** για άριστη επίδοση για τα έτη φοίτησης $4^{o}$-$6^{o}$

**VI.** Υποτροφία από το **Ίδρυμα Μαρή- Καμάρα** για αποφοίτηση με βαθμό άριστα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

### ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ (PUBMED & SCI)

1. **Liakou P**, Tepetes K, Germenis A, Leventaki V, Atsaves V, Patsouris E, Roidis N, Hatzitheophilou K, Rassidakis GZ. Expression patterns of endothelin-1 and its receptors in colorectal cancer. *J Surg Oncol. 2011 Dec 27. doi: 10.1002/jso.23017. [Epub ahead of print]*
2. Zagouri F, Gounaris A, **Liakou P,** Chrysikos D, Flessas I, Bletsa G, Giannakopoulou G, Michalopoulos NV, Safioleas P, Zografos GC, Sergentanis TN. Vacuum-assisted breast biopsy: more cores, more hematomas? In Vivo. 2011 Jul-Aug;25(4):703-5.
3. Kalles V, Zografos GC, Provatopoulou X, Kalogera E**, Liakou PD**,Georgiou G**,** Sagkriotis A**,** Nonni A**,** Gounaris A.
   Circulating levels of endothelin-1 (ET-1) and its precursor (Big ET-1) in breast cancer early diagnosis.
   *Tumour Biol. 2012 Mar 14. [Epub ahead of print]*
4. Michalopoulos NV, Tsamis D, Linardoutsos D, Flessas I, Zagouri F, Liakou P, Filippakis GM, Zografos GC. Breast lesions in patients with Mazabraud or McCune-Albright syndrome. *Am Surg. 2011 Jan;77(1):E7-8.*
5. Roidis NT, Poultsides LA, Gougoulias NE, **Liakou PD,** Karachalios TS, Malizos KN. Epidural bleeding after ACL reconstruction under regional anaesthesia: a case report. *Cases J. 2009 May 26;2:6732.*
6. Tzovaras G, **Liakou P,** Fafoulakis F, Baloyiannis I, Zacharoulis D, Hatzitheofilou C. Is there a role for drain use in elective laparoscopic cholecystectomy? A controlled randomized trial. *Am J Surg. 2009 Jun;197(6):759-63.*
7. Tepetes K, **Liakou P,** Balogiannis I, Kouvaraki M, Hatzitheofilou K. Modification of end-loop ileostomy for the treatment of ischemic or radiation enteritis. *World J Gastroenterol. 2008 Aug 14;14(30):4776-8.*
8. Roidis N, Varitimidis S, Poultsides L, **Liakou P,** Karachalios T, Malizos K. A "biologic technique" for the treatment of a disruption of the extensor mechanism after revision total knee arthroplasty: a case report. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2008 Jul;16(7):661-5. Epub 2008 Apr 17.*
9. Roidis NT, Gougoulias NE, **Liakou PD**, Malizos KN. Distal ulnar implant arthroplasty as a definitive treatment of a recurrent giant-cell tumor. *J Hand Surg Am. 2007 Oct;32(8):1262-6.*
10. Vassiou K, Rountas H, **Liakou P,** Arvanitis D, Fezoulidis I, Tepetes K. Embolization of a giant hepatic hemangioma prior to urgent liver resection. Case report and review of the literature. *Cardiovasc Intervent Radiol. 2007 Jul-Aug;30(4):800-2.*
11. Tepetes K, **Liakou P,** Balogiannis I. The use of the Santulli enterostomy. *World J Surg. 2007 Jun;31(6):1343-4.*
12. Tzovaras G, **Liakou P,** Baloyiannis I, Spyridakis M, Mantzos F, Tepetes K, Athanassiou E, Hatzitheofilou C. Laparoscopic appendectomy: differences between male and female patients with suspected acute appendicitis. *World J Surg. 2007 Feb;31(2):409-13.*
13. Tzovaras G, **Liakou P,** Makryiannis E, Paroutoglou G. Acute appendicitis due to appendiceal obstruction from a migrated biliary stent. *Am J Gastroenterol. 2007 Jan;102(1):195-6.*
14.. Tzovaras G, Zacharoulis D, **Liakou P,** Theodoropoulos T, Paroutoglou G, Hatzitheofilou C. Timing of laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis: a prospective non randomized study. *World J Gastroenterol. 2006 Sep 14;12(34):5528-31.*
15. Delikoukos S, Tzovaras G, **Liakou P,** Mantzos F, Hatzitheofilou C. Late-onset deep mesh infection after

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

inguinal hernia repair. *Hernia. 2007 Feb;11(1):15-7. Epub 2006 Aug 29.*

## CITATIONS 93 (Export Date March 2012, Scopus Database, Heal Link ΕΚΠΑ)

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Κ. Νησωτάκης, **Π. Λιάκου**, Ι. Οικονομάκης, Δ. Κεραμιδάρης, Ε. Ταχταράς, Δ. Γιωτίκας, Β. Καραθανάσης. Β'Χ /κη Κλινική 401 ΓΣΝΑ. « Σπάνια περίπτωση λίαν ευμεγέθους λιποσαρκώματος οπισθοπεριτοναϊκού χώρου.» Εξελίξεις στη χειρουργικη 2002, Εκδοτες Παπαευαγγέλου- Καραλιώτας, Εκδόσεις Σύνεδρον, σ. 234-236
2. Κ. Νησωτάκης, **Π. Λιάκου**, Ι. Οικονομάκης, Ι. Κωνσταντιάδου, Σ. Πλάκας, Β. Καραθανάσης. Β'Χ /κη Κλινική 401 ΓΣΝΑ. « Ενδιαφέρουσα περίπτωση Non Hodgkin λεμφώματος μεσεντερίου διαγνωσθέντος τυχαία» .Εξελίξεις στη χειρουργικη 2002, Εκδοτες Παπαευαγγέλου- Καραλιώτας, Εκδόσεις Σύνεδρον, σ. 392-394 Ι.
3. Ι. Οικονομάκης, Π. Παπαγιώργης, Ι. Καραπαναγιώτου, **Π. Λιάκου**, Κ. Νησωτάκης.« Διορθικό Υπερηχογράφημα» Γαστρεντερολογικά Χρονικά , Οκτ.-Δεκ.2002, τόμος 44, σ. 16-22

## ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

25 ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ
20 ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

**ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ** (Εθνικό Κέντρο Άμεσης Βοήθειας, ATLS, DSTC, SLNB)

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΤΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ Α΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ, ΕΚΠΑ** (Διαλέξεις Φοιτητών, Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα)

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ, ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

**«ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗΣ-1 (ET-1) ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ (VEGF) ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΙΜΑΤΩΣΗΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ(DPI) ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.»**

**Λιάκου Παρασκευή**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2012

**<u>Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή</u> (*3η*/ 25-05-2005)**

1. **Κ. Χατζηθεοφίλου**, Καθηγητής Χειρουργικής , Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας **(Επιβλέπων)**
2. **Α. Γερμενής**, Καθηγητής Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. **Κ. Τεπετές**, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί τη δεύτερη σε συχνότητα αιτία θανάτου από κακοήθεια. Το συχνότερα προσβαλλόμενο όργανο από μεταστατική νόσο παχέος εντέρου είναι το ήπαρ. Από τους ασθενείς που διαγιγνώσκονται με καρκίνο του παχέος εντέρου, 15- 25% έχουν ήδη μεταστατική νόσο στο ήπαρ, ενώ περίπου οι μισοί από αυτούς που υποβάλλονται σε θεραπευτική εκτομή του όγκου, αναπτύσσουν σε χρονικό διάστημα 2 ετών ηπατικές μεταστάσεις. Οι συμβατικές τεχνικές απεικόνισης του ήπατος (US, CT) περιορίζονται από ένα όριο διακριτικής ικανότητας μεταξύ φυσιολογικού και καρκινικού ιστού. Είναι γνωστό ότι η παρουσία ακόμη και μικρών μεταστάσεων στο ήπαρ σχετίζεται με αλλαγές στην άρδευσή του. Μέθοδος μέτρησης των αλλαγών αυτών είναι ο υπολογισμός της ροής στην ηπατική αρτηρία και την πυλαία φλέβα με color Doppler και η διαμόρφωση του λεγόμενου Δείκτη Αγγείωσης Ήπατος DPI (παροχή ηπατικής αρτηρίας προς συνολική παροχή ηπατικής και πυλαίας φλέβας μαζί). Αυξημένες τιμές DPI (>0,3) έχουν σχετισθεί με ύπαρξη μικρομεταστάσεων στο ήπαρ και χειρότερη πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου, παραμένουν ωστόσο αντικείμενο έρευνας.

Παράλληλα, η Ενδοθηλίνη-1 (ET-1), ένα ισχυρό αγγειοσυσπαστικό πεπτίδιο (100 φορές ισχυρότερο από την νορεπινεφρίνη), ασκεί ποικίλες και σημαντικές δράσεις στην **παθογένεια της καρκινογένεσης** πολλών οργάνων μεταξύ των οποίων και το παχύ έντερο. Η δράση αυτή της ET-1 ασκείται μέσω δύο υποδοχέων, των $ET_AR$ και $ET_BR$, η ενεργοποίηση των οποίων θέτει σε λειτουργία ενδοκυττάρια κυκλώματα. Ο εντοπισμός των ερεθισμάτων και η χαρτογράφηση των συνδέσεων αυτών των κυκλωμάτων, με στόχο την αποσαφήνιση του πολύπλοκου τρόπου δράσης τους, αποτελεί αντικείμενο εντατικής έρευνας. Μέρος μάλιστα της ιατρικής έρευνας όσον αφορά στη θεραπεία του καρκίνου, στρέφεται και προς την κατεύθυνση της αναστολής της δράσης της ET-1. Μέχρι σήμερα, πολλά υποσχόμενη προσέγγιση αποτελεί ο ανταγωνισμός των υποδοχέων της ET-1 και ιδιαίτερα του $ET_AR$, με στοχευμένα μόρια. Δύο από αυτά, το ABT-627(atrasentan) και το ZD4054, είναι ειδικοί και ισχυροί $ET_AR$ αναστολείς, και η πιθανή θεραπευτική δράση τους ελέγχεται ήδη σε κλινικές μελέτες. Αντικείμενο έρευνας αποτελεί επίσης η σχέση της ET-1 με τον VEGF, γνωστό παράγοντα καρκινικής αγγειογένεσης με κλινική χρήση στην επικουρική θεραπεία του παχέος εντέρου, με πιθανές θεραπευτικές συνεπαγωγές της σχέσης αυτής.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε σε 39 ασθενείς (20 άνδρες και 19 γυναίκες, μέση ηλικία 71,1, εύρος 43-84 έτη) με καρκίνο παχέος εντέρου χωρίς εικόνα μεταστατικής νόσου, οι οποίοι μετά πλήρη προεγχειρητική σταδιοποίηση υπεβλήθησαν σε θεραπευτική εκτομή του όγκου στην Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας και στο διάστημα 2003-2006. Σε 29 από αυτούς διενεργήθηκε προεγχειρητικά μέτρηση του DPI. Παράλληλα, σε δείγμα του όγκου και των 39 ασθενών έγινε ανοσοϊστοχημική μελέτη της ET-1 και των υποδοχέων της ETAR και ETBR. Επιπλέον, σε διπλά δείγματα νωπού φυσιολογικού/καρκινικού ιστού 10 ασθενών καθώς και σε 4 κυτταρικές καλλιέργειες καρκίνου του παχέος εντέρου (HT-29, HT-116, COLON 205, και SW-48), έγινε ημιποσοτική μέτρηση της ET-1 και των υποδοχέων της με τη μέθοδο Western Blot. Τέλος, στους ίδιους 10 ασθενείς πραγματοποιήθηκε μέτρηση με τη μέθοδο ELISA της ET-1 και του VEGF σε 3 δείγματα ορού: προεγχειρητικά από την περιφερική, διεγχειρητικά από τη μεσεντέριο και μετεγχειρητικά από την περιφερική κυκλοφορία. Μετά μέσο χρόνο μετεγχειρητικής παρακολούθησης 60 μηνών, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων των παραπάνω πειραμάτων και συσχετισμός τους με το στάδιο της νόσου και την συνολική και ελεύθερη νόσου 5-ετή επιβίωση.

Οι μετρηθείσες στην παραπάνω ομάδα ασθενών τιμές DPI, με οριακό σημείο διάκρισης φυσιολογικών-παθολογικών τιμών (cutoff point) το προτεινόμενο από άλλες μελέτες 0,3, δεν σχετίστηκαν με το στάδιο της νόσου κατά Dukes, ούτε με την 5-3ετή συνολική και ελεύθερη νόσου επιβίωση των ασθενών. Αξιοσημείωτο εύρημα ωστόσο, είναι η συσχέτιση του DPI με τη συνολική 5-ετή επιβίωση των ασθενών, όταν ως cutoff point χρησιμοποιηθεί η μέση παρατηρούμενη τιμή, η οποία στην παραπάνω ομάδα ασθενών ήταν 0,2. Η ερμηνεία του ευρήματος αυτού χρήζει ίσως μελέτης σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών.

Ανοσοϊστοχημική έκφραση της ET-1 παρατηρήθηκε σε όλα τα δείγματα των ασθενών, ενώ η έκφραση των υποδοχέων ήταν διαφοροποιημένη, με τον ETAR να εκφράζεται στον καρκινικό ιστό και τον ETBR στο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο. Σημαντικό εύρημα είναι η έντονη έκφραση της ET-1 και του ETAR στα βαθύτερα σημεία διήθησης του όγκου σε σχέση με τα επιφανειακά στρώματα, έκφραση που σχετίζεται σε βαθμό στατιστικά σημαντικό με το στάδιο της νόσου, τόσο κατά Dukes (p=0,031) όσο και κατά Astler-Coller (0,005). Δεν παρατηρήθηκε ωστόσο συσχέτιση της έκφρασης της ET-1 και του ETAR με την 5-ετή συνολική και ελεύθερη νόσου επιβίωση των ασθενών, όπως επίσης δεν καταδείχθηκε και συσχέτιση της έκφρασης αυτής και με τις τιμές του DPI. Παράλληλα, υψηλά επίπεδα ET-1 και ETAR μετρήθηκαν τόσο στα διπλά δείγματα νωπού φυσιολογικού/ καρκινικού ιστού όσο και στις 4 μελετηθείσες κυτταρικές καλλιέργειες καρκίνου του παχέος εντέρου. Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της ET-1 στον ορό των ασθενών μετά την αφαίρεση του όγκου, σε σύγκριση τόσο με τις προεγχειρητικές περιφερικές τιμές (p=0,01) όσο και με τις διεγχειρητικές της μεσεντερίου κυκλοφορίας (p=0,03), ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση των τιμών του VEGF μετά την αφαίρεση της πρωτοπαθούς εστίας.

Συμπερασματικά, στην παραπάνω μελέτη καταδείχθηκε έκφραση της ET-1 και του υποδοχέα της ETAR σε όλα τα μελετηθέντα δείγματα καρκίνου του παχέος εντέρου, σημαντική δε σε πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου. Ενδέχεται δε, η έκφρασή της στην περιφερική κυκλοφορία να αντιπροσωπεύει την αντίστοιχη σε κυτταρικό επίπεδο. Δεν φαίνεται ωστόσο η ET-1 να σχετίζεται με αλλαγές στην αγγείωση του ήπατος, ούτε να παρουσιάζει παράλληλη διακύμανση με τις τιμές του VEGF. Τα ευρήματα είναι ενδεικτικά και χρήζουν περαιτέρω επιβεβαίωσης σε μεγαλύτερες σειρές ασθενών.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

# "EXPRESSION PATTERNS OF ENDOTHELIN-1 AND VEGF IN COMBINATION WITH DPI MEASUREMENTS IN COLORECTAL CANCER PATIENTS"

**Liakou Paraskevi, MD**
School of Medicine, University of Thessaly, Larisa 2012

## SUMMARY

Colorectal cancer is one of the leading causes of cancer mortality worldwide. The liver is the most common site of colorectal metastases. Among patients diagnosed with colorectal cancer, 15-25% present with hepatic disease, while almost half of those subjected to therapeutic surgical treatment develop liver metastases during the first 2 years postoperatively. The most commonly used imaging modalities of the liver ie US, CT and MRI, are limited from an inherent to each technique level of differentiation capability between normal and pathologic tissue. On the other hand, it is known that perfusion changes of the liver are detected in the presence of even very small metastatic lesions. A way of measuring these changes is the calculation with color Doppler of hepatic blood flow (comprised of hepatic artery and portal vein flow) and the estimation of the ratio of arterial flow to the total liver flow, defined as Doppler Perfusion Index. It has been suggested that DPI values >0.3 correlate not only with unequivocal liver disease but also with micrometastatic one and worse colorectal cancer patients prognosis.

Endothelin-1 (ET-1), is a potent vasoconstricting peptide- 100 times more powerful than norepinephrin in a molar basis, and there is increasing evidence of its role in carcinogenesis, colorectal cancer included. ET-1 acts by binding to 2 distinct receptors: ET-A (ETAR) and ET-B (ETBR), which belong to the G protein-coupled receptor subtype (GPCRs). Their activation produces multiple effects, as the coupling with G proteins leads to induction of several intracellular pathways, and is the subject of intense research. Moreover, this increasingly important role of ET-1 axis in cancer progression has led, during the recent years, to an effort of ET-1 inhibition. Worthmentioning is the development of ETR antagonists, such as ETAR inhibitors ABT-627(atrasentan) and ZD4054, that are currently being tested in clinical trials in ovarian, breast and castration resistant metastatic prostate cancer. Under investigation is also the relation between ET-1 and VEGF, a known angiogenic factor, the inhibition of which is used in colorectal and other anticancer treatment.

The present study included 39 patients with a diagnosis of colorectal carcinoma, of whom 20 were female and 19 male, with a mean age of 71.1 years (range, 43-84 years), who were surgically treated in the University Department of Surgery, University of Thessaly, School of Medicine, Greece from February 2003 to September 2006. In 29 patients DPI measurement was conducted preoperatively. Tumor specimens from all 39 patients were processed for immunohistochemical analysis for ET-1 and its receptors ETAR and ETBR. Additionally, from 10 patients a second tumor sample was snap-frozen and stored at -70oC while adjacent normal tissue was included from each case examined. Those samples were processed for Western Blot analysis. From these patients, 3 blood samples were also collected: intraoperatively, from mesenteric circulation adjacent to the tumor site (sample A) and from peripheral circulation before the tumor resection (sample B), and 24h postoperatively from peripheral circulation (sample C). These samples were centrifugated and serum was stored at -70oC. All samples were processed for ET-1 and VEGF enzyme immunoassay ELISA. After a mean time of 60 months follow-up, statistical analysis of the results and the overall and 5-year disease free survival was conducted. Finally, four colon carcinoma cell lines including HT-29, HT-116, COLON 205, and SW-48 were processed for Western Blot analysis.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

The measured DPI values from the aforementioned 29 patients did not correlate nor with Duke's stage neither with overall and 5-year disease free survival, when the suggested from previous reports cut-off point of 0.3 was used. However, worthmentioning finding is the statistically significant correlation of DPI with overall survival when the median observed value of 0.2 was used as a cut-off point. More data on a larger number of patients are needed to evaluate this finding.

ET-1 was immunohistochemically expressed by tumor cells at a variable level in all 39 cases tested, while the adjacent normal mucosa was negative for ET-1 expression. Also, cancerous tissue expressed predominantly ETAR and not ETBR with the latter being detected mostly in normal colonic mucosa. Interestingly, strong ETAR expression was observed in the deeper infiltrating areas at the periphery of neoplastic tissue in 26 of 37 (70.3%) cases of colon carcinoma. Strong ETAR expression in the tumor areas of the deep margins significantly correlated with tumor stage including Dukes (p=0.031, chi-square test) and Asler-Coller (p=0.027, chi-square test).This association is even stronger if combined Astler – Coller A and B1 stages are compared to combined more advanced (B2, C1, C2, D) stages (p=0.005). No statistically significant correlation was found between strong ET-1 or ETAR expression and DPI values. Similarly, in 30 of 39 patients with complete follow up data at 5 years, no significant correlation between ET-1 or ETAR expression and recurrence or overall survival was found.

Western blot analysis performed in paired normal and tumor patient samples showed substantially higher levels of ET-1 and ETAR proteins in tumor tissues as compared to normal tissues. ETBR levels were very low or absent in these tumor samples. Similarly, ET-1 protein as well as ETAR were detected at a high level in all four colon carcinoma cell lines tested while ETBR levels were very low or even undetectable by Western blot analysis in this in vitro system. Also, statistically significant differences were found between the preoperative measurements of ET-1 either in the mesenteric circulation (patient group A) or the peripheral blood (patient group B) and the postoperative peripheral ones (Patient group C) (A vs C, p-value: 0,03 and B vs. C, p-value: 0,01, by Mann-Whitney test). On the contrary, no significant difference was found in VEGF values before and after tumor resection.

In conclusion, expression of ET-1 and ETAR was demonstrated both in the *in vitro* systems and in colorectal cancer tissues studied. This expression was proved more intense in advanced disease, while it is possible that high ET-1 axis expression in cellular level corresponds to elevated circulation levels. In this cohort of patients however, ET-1 does not seem to play a role in liver perfusion changes associated with metastatic disease nor does it seem to share a similar pattern of expression with the angiogenic factor VEGF. These findings are preliminary and more data are needed before firm conclusions can be drawn.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

**Γενικό Μέρος** **14**

1. **Καρκίνος Παχέος Εντέρου- Εισαγωγή** **15**
2. **Επιδημιολογία του καρκίνου του παχέος εντέρου** 15
3. **Παράγοντες κινδύνου** 18
4. **Κληρονομούμενος καρκίνος του παχέος εντέρου** 20
5. **Μοριακή Βιολογία** 23
6. **Ιστολογία** 27
7. **Κλινική Εικόνα** 33
8. **Διάγνωση** 34
9. **Σταδιοποίηση** 36
10. **Θεραπεία** 40
11. **Προσυμπτωματικός έλεγχος** 47

**Ειδικό Μέρος** 51

**Α. Εισαγωγή** 52

1. Σύγχρονη προεγχειρητική σταδιοποίηση: είναι επαρκής; 52
2. Απεικόνιση ηπατικής μεταστατικής νόσου 54
3. Ενδοθηλίνες 59
4. Ενδοθηλίνη-1 και Καρκίνος Παχέος Εντέρου 68
5. VEGF και Καρκίνος Παχέος Εντέρου 71

**Β. Σκοπός** 73

**Γ. Ασθενείς και Μέθοδοι** 75

1. Ομάδα Ασθενών 75
2. Μέτρηση DPI 76
3. Συλλογή Δειγμάτων 76
4. Καρκινικές Κυτταρικές Σειρές 77
5. Μέθοδοι 78
6. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων 85
7. Στατιστική ανάλυση επιβίωσης 86

**Δ. Αποτελέσματα** 87

1. Μέτρηση DPI 87
2. Ανοσοϊστοχημική έκφραση ET-1 και ETAR, ETBR 87
3. Ημιποσοτική μέτρηση ET-1 και ETAR, ETBR 89
4. Μέτρηση ET-1 ορού 89
5. Μέτρηση VEGF ορού 90

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

6. Παρακολούθηση Ασθενών 90
7. Στατιστική ανάλυση 91

**Ε. Συζήτηση** 96

**ΣΤ. Συμπεράσματα** 102

**Βιβλιογραφικές αναφορές** 103

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## 1. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ- ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο όρος καρκίνος του παχέος εντέρου ή ορθοκολικός καρκίνος περιγράφει το σύνολο των κακόηθων νεοπλασμάτων, με εντόπιση στο τυφλό, τη σκωληκοειδή απόφυση, το κόλον (ανιόν, εγκάρσιο, κατιόν, σιγμοειδές) και το ορθό.

Το παχύ έντερο.

Η νόσος φαίνεται να απασχολεί ως κλινική οντότητα χιλιάδες χρόνια πριν, ωστόσο ουσιαστική πρόοδος στην ενδελεχέστερη διερεύνηση και καθολικότερη αντιμετώπισή της σημειώνεται από τον 20$^{ο}$ αιώνα. Το 1861 γίνεται η πρώτη αναφορά σε ασθενή με πιθανή κληρονομούμενη μορφή αυτής, ενώ το 1925 έχουμε τις πρώτες δημοσιεύσεις σχετικά με αυτό, δεδομένα που συνιστούν εφαλτήριο στην έρευνα της μοριακής προέλευσης του ορθοκολικού καρκίνου.[2, 3] Επί σειρά ετών, η χειρουργική αντιμετώπιση αποτελεί την καθιερωμένη θεραπεία εκλογής, για μη μεταστατική νόσο. Το 1957 συντίθεται ο αντιμεταβολίτης, 5-φθοριοουρακίλη (5-FU) και έκτοτε η συστηματική χημειοθεραπεία αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο της θεραπείας της προχωρημένης νόσου.[4, 5] Η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιείται αρχικά ως παρηγορητική θεραπεία για την ανακούφιση από τον πόνο στον καρκίνο του ορθού, ωστόσο από το 1970 οι έρευνες μιλούν για μείωση των τοπικών υποτροπών και βελτίωση της επιβίωσης στη νόσο αυτή, εισάγοντάς την επίσημα στην θεραπευτική της προχωρημένης νόσου στο ορθό.

## 2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Σήμερα, ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί μια από τις κυριότερες κακοήθειες , κυρίως των αναπτυγμένων κοινωνιών. Το 2008 1.200.000 νέες περιπτώσεις σημειώθηκαν παγκοσμίως, ενώ οι θάνατοι υπολογίστηκαν περίπου στις 608.000, συνιστώντας το 8%- 10% του συνόλου των θανάτων από κακοήθεια.[6] Στις Ηνωμένες Πολιτείες αποτελεί τον τρίτο συχνότερο καρκίνο στους άνδρες, μετά τον καρκίνο του πνεύμονα και του προστάτη, ενώ στις γυναίκες έρχεται δεύτερος σε συχνότητα, ακολουθώντας τον καρκίνο του μαστού. Η επίπτωσή του ποικίλει σε παγκόσμιο επίπεδο, με μια 20-πλάσια διακύμανση για τον καρκίνο του κόλου και μια 10-πλάσια για τον καρκίνο του ορθού. Μελετώντας περαιτέρω επιδημιολογικά στοιχεία της νόσου, φαίνεται πως υψηλότερη επίπτωση παρουσιάζεται στη Β.Αμερική, την Αυστραλία, τη Ν.Ζηλανδία, την Α.Ευρώπη και την Ιαπωνία. Στον αντίποδα, η Αφρική, καθώς και οι χώρες της Νότιας και Κεντρικής Ασίας εμφανίζουν τη χαμηλότερη επίπτωση. Βέβαια, από το 1985 και μετά παρατηρείται μια συνεχής μείωση του ρυθμού αύξησης της επίπτωσης της νόσου (incidence rate), κυρίως στις Η.Π.Α., προφανώς λόγω του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

επιτυχούς screening που οδηγεί σε αντιμετώπιση πολύ πιο συχνά πολυπόδων πριν φτάσουν στο επίπεδο της καρκινικής μετάλλαξης και διήθησης. Αξίζει να σημειωθεί ωστόσο, πως η αυξημένη γενικά επίπτωση στις «Δυτικότροπες κοινωνίες» συνδυάζεται με μειωμένη θνητότητα, προφανώς λόγω της διεύρυνσης των προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου και των θεραπευτικών εξελίξεων στο επίπεδο τόσο της χειρουργικής όσο και της συμπληρωματικής παρέμβασης**(Εικ.1)**.[6-9]

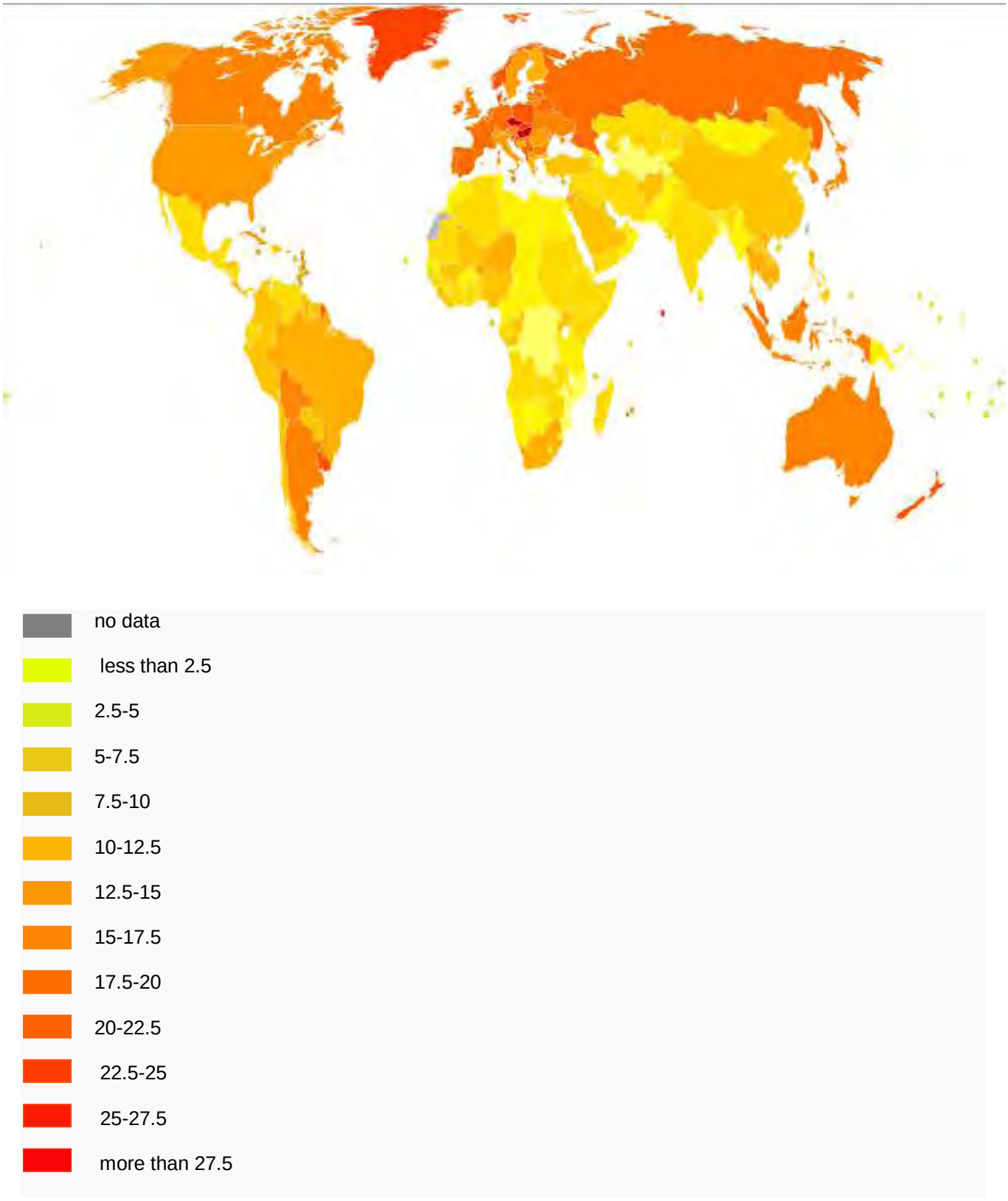
Ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου κατά τη διάρκεια της ζωής (lifetime risk) κυμαίνεται γύρω στο 6%. Η μέση ηλικία εμφάνισης είναι τα 65 έτη, με τον κίνδυνο να αυξάνει ανάλογα με την ηλικία. Χαρακτηριστικά, η επίπτωση στο ηλικιακό φάσμα των 80-84 ετών είναι εφταπλάσια της επίπτωσης στο φάσμα των 50-54 ετών. Εκτός από την περίπτωση του κληρονομικού καρκίνου του παχέος εντέρου, η νόσος εμφανίζεται σπάνια πριν την ηλικία των 40 ετών, ενώ μετά τα 50 έτη αρχίζει ραγδαία αύξηση, με το 90% των καρκίνων παχεός εντέρου να εμφανίζεται σε άτομα άνω των 50 ετών. Γι'αυτούς τους λόγους έχει προταθεί η ηλικία των 50 ετών ως σημείο έναρξης προσυμπτωματικού ελέγχου (screening), στο γενικό πληθυσμό.[6, 10]

Κατά τη διάγνωση, το 39% των ασθενών έχουν τοπική νόσο, το 36% τοποπεριοχική, το 20% μεταστατική ενώ ένα 5% παραμένει χωρίς σταδιοποίηση. Η 5ετής επιβίωση για την τοπική νόσο αγγίζει το 90%, για την τοποπεριοχική το 66% και για τη μεταστατική το 9%, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά για τη 10ετή επιβίωση είναι 85%, 58% και 6,6%.[6]

Περίπου το 75% των καρκίνων του παχέος εντέρου είναι σποραδικοί, ενώ οι υπόλοιποι αφορούν σε άτομα αυξημένου κινδύνου. Τέτοια είναι τα άτομα με Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νόσο του Εντέρου (ΙΦΝΕ), τα πάσχοντα από τα σύνδρομα Οικογενούς Αδενωματώδους Πολυποδίασης (FAP) και Οικογενούς Καρκίνου Παχέος Εντέου (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer- HNPCC-Lynch Syndrome) καθώς και αυτά με ισχυρό οικογενειακό ιστορικό. Οι άνδρες φαίνεται να παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο (58,5-61 ανά 100.000) σε σχέση με τις γυναίκες (44,2-45 ανά 100.000), ενώ φαίνεται και μια διαφορετική κατανομή ανάλογα με το φύλο με την αναλογία καρκίνος κόλου : καρκίνος ορθού να είναι 2:1 στους άνδρες και 3:1 στις γυανάικες.[6, 10]

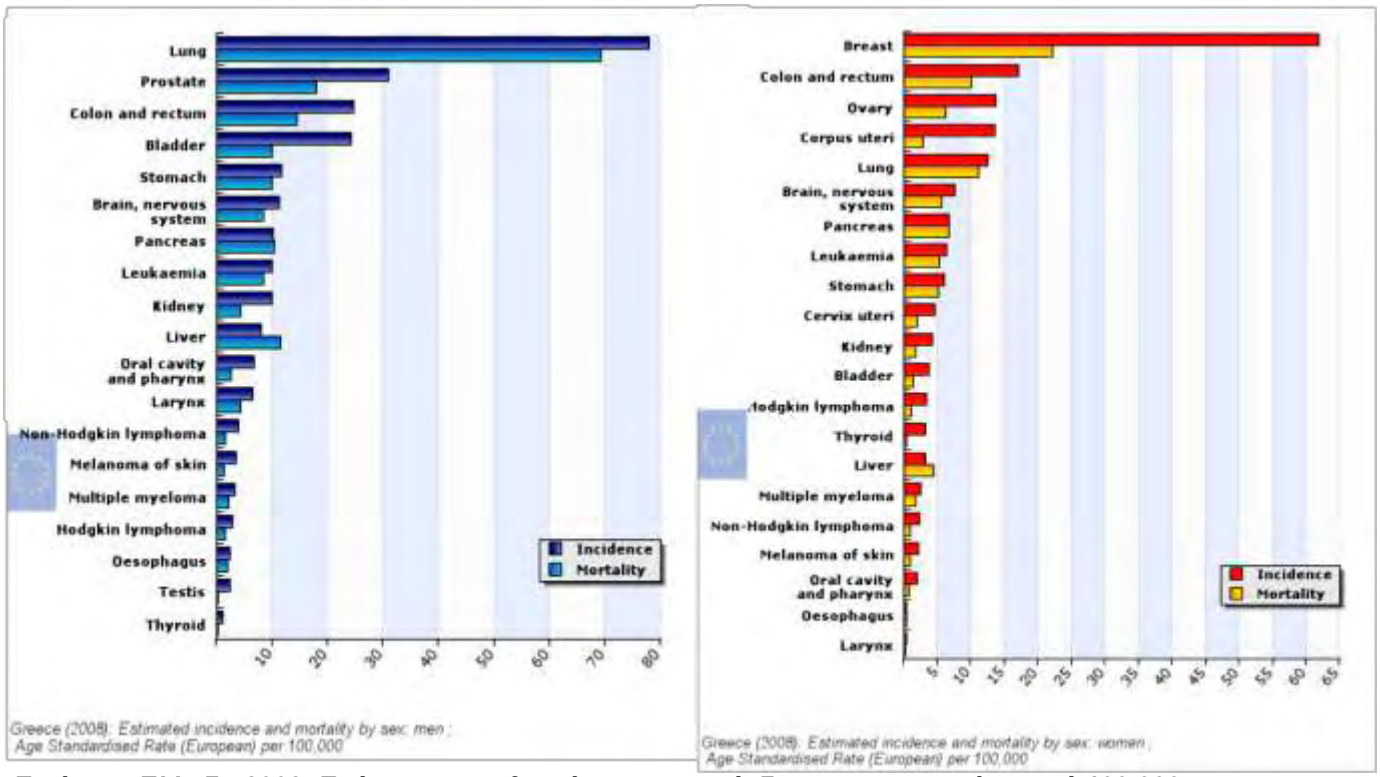
Η συχνότητα εμφάνισης του ορθοκολικού καρκίνου διαφέρει ανάλογα με την εντόπισή του στο παχύ έντερο. Οι όγκοι στο αριστερό κόλον είναι συχνότεροι και συγκεκριμένα οι όγκοι του σιγμοειδούς, της ορθοσιγμοειδικής συμβολής και του ορθού συνιστούν το 70% των περιπτώσεων. Τα τελευταία χρόνια, ωστόσο, οι μελέτες εντοπίζουν αύξηση του ποσοστού των όγκων στο δεξιό κόλο, κυρίως σε μεγαλύτερες ηλικίες.[7, 11-13]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149




**Εικόνα 1. Παγκόσμιος Χάρτης της προσαρμοσμένης στην ηλικία Θνητότητας από Καρκίνο Παχέος Εντέρου ανά χώρα (ανά 100.000 κατοίκους). Στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για το 2004.**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149




**Εικόνα 2**. **Ελλαδα 2008: Επίπτωση και θνητότητα στους άνδρες και τις γυναίκες ανά 100.000**

Στην Ελλάδα η επιδημιολογία της νόσου φαίνεται στην εικόνα 2.[14] Το 2008 καταγράφηκαν 3576 νέες περιπτώσεις ορθοκολικού καρκίνου και 2269 θάνατοι από αυτόν, δηλαδή στη χώρα μας η επίπτωση της νόσου και στα δυο φύλα αγγίζει το 20,5% του συνόλου των κακοηθειών και η θνητότητά της καταλαμβάνει το 12,1% της συνολικής θνητότητας από καρκίνο.[14]

## 3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

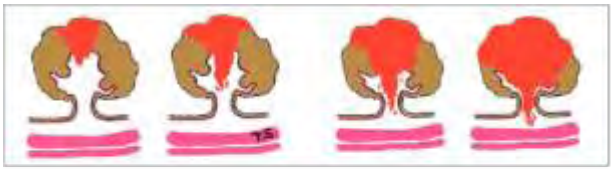
Ο καρκίνος του παχέος εντέρου εμφανίζεται είτε ως σποραδικός είτε στα πλαίσια κληρονομούμενων μορφών.[15] Όσον αφορά στις σποραδικές μορφές, οι παράγοντες κινδύνου ποικίλουν και εμπλέκουν γενετικές, περιβαλλοντικές και άλλες παραμέτρους.[16, 17]

- Καταρχάς, η **ηλικία** αυξάνει την επίπτωση της νόσου εκθετικά. Στο 50$^{ο}$ έτος ο σχετικός κίνδυνος υπολογίζεται 0,39 ανά 1000 άτομα ανά έτος, ενώ στο 80$^{ο}$ ο σχετικός κίνδυνος υπολογίζεται περίπου 11πλάσιος στο 4,5.[18]
- Το **φύλο** αποτελεί επίσης ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου, αφού είναι συχνότερος στους άνδρες απ'ότι στις γυναίκες. Για το Ηνωμένο βασίλειο η πιθανότητα είναι 1:16 για τους άνδρες, έναντι 1:20 για τις γυναίκες.[19-21]
- **Οικογενειακό ιστορικό CRC**: πρώτου βαθμού συγγένεια με άτομα με καρκίνο του παχέος έντερου ή πολύποδες, αυξάνει τον κίνδυνο, ενώ η σοβαρότητα του κινδύνου πολλαπλασιάζεται ανάλογα με τον πολλαπλό αριθμό των συγγενών πρώτου

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

βαθμού, που φέρουν τη νόσο, καθώς και με το πρώιμο της ηλικίας διάγνωσης. [15]

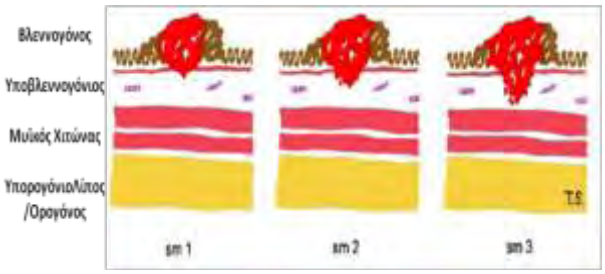
- **Ατομικό ιστορικό CRC** : ορθοκολικός καρκίνος στο ίδιο άτομο, τετραπλασιάζει την πιθανότητα εμφάνισης μετάχρονης νόσου.[18]
- **Πολύποδες παχέος εντέρου**. Πολύποδες ανευρίσκονται στο 33% του γενικού πληθυσμού στην ηλικία των 50 ετών, ποσοστό που φτάνει το 50% στην ηλικία των 70 ετών. Οι περισσότεροι είναι μικρότεροι του 1εκ., είναι μονήρεις σε ποσοστό 60% και πολλαπλοί στο 40% των ασθενών. Συνυπάρχουν με καρκίνο του παχέος εντέρου σε ποσοστό 60%, η δε αφαίρεσή τους κατά την κολονοσκόπηση έχει βρεθεί ότι μειώνει την επίπτωση του CRC.[22] Έχει βρεθεί ότι το 24% των πολυπόδων που δεν αφαιρούνται εξελίσσονται σε διηθητικό καρκίνωμα σε μια περίοδο 20 ετών, εύρημα που επιβάλλει την επιθετική αντιμετώπιση των πολυπόδων του παχέος εντέρου. Δεδομένου δε ότι οι πολύποδες διακρίνονται σε νεοπλασματικούς (αδενώματα) και μη (πολυποειδείς βλάβες χωρίς κακόηθες δυναμικό π.χ. υπερπλαστικοί πολύποδες), διάφορες ταξινομήσεις έχουν αναπτυχθεί για την εκτίμηση της πιθανότητας ύπαρξης κακοήθους εξαλλαγής ή/και διήθησης.




| Ταξινόμηση | Βάθος διήθησης |
|---|---|
| **0** | Βλεννογόνος |
| **1** | Κεφαλή πολύποδα |
| **2** | Αυχένας πολύποδα |
| **3** | Βάση πολύποδα |
| **4** | Υποβεννογόνιος στιβάδα εντερικού τοιχώματος |

**Εικόνα 1. Ταξινόμηση κατά Haggitt ανάπτυξης καρκινώματος σε έδαφος πολυποειδούς αδενώματος.**

Τέτοιες είναι η ταξινόμηση κατά Haggit το 1985 για τα πολυποειδή αδενώματα και κατά Kikuchi το 1995 για του επίπεδους πολύποδες.[23, 24] **Εικ. 1, Εικ.2**




| Ταξινόμηση | Βάθος διήθησης |
|---|---|
| **Sm1** | Βλεννογόνια μυική στιβάδα (*200-300μm*) |
| **Sm2** | Μέση διήθηση |
| **Sm3** | Υποβλεννογόνια στιβάδα |

**Εικόνα 2. Ταξινόμηση κατά Kikuchi της καρκινικής διήθησης επίπεδων πολυπόδων.[25]**

- **Περιβαλλοντικοί παράγοντες** που συνιστούν το «Δυτικό τρόπο ζωής» συσχετίζονται με αυξημένη επίπτωση εμφάνισης της νόσου. Ειδικότερα, διατροφή πλούσια σε κορεσμένα, ζωικά λίπη, κόκκινο κρέας, επεξεργασμένα τρόφιμα, αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ κυρίως μπύρας, μειωμένη σωματική δραστηριότητα και κάπνισμα αυξάνουν τον κίνδυνο.[9, 18, 26-31] Αντίθετα, δίαιτα πλούσια σε φυτικές ίνες, φρούτα και λαχανικά φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης CRC, κυρίως του άπω τμήματος του παχέος εντέρου.[32] Επίσης, μελέτες υποστηρίζουν τον προστατευτικό ρόλο του ασβεστίου και της βιταμίνης D καθώς και του φυλλικού οξέος, μειώνοντας τον κίνδυνο ανάπτυξης CRC, αν και τα αποτελέσματα άλλων δεν είναι τόσο σαφή.[33-38]
- **Φαρμακευτικά σκευάσματα**
  I. Η ασπιρίνη και άλλα Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη έχει βρεθεί ότι ενδέχεται να μειώνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης CRC, μέσω τόσο του μονοπατιού της κυκλοξυγενάσης (Cox dependent pathway) όσο και άλλου ανεξάρτητου (Cox-independent

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

pathway), σε άτομα μέσου κινδύνου και μετά μακροχρόνια χορήγηση (άνω των 5 ετών).[39-41]

II. Θεραπεία Ορμονικής Υποκατάστασης με οιστρογόνα/ προγεστίνη έχει συσχετιστεί με μείωση του κινδύνου ανάπτυξης CRC, λόγω ωστόσο των ανεπιθύμητων ενεργειών της δεν συστήνεται ως προφυλακτικό μέσο εναντίον του καρκίνου του παχέος εντέρου.[42-44]

- Οι **Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου,** δηλαδή ελκώδης κολίτιδα και νόσος του Crohn, αποτελούν προδιαθεσικούς παράγοντες εμφάνισης καρκίνου παχέος εντέρου, συνιστώντας περίπου το 1% του συνόλου του. Η παθογένεια της καρκινογένεσης είναι διαφορετική, δεδομένου ότι ο καρκίνος αναπτύσσεται σε περιοχές δυσπλαστικές και όχι σε έδαφος αδενωματωδών πολυπόδων. Έναρξη των συμτωμάτων των νόσων αυτών σε νεαρή ηλικία, μεγάλη διάρκειά τους (άνω των 8 ετών), εκτεταμένες βλάβες στο παχύ έντερο (πανκολίτιδα), συνοδός σκληρυντική χολαγγειϊτιδα αυξάνουν τον κίνδυνο.[45-48]
- Ο **σακχαρώδης διαβήτης τύπου ΙΙ** και η **παχυσαρκία** με τη συχνά συνεπακόλουθη αντίσταση στην ινσουλίνη, φαίνεται να ενοχοποιούνται για την εμφάνιση ορθοκολικού καρκίνου, με βάση πρόσφατες έρευνες. Τα αυξημένα επίπεδα IGF (insouline-like growth factor) και η μειωμένη έκκριση GLP-1 (glucagon-like peptide-1) που παρατηρούνται σε συνθήκες αντίστασης στην ινσουλίνη, φαίνεται να συμμετέχουν στην ενεργοποίηση ποικίλων ενδοκυττάριων μονοπατιών, που επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του εντερικού επιθηλίου.[49-55] Σαφή σύσταση λοιπόν αποτελεί η αύξηση της σωματικής δραστηριότητας, με στόχο τη μείωση του BMI και τη βελτίωση της ινσουλινοαντοχής.[56, 57]
- **Λοιμογόνοι παράγοντες**: ο streptococcus bovis και είδη του παρασίτου schistosoma φαίνεται να αποτελούν προδιαθεσικούς παράγοντες καρκίνου π.εντέρου.[18, 50, 58]
- **Καταστάσεις σχετιζόμενες με μεταβολικές, ενδοκρινικές και άλλες διαταραχές**, όπως χολολιθίαση, χολοκυστεκτομή, ουρητηροστομία, κολοστομία, καρκίνος μαστού, ακρομεγαλία φαίνεται επίσης να συνιστούν ξεχωριστούς παράγοντες κινδύνου.[18, 27, 59-63]

## 4. ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου (Colorectal Cancer CRC) εμφανίζεται κυρίως ως σποραδικός καρκίνος και μόνο το 25% των ασθενών έχουν θετικό οικογενειακό ιστορικό. Οι αμιγώς κληρονομούμενες μορφές ορθοκολικού καρκίνου, οφειλόμενες δηλαδή σε σημαντικές μεταβιβαζόμενες μεταλλάξεις γονιδίων, αποτελούν μόλις το 5-6% του συνόλου των περιστατικών, ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις, συνέργεια γονιδιακού υποστρώματος και περιβαλλοντικών επιδράσεων είναι ο κύριος μηχανισμός ανάπτυξης του ορθοκολικού καρκίνου. Η αυξημένη επίπτωση του καρκίνου του παχέος εντέρου στα αστικά εκβιομηχανισμένα περιβάλλοντα καταδεικνύει τη σημασία των περιβαλλοντικών παραγόντων ως παραγόντων κινδύνου. Για

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

παράδειγμα, η διατροφή αποτελεί βέβαιο παράγοντα κινδύνου στην ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου.

Η μελέτη της προδιάθεσης ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου σε ομάδες ασθενών, οδήγησε αρχικά στον προσδιορισμό συνδρόμων οφειλόμενων σε μεταλλάξεις συγκεκριμένων γονιδίων. Τα σύνδρομα αυτά μαζί με τα ενοχοποιούμενα γονίδια φαίνονται στον πίνακα 1.[64]

- Το σύνδρομο οικογενούς αδενωματώδους πολυποδίασης (Familial Adenomatous Polyposis -**FAP**), το ασθενές σύνδρομο οικογενούς αδενωματώδους πολυποδίασης (Attenuated FAP- **AFAP**) και το σύνδρομο **Gardner**. Το FAP αποτελεί λιγότερο από το 1% των περιπτώσεων CRC, και εκδηλώνεται με την ανάπτυξη εκατοντάδων έως και χιλιάδων πολυπόδων στο κόλον και το ορθό των πασχόντων μετά την πρώτη δεκαετία της ζωής τους, με αποτέλεσμα τη σχεδόν βέβαιη κακοήθη εξαλλαγή κατά την 4$^{η}$-5$^{η}$ δεκαετία.[65-70] Μπορεί να συνοδεύεται και από εξωεντερικές εκδηλώσεις (οστώματα, οδοντικές ανωμαλίες, δεσμοειδείς όγκους, ηπατοβλαστώματα, όγκους στομάχου/12δακτύλου παγκρέατος, όγκους θυρεοειδούς και κεντρικού νευρικού συστήματος). Παραλλαγές του συνδρόμου είναι το AFAP, με ασθενέστερες εκδηλώσεις όπως μικρότερο αριθμό πολυπόδων, μεταγενέστερη εμφάνιση και μικρότερη πιθανότητα ανάπτυξης CRC (περίπου 69%) και το σύνδρομο Gardner με συχνή εμφάνιση εξωεντερικών όγκων. Και τα τρία σύνδρομα οφείλονται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο APC (*Adenomatous Polyposis Coli)* στο χρωμόσωμα 5q21, το οποίο ασκεί αρνητική ρυθμιστική δράση στο βασικό κυτταρικό μονοπάτι, διατηρημένο κατά την εξέλιξη, Wnt/Wingless (Wg).[71-73]
- Το σύνδρομο MUTYH-Associated Polyposis **(MAP)** μεταβιβάζεται κατά τον αυτόσωμο υπολειπόμενο τρόπο, και οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο MutY homolog (MUTYH), στο χρωμόσωμα 1p, η πρωτεΐνη του οποίου παίζει ρόλο στο σύστημα διόρθωσης βάσεων του DNA. Μοιάζει κλινικά με το FAP, και συνοδεύεται επίσης από υψηλό ποσοστό ανάπτυξης CRC.[74, 75]

| Γονίδια | Σύνδρομο | Τρόπος μεταβίβασης | Πιθανότητα Καρκίνου Παχέος Εντέρου (CRC) |
|---|---|---|---|
| APC | FAP | Αυτόσωμο Επικρατές | 100% |
| APC | AFAP | Αυτόσωμο Επικρατές | 69% |
| MUTYH | MAP | Αυτόσωμο Υπολειπόμενο | 80% |
| MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, TACSTD1 (EpCAM) | LS | Αυτόσωμο Επικρατές | 80% |
| STK11 | PJS | Αυτόσωμο Επικρατές | 39% |
| SMAD4 (DPC4), BMPR1A | JPS | Αυτόσωμο Επικρατές | 39% |
| PTEN | GS | Αυτόσωμο Επικρατές | σπάνιο |

**Πίνακας 1. Γονίδια και σύνδρομα CRC**

- Το σύνδρομο **Lynch,** γνωστό και ως **HNPCC** (hereditary non-polyposis colorectal cancer) είναι το πιο συχνό από τα κληρονομούμενα σύνδρονα, με ποσοστό εμφάνισης 3% στο σύνολο των CRC, οφείλεται δε σε μεταλλάξεις στα γονίδια γαμετικών και σωματικών κυττάρων, που κωδικοποιούν το σύμπλοκο πρωτεϊνών επιδιόρθωσης των αταίριαστων ζευγών των νουκλεοτιδίων του DNA (mismatch repair system).[65] Ειδικότερα, οι συχνότερες μεταλλάξεις (2/3) αφορούν στα γονίδια MSH2 (2p16), MLH1(3p21.3) και λιγότερο συχνά στα MSH6 (2p16), PMS1, PMS2 (7p22).[50, 76-79] Κλινικά χαρακτηρίζεται από πρώιμη έναρξη (κάτω των 45 ετών), συχνότερη εντόπιση στο δεξιό κόλον, επιταχυνόμενη καρκινογένεση (2-3 χρόνια στα πλαίσια

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

του συνδρόμου, έναντι των 8-10 χρόνων στις κλασσικές μορφές), χαμηλής διαφοροποίησης όγκους, σύγχρονη παρουσία πολλαπλών εντοπίσεων στο έντερο, καθώς και συνοδούς κακοήθεις όγκους του ενδομητρίου, των ωοθηκών, του στομάχου, του λεπτού εντέρου, του παγκρέατος, των χοληφόρων, του εγκεφάλου (σύνδρομο Turcot) και του ανωτέρου ουροποιητικού.[65, 66, 80] Παραλλαγή αποτελεί και το σύνδρομο Muir-Torre (MTS) με την εκδήλωση επιπλέον κακοηθειών επιδερμοειδών αδένων.

- Αμαρτωματοειδείς καταστάσεις: σύνδρομο ***Peutz-Jeghers, Juvenile Polyposis Syndrome, Mixed Polyposis Syndrome***, και άλλες. Πρόκειται για ποικιλία συνδρόμων με ανάπτυξη αμαρτωματοειδών πολυπόδων στο γαστρεντερικό σωλήνα και σειρά εξωεντερικών εκδηλώσεων, που συνοδεύονται από διαφόρου βαθμού κίνδυνο ανάπτυξης CRC ενώ βλάβες σε συγκεκριμένα γονίδια έχουν ταυτοποιηθεί. (Πιν.1)[81-83]
- Το σύνδρομο ***Cowden*** με παρόμοια κλινική εικόνα αλλά ελάχιστο κίνδυνο ανάπτυξης CRC, που οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο PTEN και άλλα λιγότερο μελετημένα σύνδρομα, όπως το σύνδρομο υπερπλαστικών πολυπόδων (***Hyperplastic Polyposis Syndrome (HPPS***).[84, 85]

Ο κίνδυνος ύπαρξης ενός κληρονομούμενου συνδρόμου υφίσταται, εφόσον πληρούνται είτε ένα από τα κριτήρια της Μπεθεσντά (Bethesda guidelines) είτε όλα τα κριτήρια του Αμστερνταμ (Amsterdam criteria I,II).[86-90]

**Bethesda guidelines:**

- Ηλικία διάγνωσης του καρκίνου <50 ετών
- Παρουσία σύγχρονου, μετάχρονου καρκίνου στο παχύ έντερο, ή άλλων έξωεντερικών όγκων που σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch, ανεξαρτήτως ηλικίας.
- Διάγνωση ορθοκολικού καρκίνου με αυξημένο δείκτη μικροδορυφορικής αστάθειας σε ασθενή μικρότερο των 60 ετών
- Ορθοκολικός καρκίνος διαγνωσμένος σε έναν ή περισσότερους συγγενείς πρώτου βαθμού, με συνοδό διαγνωσμένο όγκο, που σχετίζεται με το σύνδρομο Lynch και εφόσον κάποια από τις διαγνώσεις τεθεί σε ασθενή κάτω 50 ετών.
- Ορθοκολικός καρκίνος διαγνωσμένος σε δύο ή περισσότερους πρώτου ή δευτέρου βαθμού συγγενείς, με ογκούς σχετιζόμενους με το σύνδρομο Lynch, ανεξαρτήτως ηλικίας.

❖ **Κριτήρια του Άμστερνταμ:**

- Ορθοκολικός καρκίνος ή εξωεντερικής εντόπισης όγκος που σχετίζεται με το σύνδρομο Lynch, πριν το 50$^{ο}$ έτος.
- Τρεις συγγενείς με καρκίνο π.εντέρου, εκ των οποίων ο ένας έχει συγγένεια πρώτου βαθμού με τους άλλους δύο.
- Καρκίνος του π.εντέρου σε άτομα δύο συνεχόμενων γενιών. Εξαιρούνται οι περιπτώσεις οικογενούς αδενωματώδους πολυποδίασης.

Το σύνδρομο ‘Χ’ οικογενούς καρκίνου του παχέος εντέρου αποτελεί μια νέα οντότητα, η οποία πληρεί τα κριτήρια του Άμστερνταμ, χωρίς να υπάρχουν μεταλλάξεις στα αντίστοιχα γονίδια.[65, 67, 91, 92]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## 5. ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Η μελέτη της παθογένειας των παραπάνω κληρονομούμενων συνδρόμων παρείχε παράλληλα γνώσεις πάνω στη μοριακή γενετική της καρκινογένεσης στο παχύ έντερο. Τα μέχρι τώρα δεδομένα λοιπόν μαρτυρούν πως τα ακολουθούμενα μονοπάτια που οδηγούν στην κακοήθεια είναι πολλαπλά. Η διερεύνηση και κατανόησή τους είναι απαραίτητη τόσο στην ερμηνεία της αιτιολογίας του εντερικού καρκίνου, όσο και την εντόπιση ειδικών μοριακών δεικτών, δίνοντας νέα προοπτική στην προσέγγιση της πρόληψης και της θεραπείας του.

Το μοριακό μοντέλο εξέλιξης του ορθοκολικού καρκίνου είναι πολυπαραγοντικό. Όπως περιγράφηκε παραπάνω, οι κληρονομούμενες μορφές CRC αποτελούν το 25% του συνόλου των ορθοκολικών καρκίνων. Ωστόσο, τα προαναφερθέντα γνωστά σύνδρομα είναι εξαιρετικά σπάνια και δεν καλύπτουν όλο το φάσμα των κληρονομούμενων μορφών, υποδηλώνοντας έτσι την ύπαρξη και άλλων γονιδίων με μικρότερη διεισδυτικότητα, στην έκφραση των οποίων παίζουν ρόλο διάφοροι ενδογενείς και εξωγενείς- περιβαλλοντικοί παράγοντες. Η έρευνα αυτών των μορφών αλλά και του σποραδικού CRC γίνεται σε κλασσικό επίπεδο αναζήτησης μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα γονίδια. Για παράδειγμα, από τα πιο καλά μελετημένα γονίδια είναι τα KRAS και TP53, τα οποία δεν προκαλούν αυτά καθεαυτά CRC, αλλά εμπλέκονται στη διαδικασία της καρκινογένεσης σε σειρά καρκίνων και μεταξύ αυτών και του παχέος εντέρου. Το RAS ενδοκυττάριο μονοπάτι εμπλέκεται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση, τη μεταμόρφωση των κυττάρων και τη φλεγμονή, ενώ μετάλλαξη στο κωδώνιο 12 του γονιδίου RAS ανευρίσκεται στο 8,6% των ασθενών με CRC σταδίου C και σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση και επιθετικότερη συμπεριφορά.[93, 94] Το δε γονίδιο TP53 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p53, τη λεγόμενη και «φύλακα του γονιδιώματος», που δρα ως μεταγραφικός παράγοντας σε σειρά γονιδίων εμπλεκόμενων στην απάντηση του κυττάρου στο οξειδωτικό stress, στη βλάβη του DNA, στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, την απόπτωση και σειρά άλλων μονοπατιών. Μετάλλαξη στο TP53 οδηγεί σε απενεργοποίηση της p53 με αποτέλεσμα τη συσσώρευσή της, την έλλειψη ελέγχου στη λειτουργία των παραπάνω ρυθμιζόμενων γονιδίων και την ευόδωση της καρκινογένεσης. Τέτοιες μεταλλάξεις έχουν εντοπισθεί μέχρι και στο 29% των CRCs και έχουν συσχετισθεί με λεμφαγγειακή διήθηση και χειρότερη πρόγνωση σε προχωρημένου σταδίου νόσο.[95, 96] Τελευταία εμπλεόκονται και τα γονίδια της COX-2, των *Glutathione S-Τρανσφερασών* (GSTs), που παίζουν ρόλο στο μεταβολισμό περιβαλλοντικών καρκινογόνων, του *Insulin-like Growth Factor* IGF1 κ.α.[93-95, 97-99]

Εντατική ωστόσο έρευνα διεξάγεται και σε επίπεδο αναζήτησης **πολυμορφισμών** του γονιδιώματος. Η μελέτη των τελευταίων πραγματοποιείται μέσω των λεγόμενων Genomewide Association Studies (GWAS), όπου πάνω από μισό εκατομμύριο πολυμορφισμοί ελέγχονται ταυτόχρονα σε σειρά μελετών και οδηγούν στη δημιουργία συνεχώς εμπλουτιζόμενων «βιβλιοθηκών» από πιθανά σχετιζόμενες με τον CRC γονιδιακές μεταλλάξεις και πολυμορφισμούς. Μερικά παραδείγματα τέτοιων πολυμορφισμών φαίνονται στον πίνακα 1. [64, 71, 100-102]

Εκτός από τις προαναφερθείσες γενετικές αλλαγές, φαινόμενα που όλο και περισσότερο εμπλέκονται στην καρκινογένεση γενικά και του παχέος εντέρου ειδικότερα είναι οι λεγόμενες χρωμοσωμική και μικροδορυφορική αστάθεια, αλλά και επιγενετικές αλλαγές, όπως η υπερ-/υπο-μεθυλίωση του DNA, η ακετυλίωση των ιστονών του DNA και η σίγαση τμημάτων γονιδίων από μικρά RNAs (microRNAs).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

| Γονίδιο ή πολυμορφισμός | Σχόλιο |
|---|---|
| GSTT1 | Αυξημένος κίνδυνος CRC σε καυκάσιους |
| GSTM1 | Αυξημένος κίνδυνος CRC σε καυκάσιους |
| COX2 | Πολυμορφισμός προαγωγέα με αυξημένο κίνδυνο σε Ασιάτες |
| MTHFR | Αλλήλιο 677C>T |
| NATs | Αλληλεπίδραση με κάπνισμα |
| MTR | Αλλήλιο 2756A>G |
| SMAD7 | Παραλλαγές σχετίζονται με CRC |
| APC | Αλλήλιο I1307K σε Ashkenazi Jews |
| IGF1 | Πολυμορφισμός του προαγωγέα σχετίζεται με HNPCC |
| 8q23.3 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 8q24 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 10p14 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 11q23 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 15q13 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 14q22.2 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 16q22.1 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 18q21 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 19q13.1 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| 20p12.3 | Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |

**Πίνακας 1. Μερικά γονίδια και πολυμορφισμοί σχετιζόμενα με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης CRC**

Η χρωμοσωμιακή αστάθεια ***(Chromosomal Instabillity CIN phenotype)*** αφορά σε απώλεια ή αύξηση ολόκληρων χρωμοσωμάτων ή τμημάτων αυτών και στην εμφάνιση ανευπλοειδίας στα καρκινικά κύτταρα και συναντάται στο 85% των καρκίνων παχέος εντέρου.[103, 104] Ποικιλία τέτοιων απωλειών ή αυξήσεων έχουν σχετισθεί με τον CRC, όπως φαίνεται στον πίνακα 2.

Η μικροδορυφορική αστάθεια ***(Microsatellite Instabillity MIN)*** περιγράφει μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτείνες του συστήματος επιδιόρθωσης αναντίστοιχων βάσεων του DNA, που πιθανόν προκύπτουν κατά την αντιγραφή του. Όταν αυτές οι μεταλλάξεις σε έναν όγκο είναι συχνές, τότε αυτός χαρακτηρίζεται ως υψηλής μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI-H microsatelite instability high), όταν δεν υπάρχουν χαρακτηρίζεται μικροδορυφορικά σταθερός (MSS microsatelite stable), ενώ υπάρχει μια ενδιάμεση κατάσταση που δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, χαμηλής μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI-L microsatelite instability low).

| Χρωμοσωμική Απώλεια | Χρωμοσωμική αύξηση | Αναφορές |
|---|---|---|
| 18, 17p, 1p, 4, 14, 5q, 21 | 7, 12, X, 5, 8 | Dutrillaux, 1988 Fearon et al., 1990 |
| 18q21 | 20q13 | Korn et al., 1999 [ |
| 18q | 20q | De Angelis et al., 1999 |
| 18p21-pter, 15q11-q21, 17p12-13, 18q12-21 | 8q23-ter, 13p14-31, 20q13 | Hermsen et al., 2002 |
| 4, 18p, 14q | 17p, 17q, 1q11, 12p, 19 | Diep et al., 2006 |
| 8p, 18q, 1p22, 4q26, 15q21 | 20, 8q, 8q28, 16q24.3, 20q13 | Camps et al., 2006 |
| 18q | 13q | Fensterer et al., 2007 |
| 18, 17p, Y, 1p3, 8p | 13, 20, 7, X, 12, 6 | Muleris et al., 2008 |
| 8p, 18, 18q, 4, 5, 8, 10, 14, 15, 17, 18, | 3, 3q, 5, 5p, 5q, 7, 8q, 20, 20q, 13, X | Knutsen et al., 2010 |
| 21, 22, Y, 18q10 [i(8)(q10)], 17q10 [i(17)(q10)] | 7, 13, 20, X | Mitelman Database online |

**Πίνακας 2. Οι πιο συχνές χρωμοσωμιακές ανωμαλίες στον καρκίνο του παχέος εντέρου.[103, 105-113]**

Ως MSI-H χαρακτηρίζεται το 15% των καρκίνων του παχέος εντέρου, το οποίο μάλιστα φαίνεται να σχετίζεται με κακή πρόγνωση.[65] Αξίζει να σημειωθεί ότι η γονιδιακή και η μικροδορυφορική αστάθεια δεν μπορούν να συνυπάρχουν σε έναν όγκο, που σημαίνει ότι όγκοι με γονιδιακή αστάθεια χαρακτηρίζονται μικροδορυφορικά σταθεροί.[114-116]

Στα πλαίσια των επιγενετικών επιδράσεων, δηλαδή διαφοροποιήσεων όχι στην αλληλουχία των γονιδίων αλλά στον τρόπο έκφρασης αυτών, αλλαγές στο ποσοστό μεθυλίωσης των προαγωγέων ογκοκατασταλτικών γονιδίων φαίνεται να παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου. Η μεθυλίωση του DNA, δηλαδή η προσθήκη μιας ομάδας CH3 σε νουκλεοτίδια κυτοσίνης CpG του DNA, είναι μια διαδικασία που παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της μεταγραφής των γονιδίων. Οι περισσότερες περιοχές του DNA πλούσιες σε CpG μεθυλιώνονται, ορισμένες όμως, κυρίως στους προαγωγείς

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

των γονιδίων, φέρουν «νησίδια» μη μεθυλιούμενων CpG. Αλλαγές στη μεθυλιώση αυτών των CpG «νησιδίων» οδηγεί σε διακοπή της μεταγραφής κυρίως ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Ποικιλία τέτοιων αλλαγών έχουν περιγραφεί, διαμορφώνοντας μια τρίτη κατηγοριοποίηση του καρκίνου του παχέος εντέρου, τη λεγόμενη ***CIMP (CpG Island Methylator phenotype).***[64] Εξάλλου, με αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA έχουν συσχετισθεί πολυμορφισμοί γονιδίων που παίζουν ρόλο στο μεταβολισμό του φυλλικού οξέος (σημαντικού στη σύνθεση του DNA και στην παροχή της ομάδας του μεθυλίου στο ενδοκυττάριο περιβάλλον), συνθήκες φλεγμονής αλλά και περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως έλλειψη φυλλικού, κατάχρηση αλκοόλ, κάπνισμα, παχυσαρκία, χρήση ΜΣΑΦ κ.α. Άλλες τέλος μορφές επιγενετικών αλλαγών μελετώνται, όπως αυτές που αφορούν στη ρύθμιση της δράσης των ιστονών, περιβαλλόντων μορίων του DNA η ακετυλίωση των οποίων σχετίζεται με ενεργοποίηση μεταγραφικά περιοχών και η οποία υπόκειται σε διαφοροποιήσεις αλλά και η δράση των μικρών RNAs, που οδηγούν σε σίγαση άλλοτε άλλες περιοχές του γονιδιώματος. Στον πίνακα 3 συνοψίζονται οι μέχρι τώρα σχετιζόμενες με τον καρκίνο του παχέος εντέρου γονιδιακές και επιγενετικές αλλαγές.[64, 117-121]

Τέλος, συνοπτικά φαίνεται ότι τουλάχιστον 4 κυτταρικά μονοπάτια εμπλέκονται στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου:

- ***APC - β catenin - TcF (T-cell Factor)***, διαταραχή του οποίου σε οποιοδήποτε στάδιο οδηγεί σε αλλαγές στις διακυττάριες συνδέσεις και στην πυροδότηση ενός πολλαπλασιαστικού μηνύματος. Στο μονοπάτι αυτό διαπλέκονται αλλαγές σε ογκογονίδια όπως το c-MYC και το K-Ras, ή ογκοκατασταλτικά όπως το p53 καθώς και χρωμοσωμικές ανωμαλίες όπως π.χ. οι DPC4/Smad4 ή πιθανόν η DCC στο χρωμόσωμα 18 ή το γονίδιο Peutz-Jeghers στο χρωμόσωμα 19.
- ***Transforming growth factor (TGF) b receptor II gene (TGFbRII) - BAX και τα MissMatchRerair (MMR) genes (hMLH1/2)*** σε ένα μονοπάτι ελέγχου του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης, το οποίο παρουσιάζει εκτροπή με την εμφάνιση διαταραχών στη χρωμοσωμική ακεραιότητα.
- Πιθανολογούμενο μονοπάτι στην Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νόσο Εντέρου (κυρίως Ελκώδη Κολίτιδα), που αποδίδεται στη δράση μεγάλου όγκου καρκινογόνων σε εντόνως πολλαπλασιαζόμενους κυτταρικούς πληθυσμούς του εντερικού βλεννογόνου, με αποτέλεσμα την εμφάνιση **μικροδορυφορικής αστάθειας** ακόμη και σε φυσιολογικά κύτταρα, που δεν παρουσιάζουν δηλαδή κάποια από τις γνωστές προαναφερθείσες μεταλλάξεις/ επιγενετικές αλλαγές.
- Το μονοπάτι του **οιστρογονικού (ER) υποδοχέα,** φαίνεται να εμπλέκεται με άγνωστο προς το παρόν τρόπο, καθώς παρατηρείται σίγαση του αντίστοιχου γονιδίου (μέσω υπερμεθυλίωσης) σε όλους τους καρκίνους του παχέος εντέρου. Το φαινόμενο αυτό σχετίζεται με τη μεγάλη ηλικία φυσιολογικά αλλά είναι άγνωστο εάν αποτελεί πρωταρχικό στάδιο στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου ή επιφαινόμενο.[122]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

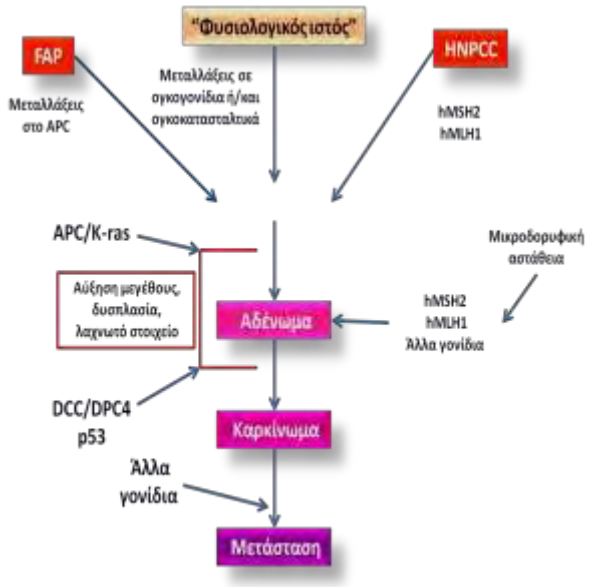
| Γονίδιο | Λειτουργία<br>Επιγενετική αλλαγή |
|---|---|
| APC Adenomatosis polyposis coli | Ογκοκατασταλτικό- ανταγωνίζεται το Wnt μονοπάτι |
| MGMT<br>O-6-methylguanine-DNA methyltransferase | Επιδιόρθωση DNA βλαβών<br>Υπερμεθυλίωση οδηγεί σε σίγαση<br>(μεταλλάξεις G>A στο K-RAS) |
| CDKN2A/P14<br>Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, alternated reading frame | Ογκοκατασταλτικό<br>Υπερμεθυλίωση οδηγεί σε σίγαση και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| HLTF Helicase-like transcription factor | Παράγοντας Ανακατασκευής Χρωματίνης-<br>Η σίγαση του σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο CRC |
| hMLH1, hMLH2<br>MutL homolog 1, 2 | Επισκευή DNA<br>Υπερμεθυλίωση οδηγεί σε σίγαση και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο MIS CRC |
| CDKN2A/P16<br>Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A | Ογκοκατασταλτικό (ρύθμιση κυτταρικού κύκλου)<br>Υπερμεθυλίωση |
| CDH13 H-cadherin | Ρυθμιστής κυτταρικών συνδέσεων-<br>Υπερμεθυλίωση- αυξημένη κινητικότητα καρκινικών κυττάρων |
| UNC5C Unc-5 homolog C | Ογκοκατασταλτικό<br>Σίγαση σχετίζεται στενά με CRC |
| DCC<br>Deleted in colorectal carcinoma | Ογκοκατασταλτικό<br>Εντοπίζεται σε περιοχή του χρωμοσώματος 18, που έχει απολεσθεί στο 70% των CRC |
| COX2<br>Prostaglandineendoperoxide synthase 2 | Εμπλέκεται στη φλεγμονή, την μιτογένεση, τη νεοαγγείωση και τη μετάσταση |
| HACE 1 E3 ubiquitin ligase | Ογκοκατασταλτικό<br>Υπερμεθυλίωση |
| RASSF1A<br>Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 1 | Κατασταλτική πρωτεΐνη των μικροσωληνίσκων<br>Εξωγενής απόπτωση |
| RUNX3 Runt-related transcription factor 3 | Ογκοκατασταλτικό<br>Υπερμεθυλίωση |
| SOCS1 Suppressor of cytokine signaling 1 | Ρυθμιστής κυτοκινών μέσω μονοπατιού JAK/STAT3<br>Υπερμεθυλίωση |
| CHFR Checkpoint with FHA and RING finger | Ογκοκατασταλτικό<br>Υπερμεθυλίωση |
| ADAM23<br>A disintegrin and metalloproteinase domain 23 | Αλληλεπίδραση κυττάρου- εξωκυττάριου στρώματος<br>Υπερμεθυλίωση |
| DLEC1<br>Deleted in lung and oesophageal cancer 1 | Ογκοκατασταλτικό<br>Υπερμεθυλίωση |
| SERF1 Secreted frizzled -related protein 1 | Σίγαση οδηγεί σε ενεργοποίηση του Wnt μονοπατιού |
| MYOD Myogenic factor 3 | Διακοπή κυτταρικού πολλαπλασιασμού |
| P15 Cyclin-dependent kinase inhibitor 2B | Ογκοκατασταλτικό, ρυθμίζεται από τον TGF<br>Υπερμεθυλίωση |
| P73 Tumor protein p73 | Εντοπίζεται στην περιοχή 1p36.3, που χάνεται σε συμπαγείς όγκους. Πιθανόν Ογκοκατασταλτικό<br>Ανώμαλη μεθυλίωση |
| WT1 Wilms tumor 1 | Ογκοκατασταλτικό/ Ογκογόνο |
| Cyclin A1 | Μεταγραφικός παράγοντας<br>Υπερμεθυλίωση |
| MINT | Αναστέλει τη μεταγραφή |
| RAR-b Retinoic acid receptor beta | Ογκοκατασταλτικό,<br>αναστέλει τη δράση του ρετινοϊκού οξέος |
| CDH5<br>Chromodomain helicase DNA-binding protein 5 | Ογκοκατασταλτικό,<br>Ρυθμιστικό αναδόμησης χρωματίνης |
| RGC-32 Response gene to complement | Αναδόμηση χρωματίνης, ακετυλίωση ιστονών DNA |
| miRNA124a | Υπερμεθυλίωση νησιδίων CpG, ρύθμιση ογκογονιδίων |
| miR-34b/c, miR-9-1, miR-129-2 and R-137 | Υπερμεθυλίωση |
| miR-21 | Υπερμεθυλίωση |
| miR-143 | Αναστολή σε CRC,<br>αντίστροφη συσχέτιση με έκφραση K-RAS |
| miR135 | αντίστροφη συσχέτιση με έκφραση APC |
| miR-34a | Δρα ογκοκατασταλτικά, εμπλέκεται στη δράση του p53 |

**Πίνακας 3. Οι πιο συχνές επιγενετικές αλλαγές στον CRC**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Η κλινική εφαρμογή των παραπάνω γνώσεων έγγειται στο ότι κάποιες από τις παραπάνω παραμέτρους φαίνεται να παρέχουν προγνωστικές πληροφορίες σχετικά αφενός με την έκβαση των ασθενών ανεξαρτήτως θεραπευτικών παρεμβάσεων (prognostic markers) αφετέρου με την ανταποκρισή τους ή όχι σε συγκεκριμένους χημειοθεραπευτικούς χειρισμούς (predictive markers).[122, 123] Τέτοιο ρόλο διαφαίνεται να διαδραματίζουν προς το παρόν οι KRAS μεταλλάξεις (συναντώνται στο 40% των καρκινικών όγκων του εντέρου), οι μεταλλάξεις/ απορρυθμίσεις στα διαβιβαστικά μονοπάτια της ενεργοποίησης του EGFR (όπως οι BRAF μεταλλάξεις στο 6-8% αντίστοιχα), η απώλεια ετεροζυγωτίας στο 18q χρωμόσωμα και το MSI-H προφίλ.[65, 123, 124]

Το μοριακό προφίλ και η παθογένεια του CRC, όπως φαίνεται σχηματικά στην εικόνα 1, προκύπτει από ποικίλους συνδυασμούς των παραπάνω μηχανισμών και καθορίζει τελικά χαρακτηριστικά, όπως το φύλο, την εντόπιση, το βαθμό διαφοροποίησης, την ιστολογία του, το μεταστατικό δυναμικό του και άλλα.[64, 114, 125]




**Εικόνα 1. Παθογένεια CRC**

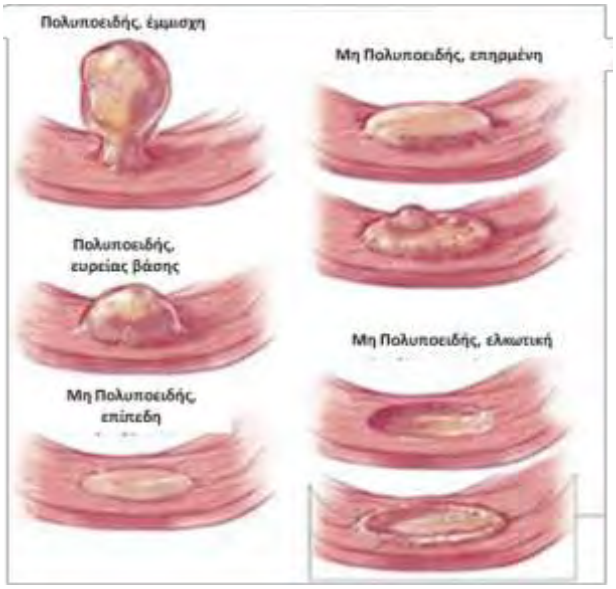
## 6. ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

Το εντερικό τοίχωμα αποτελείται από τέσσερις κύριους χιτώνες, που από τον αυλό προς τα έξω είναι οι εξής: ο βλεννογόνος, ο υποβλεννογόνιος, ο μυικός και ο ορογόνος. Κάθε ένας από αυτούς τους χιτώνες παρουσιάζει ανομοιογένεια στη σύστασή του και τα επί μέρους ανατομικά στοιχεία καθορίζουν το στάδιο της τοπικής νόσου. Πιο συγκεκριμένα, ο βλεννογόνος αποτελείται από το επιθήλιο, το χόριο και τη βλεννογόνιο μυική στιβάδα. Το επιθήλιο είναι μονόστιβο, κυλινδρικό, στηρίζεται σε λεπτό στρώμα εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, τη βασική μεμβράνη και μέσω αυτής συνέχεται με το χόριο με ένα χαλαρό στρώμα συνδετικού ιστού, πλούσιο σε αγγεία, αδένες και κύτταρα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

του ανοσοποιητικού. Η βλεννογόνια μυική στιβάδα συνίσταται από δύο ξεχωριστές στιβάδες: την έσω-κυκλοτερή και την έξω-επιμήκη. Ο υποβλεννογόνιος αποτελείται από συνδετικό ιστό, λιπώδη ιστό- άφθονο σε παχύσαρκα άτομα, αγγεία, νεύρα, το υποβλεννογόνιο πλέγμα του Meissner, λεμφοκύτταρα και λεμφοζίδια. Ο μυικός χιτώνας συντίθεται από μια έσω-κυκλοτερή στιβάδα λείων μυικών ινών, μια έξω-επιμήκη, από την οποία προκύπτουν οι κολικές ταινίες και το μυοεντερικό νευρικό πλέγμα του Auerbach ανάμεσά τους. Τέλος, ο ορογόνος, μια λεπτή στιβάδα κυττάρων συνδετικού ιστού βρίσκεται εξωτερικά και σε διάφορες θέσεις του καλύπτεται από λιπώδη ιστό (περικολικό, περιορθικό λίπος).

Τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά των όγκων του παχέος εντέρου αντικατοπτρίζουν το στάδιο του όγκου τη στιγμή της ανεύρεσής τους. Επομένως, όγκοι που εντοπίζονται στο βλεννογόνο και τον υποβλεννογόνιο μπορεί να έχουν πολυποειδή ή επίπεδη μορφή. Οι πολυποειδείς βλάβες είναι είτε μισχωτές (ή ημιμισχωτές), εκφύονται δηλαδή από τον βλεννογόνο μέσω στελέχους που αποτελείται από βλεννογόνο και υποβλεννογόνιο είτε άμισχες, οπότε εκφύονται άμεσα από τον βλεννογόνο με ευρεία βάση. Οι επίπεδες βλάβες ταξινομούνται σε ελαφρώς επηρμένες, χωρίς να υπερβαίνουν το διπλάσιο του ύψους του βλεννογόνου (<3mm), σε τελείως επίπεδες (στο ίδιο ύψος με τον φυσιολογικό βλεννογόνο) και σε εσκαμμένες.[126] Εικ 1.




**Εικόνα 1. Μακροσκοπική ταξινόμηση των βλαβών του παχέος εντέρου[126]**

Σε πιο προχωρημένη νόσο οι βλάβες κατηγοριοποιούνται σε τέσσερις τύπους: πολυποειδής με ενδοαυλική ανάπτυξη, ελκωτικός με προέχοντα χείλη, που είναι ο συχνότερος, ελκωτικός χωρίς σαφή όρια με ενδοτοιχωματική ανάπτυξη, διηθητικός (πλαστική λινίτιδα) με τοιχωματική ανάπτυξη και δακτυλιοειδής με κυκλοτερή επέκταση. Οι κακοήθεις όγκοι στο δεξιό κόλο τείνουν να εμφανίζονται ως πολυποειδείς, ενώ στο εγκάρσιο και το κατιόν είναι συνήθως ελκωτικοί ή δακτυλιοειδείς.[127, 128]

Ο παγκόσμιος οργανισμός υγείας ιστολογικά ταξινομεί τους όγκους του παχέος εντέρου σε τέσσερις μεγάλες κατηγορίες, τους επιθηλιακούς όγκους, τους μη επιθηλιακούς, τους δευτεροπαθείς και τους πολύποδες. Εικ. 2

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

| Epithelial tumours | | Non-epithelial tumours | |
|---|---|---|---|
| Adenoma | 8140/0 | Lipoma | 8850/0 |
| Tubular | 8211/0 | Leiomyoma | 8890/0 |
| Villous | 8261/0 | Gastrointestinal stromal tumour | 8936/1 |
| Tubulovillous | 8263/0 | Leiomyosarcoma | 8890/3 |
| Serrated | 8213/0 | Angiosarcoma | 9120/3 |
| | | Kaposi sarcoma | 9140/3 |
| Intraepithelial neoplasia[7] (dysplasia) associated with chronic inflammatory diseases | | Malignant melanoma | 8720/3 |
| Low-grade glandular intraepithelial neoplasia | | Others | |
| High-grade glandular intraepithelial neoplasia | | | |
| | | Malignant lymphomas | |
| Carcinoma | | Marginal zone B-cell lymphoma of MALT Type | 9699/3 |
| Adenocarcinoma | 8140/3 | Mantle cell lymphoma | 9673/3 |
| Mucinous adenocarcinoma | 8480/3 | Diffuse large B-cell lymphoma | 9680/3 |
| Signet-ring cell carcinoma | 8490/3 | Burkitt lymphoma | 9687/3 |
| Small cell carcinoma | 8041/3 | Burkitt-like /atypical Burkitt-lymphoma | 9687/3 |
| Squamous cell carcinoma | 8070/3 | Others | |
| Adenosquamous carcinoma | 8560/3 | | |
| Medullary carcinoma | 8510/3 | **Secondary tumours** | |
| Undifferentiated carcinoma | 8020/3 | | |
| | | **Polyps** | |
| Carcinoid (well differentiated endocrine neoplasm) | 8240/3 | Hyperplastic (metaplastic) | |
| EC-cell, serotonin-producing neoplasm | 8241/3 | Peutz-Jeghers | |
| L-cell, glucagon-like peptide and PP/PYY producing tumour | | Juvenile | |
| Others | | | |
| Mixed carcinoid-adenocarcinoma | 8244/3 | | |
| Others | | | |

**Εικόνα 2. Ιστολογική ταξινόμηση του ορθοκολικού καρκίνου σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας**.

Το 95% των κακοηθειών στο παχύ έντερο είναι αδενοκαρκινώματα, όγκοι δηλαδή επιθηλιακής προέλευσης με προεξάρχον το αδενικό στοιχείο.[18] Ακολουθούν σε συχνότητα τα βλεννώδη αδενοκαρκινώματα, με χαρακτηριστικό τους την εξωκυττάρια βλέννη, η οποία αποτελεί το 50% της σύστασής τους. Πολλά από τα MSI-H αδενοκαρκινώματα είναι αυτού του τύπου. Τα αδενοκαρκινώματα από κύτταρα δίκην «σφραγιστήρος δακτυλίου» προκύπτουν εφόσον >50% της σύστασής τους αποτελείται από τα χαρακτηριστικά αυτά κύτταρα και είναι πιο σπάνια. Το στοιχείο της βλέννης στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων αυτών κυριαρχεί, ενώ συναντάται συνήθως σε όγκους με MSI-H προφίλ. Τα καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων, τα αδενοπλακώδη, τα μυελοειδή και τέλος τα αδιαφοροποίητα συνιστούν εξαιρετικά σπάνιους όγκους, χαμηλής διαφοροποίησης, επίσης σχετιζόμενα με MSI-H.[114, 128]

Εκτός του ιστολογικού τύπου, επιπλέον χαρακτηριστικά του όγκου χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της επιθετικότητας αυτού και για τη λήψη κλινικών θεραπευτικών αποφάσεων. Κυριότερο ίσως ιστολογικό χαρακτηριστικό είναι ο βαθμός διαφοροποίησης του καρκινώματος. Το κλασικό σύστημα ταξινόμησης της διαφοροποίησης, που έχει υιοθετηθεί και από την International Union Against Cancer (UICC), διακρίνει 4 βαθμίδες διαφοροποίησης:

- G1: καλής διαφοροποίησης (>95% σωληνωδεις σχηαμτισμούς)
- G2: μέτριας διαφοροποίησης (50-95%)
- G3: χαμηλής διαφοροποίησης (5-50%)
- G4: αδιαφοροποίητο

Από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ωστόσο, προτείνονται δύο ουσιαστικά βαθμίδες:

- Καλής-μέτριας διαφοροποίησης, που περιλαμβάνει τις παραπάνω G1 και G2 κατηγορίες
- Χαμηλής διαφοροποίησης, που περιλαμβάνει τις παραπάνω G3 και G4 βαθμίδες

Σε περίπτωση δε συνύπαρξης παραπάνω από μιας βαθμίδων, η λιγότερο ευνοϊκή καθορίζει τον τελικό βαθμό διαφοροποίησης. Είναι χαρακτηριστικό ότι με τον τρόπο αυτό το 20-25% των αφαιρεθέντων καρκινωμάτων ανήκουν στην κατηγορία της χαμηλής διαφοροποίησης. Φαίνεται ότι η τελευταία

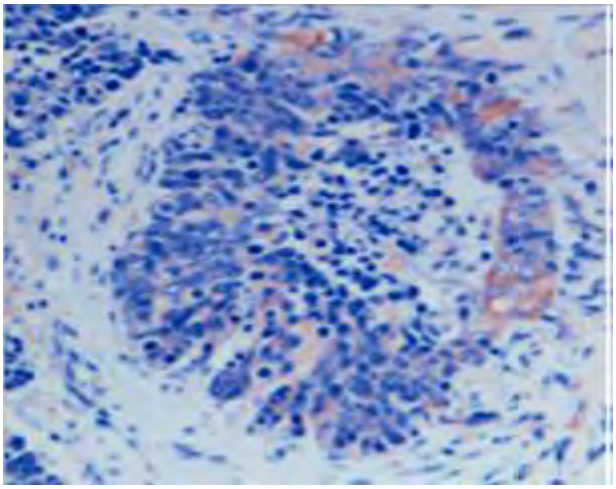
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

ταξινόμηση πληροί τα κλινικά κριτήρια και είναι πιο αναπαραγώγιμη μεταξύ των παθολογοανατόμων.[127]

Επιπλέον ιστολογικά χαρακτηριστικά που λαμβάνονται υπόψιν είναι:

- Λεμφαγγειακή διήθηση - L Ταξινόμηση: L0- δεν υπάρχει, L1- υπαρκτή, LX- δεν μπορεί να προσδιορισθεί.
- Φλεβική διήθηση - V Ταξινόμηση: V0- δεν υπάρχει,V1- μικροσκοπική διήθηση, που πρέπει να διακριθεί σε ενδοβλεννογόνια (υποβλεννογόνος και βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα) και πέρα από την βλεννογόνο,
- V2- μακροσκοπική διήθηση και VX- δεν μπορεί να προσδιορισθεί.
- Περινευρική διήθηση- Pn Ταξινόμηση: Pn0- δεν υπάρχει, Pn1- υπαρκτή, PnX- δεν μπορεί να εκτιμηθεί.
- Μορφή διηθητικού ορίου: καλά περιγεγραμμένο ή προωθούμενο έναντι διάχυτα επεκτεινόμενου
- Φλεγμονή πέριξ του όγκου
- Λεμφοκυτταρικές αθρόισεις πέριξ του όγκου
- Λεμφαδενική αντίδραση (θυλλακιώδης υπερπλασία με όριο το 50%, η φλοιικού τύπου υπερπλασία)

Τέλος, στην ιστολογική ταξινόμηση του καρκίνου, διάφοροι ανοσοϊστοχημικοί δείκτες χρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις διαφοροδιαγνωστικού προβλήματος αλλά και ως προγνωστικοί δείκτες. Για παράδειγμα, στον καρκίνο του παχέος εντέρου τα καρκινικά κύτταρα περιέχουν χαμηλού μοριακού βάρους κυτοκερατίνες. Έχει βρεθεί ότι στο 90% των καλώς διαφοροποιημένων καρκινωμάτων δεν εκφράζεται η κυτοκερατίνη 7 (CD7), ενώ υπερεκφράζεται η κυτοκερατίνη 20 (CD20). Η ανοσοϊστοχημική έκφραση σειράς μορίων - δεικτών, όπως ο Υποδοχέας του Επιδερμοειδούς Αυξητικού Παράγοντα EGFR και ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας VEGF, χρησιμοποιείται πλέον για την λήψη όχι μόνο ιστολογικών πληροφοριών αλλά και θεραπευτικών αποφάσεων.[127, 129]Εικ.3



**Εικ. 3 Ανοσοϊστοχημική έκφραση VEGF σε αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου.**

Τέλος, η αναθεωρημένη ταξινόμηση της Βιέννης για τη νεοπλασία του γαστρεντερικού σωλήνα, σε συνδυασμό με τις Ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες διάγνωσης και προσυμπτωματικού ελέγχου, κατέληξαν στη διαβάθμιση που φαίνεται στον πινακα 1.[130]

Η άποψη ότι το ιστολογικό υπόστρωμα της καρκινογένεσης είναι το αδένωμα, ένα καλόηθες επιθηλιακό νεόπλασμα, θεωρείται παρωχημένη. Ενα ευρύ φάσμα βλαβών, όπως αποδεικνύεται πλέον, έχει κακόηθες δυναμικό, με αποτέλεσμα να συμπεριλαμβάνεται στα σύγχρονα προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου.[65, 131]

Οι υπερπλαστικοί πολύποδες, οι άμισχες οδοντοειδείς βλάβες (sessile serrated lesions), τα κλασσικά οδοντοειδή αδενώματα (traditional serrated adenomas), οι μικτοί πολύποδες και τέλος τα αδενώματα συνιστούν το σύνολο των πρόδρομων βλαβών, οι οποίες δυνητικά και σε ποικίλο βαθμό μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος.[130] Πιν.2, Εικ.4

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

| | Φυσιολογικός Βλεννογόνος | Low Grade Mucosal/Intraepithelial Neoplasia (LGMN) | High Grade Mucosal/Intraepithelial Neoplasia (HGMN) | Διηθητικός Καρκίνος |
|---|---|---|---|---|
| **Σωληνώδεις σχηματισμοί** | **Ομαλοί** | **Λαχνωτοί** | **Διακλαδιζόμενοι, ανώμαλοι, διάτρητοι, συμπαγείς** | **Διακλαδιζόμενοι, ανώμαλοι, διάτρητοι, συμπαγείς** |
| **Επέκταση** | **Κατακόρυφοι** | **Μέχρι την επιφάνεια** | **Μέχρι την επιφάνεια** | **Πλάγια επέκταση** |
| **Επιθηλιακή διαφοροποίηση** | **Σε όλο το πάχος** | **Κυρίως στη βάση και προς την επιφάνεια** | **Καθόλου προς την επιφάνεια** | |
| **Καλυκοειδή κύτταρα** | **++** | **+** | **-/+ , άτυπα** | |
| **Σειρές πυρήνων** | **1** | **2-3** | **2-5** | **Ποικίλες** |
| **Πυρήνες** | **Μικρό μέγεθος, Βασικός προσανατολισμός** | **Μικρό μέγεθος, Κάθετος Προσανατολισμός** | **Μεγάλο μέγεθος** | **Μεγάλο μέγεθος, φυσαλιδώδεις** |
| **Χρωματίνη** | **Ελάχιστη** | **+** | **++** | **++/+++** |
| **Πυρήνια** | **Όχι** | **Όχι** | **Λίγα, μικρά** | **Πολλά, έντονα** |

**Πίνακας 1. Βαθμός διαφοροποίησης νεοπλασμάτικών βλαβών γαστρεντερικού σωλήνα. (Αναθεώρηση Βιέννης)**

| Βλάβη | Νεοπλασία | Κίνδυνος μετάλλαξης |
|---|---|---|
| **Υπερπλαστκός Πολύποδας** | Όχι | Ελάχιστος |
| **Επίπεδη Πολυποειδής Βλάβη** | Όχι | Ελαφρά αυξημένος (έλλειψη στοιχείων) |
| **Κλασσικό Πολυποειδές Αδένωμα** | Ναι | Αυξημένος, χειρότερης πρόγνωσης από επίπεδη βλάβη |
| **Μικτός Πολύποδας** | Ναι | Αυξημένος (έλλειψη στοιχείων) |
| **Αδένωμα (σωληνώδες, λαχνωτό)** | Ναι | Αυξημένος, 17 χρόνια κατά μέσο όρο |

- Οποιαδήποτε βλάβη μπορεί να οδηγήσει σε αδενοκαρκίνωμα
- Τα περισσότερα αδενοκαρκινώματα θεωρείται ότι προέρχονται από τα αδενικά στοιχεία των παραπάνω βλαβών.

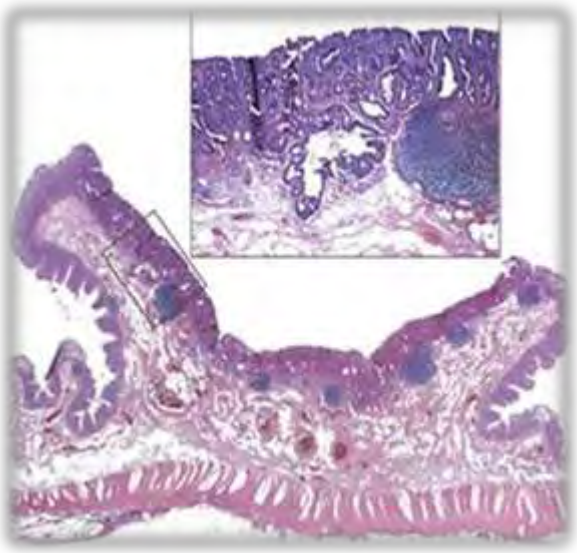
**Πίνακας 2. Συνεχές φάσμα πολυποειδών βλαβών και πιθανοί συνδυασμοί ιστολογικών τύπων**

Οι υπερπλαστικοί πολύποδες είναι μικρές βλάβες (<5mm σε διάμετρο), συναντώνται συνήθως στο αριστερό κόλο και θεωρούνται μη νεοπλασματικές. Εικ 4. Η περιπτώση εξαλλαγής τους σε κακοήθεια είναι εξαιρετικά σπάνια και δεν μπορεί να αποδειχθεί με βάση την τρέχουσα βιβλιογραφία. Ωστόσο, μερικές φορές φαίνεται να αποτελούν πρόδρομες μορφές των άμισχων οδοντοειδών βλαβών και των κλασσικών οδοντοειδών αδενωμάτων.[130] Ο αυξημένος αριθμός τους, η εντόπισή τους στο δεξιό κόλο και το μεγάλο μέγεθος (>10mm) είναι ενδείξεις για την ενδοσκοπική αφαίρεσή τους.[132-134]

Οι άμισχες οδοντοειδείς βλάβες θεωρούνται επίσης μη νεοπλασματικές, τείνουν να εντοπίζονται στο δεξιό κόλο, έχουν μεγαλύτερο μέγεθος σε σχέση με τους υπερπλαστικούς πολύποδες, παρόλα αυτά συχνά συγχέονται με αυτούς. Το ενδεχόμενο εξέλιξής τους σε κακοήθεις είναι εξαιρετικά σπάνιο και σε μια τέτοια περίπτωση η διαδικασία αυτή διαρκεί ένα μέσο χρονικό διάστημα 17 ετών. Το γεγονός όμως ότι έχουν περιγραφεί περιπτώσεις ραγδαίας ανάπτυξης καρκινώματος σε έδαφος άμισχων οδοντοειδών βλαβών, κάνει επιτακτική την ενδοσκοπική αφαίρεσή τους

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

με βάση τις σύγχρονες ευρωπαϊκές οδηγίες προσυμπτωματικού ελέγχου.[135-138]



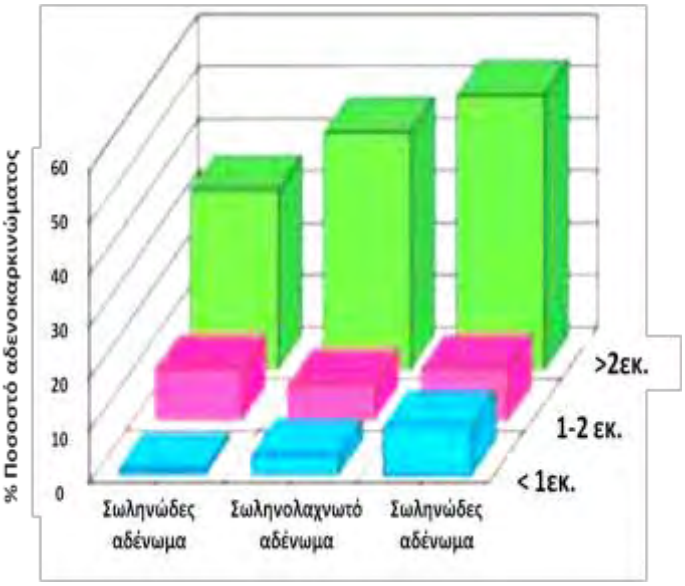
**Εικόνα 4. Ιστολογική εικόνα υπερπλαστικού πολύποδα**

Τα κλασσικά οδοντοειδή αδενώματα χαρακτηρίζονται από οδοντοειδή μορφολογία του βλεννογόνου και σημαντική πιθανότητα νεοπλασματικής εξαλλαγής. Εντοπίζονται συχνά στο αριστερό κόλο κυρίως ηλικιωμένων γυναικών και αντιμετωπίζονται όπως τα αδενώματα.[139-141]

Οι μικτοί πολύποδες προκύπτουν είτε από τον “ιστολογικό” συνδυασμό των παραπάνω τύπων είτε από το συνδυασμό ενός από αυτούς με αδένωμα. Ο ρυθμός ανάπτυξης κακοήθειας είναι παρόμοιος με αυτόν των αδενωμάτων, αλλά ο κίνδυνος είναι πιο αυξημένος στην περίπτωση των μικτών πολυπόδων.

Τέλος, τα αδενώματα είναι καλοήθεις επιθηλιακοί όγκοι με σαφή νεοπλασματική εικόνα. Ενδοσκοπικά διακρίνονται στα πολυποειδή, έμμισχα ή άμισχα και τα μη πολυποειδή, επίπεδα, εσκαμμένα ή ελαφρώς επηρμένα (ύψος<3mm).[142-144]

Μεγάλες παθολογοανατομικές μελέτες ενδοσκοπικών δειγμάτων στις δυτικές χώρες περιγράφουν μια επίπτωση των μη πολυποειδών αδενωμάτων, κυρίως των επηρμένων, στο 9-10% του σύνολο των νεοπλασιών, καθώς και αυξημένο κίνδυνο εξαλλαγής τους σε κακοήθεια σε σχέση με τα πολυποειδή. Ιστολογικά διακρίνονται στα σωληνώδη, τα σωληνολαχνωτά και τα λαχνωτά. Το αυξημένο μέγεθός τους (>10mm), το προεξάρχον λαχνωτό στοιχείο, ο βαθμός διαφοροποίησής τους και το ενδεχόμενο διήθησης συνιστούν παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος.[90, 145-147] Εικ.5




**Εικόνα 5. Συχνότητα αδενοκαρκινώματος σε αδενώματα ανάλογα με το μέγεθος και τον ιστολογικό τους τύπο.**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## 7. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η κλινική εικόνα του καρκίνου στο παχύ έντερο ποικίλει και εξαρτάται από την ανατομική θέση της βλάβης, τον τύπο του καρκίνου και την έκταση της νόσου.[18] Κάποιοι ασθενείς είναι ασυμτωματικοί, οπότε το νεόπλασμα διαπιστώνεται στα πλαίσια προσυμπτωματικού ελέγχου ή παρακολούθησης.[148] Οι συμπτωματικοί ασθενείς δύνανται να εκδηλώσουν τη νόσο ως επείγουσα ή μη κατάσταση. Οι μη επείγουσες καταστάσεις περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα μη ειδικών συμπτωμάτων, τα οποία σχετίζονται με την εντόπιση του όγκου στο παχύ έντερο.

Το δεξιό κόλον χαρακτηρίζεται από ευρύτερο αυλό, λεπτότερο τοίχωμα και υδαρές εντερικό περιεχόμενο. Εξαιτίας των ανατομικών αυτών χαρακτηριστικών, ένας κακοήθης όγκος στην περιοχή αυτή δύναται να αποκτήσει μεγάλο μέγεθος μέχρις ότου δώσει συμπτώματα π.χ. απόφραξη, που θα οδηγήσουν στη διάγνωση. Ανεξήγητο αίσθημα καταβολής δυνάμεων, απώλεια βάρους, επίμονο, άτυπο κοιλιακό άλγος στη δεξιά κοιλιακή χώρα με ή χωρίς συνοδό ψηλαφητή μάζα, άτυπα δυσπεπτικά ενοχλήματα συνάδουν συχνά με την εντόπιση του όγκου στο δεξιό κόλον.

Το αριστερό κόλον διαθέτει πιο στενό αυλό, ενώ το εντερικό περιεχόμενο είναι πιο συμπαγές. Επομένως, οι όγκοι της περιοχής είναι δυνατόν να αποφράξουν τον αυλό σταδιακά, προκαλώντας συχνά αλλαγές στις συνήθειες του εντέρου, οι οποίες διαρκούν άνω των δύο εβδομάδων και συνίστανται σε εναλλαγές περιόδων δυσκοιλιότητας με περιόδους αυξημένης συχνότητας κενώσεων (όχι τόσο αληθούς διάρροιας). Επίσης, συμπτωματολογία εντερικής απόφραξης και σκούρο κόκκινο αίμα αναμεμιγμένο με τα κόπρανα αποτελούν συνήθεις κλινικές εκδηλώσεις των όγκων του αριστερού κόλου.

Ο καρκίνος του ορθού χαρακτηρίζεται από επεισόδια αιμορραγικών κενώσεων, ζωηρού κόκκινου αίματος με ή χωρίς την παρουσία βλέννης, ανεξάρτητα από πιθανή συνοδό περιπρωκτική παθολογία, αιματοχεσία, αλλαγές στις συνήθειες του εντέρου και τεινεσμό ή ακόμη και πυελικό άλγος σε περίπτωση επέκτασης της νόσου με διήθηση των μυών του περινέου και νεύρων της περιοχής.[18]

Αν υπάρχει διήθηση από τον καρκίνο των πέριξ του εντέρου οργάνων ή φλεγμονή αυτών, τα συμπτώματα είναι αντίστοιχα του προσβληθέντος οργάνου. Έτσι μπορεί να παρατηρηθεί κυστίτιδα, ουρηθρίτιδα, ορθοκυστικό συρίγγιο και πνευματουρία ή ορθοκολπικό συρίγγιο εάν διηθηθεί το ουρογεννητικό σύστημα ή γαστροκολικά συρίγγια σε διήθηση του στομάχου.[149]

Οι επείγουσες κλινικές εκδηλώσεις ουσιαστικά αποτελούν επιπλοκές της καρκινικής βλάβης και συνίστανται στην εντερική απόφραξη, την εντερική αιμορραγία και τέλος τη διάτρηση. Η οξεία εντερική απόφραξη συνιστά την κύρια κλινική εκδήλωση στο 5 - 15% των νεοδιαγνωσθέντων ορθοκολικών καρκίνων και εντοπίζεται συχνότερα στη σπληνική καμπή (49%), και ακολουθούν το κατιόν (23%), το ανιόν (23%) και το ορθό (7%).[150] Σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση καθώς αυξάνει τον κίνδυνο θανάτου από τη νόσο κατά 1,4 φορές, ενώ αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης. Οι άλλες δύο καταστάσεις θεωρούνται αρκετά ασυνήθεις στις μέρες μας, με τη διάτρηση να αφορά σε ένα 6-8% των νεοδιαγνωσθέντων ορθοκολικών καρκίνων και να αυξάνει τον κίνδυνο θανάτου από τη νόσο κατά 3,4 φορές.[18, 149]

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου μεθίσταται με διάφορους τρόπους. Η κατά συνέχεια ιστών επέκταση του όγκου γίνεται με διήθηση του ενδοτοιχωματικού λεμφαγγειακού δικτύου και καθώς εξελίσσεται η βλάβη, είναι δυνατόν να διηθήσει το σύνολο των τοιχωμάτων του εντέρου και να καταλάβει παρακείμενους ιστούς και όργανα. Η αιματογενής διασπορά της νόσου

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

συνίσταται σε μετανάστευση καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένες θέσεις, μέσω του αγγειακού δικτύου. Αυτό συμβαίνει για παράδειγμα με την πυλαία κυκλοφορία και τις ηπατικές μεταστάσεις, οι οποίες αφορούν το 25% των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών, τις οσφυϊκές φλέβες και τους πνεύμονες στο 20% των ασθενών, ενώ αιματογενείς είναι και οι μεταστάσεις στις ωοθήκες στο 1-10% των γυναικών με καρκίνο του ορθού. Ο πιο κοινός τρόπος διασποράς του όγκου είναι ο λεμφογενής, μέσω του λεμφαγγειακού δικτύου, που παροχετεύει το τμήμα του εντέρου που φέρει τη βλάβη. Συνεπώς, ο λεμφαδενικός καθαρισμός συνιστά αναπόσπαστο κομμάτι της χειρουργικής αντιμετώπισης του όγκου, ακόμα και όταν πρόκειται για πρώϊμη τοπική βλάβη. Η διαπεριτοναϊκή διασπορά του όγκου συμβαίνει κατά την διήθηση του ορογόνου και την εμφύτευση καρκινικών κυττάρων στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Τέλος, η μετανάστευση καρκινικών κυττάρων εντός του αυλού και η εμφύτευσή τους σε νέα θέση του εντερικού βλεννογόνου αφορά στην ενδοαυλική διασπορά και συμβαίνει σπάνια.[18]

Η κλινική εικόνα της μεταστατικής νόσου ποικίλει ανάλογα με το προσβεβλημένο όργανο και μπορεί να περιλαμβάνει άλγος δε υποχονδρίου, ηπατομεγαλία, πυρετό και εφιδρώσεις ή και εικόνα ηπατικής ανεπάρκειας σε περίπτωση ηπατικής συμμετοχής, συμπτώματα από το αναπνευστικό όπως πλευριτική συλλογή σε πνευμονική εντόπιση, υπερκλείδιους λεμφαδένες σε λεμφογενή διασπορά, ασκίτη και κοιλιακό άλγος σε περιτοναϊκή νόσο ή συνυπάρχον καρκίνωμα σε ενδοαυλική διασπορά. Συμπτώματα κεντρικού νευρικού συστήματος και οστικές μεταστάσεις ανευρίσκονται σε λιγότερο από 10% των νεκροψιών και αφορούν κυρίως σε προχωρημένη ηπατική ή πνευμονική μεταστατική νόσο. Τέλος, αναφέρονται σπάνιες εικόνες εμφάνισης του καρκίνου του παχέος εντέρου, όπως μάζα σε μετεγχειρητική ουλή υστερεκτομής, ομφαλικός λεμφαδένας (*Sister Mary Joseph Node*), σκωληκοειδίτιδα κ.α.[6]

## 8. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση του καρκίνου σε συμπτωματικό ασθενή τίθεται μέσω του ιστορικού, της κλινικής εξέτασης και των κατάλληλων παρακλινικών εξετάσεων. Από το ιστορικό ενδιαφέρει η ύπαρξη παραγόντων κινδύνου, καθώς και ύποπτη συμπτωματολογία, όπως αναφέρεται παραπάνω. Δεδομένου ότι τα συμπτώματα του ορθοκολικού καρκίνου είναι μη ειδικά για τη νόσο, είναι εξαιρετικά σημαντικό να αναγνωριστούν έγκαιρα οι ασθενείς που διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο. Η αιμορραγία από το ορθό, οι αλλαγές στις συνήθειες του εντέρου, η απώλεια βάρους, καθώς και η ανεξήγητη αναιμία φαινεται σε μελέτες να αποτελούν συμπτώματα με χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα κατά περίπτωση.[151] Πρόσφατες μετα-αναλύσεις επιβεβαιώνουν την άποψη ότι μέχρι στιγμής συνδυασμοί συμπτωμάτων, όπως αιμορραγία από το ορθό με αλλαγή στις συνήθειες του εντέρου ή πρόσμιξη αίματος στα κόπρανα χωρίς συμπτώματα περιπρωκτικά, καθώς και απώλεια βάρους με ανεξήγητη αναιμία έχουν υψηλότερη διαγνωστική αξία, ωστόσο δεν είναι δυνατόν να καθορίσουν με ασφάλεια κλινικά κριτήρια παραπομπής των ασθενών για περαιτέρω διερεύνηση.[151, 152]

Κατά την κλινική εξέταση η σημειολογία εξαρτάται από το στάδιο της νόσου και την ανατομική του θέση. Μια βλάβη στο δεξιό κόλον αναμένεται να δώσει σημειολογία σιδηροπενικής αναιμίας, πιθανόν ευαισθησία κατά την ψηλάφηση της

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

δεξιάς κοιλιακής χώρας ή και ψηλαφητή μάζα αντίστοιχα. Η δακτυλική εξέταση από το ορθό αναμένεται αρνητική, αφού η απώλεια αίματος είναι μικροσκοπική. Στο αριστερό κόλον είναι δυνατόν να διαπιστωθεί αίμα στα κόπρανα κατά την δακτυλική εξέταση, σημειολογία εντερικής απόφραξης και πιθανόν ψηλαφητή μάζα στην αριστερή κοιλιακή χώρα. Κατά την εντόπιση της βλάβης στο ορθό η δακτυλική εξέταση είναι πιθανό να αναδείξει ψηλαφητή μάζα στο 40-80% των ασθενών, με δυνατότητα να συνεκτιμηθεί η έκταση, το μέγεθος της βλάβης, καθώς και η πιθανή καθήλωση των πέριξ ιστών στο χώρο του Douglas, ενώ στις γυναίκες ανόλογες πληροφορίες συλλέγονται και κατά την κολπική εξέταση. Η δακτυλική εξέταση μπορεί να είναι θετική για αίμα στα κόπρανα.[18] Σε πιο προχωρημένη νόσο δύναται να αναδειχθούν σημεία υποθρεψίας λόγω ανορεξίας και απώλειας βάρους, θετικοί υπερκλείδιοι λεμφαδένες, ηπατομεγαλία, ασκίτης, σημεία ηπατικής εγκεφαλοπάθειας και πιο σπάνια ίκτερος σε εκτεταμένη ηπατική μεταστατική νόσο.[18, 149] Προφανώς, η εκδήλωση της νόσου με μορφή επιπλοκής (οξεία εντερική απόφραξη, εντερική αιμορραγία, διάτρηση εντέρου-περιτονίτιδα) θα συνοδεύεται από τα ανάλογα κλινικά ευρήματα.

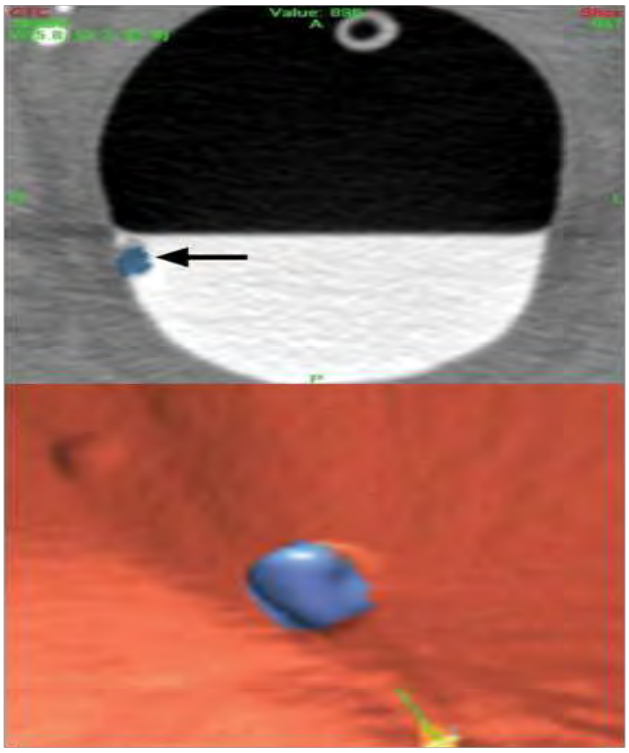
Ο παρακλινικός έλεγχος περιλαμβάνει ένα σύνολο εξετάσεων, περισσότερο για την εκτίμηση πιθανής επέκτασης της νόσου, χωρίς ωστόσο ειδικότητα για τον CRC. Για παράδειγμα, διενεργείται ακτινογραφία θώρακος και γενική αίματος που είναι δυνατόν να αναδείξει υπόχρωμη, μικροκυτταρική αναιμία/σιδηροπενική, (Hb<10g/dl).[149] Επίσης, επί ενδείξεων, χρήσιμα συμπεράσματα προκύπτουν από τον έλεγχο των πρωτεϊνών του πλάσματος, του ασβεστίου, της χολερυθρίνης και των κλασμάτων της, της αλκαλικής φωσφατάσης και της κρεατινίνης.[18] Ωστόσο τόσο ο βιοχημικός έλεγχος του ήπατος (μόνο 15% των ασθενών με ηπατικές μεταστάσεις έχουν επηρεασμένους τους ηπατικούς δείκτες, οι οποίοι από την άλλη μπορεί να είναι αυξημένοι μέχρι και στο 40% των ασθενών χωρίς ηπατική συμμετοχή) όσο και της νεφρικής λειτουργίας δεν είναι ειδικοί.[6] Επιπλέον, το καρκινοεμβρυικό αντιγόνο CEA, μια γλυκοπρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης πολλών ιστών, αυξάνεται στο 70% περίπου των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου, χαρακτηρίζεται όμως από χαμηλή ειδικότητα, αφού αυξάνεται τόσο σε διάφορους καρκίνους του γαστρεντερικού σωλήνα αλλά και του παγκρέατος και των χοληφόρων όσο και σε άλλες καλοήθεις παθήσεις. Επίσης, λιγότερο από το 50% των ασθενών με τοπική νόσο αυξάνουν τα επίπεδα CEA στο πλάσμα. Γι'αυτούς τους λόγους, η εξέταση χρησιμοποιείται στην παρακολούθηση ασθενών για πιθανή υποτροπή μετεγχειρητικά και όχι για αρχική διάγνωση.[18, 153-156]

Η επιβεβαίωση της διάγνωσης για τον ορθοκολικό καρκίνο επιτυγχάνεται με την κολονοσκόπηση, η οποία θεωρείται εξέταση εκλογής, με μια ευασθησία 95% ακόμα και για βλάβες διαμέτρου<6mm.[157] Ο στόχος είναι αφενός να διαγνωσθεί ο πρωτοπαθής όγκος, αφετέρου να εξετασθεί όλο το παχύ έντερο για την πιθανότητα ύπαρξης σύγχρονων καρκίνων ή και πολυπόδων. Με την ενδοσκόπηση λαμβάνονται εικόνες υψηλής ευκρίνειας και ταυτόχρονα επιτρέπεται η λήψη βιοψιών, αλλά και η αφαίρεση ύποπτων βλαβών (πολυπεκτομή). Η μέθοδος πλέον προϋποθέτει νάρκωση του ασθενούς. Σε ένα 10% των ασθενών δεν είναι δυνατή η ολοκλήρωσή της μέχρι την περιοχή του τυφλού. Ιατρογενής ρήξη εντέρου συμβαίνει σε ένα ποσοστό 0,17% (διακύμανση 0.06%-0.19%), ενώ ασυνήθης είναι η αναπνευστική καταστολή εξαιτίας της νάρκωσης.[149, 158] Ο βαριούχος υποκλυσμός διπλής αντίθεσης είναι μια οικονομικότερη και πιο ασφαλής εξέταση σε σχέση με την κολονοσκόπηση. Η απεικόνιση ολόκληρου του παχέος εντέρου είναι επιτυχής στο 100% των περιπτώσεων. Ο κίνδυνος διάτρησης του εντέρου κυμαίνεται στο 0.004%-0.2%.[158] Για βλάβες από 1cm και άνω η ευαισθησία της μεθόδου εκτιμάται 70% περίπου, ενώ η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

ειδικότητά της περίπου 85%.Τα ποσοστά μειώνονται ακόμα περισσότερο για βλάβες 6-9mm.[159] Οι όγκοι φαίνονται ως ελλείμματα σκιαγράφισης του τοιχώματος, που σε κυκλοτερείς βλάβες δίνουν το σημείο του «φαγωμένου μήλου». Η φύση της εξέτασης δεν επιτρέπει τη λήψη βιοψιών. Ενδείξεις της αποτελούν οι περιπτώσεις κατά τις οποίες η απεικόνιση του τυφλού δεν ήταν δυνατή με την κολονοσκόπηση ή ηλικιωμένοι ασθενείς που δεν δύνανται να υποβληθούν σε ενδοσκόπηση.[149]

Πολλά υποσχόμενη τα τελευταία χρόνια στη διάγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι η CT κολονογραφία, με δυνατότητα και τρισδιάστατης απεικόνισης. Εικ 1. Φαίνεται ότι παρουσιάζει παρόμοια ευαισθησία (96,7%) με την κολονοσκόπηση για βλάβες >5mm, με μειονέκτημα τη μη δυνατότητα παρέμβασης σε πρώτο χρόνο σε περίπτωση ανεύρεσης ύποπτης βλάβης και την αναγκαστική παραπομπή για κολονοσκόπηση.[160, 161]



**Εικόνα 1. 2D, 3D CT κολονογραφία, πολύποδας 12mm**

## 9. ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Εφόσον έχει τεθεί η διάγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου με την κολονοσκόπηση και τη λήψη βιοψιών, ακολουθεί η σταδιοποίηση της νόσου. Η σταδιοποίηση του ορθοκολικού καρκίνου γίνεται με τη βοήθεια ποικίλων συστημάτων, ωστόσο το σύστημα TNM και το προγενέστερο κατά Dukes, τροποποιημένο κατά Astler- Coller, έχουν επικρατήσει.

Η ταξινόμηση κατά Dukes περιγράφηκε πρώτη φορά το 1932 και βασίστηκε στο βαθμό επέκτασης του όγκου στο εντερικό τοίχωμα και την συμμετοχή επιχώριων λεμφαδένων, δίνοντας τρείς κατηγορίες: Dukes A-όγκος περιορισμένος στο εντερικό τοίχωμα, Dukes B- όγκος διηθεί τον ορογόνο, Dukes C- διήθηση και των λεμφαδένων του μεσεντερίου. Κατά καιρούς έχουν προταθεί διάφορες τροποποιήσεις της αρχικής ταξινόμησης με πιο πρόσφατη την παρακάτω (Phil Quirke, 2011):

- **Dukes A**: ο όγκος φτάνει μέχρι τον μυικό χιτώνα, χωρίς να τον διηθεί.
- **Dukes B**: ο όγκος διηθεί και τον μυικό χιτώνα, χωρίς να περιλαμβάνει λεμφαδένες.
- **Dukes C**:

  **-C1:** υπάρχουν ιστολογικές ενδείξεις αδενοκαρκινώματος σε έναν ή

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

περισσότερους λεμφαδένες, αλλά όχι στον πιο απομακρυσμένο

**-C2**: υπάρχουν ιστολογικές ενδείξεις αδενοκαρκινώματος στον πιο απομακρυσμένο λεμφαδένα Dukes

- **Dukes D**: απομακρυσμένες μεταστάσεις, (ηπαρ,πνεύμονες,οστά).

Το Αμερικάνικο Συμβούλιο για τον Καρκίνο (AJCC) και η Διεθνής Ενωση ενάντια στον Καρκίνο (UICC) πρότειναν το σύστημα TNM για την σταδιοποίηση του καρκίνου του παχέος εντέρου, το οποίο βασίζεται στο μέγεθος του όγκου (Tumor), τις λεμφαδενικές μεταστάσεις (Nodes) και τις απομακρυσμένες μεταστάσεις (Metastases). Ο συνδυασμός ευρημάτων των παραπάνω παραμέτρων οδηγεί στη διαμόρφωση τεσσάρων σταδίων για τον καρκίνο του παχέος εντέρου I-IV.

Όταν ο σταδιοποιητικός σχεδιασμός αντλεί πληροφορίες από την κλινική εξέταση και τις ακτινολογικές εξετάσεις, τότε προκύπτει το κλινικό στάδιο κατά cTNM. Αντίστοιχα, το παθολογοανατομικό στάδιο pTNM, προκύπτει από την ιστολογική εξέταση του χειρουργικού παρασκευάσματος. Πιν 1.

| **Το Σύστημα UICCTNM/pTNM Ταξινόμησης του Ορθοκολικού Καρκίνου.** | |
|---|---|
| ***T/ pT*= Πρωτοπαθής Όγκος** | **Βάθος Διήθησης** |
| Tx/pTx | Δεν μπορεί να εκτιμηθεί |
| Tis/pTis | Ενδοεπιθηλιακή βλάβη, διήθηση επιπολής επιφάνειας βασικής μεμβράνης |
| T1/pT1 | Διήθηση μέχρι τον υποβελεννογόνιο χιτώνα |
| T2/pT2 | Διήθηση μέχρι τον μυϊκό χιτώνα |
| T3/pT3 | Διήθηση πέραν του μυϊκού, μέχρι τον ορογόνο ή το περικολικό λίπος |
| T4/pT4 | Διήθηση τοιχωματικού περιτοναίου, γειτονικών οργάνων |
| ***N/pN= Περιοχικοί Λεμφαδένες*** | |
| Nx/pNx | Δεν μπορεί να εκτιμηθεί |
| N0/pN0 | Αρνητικοί για νόσο λεμφαδένες |
| N1/pN1 | Μετάσταση σε 1-3 λεμφαδένες |
| N2/pN2 | Μετάσταση σε ≥ 4 λεμφαδένες |
| ***M/pM= Μεταστάσεις*** | |
| Mx/pMx | Δεν μπορεί να εκτιμηθεί |
| M0/pM0 | Δεν υπάρχουν μεταστάσεις |
| M1/pM1 | Μεταστατική νόσος |

**Πίνακας 1. Το TNM σύστημα**

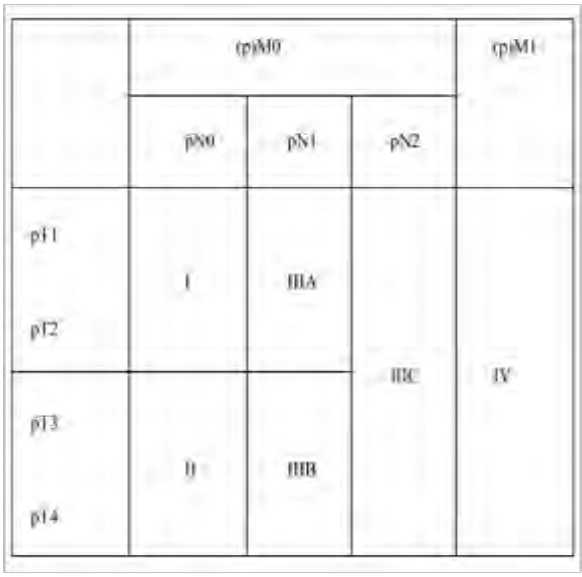
Δεν αποτελεί ενιαίο σύστημα, δεδομένου ότι ήδη μέχρι στιγμής υπάρχουν επτά παραλλαγές του για τον ορθοκολικό καρκίνο και από ό,τι φαίνεται υπάρχει ποικιλία ανάμεσα στις χώρες και την έκδοση που χρησιμοποιούν. Το Ηνωμένο Βασίλειο,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

| | Clinical classification | 5th edition (1997) | 6th edition (2002) | 7th edition (2009) |
|---|---|---|---|---|
| T—primary tumour | | | | |
| TX | Primary tumour cannot be assessed | + | + | + |
| T0 | No evidence of primary tumour | + | + | + |
| Tis[1] | Carcinoma in situ: intraepithelial or invasion of lamina propria | + | + | + |
| T1 | Tumour invades submucosa | + | + | + |
| T2 | Tumour invades muscularis propria | + | + | + |
| T3 | Tumour invades through muscularis propria into subserosa or into non-peritonealised pericolic or perirectal tissues | + | + | + |
| T4[2,3] | Tumour directly invades into other organs or structures and/or perforates visceral peritoneum | + | + | + |
| T4a | Perforates visceral peritoneum | – | – | + |
| T4b | Directly invades other organ or structures | – | – | + |
| N—regional lymph nodes | | | | |
| NX | Regional lymph nodes cannot be assessed | + | + | + |
| N0 | No regional lymph node metastasis | + | + | + |
| N1 | Metastasis in 1 to 3 regional lymph nodes | + | + | + |
| N1a | 1 node | – | – | + |
| N1b | 2–3 nodes | – | – | + |
| N1c | Satellites[4] in subserosa, without regional nodes | – | – | + |
| N2 | Metastasis in 4 or more regional lymph nodes | + | + | + |
| N2a | 4–6 nodes | – | – | + |
| N2b | 7 or more nodes | – | – | + |
| M—distant metastasis | | | | |
| MX | Distant metastasis cannot be assessed | + | + | – |
| M0 | No distant metastasis | + | + | + |
| M1 | Distant metastasis | + | + | + |
| M1a | Metastasis confined to one organ (liver, lung, ovary, non-regional lymph node(s)) | – | – | + |
| M1b | Metastasis in more than one organ or the peritoneum | – | – | + |

**Πίνακας 2. Διαδοχικές εκδόσεις του συστήματος TNM**

το Βέλγιο, η Δανία και η Ολλανδία υιοθέτησαν την 5η έκδοση, ενώ οι Ηνωμένες πολιτείες την 7η. Πιν 2




**Εικόνα 1. Στάδια ορθοκολικού καρκίνου κατά UICC[1]**

Η σταδιοποίηση της νόσου έχει ως σκοπό τη δημιουργία ομάδων ασθενών, με διακριτές διαφορές επιβίωσης, διαφορές θεραπευτικών χειρισμών και τελικά διαφορές πρόγνωσης. Για την επίτευξή της απαιτούνται ποικίλες διαγνωστικές δοκιμασίες, ο αριθμός των οποίων εξαρτάται από τον κίνδυνο ύπαρξης απομακρυσμένων μεταστάσεων. Εικόνα. 1

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Κατά την αδρή κλινική σταδιοποίηση του καρκίνου του παχέος εντέρου, δεν παραλείπεται ακτινολογικός έλεγχος με ακτινογραφία ή και αξονική τομογραφία θώρακος για την ανάδειξη πιθανών πνευμονικών μεταστάσεων.[18] Η αξονική θώρακος ανιχνεύει συχνά ασαφείς βλάβες του πνευμονικού παρεγχύματος, εκ των οποίων ένα μικρό ποσοστό αφορά σε μεταστατική νόσο.[162]

Η αξονική τομογραφία άνω κάτω κοιλίας και πυέλου ενδείκνυται για την εκτίμηση της επέκτασης της νόσου σε παρακείμενα όργανα κατά συνέχεια ιστού, λεμφαδενική διασπορά της νόσου, καθώς και εστίες απομακρυσμένων μεταστάσεων. Επιπλοκές, όπως διάτρηση, συρίγγια, εγκολεασμός, που μπορεί να επιβάλλουν την επείγουσα χειρουργική αποκατάστασή τους, μπορεί να αναδειχθούν.[157] Φαίνεται να είναι πιο ακριβής στην απεικόνιση των μεταστατικών εστιών, παρά στην αξιολόγηση του σταδίου του πρωτοπαθούς όγκου.[162] Η ευαισθησία και η ειδικότητά της εκτιμάται στο 60% και 67% αντίστοιχα, για την απεικόνιση τόσο εξωεντερικών εστιών όσο και πρωτοπαθών όγκων εγγύτερα του ορθού.[162] Η απεικόνιση των ηπατικών μεταστάσεων στην πυλαία φάση συνιστά την τεχνική εκλογής. Ο ρόλος της αξονικής στην ανίχνευση περιτοναϊκών εμφυτεύσεων είναι περιορισμένος για βλάβες μικρότερες του 0.5cm, δεδομένου ότι η ευαισθησία της μεθόδου, βάσει μελετών, κυμαίνεται από 11% για βλάβες <0.5cm και έως 94% για βλάβες >5cm. Νέες τεχνικές, όπως η αξονική τομογραφία αιμάτωσης, που βασίζεται σε λειτουργικές παραμέτρους, αναμένεται να δώσουν καινούριες προοπτικές στην αποτελεσματικότερη απεικόνιση ηπατικών μεταστάσεων και όχι μόνο.[162]

Το ενδοορθικό υπερηχογράφημα (ERUS) παρέχει εικόνες του τοιχώματος του ορθού και των παρακείμενων ιστών, σε εμβέλεια 360 μοιρών. Η δυνατότητα υψηλής ευκρίνειας στον διαχωρισμό των στρωμάτων του εντερικού τοιχώματος στην περιοχή του ορθού, ανεβάζει την ακρίβεια της μεθόδου στο 81-94% για την ανίχνεση της επέκτασης της νόσου σε βάθος, καθιστώντας την ιδανική για τον καθορισμό του Τ, αλλά και την αναγνώριση πρώιμης καρκινικής βλάβης.[149] Η μέθοδος παρέχει τη δυνατότητα λήψης υλικού για κυτταρολογική εξέταση (ERUS-FNA), από επικίνδυνες βλάβες εντός του αυλού, καθώς και από ύποπτους λεμφαδένες.[157] Στα μειονεκτήματά της συγκαταλέγονται η χαμηλή ευαισθησία στη Ν σταδιοποίηση, στο 58-86%, η αδυναμία διενέργειάς της επί αποφρακτικών όγκων και η εξάρτησή της από την δεινότητα του ακτινολόγου.[65, 149]

Η μαγνητική τομογραφία απεικονίζει με επαρκή σαφήνεια το ορθό, το μεσορθό και δομές της πυέλου και θεωρείται ιδανικότερη της αξονικής στην ανάδειξη της ανατομίας και των αγγειακών δομών εντός μαλακών μορίων, άρα και εξέταση εκλογής για την σταδιοποίηση του καρκίνου στο ορθό.[65] Είναι ακριβής στην εκτίμηση της σχέσης του όγκου με το περιτόναιο. Αυτό είναι σημαντικό διότι, η διήθηση του σπλαχνικού περιτοναίου συναντάται στο 25,8% των περιπτώσεων και σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής, κατόπιν χειρουργικής αποκατάστασης του όγκου. Επιπλέον, παρέχει τη δυνατότητα διάκρισης των καλοήθων από τις κακοήθεις βλάβες του ήπατος. Η μέθοδος πλεονεκτεί, επίσης, στην αξιολόγηση των περιφερικών ορίων εκτομής του όγκου, ενώ συμβάλλει και στον σχεδιασμό της ακτινοθεραπείας.[65]

Το διακοιλιακό υπερηχογράφημα δεν έχει αποδειχθεί ακριβές στην ανίχνευση ηπατικών μεταστάσεων, όπως η αξονική ή η μαγνητική τομογραφία. Εξαιτίας της ευκολίας και του χαμηλού κόστους, χρησιμοποιείται σε κάποια κέντρα, παρόλ'αυτά δεν αποτελεί εξέταση εκλογής για την ανίχνευση ηπατικών μεταστάσεων, ειδικά όταν πρόκειται να αξιολογηθεί η πιθανότητα ηπατεκτομής. Ωστόσο, αρκετά διαδεδομένη είναι πλέον η διεγχειρητική διενέργεια της μεθόδου για την απεικόνιση μικρού μεγέθους ηπατικών εστιών.[157]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων PET (positron emission tomography) αποτελεί μη επεμβατική απεικονιστική μέθοδο, που παρέχει εικόνες χρησιμοποιώντας για ραδιοσήμανση 2 φθοριο-2-δεοξυ-γλυκόζη(FDG), προκειμένου να ανιχνεύσει περιοχές αυξημένου αερόβιου μεταβολισμού, τυπικές μεταστατικής νόσου. Οι απεικονίσεις δεν παρέχουν σαφείς ανατομικές-τοπογραφικές πληροφορίες.

Έτσι, ο συνδυασμός της με την αξονική τομογραφία (PET/CT), χρησιμοποιώντας ανατομικές και μεταβολικές παραμέτρους, κατάφερε να βελτιώσει την ποιότητα των απεικονίσεων και την ευαισθησία της μεθόδου. Η εξέταση υπερτερεί των υπολοίπων στην ανάδειξη υποτροπών, καθώς επίσης και στη διάκρισή τους από μετεγχειρητικές ουλές, γι'αυτό και αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι του πρωτοκόλου παρακολούθησης των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου. Η μεγάλη αξία της μεθόδου συνίσταται, επιπλέον, στη δυνατότητα ολόσωμης διερεύνησης του ασθενούς.[162] Η ευαισθησία της PET/CT στην ανίχνευση ηπατικών μεταστάσεων εκτιμάται στο 92%.[163] Όσον αφορά εξωηπατικές μεταστάσεις, η ευαισθησία και η ειδικότητα φτάνει το 83% και 96% αντίστοιχα, έναντι του 58% και 87% για την απλή αξονική. Αξίζει να σημειωθεί πως η εξέταση έχει ένδειξη μετά την πάροδο έξι εβδομάδων από την τοπική θεραπεία, δεδομένου ότι η επακόλουθη φλεγμονώδης αντίδραση μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα.[162]

## 10. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Παρόλο που ο ασθενής με διάγνωση καρκίνου του παχέος εντέρου παραπέμπεται για θεραπεία στο χειρουργό, η βέλτιστη αντιμετώπιση απαιτεί τη συνεργασία πολλών ειδικοτήτων, με σκοπό την ολοκληρωμένη και αποτελεσματική προσέγγιση του ασθενούς. Οι εξελίξεις στη χειρουργική τεχνική και την επικουρική θεραπεία (χημειοθεραπεία/ ακτινοθεραπεία), σε συνδυασμό με την πρόοδο της μοριακής βιολογίας και την ανάπτυξη νέων στοχευμένων θεραπειών, συντελούν στη βελτιστοποίηση του θεραπευτικού αποτελέσματος και κατ'επέκταση της επιβίωσης.

### Α. ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Πρωταρχικό ρόλο στην αντιμετώπιση της νόσου κατέχει η χειρουργική θεραπεία. Σε πρώιμα στάδια(I-II) έχει απόλυτη ένδειξη ως αποκλειστική θεραπευτική επιλογή, ενώ σε πιο προχωρημένη νόσο (στάδιο III-IV) συνδυάζεται κατάλληλα με συστηματική θεραπεία ή και ακτινοθεραπεία. Ο ρόλος της όμως δεν είναι μόνο θεραπευτικός, δεδομένου ότι η χειρουργική αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου έχει ένδειξη σε προχωρημένη μεταστατική νόσο, παρηγορητικά, με σκοπό την αποφυγή επιπλοκών όπως εντερική απόφραξη ή αιμορραγία.[18]

#### I. ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΕΣΤΙΑ

**Στόχος**

Στόχος της χειρουργικής θεραπείας είναι η πλήρης απομάκρυνση της πρωτοπαθούς εστίας, μαζί με όλες τις αποχετευτικές οδούς αυτής καθώς και τα τυχόν προσβεβλημένα, κατά συνέχεια ιστού, γειτονικά όργανα. Για την επίτευξη αυτού του στόχου, είναι σημαντική η γνώση της **εμβρυολογικής προέλευσης** των επιμέρους τμημάτων του παχέος εντέρου που εξηγεί και την **ανατομία** του. Ο σεβασμός κατά τη χειρουργική επέμβαση των ανατομικών δομών εξασφαλίζει την κατά το δυνατόν ριζική εκτομή των καρκινικών βλαβών. Η έκταση της εκτομής ωστόσο, εξαρτάται όχι μόνο από την εντόπιση του όγκου στο παχύ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

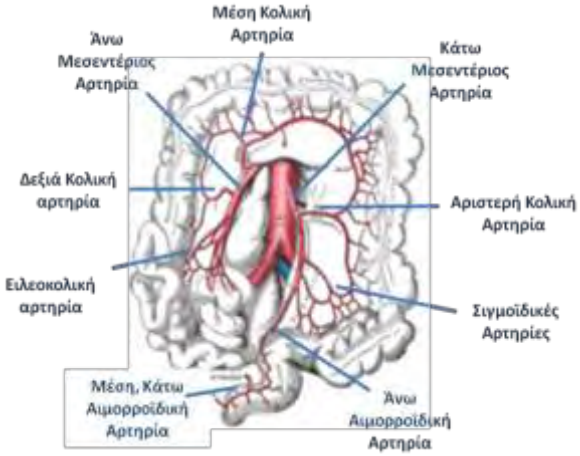
έντερο, και κατ' επέκταση την αγγείωση και λεμφική αποχέτευση της πάσχουσας περιοχής, αλλά και συνοδές καταστάσεις, όπως αποφρακτικού τύπου βλάβες, ΙΦΝΕ, κληρονομούμενα σύνδρομα κλπ, και κυρίως τη γενική κατάσταση του ασθενούς.[6, 127]

Η χειρουργική αντιμετώπιση λοιπόν της νόσου στο κόλον περιλαμβάνει την αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου με ασφαλή όρια εκτομής, τουλάχιστον 5cm από τη βλάβη, σε συνδυασμό με λεμφαδενεκτομή, η οποία οφείλει να περιλαμβάνει τουλάχιστον 12 λεμφαδένες για αξιόπιστη σταδιοποίηση. Σε περίπτωση διήθησης παρακείμενων οργάνων, αυτά πρέπει να συμπεριληφθούν στο συνολικό παρασκεύασμα. Η χειρουργική εξαίρεση στη διηθητική νόσο του ορθού, εκτός από την κατάλληλη αφαίρεση του τμήματος του εντέρου με τον όγκο και σύστοιχη λεμφαδενεκτομή, οφείλει να περιλαμβάνει και την ολική εκτομή του μεσοορθού, δηλαδή του περιβάλλοντος, σαν θήκη το ορθό, λεμφαγγειακού και λιπώδους ιστού, ενέργεια που σχετίζεται με μείωση της πιθανότητας τοπικής υποτροπής.[127] Εφόσον το περιφερικό όριο εκτομής απέχει τουλάχιστον 1 cm από το σφιγκτηριακό σύστημα, η διατήρησή του είναι εφικτή.[65] Η δε διήθηση παρακείμενων οργάνων επιβάλλει την ταυτόχρονη εξαίρεσή τους.[149]

**Αγγείωση παχέος εντέρου**

Το ανιόν και το εγγύς εγκάρσιο κόλον προέρχονται από το μέσο εμβρυϊκό έντερο (*midgut*) και λαμβάνουν αγγείωση από την **άνω μεσεντέριο αρτηρία**, μέσω της ειλεοκολικής, της δεξιάς και της μέσης κολικής αρτηρίας. Το άπω εγκάρσιο κόλον, το κατιόν και το σιγμοειδές προέρχονται από το οπίσθιο εμβρυϊκό έντερο, το οποίο αγγειώνεται από την **κάτω μεσεντέριο αρτηρία,** μέσω της αριστερής κολικής και των σιγμοϊδικών αρτηριών. Το ορθό, επίσης προερχόμενο από το οπίσθιο εμβρυϊκό έντερο, αιματώνεται κατά το άνω τριτημόριό του από την άνω αιμορροϊδική αρτηρία, κλάδο της κάτω μεσεντερίου, ενώ κατά τα δύο κατώτερα τριτημόριά του αιματώνεται από την υπογάστριο αρτηρία, κλάδο της **έσω λαγονίου**, μέσω της μέσης και της κάτω αιμορροϊδικής αρτηρίας. Εικ 1. Κλαδοι όλων των παραπάνω βασικών στελεχών διαμορφώνουν την αρτηρία του Drummond, που πορεύεται παράλληλα προς μεσεντερικό χείλος του παχέος εντέρου, δίνοντας τους τελικούς κλαδους προς το τοίχωμά του. Οι κλάδοι από την αριστερή κολική αρτηρία διαμορφώνουν το τόξο του Riolan, σημαντικό στη χειρουργική του αριστερού κόλου.

Η φλεβική αποχέτευση εκβάλλει στην πυλαία φλέβα ακολουθώντας την αντίστροφη πορεία της αρτηριακής, με μόνη διαφορά την εκβολή της κάτω μεσεντερίου στη σπληνική φλέβα και από εκεί στην πυλαία. Το δε ορθό έχει διττή φλεβική αποχέτευση, όπως και αρτηριακή άρδευση, προς το πυλαίο σύστημα από το άνω τμήμα του και προς την κάτω κοίλη φλέβα από το κατωφερέστερο τμήμα του.




**Εικόνα 1. Η αγγείωση του παχέος εντέρου.**

Η λεμφική αποχέτευση του παχέος εντέρου είναι πιο σύνθετη και ξεκινά από μικρά λεμφαγγεία κάτω από την βασική μεμβράνη, τα οποία εκβάλλουν σε μεγαλύτερα στον υποβλεννογόνιο και το μυϊκό χιτώνα. Αυτά με τη σειρά τους εκβάλλουν στους επικολικούς λεμφαδένες, που βρίσκονται υποορογόνια στο τοίχωμα του εντέρου, κατά το μεσεντερικό χείλος. Αυτοί συνδέονται με τους παρακολικούς λεμφαδένες κατά μήκος της

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

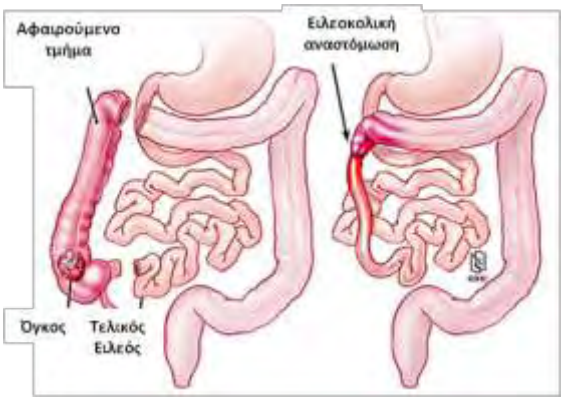
τοξοειδούς αρτηρίας (αρτηρία του *Drummond*), και με τους προηγούμενους αποτελούν τους συχνότερα προσβαλλόμμενους λεμφαδένες από μεταστατικά καρκινικά κύτταρα. Η συνέχεια της αποχέτευσης πραγματοποιείται προς τους επιχώριους λεμφαδένες κατά μήκος των μεγαλύτερων κολικών στελεχών και τέλος προς τους πυλαίους και παραορτικούς λεμφαδένες, αντίστοιχα προς την έκφυση των άνω και των κάτω μεσεντέριων αγγείων. Το ορθό αποχετεύει, εκτός από τους πυλαίους και παραοτικούς, σε μικρό ποσοστό και προς τους βουβωνικούς λεμφαδένες ακολουθώντας την πορεία των αιδοιικών αγγείων.[6]

**Χειρουργικές Επεμβάσεις**

Οι χρησιμοποιούμενες επεμβάσεις παχέος εντέρου είναι:

**<u>Δεξιά και Εκτεταμένη Δεξιά Κολεκτομή</u>**.

Χρησιμοποιείται σε καρκίνους του δεξιου κόλου (τυφλού και ανιόντος η πρώτη και ηπατικής καμπής και εγγύς τμήματος εγκαρσίου η δεύτερη). Οδηγεί στην αφαίρεση 5-10 εκ. τελικού ειλεού, ανιόντος κόλου και εγγύς τμήματος του εγκαρσίου, μέχρι τη μέση κολική η πρώτη, ενώ στην εκτεταμένη επέμβαση αφαιρούνται τα 2/3 του εγκαρσίου κόλου μαζί με τη μέση κολική στην έκφυσή της. Η αποκατάσταση της συνέχειας του εντέρου γίνεται με τη δημιουργία ειλεοκολικής αναστόμωσης. Εικ 2 Επιπλοκές της επέμβασης μπορεί να είναι κάκωση ουρητήρα και 12δακτύλου ή και σπληνική στην περίπτωση που κινητοποιηθεί και η σπληνική καμπή για τη δημιουργία της αναστόμωσης. Η διάσπαση της αναστόμωσης είναι επιπλοκή που αφορά σε κάθε επέμβαση κολεκτομής και αποκατάστασης.



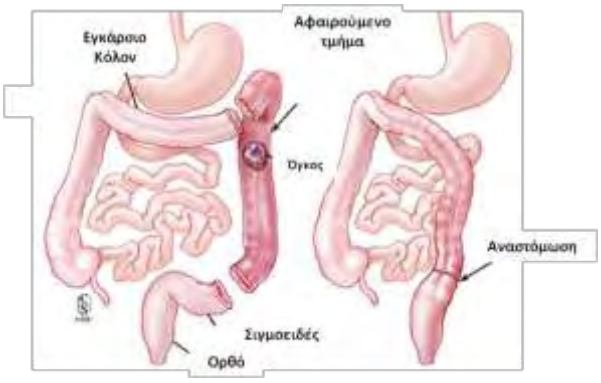

**Εικόνα 2. Δεξιά Κολεκτομή**

**<u>Εγκαρσιεκτομή</u>**

Αφορά στην εκτομή μόνο του εγκαρσίου για όγκους της μεσότητας αυτού, και πραγματοποιείται σπάνια λόγω σπάνιας εντόπισης της νόσου στο εγκάρσιο κόλον. Απαιτεί ευρείες κινητοποιήσεις (ανιόντος, κατιόντος και ηπατικής και σπληνικής καμπής) για τη δημιουργία μιας καλά αγγειούμενης και χωρίς τάση αναστόμωσης.

**<u>Αριστερή Κολεκτομή</u>**

Αφορά στην αφαίρεση του άπω τμήματος του εγκαρσίου και του κατιόντος για όγκους στην αντίστοιχη περιοχή. Εικ 3 Η έκταση της εκτομής μπορεί να προσαρμοσθεί ανάλογα με τους κλάδους της αριστερής κολικής αρτηρίας. Κυριότερες επιπλοκές είναι η κάκωση σπληνός και αριστερού ουρητήρα.



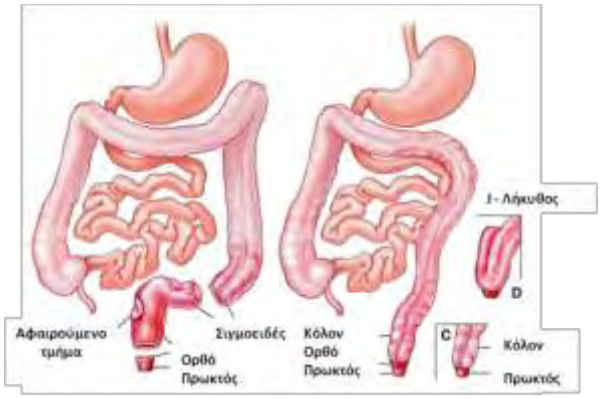

**Εικόνα 3 Αριστερή Κολεκτομή**

**<u>Χαμηλή Πρόσθια Εκτομή</u>**

Αφορά στην αφαίρεση του σιγμοειδούς και τμήματος του ορθού, για όγκους στις αντίστοιχες ανατομικές θέσεις. Για όγκους χαμηλά στο ορθό είναι απαραίτητη και η αφαίρεση του μεσοορθού, τουλάχιστον 5 εκ.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

απώτερα από το σημείο της βλάβης. Εικ 4 Η αποκατάσταση γίνεται με τη δημιουργία αναστόμωσης μεταξύ κατιόντος και ορθού, επειδή δε χαρακτηρίζεται από υψηλότερα ποσοστά διάσπασης της αναστόμωσης (10%), σε περίπτωση τάσης αυτής ή και επισφαλούς αγγείωσης, ακόμη και μετά κινητοποίηση της σπληνικής καμπής, συστήνεται η δημιουργία προσωρινής παρακαμπτήριας αναστόμωσης.




**Εικόνα 4. Χαμηλή Πρόσθια Εκτομή**

**Υφολική Κολεκτομή**

Αφορά στην αφαίρεση όλου του παχέος εντέρου και του μεγαλύτερου τμήματος του ορθού με δημιουργία ειλεορθικής ή και ειλεοπρωκτικής αναστόμωσης, με διατήρηση του σφιγκτηριακού μηχανισμού και τη δημιουργία νέας ληκύθου, επί ενδείξεων. Ενδείκνυται σε περιπτώσεις πολλαπλών καρκινωμάτων του εντέρου (κληρονομούμενα σύνδρομα), ελκώδους κολίτιδας και γενικά καταστάσεων που πάσχει όλο το παχύ έντερο.

**Κοιλιοπερινεϊκή Εκτομή**

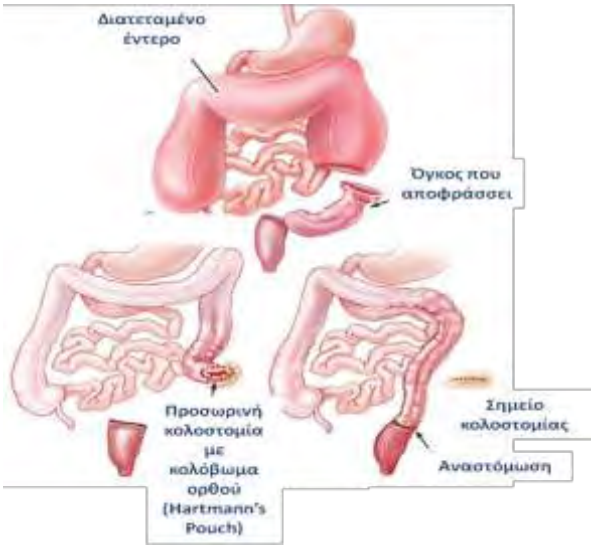
Αφορά στην αφαίρεση του ορθού και του πρωκτού με δημιουργία μόνιμης τελικής κολοστομίας, σε περιπτώσεις ορθικού καρκίνου που δεν είναι δυνατή η επίτευξη υγειών ορίων με διατήρηση του σφιγκτηριακού μηχανισμού καθώς και σε ασθενείς με ανεπάρκεια ή απευθείας διήθηση του σφιγκηριακού μηχανισμού.

**Τοπικές Θεραπείες Ορθικού Καρκίνου**

Σε βλάβες των χαμηλότερων 10 εκ, του ορθού μικρότερες των 3 εκ., κινητές, καλής διαφοροποίησης, εξωφυτικές που καταλαμβάνουν λιγότερο από το ¼ του αυλού του εντέρου και χωρίς λεμφαδενική συμμετοχή στο διορθικό υπερηχογράφημα, τοπική εκτομή όγκου συνοδεύεται από πολύ καλά αποτελέσματα (97% τοπικό έλεγχο και 80% ελεύθερη νόσου επιβίωση).[6] Τέτοιες παρεμβάσεις είναι: η απευθείας διορθική εκτομή σε πολύ χαμηλές βλάβες, η οπίσθια πρωκτοτομή με αφαίρεση του κόκκυγα σε υψηλότερες βλάβες (επέμβαση Kraske), η Διορθική Ενδοσκοπική Μικροχειρουργική με τη χρήση κατάλληλου εξοπλισμού (*Transanal Endoscopic Microsurgery TEM*) και η καυτηρίαση (ηλεκτρική, ραδιενεργός) για παρηγορητικούς λόγους και όχι θεραπευτικούς.

**Επεμβάσεις Απόφραξης**

Η συνηθέστερη επέμβαση σε απόφραξη του παχέος εντέρου από καρκινική μάζα είναι η **επέμβαση Hartmann**, η δύο δηλαδή σταδίων διαδικασία με αφαίρεση του πάσχοντος τμήματος και δημιουργία προσωρινής κολοστομίας και ενός κλειστού περιφερικού κολοβώματος στην οξεία φάση, και αποκατάσταση της συνέχειας του εντέρου σε δεύτερο χρόνο. Εικ.5




**Εικόνα 5. Επέμβαση Hartmann**

Είναι δυνατό ωστόσο να επιχειρηθεί αποκατάσταση σε πρώτο χρόνο μετά είτε υφολική κολεκτομή είτε τμηματική κολεκτομή

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

και διεγχειρητική έκπλυση όλου του παχέος εντέρου (αντένδειξη της σε ένα χρόνο αποκατάστασης αποτελούν η γενικευμένη περιτονίτιδα, ασταθής αιμοδυναμική κατάσταση, πολλαπλοί καρκίνοι, ανοσοκατασταλτική θεραπεία). Αντίθετα, σε απόφραξη του δεξιού κόλου είναι σχετικά ασφαλής η σε ένα χρόνο αποκατάσταση του ορθού.[6]

**Λαπαροσκοπική Κολεκτομή**

Η λαπαροσκοπική κολεκτομή είναι τεχνικά εφικτή και ασφαλής, κυρίως όσον αφορά όγκους του αριστερού κόλου, επιτυγχάνοντας παρόμοια ποσοστά αφαιρεθέντων λεμφαδένων και μήκους παχέος εντέρου με αυτά της ανοικτής επέμβασης. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζονται από σειρά μελετών και αφορούν σε χειρουργούς με την κατάλληλη τεχνική δεξιότητα. Ερωτηματικά σχετικά με την υποτροπή της νόσου στα σημεία των trocars φαίνεται ότι έχουν απαντηθεί πλέον, απενοχοποιώντας τη λαπαροσκοπική κολεκτομή για αυξημένα ποσοστά υποτροπής. Ως τεχνική δε, υπερτερεί της ανοιχτής, λόγω μειωμένου μετεγχειρητικού πόνου και χαμηλής νοσηρότητας, συγκριτικά με την ανοιχτή μέθοδο. Ωστόσο, στην περίπτωση του καρκίνου του ορθού δεν υπάρχουν ακόμη οριστικά αποτελέσματα, καθώς η λαπαροσκοπική αντιμετώπιση φαίνεται μεν να παρουσιάζει αυξημένα ποσοστά R1 εκτομών (μικροσκοπικά υπολειπόμενης νόσου), με τάση βελτίωσης όμως αυτών των ποσοστών στις τελευταίες μελέτες.[65, 164-167]

**Επιβίωση**

Η λεμφαδενική συμμετοχή είναι ο κυριότερος προγνωστικός δείκτης της πενταετούς επιβίωσης. Έτσι, σε νόσο Τ1 και Τ2 με αρνητικούς λεμφαδένες η 5-ετής επιβίωση αγγίζει το 90% και σε Τ3 το 80%. Αντίθετα, η επιβίωση ασθενών με θετικούς λεμφαδένες είναι 74% για Ν1 και 51% για Ν2 νόσο. Σημασία επίσης φαίνεται να έχει και ο αριθμός των αφαιρεθέντων και ελεγχθέντων λεμφαδένων, με καλύτερα ποσοστά επιβίωσης στις εκτομές μεγαλύτερου αριθμού λεμφαδένων. Άλλοι προγνωστικοί παράγοντες είναι η διαφοροποίηση του όγκου και η οξεία εικόνα (διάτρηση ή απόφραξη). Σε ανεγχείρητα νεοπλάσματα η 5-ετής επιβίωση έχει παραμείνει σταθερά κάτω από 10% (8%).[168-170]

**II. ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ**

Η χειρουργική έχει ένδειξη και στην εκτομή μεταστατικών εστιών, στο ήπαρ και τον πνεύμονα, επιλεγμένων ασθενών, συμβάλλοντας καθοριστικά στην βελτίωση της 5ετούς και 10ετούς επιβίωσης. Ειδικά για το ήπαρ, που προσβάλλεται σε ποσοστό άνω του 20% των ασθενών, η χειρουργική εκτομή αυξάνει την πενταετή επιβίωση κατά 25-40% (σε επιλεγμένους ασθενείς η 5-ετής επιβίωση αγγίζει το 58%) και θεωρείται επιτυχής εφόσον έχει επιτευχθεί R0 εκτομή (απουσία μακροσκοπικής-μικροσκοπικής υπολειπόμενης νόσου), έχουν διατηρηθεί τουλάχιστον δύο συνεχόμενα ηπατικά τμήματα και εξασφαλίζεται υπολειπόμενη ηπατική λειτουργία >20%.[171-173] Κύριες αντενδείξεις αποτελούν οι παρακάτω καταστάσεις: ανεγχείρητη εξωηπατική νόσος, εκτεταμένη ηπατική νόσος (εξάπλωση της βλάβης σε πάνω από έξι τμήματα ή κατάληψη>70% του ηπατικού παρεγχύματος ή διήθηση των τριών ηπατικών φλεβών), ανεπαρκής ηπατική λειτουργία (Child B ή C), κακή γενική κατάσταση του ασθενούς.[174] Η λαπαροσκοπική χειρουργική αντιμετώπιση των ηπατικών μεταστάσεων φαίνεται να αποτελεί ασφαλή προοπτική, ωστόσο εκκρεμούν μακροπρόθεσμα δεδομένα για την αξιολόγησή της .[171]

Πνευμονική νόσος συναντάται σε ποσοστό 10-20% των ασθενών και συνήθως συνυπάρχει με εκτεταμένη ηπατική ή διάχυτα μεταστατική νόσο. Η μονήρης βλάβη όπως και οι ολιγάριθμες (2-3) πνευμονικές μεταστάσεις είναι πιο σπάνιες, επιτρέπουν όμως εκτομή σε περιπτώσεις ασθενών χωρίς

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

εικόνα εκτεταμένης νόσου, με καλή αναπνευστική λειτουργία και θέση που να επιτρέπει, όπως και στις ηπατικές μεταστάσεις, εκτομή R0. Η μέση στερνοτομή είναι η τομή εκλογής γιατί επιτρέπει έλεγχο και των δύο πνευμόνων, δεδομένου του 25% ψευδώς αρνητικού αποτελέσματος της αξονικής τομογραφίας. Σε επιλεγμένους ασθενείς, η 5-ετής επιβίωση αγγίζει το 40-43%.[175, 176]

Εγκεφαλικές μεταστάσεις είναι σπάνιες από καρκίνο παχέος εντέρου. Κρανιοτομή και αφαίρεση μπορεί να βελτιώσει την επιβίωση των ελάχιστων εκείνων ασθενών με μοναδική εντόπιση στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Σε περίπτωση μετάχρονων ωοθηκικών μεταστάσεων, που αφορά σε ένα ποσοστό περίπου 8% των γυναικών που υποβάλλονται σε θεραπευτική εκτομή CRC, συστήνεται αφτερόπλευρη ωοθηκεκτομή. Τέλος, σε υποτροπή της νόσου, κυρίως καρκίνου του ορθού, τοπικά στην πύελο, εκτεταμένες εκτομές (εξεντέρωση, εκτομή ιερού οστού), είναι δυνατό να δράσουν ανακουφιστικά.[6]

## Β. ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

### Χημειοθεραπεία

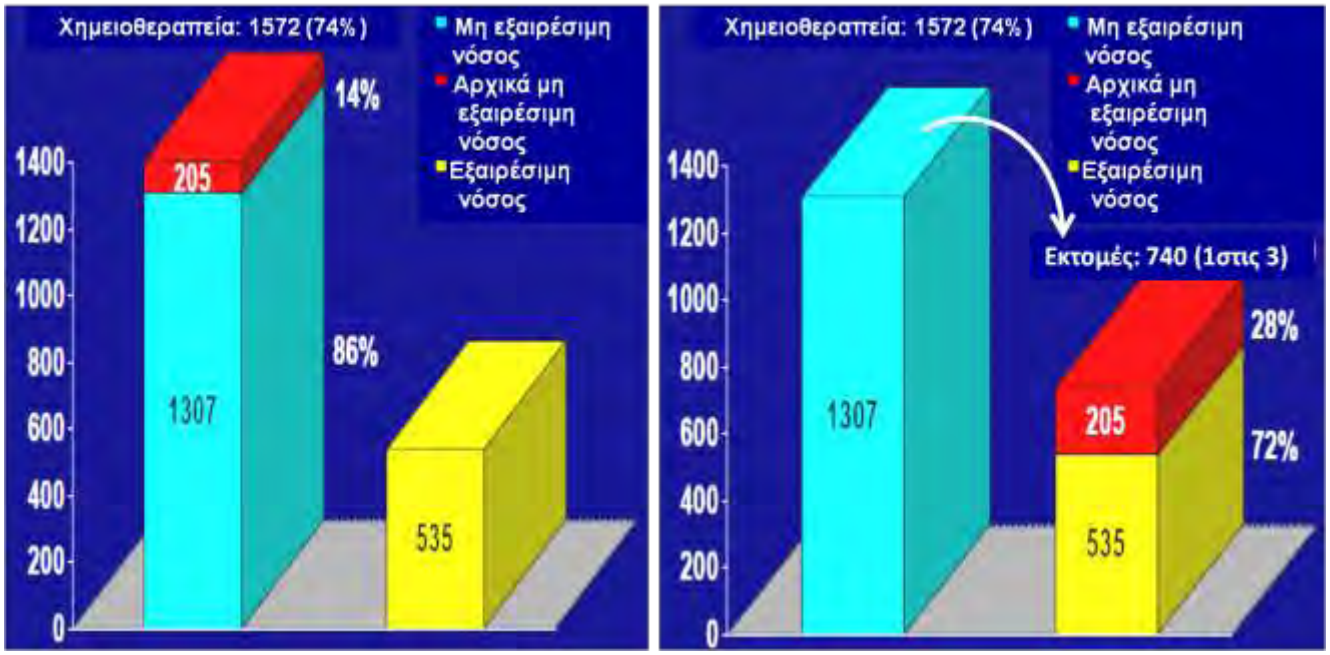
Βασικός πυλώνας της συμπληρωματικής θεραπείας αποτελεί η χορήγηση χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Ο αντιμεταβολίτης **5-φθοριοουρακίλη (5-FU)** είναι ο πιο συχνά χορηγούμενος παράγοντας και αρχικά η χορήγησή του σε συνδυασμό με **λεβαμιζόλη**, έναν ανθελμινθικό παράγοντα με ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες, παρουσίασε σημαντική βελτίωση στη συνολική και ελεύθερη νόσου επιβίωση ασθενών με στάδιο III νόσου. Πιο αποτελεσματικός και λιγότερο τοξικός αποδείχθηκε στη συνέχεια ο συνδυασμός 5-FU με **λευκοβορίνη** (φολινικό οξύ), η οποία διευκολύνει τη δράση της. Το παραπάνω σχήμα είναι 6μηνο και χορηγείται ενδοφλεβίως. Εναλλακτικά, υπάρχει η δυνατότητα p-os χορήγησης **καπεσιταβίνης**, που συνιστά προφάρμακο της 5-φθοριοουρακίλης. Ένα σύνολο μελετών συμπεραίνουν, πως ένας νέος μη κλασσικός αλκυλιωτής, η **οξαλιπλατίνη** (μια τρίτης γενιάς πλατίνη), σε συγχορήγηση με φθοριοουρακίλη βελτιώνει τα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης. Αυτό μεγάλες μελέτες δείχνουν να μην επιβεβαιώνεται σε ασθενείς άνω των 70 ετών, οπότε συνυπολογίζοντας και την αυξημένη τοξικότητα, το διπλό σχήμα φαίνεται να μην ωφελεί αυτήν την κατηγορία ασθενών.[65] Τέλος, η συγχορήγηση ενός αναστολέα της τοποϊσομεράσης Ι, της **ιρινοτεκάνης**, βελτιώνει την επιβίωση σε μεταστατική νόσο και μελετάται στο επίπεδο της επικουρικής θεραπείας.[6]

Η χημειοθεραπεία έχει ένδειξη καταρχάς σε ασθενείς σταδίου III, υπό την έννοια της επικουρικής θεραπείας μετά το χειρουργείο. Η μείωση της θνητότητας υπολογίζεται στο 30%, γεγονός που ισοδυναμεί με αύξηση των ποσοστών επιβίωσης κατά 10-15%. Η νόσος σταδίου II δεν είναι σαφές ακόμα αν αποτελεί ένδειξη για χορήγηση χημειοθεραπείας, ωστόσο οι Αμερικάνικες κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν μονοθεραπεία στο στάδιο αυτό, επί παρουσίας παραγόντων υψηλού κινδύνου για υποτροπή, όπως χαμηλής διαφοροποίησης όγκοι, μικροαγγειακή και περινευρική διήθηση, λιγότεροι από 12 εκτομηθέντες λεμφαδένες στο χειρουργικό παρασκεύασμα, διηθημένα όρια εκτομής, αποφρακτικού τύπου όγκοι, διάτρηση εντερικού τοιχώματος.[177, 178]

Σε μεταστατική νόσο η χημειοθεραπεία προσφέρει στη βελτίωση της επιβίωσης, τον περιορισμό των συμπτωμάτων, τη βελτίωση της ποιότητας ζωής και κυρίως στην ογκομείωση εστιών του ήπατος ή και πνευμόνων, με σκοπό τη μετατροπή ανεγχείρητης νόσου σε χειρουργήσιμη. Αναλυτικότερα, στο 40% των ασθενών με προχωρημένη νόσο, η επιβίωση από 12 μήνες περίπου, δύναται να αυξηθεί στα 2 έτη εφόσον στη μονοθεραπεία προστεθούν οξαλιπλατίνη ή ιρινοτεκάνη ή και παράγοντες στοχευμένης θεραπείας. [65, 171] Μόνο ένα 10-25% των ασθενών με ηπατική

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

μεταστατική νόσο είναι υποψήφιοι για χειρουργική αντιμετώπιση. Η μετατροπή αρχικά ανεγχείρητων ηπατικών βλαβών σε χειρουργήσιμες κατόπιν προηγηθείσας χημειοθεραπείας, η χρήση δηλαδή νεοεπικουρικής θεραπείας, είναι εφικτή σε ένα ποσοστό έως και 15% περίπου.[179, 180] Εικ. 6




**Εικόνα 6. Μελέτη σε 2047 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου και ηπατικές μεταστάσεις (1988-2003) . Αύξηση του ποσοστού εξαιρεσιμότητας των ηπατικών μεταστάσεων κατά 15% περίπου μετά χορήγηση νεοεπικουρικής θεραπείας.**

**Στοχευμένη θεραπεία.**

Η ραγδαία πρόοδος στη μοριακή βιολογία και τη βιοτεχνολογία παρέχει στη συστηματική θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου καινοτόμες λύσεις, με τη χορήγηση παραγόντων, όπως μονοκλωνικά αντισώματα. Πρόκειται για βιολογικά προϊόντα, τα οποία κατευθύνονται εναντίον πολύ ειδικών αντιγονικών στοιχείων, όπως του αγγειακού ενδοθηλιακόυ αυξητικού παράγοντα (VEGF) ή του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF). Τα αντισώματα προκύπτουν μέσα από κατάλληλη διαδικασία, γνωστή ως τεχνολογία του υβριδισμού και είναι είτε χιμαιρικά/εξανθρωποιημένα είτε πλήρως ανθρώπινα.

Έτσι, λοιπόν, τα ανθρώπεια bevacizumab (anti-VEGF), panitumumab (anti-EGFR) και το χιμαιρικό cetuximab (anti-EGFR) αποτελούν τους κύριους εκπροσώπους αυτής της κατηγορίας και έχουν ένδειξη στη μεταστατική νόσο του ορθοκολικού καρκίνου, είτε σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία είτε ως μονοθεραπεία. Ωστόσο, οι μελέτες παρουσιάζουν προς το παρόν σχετικά χαμηλή επιρροή στους δείκτες επιβίωσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρουσία wild type KRAS μεταλλάξεων, φαίνεται να συνδέεται με καλή ανταπόκριση στη χορήγηση anti-EGFR παραγόντων, με αποτέλεσμα cetuximab και panitumumab να αποτελούν θεραπευτική επιλογή για αυτούς τους ασθενείς. Αντίθετα,η παρουσία BRAF μεταλλάξεων φαίνεται να αποτελεί κακό προγνωστικό παράγοντα για την ανταπόκριση στη θεραπεία με anti-EGFR παράγοντες.[65, 181-185]

**Ακτινοθεραπεία**

Η ακτινοθεραπεία έχει ένδειξη στην αντιμετώπιση κυρίως του καρκίνου του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

ορθού, και σε μικρό ποσοστό ασθενών με κολικό καρκίνο και R1 εκτομές, σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία, είτε ως νεοεπικουρική είτε ως επικουρική θεραπεία. Χορηγείται τόσο στην τοπικά προχωρημένη όσο και την μεταστατική νόσο. Σκοπός της είναι η μείωση των ποσοστών τοπικής υποτροπής, τα οποία φαίνεται να παρουσιάζουν ευρεία διακύμανση από 1-30%.[149, 186, 187] Η προεγχειρητική ακτινο-χημειοθεραπεία θεωρείται πιο ασφαλής και προτιμάται, συγκριτικά με την επικουρική εναλλακτική επιλογή, δεδομένου ότι κατόπιν νεοεπικουρικής ακτινοχημειοθεραπείας ένα 20% των ασθενών θα διατηρούν θετικούς λεμφαδένες. Η διεγχειρητική εφαρμογή της συνιστά πολλα υποσχόμενη επιλογή στην αντιμετώπιση τοπικών υποτροπών.[188-190]

**Άλλες συμπληρωματικές θεραπείες**

Αφορούν κυρίως στην αντιμετώπιση μεταστατικής νόσου στο ήπαρ και περιλαμβάνουν την ενδαρτηριακή έγχυση χημειοθεραπευτικών δια της ηπατικής αρτηρίας, τον χημειοεμβολισμό ηπατικών μεταστάσεων και τον καυτηριασμό αυτών με τη χρήση ραδιοσυχνοτήτων (RadioFrequency Ablation RFA), με συνοδό ή όχι εκτομή των νεκρωθέντων τμημάτων.[172, 191-197] Οι περισσότερες από τις παραπάνω τεχνικές χαρακτηρίζονται από αμφιλεγόμενα αποτελέσματα, και παραμένουν αντικείμενο συνεχιζόμενης έρευνας.

## 11. ΠΡΟΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η καρκινογένεση στο παχύ έντερο είναι μια μακροχρόνια διαδικασία, που κυμαίνεται από 5 έως 15 έτη. Η πρόγνωση της νόσου εξαρτάται άμεσα από την πρώιμη διάγνωση, γεγονός που αποδεικνύεται με σαφήνεια από τα παρακάτω στατιστικά δεδομένα του Αμερικάνικου Εθνικού Ινστιτούτου για τον Καρκίνο για την περίοδο 2001-2007,σε άνδρες και γυναίκες.[198] Πιν. 1

| Στάδιο διάγνωσης | Κατανομή ανά στάδιο(%) | 5ετής επιβίωση (%) |
|---|---|---|
| **Τοπική νόσος** | 39 | 90.1 |
| **Διήθηση λεμφαδένων** | 37 | 69.2 |
| **Απομακρυσμένες μεταστάσεις** | 20 | 11.7 |
| **Άγνωστο** | 5 | 33.3 |

**Πίνακας 1. Ποσοστό σταδίων ορθοκολικού καρκίνου κατά τη διάγνωση.[198]**

Εύκολα συνάγεται το συμπέρασμα, λοιπόν, πως η φυσική ιστορία του ορθοκολικού καρκίνου ακολουθεί τέτοιο πρότυπο, που καθιστά ζωτικής σημασίας τον προσυμπτωματικό έλεγχο. Ο σκοπός διερεύνησης ασυμπτωματικών ασθενών είναι αφενός η έγκαιρη διάγνωση πρώιμων καρκινικών όγκων και ο άμεσος θεραπευτικός χειρισμός τους, αφετέρου η εντόπιση προκαρκινωματωδών βλαβών του εντερικού βλεννογόνου και η κατάλληλη αντιμετώπισή τους.

Οι προτεινόμενες εξετάσεις προσυμπτωματικού ελέγχου κατανέμονται σε δύο κατηγορίες: 1) εξετάσεις κοπράνων για μια πρώιμη διαγνώση, όπως εξέταση κοπράνων για λανθάνουσα αιμορραγία, ανοσοϊστοχημική εξέταση και εξέταση DNA κοπράνων και 2) εξετάσεις απεικόνισης του εντέρου, όπως σιγμοειδοσκόπηση με εύκαμπτο ενδοσκόπιο, κολονοσκόπηση, βαριούχος υποκλισμός διπλής αντίθεσης και τέλος αξονική κολονογραφία.[199]

**Εξέταση κοπράνων για λανθάνουσα αιμορραγία.** Ο καρκίνος του παχέος εντέρου και οι πολύποδες αιμορραγούν περισσότερο, συγκριτικά με τον φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο, η δε αιμορραγία είναι συνήθως περιοδική και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

εξαρτάται από το μέγεθος της βλάβης. Για την ανεύρεση μικροσκοπικής αιμορραγίας δύο δείγματα από τρεις διαδοχικές κενώσεις εξετάζονται για την ανίχνευση αιμοσφαιρίνης. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η χαμηλή ειδικότητα της, αφού δεν προσδιορίζεται η πηγή της αιμορραγίας, αλλά και η εξάρτηση των αποτελεσμάτων από ληψη συγκεκριμένων τροφών και φαρμάκων, με αποτέλεσμα οδηγίες για τροποποίηση της διατροφής και ενδεχομένως της φαρμακευτικής αγωγής να είναι απαραίτητες.[149, 178] Πολλές μελέτες αποδεικνύουν ότι η διενέργεια της μεθόδου ανά διετία, δύναται να μειώσει τη θνητότητα του ορθοκολικού καρκίνου 16%.[65] Ήδη το Ηνωμένο Βασίλειο έχει ορίσει εθνικό πρόγραμμα προσυμπτωματικού ελέγχου βασισμένο στη μέθοδο αυτή, που αφορά εξέταση ανδρών και γυναικών ηλικίας 60-69 ετών ανά διετία. Ένα 2% αυτών που εξετάζονται παρουσιάζουν παθολογικά αποτελέσματα και παραπέμπονται για περαιτέρω έλεγχο.[149] Οι Αμερικάνικες κατευθυντήριες οδηγίες, ωστόσο, προτείνουν ετήσια επανάληψή της σε πληθυσμό μέσου κινδύνου. [199]

**Ανοσοϊστοχημική εξέταση κοπράνων**. Η μέθοδος έχει παρόμοια ευαισθησία, αλλά μεγαλύτερη ειδικότητα, συγκριτικά με την εξέταση κοπράνων για αίμα. Δεν εξαρτάται από τη διατροφή ή τη λήψη φαρμάκων, χρειάζονται ένα ή δύο δείγματα κοπράνων και είναι πιο ειδική στην αιμορραγία από το κατώτερο πεπτικό, ανιχνεύοντας ανθρώπινη αιμοσφαιρίνη ανηγμένη από πεπτικά ένζυμα. Έχει ένδειξη ετησίως και θετικό αποτέλεσμα επιβάλλει περαιτέρω έλεγχο.[149, 178]

**Εξέταση DNA κοπράνων**. Παρότι πρόκειται για μια νέα μέθοδο οι πρόσφατες Αμερικάνικες Κατευθυντήριες Οδηγίες την συμπεριλαμβάνουν ως επιλογή, η επαναληψημότητά της, όμως, δεν έχει σαφώς καθοριστεί προς το παρόν.[199]

**Σιγμοειδοσκόπηση με εύκαμπτο ενδοσκόπιο 60cm.** Η εξέταση δύναται να ανιχνεύσει ένα 40-60% των ορθοκολικών καρκίνων και πολυπόδων, εφόσον το ενδοσκόπιο προωθηθεί τουλάχιστον 40cm από τον πρωκτό και διενεργείται μόνη της ή σε συνδυασμό με εξέταση κοπράνων. Πραγματοποιείται εύκολα, με ελάχιστη προετοιμασία του εντέρου (χορήγηση ενός υποκλυσμού), χωρίς να προϋποθέτει καταστολή του εξεταζόμενου, με ενδειξή ανά 5ετία για πληθυσμό μέσου κινδύνου.[178] Βρετανική μελέτη σε 170.000 εξεταζόμενους, σχετικά με την αξία της μονήρους σιγμοειδοσκόπησης, στην ηλικία των 60 ετών περίπου, ως πρότυπο προσυμπτωματικού ελέγχου και την επίδρασή της στην επίπτωση και τη θνητότητα της νόσου, κατέδειξε μείωση τους έως 33% και 43% αντίστοιχα.[199]

**Κολονοσκόπηση**. Θεωρείται η πιο διαδεδομένη μέθοδος προσυμπτωματικού ελέγχου, ειδικά στην Αμερική, ωστόσο μελέτες αποδεικνύουν αλλαγή στην άποψη αυτή.[199] Οι επιπλοκές της και το γεγονός ότι απαιτείται ένα 48ωρο για την προετοιμασία, την πραγματοποίησή της και την ανάνηψη από την καταστολή την καθιστούν λιγότερο δημοφιλή. Η δεκαετία αποτελεί ασφαλές μεσοδιάστημα για πληθυσμό μέσου κινδύνου, ενώ συντομότερα μεσοδιαστήματα διενέργειας της εξέτασης έχουν ένδειξη σε πληθυσμούς αυξημένου ή υψηλού κινδύνου, καθώς και σε περιπτώσεις ανεπαρκούς ολοκλήρωσης της εξέτασης.[178]

**Βαριούχος υποκλυσμός διπλής αντίθεσης**. Παρότι συμπεριλαμβάνεται ως επιλογή στις πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες στις ΗΠΑ, ανά 5 ετία σε μέσου κινδύνου πληθυσμό, εφόσον δεν είναι διαθέσιμες άλλες μέθοδοι, δεν είναι τόσο διαδεδομένη όσο οι υπόλοιπες.[178]

**Κολονογραφία υπό αξονική τομογραφία-εικονική κολονογραφία.** Περιγράφηκε πρώτη φορά το 1994 και βασίζεται στην παροχή δισδιάστατων ή τρισδιάστατων απεικονίσεων του εντερικού αυλού, κατόπιν κατάλληλης επεξεργασίας λήψεων υπό αξονικό τομογράφο. Δεν προϋποθέτει καταστολή του εξεταζόμενου ή ενδοσκόπηση, ενώ η δόση της ακτινοβολίας έχει μειωθεί συγκριτικά με το παρελθόν, λόγω

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

του εξελιγμένου τεχνολογικού εξοπλισμού. Χαρακτηριστικά, η μέση ποσότητα ακτινοβολίας από την κολονογραφία υπολογίζεται στα 8.8mSv, της απλής CT κοιλίας στα 15-20mSv και στο βαριούχο υποκλυσμό 15mSv.[200] Ο κίνδυνος καρκινογένεσης λόγω έκθεσης σε ακτινοβολία, από την εν λόγω εξέταση εκτιμάται <0,14%, για κάθε εφαρμογή της. Απαιτεί προετοιμασία του εντέρου, λήψη συγκεκριμένης ποσότητας σκιαγραφικού και διάταση, η οποία επιτυγχάνεται με εμφύσηση CO2 μέσω ορθικού καθετήρα. Η ευαισθησία της υπολογίζεται περίπου 88,7% για βλάβες διαμέτρου τουλάχιστον 6mm και 93,9% για βλάβες 8-10mm, παρόμοια με της κολονοσκόπησης. Δεν επιτρέπει τη λήψη βιοψιών, ο εξεταζόμενος πρέπει να υποβληθεί σε κολονοσκόπηση επί ευρημάτων >5mm στην κολονογραφία και έχει υψηλό κόστος. Επί απουσίας ευρημάτων, οι Αμερικάνικες οδηγίες προτείνουν επανέλεγχο ανά 5ετία.[178, 200]

Ένα πρόγραμμα προσυμπτωματικού ελέγχου για τον καρκίνο του παχέος εντέρου προϋποθέτει την ταξινόμηση του πληθυσμού σε ομάδα μέσου και αυξημένου και υψηλού κινδύνου. Μέσου κινδύνου θεωρούνται τα άτομα >50 ετών, με ελεύθερο ατομικό ιστορικό αδενώματος, καρκίνου παχέος εντέρου, ΙΦΝΕ, αρνητικό οικογενειακό ιστορικό ορθοκολικού καρκίνου ή συνδρόμου Lynch σε α' βαθμού ή σε τουλάχιστον δύο β' βαθμού συγγενείς. Ο εφ'όρου ζωής κίνδυνος εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου κυμαίνεται περίπου στο 5%.[149] Μάλιστα το Αμερικάνικο Ινστιτούτο για τον καρκίνο προτείνει ένα ερωτηματολόγιο, το οποίο είναι εύκολα προσβάσιμο διαδικτυακά (http//www.cancer.gov/colorectalcancerrisk), βασισμένο σε παράγοντες κινδύνου, με σκοπό τον υπολογισμό του κινδύνου εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου, κυρίως για τα άτομα αυτής της κατηγορίας. Οι μελέτες για την ακρίβεια αυτού του ερωτηματολογίου, συνεχώς παρέχουν στοιχεία για την ενημέρωσή του, αυξάνοντας την αξιοπιστία του.[201]

Οι επιλογές για προσυμτωματικό έλεγχο σε αυτήν την κατηγορία είναι τρείς με έναρξη την ηλικία των 50 ετών:

α) κολονοσκόπηση ανά δεκαετία επί απουσίας ευρημάτων ή επί εύρεσης υπερπλαστικών πολυπόδων, ενώ σε διάγνωση αδενωμάτων-οδοντοειδών άμισχων πολυπόδων, ακολουθείται ο αλγόριθμος αυξημένου κινδύνου,

β) εξέταση κοπράνων ετησίως με σιγμοειδοσκόπηση ανά πενταετία και επί ευρημάτων κολονοσκόπηση,

γ) σιγμοειδοσκόπηση ανά πενταετία επί απουσίας ευρημάτων ή και επί υπερπλαστικών πολυπόδων. Η αξονική κολονογραφία ή ο βαριούχος υποκλυσμός διπλής αντίθεσης ανά πενταετία, συνιστούν επίσης εναλλακτικές επιλογές.[178, 200]

Αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου στο παχύ έντερο, δηλαδή εφ'όρου ζωής πιθανότητα περίπου 10-30%, παρουσιάζουν τα άτομα με θετικό ατομικό ιστορικό για αδενώματα-άμισχους οδοντοειδείς πολύποδες, ορθοκολικό καρκίνο, ΙΦΝΕ, ή και θετικό οικογενειακό ιστορικό για αδενώματα-καρκίνο παχέος εντέρου. Επίσης, οι σακχαροδιαβητικοί ασθενείς και οι BRCA θετικοί ασθενείς με καρκίνο μαστού, θεωρούνται αυξημένου κινδύνου, ωστόσο δεν συμπεριλαμβάνονται σαφώς στις αμερικάνικες κατευθυντήριες οδηγίες. Κάθε μια κατηγορία, οφείλει να ακολουθεί διαφορετικό πρωτόκολο παρακολούθησης.

Χαμηλού κινδύνου ενδοσκοπικά ευρήματα στο ατομικό ιστορικό, δηλαδή αδενώματα συνολικά όχι πάνω από δύο, μικρότερα του 1cm, σωληνώδους τύπου, επιτρέπουν κολονοσκοπική παρακολούθηση στην πεντετία. Αντίθετα, σε λαχνωτά αδενώματα, σε βλάβες υψηλής δυσπλασίας, ή και σε αδενώματα 3-10 συνολικά σε αριθμό η κολονοσκόπηση επαναλαμβάνεται σε 3 έτη, ενώ σε αδενωματώδεις βλάβες που υπερβαίνουν τις δέκα, ακολουθείται ο αλγόριθμος της κατηγορίας υψηλού κινδύνου.

Σε θετικό ατομικό ιστορικό θεραπευθέντος ορθοκολικού καρκίνου η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

κολονοσκόπηση επαναλαμβάνεται στον ένα χρόνο. Επί προκαρκινωματώδους ιστολογικού ευρήματος, επανάληψη της σε 1-3 έτη, ενώ επί απουσίας ευρήματος συνιστάται επανάληψη σε 2-3 έτη και έκτοτε κάθε 3-5 έτη.

Ασθενείς με ατομικό ιστορικό ΙΦΝΕ χρήζουν έναρξης ελέγχου με κολονοσκόπηση 8-10 έτη μετά την έναρξη των συμπτωμάτων τους, η οποία επαναλαμβάνεται κάθε 1-2 έτη.

Σε άτομα με θετικό οικογενειακό ιστορικό, συνιστάται έναρξη ελέγχου με κολονοσκόπηση μετά τα 40 έτη, ή σε ηλικία 10 έτη νεότερη από την ηλικία διάγνωσης του προβλήματος του συγγενικού προσώπου. Η κολονοσκόπηση επαναλαμβάνεται κάθε 3-5 έτη. Επιπλέον, αυτές οι περιπτώσεις χρήζουν εκτίμησης, με βάση τα κριτήρια της Μπεθεσντά και του Άμστερνταμ, με σκοπό την αξιολόγηση της πιθανότητας ύπαρξης κληρονομούμενης μορφής.

Ως υψηλού κινδύνου χαρακτηρίζονται τα άτομα με κληρονομούμενη μορφή ορθοκολικού καρκίνου, με πιθανότητα εμφάνισης της νόσου πάνω από 50%. Οι κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν κολονοσκόπηση με πρώϊμη έναρξη και τακτική επανεξέταση, γενετικές εξετάσεις και γενικότερο εξωεντερικό προληπτικό έλεγχο,που επιβάλλεται ανάλογα με το κλινικό προφίλ του εκάστοτε συνδρόμου. [178, 199]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

# Α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1. ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΠΡΟΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ: ΕΙΝΑΙ ΕΠΑΡΚΗΣ;

Η αντιμετώπιση του καρκίνου του παχέος εντέρου έχει παρουσιάσει τα τελευταία χρόνια βελτίωση όσον αφορά την επιβίωση των ασθενών. Αν και η **πρωτογενής πρόληψη**, δηλαδή η αιτιολογική, δεν είναι ακόμη εφικτή, η **δευτερογενής πρόληψη**, η στηριζόμενη δηλαδή στην πρώιμη διάγνωση, έχει συμβάλλει αρκετά σε αυτή τη βελτίωση. Όπως επίσης έχει συμβάλλει και η καλύτερη **θεραπευτική τακτική** (χειρουργική εξαίρεση πρωτοπαθούς εστίας- ηπατικών μεταστάσεων, επικουρική- νεοεπικουρική χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία, ανοσοθεραπεία).

Παρ' όλα αυτά, περίπου **50% των ασθενών που υποβάλλονται σε θεραπευτική χειρουργική αφαίρεση** καρκίνου του παχέος εντέρου, έχουν δηλαδή προεγχειρητικά σταδιοποιηθεί ως πάσχοντες από τοπική νόσο, εμφανίζουν υποτροπή, συνηθέστερα στο ήπαρ, συχνότερα στα 2 πρώτα χρόνια και **πεθαίνουν τελικά από διασπορά της νόσου.**

Φαίνεται λοιπόν, ότι **οι ασθενείς** που διαγιγνώσκονται με καρκίνο του παχέος εντέρου και σε καμία προεγχειρητική εξέταση, με βάση τα σύγχρονα πρωτόκολλα σταδιοποίησης, δεν έχουν ευρήματα επέκτασης της νόσου, είναι δηλαδή **σταδίου Ι**, **δεν αποτελούν ομοιογενή ομάδα**, όπως προκύπτει από τη διαφορετική κλινική τους πορεία μετά τον ενδεδειγμένο θεραπευτικό χειρουργικό χειρισμό. Και δεν αποτελούν οι παραπάνω ασθενείς ομοιογενή ομάδα γιατί και ο καρκίνος του παχέος εντέρου δεν παρουσιάζει ομοιογενή βιολογική συμπεριφορά. Η τελευταία είναι που καθορίζει εντέλει την πρόγνωση των ασθενών, οπότε τα διαφορετικά αποτελέσματα που έχουμε αντικατοπτρίζουν, σε ένα βαθμό, την αδυναμία των τρεχουσών μεθόδων απεικόνισης και ιστολογικής ταυτοποίησης, να διακρίνουν ακριβέστερα υποσύνολα ασθενών, τα οποία θα αντιμετωπίζονταν πιο στοχευμένα και άρα αποτελεσματικά.

Ακριβώς αυτή την **ανάγκη ταξινόμησης** και διαφοροποίησης των πασχόντων από καρκίνο του παχέος εντέρου, **σε ομάδες** με παρόμοια χαρακτηριστικά της νόσου και **παρόμοια πρόγνωση**, με στόχο εξειδικευμένο ανά ομάδα αλγόριθμο θεραπείας και άρα την καλύτερη δυνατή επιβίωση, προσπαθεί να καλύψει η σύγχρονη ιατρική έρευνα.

Θα μπορούσε κανείς να αναγνωρίσει **τρεις κατευθύνσεις** αυτής της έρευνας: προς την πλευρά της **απεικόνισης,** με αναζήτηση εφαρμογών για ανίχνευση της νόσου σε πολύ πρώιμα στάδια, είτε σε ανατομικό είτε σε λειτουργικό επίπεδο, προς την πλευρά της **βιολογίας- αιτιοπαθογένειας**, με αναζήτηση, χαρτογράφηση και συσχέτιση κυτταρικών μονοπατιών, σημαντικών στη διαδικασία της καρκινογένεσης και προς την πλευρά τέλος της **εξειδικευμένης θεραπείας,** με χρήση πιο αποτελεσματικών και λιγότερο βλαβερών χημειοθεραπευτικών, ακτινοθεραπειών και ορμονο/ ανοσοθεραπειών καθώς και συνδυασμού αυτών σε επικουρικό/ νέο-επικουρικό/ παρηγορητικό επίπεδο.

Στα πλαίσια των ήδη υπαρχουσών απεικονιστικών τεχνικών- CT, US, MRI, PET- συνεχείς τεχνολογικές αναβαθμίσεις (γρηγορότεροι επεξεργαστές, νεότερα σκιαγραφικά, Doppler, ελαστογραφία, αρμονικά κύματα, ισχυρότεροι μαγνήτες, νεότερες ουσίες λειτουργικής δράσης, συνδυασμοί των ανωτέρω) καθώς και νέοι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

αλγόριθμοι ανάλυσης των δεδομένων, οδηγούν σε **ανάδειξη επιπλέον διαγνωστικών δυνατοτήτων**. Κάθε μια από αυτές δοκιμάζεται ως προς την ευαισθησία, την ειδικότητα και την ακρίβειά της στην ορθή ανίχνευση του καρκίνου του παχέος εντέρου

. Μια από αυτές τις τεχνικές είναι και ο **Δείκτης Αιμάτωσης του Ήπατος με υπερήχους**, το λεγόμενο **Doppler Perfusion Index (DPI)**, στο οποίο γίνεται αναφορά παρακάτω.

Από την άλλη, έχει ταυτοποιηθεί σημαντικός αριθμός **κυτταρικών μονοπατιών** που εμπλέκονται στη διαδικασία της καρκινογένεσης- κυτταρικού πολλαπλασιασμού, απόπτωσης, μεσεγχυματογενούς μεταμόρφωσης, μετακίνησης- προσκόλλησης, διήθησης, αγγειογένεσης, ανοσοτροποποίησης- καθώς **και μορίων** που παίζουν ρόλο στη ρύθμιση και σύνδεση αυτών των μονοπατιών. Μεταξύ αυτών, το πρωτεϊνικό μόριο **Ενδοθηλίνη-1**, στην οποία γίνεται αναφορά παρακάτω, φαίνεται να συμμετέχει σε πληθώρα κυτταρικών διεργασιών που οδηγούν στην καρκινογένεση και στη συντήρηση του αρχικού καρκινικού φορτίου.

Τέλος, ενώ συντελείται συνεχής βελτίωση των υπαρχουσών μορφών επικουρικής θεραπείας, μεγαλύτερη υπόσχεση διαφαίνεται στο επίπεδο της **μοριακής θεραπείας**, όπου γίνεται χρήση των προαναφερθέντων μονοπατιών και μορίων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## 2. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ

Ως γνωστόν, το συχνότερο σημείο μετάστασης του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι το ήπαρ.[202] Από τους ασθενείς που διαγιγνώσκονται με καρκίνο σε κάποιο σημείο του παχέος εντέρου, 15- 25% έχουν ήδη μεταστατική νόσο στο ήπαρ, ενώ περίπου οι μισοί από αυτούς που δεν έχουν εμφανή διασπορά της νόσου και υποβάλλονται σε θεραπευτική εκτομή του όγκου, αναπτύσσουν οι περισσότεροι σε χρονικό διάστημα 2 ετών ηπατικές μεταστάσεις.[203] Τα τελευταία χρόνια έχει βελτιωθεί δραματικά η αντιμετώπιση της ηπατικής μεταστατικής νόσου από καρκίνο παχέος εντέρου, με την εφαρμογή όλο και πιο διευρυμένων ενδείξεων χειρουργικής εκτομής των ηπατικών μεταστάσεων, τη χορήγηση νεοεπικουρικής χημειοθεραπείας για τη μετατροπή αρχικά μη εξαιρέσιμων βλαβών σε χειρουργήσιμες καθώς και την ανακάλυψη και χρήση νεώτερων χημειοθεραπευτικών και μοριακών θεραπειών στο μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου. Η ομαδική αυτή προσέγγιση έχει οδηγήσει σε σημαντική αύξηση της ελεύθερης νόσου και της συνολικής επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου σταδίου IV.[204] Χαρακτηριστικά, η 5-ετής επιβίωση ασθενών με ευνοϊκούς προγνωστικούς δείκτες (καλή βιολογική κατάσταση-ASA<2, μικρό πρωτοπαθές καρκινικό φορτίο- T, N- και μικρό αριθμό ηπατικών μεταστάσεων) κυμαίνεται πλέον από 30% έως και 70%.[205, 206]

Ωστόσο, παρά τις εντυπωσιακές εξελίξεις τόσο στο επίπεδο της χειρουργικής αφαίρεσης/ αντιμετώπισης των ηπατικών μεταστάσεων όσο και στο επίπεδο της συστηματικής θεραπείας, ο καρκίνος του παχέος εντέρου παραμένει η δεύτερη σε συχνότητα αιτία θανάτου από καρκίνο στις δυτικές κοινωνίες. Η συνολική 5-ετης επιβίωση, παρά τη βελτίωση σε σχέση με παλιότερα χρόνια, παραμένει στο 65% περίπου.[207-210] Και ενώ η έρευνα για πρωτογενή πρόληψη, δηλαδή αιτιολογική αντιμετώπιση του καρκίνου του παχέος εντέρου συνεχίζεται, είναι εμφανής η σημασία της δευτερογενούς πρόληψης, δηλαδή της ανεύρεσης της νόσου σε όσο το δυνατόν πρωϊμότερο στάδιο, όπου οι θεραπευτικοί χειρισμοί είναι πιο στοχευμένοι και άρα αποτελεσματικοί, προσφέροντας τη δυνατότητα ίσως ακόμη και της ίασης.

## ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΠΡΑΚΤΙΚΗ

Στην προσπάθεια της δευτερογενούς πρόληψης, ο ρόλος της ακριβούς απεικόνισης τόσο της πρωτοπαθούς εστίας όσο και της πιθανής εντόπισης της νόσου σε άλλα σημεία είναι κεφαλαιώδους σημασίας. Ιδιαίτερα όσον αφορά στην απεικόνιση του ήπατος, πολλές τεχνικές εφαρμόζονται με ποικίλα αποτελέσματα. Η MRI τομογραφία αποτελεί την ακριβέστερη τεχνική μη επεμβατικής εντόπισης και χαρακτηρισμού ηπατικών βλαβών, με ευαισθησία που αγγίζει το 81% και ειδικότητα το 97%.[211, 212] Με την εφαρμογή μάλιστα νέων λογισμικών λειτουργικής απεικόνισης, που κάνουν χρήση της φυσιολογίας του απεικονιζόμενου ιστού, όπως η MRI με τεχνική DWI (Diffusion – Weighted Imaging), όπου μελετάται και απεικονίζεται η ελεύθερη διάχυση των μορίων του νερού στους ιστούς (μεγάλη σε φυσιολογικό ιστό, περιορισμένη σε καρκινικό), οι αναφερόμενες ευαισθησία και ειδικότητα της MRI, αγγίζουν το 85% και 100% αντίστοιχα.[213]

Ακολουθεί σε ακρίβεια η αξονική τομογραφία (CT) με ευαισθησία που κυμαίνεται μεταξύ 73% και στις πιο ενθουσιώδεις αναφορές

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

στο 85% και ειδικότητα που φτάνει στο 95%.[212, 214] Σημαντικό περιορισμό στη δυνατότητα της CT απεικόνισης μικρών βλαβών αποτελεί η λιπώδης διήθηση του ήπατος, που παρατηρείται αρκετά συχνά και είναι επίσης από τα παρελκόμενα της χημειοθεραπείας. Εξάλλου, ακόμη και η συνδυαστική τεχνική αξονικής τομογραφίας και τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων (PET/CT) με τη χρήση της F-18-φλουοροδεοξυγλυκόζης (FDG), ενώ είναι εξαιρετικά ακριβής στον εντοπισμό νόσου σε λεμφαδενικό ιστό, δεν φτάνει σε ακρίβεια την MRI στη μελέτη του ήπατος .[211] Τέλος, το υπερηχογράφημα (US), αν και από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα και ακριβή διαγνωστικά μέσα, παρουσιάζει σχετικά χαμηλή ευαισθησία στην ανίχνευση νόσου στο ήπαρ ( 36-61% για βλάβες 1-2cm ), η οποία αυξάνεται αισθητά με τη χρήση ενδοφλέβιων ουσιών αντίθεσης (στο 50-87%), χωρίς όμως να φτάνει αυτή της MRI ή ακόμη και της CT.[215-217]

Όλες οι παραπάνω τεχνικές προσπαθούν να καταδείξουν την πραγματική κατάσταση στο ήπαρ, αναφορικά με την κατάληψή του από μεταστατικό καρκινικό φορτίο, με μη επεμβατικό τρόπο. Είναι ωστόσο αξιοσημείωτο ότι με όλες τις παραπάνω τεχνικές παραμένει ένα ποσοστό ασθενών, στους οποίους ανευρίσκεται ηπατική νόσος διεγχειρητικά, είτε μακροσκοπικά είτε κυρίως με τη χρήση του διεγχειρητικού υπερηχογραφήματος του ήπατος, του IOUS (Intraoperative Ultrasound). Το τελευταίο έχει αναδειχθεί και παραμένει ουσιαστικά ο «χρυσός κανόνας» στην ανίχνευση ηπατικής νόσου –με ευαισθησία που αγγίζει το 93-94%- με μειονέκτημα φυσικά την επεμβατικότητα της φύσης του. Σε συγκριτική ανάλυση της χρησιμότητάς του, σε δύο σχετικά πρόσφατες μελέτες, σε σχέση με τη διενέργεια προεγχειρητικά MRI και PET/CT, το διεγχειρητικό US οδήγησε σε αλλαγή του θεραπευτικού πλάνου στο 30-35% των ασθενών.[218, 219] Αποτελεί το IOUS κατ'αυτό τον τρόπο την τεχνική προς την οποία κάθε μη επεμβατική τεχνική πρέπει να συγκρίνεται ως προς την ακρίβειά της.[211]

## ΜΙΚΡΟΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Και ενώ βελτιώνονται συνεχώς οι υπάρχουσες μέθοδοι απεικόνισης του ήπατος και καινούργιες εφαρμογές κερδίζουν έδαφος, όπως η DWI MRI και το PET/CT, που βασίζονται στη λειτουργική απεικόνιση ώστε να ξεπεραστεί το φράγμα της διακριτικής ευχέρειας της τεχνικής σε πολύ μικρές βλάβες (< του 1cm), οι μέθοδοι αυτές έχουν συμβάλλει σε πολύ μικρό βαθμό στη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου. Και αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι ελάχιστα έχει αλλάξει το τοπίο για τους ασθενείς εκείνους, που ενώ προεγχειρητικά ή/και διεγχειρητικά είναι ελεύθεροι ηπατικής νόσου, αναπτύσσουν σε σύντομο διάστημα (περίπου 2 χρόνια) μετά τη θεραπευτική εκτομή της πρωτοπαθούς εστίας ηπατικές μεταστάσεις.

Στην προσπάθεια να ερμηνευθεί αυτό το φαινόμενο, αναπτύχθηκε η ιδέα των «κρυφών» ηπατικών μεταστάσεων ή μικρομεταστάσεων. Ιστορικά, η ιδέα αυτή περιγράφηκε από τον Goligher το 1941, σε μια εποχή που η συμμετοχή του ήπατος μπορούσε να εκτιμηθεί μόνο διεγχειρητικά από το χειρουργό. Σε μια σειρά 790 ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου, που δεν είχαν μακροσκοπική βλάβη στο ήπαρ κατά τη διάρκεια του χειρουργείου και υπεβλήθησαν σε εκτομή του όγκου, 31 ασθενείς απεβίωσαν στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο. Στους παραπάνω διενεργήθηκε νεκροτομή, που κατάδειξε βλάβες στο ήπαρ σε 5 (16%) από αυτούς.[220]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Στη δεκαετία του ’80 ο Finley επέκτεινε την έννοια των μικρομεταστάσεων, αρχικά επιβεβαιώνοντας προεγχειρητικά την απουσία ηπατικής νόσου σε 35 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου με CT και US πρώτης γενιάς και παρακολουθώντας τους για διάστημα 3 ετών μετά τη χειρουργική εξαίρεση του όγκου, όπου κατέγραψε ανάπτυξη ηπατικών μεταστάσεων στο 31% των ασθενών.[221] Στη συνέχεια, σε μεγαλύτερη σειρά ασθενών, συσχετίζοντας την παρουσία ή μη μικρομεταστάσεων με τη συνολική επιβίωση των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου (η ύπαρξη μικρομεταστάσεων ουσιαστικά σχετιζόταν απόλυτα με τη θνητότητα των ασθενών αυτών από μεταστατική νόσο). [222] Και τέλος, μελετώντας με επαναλαμβανόμενες CTs το ρυθμό αύξησης αυτών των «κρυφών» μεταστάσεων, όπου απέδειξε ότι ο μέσος χρόνος διπλασιασμού του μεγέθους τους είναι οι 86 ημέρες. Υποθέτοντας λοιπόν ότι έστω και ένα καρκινικό κύτταρο υφίσταται στο ήπαρ, χρειάζονται περίπου 2,3 χρόνια, με βάση το μοντέλο ανάπτυξης Gompertz, ώστε αυτό να γίνει κλινικά αντιληπτό ως μετάσταση στο χρονικό σημείο αφαίρεσης του όγκου.[223]

Η μεγάλη λοιπόν πρόκληση για την απεικόνιση, με στόχο την ουσιαστική συμβολή στη βελτίωση της επιβίωσης των ασθενών που διαγιγνώσκονται με καρκίνο του παχέος εντέρου, βρίσκεται στην πρώιμη ανακάλυψη αυτών των μικρομεταστάσεων, ο έγκαιρος θεραπευτικός χειρισμός των οποίων θα οδηγούσε σε σημαντική αλλαγή της πρόγνωσης της νόσου. Το ερώτημα που γεννιέται είναι: με ποια τεχνική είναι δυνατή η ανακάλυψη των «κρυφών» μεταστάσεων; Οι συμβατικές τεχνικές περιορίζονται από ένα όριο μεγέθους και λειτουργίας του εκάστοτε σκιαγραφικού που χρησιμοποιούν, κάτω από το οποίο η διακριτική ικανότητα της μεθόδου μεταξύ φυσιολογικού και καρκινικού ιστού είναι πολύ περιορισμένη έως μηδαμινή. Αυτό το όριο άλλωστε προσπαθούν να περιορίσουν τεχνικές που βασίζονται στη μελέτη της φυσιολογίας του εκάστοτε απεικονιζόμενου ιστού (μεταβολισμός, χρήση συγκεκριμένων μεταβολιτών, διάχυση ουσιών κ.τ.λ.) και των παθοφυσιολογικών διαταραχών που προκαλούνται σε περίπτωση ανάπτυξης καρκινικής εστίας.

Ένας τρόπος προσέγγισης των αλλαγών που επισυμβαίνουν σε ένα όργανο κατά τη διαδικασία διήθησής του από καρκινικά κύτταρα, είναι και η μελέτη της αγγείωσης αυτού. Όσον αφορά στο ήπαρ, είναι γνωστό ότι η παρουσία ακόμη και μικρών ηπατικών μεταστάσεων σχετίζεται με αλλαγές στην άρδευσή του. Ενώ δηλαδή φυσιολογικά η αιματική ροή στο ήπαρ προέρχεται από την πυλαία φλέβα σε ποσοστό 70-80% και στο υπόλοιπο 20-30% από την ηπατική αρτηρία, σε περίπτωση κατάληψης αυτού από καρκινική βλάβη διαπιστώνεται σημαντική αύξηση της παροχής από την ηπατική αρτηρία και μείωση της παροχής από την πυλαία φλέβα, που μπορεί να φτάσει ακόμη και την αντιστροφή της αγγείωσης. Και μάλιστα αυτό παρατηρείται τόσο σε υπεραγγειούμενες όσο και σε υποαγγειούμενες βλάβες.[224, 225] Η ερμηνεία δε αυτού του φαινομένου δεν είναι ακόμη ξεκάθαρη. Σύμφωνα με κάποια πειραματικά μοντέλα, η αγγείωση των ηπατικών βλαβών στηρίζεται σχεδόν αποκλειστικά σε αρτηριακό αίμα σε αντίθεση με το φυσιολογικό ηπατικό παρέγχυμα που αρδεύεται καθ’υπεροχήν από την πυλαία φλέβα, οπότε οι αλλαγές που παρατηρούνται οφείλονται κατά κύριο λόγο σε αύξηση της αρτηριακής παροχής.[226-228] Ωστόσο, επειδή παρατηρείται και μείωση της παροχής της πυλαίας φλέβας, έχει προταθεί ως αιτιολογικός παράγοντας η αύξηση των αντιστάσεων στη σπλαγχνική κυκλοφορία, ενδεχομένως από την επίδραση παραγόμενων από τον πρωτοπαθή όγκο αγγειοσυσπαστικών ουσιών, με αποτέλεσμα τη μείωση της παροχής της πυλαίας και αντισταθμιστική αύξηση αυτής της ηπατικής αρτηρίας, ώστε να διατηρηθεί η συνολική αγγείωση του ήπατος.[203, 229, 230] Ακόμη και αυτή η συνολική αγγείωση του ήπατος και οι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

αλλαγές που επισυμβαίνουν σε περίπτωση κατάληψής του από μεταστατική νόσο δεν έχουν ταυτοποιηθεί οριστικά, καθώς κάποιες μελέτες υποστηρίζουν διατήρηση της συνολικής αγγείωσης και άλλες αποδεικνύουν μείωση αυτής σε περίπτωση μεταστατικής διήθησης.[203, 231]

Προσπάθεια ανάδειξης αυτών των αιμοδυναμικών αλλαγών του ήπατος έχει γίνει με την εφαρμογή ποικίλων τεχνικών. Για παράδειγμα η ενδοφλέβια έγχυση ραδιοϊσοτόπου και η μέτρηση της σήμανσης στην περιοχή του δεξιού νεφρού και του ήπατος, με κατάλληλο υπολογισμό των διακυμάνσεών της με το χρόνο, περιγράφεται ως δυναμικό σπινθηρογράφημα ήπατος, ενώ ο δείκτης που προκύπτει αρτηριακής προς πυλαία αιματική ροή ονομάζεται Δείκτης Ηπατικής Άρδευσης HPI (Hepatic Perfusion Index). Η τεχνική αυτή υπόκειται σε αρκετά λάθη, όπως ο συνυπολογισμός του προσλαμβανόμενου φαρμάκου από τις βάσεις των πνευμόνων και τον ομόπλευρο νεφρό, η ανάπτυξη αρτηριοφλεβικής επικοινωνίας σε περιπτώσεις ύπαρξης ευμεγέθους βλάβης και προηγούμενων βιοψιών κ.α. και γι' αυτό τα αποτελέσματά της είναι αντικρουόμενα ανάλογα με το κέντρο εφαρμογής της: ευαισθησία 63-87%, επικάλυψη φυσιολογικών και παθολογικών τιμών, ο επηρεασμός της σήμανσης σε χολόσταση και κίρρωση, η μειωμένη αναπαραγωγιμότητα των αποτελεσμάτων.[232, 233] Για το λόγο αυτό και έχει μάλλον εγκαταλειφθεί ως τεχνική ανάδειξης των αιμοδυναμικών αλλαγών του ήπατος γενικά και ειδικότερα στην αναζήτηση μικρομεταστάσεων.

Επίσης, η αξονική τομογραφία διπλής φάσεως, με χρονική καταγραφή της σταδιακής έκπλυσης του σκιαγραφικού για έμμεσο υπολογισμό της αιματικής ροής και συσχέτιση των αλλαγών που καταγράφονται στην έκπλυση αυτή με την κατάσταση του ήπατος, έχει χρησιμοποιηθεί με αναφερόμενα καλά αποτελέσματα (ευαισθησία 75%, ειδικότητα 96% και ακρίβεια 89%).[234] Παρά τη μεγάλη ευκολία που θα πρόσφερε η δυνατότητα εφαρμογής αυτής της μεθόδου ταυτόχρονα με την κλασσική CT προεγχειρητικής σταδιοποίησης, είναι και αυτή έμμεση μέθοδος υπολογισμού που υπόκειται σε παρόμοιους περιορισμούς με το δυναμικό σπινθηρογράφημα (κίρρωση, παχυσαρκία) αλλά και ενδογενείς όπως αλλαγές στην καρδιακή παροχή καθώς και η δυνατότητα της τεχνικής να υπολογίζει μόνο αλλαγές στη ροή της ηπατικής αρτηρίας και όχι και των δύο πηγών αγγείωσης του ήπατος. Περαιτέρω μελέτες που να πιστοποιούν τα αρχικά καλά αποτελέσματα εκκρεμούν.[203]

## ΔΕΙΚΤΗΣ ΑΙΜΑΤΩΣΗΣ ΄ΗΠΑΤΟΣ DOPPLER PERFUSION INDEX- DPI

Πιο καλά μελετημένος και ίσως πιο πολλά υποσχόμενος είναι ο απευθείας υπολογισμός της ροής στα μείζονα αγγεία του ήπατος (ηπατική αρτηρία, πυλαία φλέβα) με υπερηχογραφική μέτρηση, το γνωστό duplex/ color Doppler, τεχνική η ακρίβεια της οποίας έχει πιστοποιηθεί σε πειραματόζωα αλλά και ανθρώπους σε ερευνητικό επίπεδο.[235-237] Πρόκειται για άμεση μέτρηση της αιματικής ροής σε κάθε αγγείο, που υπολογίζεται ως το γινόμενο της μέσης ταχύτητας του αίματος στο αγγείο επί τη μέση επιφάνεια διατομής του αγγείου, (παροχή) και ακολούθως τη διαμόρφωση ενός δείκτη: παροχή ηπατικής αρτηρίας προς συνολική παροχή (ηπατικής και πυλαίας φλέβας μαζί). Ο δείκτης που προκύπτει ονομάστηκε Δείκτης Αιμάτωσης Ήπατος DPI (Doppler Perfusion Index), κατ' αναλογία προς τον προαναφερθέντα HPI. Πρόκειται ουσιαστικά για μέθοδο απευθείας μέτρησης της αιματικής ροής, που είναι μη

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

επεμβατική, ανεξάρτητη από τη λειτουργική κατάσταση του ήπατος και μπορεί εύκολα να στανταριστεί. Μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν η πιθανότητα ύπαρξης ανατομικών παραλλαγών της ηπατικής αρτηρίας (30%), που όμως προφανώς θα επηρεάσει λίγο το φυσιολογικό ή μη της τιμής της ηπατικής ροής, διάφορες παράμετροι της μέτρησης- γωνία κύματος, μη σταθερό εύρος αγγείου, εντοπισμός αγγείου- δυνατότητες του υπάρχοντος λογισμικού και κυρίως εξάρτηση από την εξειδίκευση και δεινότητα του χειριστή. Ωστόσο, τα περισσότερα από αυτά, αν όχι όλα, μπορούν να βελτιωθούν με εξοικείωση και σταντάρισμα της τεχνικής.

Γενικά, η ποιότητα των ποιοτικών πληροφοριών του color Doppler είναι αναμφισβήτητη, κάποια επιφύλαξη ωστόσο παραμένει για την ακρίβεια και αναπαραγωγιμότητα των ποσοτικών μετρήσεων, στην οποία έχει παίξει ρόλο και η ευρεία χρήση μη σωστά ρυθμισμένων, για τη διενέργεια της παραπάνω εξέτασης, μηχανημάτων υπερηχοτομογραφίας/ color Doppler. Για το λόγο αυτό συνιστάται εξειδίκευση στη διενέργεια της εξέτασης και χρήση κατάλληλου και σωστά ρυθμισμένου μηχανήματος.

Η μέθοδος αυτή έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να αναδείξει αλλαγές στην αγγείωση του ήπατος σε περιπτώσεις πρωτοπαθών ηπατικών βλαβών, εμφανών ηπατικών μεταστάσεων αλλά και πρόκλησης αγγειοσύσπασης με την ενδαρτηριακή έγχυση αγγειοτενσίνης.[238-240] Φαίνεται όμως ότι ανιχνεύει αλλαγές της αιματικής ροής στο ήπαρ και σε περιπτώσεις διήθησης του οργάνου από μικρομεταστάσεις. Οι Leen et.al. σε μια μελέτη το 1993, διαχώρισαν ασθενείς πάσχοντες από καρκίνο παχέος εντέρου σε έχοντας ηπατική νόσο και μη και συνέκριναν τις τιμές του DPI και στις δύο ομάδες ενώ μέτρησαν το DPI και σε υγιείς (ομάδα ελέγχου). Στους έχοντες μεταστατική ηπατική νόσο παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική σε σχέση με τους υγιείς αύξηση της ταχύτητας και της επιφάνειας διατομής της ηπατικής αρτηρίας καθώς και επίσης στατιστικά σημαντική μείωση των αντίστοιχων παραμέτρων στην πυλαία φλέβα. Τα ευρήματα αυτά έδωσαν σαφώς υψηλότερες τιμές DPI (0.3- 0.77) στην ομάδα αυτή από την ομάδα ελέγχου (<0.25). Οι ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου και ελεύθερο ήπαρ παρουσίασαν μία γκάμα τιμών με εύρος που εκτεινόταν μεταξύ φυσιολογικών και παθολογικών τιμών . Μετά ένα χρόνο επανελέγχθηκαν και διαπιστώθηκε ότι σημαντικός αριθμός από αυτούς που είχαν υψηλές τιμές DPI προεγχειρητικά χωρίς εμφανή νόσο στο ήπαρ ανέπτυξαν ηπατικές μεταστάσεις (21 στους 38), αρκετοί είχαν ευρήματα τοπικής υποτροπής ή και διασποράς της νόσου (7 ) ή και είχαν πεθάνει (2), ενώ όλοι όσοι είχαν φυσιολογικές τιμές DPI (30) παρέμειναν ελεύθεροι νόσου. Με βάση τα ευρήματα αυτά, υπολογίστηκαν ευαισθησία 100%, ειδικότητα 70%, θετική προγνωστική αξία 62% και αρνητική 100%.[241]

Σε ακόλουθη μελέτη τους, και αφού επιβεβαιώθηκε η αναπαραγωγιμότητα των αποτελεσμάτων τους, συσχέτισαν τις τιμές του DPI με τα ευρήματα της CT, του IOUS, της λαπαροτομίας και του σταδίου της νόσου κατά Duke's, και μετά παρακολούθηση δύο ετών κατέγραψαν συσχέτιση του DPI με την πρόγνωση της νόσου (ταυτοποίηση ασθενών που ανέπτυξαν μετεγχειρητικά ηπατική νόσο), και μάλιστα καλύτερη από αυτή του σταδίου κατά Duke's.[203, 242] Ταυτόχρονα απέκλεισαν το ενδεχόμενο ο πρωτοπαθής όγκος να παίζει σημαντικό ρόλο στις τιμές του DPI, καθώς απέδειξαν ότι οι τιμές αυτές ελάχιστα επηρεάστηκαν μετά την αφαίρεση της πρωτοπαθούς εστίας σε 14 ασθενείς: στους ασθενείς που οι τιμές ήταν φυσιολογικές προεγχειρητικά, δεν παρατηρήθηκε αξιόλογη μεταβολή όταν μετρήθηκαν και μετεγχειρητικά, ενώ σε εκείνους που ήταν υψηλές, παρατηρήθηκε πτώση μετεγχειρητικά αλλά παρέμειναν πάνω από τα φυσιολογικά επίπεδα.[243] Στη συνέχεια, με τα ευρήματα μελέτης τους σε 120 ασθενείς,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

όπου η τιμή του DPI σχετιζόταν με την ελεύθερη νόσου και τη συνολική επιβίωση των ασθενών (χαμηλές τιμές DPI- 89 και 91% αντίστοιχα, υψηλές τιμές DPI- 22 και 29% αντιστοιχα), πρότειναν την ενδεχόμενη χρήση του DPI ως προγνωστικού δείκτη στη διαδικασία λήψης αποφάσεων για χορήγηση επικουρικής χημειοθεραπείας σε ασθενείς με ελεύθερο ήπαρ- με όλες τις μεθόδους σταδιοποίησης- και υψηλή τιμή DPI.[244]

Έκτοτε, φαίνεται ότι οι αλλαγές στη σχετική αγγείωση του ήπατος σε περίπτωση ύπαρξης μικρομεταστάσεων και η μέτρησή τους με το DPI , παραμένουν αντικείμενο έρευνας με αμφιλεγόμενα αποτελέσματα. Ομάδες ερευνητών, όπως η προαναφερθείσα και άλλες, υποστηρίζουν την δυνατότητα της τεχνικής να προσφέρει προγνωστικές πληροφορίες στον καρκίνο του παχέος εντέρου και μάλιστα συνεχίζουν να την εφαρμόζουν και εξελίσσουν (συσχετίσεις με άλλες παραμέτρους, χρήση ενδοφλέβιων ουσιών αντίθεσης για ενίσχυση της πληροφορίας).[231, 240, 245] Αντίθετα, άλλες δεν επιβεβαιώνουν τα προαναφερθέντα ευρήματα: ολλανδική μελέτη σε 133 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου και 4-ετή παρακολούθηση δεν βρήκε συσχέτιση των τιμών του DPI με την κατάσταση του ήπατος (μεταστάσεις στην αρχική διάγνωση, ανάπτυξη μετάγχρονων μεταστάσεων, παραμονή ελεύθερου νόσου), ούτε με την πρόγνωση των ασθενών.[246] Η μέτρηση λοιπόν του DPI παραμένει μια ενδιαφέρουσα μέθοδος ελέγχου του ήπατος, που ωστόσο χρήζει περαιτέρω ελέγχου, πριν περάσει από το ερευνητικό στάδιο στην κλινική πρακτική.

## 3. ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΕΣ

### ΓΕΝΙΚΑ

Οι ενδοθηλίνες αποτελούν μια ομάδα πεπτιδίων με σχετικά πρόσφατη αναγνώριση της ύπαρξης και προσπάθεια αποσαφήνισης της δράσης τους. Αρχικά, το 1985 ανακοινώθηκε η ανίχνευση κάποιου πεπτιδίου σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων αορτής, που προκαλούσε σπασμό στεφανιαίων αγγείων.[247] Ακολούθησε, τρία χρόνια αργότερα, η απομόνωση και ταυτοποίηση μιας οικογένειας πεπτιδίων παραγόμενων από ενδοθηλιακά κύτταρα, 3 στον αριθμό, που λόγω προέλευσης ονομάστηκαν ενδοθηλίνες.[248] Οι ενδοθηλίνες-1, -2 και -3, παράγονται από διαφορετικά γονίδια και εντοπίζονται σε σειρά ιστών. Η Ενδοθηλίνη-1 (ET-1) παράγεται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, καθώς και στις λείες μυϊκές ίνες αυτών, ενώ έχει ανιχνευθεί και σε νευρώνες-αστροκύτταρα, ηπατοκύτταρα, μεσαγγειακά κύτταρα νεφρού, επιθηλιακά κύτταρα μαζικού αδένα, κύτταρα Sertoli κ.α. Η Ενδοθηλίνη-2 (ET-2) ανιχνεύεται κυρίως σε κύτταρα νεφρού και γαστρεντερικού σωλήνα ενώ η Ενδοθηλίνη-3 (ET-3), εκτός από τα παραπάνω, εντοπίζεται σημαντικά σε νευρώνες και κύτταρα πνεύμονα. Και τα 3 μόρια ασκούν τη δράση τους μέσω δύο τύπων υποδοχέων, τους Α ($ET_AR$) και Β ($ET_BR$) υποδοχείς.[249]

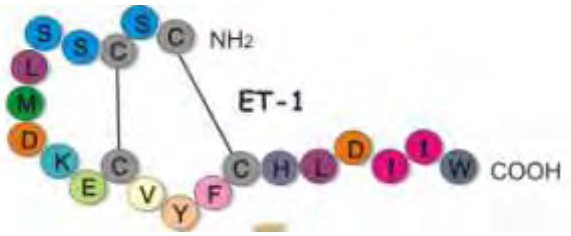
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ-1

### Μοριακή Βιολογία

Πιο ενδελεχώς μελετημένο, μέχρι τώρα τουλάχιστον, είναι το μόριο της ET-1, το οποίο αποτελεί και βασικό ερευνητικό αντικείμενο αυτής της μελέτης. Το γονίδιο της ET-1 εδράζεται στο χρωμόσωμα 6, ενώ το 2$^{ο}$ εξόνιο αυτού κωδικοποιεί το λειτουργικό μόριο. [250] Ο υποκινητής του γονιδίου (gene promoter) έχει τυπικές ακολουθίες CAAT και TATA (σημείο εκκίνησης), καθώς και διάφορα σημεία σύνδεσης μεταγραφικών παραγόντων (transcriptional factors), όπως η GATA-2 πρωτεΐνη, η AP-1 καθώς και σειρά άλλων ουσιών που παίζουν ρόλο είτε στη μεταγραφή του γονιδίου, είτε στη σίγασή του. Παράγοντες που ενισχύουν τη μεταγραφή έχουν βρεθεί η ιντερλευκίνη ( IL)-1β, ο Transforming Necrosis Factor TNFα, ο Transforming Growth Factor TGF β, ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (Platelet-Derived Growth Factor PDGF), η βαζοπρεσίνη, η ισχαιμία και η τάση (Shear Stress), ενώ ανασταλτικοί έχουν χαρακτηριστεί το Οξίδιο του Αζώτου, η προστακυκλίνη και ο κολπικός νατριοδιουρητικός παράγοντας.[251-253]

Η μεταγραφή του γονιδίου οδηγεί στην παραγωγή του αντίστοιχου mRNA και στη συνέχεια, η μετάφραση αυτού στη δημιουργία μιας ανενεργού πρωτεΐνης 203 αμινοξέων, της προ-προενδοθηλίνης-1. Αυτή μετατρέπεται από μια ενδοπεπτιδάση στην προενδοθηλίνη-1, αποτελούμενη από 39 αμινοξέα, που εκκρίνεται στη συστηματική κυκλοφορία και παρουσιάζει το 1/100 της ισχύος της ET-1 . Τέλος, η προενδοθηλίνη ή μεγάλη Ενδοθηλίνη-1 (Big ET-1) μετατρέπεται στο ενεργό μόριο των 23 αμινοξέων, την ET-1. Η διαμόρφωση του τελικού μορίου γίνεται με τη δράση του μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1 (Endothelin Converting Enzyme-1, ECE-1), μιας μεμβρανικής μετταλοπρωτεάσης, με δομική ομολογία προς την εγκεφαλινάση. Η ECE-1 υδρολύει το δεσμό Trp21-Val22 και οδηγεί στην ενεργό μορφή, που αποτελείται από μία μονή αλυσίδα αμινοξέων με 2 δισουλφιδικούς δεσμούς. (Εικ 1.)




**Εικόνα 1. Το μόριο της ET-1**

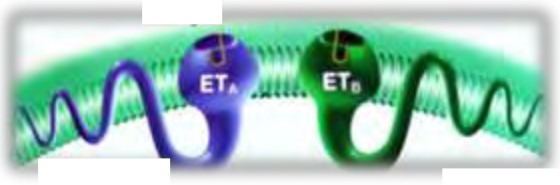
Το ίδιο το ένζυμο ECE-1, υπάρχει σε 4 ισομορφές (ECE 1a-1d), ενώ περιγράφεται και η ECE-2, πάλι με 4 ισομορφές, που δρα σε όξινο περιβάλλον.[254] Επίσης, άλλα ένζυμα (χυμάση), μπορούν να καταλύσουν την ανωτέρω αντίδραση. [255]

Η παραγόμενη με την επίδραση κατάλληλων ερεθισμάτων ET-1 δεν αποθηκεύεται μέσα στο κύτταρο αλλά εκκρίνεται άμεσα. Η ημίσεια ζωή του mRNA της ET-1 υπολογίζεται στα 15-20 λεπτά, ενώ του ίδιου του μορίου στα 4-7 λεπτά. Η ET-1 του ορού απομακρύνεται από την κυκλοφορία σε ποσοστό 80-90%, κατά τη διάρκεια του πρώτου περάσματός της από τους πνεύμονες. [256] Δύο μηχανισμοί απομάκρυνσης έχουν προταθεί: σύνδεση με τον $ET_BR$, εγκύστωση και διάσπαση στα λυσοσώματα ή καταβολισμός από την εξωκυττάρια ενδοπεπτιδάση νεπριλυσίνη (NEP).[257-260]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

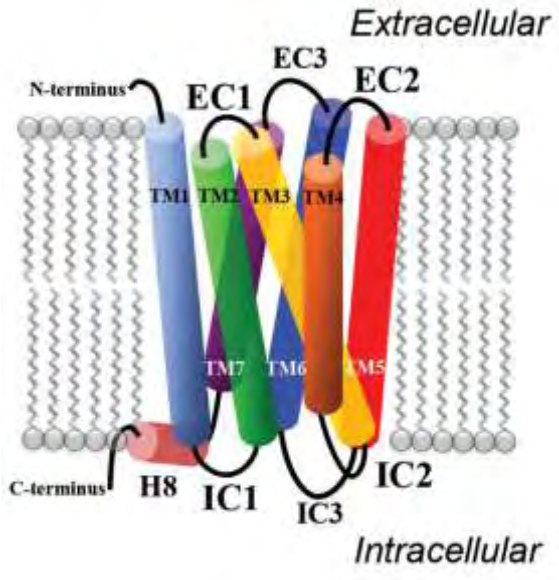
**Υποδοχείς Ενδοθηλίνης-1**

Δύο είδη υποδοχέων ενδοθηλίνης (συνδέονται και οι 3 μορφές) έχουν ταυτοποιηθεί στα περισσότερα θηλαστικά και τον άνθρωπο: Α και Β ($ET_AR$, $ET_BR$). (Εικ. 2)



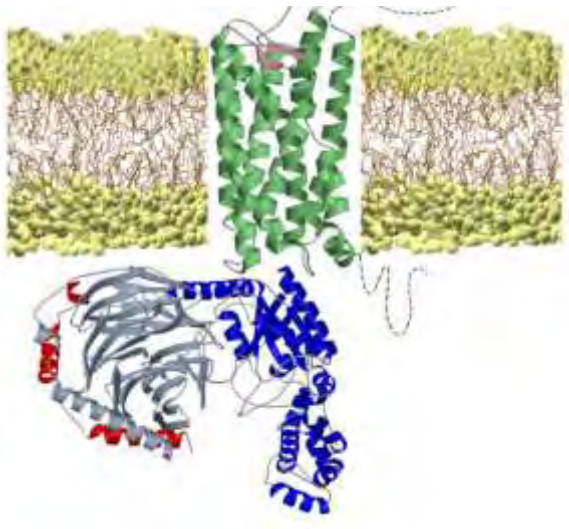

**Εικόνα 2 . Οι υποδοχείς της ET-1, $ET_AR$ και $ET_BR$**

Το μοριακό τους βάρος κυμαίνεται από 45.000 έως 50.000 daltons σε διάφορους ιστούς και η σύνθεσή τους είναι ίδια κατά 50% περίπου, έχει διατηρηθεί δε σε υψηλό ποσοστό (85-90%), κατά την εξέλιξη στα περισσότερα θηλαστικά.[249] Οι υποδοχείς $ET_A$ και $ET_B$ ανήκουν στην οικογένεια των διαμεμβρανικών GPC υποδοχέων, των συνδεόμενων δηλαδή με την πρωτεΐνη G (Guanine- nucleotide binding protein). Αποτελούνται από 7 υδρόφοβες περιοχές (Εικ. 3), αυτές που διασχίζουν τη μεμβράνη (7 transmembrane sites TMS), ένα εξωκυττάριο τμήμα- το συνδεόμενο με την ET-1, και ένα ενδοκυττάριο, που συνδέεται με την G πρωτεΐνη.[261, 262]




**Εικόνα 3. Διαμεμβρανικός υποδοχέας**

Οι ίδιες οι G πρωτεΐνες αποτελούν ετεροτριμερή (απαρτίζονται από 3 διαφορετικές υπομονάδες α, β και γ) (Εικ. 4). Η υπομονάδα α ανευρίσκεται με 4



**Εικόνα 4. Η G πρωτεΐνη συνδεδεμένη με τον GPC διαμεμβρανικό υποδοχέα (οι 3 υπομονάδες σημαίνονται με κόκκινο, γκρι και μπλε χρώμα).[263]**

ισομορφές $Gα_s$, $Gα_i$, $Gα_q$ και $Gα_{12}$. Η σύνδεση καθεμιάς από αυτές οδηγεί και σε διαφορετικό κυτταρικό μονοπάτι. Για παράδειγμα, η σύνδεση της $Gα_s$ ενεργοποιεί την **αδενυλική κυκλάση** (cAMP), ενώ της $Gα_i$ την αναστέλλει και ενεργοποιεί τα **κανάλια $Ca^{2+}$**. Η σύνδεση της $Gα_q$ οδηγεί σε υδρόλυση (ενεργοποίηση) της **φωσφολιπάσης C**, η οποία καταλύει την παραγωγή, από φωσφολιπίδια της μεμβράνης (διφωσφορική φωσφατιδιλοϊνοσιτόλη $PIP_2$), διακέτυλογλυκερόλης και 1,4,5-τριφωσφορικής ινοσιτόλης ($IP_3$). Η $IP_3$ κινητοποιεί ιόντα $Ca^{2+}$ από κυτταροπλασματικές αποθήκες ενώ η διακετυλογλυκερόλη, μαζί με ιόντα $Ca^{2+}$, ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C.[264] Επίσης, η σύνδεση των $Gα_q$ και $Gα_{12}$ παίζει ρόλο στην δράση πολλών **ενδοκυττάριων αγγελιοφόρων μορίων**, όπως η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

ενεργοποιούμενη από μιτογόνα πρωτεϊνική κινάση (mitogen-activated protein kinase MAPK).[265]

**Δράση ET-1**

Αρχικά, η ET-1 χαρακτηρίστηκε ως αγγειοσυσπαστικό πεπτίδιο, 100 φορές μάλιστα ισχυρότερο από την νορεπινεφρίνη.[266] Κατά συνέπεια, η μελέτη της φυσιολογίας του μορίου επικεντρώθηκε στην παραγωγή και τη δράση του στο **αγγειακό σύστημα** και τη συνεπακόλουθη παθοφυσιολογία του τελευταίου. Σταδιακά, ωστόσο διαπιστώθηκε η παρουσία της ET-1 και σε άλλους ιστούς και άρχισε η ιχνηλασία του ρόλου της σε διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς. Διαπιστώθηκε λοιπόν, ότι ασκεί ποικίλες και σημαντικές δράσεις στην **παθογένεια της καρκινογένεσης** σε πολλά όργανα. Και μιλώντας πλέον για παθογένεια, αναφερόμαστε στα, ενεργοποιούμενα από ποικίλα ερεθίσματα, κυτταρικά μονοπάτια και στην αλληλεπίδρασή τους, με σκοπό την καθοδήγηση της γονιδιακής έκφρασης και πρωτεϊνικής παραγωγής, τον έλεγχο σε μεταμεταφραστικό και λειτουργικό επίπεδο των παραγόμενων πρωτεϊνών, τον καθορισμό του κυτταρικού φαινοτύπου και εν τέλει τη ρύθμιση της λειτουργίας του κυττάρου.

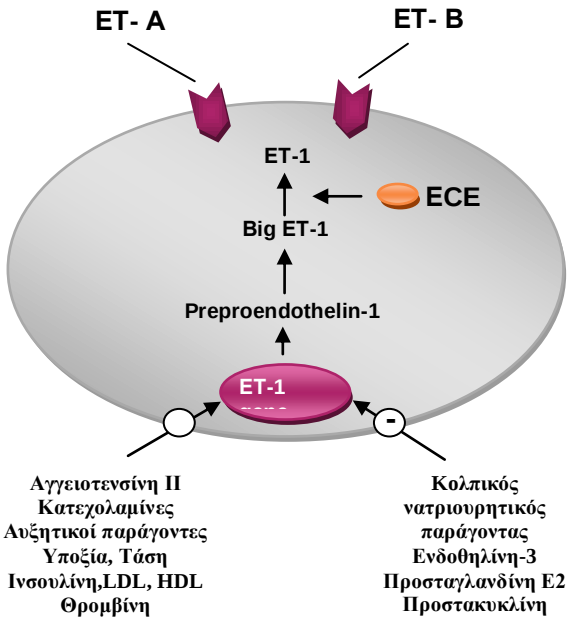
Η δράση αυτή της ET-1 ασκείται μέσω των προαναφερθέντων υποδοχέων $ET_AR$ και $ET_BR$, η ενεργοποίηση των οποίων θέτει σε λειτουργία ενδοκυττάρια κυκλώματα. Ο εντοπισμός των ερεθισμάτων και η χαρτογράφηση των συνδέσεων αυτών των κυκλωμάτων, με στόχο την αποσαφήνιση του πολύπλοκου τρόπου δράσης τους, αποτελεί αντικείμενο εντατικής έρευνας.

Μπορούμε λοιπόν να κατηγοριοποιήσουμε τη δράση της ET-1 με βάση τη συμμετοχή της , με τα μέχρι σήμερα δεδομένα, σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες, ως εξής:

- Αγγειακός τόνος
- Κυτταρικός πολλαπλασιασμός
- Κυτταρική απόπτωση
- Νεοαγγείωση
- Εξωκυττάριο μικροπεριβάλλον
- Αλληλεπίδραση με ανοσοποιητικό

**ΑΓΓΕΙΑΚΟΣ ΤΟΝΟΣ**

Οι υποδοχείς $ET_A$ εκφράζονται άφθονα στις λείες μυικές ίνες των αγγείων και στις καρδιακές μυϊκές ίνες και φαίνεται να επάγουν την αγγειοσυσπαστική δράση της ET-1, μέσω της ενεργοποίησης της φωσφολιπάσης C και της ακόλουθης αύξησης του ενδοκυττάριου $Ca^{2+}$. Οι υποδοχείς $ET_B$ εκφράζονται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά ασκούν ανασταλτική δράση (αγγειοδιασταλτική), τουλάχιστον στα περισσότερα όργανα. [267]




**Εικόνα 5. Ενισχυτικά και ανασταλτικά ερεθίσματα παραγωγής ET-1**

Από την άλλη, η παραγωγή της ET-1 ρυθμίζεται in vitro και in vivo από ποικιλία ορμονών, αγγειοδραστικών ουσιών και συνθηκών αγγειακού stress. (Εικ. 5)

Φαίνεται ότι η ET-1 επάγει τη δράση αγγειακών και αυξητικών παραγόντων, εμπλεκόμενη έτσι σε συνθήκες αυξημένου αγγειακού τόνου, καθώς και υπερτροφίας λείων μυϊκών ινών. Για παράδειγμα, η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

αγγειοτενσίνη ΙΙ αυξάνει την παραγωγή της ΕΤ-1 και η αναστολή της τελευταίας φαίνεται να εμποδίζει την υπερτροφική δράση της αγγειοτενσίνης ΙΙ στον καρδιακό μυ. [268] Αντίστροφα, η ΕΤ-1 διεγείρει τη μετατροπή της αγγεοτενσίνης Ι σε ΙΙ και ενισχύει την παραγωγή αλδοστερόνης από την τελευταία.[269] Από την άλλη, αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες, όπως το μονοξείδιο του αζώτου (NO), οι προστακυκλίνες και ο κολπικός νατριουρητικός παράγοντας αναστέλλουν την παραγωγή της ΕΤ-1 και ενδέχεται να ασκούν τη δράση τους και μέσω αυτού του μηχανισμού.[270-272] Επιπλέον, πειράματα καταδεικνύουν ρόλο της ΕΤ-1 και του $ET_AR$ στη διατήρηση του βασικού αγγειακού τόνου.[273]

Σειρά παθολογικών καταστάσεων του ευρύτερου αγγειακού συστήματος αλλά και των ενδοθηλιακών κυττάρων και των λείων μυϊκών ινών γενικότερα, περιλαμβάνουν ως εκ τούτου, και τη συμμετοχή της ΕΤ-1 στην παθογένειά τους: αθηρωματική νόσος, υπέρταση, έμφραγμα, καρδιακή ανεπάρκεια, νεφρική ανεπάρκεια, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, υπαραχνοειδής αιμορραγία, πνευμονική υπέρταση, άσθμα.[274-281]

## ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ

Η σύνδεση της ΕΤ-1 με τον GPC υποδοχέα της και η ενεργοποίηση των μονοπατιών της φωσφολιπάσης C με αύξηση του ενδοκυττάριου $Ca^{2+}$ , της PI3K/Akt, της πρωτεϊνικής κινάσης C και της MAPK σημαίνει την κινητοποίηση ενός δικτύου πολλαπλών συνεργικών σημάτων, παρά γραμμικών μεταδόσεων. Αυτή οδηγεί σε άφιξη στον πυρήνα του κυττάρου μηνυμάτων σύνθεσης DNA και κατ' επέκταση κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Η εν λόγω αυξητική δράση της ΕΤ-1 έχει αποδειχθεί σε σειρά επιθηλιακών καρκινικών κυτταρικών σειρών , όπως προστάτη, ωοθηκών και τραχήλου μήτρας: η προσθήκη $ET_AR$ ανταγωνιστών- αλλά όχι $ET_BR$ ανταγωνιστών- οδήγησε σε διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, γεγονός που υποστηρίζει τον αυτοκρινή μιτωτικό μηχανισμό λειτουργίας της ΕΤ-1.[282]

Επιπλέον, η μιτωτική δράση της ΕΤ-1 ενισχύεται και από άλλους αυξητικούς παράγοντες, όπως οι EGFR, FGF, IGF, PDGF, TGF-β και η IL-6.[253] Είναι γνωστό ότι οι GPCR ασκούν μέρος της δράσης τους μέσω ταυτόχρονης ενεργοποίησης του EGFR. Έτσι, σε κυτταρικές σειρές καρκίνου ωοθηκών, η ΕΤ-1 μέσω $ET_AR$ οδηγεί σε ενεργοποίηση του EGFR και μέσω αυτού των MAPK και Akt μονοπατιών.[283, 284] Η ταυτόχρονη μάλιστα χρήση ανταγωνιστών και των δύο μορίων ($ET_AR$ και EGFR), μείωσε σημαντικά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε ωοθηκικές καρκινικές σειρές, όχι μόνο αποδεικνύοντας έτσι την διασύνδεση τους αλλά και υποστηρίζοντας τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των $ET_AR$ ανταγωνιστών στην αντικαρκινική θεραπεία , για την αντιμετώπιση της αντοχής στους αντι-EGFR ανταγωνιστές. [285]

## ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΠΟΠΤΩΣΗ

Φαίνεται ότι η μιτωτική δράση της ΕΤ-1 δεν εκφράζεται μόνο μέσω αυξητικών μηνυμάτων προς τον πυρήνα αλλά και μέσω αναστολής της απόπτωσης, βασικού μηχανισμού διατήρησης του κυτταρικού πληθυσμού σε φυσιολογικά επίπεδα, που παρακάμπτεται όμως από τα καρκινικά. Βασικό μονοπάτι αποφυγής του κυτταρικού θανάτου και άρα «λαθραίας» επιβίωσης, είναι της PI3K/Akt, το οποίο ενεργοποιείται, όπως προαναφέρθηκε, από την ΕΤ-1. Έχει βρεθεί, για παράδειγμα, ότι η προσθήκη ΕΤ-1 σε ωοθηκικές καρκινικές σειρές εμπόδισε την απόπτωση, την επαγόμενη από διάφορα χημειοθεραπευτικά όπως η πακλιταξέλη, ενώ η προσθήκη $ET_AR$ ανταγωνιστών μπλόκαρε αυτό το φαινόμενο.[286] Το γεγονός αυτό μπορεί να βρει εφαρμογή στη χρήση ανταγωνιστών της ΕΤ-1 (των $ET_AR$ πιο συγκεκριμένα), είτε αυτόνομα για ενίσχυση της απόπτωσης σε συνδυασμό με αναστολή της κυτταρικής

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

ανάπτυξης, είτε σε συνδυασμό με χημειοθεραπευτικά, για αντιμετώπιση της αντίστασης στη δράση τους (απόπτωση), που συχνά αναπτύσσουν τα καρκινικά κύτταρα.[287-289]

**ΝΕΟΑΓΓΕΙΩΣΗ**

Η ET-1, εκτός από μιτογενής για τα επιθηλιακά κύτταρα, δρα και ως αγγειογενετικός παράγοντας, προάγοντας τον πολλαπλασιασμό και ενδοθηλιακών κυττάρων, λείων μυϊκών ινών των αγγείων, ινοβλαστών και περιαγγειοκυττάρων. Και ενώ η αύξηση των ενδοθηλιακών κυττάρων διενεργείται μέσω $ET_BR$, αυτή των λείων μυϊκών ινών και των περιαγγειοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω των $ET_A$ υποδοχέων. Διαφαίνεται έτσι, σημαντικός ρόλος της ET-1 στην νεοαγγείωση που πραγματοποιείται στο καρκινικό περιβάλλον, όπως έχει αποδειχθεί σε καρκίνο ωοθηκών, μαστού κ.α.[290, 291] Σε καρκίνο μαστού μάλιστα, έχει αποδειχθεί συσχέτιση του άξονα της ET-1 με τη μικροαγγειακή πυκνότητα (MicroVessel Density MVD), γνωστό δείκτη κακής πρόγνωσης.[292]

Εκτός όμως από τη δράση της ως αγγειογενετικός παράγοντας per se, η ET-1 παίζει έμμεσα ρόλο και στην έκφραση του Αγγειοδραστικού Ενδοθηλιακού Αυξητικού Παράγοντα- Vascular Endothelial Growth Factor VEGF, γνωστού μορίου ρυθμιστικού τόσο της φυσιολογικής όσο και καρκινικής νεοαγγείωσης.

Η παραγωγή του VEGF ρυθμίζεται σχεδόν αποκλειστικά από τον ενεργοποιούμενο από την υποξία μεταγραφικό παράγοντα HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor 1), ο οποίος συνδεόμενος στο αντίστοιχο τμήμα του υπαγωγέα (promoter) του γονιδίου του VEGF ( Hypoxia-Responsive Element HRE), δίνει το «λάκτισμα» της μεταγραφής και κατ' επέκταση της δημιουργίας του ανίστοιχου πρωτεϊνικού μορίου. Ο ίδιος ο HIF 1 αποτελείται από 2 υπομονάδες: τη β, παρούσα σε όλα τα κύτταρα, που παραμένει σταθερή σε συνθήκες φυσιολογικής οξυγόνωσης, και την α η οποία δεν είναι λειτουργική (αποδομείται μέσω του συστήματος της ubiquitin) σε κατάσταση φυσιολογικής οξυγόνωσης αλλά σταθεροποιείται σε συνθήκες υποξίας και διμερίζεται, διαμορφώνοντας έτσι το λειτουργικό σύμπλεγμα του HIF 1, το οποίο και ενεργοποιεί τα γονίδια που περιέχουν στον promoter τους HRE τμήμα, όπως αυτό του VEGF. [293]

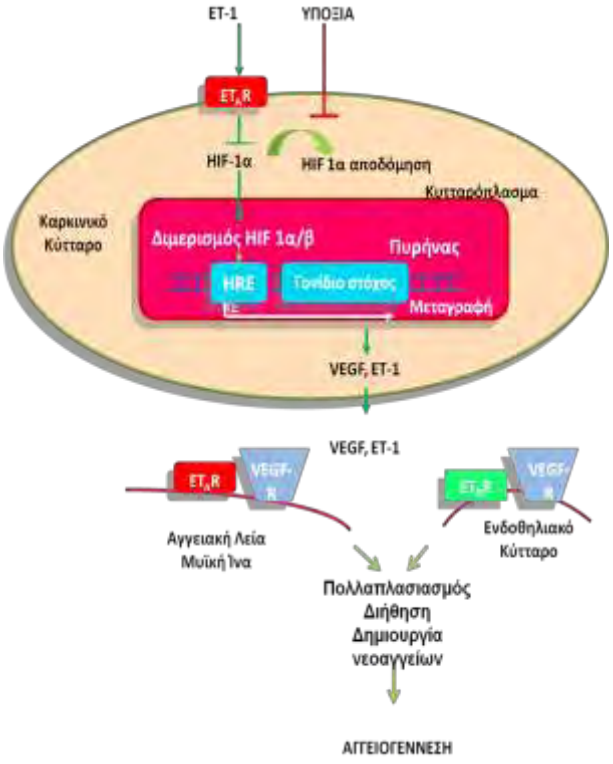
Έχει βρεθεί ότι σε συνθήκες φυσιολογικής οξυγόνωσης η ET-1, μέσω του $ET_AR$, προκαλεί συσσώρευση της υπομονάδας α του HIF-1, εμποδίζοντας την αποδόμησή της, και μάλιστα σταθεροποιεί στον πυρήνα το διμερές σύμπλεγμα αυτού και επιτρέπει τη σύνδεσή του στο HRE του VEGF, προάγοντας έτσι την παραγωγή του τελευταίου. Έτσι, σε συνθήκες υποξίας ουσιαστικά πολλαπλασιάζει και ενισχύει το μήνυμα του HIF-1 και συνεπώς την παραγωγή του VEGF.[284, 294] Η δράση αυτή καταδεικνύεται σε πειραματικά ζωικά μοντέλα καρκίνου ωοθηκών, όπου η χρήση ανταγωνιστών των $ET_AR$ οδηγεί σε μείωση της έκφρασης του VEGF και της μικροαγγειακής πυκνότητας.[295]

Επιπλέον, η σχέση της ET-1 με τον HIF-1 είναι αμφίδρομη, καθώς όχι μόνο η ET-1 ενισχύει τη δράση του HIF-1 αλλά και ο HIF-1 προάγει την παραγωγή της ET-1, μέσω HRE στον υπαγωγέα του γονιδίου της ET-1(Εικ. 6).[296] Βέβαια, αντίστοιχο HRE δεν έχει απομονωθεί στους promoters των γονιδίων των $ET_AR$ και $ET_BR$, αλλά η αυξημένη παραγωγή των υποδοχέων της ET-1 σε συνθήκες υποξίας μπορεί να αποδοθεί στην αυτοκρινή δράση της ίδιας, που αυξάνει όπως ειπώθηκε σε καταστάσεις μειωμένης οξυγόνωσης.[297, 298]

Επιπλέον, η δράση της ET-1 στο πεδίο της καρκινικής νεοαγγείωσης ασκείται και μέσω του συστήματος των κυκλοοξυγενασών-προσταγλανδινών, καθώς αυξάνει σημαντικά την παραγωγή των κυκοοξυγενάση-1 (COX-1) και -2 (COX-2) σε επίπεδο mRNA και πρωτεϊνικό, με αντίστοιχη παραγωγή της προσταγλανδίνης

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

$PGE_2$. Ασκεί δε τη λειτουργία αυτή πιο έντονα κάτω από συνθήκες υποξίας, συνδέοντας με τον τρόπο αυτό και την επίδρασή της στον HIF-1. Για παράδειγμα, ανταγωνιστές του $ET_AR$, αναστέλλουν την επίδραση της ET-1 στην παραγωγή προσταγλανδινών, ενώ αναστολή του HIF-1 με μικρά παρεμβαλλόμενα RNAs (small interfering RNAs- siRNA), επίσης καταστέλλει την προκαλούμενη από την ET-1 παραγωγή προστανοειδών σε συνθήκες υποξίας.[299]




**Εικόνα. 6. Η αμφίδρομη σχέση ET-1 και HIF-1α**

Τέλος, έχει παρατηρηθεί η δημιουργία καρκινικών νεοαγγείων de novo (με κυτταρική επένδυση σε αντίθεση με τα συνήθη καρκινικά νεοαγγεία που στερούνται της φυσιολογικής αγγειακής κυτταρικής διαστρωμάτωσης) σε επιθετικό καρκίνο ωοθηκών, εύρημα μάλιστα σχετιζόμενο με προχωρημένο στάδιο νόσου, μεταστάσεις και χαμηλή συνολική επιβίωση. Σημαντικό ρόλο στη δημιουργία αυτών των αγγείων φαίνεται να παίζει το σύστημα των στρωματικών μετταλοπρωτεασών MMPs (matrix metalloproteinase MMP-2 και Membrane Type-1 MT1-MMP).[300] Αξιοσημείωτη λοιπόν είναι η παρατήρηση της έκφρασης ET-1 και $ET_AR$ σε συνδυασμό με τις MMPs, σε τέτοια επιθετικά ωοθηκικά καρκινώματα και μάλιστα ότι η εφαρμογή $ET_AR$ ανταγωνιστών οδήγησε σε αναστολή της δημιουργίας τέτοιων αγγείων [282, 300] Συμπερασματικά όσον αφορά στην καρκινική νεοαγγείωση, η ET-1 διαδραματίζει σημαντικό και πολυποίκιλο ρόλο, που αποτελεί αντικείμενο εντατικής και πολλά υποσχόμενης έρευνας.

## ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟ ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Είναι πλέον γνωστό ότι στη διαδικασία της διήθησης- μετάστασης και διασποράς των καρκινικών κυττάρων σημαντικό ρόλο παίζει η αλληλεπίδρασή τους με το εξωκυττάριο περιβάλλον. Παρά το γεγονός ότι η όλη διαδικασία της αλληλεπίδρασης των καρκινικών κυττάρων με τα στρωματικά κύτταρα παραμένει ακόμη σε μεγάλο βαθμό άγνωστη, κομμάτια αυτού του πολύπλοκου δικτύου αποσαφηνίζονται συνεχώς. Έτσι έχει βρεθεί ότι μόρια κλειδιά σε αυτή τη συσχέτιση είναι οι καντχερίνη (cadherin), κονεξίνη (Connexin Cx), ιντεγκρίνη (integrin), που ρυθμίζουν τις διακυττάριες συνδέσεις καθώς και την προσκόληση των κυττάρων στο στρώμα, και οι σχετιζόμενες με τη μετάσταση πρωτεϊνάσες (metastasis-related proteins: MMPs και uPA), που προκαλούν αναδιαμόρφωση του στρώματος, κατάλληλη να δεχθεί το καρκινικό κύτταρο. Η ET-1 ενισχύει την έκφραση αρκετών από τα παραπάνω μόρια, π.χ. Cx43, $\alpha_2\beta_1$- και $\alpha_3\beta_1$- integrins.[284, 301, 302] Ένα επιπλέον φαινόμενο απαραίτητο για τη διήθηση- μετάσταση των καρκινικών κυττάρων, είναι η λεγόμενη απώλεια των επιθηλιακών χαρακτηριστικών τους και η απόκτηση μεσεγχυματογενών, που ευνοούν την κινητικότητα και τη δυνατότητα «αγκίστρωσής» τους σε νέο περιβάλλον (Epithelial- to- Mesenchymal Transition

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

EMT). Κομβικό σημείο στην αλλαγή αυτή, της διαφοροποίησης των κακόηθων κυττάρων, είναι η μείωση της έκφρασης της E-Cadherin και η αύξηση της N- Cadherin. Η ET-1 συμμετέχει στη μετάβαση αυτή, ενεργοποιώντας διάφορα κυτταρικά μονοπάτια (PI3/ILK, β-Catenin), όπως έχει αποδειχθεί σε κυτταρικές σειρές μελανώματος και καρκίνου ωοθηκών.[303, 304] Επίσης, σε ωοθηκικό και προστατικό καρκίνο, και καρκίνο παχέος εντέρου, αμφίδρομη συσχέτιση αποδεικνύεται ανάμεσα στην ET-1 και το μονοπάτι της β-Catenin, που εμπλέκεται σε διαδικασίες όχι μόνο πολλαπλασιασμού και κυτταρικής απόπτωσης αλλά και διήθησης-μετάστασης. Δηλαδή, τόσο η ET-1, μέσω του $ET_AR$, παρεμβαίνει θετικά στη σταθεροποίηση της β-catenin και άρα την ενεργοποίηση και μετάβασή της στον πυρήνα του κυττάρου όπου επάγει τη μεταγραφή σειράς γονιδίων, όσο και το γονίδιο της ET-1 αποτελεί ένα από τα γονίδια στόχους της β-catenin, στοιχειοθετώντας κατ'αυτό τον τρόπο τη σημασία της ET-1 στις διαδικασίες επιβίωσης, πολλαπλασιασμού και μετάστασης των καρκινικών κυττάρων .[305-307] Τέλος, σε κυτταρικές σειρές καρκίνου κεφαλής και τραχήλου αλλά και παχέος εντέρου, έχει αναγνωριστεί ρόλος της ET-1 στην επικοινωνία καρκινικών κυττάρων και γειτονικών ινοβλαστών. Η προσθήκη ET-1 σε καλλιέργειες στοματικών ινοβλαστών οδηγεί σε ενίσχυση της έκφρασης του υποδοχέα του επιδερμοειδούς αυξητικού παράγοντα (Epidermal Growth Factor Receptor EGFR) στα αντίστοιχα καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα και αύξηση της κινητικότητας και άρα του μεταστατικού δυναμικού τους, ενώ σε ινοβλάστες παχέος εντέρου οδηγεί σε δημιουργία στρώματος κατάλληλου να φιλοξενήσει τα καρκινικά κύτταρα.[308, 309]

**ΟΣΤΕΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΚΑΙ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

Τέλος, η ET-1 φαίνεται να παίζει ρόλο και σε μια σειρά άλλες καταστάσεις σχετιζόμενες με τον καρκίνο.

Σε οστεοβλαστικές μεταστάσεις, π.χ. προστάτη και μαστού, παρατηρείται σημαντική έκφραση του $ET_AR$ από τους οστεοβλάστες, στον πολλαπλασιασμό των οποίων συμμετέχει και η ET-1, πιθανώς μέσω συγκεκριμένου μονοπατιού (calcineurin/ NFAT Nuclear Factor of Activated T cells).[310, 311] Μάλιστα, σε πειραματικά μοντέλα, η αναστολή in vivo του $ET_AR$ με κατάλληλους ανταγωνιστές, οδήγησε σε μείωση των οστικών μεταστατικών εστιών, ανοίγοντας έτσι νέο δρόμο για την αντιμετώπιση των οστικών μεταστάσεων ή ακόμη και την πρόληψη αυτών.[253, 312, 313]

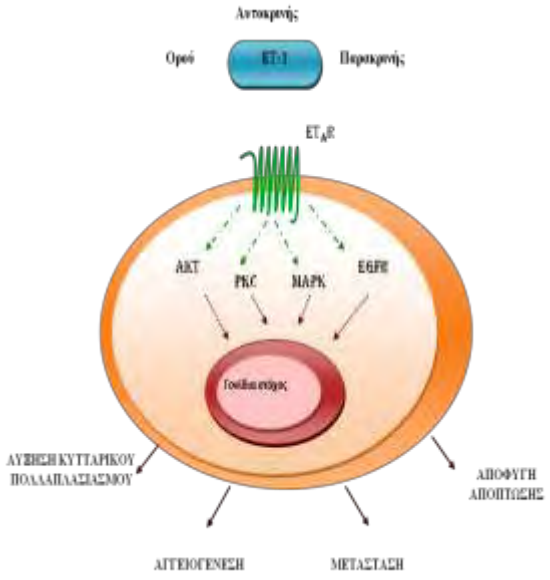
Σε περιπτώσεις μεταστατικής καρκινικής νόσου, η ET-1 μπορεί να σχετίζεται με καταστάσεις πόνου, καθώς η ενδοδερμική έγχυσή της προκαλεί επίταση του άλγους μέσω $ET_AR$, και αναλγησία μέσω $ET_BR$.[314] Η δε χρήση $ET_AR$ ανταγωνιστών οδήγησε σε βελτίωση του πόνου σε περιπτώσεις προχωρημένης νόσου, υποσχόμενη έτσι ένα πιθανό τρόπο στοχευμένης αναλγησίας σε ανθεκτικές καταστάσεις.[315]

Μακροφάγα που εντοπίζονται σε καρκινικό περιβάλλον εκφράζουν τους υποδοχείς της ET-1 και μάλιστα κυρίως τους $ET_BR$, παράγουν δε τα ίδια ET-1, η οποία ρυθμίζει σε κάποιο βαθμό την κινητικότητα και τη δράση τους. Για παράδειγμα, έχει βρεθεί ότι η υπερέκφραση των $ET_BR$ από τα ενδοθηλιακά κύτταρα του όγκου, εμποδίζει την εγκατάσταση και δράση Τ λεμφοκυττάρων στον όγκο, που παίζουν ρόλο στην άμυνα του οργανισμού έναντι του καρκινικού φορτίου. Αναφέρεται ότι ETBR ανταγωνιστές μπορεί να χρησιμοποιηθούν στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου, ως πιθανοί ανοσοτροποποιητές.[316]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ

Όπως γίνεται αντιληπτό από τα παραπάνω, η ET-1 διατηρεί σημαίνοντα ρόλο στις περισσότερες από τις διαδικασίες της καρκινογένεσης. (Εικ. 7). Η έκφραση δε και δράση της ET-1 καθώς




**Εικόνα.7. ET-1 και κυτταρικά μονοπάτια**

και των υποδοχέων της μελετάται σε πληθώρα καρκίνων, όπως ωοθηκών, ενδομητρίου, τραχήλου μήτρας, νεφρού, ουροδόχου κύστεως, προστάτη, μαστού, πνεύμονα, οστών, παχέος εντέρου, νευρικού συστήματος, στοματοφάρυγγα κ.α.

Δεν είναι τυχαίο λοιπόν που ένα μέρος της ιατρικής έρευνας, όσον αφορά στη θεραπεία του καρκίνου, στρέφεται και προς την κατεύθυνση της αναστολής της δράσης της ET-1. Η προσπάθεια αυτή έχει προσεγγίσει όλα τα στάδια παραγωγής και διακίνησης του ενεργού μορίου: το στάδιο της έναρξης βιοσύνθεσης της ET-1 (αναστολή με πολυφαινόλες- κόκκινο κρασί και πράσινο τσάι-), το στάδιο παραγωγής της από τη μεγάλη ενδοθηλίνη (αναστολή του ενζύμου ECE), το στάδιο αποδόμησής της (χρήση μεταλλοπεπτιδάσης NEP), και τέλος το στάδιο της δράσης της στους υποδοχείς της (χρήση ανταγωνιστών $ET_AR$ και $ET_BR$).[255, 317-319] Μέχρι σήμερα, πολλά υποσχόμενη προσέγγιση αποτελεί ο ανταγωνισμός των υποδοχέων της ET-1 και ιδιαίτερα του $ET_AR$, με στοχευμένα μόρια. Δύο από αυτά, το ABT-627(atrasentan) και το ZD4054, είναι ειδικοί και ισχυροί $ET_AR$ αναστολείς, και η πιθανή θεραπευτική δράση τους ελέγχεται ήδη σε κλινικές μελέτες.[253, 288, 320-323]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## 4. ET-1 ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Η παρουσία της ET-1 σε εντερικό ιστό καταδείχθηκε πρώτη φορά με ραδιοϊσοτοπικές μελέτες, στις οποίες παρατηρήθηκε σήμανση για την ET-1 σε νευρικά κύτταρα και των δύο εντερικών πλεγμάτων (υποβλεννογόνιο και μυεντερικό), στον εντερικό βλεννογόνο και σε αγγεία παχέος εντέρου.[324, 325] Ακολούθησε η κατάδειξη, με παρόμοιες τεχνικές, της παρουσίας της ET-1 σε αγγεία και στρωματικά κύτταρα (ινοβλάστες) καρκινικού εντερικού ιστού.[326] Ακολούθως, αποδείχθηκε αυξημένη έκφραση της ET-1 όχι μόνο στα αγγεία και στο καρκινικό στρώμα αλλά και στα ίδια τα κακοήθη επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου και επιπλέον σε ηπατικές μεταστάσεις από παχύ έντερο.[327-329] Αξιοσημείωτη είναι και η ανεύρεση αυξημένων επιπέδων ET-1 στο πλάσμα ασθενών με μεταστατικό και μη καρκίνο παχέος εντέρου.[329]

Η ανίχνευση λοιπόν της ET-1 στο καρκινικό περιβάλλον, μεταξύ άλλων, και του παχέος εντέρου οδήγησε σε πιο επισταμένη αναζήτηση του πραγματικού ρόλου της στην εντερική καρκινογένεση. Προς αυτή την κατεύθυνση, σημαντική είναι η ενδελεχής αναζήτηση και καταγραφή όλων των μορίων του άξονα της ET-1, δηλαδή της προενδοθηλίνης, του μετατρεπτικού ενζύμου ECE και των υποδοχέων της $ET_AR$ και $ET_BR$, τόσο στο φυσιολογικό παχύ έντερο όσο και στον καρκίνο του παχέος εντέρου από τους Egidy et.al. [330, 331] Οι παραπάνω κατέδειξαν σε 18 δείγματα φυσιολογικού παχέος εντέρου, με in situ υβριδισμό, ραδιοϊσοτοπική σήμανση με $^{125}$I-ET-1 και ανοσοϊστοχημεία, την παρουσία της προενδοθηλίνης και του ECE στα αγγεία, τα επιθηλιακά κύτταρα και σε μακροφάγα του παχέος εντέρου, και των υποδοχέων $ET_AR$ και $ET_BR$ σε σειρά κυττάρων, μεταξύ των οποίων και νευρικών ινών. Πρότειναν κατ' αυτό τον τρόπο πολλαπλές δράσης της ET-1 ως: νευροπεπτιδίου (σημαντικού ίσως στη διαφοροποίηση και την κινητικότητα του παχέος εντέρου), αυξητικού παράγοντα, δρώντα εκτός από τις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και στα στρωματικά κύτταρα αλλά και ανοσοτροποποιητικού παράγοντα. Ακολούθως, σε 18 δείγματα καρκίνου του παχέος εντέρου πραγματοποιήθηκε παρόμοια ανάλυση, που έδειξε άφθονη παρουσία της προενδοθηλίνης και του ECE στα νεοπλασματικά κύτταρα και τα αγγεία του όγκου καθώς και του $ET_AR$, με διαφορετική κατανομή του $ET_BR$ (κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα των καρκινικών νεοαγγείων και στους περιβάλλοντες μυοϊνοβλάστες). Προτάθηκε λοιπόν τόσο αυτοκρινής ρόλος της ET-1 (παραγωγή από καρκινικά κύτταρα και δράση στα ίδια), όσο και παρακρινής με δράση στα στρωματικά κύτταρα και κυρίως στους ινοβλάστες. Επόμενες μελέτες επιβεβαίωσαν τα ευρήματα αυτά.[332, 333]

Ακολούθησε η διερεύνηση της εξειδικευμένης έκφρασης της ET-1 και των υποδοχέων της στον καρκίνο του παχέος εντέρου καθώς και των πιθανών εμπλεκόμενων μηχανισμών. Έτσι, σε μελέτες κυτταρικών καλλιεργειών καρκίνου του παχέος εντέρου (LIM1215, HT29, SKCO1, SKCO17 και LoVo) διαπιστώθηκε αυξημένη έκφραση της ET-1 και του υποδοχέα $ET_AR$, ενώ η έκφραση του $ET_BR$ ήταν μικρή έως μηδαμινή στα καρκινικά κύτταρα και αντίθετα αξιοσημείωτη σε καλλιέργειες φυσιολογικών κυττάρων παχέος εντέρου. [332] Η προσθήκη δε ET-1 σε παρόμοιες καρκινικές καλλιέργειες (LIM1215 και HT29) οδήγησε σε σημαντική αύξηση των κυτταρικών πληθυσμών. Η αύξηση αυτή ανεστάλη με την χρήση $ET_AR$ ανταγωνιστών (BQ123 και BQ610) αλλά όχι $ET_BR$ ανταγωνιστών (BQ788).[334] Αποδείχθηκε κατ' αυτό τον τρόπο ότι η ET-1 λειτουργεί ως αυξητικός παράγοντας για τα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου και ότι η δράση της αυτή ασκείται μέσω του $ET_AR$.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Ταυτόχρονα με τη δράση της ET-1 στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, μελετήθηκε και η σημασία της στην κυτταρική απόπτωση, σημαντικό μηχανισμό διατήρησης φυσιολογικού του πληθυσμού των κυττάρων στα διάφορα όργανα, που διαταράσσεται κατά την καρκινογένεση προς την υπεροχή του πολλαπλασιασμού. Σημαντικό δε ενδοκυττάριο μονοπάτι, προάγουν τον κυτταρικό θάνατο, είναι αυτό των Fas/FasL-κασπασών.[335] Βρέθηκε λοιπόν ότι η χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 σε κυτταρικές καλλιέργειες καρκίνου του παχέος εντέρου (ποντικών, ανθρώπειων), αύξησε την Fas/FasL εξαρτώμενη κυτταρική απόπτωση σε αυτές, ενώ η επιπλέον προσθήκη ακόμη και χαμηλών δόσεων ET-1 οδήγησε σε διαφυγή των κυττάρων από τον θάνατο.[336, 337] Καταδείχθηκε έτσι η δράση της ET-1 και ως παράγοντα επιβίωσης στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

Επιπλέον, η δράση της ET-1 τόσο ως αυξητικού παράγοντα όσο και ως παράγοντα επιβίωσης στον καρκίνο του παχέος εντέρου, πιστοποιείται και από την αλληλεπίδρασή της με το *β*-catenin ενδοκυττάριο μονοπάτι αύξησης/ απόπτωσης, ενεργοποίηση του οποίου έχει ενοχοποιηθεί στον καρκίνο του παχέος εντέρου.[338] Στα φυσιολογικά κύτταρα, η ελεύθερη ενδοκυττάρια β-catenin φωσφορυλιώνεται από το σύμπλεγμα APC/Axin/GSK3β και οδηγείται προς αποδόμηση στο πρωτεόσωμα, με την επίδραση όμως αυξητικών ερεθισμάτων (Wnt signaling) σταθεροποιείται και μεταφέρεται στον πυρήνα του κυττάρου όπου δρα ως μεταγραφικός παράγοντας σειράς γονιδίων στόχων. Ωστόσο, σε περισσότερους από 85% των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου έχει πιστοποιηθεί μετάλλαξη του APC γονιδίου, που οδηγεί σε απενεργοποίηση του συμπλέγματος APC/Axin/GSK3β, με αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη είσοδο της *β*-catenin στον πυρήνα και την ενεργοποίηση ογκογονιδίων όπως το MYC, που παίζει ρόλο τόσο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όσο και στην κυτταρική απόπτωση.[339] Βρέθηκε λοιπόν ότι το γονίδιο της ET-1 αποτελεί στόχο της *β*-catenin σε καρκινικές καλλιέργειες παχέος εντέρου, και ότι η παραγόμενη ET-1 ενισχύει το αυξητικό αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του *β*-catenin μονοπατιού.[306] Εξάλλου, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η σχέση της ET-1 με το παραπάνω μονοπάτι φαίνεται να είναι αμφίδρομη, καθώς έχει αποδειχθεί (σε κυτταρικές καλλιέργειες καρκίνου ωοθηκών), ότι η ET-1 συμμετέχει στη σταθεροποίηση της *β*-catenin και άρα την ενεργοποίηση και μετάβασή της στον πυρήνα, ώστε να ασκήσει η τελευταία το μεταγραφικό της ρόλο, μεταξύ άλλων και στο γονίδιο της ίδιας της ET-1.[305] Η υπόθεση λοιπόν της ύπαρξης ενός αλληλο-ανατροφοδοτικού μηχανισμού μεταξύ των δύο αξόνων φαντάζει αρκετά ρεαλιστική.

Ενώ η λειτουργία της ET-1 ως μιτογενετικού παράγοντα στον καρκίνο του παχέος εντέρου, μέσω ενεργοποίησης κατά κύριο λόγο του $ET_AR$, είναι πλέον αποδεδειγμένη, υπό συνεχιζόμενη διερεύνηση βρίσκονται τα μονοπάτια που εμπλέκονται σε αυτή τη δράση. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η ενεργοποίηση από την ET-1 των μονοπατιών της φωσφολιπάσης C με αύξηση του ενδοκυττάριου $Ca^{2+}$ , της PI3K/Akt, της πρωτεϊνικής κινάσης C και της MAPK οδηγεί σε άφιξη στον πυρήνα του κυττάρου μηνυμάτων σύνθεσης DNA και κατ' επέκταση κυτταρικού πολλαπλασιασμού, έχει αποδειχθεί δε σε σειρά επιθηλιακών καρκινικών κυτταρικών σειρών. Μεταξύ αυτών είναι και καρκινικές κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου (HT29, LIM1215 and SW620), στις οποίες: α) η προσθήκη ET-1 αύξησε σημαντικά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, β) η επίδραση αυτή ασκήθηκε μέσω $ET_AR$, ενώ γ) παρατηρήθηκε αναστολή της με τη χρήση ανταγωνιστών κατά των G-πρωτεϊνών (των συνδεόμενων με τους υποδοχείς της ET-1) και κατά των PI3K και PKC μονοπατιών. Αξιοσημείωτη ήταν επίσης η παρατήρηση ότι η έκφραση και η επίδραση του EGFR

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, γνωστού αυξητικού παράγοντα των επιθηλιακών κυττάρων, επηρεάστηκε ανάλογα με την παρουσία ή τον ανταγωνισμό της ET-1 (η ET-1 αύξησε την έκφραση του EGFR και ενίσχυσε την επίδρασή του στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, ενώ η απενεργοποίηση του EGFR με κατάλληλο ανταγωνιστή μείωσε την επίδραση της ET-1 στην κυτταρική αύξηση).[340] Φαίνεται λοιπόν ότι η ET-1 ασκεί τις μιτογενετικές δράσεις της μέσω πολλαπλών δικτύων.

Η δράση ωστόσο της ET-1 στους περισσότερους συμπαγείς καρκίνους, εκτός από αυτοκρινής, έχει αποδειχθεί και παρακρινής με επαγωγή λειτουργικών αλλαγών σε κύτταρα του γειτονικού στρωματικού περιβάλλοντος.[308] Έτσι, σε καλλιέργειες ινοβλαστών από υγιή εντερικό βλεννογόνο γειτονικό σε καρκίνωμα, προστέθηκε ET-1 και μελετήθηκε η επίδρασή της στους ινοβλάστες σε επίπεδο αύξησης, κινητικότητας και απόκτησης χαρακτηριστικών δημιουργίας νέου στρώματος. Διαπιστώθηκε ότι η ET-1 είχε ενισχυτική επίδραση σε όλες τις παραπάνω παραμέτρους, αυξάνοντας ουσιαστικά τη δυνατότητα των ινοβλαστών να παράγουν νέο στρωματικό περιβάλλον που είναι απαραίτητο για την επέκταση του αρχικού καρκινικού φορτίου.[309]

Επίσης, πρόσφατα μελετήθηκε σε δείγματα καρκίνου του παχέος εντέρου – μεταστατικού και μη- η έκφραση σε επίπεδο mRNA διαφόρων γονιδίων σχετιζόμενων με τον ET-1 άξονα, και διαπιστώθηκε η υπερέκφραση του mRNA του $ET_AR$ στα καρκινικά δείγματα και ιδιαίτερα στα προερχόμενα από μεταστατική νόσο, και η σαφώς μειωμένη έκφραση του mRNA του $ET_BR$ στον καρκινικό ιστό.[341] Η συμμετοχή της ET-1 στη διαδικασία απόκτησης μεταστατικού δυναμικού των καρκινικών κυττάρων έχει μελετηθεί σε σειρά καρκίνων, όπως έχει προαναφερθεί, και αυτή η μελέτη αποτελεί μια αρχική προσέγγιση της συγκεκριμένης δράσης της ET-1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου. [301, 303]

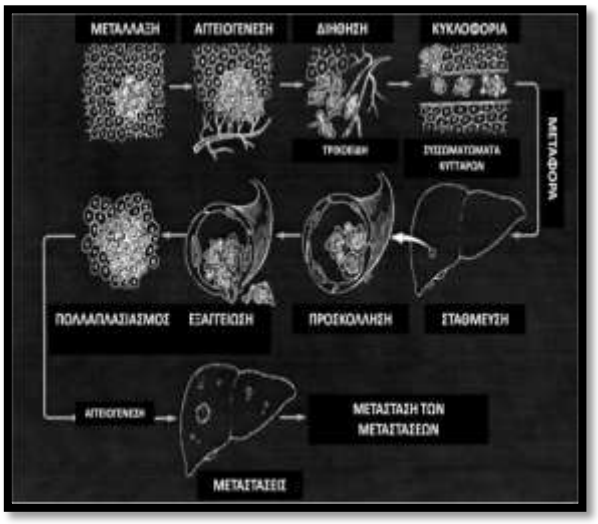
Τέλος, η μελέτη του ρόλου του μορίου της ET-1 στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου, επεκτείνεται και στην προσπάθεια συσχέτισης της ανιχνευόμενης ET-1 (είτε της προενδοθηλίνης) στη συστηματική κυκλοφορία με την πρόγνωση της νόσου. Ωστόσο, τα μέχρι τώρα αποτελέσματα δεν είναι ξεκάθαρα. Κάποιες μελέτες δεν ανευρίσκουν συσχέτιση των τιμών της ET-1 ή της προενδοθηλίνης με την πρόγνωση της νόσου, παρά το ότι τα ανιχνευόμενα επίπεδά της είναι υψηλότερα σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου (μεταστατικό και μη) συγκρινόμενα με αυτά υγιών.[342-344] Αντίθετα, άλλες διαπιστώνουν συσχέτιση υψηλών επιπέδων ET-1 ή προενδοθηλίνης με τη συνολική επιβίωση των ασθενών, αποδίδοντας έτσι προγνωστική σημασία στις τιμές της ET-1 στη συστηματική κυκλοφορία ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου.[345]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## 5. VEGF ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

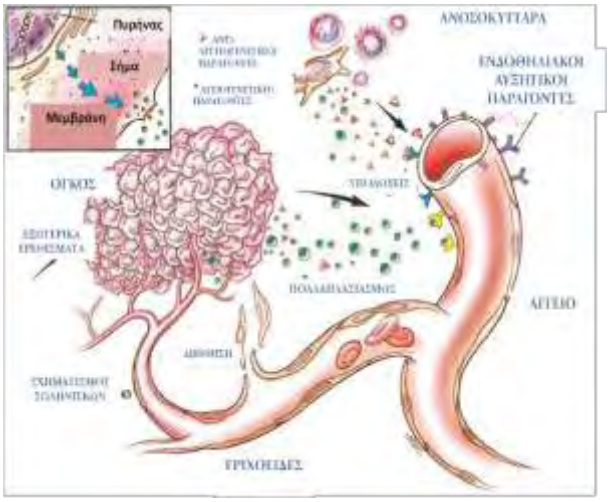
Η κυριότερη αιτία θανάτου από καρκίνο είναι η μετάσταση καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένα όργανα. Η μεταστατική διαδικασία είναι ένα περίπλοκο φαινόμενο, η αποσαφήνιση του οποίου έχει αποτελέσει αντικείμενο εντατικής έρευνας. Δύο βασικές θεωρίες αναπτύχθηκαν για την εξήγηση της απόκτησης ενός καρκίνου μεταστατικού δυναμικού: η θεωρία “seed and soil” (σπόρου και εδάφους), που ισχυρίζεται ότι πρέπει να υπάρχει συμβατότητα του καρκινικού κυττάρου που μεθίσταται και του οργάνου που το υποδέχεται και η “μηχανική” θεωρία, που ισχυρίζεται ότι τοπικοί παράγοντες στην περιοχή του καρκίνου σχετιζόμενοι με την κατασκευή του αγγειακού συστήματος (αγγεία, λεμφαγγεία) είναι αυτοί που πρωταγωνιστούν στη μεταστατική διαδικασία. Ακολούθησε ο συγκερασμός των δύο θεωριών, με συμπέρασμα ότι τοπικοί ανατομικοί παράγοντες του αγγειακού συστήματος (απαγωγό φλεβικό δίκτυο, λεμφαγγεία, περιοχικοί λεμφαδένες) ενδεχομένως παίζουν ρόλο στην τοποπεριοχική επέκταση του καρκίνου, αλλά η απόκτηση εξειδικευμένων χαρακτηριστικών από τα καρκινικά κύτταρα, συμβατών με το μικροπεριβάλλον συγκεκριμένων οργάνων είναι αυτή που καθορίζει την απομακρυσμένη μετάσταση αυτών και μάλιστα εξηγεί και την προτίμηση διαφόρων καρκίνων για τα συγκεκριμένα όργανα στα οποία μεθίστανται.[346]

Σήμερα είναι γνωστό ότι μια σειρά γεγονότων είναι απαραίτητη προκειμένου να αναπτυχθεί μια μεταστατική εστία. Όσον αφορά στον καρκίνο του παχέος εντέρου, το ήπαρ είναι το συχνότερο όργανο μετάστασής του. Σχηματικά λοιπόν, αυτή η σειρά φαίνεται στην εικόνα 1.




**Εικόνα 1. Στάδια μεταστατικής διαδικασίας**

Είναι προφανές ότι από τα πιο σημαντικά στάδια της μεταστατικής διαδικασίας είναι η αγγειογένεση, η οποία φαίνεται να παίζει ρόλο τόσο στην αρχή της- όταν τα καρκινικά κύτταρα ετοιμάζονται να διηθήσουν το αρχικό όργανο- όσο και όταν εγκαθίστανται στο απομακρυσμένο όργανο. Μετά την περιγραφή από τον Folkman το 1986, της εξάρτησης ουσιαστικά των καρκίνων από την αγγειογένεση, πληθώρα θετικών και αρνητικών ρυθμιστών αυτής έχουν μελετηθεί.[347] Εικ.2

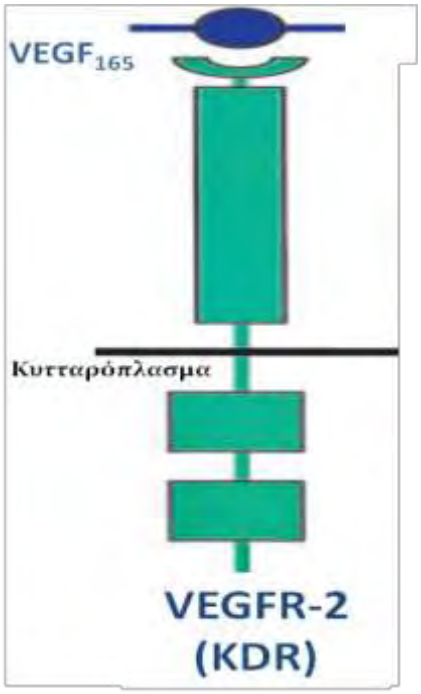



**Εικόνα 2. Αγγειογένεση**

Από αυτούς, ο πιο καλά μελετημένος και σχετιζόμενος με την καρκινική αύξηση και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

μετάσταση είναι ο Αγγειοδραστικός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παραγοντας VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) μια γλυκοπρωτείνη 165 αμινοξέων 45 kd ,το γονίδιο της οποίας εδράζεται στο χρωμόσωμα 6. Έχουν ταυτοποιηθεί και άλλα παράγωγα του ίδιου γονιδίου με αριθμό αμινοξέων που ποικίλλει από 121 έως 206 (VEGF B, C, D και πρόσφατα F) , καθώς και 3 είδη υποδοχέων VEGFR-1, R-2 και R-3.[348] Ο VEGF A ή απλά πλέον VEGF θεωρείται ο πιο σημαντικός ρυθμιστής της φυσιολογικής αγγειογένεσης- ανάπτυξη οργάνων, διαφοροποίηση, επούλωση τραυμάτων, αναπαραγωγή- αλλά και ένας από τους βασικούς πρωταγωνιστές της νεοαγγείωσης σε διάφορους όγκους. Παράγεται τόσο από κύτταρα του ξενιστή, ενδοθηλιακά κ.α., όσο και από καρκινικά κύτταρα και αυξάνει τη διαπερατότητα των αγγείων, προάγει των πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, συνεργεί στη μιτογένεση και οδηγεί σε νεοαγγείωση. Η δράση του στην αγγειογένεση στον καρκίνο του παχέος εντέρου επάγεται κατά κύριο λόγο μέσω του VEGFR 2, ενώ προάγει και την λεμφαγγειογένεση μέσω του VEGFR 3. [349] Εικ 3




**Εικόνα 3. Ο υποδοχέας 2 του VEGF**

Σε ότι αφορά λοιπόν στον καρκίνο του παχέος εντέρου, σειρά μελετών σχετίζουν την έκφραση του VEGF, την έκφραση του υποδοχέα του, και την έκταση της νεοαγγείωσης στον αρχικό καρκινικό ιστό με την εμφάνιση μεταστάσεων, κυρίως στο ήπαρ, και κατ' επέκταση την πρόγνωση των ασθενών.[346, 350-352] Επίσης, έχουν αναφερθεί σε κλινικές μελέτες σαφώς αυξημένα επίπεδα VEGF A στη μεσεντέρια κυκλοφορία που αποχετεύει τον όγκο σε ασθενείς με απομακρυσμένες μεταστάσεις και σε πειραματικά μοντέλα αύξηση των ηπατικών μεταστάσεων μετά την ενδαγγειακή χορήγηση του παράγοντα.[353]

Τα δεδομένα αυτά οδήγησαν στην ανάπτυξη αντι-αγγειογενετικών παραγόντων με κυριότερο εκφραστή το ανασυνδυασμένο ανθρώπειο αντίσωμα κατά του VEGF bevacizumab (Avastin).[352] Το τελευταίο έχει εγκριθεί από το 2004 για χρήση σε μεταστατικό καρκίνο παχέος εντέρου και μη μικροκυτταρικό πνεύμονα σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία. Ωστόσο, αντίσταση στο φάρμακο έχει παρατηρηθεί και ποικιλία άλλων αντι- αγγειογενετικών παραγόντων ελέγχεται σε συνεχιζόμενες κλινικές έρευνες.[354]

Η σχέση της ET-1 με τον VEGF έχει περιγραφεί παραπάνω: φαίνεται να υφίσταται μια αμφίδρομη επικοινωνία μεταξύ των δύο μορίων (η ET-1 προάγει την παραγωγή VEGF μέσω του HIF-1α, ο VEGF προάγει την παραγωγή ET-1 μέσω στρωματικών μετταλοπρωτεασών), που έχει αποδειχθεί κυρίως σε πειραματικά μοντέλα και στον καρκίνο του μαστού, εν πολλοίς ωστόσο παραμένει άγνωστη στις λεπτομέρειές της.[292, 355, 356]

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## Β. ΣΚΟΠΟΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί τη δεύτερη σε συχνότητα αιτία θανάτου από κακοήθεια , παρά τις αξιοσημείωτες εξελίξεις τα τελευταία χρόνια, τόσο στη χειρουργική όσο και στη συστηματική αντιμετώπισή του. Σημαντικά στο γεγονός αυτό συμβάλλει, εκτός από άλλους παράγοντες, η παρούσα αδυναμία αναγνώρισης των ασθενών εκείνων στους οποίους η νόσος έχει αναπτύξει μεταστατικό δυναμικό χωρίς εμφανή, με τις υπάρχουσες μεθόδους, σημεία, με αποτέλεσμα την καθυστέρηση στην αντιμετώπισή τους μέχρι την κλινική εκδήλωση μεταστάσεων. Το συχνότερα προσβαλλόμενο όργανο, η κατάληψη του οποίου αποτελεί και την πρώτη επιβεβαίωση επέκτασης της νόσου, είναι το ήπαρ. Σκοπός λοιπόν της παρούσας μελέτης είναι η προσπάθεια ανάδειξης, σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου και χωρίς εικόνα μεταστατικής νόσου, πιθανών συσχετίσεων μεταξύ απεικονιστικών και μοριακών παραμέτρων - εμπλεκόμενων με τη μέχρι τώρα έρευνα στη μεταστατική διαδικασία του καρκίνου του παχέος εντέρου - και της πορείας των ασθενών αυτών, μετά βέβαια την εφαρμογή των σύγχρονων μεθόδων χειρουργικής και επικουρικής θεραπείας.

Με βάση τα προαναφερθέντα, και ακολουθώντας το γενικό σχεδιασμό του αρχικού πρωτοκόλλου, σε ομάδα ασθενών πασχόντων από καρκίνο του παχέος εντέρου και χωρίς σημεία μεταστατικής νόσου βάσει της κλασσικής προεγχειρητικής σταδιοποίησης, κατά το ένα σκέλος της μελέτης, διενεργήθηκε προεγχειρητικά μελέτη της αγγείωσης του ήπατος με τον υπερηχογραφικό δείκτη DPI, η αύξηση των τιμών του οποίου σχετίζεται, σε προηγηθείσες ερευνητικές μελέτες, με την παρουσία μεταστατικής νόσου στο ήπαρ. Κατά το άλλο σκέλος, σε δείγματα από τον καρκινικό ιστό των παραπάνω ασθενών, μελετήθηκε με σειρά τεχνικών η έκφραση του μορίου Ενδοθηλίνη-1 και των υποδοχέων της $ET_AR$ και $ET_BR$, δεδομένου ότι η παραγωγή και δράση της έχει εμπλακεί σε ερευνητικό επίπεδο στη διαδικασία της καρκινογένεσης, μεταξύ άλλων και του παχέος εντέρου. Ανάλογη μελέτη πραγματοποιήθηκε και σε παρακείμενο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο, προς σύγκριση των ευρημάτων. Περαιτέρω διερεύνηση της έκφρασης της ET-1 και των υποδοχέων της διενεργήθηκε σε κυτταρικές καλλιέργειες καρκίνου του παχέος εντέρου. Τέλος, μέτρηση της ET-1 πραγματοποιήθηκε προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά και στη συστηματική κυκλοφορία των παραπάνω ασθενών, στην οποία μετρήθηκε και η παρουσία του VEGF, παράγοντα γνωστού στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου, ο ανταγωνισμός του οποίου μάλιστα με στοχευμένα μόρια αποτελεί τα τελευταία χρόνια μέρος της συστηματικής επικουρικής θεραπείας του καρκίνου του παχέος εντέρου, προς αδρή σύγκριση της σχέσης έκφρασης των δύο μορίων στη ομάδα των παραπάνω ασθενών.

Στο τελευταίο στάδιο, πραγματοποιήθηκε μελέτη της ελεύθερης νόσου και της συνολικής επιβίωσης των ασθενών, προς συσχετισμό αυτής με τα ευρήματα των πειραμάτων.

Με τη στατιστική ανάλυση των παραπάνω δεδομένων, στόχος είναι να απαντηθεί το πρωτεύον ερώτημα: είναι δυνατόν η παραγόμενη από τον καρκινικό ιστό ET-1 να αποτελεί τον αγγειοσυσπαστικό παράγοντα, που πιθανολογείται ότι ευθύνεται για τις αλλαγές στην αγγείωση του ήπατος στην περίπτωση κατάληψής του από μικρομεταστατική νόσο, και η καταγραφή των οποίων επιχειρείται με το DPI; Και αν ναι, πως σχετίζεται αυτή με την πρόγνωση των ασθενών;

Επιμέρους ερωτήματα του πειράματος, η απάντηση των οποίων θα στοιχειοθετήσει την απάντηση στο πρωτεύον είναι :

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

- Σχετίζονται οι τιμές του DPI με την πραγματική κατάσταση του ήπατος, όπως αυτή μπορεί να εκτιμηθεί με το follow-up των ασθενών;
- Σχετίζονται οι τιμές του DPI με το παθολογοανατομικό στάδιο κατά Duke's;
- Σχετίζονται οι τιμές του DPI με την επιβίωση των ασθενών;
- Εκφράζεται και με ποιο μοτίβο η ET-1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου;
- Σχετίζεται η έκφραση της ET-1 με το παθολογοανατομικό στάδιο κατά Duke's;
- Σχετίζεται η έκφραση της ET-1 με την επιβίωση των ασθενών;
- Σχετίζεται η έκφραση της ET-1 με αυτή του VEGF;
- Σχετίζονται η έκφραση της ET-1 και οι τιμές του DPI;

Ακολουθεί αναλυτική παρουσίαση των πειραμάτων και των αποτελεσμάτων τους, καθώς και οι συνεπαγόμενες απαντήσεις στα παραπάνω ερωτήματα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## Γ. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 1. ***ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ***

Η ομάδα μελέτης αποτελείται από 39 ασθενείς που εισήχθησαν από 2/2003 έως 9/2006 στην Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική, του Πανεπιστημιακού Γενικού Περιφερειακού Νοσοκομείου Λάρισας, Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με διάγνωση πρωτοπαθούς καρκίνου του παχέος εντέρου. Η ομάδα περιλαμβάνει 20 γυναίκες και 19 άνδρες με μέση ηλικία 71,1 έτη (εύρος 43-84 έτη). Οι ασθενείς υπεβλήθησαν στην κλασσική προεγχειρητική σταδιοποίηση για καρκίνο παχέος εντέρου με φυσική εξέταση, έλεγχο καρκινικών δεικτών και ηπατικής βιολογίας, αξονική τομογραφία άνω-κάτω κοιλίας και οπισθοπεριτοναϊκού χώρου, ακτινογραφία ή/και αξονική τομογραφία θώρακος και σπινθηρογράφημα οστών όπου ενδεικνυόταν. Αφού ταξινομήθηκαν προεγχειρητικά ως μη έχοντες εικόνα μεταστατικής νόσου, ακολούθησε θεραπευτική εκτομή του όγκου. Η κατανομή του πρωτοπαθούς όγκου ήταν κυρίως στο αριστερό κόλον και ορθό (33 αριστερό κόλον και 6 δεξιό), και 6 δεξιές κολεκτομές, 9 αριστερές κολεκτομές, 15 χαμηλές πρόσθιες και 9 κοιλιοπερινεϊκές εκτομές πραγματοποιήθηκαν. Επρόκειτο για 39 αδενοκαρκινώματα, από τα οποία 6 (15,3%) ήταν Grade I, 23 (58,9%) ήταν Grade II και 10 (25,6%) ήταν Grade III. Με βάση την ταξινόμηση κατά Duke's τα παραπάνω αδενοκαρκινώματα ήταν 1(2,5%) Duke's A, 21(53,8%) Duke's B, 16(41%) Duke's C και 1 (2,5%)Duke's D. Τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

| | **Συνολικός αριθμός 39** | **%** |
|---|---|---|
| **Άνδρες** | 19 | 48,8 |
| **Γυναίκες** | 20 | 51,2 |
| | **Εύρος** | **Μέση τιμή** |
| **Ηλικία** | 43 -84 years | 71,1 |
| **Θέση** | **Αριθμός** | **%** |
| Δεξιό κόλον | 6 | 15,4 |
| Αριστερό κόλον | 16 | 41 |
| Ορθό | 17 | 43,5 |
| **Χειρουργική Επεμβαση** | | |
| Δεξιά Ημικολεκτομή | 6 | 15,4 |
| Αριστερή Ημικολεκτομή | 9 | 23,1 |
| Χαμηλή Πρόσθια Εκτομή | 15 | 38,4 |
| Κοιλιοπερινεϊκή Εκτομή | 9 | 23,1 |
| **Στάδιο(Dukes)** | | |
| A | 1 | 2,7 |
| B | 20 | 54,0 |
| C | 15 | 40,5 |
| D | 1 | 2,7 |
| **Διαφοροποίηση(Grade)** | | |
| I | 6 | 16,2 |
| II | 22 | 59,4 |
| III | 9 | 24,3 |
| **Επικουρική θεραπεία** | | |
| Ναι | 34 | |
| Όχι | 5 | 12,8 |

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

### 2. ***ΜΕΤΡΗΣΗ DPI***

Σε 29 από τους παραπάνω ασθενείς προηγήθηκε της χειρουργικής θεραπείας μέτρηση του δείκτη αγγείωσης του ήπατος DPI. Η εξέταση εκτελέστηκε από κατάλληλα εκπαιδευμένο ακτινολόγο του Εργαστηρίου Ακτινολογίας, Πανεπιστημιακού Γενικού Περιφερειακού Νοσοκομείου Λάρισας, Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με τη χρήση ATL 3000 και 5000 HDI μονάδας υπερήχων (Advanced Technology Laboratories, Philips, Bothell, WA, USA, με 3.5MHz καμπύλη κεφαλή). Το πρωτόκολλο υπολογισμού του DPI, έχει περιγραφεί σε σειρά μελετών.[203, 238-244] Συγκεκριμένα, η μέτρηση γίνεται μετά 12ωρη νηστεία του ασθενούς και σε ύπτια θέση. Όπως προαναφέρθηκε, το DPI ορίζεται ως η αναλογία της παροχής της ηπατικής αρτηρίας προς την συνολική παροχή αίματος στο ήπαρ (παροχή ηπατικής αρτηρίας και παροχή πυλαίας φλέβας). Η παροχή κάθε αγγείου υπολογίζεται ως το γινόμενο της μέσης ταχύτητας του αίματος στο αγγείο επί την μέση επιφάνεια διατομής του. Η ηπατική αρτηρία εντοπίζεται σε σημείο όπου αποκτά πιο οριζόντια και ευθεία πορεία ενώ η πυλαία φλέβα εντοπίζεται με διαπλευρική προσέγγιση. Μετά τον εντοπισμό εκάστου αγγείου πραγματοποιείται φασματική ανάλυση. Για τον υπολογισμό της ταχύτητας του αίματος χρησιμοποιείται γωνία 50-68$^0$ και με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού του συστήματος η μέση ταχύτητα υπολογίζεται αυτόματα μετά την τοποθέτηση του μετρητή στο κέντρο του αγγείου, στην αρχή και το τέλος ενός ή και περισσότερων καρδιακών κύκλων. Η επιφάνεια διατομής υπολογίζεται επίσης αυτόματα, μετά από σήμανση σε ορθή γωνία με τον κέρσορα της περιμέτρου του αγγείου κατά τη διάρκεια της συστολικής φάσης του καρδιακού κύκλου.

Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε αναπνευστική παύση στη βαθιά εισπνοή ώστε να επιτευχθεί οξύτερη γωνία και κατ' επέκταση μέγιστη απεικόνιση με το Doppler των αγγείων. Με βάση προηγηθείσες μελέτες σε υγιείς και ασθενείς με εμφανείς ηπατικές μεταστάσεις, τιμές DPI 0,3 και μικρότερες θεωρήθηκαν φυσιολογικές.

### 3. ***ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ***

Σύμφωνα με την αναφερόμενη στο αρχικό πρωτόκολλο μεθοδολογία, μετά τη χειρουργική αφαίρεση της πρωτοπαθούς εστίας στους 39 ασθενείς, συλλέχθηκε από κάθε περίπτωση τμήμα του όγκου το οποίο εμβαπτίστηκε σε διάλυμα φορμόλης και σκηνώθηκε σε κύβους παραφίνης (FFPE). Αντιπροσωπευτικές τομές χρωσμένες με αιματοξυλίνη – ηωσίνη από κάθε περίπτωση εξετάστηκαν ιστολογικά από δύο παθολογοανατόμους με σκοπό να επιβεβαιωθεί ότι όλα τα δείγματα των όγκων περιέχουν τουλάχιστον κατά 60% νεοπλασματικά κύτταρα. Τόσο η ιστολογική και χειρουργική σταδιοποίηση όσο και ο καθορισμός του βαθμού κακοηθείας των όγκων έγινε βάσει των συστημάτων TNM και Duke's (τροποποίηση κατά Astler- Coller). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω βιολογικά υλικά:

**Μπλοκ παραφίνης:** Συνεχόμενες τομές παραφίνης πάχους 5-μικρομέτρων κόπηκαν από κάθε δείγμα νεοπλασματικού ιστού για να χρησιμοποιηθούν στην ανοσοϊστοχημική μελέτη της έκφρασης της ET-1 και των υποδοχέων της $ET_AR$ και $ET_BR$, όπως θα αναφερθεί πιο κάτω.

**Νωπός ιστός:** Με βάση τα αρχικά ενισχυτικά ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά ευρήματα, που δίνουν ωστόσο ποιοτική μέτρηση της έκφρασης των μορίων ET-1, $ET_AR$ και $ET_BR$, αποφασίστηκε η λήψη ζευγών δειγμάτων νωπού νεοπλασματικού / φυσιολογικού εντερικού ιστού από τους τελευταίους 10 ασθενείς με σκοπό την εφαρμογή μεθόδου ημιποσοτικής μέτρησης των παραπάνω μορίων. Συγκεκριμένα, από κάθε περίπτωση λήφθηκε τμήμα τόσο από τον νεοπλασματικό νωπό ιστό όσο και από παρακείμενο ιστό φυσιολογικού εντέρου με διαφορετικό νυστέρι, και οι ιστοί από το

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

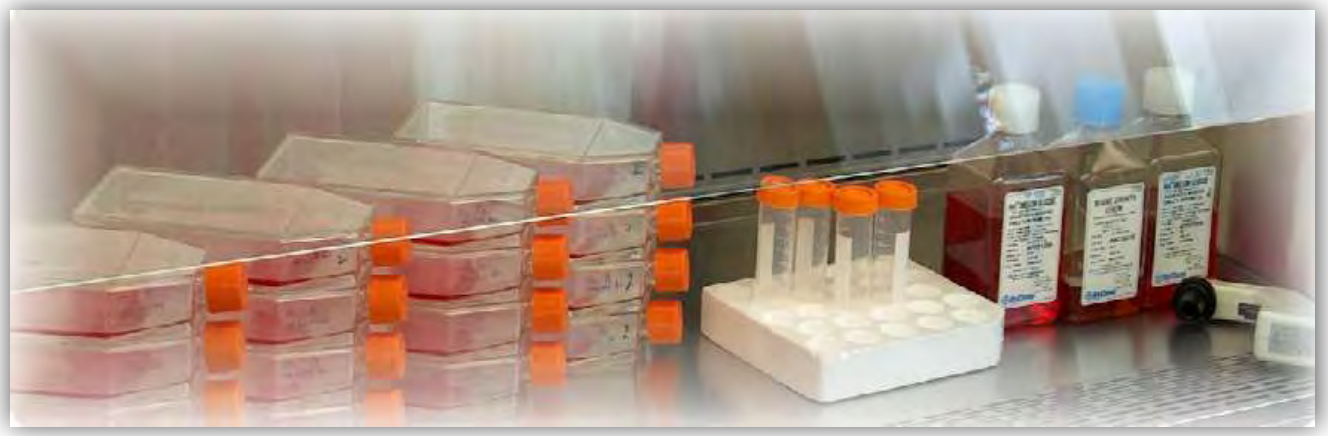
χειρουργείο μεταφέρθηκαν μέσα σε υγρό άζωτο, καταψύχθηκαν στους -70$^{o}$C και απεστάλησαν στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ. Ο νωπός ιστός χρησιμοποιήθηκε για την εφαρμογή της μεθόδου ανοσοστυπώματος κατά Western Blot.

**Ορός:** Επιπλέον, στους ασθενείς από τους οποίους ελήφθησαν τα δείγματα του νωπού ιστού, πραγματοποιήθηκε λήψη αίματος για ποσοτική μέτρηση της ET-1 και του VEGF. Συγκεκριμένα, σε κάθε ασθενή ελήφθησαν τρία δείγματα αίματος: Α διεγχειρητικά από το απαγωγό του όγκου φλεβικό μεσεντέριο αγγείο, Β κατά την εισαγωγή στην αναισθησία από περιφερική φλέβα και Γ 24 ώρες μετεγχειρητικά από περιφερική φλέβα. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 4000 στροφές/ min και ο παραγόμενος ορός καταψύχθηκε στου -70 $^{0}$C. Το σύνολο των δειγμάτων επεξεργάστηκε ταυτόχρονα με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA για ποσοτική μέτρηση ET-1 αλλά και, σύμφωνα με την αναφερόμενη στο αρχικό πρωτόκολλο μεθοδολογία, του VEGF.

### 4. ***<u>ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ</u>***

Στην παρούσα μελέτη αποφασίστηκε επιπλέον η μέτρηση της έκφρασης της ET-1 και των υποδοχέων σε καρκινικές κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου. Οι κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου που χρησιμοποιήθηκαν είναι: HT-29, HT-116, COLON 205, και SW-48. Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσον RPMI 1640 Gluta-max (Gibco) το οποίο συμπληρώνεται με 10% ορό εμβρύου βοδιού και 1% μίγμα αντιβιοτικών πενικιλίνη/στρεπτομυκίνη (Invitrogen Corporation, Grand Island, NY). Τα κύτταρα διατηρούνται σε κλίβανο με περιβάλλον 5% CO2, 37°C και 95% υγρασία.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149



**5α. Ανοσοϊστοχημεία**

Με την τεχνική αυτή ανιχνεύουμε πρωτεΐνες σε ιστό που έχουμε εγκλείσει σε μπλοκ παραφίνης και κόψει σε μικρές τομές. Το πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι ενώ η πρωτεϊνική σύσταση του ιστού παραμένει άθικτη, μπορούμε να ανιχνεύσουμε την ύπαρξη ή όχι κάποιων πρωτεϊνών και την κατανομή τους (εάν κάποιες πρωτεΐνες εκφράζονται ή όχι στον συγκεκριμένο ιστό και πως κατανέμεται η έκφραση αυτών των πρωτεϊνών) χρησιμοποιώντας τα ανάλογα αντισώματα.

**I. Αντισώματα**

Για την ανοσοϊστοχημική μελέτη των πρωτεϊνών της ET-1 και των υποδοχέων της ETAR και ETBR χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα μονοκλωνικά αντισώματα (mAbs):
ET-1, Alexis Biochemicals Corporation, Lausen, Switzerland, σε διάλυση 1:400
ETAR, Alexis Biochemicals Corporation, Lausen, Switzerland, σε διάλυση 1:50
ETBR, Alexis Biochemicals Corporation, Lausen, Switzerland, σε διάλυση 1:50

II. **Τεχνική**

Αρχικά, ο ιστός αφυδατώνεται περνώντας από διαλύματα αιθυλικής αλκοόλης με αύξουσα συγκέντρωση (70% → 80% →96% →100%), ενώ ακολουθεί διαύγαση σε ξυλόλη για 2h. Ακολουθεί η έγκλειση του ιστού σε παραφίνη. Σε αυτή τη μορφή ο ιστός μπορεί να παραμείνει για μεγάλο χρονικό διάστημα μέχρι να τον χρησιμοποιήσουμε. Ο ιστός που είναι εγκλεισμένος στην παραφίνη κόβεται σε τομές πάχους 5μm. Οι τομές επιστρώνονται σε αντικειμενοφόρους πλάκες. Ακολουθεί αποπαραφίνωση των αντικειμενοφόρων σε θερμαινόμενη πλάκα (60˚C για 15min) και ενυδάτωση των τομών περνώντας διαδοχικά από διαλύματα ξυλόλης (2×20min) και αιθυλικής αλκοόλης με φθίνουσες συγκεντρώσεις (100% → 95% → 85% → 70%) από 10min σε κάθε διάλυμα. Ακολουθεί έκπλυση των τομών με dH2O (10min) και PBS-Tween 0,1% (10min). Τα πλακίδια τοποθετούνται σε kopling jars γεμάτα με το διάλυμα Steamer Antigen Retrieval και θερμαίνονται υπό ατμό. Έτσι, αποκαλύπτονται οι αντιγονικοί επίτοποι των ιστών. Οι τομές ξεπλένονται με dH2O (5min) και PBS-Tween 0,1% (2×5min). Για την αποφυγή ψευδών αποτελεσμάτων είναι σημαντικό να αδρανοποιήσουμε την ενδογενή υπεροξειδάση των ιστών, εμβαπτίζοντας τις τομές σε διάλυμα H2O2 3% για 10min στο σκοτάδι. Μετά την έκπλυση των τομών σε dH2O (5min) και PBS-Tween 0,1% (2×5min) με DAKO Pen ορίζουμε το περίγραμμα των ιστών. Η επακόλουθη επώαση των τομών με το Protein blocking solution (20min) υπό συνθήκες υγρασίας εξασφαλίζει την κάλυψη των μη ειδικών θέσεων σύνδεσης με το πρωτογενές αντίσωμα.

Το πρωτογενές αντίσωμα αραιώνεται σε ένα ειδικό διάλυμα (Antibody diluent). Η συνηθέστερη αραίωση είναι 1:50. Έχουμε

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

υπόψη μας ότι για να σκεπαστεί μια τομή χρειάζεται περίπου 200μl αραιωμένου αντισώματος. Οι τομές επωάζονται overnight με το αραιωμένο πρωτογενές αντίσωμα, κατά προτίμηση στο ψυγείο. Την επόμενη μέρα απομακρύνουμε από τις τομές το μη συνδεδεμένο πρωτογενές αντίσωμα κάνοντας πλύσεις με PBS-Tween 0,1% (3×5min). Ακολούθως, οι τομές επωάζονται για 20 min με 100-200μl από το δευτερογενές αντίσωμα σε συνθήκες υγρασίας. Ξεπλένουμε με PBS-Tween 0,1% (2×5min).[357]

Ακολουθεί επώαση για 20min με το σύμπλεγμα Στρεπταβιδίνης - Βιοτίνης (Streptavidin − Biotin complex). Αυτό είναι το τριτογενές αντίσωμα. Η στρεπταβιδίνη θα προσκολληθεί πάνω στο δευτερογενές αντίσωμα και θα το κάνει ορατό. Μετά τις πλύσεις με PBS-Tween 0,1% (2×5min) χρησιμοποιούμε το διάλυμα διαμινοβενζιδίνης (DAB) για να χρωματίσουμε και έτσι να ανιχνεύσουμε τα συμπλέγματα που δημιουργήθηκαν μεταξύ του αντιγόνου που μελετάμε και του αντισώματος που χρησιμοποιήσαμε.

Το DAB φτιάχνεται αμέσως πριν τη χρήση του. Για να σκεπαστεί μια τομή χρειάζεται περίπου 200μl μίγμα DAB. Για να χρωματίσει καλά τα συμπλέγματα αντιγόνου - αντισώματος, το DAB χρειάζεται περίπου 5-15 min. Παρουσία υπεροξειδάσης και H2O2, το DAB πολυμερίζεται και σχηματίζει σταθερό, μη διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες προϊόν καφέ χρώματος. Η εκτίμηση της δράσης του DAB γίνεται εμπειρικά, κοιτώντας τις τομές στο οπτικό μικροσκόπιο.

Για τον καθορισμό των υπόλοιπων μορφολογικών χαρακτηριστικών των κυττάρων ακολουθεί εμβάπτιση των τομών σε αιματοξυλίνη για περίπου 30sec. Η αιματοξυλίνη χρωματίζει ολόκληρο τον ιστό και πρέπει πριν από τη χρήση της να έχει φιλτραριστεί με διπλό φίλτρο ώστε να είναι απόλυτα καθαρή. Η έκπλυση της επιπλέον αιματοξυλίνης γίνεται με τρεχούμενο νερό βρύσης για 5-10 min. Ακολουθεί αφυδάτωση των τομών με αύξουσα συγκέντρωση αιθυλικής αλκοόλης (70% για 3min → 85% για 3min → 90% για 3min→ 100% για 2×3min). Η αφυδάτωση των τομών ολοκληρώνεται με εμβάπτιση σε ξυλόλη overnight.

Την επόμενη μέρα (τρίτη ημέρα εργασίας) ακολουθεί η μονιμοποίηση σε DPX (Mountant). Αφού στεγνώσουν οι τομές από την ξυλόλη, τους προστίθεται μια σταγόνα Mountant και από πάνω τοποθετείται καλυπτρίδα με τέτοιο τρόπο ώστε να μη δημιουργηθούν φυσαλίδες. Μόλις στεγνώσουν οι τομές μπορούν να φυλαχτούν σε χάρτινη θήκη για μελλοντική χρήση.

**III. Μάρτυρας ελέγχου**

Έγινε επιπρόσθετη μέθοδος έλεγχου κατά την οποία κάθε βήμα ανοσοϊστοχημείας κατά σειρά αφαιρέθηκε από την τεχνική για να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα ψευδώς θετικού σήματος. Ενδοθηλιακά κύτταρα φυσιολογικών αγγείων χρησιμοποιήθηκαν ως εσωτερικοί θετικοί μάρτυρες ελέγχου για την έκφραση της πρωτεΐνης ET-1.

**IV. Αξιολόγηση**

Η αξιολόγηση των περιπτώσεων έγινε ανεξάρτητα από δύο παθολογοανατόμους (Β.Γ.Γ., Γ.Ζ.Ρ.), με μέτρηση τουλάχιστον 1000 νεοπλασματικών κυττάρων σε μικροσκόπηση 7-10 HPF. Οι διαφορές ανάμεσα στις δύο αξιολογήσεις ήταν ελάχιστη ($p<0.01$).

Η αξιολόγηση της έκφρασης της ET-1 και των υποδοχέων της έγινε με βάση την ένταση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης των νεοπλασματικών κυττάρων.[358] Η τελευταία εκτιμήθηκε με την ημιποσοτική μέθοδο: δηλαδή έγινε σύγκριση της έντασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης των νεοπλασματικών κυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα των φυσιολογικών αγγείων του εντερικού βλενογόνου στις ίδιες ιστολογικές τομές ως εσωτερικός έλεγχος. Όταν η ένταση της χρώσης των νεοπλασματικών κυττάρων ήταν ίδια με αυτή των φυσιολογικών ενδοθηλιακών κυττάρων, τότε θεωρήθηκε ότι παρατηρείται έκφραση

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

της ET-1 και των υποδοχέων της (+/ ++). Στις περιπτώσεις που η χρώση των νεοπλασματικών κυττάρων ήταν ασθενέστερη αυτής των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά ωστόσο υπήρχε, τότε η έκφραση θεωρήθηκε «μειωμένη» (+). Έντονη ανοσοϊστοχημική χρώση των νεοπλασματικών κυττάρων βαθμολογήθηκε ως (+++).

**5β. Ανοσοαποτύπωση κατά Western**

Ενώ η ανοσοϊστοχημεία αποτελεί τεχνική ανίχνευσης και ποιοτικής μέτρησης της έκφρασης μορίων και δη πρωτεϊνών σε κατάλληλα μονιμοποιημένο ιστό, με την ανοσοαποτύπωση κατά Western πραγματοποιείται «ποσοτική» μέτρηση των πρωτεϊνών ενδιαφέροντος, μετά από απομάκρυνσή τους με κατάλληλο τρόπο από τους αντίστοιχους ιστούς. Συγκεκριμένα, με τη διαδικασία απομόνωσης ολικής πρωτεΐνης, διαρρηγνύονται οι κυτταρικές δομές των ιστών, εν προκειμένω του εντέρου και αποκομίζουμε το κλάσμα των πρωτεϊνών των κυττάρων για περαιτέρω μελέτη. Οι μεμβρανικές δομές καταστρέφονται, όμως οι πρωτεΐνες μένουν ανέπαφες και μπορούν να απομονωθούν. Ακολουθούνται τα παρακάτω στάδια:

**1. Απομόνωση ολικής πρωτεΐνης**

Στην παρούσα μελέτη οι πρωτεΐνες ET-1, ETAR και ETBR απομονώθηκαν από:

**i) νωπό ιστό** (ζεύγη νεοπλασματικού / φυσιολογικού παχέος εντέρου). Από τον νωπό ιστό (που φυλάσσεται στους -70 έως -80°C) επιλέγεται και αποσπάται ένα τεμάχιο όγκου περίπου 3mm σε όσο το δυνατόν άσηπτες συνθήκες (οι ιστοί πρέπει να διατηρούνται παγωμένοι καθ' όλη τη διαδικασία). Με νυστέρια μιας χρήσης το τεμάχιο του ιστού τεμαχίζεται σε όσο το δυνατόν μικρότερα τμήματα, ώστε να διασπαστούν στο μέγιστο δυνατό οι δεσμοί ανάμεσα στα κύτταρα.

Για να απομονώσουμε ολική πρωτεΐνη από κύτταρα, αρχικά τα κύτταρα φυγοκεντρούνται (5min – 1000rpm) για να διαχωριστούν από το τροφικό τους μέσον. Το Lysis buffer παρασκευάζεται επιτόπου και αφού απομακρυνθεί το υπερκείμενο με το τροφικό μέσον, προστίθεται σε αναλογία 1:1 στο ίζημα που περιέχει τα κύτταρα. Η ποσότητα του Lysis buffer δεν είναι προκαθορισμένη, αλλά είναι ανάλογη με την ποσότητα των κυττάρων κάθε φορά. Αυτή κρίνεται μακροσκοπικά (για τεμάχια 3mm$^3$ απαιτούνται περίπου 70μl). Ακολουθεί επώαση 20min σε θερμοκρασία 4°C υπό συνεχή ανάδευση. Σε αυτό το διάστημα πραγματοποιείται η λύση των κυττάρων. Οι μεμβρανικές δομές των κυττάρων απομακρύνονται με φυγοκέντρηση (15min – 14000rpm – 4°C). Το υπερκείμενο, που περιέχει το πρωτεϊνικό κλάσμα των κυττάρων, συλλέγεται. Μπορεί να φωτομετρηθεί άμεσα για να διαπιστωθεί η περιεκτικότητα του σε πρωτεΐνες ή να διατηρηθεί σε βαθειά ψύξη (−80°C) για μήνες πριν χρησιμοποιηθεί.

Εάν με τη διαδικασία που ακολουθήθηκε διαπιστωθεί μη επαρκής λύση των κυττάρων (ο έλεγχος βιωσιμότητας με Trypan blue και φωτομέτρηση των δειγμάτων περιγράφεται παρακάτω) επαναλαμβάνεται το βήμα της φυγοκέντρησης ή εάν θεωρηθεί απαραίτητο και μια επιπλέον επώαση με Lysis buffer.

**ii) κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου.** Οι κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματά μας αναπτύχθηκαν σε καλλιεργητικά μέσα μέχρις ότου αποκτήσουμε τον επιθυμητό αριθμό κυττάρων για την επιτέλεση του εκάστοτε πειράματος. Τα κύτταρα αναπτύσσονταν στην καλλιέργεια και όταν ο αριθμός τους και η βιωσιμότητά τους έφτανε σε υψηλά επίπεδα (συγκέντρωση περίπου 106 /ml, και βιωσιμότητα 88-90% τουλάχιστον) συλλέγαμε το πρωτεϊνικό εκχύλισμα τους.

Τα προς καλλιέργεια κύτταρα προέρχονταν από παγωμένα φιαλίδια της εκάστοτε κυτταρικής σειράς που είχαν αποθηκευτεί σε υγρό άζωτο. Η καλλιέργεια των κυττάρων γινόταν καθημερινά σε θάλαμο νηματοειδούς ροής που προηγουμένως είχε αποστειρωθεί με ακτινοβολία UV για τουλάχιστον 30 λεπτά και ψεκαστεί με αιθανόλη 70%,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

εφαρμόζοντας όλες τις συνθήκες ασφαλείας για αποκλεισμό επιμόλυνσης. Τα κύτταρα κάθε φλάσκας συλλέγονταν σε eppendorf των 15 ml και φυγοκεντρούνταν στις 1000 στροφές για 5 λεπτά. Μία μικρή ποσότητα (10 μl) αναμειγνυόταν με ίση ποσότητα Trypan blue και εν συνεχεία πραγματοποιούσαμε μέτρηση των ζωντανών κυττάρων ανά καλλιέργεια στο μικροσκόπιο με πλάκα Neubauer. Η συγκέντρωση των κυττάρων στην μονάδα του όγκου υπολογιζόταν με βάση τη μέτρηση στο αιμοκυτταρόμετρο Neubauer. Τα ζωντανά κύτταρα, σε αντίθεση με τα νεκρά, δεν απορροφούν την χρωστική και δεν φαίνονται βαμμένα μπλε στο φωτονικό μικροσκόπιο.

Με βάση την μέτρησή μας υπολογίζαμε την ποσότητα του θρεπτικού μέσου στην οποία επαναδιαλυτοποιούσαμε το ίζημα των κυττάρων που παίρναμε από την φυγοκέντρηση. Το ίζημα περιλαμβάνει τα κύτταρα της καλλιέργειας (τα θρεπτικά υλικά και τα παραπροϊόντα του μεταβολισμού παραμένουν στο εναιώρημα). Διαλύουμε το ίζημα σε ποσότητα θρεπτικού τόση ώστε να έχουμε 106 κύτταρα ανά ml καλλιέργειας. Ιδανικός μέγιστος όγκος μιας καλλιέργειας είναι τα 10 ml. Αν ο αριθμός των κυττάρων απαιτούσε μεγαλύτερο όγκο θρεπτικού χωρίζαμε την καλλιέργεια σε δύο νέες φλάσκες. Στην συνέχεια, και εφόσον είχαμε πετύχει το επιθυμητό επίπεδο πληθυσμού και βιωσιμότητας των κυττάρων, συλλέγαμε το ίζημά τους για την απομόνωση του πρωτεϊνικού τους εκχυλίσματος. Μέρος των κυττάρων μεταφερόταν στο κατάλληλο για κάθε κυτταρική σειρά μέσο ψύξης και πραγματοποιούσαμε σταδιακή ψύξη (-20 $^{o}$C , -80 $^{o}$C, υγρό άζωτο) ώστε να έχουμε διαθέσιμα φιαλίδια κατεψυγμένων κυττάρων για μελλοντικά πειράματα.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, για να υπολογίσουμε τη βιωσιμότητα των κυττάρων σε μία καλλιέργεια πρέπει να μπορούμε να ξεχωρίσουμε τα ζωντανά από τα νεκρά κύτταρα. Η ουσία Trypan blue μας δίνει αυτή τη δυνατότητα, γιατί έχει την ιδιότητα να βάφει μπλε μόνο τα νεκρά κύτταρα. Αναμιγνύουμε 10μl από την καλλιέργεια μας (μετά από καλή ανάδευση για να κατανεμηθούν ομοιόμορφα τα κύτταρα) με 10μl Trypan blue και το μίγμα το εκχύουμε σε αιμοκυτταρόμετρο. Μετράμε σε μικροσκόπιο ξεχωριστά τα ζωντανά από τα νεκρά κύτταρα. Η βιωσιμότητα υπολογίζεται σαν ο λόγος των ζωντανών κυττάρων (όχι βαμμένων από το Trypan blue) ως προς τον συνολικό αριθμό των ζωντανών συν νεκρών κυττάρων αναγόμενος ως προς το100.

Η διαδικασία που ακολουθείται για τη λύση των κυττάρων που προέρχονται από κυτταροκαλλιέργειες είναι σε γενικές γραμμές η ίδια με τη διαδικασία που ακολουθείται για τη λύση των ιστών, όπως περιγράφηκε παραπάνω.

**2. Ποσοτικός προσδιορισμός ολικής πρωτείνης**

Για να προσδιορίσουμε την ολική ποσότητα πρωτεϊνών που περιέχεται σε βιολογικά δείγματα, μια εύκολη και αξιόπιστη μέθοδος είναι η μέθοδος Bradford που στηρίζεται στη χρώση των πρωτεϊνών με Coomassie Brilliant Blue. Η αρχή της μεθόδου Bradford στηρίζεται στην ιδιότητα της χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G-250 να συνδέεται μη ομοιοπολικά με την αργινίνη, τη λυσίνη, αλλά και τα αρωματικά (υδρόφοβα) αμινοξέα (τρυπτοφάνη, τυροσίνη, ιστιδίνη, φαινυλαλανίνη) που βρίσκονται στην επιφάνεια των υπό μελέτη πρωτεϊνών. Η ελεύθερη, κατιονική, μορφή της Coomassie Brilliant Blue G-250 έχει μέγιστο απορρόφησης στα 465nm (κόκκινο φάσμα). Η μορφή της χρωστικής που δεσμεύεται στις πρωτεΐνες είναι η ανιονική, με μέγιστο απορρόφησης στα 595nm (μπλε φάσμα). Η αύξηση της απορρόφησης είναι ανάλογη της ποσότητας της δεσμευμένης χρωστικής, συνεπώς και της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης στο υπό μελέτη δείγμα.

Η μέθοδος Bradford μπορεί να ανιχνεύσει ποσότητες πρωτεϊνών που κυμαίνονται από 1-200μg. Η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί έναντι άλλων μεθόδων ανίχνευσης πρωτεϊνών, όπως για παράδειγμα η μέθοδος Lowry, επειδή είναι γρήγορη και φτηνή, απλή στην εφαρμογή της και πολύ ευαίσθητη. Επιπλέον, εφαρμόζεται πρακτικά χωρίς περιορισμούς ως προς το είδος της πρωτεΐνης που ανιχνεύεται και δεν επηρεάζεται από διάφορες χημικές προσμίξεις στα υπό μελέτη δείγματα (ενώ στη μέθοδο Lowry αυτοί οι περιορισμοί είναι το κύριο μειονέκτημα). Ψευδείς μετρήσεις που παρουσιάζουν πολύ υψηλή απορρόφηση παρουσιάζονται όταν στα υπό μελέτη δείγματα υπάρχουν υψηλές συγκεντρώσεις από απορρυπαντικά, λιπίδια, αλκαλικά διαλύματα ή φλαβονοειδή.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Ανοίγουμε το σπεκτροφωτόμετρο και τον υπολογιστή στον οποίο είναι συνδεδεμένο. 2μl καθενός από τα προς μελέτη δείγματα αναμιγνύεται με 200μl διαλύματος Bradford (1×), ώστε να πετύχουμε αναλογία δείγμα: διάλυμα Bradford 1:100. Φορτώνουμε τα μίγματα στο πλακίδιο φωτομέτρησης (96well plate). Στη πρώτη θέση του πλακιδίου φορτώνουμε 200μl διαλύματος Bradford που θα χρησιμεύσει σαν έλεγχος (control). Μετράμε την απορρόφηση στα 595nm. Η αξιολόγηση των μετρήσεων γίνεται βάσει μιας πρότυπης καμπύλης που είναι ειδική για το συγκεκριμένο φωτόμετρο.

**3. Ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης (SDS-PAGE ηλεκτροφόρηση)**

Για να διαχωριστούν οι πρωτεΐνες που υπάρχουν στα δείγματά μας χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της κάθετης ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης, εξαιτίας της αυξημένης ευαισθησίας και της μεγάλης διαχωριστικής ικανότητας που παρουσιάζει. Η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται παρουσία του αποδιατακτικού παράγοντα SDS, ο οποίος φορτίζει αρνητικά τις πρωτεΐνες, με τελικό αποτέλεσμα αυτές να διαχωρίζονται μόνο με βάση το μοριακό τους βάρος. Οι πρωτεΐνες με μικρό μοριακό βάρος κινούνται πιο γρήγορα και διανύουν μεγαλύτερη απόσταση από αυτές που αντιστοιχούν σε μεγαλύτερο μοριακό βάρος.

Το πήκτωμα πολυακρυλαμίδης αποτελείται από ένα τρισδιάστατο πλέγμα από μακριές αλειφατικές αλυσίδες πολυμερισμένης ακρυλαμίδης που συνδέονται μεταξύ τους με μόρια N-N- μεθυλενο-bis-ακρυλαμίδης (MBA). Ο πολυμερισμός των μονομερών της ακρυλαμίδης επιτυγχάνεται με την προσθήκη υπερθειϊκού αμμωνίου (APS) και N-N-N-N- τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνης (TEMED), η οποία καταλύει την αντίδραση πολυμερισμού, σε θερμοκρασία δωματίου. Το πήκτωμα έχει πόρους με διάμετρο η οποία μπορεί να καθοριστεί ανάλογα με τα μοριακά βάρη των πρωτεϊνών που θα διαχωριστούν. Το μέγεθος των πόρων εξαρτάται από τη συγκέντρωση ακρυλαμίδης και MBA και από τη μεταξύ τους αναλογία. Τα δύο διαλύματα των πηκτωμάτων παρασκευάζονται με ρυθμιστικά διαλύματα διαφορετικού pH (ρυθμιστικό διάλυμα Tris/HCl PH 8,8 για το πήκτωμα διαχωρισμού, ενώ ρυθμιστικό Tris/HCl PH 6,8 για το αντίστοιχο επιστοίβαξης), ώστε να επιτυγχάνεται η ταυτόχρονη είσοδος όλων των πρωτεϊνών στο πήκτωμα διαχωρισμού.

Αρχικά, παρασκευάζεται το διάλυμα APS ζυγίζοντας συγκεκριμένη ποσότητα APS σε σκόνη και αραιώνοντάς την πέντε φορές με νερό. Στη συνέχεια, καθαρίζονται με μεθανόλη οι δύο γυάλινες πλάκες μεταξύ των οποίων θα τοποθετηθεί το πήκτωμα και στερεώνονται σε ειδική συσκευή στήριξης. Πρώτα παρασκευάζεται το διάλυμα διαχωρισμού [ 375mM Tris/HCl PH 8,8, 10%(w/v) ακρυλαμίδη, 0,275%(w/v) bis-ακρυλαμίδη, 0,1%(w/v) SDS, 0,15%(w/v) APS, 0,07%(v/v) TEMED ]Among και τοποθετείται μεταξύ των δύο πλακών. Αμέσως, προστίθεται από πάνω αποσταγμένο νερό, με σκοπό η επιφάνεια του πηκτώματος να είναι οριζόντια και ομοιόμορφη. Αφού το πήκτωμα είναι έτοιμο, αφαιρείται η περίσσεια του νερού.

Στη συνέχεια, παρασκευάζεται το πήκτωμα επιστοίβαξης [ 125mM Tris/HCl pH 6,8, 6%(w/v) ακρυλαμίδη, 0,165%(w/v) bis-ακρυλαμίδη, 0,1%(w/v) SDS, 0,1%(w/v) APS, 0,07%(v/v) TEMED ] και τοποθετείται πάνω από το πήκτωμα διαχωρισμού. Αμέσως τοποθετείται το ειδικό χτενάκι για το σχηματισμό των θέσεων φόρτωσης των δειγμάτων. Αφού πολυμεριστεί και το διάλυμα επιστοίβαξης τοποθετείται το πήκτωμα στη συσκευή ηλεκτροφόρησης και προστίθεται το ειδικό ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτροφόρησης (running buffer), το οποίο περιέχει 25mM Tris-base, 192mM γλυκίνη, 0,1%(w/v) SDS και έχει pH 8,2-8,3, μέχρι να καλυφθούν και τα ηλεκτρόδια. Σε επόμενο βήμα, αφαιρούνται τα χτενάκια και φορτώνονται οι ποσότητες που έχουν υπολογιστεί για κάθε δείγμα. Οι θέσεις φόρτωσης των δειγμάτων που έχουν σχηματιστεί στο πήκτωμα είναι δέκα και συνήθως στο πρώτο από αυτά φορτώνονται 5λ από το μίγμα πρωτεϊνικών δεικτών γνωστού μοριακού βάρους. Στη συνέχεια, συνδέεται η συσκευή ηλεκτροφόρησης με τροφοδοτικό το οποίο ρυθμίζεται να έχει σταθερή τάση 180 Volts. Η ηλεκτροφόρηση τερματίζεται 5 λεπτά αφού εξέλθει η χρωστική από το πήκτωμα.

**4. Ημίστεγνη μεταφορά πρωτεϊνών σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης**

Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται στα δείγματα που σε επόμενο στάδιο υποβάλλονται σε ανοσοδοκιμασία κατά Western. Η μεταφορά των πρωτεϊνών σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης είναι απαραίτητη γιατί όταν οι πρωτεΐνες βρίσκονται στο πήκτωμα πολυακρυλαμίδης, έχουν διαχωριστεί μεν, αλλά βρίσκονται ανάμεσα στους πόρους του πηκτώματος και δεν είναι εύκολα προσβάσιμες στα αντισώματα με τα οποία θα επωαστούν στη συνέχεια. Επίσης, η νιτροκυτταρίνη παρουσιάζει υψηλή ικανότητα πρόσδεσης των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα οι μη ειδικές θέσεις πρόσβασης να μπορούν να μπλοκαριστούν εύκολα και να δώσουν χαμηλό υπόβαθρο κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Αρχικά παρασκευάζεται το ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς (transfer buffer 5x) [25mM Tris/HCl pH 8,3, 192mM γλυκίνη, 10% (v/v) μεθανόλη]. Στη συνέχεια, σε δύο διαφορετικά δοχεία τοποθετούνται 8 φύλλα Whatmann (ανά μεμβράνη νιτροκυτταρίνης) και η μεμβράνη νιτροκυτταρίνης και συνεχίζουν να διαβρέχονται με ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς στον αναδευτήρα για 15min. Επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία για το πήκτωμα σε ένα τρίτο δοχείο, αφήνοντας το όμως να επωαστεί με το διάλυμα μεταφοράς για 5min. Συνεχίζοντας, διαβρέχεται με διάλυμα μεταφοράς η κάτω επιφάνεια της συσκευής, δηλαδή η κάθοδος του κυκλώματος και τοποθετούνται με σειρά από κάτω προς τα πάνω 4 φύλλα Whatmann,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

η μεμβράνη, το πήκτωμα και άλλα 4 φύλλα Whatmann.Οι φυσαλίδες αέρα που παγιδεύονται ανάμεσα στα παραπάνω στρώματα πρέπει να αφαιρεθούν. Τέλος, διαβρέχεται και η πάνω επιφάνεια, δηλαδή η άνοδος του κυκλώματος. Η συσκευή μεταφοράς κλείνει και ρυθμίζεται η τάση στα 12-15 Volts (ανάλογα με τον αριθμό των πηκτωμάτων που έχουν τοποθετηθεί). Αφού ολοκληρωθεί η μεταφορά, σημαδεύεται με νυστέρι η μεμβράνη νιτροκυτταρίνης στη θέση των πρωτεϊνικών δεικτών, οι οποίοι έχουν γνωστό μοριακό βάρος.

**5. Ανοσοαποτύπωση κατά Western**

Για να ανιχνευθεί στη μεμβράνη νιτροκυτταρίνης η επιθυμητή πρωτεΐνη χρησιμοποιείται η ανοσοδοκιμασία κατά Western. Αρχικά, επωάζεται η μεμβράνη για μισή ώρα, υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία δωματίου, με 5ml διαλύματος 1% (w/v) αλβουμίνης ορού βοδιού (BSA) σε TBST ή με 25ml διαλύματος 5% (w/v) γάλακτος σε σκόνη σε TBST. Το blocking έχει στόχο την δέσμευση των μη ειδικών θέσεων. Στη συνέχεια, η μεμβράνη υποβάλλεται σε τρία πεντάλεπτα πλυσίματα με TBST υπό ανάδευση.

Ακολουθεί επώαση για 18 περίπου ώρες της μεμβράνης με πρωτογενές αντίσωμα (ET-1 ETAR, ETBR Alexis Biochemicals Corporation, Lausen, Switzerland), αραιωμένο 1/1000 σε 5% BSA σε TBST στους 4 βαθμούς Κελσίου. Την επόμενη ημέρα η μεμβράνη ξεπλένεται με τρία 7λεπτα πλυσίματα σε TBST και ακολουθεί επώαση για μία ώρα υπό ανάδευση και σε θερμοκρασία δωματίου με 5ml δευτερογενούς αντισώματος αραιωμένου 1/5000 σε 1% BSA σε TBST. Το δευτερογενές αντίσωμα είναι ειδικό για τη σταθερή περιοχή Fc του πρωτογενούς και παράγεται σε διαφορετικό ζώο από αυτό που έχει παραχθεί το πρωτογενές. Επίσης, στο δευτερογενές αντίσωμα έχει συζευχθεί μόριο υπεροξειδάσης. Τέλος, η μεμβράνη ξεπλένεται τέσσερις φορές επί 5min με διάλυμα TBST. Για να ανιχνευθεί τελικά η πρωτεΐνη που μας ενδιαφέρει, χρησιμοποιείται η μέθοδος της ενισχυμένης χημειοφωταύγειας. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, το ένζυμο υπεροξειδάση, το οποίο είναι συζευγμένο με το δευτερογενές αντίσωμα, καταλύει την οξείδωση της λουμινόλης σε αλκαλικό περιβάλλον (διάλυμα ECL). Κατά την οξείδωση η λουμινόλη διεγείρεται και κατά την αυτοδιέγερσή της εκπέμπει φωτόνια, τα οποία μαυρίζουν το φιλμ που έχει προσαρμοστεί στη μεμβράνη. Το φως που παράγεται φτάνει στο μέγιστο μέσα στα πρώτα 3-20 min, ενώ στη συνέχεια μειώνεται σταδιακά.

Αρχικά, παρασκευάζεται το διάλυμα ECL, αναμειγνύοντας ίσους όγκους από τα δύο αντιδραστήρια του ECL (περίπου 2ml/μεμβράνη). Η μεμβράνη παραμένει για 1,5min στο ECL και αφού στεγνώσει σε διηθητικό χαρτί, τοποθετείται σε ειδική κασετίνα η οποία κλείνει ερμητικά. Ο χρόνος παραμονής της μεμβράνης στην κασετίνα ποικίλει ανάλογα με την πρωτεΐνη. Μετά το πέρας του χρόνου έκθεσης, το φιλμ εμβαπτίζεται για 1,5min σε δοχείο που περιέχει το διάλυμα εμφάνισης, ξεπλένεται σε νερό βρύσης και εμβαπτίζεται ξανά στο διάλυμα σταθεροποίησης για 1min. Τέλος, το φιλμ ξεπλένεται με αποσταγμένο νερό και όταν αυτό στεγνώσει, περνάει μέσω του scanner στον υπολογιστή, όπου μέσω ειδικού προγράμματος πραγματοποιείται πυκνομέτρηση, ποσοτικοποίηση και στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

**5γ. Elisa**

Για τη μέτρηση της ET-1 και του VEGF στα 3 δείγματα ορού των ασθενών χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA. Η ανωτέρω μέθοδος είναι κατάλληλη για την ανίχνευση- μέτρηση πεπτιδίων (αντιγόνα, αντισώματα) σε διάφορα υγρά (πλάσμα, ορός, υλικό καλλιέργειας κυττάρων κ.τ.λ.). Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στη σύνδεση του υπό μελέτη πεπτιδίου (*αντιγόνο*) με το *πρωτογενές αντίσωμά* του. Στο πρωτογενές αντίσωμα προσδένεται ακολούθως το λεγόμενο *δευτερογενές αντίσωμα* το οποίο φέρει συνδεδεμένο κατάλληλο *ένζυμο*. Το τελευταίο καταλύει την σύνδεση των δύο αντισωμάτων παράγοντας οπτικό

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

σήμα (αλλαγή χρώματος). Το παραγόμενο οπτικό σήμα ανιχνεύεται με σπεκτομετρία, η δε έντασή του είναι ανάλογη της αντίδρασης που το προκαλεί (πολλαπλασιαζόμενο από την ενζυμική δραστηριότητα). Κατάλληλα διαγράμματα αντιστοιχούν εντάσεις σήματος με συγκεντρώσεις του προς μέτρηση πεπτιδίου.

Όλες οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται σε κατάλληλα επεξεργασμένη στερεή επιφάνεια- «αντιγονική πλάκα», ενώ ανάλογα με τη μεθοδολογία της σύνδεσης των επιμέρους αντισωμάτων διακρίνονται διάφορες τεχνικές ELISA: «έμμεση», τεχνική «σάντουιτς» και «ανταγωνιστική».

**Μέτρηση ET-1**

Για τη μέτρηση της ET-1 χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της «ανταγωνιστικής» ELISA (Phoenix Pharmaceuticals, INC Enzyme Immunoassay Kit, range 0-25ng/ml)). Στην τεχνική αυτή, η στερεά επιφάνεια ήταν επωασμένη με δευτερογενές αντίσωμα το οποίο συνδέθηκε με το Fc τμήμα του πρωτογενούς αντισώματος. Το Fab τμήμα του πρωτογενούς αντισώματος συνδέεται *ανταγωνιστικά* ή με την ET-1 του υπό μελέτη δείγματος ορού ή με το πεπτίδιο *(biotinylated*) που φέρει το *ένζυμο* στρεπταβιδίνη-περοξιδάση (SA- HRP). Στη δεύτερη περίπτωση το ένζυμο καταλύει την αντίδραση και το παραγόμενο διάλυμα (που περιέχει 3,3',5,5', τετραμεθυλβενζιδίνη TMB και υπεροξείδιο του υδρογόνου) λαμβάνει μπλε χρώμα, η δράση του δε σταματά με προσθήκη υδροχλωρικού οξέος (HCL) και το διάλυμα γίνεται κίτρινο. Έτσι, η ένταση του κίτρινου χρώματος είναι ευθέος ανάλογη της σύνδεσης του *biotynilated* πεπτιδίου με το πρωτοπαθές αντίσωμα και άρα αντιστρόφως ανάλογη με την σύνδεση της ET-1 με το *πρωτογενές* αντίσωμα, δεδομένου ότι η σύνδεση του ενός μορίου αποκλείει τη σύνδεση του άλλου, οπότε προκύπτει και ο χαρακτηρισμός της τεχνικής ως ELISA «ανταγωνισμού». Για τον προσδιορισμό των τιμών της ET-1 χρησιμοποιήθηκε στανταρισμένη καμπύλη συσχέτισης με την μετρούμενη σε Microtiter Plate Reader, Read Absorbance O.D. at 450nm, ένταση του κίτρινου χρώματος κάθε διαλύματος. [359, 360]

Συνοπτικά, η σειρά των εφαρμοσμένων σταδίων είναι:

I. Ανάμειξη 50μl/υποδοχή δείγματος (υπό εξέταση), 25μl/υποδοχή ορού με το πρωτογενές αντίσωμα και 25μl/υποδοχή διαλύματος με το *biotynilated* πεπτίδιο.

II. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου (20-23$^0$C) για 2 ώρες.

III. Έκπλυση 4 φορές της «αντιγονικής πλάκας» με 350μl/υποδοχή ρυθμιστικού διαλύματος

IV. Προσθήκη 100μl/υποδοχή του SA- HRP ενζυμικού διαλύματος

V. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου (20-23$^0$C) για 1 ώρα.

VI. Έκπλυση 4 φορές της «αντιγονικής πλάκας» με 350μl/υποδοχή ρυθμιστικού διαλύματος

VII. Προσθήκη 100μl/υποδοχή δ/τος, τετραμεθυλβενζιδίνη TMB

VIII. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου (20-23$^0$C) για 1 ώρα.

IX. Διακοπή αντίδρασης με προσθήκη 100μl/υποδοχή δ/τος HCL 2N.

X. Μέτρηση σε σπεκτόμετρο της απορρόφησης του παραγόμενου σήματος σε O. D. στα 450nm και αντιστοίχιση με τιμές ET-1.

**Μέτρηση VEGF**

Για τη μέτρηση του VEGF χρησιμοποιήθηκε το Human VEGF Immunoassay Kit (BioSource Intarnational Inc, USA) με την τεχνική «σάντουιτς» ( sandwich ELISA). Η διαφορά αυτής της τεχνικής από την κλασσική ELISA στηρίζεται στο γεγονός ότι η «αντιγονική πλάκα» έχει ήδη επωαστεί με το *πρωτογενές αντίσωμα* έναντι του υπό εξέταση αντιγόνου και ακολουθεί η προσθήκη αρχικά του αντιγόνου και στη συνέχεια του *δευτερογενούς αντισώματος* και του ενζύμου *στρεπταβιδίνη- περοξιδάση (SA- HRP)*. Το αποτέλεσμα είναι το υπό εξέταση αντιγόνο να καθηλώνεται μεταξύ των δύο αντισωμάτων πάνω στην «αντιγονική πλάκα», οπότε προκύπτει και ο χαρακτηρισμός της τεχνικής (σάντουιτς).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Στην προκειμένη περίπτωση, η «αντιγονική πλάκα» ήταν επωασμένη με ένα πολυκλονικό αντίσωμα (*πρωτογενές αντίσωμα)*, ειδικό για τον ανθρώπειο VEGF. Αρχικά, πραγματοποιείται προσθήκη του υπό εξέταση δείγματος (ορού ασθενούς) και η πρώτη επώαση οδηγεί στη σύνδεση του VEGF με το πρωτογενές αντίσωμα στις αντίστοιχες θέσεις της πλάκας και άρα στην καθήλωση του VEGF στην «αντιγονική πλάκα». Μετά έκπλυση αυτής, για την απομάκρυνση μη συνδεδεμένων αντιγόνων, ακολουθεί προσθήκη *biotynilated* μονοκλονικού αυτή τη φορά αντίσωματος, ειδικού για τον ανθρώπειο VEGF (*δευτερογενές αντίσωμα),* που κατά τη δεύτερη επώαση οδηγεί στη σύνδεσή του με τον καθηλωμένο στην πλάκα VEGF. Μετά έκπλυση της πλάκας και πάλι, για την απομάκρυνση του περίσσιου δευτερογενούς αντισώματος, ακολουθεί προσθήκη του ενζύμου (*στρεπταβιδίνη- περοξιδάση (SA- HRP)* και τρίτη επώαση. Μετά έκπλυση για απομάκρυνση του περίσσιου ενζύμου, προστίθεται το κατάλληλο υπόστρωμα και η κατάλυση, από το συνδεδεμένο πλέον στο VEGF ένζυμο, της αντίδρασης οδηγεί σε παραγωγή χρώματος στο διάλυμα. Η ένταση του χρώματος αυτού είναι ευθέως ανάλογη της έντασης της αντίδρασης, της ποσότητας του συνδεδεμένου ενζύμου και κατά αναλογία του VEGF του υπό εξέταση δείγματος.

Συνοπτικά, τα στάδια της τεχνικής είναι:

I. Προετοιμασία της «αντιγονικής πλάκας» και των δ/των (υπό εξέταση δειγμάτων και controls, ρυθμιστικού, έκπλυσης και ενζυμικού δ/τος, υποστρώματος) σε θερμοκρασία δωματίου (20-23$^0$C).
II. Ανασύσταση του *πρωτογενούς αντισώματος* στις υποδοχές της «αντιγονικής πλάκας», με διαδοχικές αραιώσεις του *VEGF Standard* δ/τος με το αντίστοιχο ρυθμιστικό δ/μα μέχρι της συγκέντρωσης των 23.4pg/ml.
III. Προσθήκη 100μl/υποδοχή του υπό εξέταση δείγματος (50μl ορού και 50μl ρυθμιστικού δ/τος) στην «αντιγονική πλάκα», που φέρει ήδη το *πρωτογενές αντίσωμα.*
IV. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες.
V. Έκπλυση της πλάκας 4 φορές με το δ/μα έκπλυσης (1 μέρος Wash Buffer/ 24 μέρη απϊονισμένου ύδατος).
VI. Προσθήκη 100μl/υποδοχή *biotynilated anti-VEGF* δ/τος
VII. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα.
VIII. Έκπλυση της πλάκας 4 φορές με το δ/μα έκπλυσης (1 μέρος Wash Buffer/ 24 μέρη απιονισμένου ύδατος).
IX. Προσθήκη 100μl/υποδοχή ενζυμικού δ/τος *στρεπταβιδίνης- περοξιδάσης (SA-HRP).*
X. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά.
XI. Έκπλυση της πλάκας 4 φορές με το δ/μα έκπλυσης (1 μέρος Wash Buffer/ 24 μέρη απϊονισμένου ύδατος).
XII. Προσθήκη 100μl/υποδοχή σταθεροποιημένου χρωμογόνου *(Stabilized Chromogen).* Το χρώμα του τελικού δ/τος σε κάθε υποδοχή μετατρέπεται σταδιακά σε μπλέ.
XIII. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινές συνθήκες για 30 λεπτά.
XIV. Προσθήκη 100μl/υποδοχή δ/τος διακοπής της αντίδρασης. Το χρώμα του τελικού δ/τος μετατρέπεται σε κίτρινο.
XV. Μέτρηση, μέσα σε 2 ώρες από την προσθήκη του τελευταίου δ/τος, σε σπεκτόμετρο της απορρόφησης του παραγόμενου σήματος σε O. D. στα 450nm και αντιστοίχιση με στανταρισμένες τιμές (controls) του VEGF.

## *6. <u>ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ</u>*

Οι πιθανές συσχετίσεις ανάμεσα στη μετρούμενη αγγείωση του ήπατος, στην έκφραση της ET-1 και του VEGF και τις διάφορες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους των ασθενών, εκτιμήθηκαν με τη χρήση μη παραμετρικών στατιστικών δοκιμασιών (Mann Whitney , Kruskal-Wallis), των δοκιμασιών $X^2$ και Fisher's exact test. Όλη η ανάλυση πραγματοποιήθηκε στο στατιστικό πρόγραμματα SPSS v 17.0

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

(SPSS Inc., Chicago, Illinois) Οι στατιστικές διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές όταν ο δείκτης p ήταν <0.05.

### *7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ*

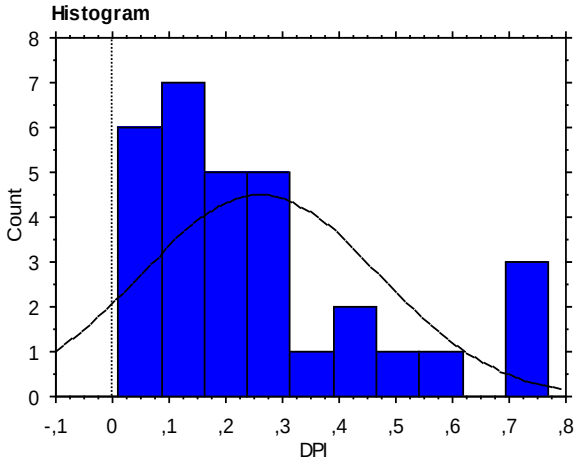
Η επιβίωση ελεύθερης νόσου ορίστηκε ως το χρονικό διάστημα (μήνες) από την ημερομηνία χειρουργικής επέμβασης για την θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου έως την ημερομηνία της υποτροπής της νόσου, ή της τελευταίας επίσκεψης του ασθενούς για έλεγχο (Follow-up). Ασθενείς που πέθαναν από άλλη αιτία χωρίς απόδειξη προοδευτικής νόσου ή υποτροπής δεν υπολογίστηκαν στις καμπύλες επιβίωσης. Ως συνολική επιβίωση μετρήθηκε το χρονικό διάστημα (μήνες) από την ημερομηνία χειρουργικής επέμβασης έως την ημερομηνία θανάτου ή της τελευταίας επίσκεψης του ασθενούς για έλεγχο (Follow-up). Η στατιστική ανάλυση της επιβίωσης έγινε σύμφωνα με την μέθοδο των Kaplan-Meier και η στατιστική σημαντικότητα (p-value) βασίστηκε στην στατιστική δοκιμασία LogRank. P<0.05 θεωρήθηκε στατιστικώς σημαντικό.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## Δ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 1. *Μέτρηση DPI*

Σε 29 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου χωρίς εικόνα μεταστατικής νόσου, προηγήθηκε της χειρουργικής θεραπείας και μετά 12ωρη νηστεία, μέτρηση του δείκτη αγγείωσης του ήπατος DPI κατά την προαναφερθείσα μέθοδο. Η κατανομή των τιμών που καταγράφηκαν φαίνονται στο παρακάτω ιστόγραμμα. Εικ.1

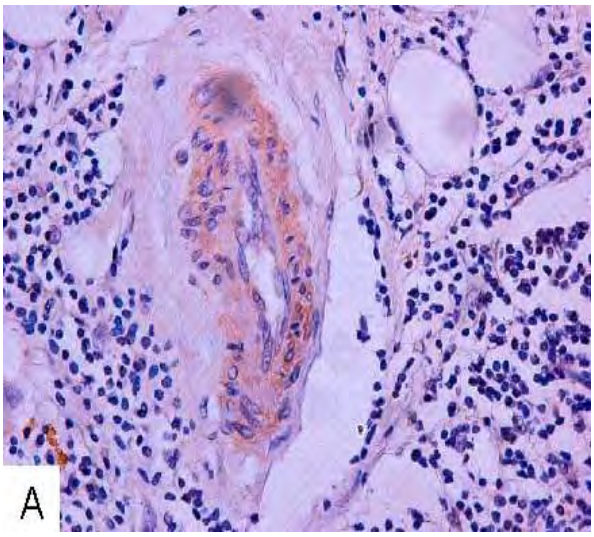



**Εικόνα 1. Κατανομή τιμών DPI που μετρήθηκε προεγχειρητικά σε 29 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου χωρίς εικόνα μεταστατικής νόσου.**

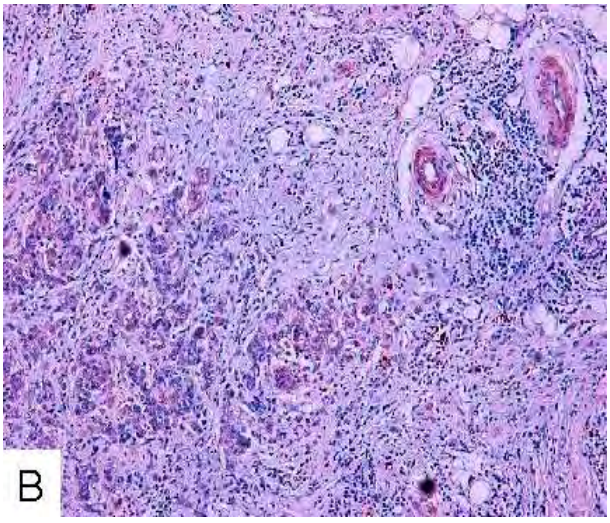
Οι τιμές κυμάνθηκαν από 0,1 έως 0,77, με μέση τιμή 0,26 ±0,209sd.

### 2. *Ανοσοϊστοχημική Έκφραση ET-1, $ET_AR$ και $ET_BR$.*

Σε τομές παραφίνης, μονιμοποιημένες με φορμαλίνη, από καρκινικό και φυσιολογικό ιστό παχέος εντέρου και από τους 39 ασθενείς της μελέτης, μελετήθηκε η έκφραση της ET-1 και των υποδοχέων της $ET_AR$ και $ET_BR$ με την παραπάνω περιγραφείσα ανοσοϊστοχημική μέθοδο. Στο φυσιολογικό βλεννογόνο παρατηρήθηκε έκφραση ET-1 μόνο στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν και ως μάρτυρες. Εικ.2 Α,Β



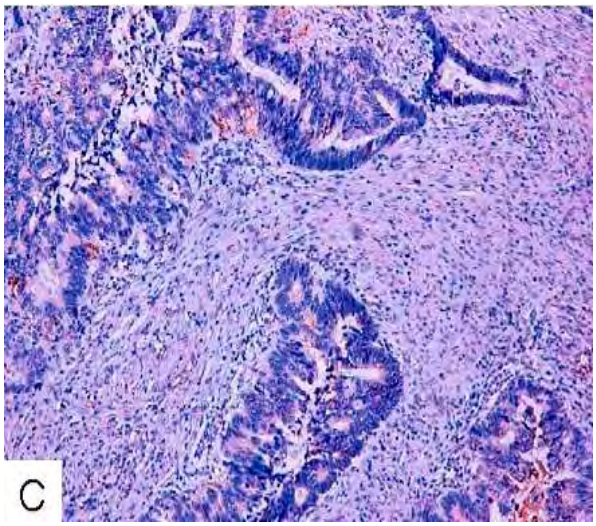

**Εικόνα 2Α. Ανοσοϊστοχημική έκφραση ET-1 σε καρκίνο παχέος εντέρου. Φυσιολογικά αγγεία με έντονη έκφραση ET-1 (μάρτυρες), σε υγιή ιστό πλησίον σημείων με καρκινική διήθηση. (Μεγέθυνση Χ 100 και Χ200, DAB, χρώση αιματοξυλίνης)**



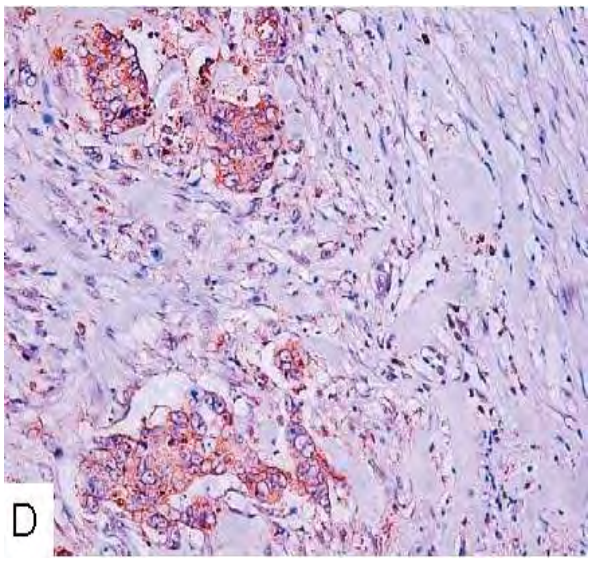

**Εικόνα 2Β. Ανοσοϊστοχημική έκφραση ET-1 σε καρκίνο παχέος εντέρου. Φυσιολογικά αγγεία με έντονη έκφραση ET-1 (μάρτυρες), σε υγιή ιστό πλησίον σημείων με καρκινική διήθηση. (Μεγέθυνση Χ 100 και Χ200, DAB, χρώση αιματοξυλίνη)**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Στην περιοχή του όγκου, παρατηρήθηκε έκφραση της ET-1 σε διαφορετικό βαθμό από τα καρκινικά κύτταρα και στα 39 δείγματα. Αξιοσημείωτο ωστόσο εύρημα ήταν η διαφοροποίηση αυτής της έκφρασης ανάλογα με το επίπεδο του όγκου: στα επιφανειακά στρώματα ήταν ασθενής ενώ στα βαθύτερα στρώματα και μάλιστα στα περιφερικότερα σημεία, όπου σημειωνόταν και η διήθηση, ήταν ισχυρή. Εικ. 2C,D

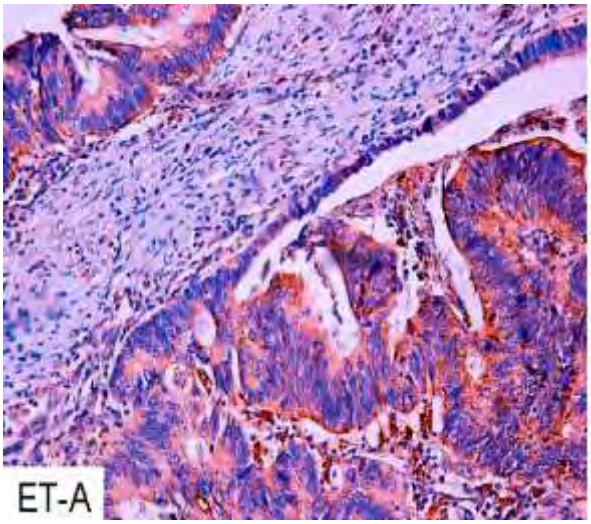



**Εικόνα 2C . Ανοσοϊστοχημική έκφραση ET-1 σε καρκίνο παχέος εντέρου. Ασθενής έκφραση ET-1 στα επιφανειακά στρώματα του όγκου. (Μεγέθυνση Χ 100 και Χ200, DAB, χρώση αιματοξυλίνης)**



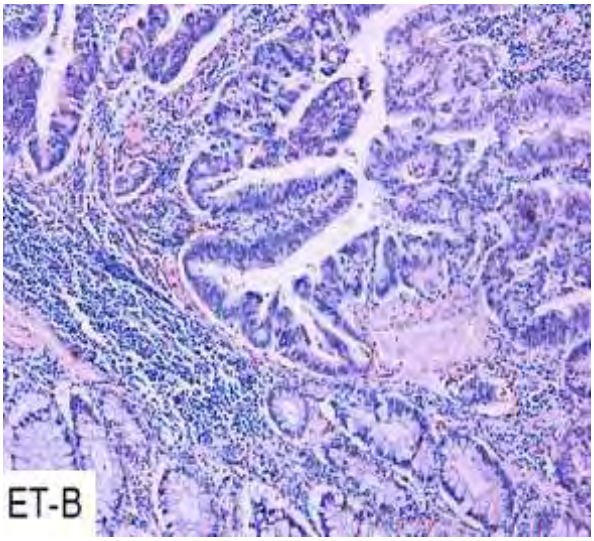

**Εικόνα 2D. Ανοσοϊστοχημική έκφραση ET-1 σε καρκίνο παχέος εντέρου. Ισχυρή έκφραση ET-1 στα βαθύτερα στρώματα του όγκου. (Μεγέθυνση Χ 100 και Χ200, DAB, χρώση αιματοξυλίνης)**

Παρόμοια ήταν τα ευρήματα για τους υποδοχείς $ET_AR$. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ασθενής έκφραση στα επιφανειακά στρώματα του όγκου και ισχυρή στα βαθύτερα κοντά στις περιοχές διήθησης, σε 26 από τα μελετηθέντα δείγματα καρκίνου (70,3 %). Εικ. 3A




**Εικόνα 3A. Ανοσοϊστοχημική έκφραση $ET_AR$ σε δείγματα ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου. Ισχυρή έκφραση ETAR στα βαθύτερα στρώματα του όγκου. . (Μεγέθυνση Χ400, DAB, χρώση αιματοξυλίνης)**

Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε έκφραση του υποδοχέα $ET_BR$ από τα καρκινικά κύτταρα. Εικ 3B.



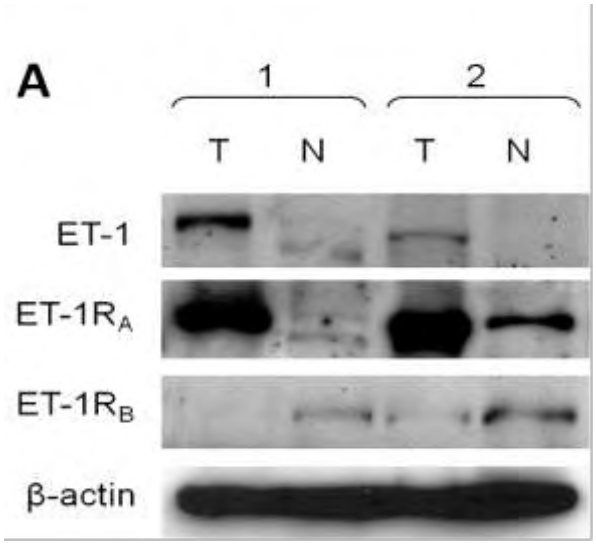

**Εικόνα 3B. Ανοσοϊστοχημική χρώση $ET_BR$ σε δείγματα ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου. Δεν παρατηρείται έκφραση $ET_BR$ από τα καρκινικά κύτταρα. . (Μεγέθυνση Χ400, DAB, χρώση αιματοξυλίνης)**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

### 3. ***Ημιποσοτική Μέτρηση ET-1***

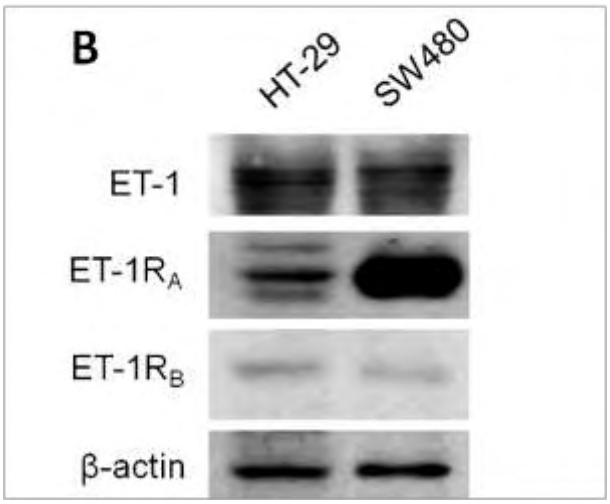
Σε ζεύγη δειγμάτων νωπού νεοπλασματικού / φυσιολογικού εντερικού ιστού από 10 ασθενείς καθώς και σε 4 καρκινικές κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου (HT-29, HT-116, COLON 205, και SW-48), εφαρμόστηκε η μέθοδος ανοσοαποτύπωσης κατά Western (Western Blot) για την ημιποσοτική μέτρηση της ET-1 και των υποδοχέων της.

Στα ζεύγη του νωπού ιστού μετρήθηκαν σαφώς αυξημένα επίπεδα ET-1 αλλά και $ET_AR$, ενώ τα επίπεδα του $ET_BR$ ήταν εξαιρετικά χαμηλά ή και μη ανιχνεύσιμα σε αυτά τα καρκινικά δείγματα. Εικ 4A




**Εικόνα 4A. Ανοσοαποτύπωση κατά Western της ET-1 και των υποδοχέων της ET-1R$_A$ (ET$_A$R) και ET-1R$_B$ (ET$_B$R) σε ζεύγη νωπού καρκινικού (Tumor T) / φυσιολογικού (Normal N) ιστού παχέος εντέρου. Φαίνονται τα υψηλά επίπεδα ET-1 και ET-1R$_A$ στον καρκινικό ιστό 2 ασθενών και μη ανιχνεύσιμα στον αντίστοιχο φυσιολογικό, ενώ τα επίπεδα του ET-1R$_B$ είναι σχεδόν μηδενικά στον καρκινικό ιστό. Η β-ακτίνη χρησιμεύει ως μάρτυρας.**

Παρόμοια αποτελέσματα έδωσε και η μέτρηση της ET-1 και των υποδοχέων της και στις 4 καρκινικές κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν, δηλαδή αυξημένα επίπεδα ET-1 και $ET_AR$ και πολύ χαμηλά ή και μηδενικά $ET_BR$. Εικ. 4B




**Εικόνα 4B . Ανοσοαποτύπωση κατά Western της ET-1 και των υποδοχέων της ET-1R$_A$ (ET$_A$R) και ET-1R$_B$ (ET$_B$R) σε 4 καρκινικές κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου (HT-29, HT-116, COLON 205, και SW-48). Υψηλά επίπεδα ET-1 και ET-1R$_A$ καταδεικνύονται και στις 4 σειρές ενώ μηδενικά είναι τα επίπεδα του ET-1R$_B$. Φαίνονται τα αποτελέσματα στις σειρές HT-29 και SW-48. Η β-ακτίνη χρησιμεύει ως μάρτυρας.**

### 4. ***Μέτρηση ET-1 Ορού***

Από τους 10 ασθενείς στους οποίους ελήφθησαν ζεύγη δειγμάτων νωπού φυσιολογικού/ καρκινικού ιστού, έγινε και λήψη 3 δειγμάτων αίματος: μετά την εισαγωγή στην αναισθησία από περιφερική φλέβα (B), διεγχειρητικά από απαγωγό του όγκου μεσεντέριο κλάδο (A) και μετεγχειρητικά από περιφερική φλέβα (C). Στα δείγματα αυτά, μετά από κατάλληλη επεξεργασία εφαρμόστηκε η τεχνική ποσοτικής μέτρησης πρωτεϊνών σε ορό με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA για τη μέτρηση των επιπέδων της ET-1. Τα αποτελέσματα της μέτρησης φαίνονται στον πίνακα 1.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

| ET-1 (A) | ET-1 (B) | ET-1 (C) |
|---|---|---|
| 1,07 | 1,43 | 0,63 |
| 0,93 | 1,34 | 1,01 |
| 1,47 | 0,77 | 1,04 |
| 1,61 | 0,69 | 0,52 |
| 1,37 | 1,43 | 0,51 |
| 0,88 | 2,16 | 1,19 |
| 1 | 0,93 | 1,08 |
| 1,51 | 1,32 | 0,93 |
| 1,13 | 1,08 | 0,55 |
| 0,75 | 1,26 | 0,61 |

**Πίνακας 1. Τιμές κατά ELISA της ET-1 στον ορό 10 ασθενών. Α: μεσεντέρια κυκλοφορία, Β: Περιφερική κυκλοφορία προεγχειρητικα, C: περιφερική κυκλοφορία μετεγχειρητικά.**

### 5. ***Μέτρηση VEGF Ορού***

Στα παραπάνω δείγματα, μετά από κατάλληλη επεξεργασία εφαρμόστηκε η τεχνική ELISA και για τη μέτρηση των επιπέδων του VEGF. Τα αποτελέσματα της μέτρησης φαίνονται στον πίνακα 2.

| VEGF (A) | VEGF (B) | VEGF (C) |
|---|---|---|
| 4,14 | 8,73 | 18,4 |
| 27,5 | 55,5 | 26,4 |
| 39,9 | 44,5 | 7,97 |
| 105 | 112 | 115 |
| 44,9 | 61,6 | 37,5 |
| 8,58 | 3,9 | 181 |
| 37 | 41,7 | 99,5 |
| 73,2 | 112 | 186 |
| 32,2 | 46,7 | 22,1 |
| 89 | 89,2 | 77,1 |

**Πίνακας 2 . Τιμές κατά ELISA του VEGF στον ορό 10 ασθενών. Α: μεσεντέρια κυκλοφορία, Β: Περιφερική κυκλοφορία προεγχειρητικα, C: περιφερική κυκλοφορία μετεγχειρητικά.**

### 6. ***Παρακολούθηση ασθενών***

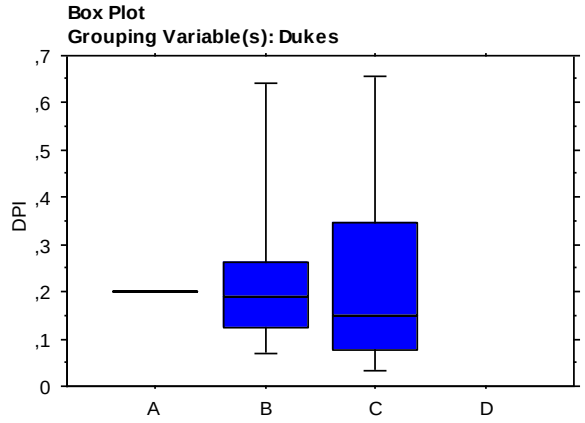
Από τους 39 ασθενείς που συμπεριλήφθησαν στην παρούσα μελέτη, 6 υπεβλήθησαν σε δεξιά ημικολεκτομή, (15,4%), 11 σε αριστερή ημικολεκτομή (28,2%), 13 σε χαμηλή πρόσθια εκτομή (33,3%) και 9 σε κοιλιοπερινεϊκή εκτομή του ορθού (33%). Πληροφορίες όσον αφορά την χορήγηση επικουρικής θεραπείας υπάρχουν και για τους 39 ασθενείς: βάσει σταδίου νόσου, 34 υπεβλήθησαν σε επικουρική θεραπεία (χημειοθεραπεία και/ή ακτινοθεραπεία) και 5 δεν έλαβαν περαιτέρω θεραπεία μετά τη χειρουργική εκτομή του όγκου. Ακολούθως, υποβλήθηκαν σε τακτική παρακολούθηση για 5 έτη. Η παρακολούθηση των ασθενών έγινε με πλήρη κλινικοεργαστηριακό έλεγχο για την έγκαιρη εντόπιση πιθανών μεταστάσεων ή υποτροπής της νόσου. Οι ασθενείς υποβάλλονταν σε τρίμηνη κλινική εξέταση τον πρώτο χρόνο και ακολούθως ανά εξάμηνο για τα επόμενα 5 έτη. Επιπρόσθετα υποβάλλονταν σε τακτικό βιοχημικό έλεγχο των ηπατικών ενζύμων (s-GOT, s-GPT, γ-GT, ALP), του χρόνου προθρομβίνης και των καρκινικών δεικτών καθώς και τακτικό έλεγχο με ακτινογραφία θώρακος, υπολογιστική τομογραφία ή υπερηχοτομογράφημα ήπατος, κολονοσκόπηση, ή άλλο πιο εξειδικευμένο έλεγχο βάσει ενδείξεων. Από τους 30 ασθενείς για τους οποίους διαθέτουμε πλήρη στοιχεία έως τον 7/2011, **9 πέθαναν,** εκ των οποίων 3 εμφάνισαν ηπατική νόσο και 2 εκτεταμένη, ενώ οι υπόλοιποι 4 πέθαναν από άλλη αιτία και όχι από τη νόσο τους , **μία ασθενής** είναι εν ζωή μετά από εκδήλωση και θεραπεία τοπικής υποτροπής και **20** είναι εν ζωή χωρίς υποτροπή ή μεταστατική νόσο.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## 7. Στατιστική Ανάλυση

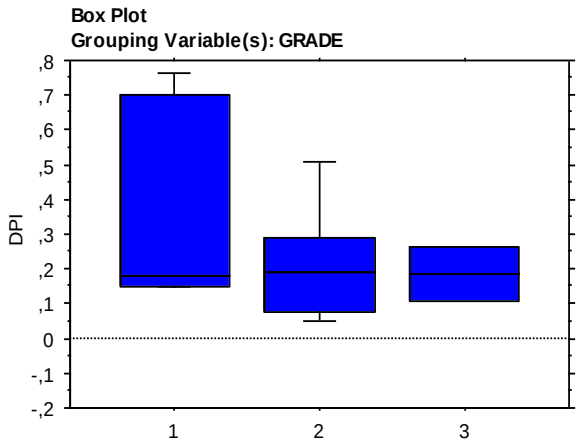
### I. Συσχέτιση DPI και σταδίου νόσου

Για την εκτίμηση πιθανής συσχέτισης DPI και σταδίου νόσου κατά Dukes εφαρμόστηκε το μη παραμετρικό test Kruskal- Wallis. Η κατανομή των καταγεγραμμένων τιμών ανάλογα με το στάδιο της νόσου φαίνεται στο παρακάτω box plot. Εικ.5




**Εικόνα 5. Κατανομή τιμών DPI ανάλογα με το στάδιο Dukes σε 29 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου, που υπεβλήθησαν σε θεραπευτική εκτομή του όγκου.**

Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση φυσιολογικών και μη τιμών DPI και σταδίου νόσου (p= 0,949). Παρόμοια, δεν καταδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση τιμών DPI και grade όγκων (Kruskal- Wallis, p= 0,6243), η δε κατανομή των τιμών DPI σε σχέση με το grade φαίνεται στο παρακάτω box plot. Εικ. 6




**Εικόνα 6. Κατανομή τιμών DPI ανάλογα με το grade του όγκου σε 29 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου, που υπεβλήθησαν σε θεραπευτική εκτομή του όγκου**.

### II. Συσχέτιση DPI και ανοσοϊστοχημικής έκφρασης ET-1

Η στατιστική ανάλυση DPI και έκφρασης ET-1, με Fisher's exact test, δεν ανέδειξε σημαντική συσχέτιση των δύο μελετούμενων παραμέτρων (p= 0,9)

### III. Συσχέτιση ανοσοϊστοχημικής έκφρασης ET-1 και σταδίου νόσου

Σε όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν παρατηρήθηκε έκφραση της ET-1 και του $ET_AR$ από τα καρκινικά κύτταρα. Όπως αναφέρθηκε, η έκφραση αυτή ήταν ισχυρή στα βαθύτερα στρώματα του όγκου και στα σημεία διήθησης σε 26 από 37 καρκινώματα. Η συσχέτιση αυτής της ισχυρής έκφρασης με το στάδιο της νόσου μελετήθηκε με το μη παραμετρικό τεστ $X^2$ , το οποίο και έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της έντονης έκφρασης της ET-1 και του $ET_AR$ με αυξημένο στάδιο της νόσου κατά Dukes. Πίν. 3

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

| Dukes | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $ET_AR$ | A | B | C | D |
| Strong | 0 | 11 | 14 | 1 |
| Weak | 1 | 9 | 1 | 0 |
| | 1 | 20 | 15 | 1 |
| p-value 0,031 | | | | |

**Πίνακας 3. Στατιστικά σημαντική συσχέτιση ET-1 και ETAR με αυξημένο στάδιο νόσου κατά Dukes (p<0,031).**

Το ίδιο αποτέλεσμα καταδείχθηκε και κατά τη συσχέτιση της έντονης έκφρασης της ET-1 και του $ET_AR$ με αυξημένο στάδιο της νόσου κατά Astler- Coller. ($X^2$, p= 0,027) Πίν. 4 Εάν μάλιστα η ανάλυση γίνει με ομαδοποίηση των σταδίων σε πρώιμα (A και B1) και προχωρημένα (B2, C,D), η συσχέτιση γίνεται ισχυρότερη ($X^2$, p= 0,005).

| Astler-Coller | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $ET_AR$ | A | B1 | B2 | C1 | C2 | D |
| Strong | 0 | 2 | 9 | 9 | 5 | 1 |
| Weak | 1 | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| | 1 | 7 | 13 | 10 | 5 | 1 |
| p-value 0,027 | | | | | | |

**Πίνακας 4. Στατιστικά σημαντική συσχέτιση ET-1 και ETAR με αυξημένο στάδιο νόσου κατά Astler- Coller (p= 0,027).**

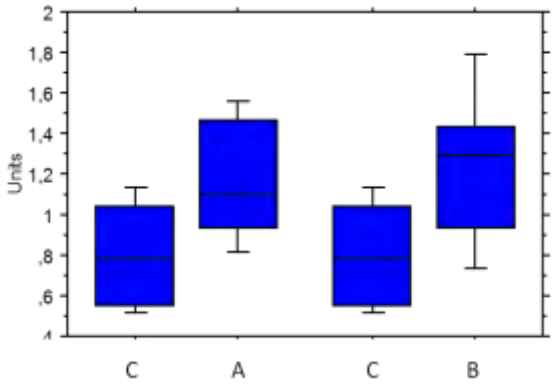
### *IV. Συσχέτιση ET-1 ορού προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά*

Σε 10 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου μετρήθηκαν τα επίπεδα ET-1 στη μεσεντέρια και περιφερική κυκλοφορία πριν την εκτομή του όγκου και στην περιφερική κυκλοφορία μετεγχειρητικά. Για τον έλεγχο της υπόθεσης ότι τα επίπεδα της ET-1 είναι χαμηλότερα μετά την αφαίρεση του όγκου (ομάδα C) σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά (ομάδα A: μεσεντέριος κυκλοφορία, ομάδα B: περιφερική κυκλοφορία), διενεργήθηκε το μη παραμετρικό τεστ Mann- Whitney. Καταδείχθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της ET-1 μετά την εκτομή του όγκου σε σύγκριση τόσο με τη μεσεντέρια κυκλοφορία (A vs C, p-value:0,03), όσο και με την περιφερική κυκλοφορία πριν την αφαίρεση του όγκου (B vs C, p-value= 0,01). Πίν. 5

| | ET-1 | | |
|---|---|---|---|
| Patients | A | B | C |
| MEAN+/- SD | 1,1720+/- 0,29772 | 1,2410+/- 0,41906 | 0,8070+/- 0,26638 |
| p-value Mann-Whitney | A vs. B 0.97 | B vs. C 0.01 | A vs. C 0.03 |

**Πίνακας 5. Συσχέτιση τιμών ET-1 με ELISA στον ορό ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου, πριν και μετά την εκτομή του όγκου. A: μεσεντέρια κυκλοφορία, B: περιφερική κυκλοφορία προεγχειρητικά, C: περιφερική κυκλοφορία μετεγχειρητικά.**

Σχηματικά οι διαφορές αυτές απεικονίζονται στην εικόνα 7 (Box Plot ). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά των επιπέδων της ET-1 μεταξύ μεσεντέριας και περιφερικής κυκλοφορίας πριν την εκτομή του όγκου.




**Εικόνα 71. Διαφορά των επιπέδων ET-1 στον ορό ασθενών προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά. A: μεσεντέριος κυκλοφορία, B: περιφερική κυκλοφορία πριν την εκτομή του όγκου, C: περιφερική κυκλοφορία μετεγχειρητικά.**

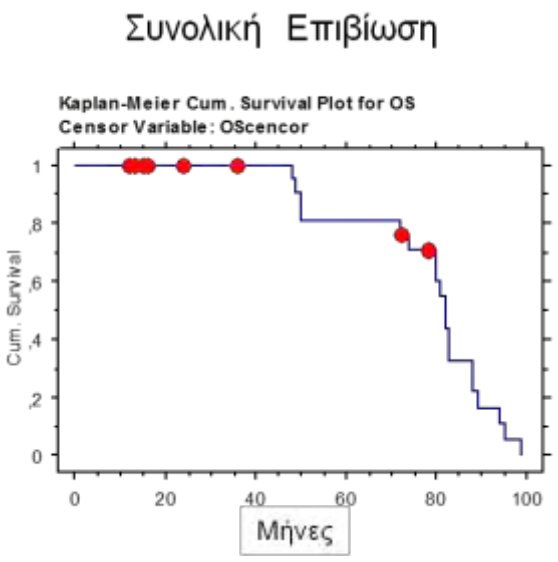
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

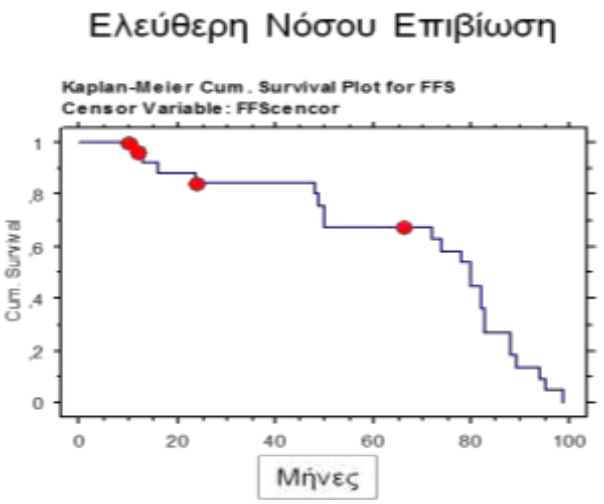
### *V. Συσχέτιση VEGF ορού προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά*

Στους παραπάνω 10 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου μετρήθηκαν και τα επίπεδα VEGF στη μεσεντέρια και περιφερική κυκλοφορία πριν την εκτομή του όγκου και στην περιφερική κυκλοφορία μετεγχειρητικά. Για τον έλεγχο της υπόθεσης ότι τα επίπεδα του VEGF είναι χαμηλότερα μετά την αφαίρεση του όγκου (ομάδα C) σε σύγκριση με τα προεγχειρητικά (ομάδα A: μεσεντέριος κυκλοφορία, ομάδα B: περιφερική κυκλοφορία), διενεργήθηκε το μη παραμετρικό τεστ Mann- Whitney. Δεν καταδείχθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των τιμών του VEGF μεταξύ των προεγχειρητικών και μετεγχειρητικών τιμών.

### *IV. Επιβίωση*

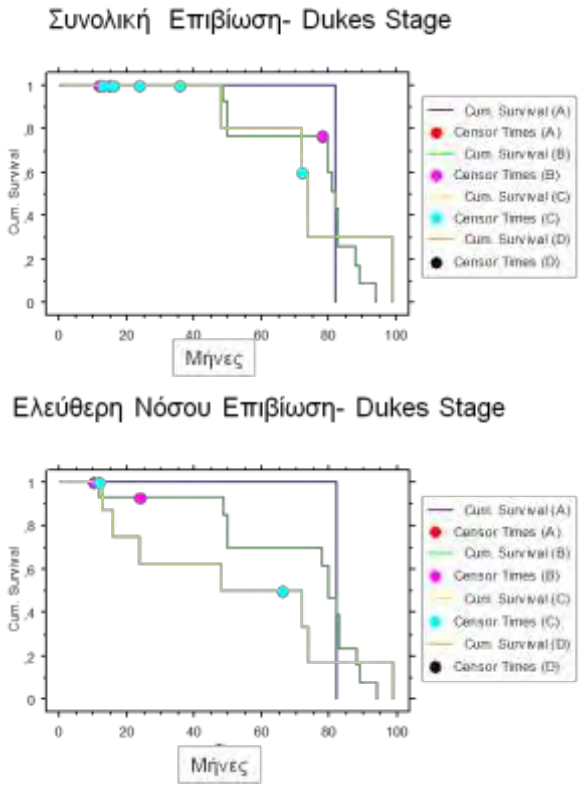
Μετά από ένα μέσο χρόνο παρακολούθησης (follow-up) 60 μήνες για 30 ασθενείς με πλήρη παρακολούθηση που περιλάβαμε στην στατιστική ανάλυση επιβίωσης, η 5-ετής συνολική επιβίωση ήταν 80% και η επιβίωση ελεύθερης νόσου 69%, όπως φαίνεται στην εικόνα 8.




**Εικόνα 8. Συνολική και Ελεύθερη Νόσου Επιβίωση, σε 30 ασθενείς, με μέσο χρόνο παρακολούθησης 60 μήνες.**

Παρακάτω (εικ 9), απεικονίζεται η συνολική επιβίωση και η επιβίωση ελεύθερης νόσου, ανάλογα με το παθολογοανατομικό στάδιο της νόσου κατά Dukes.

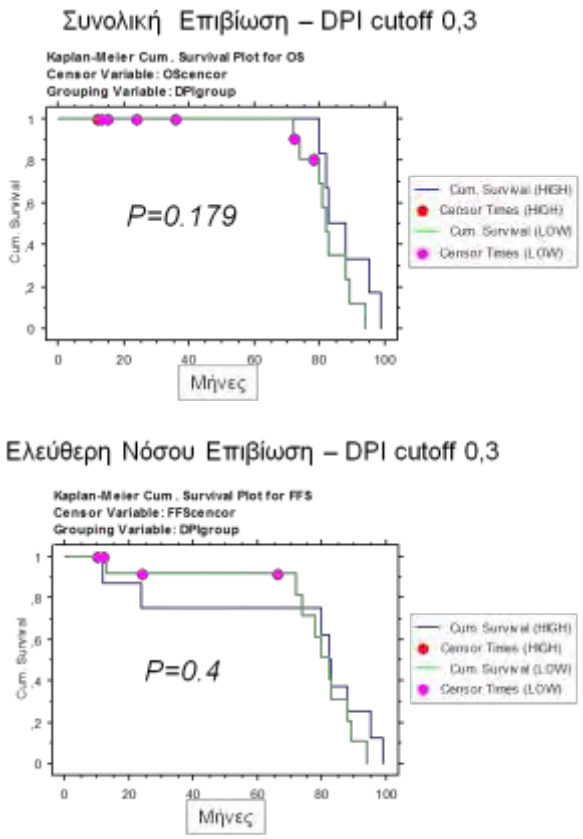



**Εικόνα 9. Συνολική και ελεύθερη νόσου επιβίωση ανάλογα με το στάδιο της νόσου κατά Dukes.**

Η στατιστική ανάλυση της 5-ετούς επιβίωσης έδειξε ότι οι μετρηθείσες τιμές DPI δεν

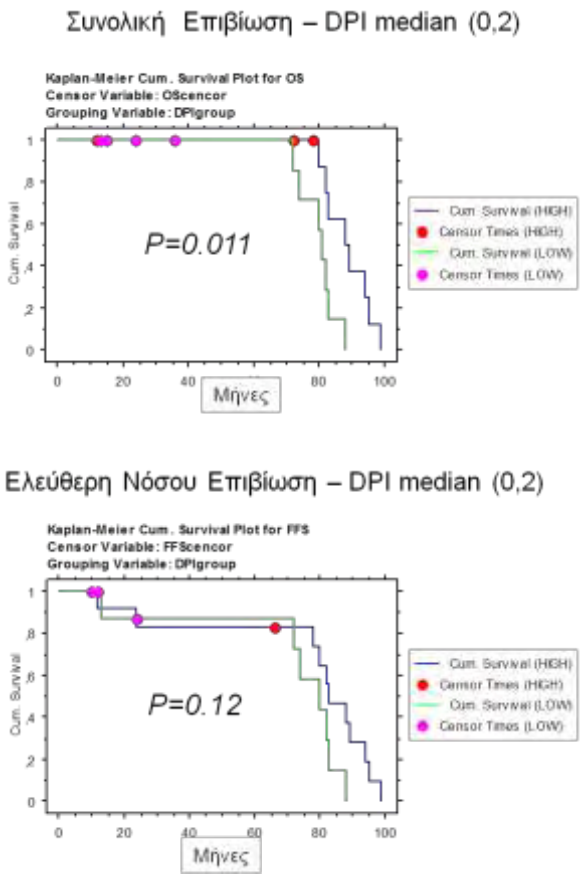
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

σχετίζονται στατιστικά με την επιβίωση των ασθενών (συνολική και ελεύθερη νόσου), χρησιμοποιώντας ως φυσιολογικές τις τιμές ≤ 0,3 (cutoff point 0,3), που είναι και οι τιμές που έχουν χρησιμοποιηθεί και σε προηγούμενες μελέτες. Εικ. 10




**Εικόνα 10. Συσχέτιση DPI (0,3 cutoff) – 5-ετούς επιβίωσης (συνολικής και ελεύθερης νόσου), στατιστικά μη σημαντική**

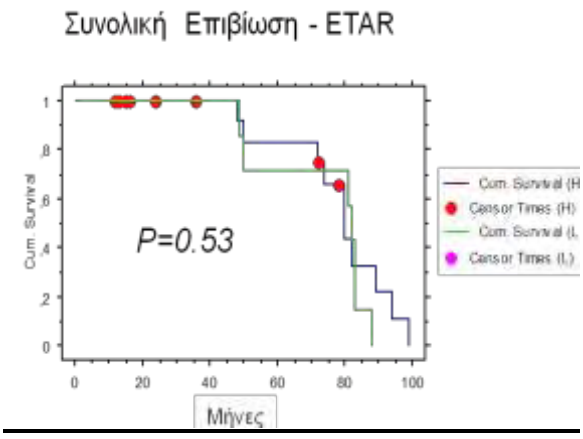
Όταν ωστόσο χρησιμοποιήθηκε ως cutoff point η μέση των παρατηρούμενων τιμών DPI στη μελετώμενη ομάδα ασθενών, εν προκειμένω η τιμή 0,2, διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του DPI με την συνολική 5-ετή επιβίωση των ασθενών (p= 0,011), αλλά όχι με την ελεύθερη νόσου επιβίωση. Εικ2

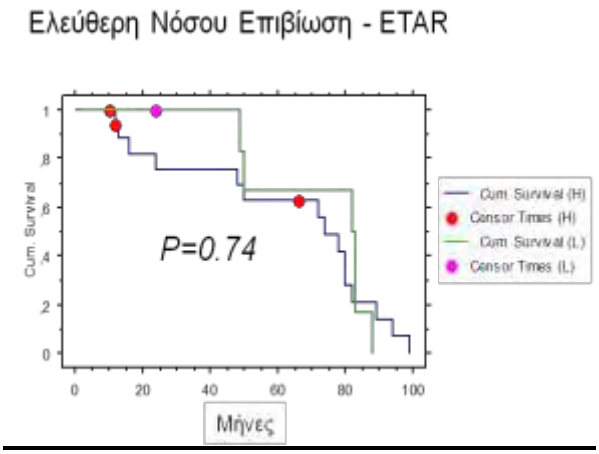



**Εικόνα 11. Συσχέτιση DPI (0,2 cutoff) – 5-ετούς συνολικής και ελεύθερης νόσου επιβίωσης. Στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την συνολική 5-ετή επιβίωση των ασθενών, αλλά όχι την ελεύθερη νόσου.**

Τέλος, η στατιστική ανάλυση της επιβίωσης έδειξε ότι ο βαθμός έκφρασης της Ενδοθηλίνης-1 και των υποδοχέων της ETAR, δεν σχετίζονται στατιστικώς σημαντικά με την διαφορετική επιβίωση ελεύθερης νόσου και συνολική επιβίωση στην ομάδα των ασθενών αυτών, στην παρούσα μελέτη, όπως φαίνεται και στην εικόνα 12.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149




**Εικόνα 12 . Μη στατιστικά σημαντική συσχέτιση αυξημένης έκφρασης ETAR και 5-ετους επιβίωσης, συνολικής και ελεύθερης νόσου.**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## Ε. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Είναι γνωστό ότι ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών με μη μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου που υποβάλλονται σε θεραπευτική εκτομή του όγκου, αναπτύσσουν στην πρώτη διετία μετεγχειρητικά ηπατικές μεταστάσεις. Η ερμηνεία του φαινομένου στηρίζεται στην ύπαρξη, κατά το χρονικό σημείο διάγνωσης της νόσου, μικρομεταστάσεων στο ήπαρ, μη εμφανών με οποιαδήποτε απεικονιστική τεχνική είτε προεγχειρητικά είτε διεγχειρητικά, οι οποίες και ευθύνονται για την ανάπτυξη επίσημης ηπατικής συμμετοχής στα 2 πρώτα χρόνια μετεγχειρητικά και άρα για την αυξημένη θνητότητα του καρκίνου του παχέος εντέρου.[202, 221, 361] Με δεδομένη τη γνώση της αλλαγής της αγγείωσης του ήπατος (αύξηση αιματικής παροχής από την ηπατική αρτηρία και μείωση αυτής από την πυλαία) σε περίπτωση κατάληψής του από εμφανή μεταστατική νόσο, έγινε προσπάθεια συσχετισμού πιθανών αλλαγών στην αγγείωση ενός φυσιολογικού απεικονιστικά ήπατος με την ύπαρξη μικρομεταστάσεων. [362] Μεταξύ των τεχνικών που αναπτύχθηκαν για τον ακριβή προσδιορισμό της αγγείωσης του ήπατος, ίσως η πιο καλά μελετημένη είναι αυτή του Δείκτη Αιμάτωσης Ήπατος DPI (Doppler Perfusion Index).[235, 363] Ως DPI υπολογίζεται το πηλίκο της παροχής στην ηπατική αρτηρία προς το σύνολο της ηπατικής παροχής (ηπατική αρτηρία + πυλαία φλέβα), μετρούμενο με υπερηχοτομογραφία color Doppler. [237] Ενώ η πιστότητα των ποιοτικών πληροφοριών του color Doppler είναι αναμφισβήτητη, παραμένει υπό συζήτηση η ακρίβεια και αναπαραγωγιμότητα των ποσοτικών μετρήσεων. Γενικά, τιμές DPI >0,3 θεωρούνται παθολογικές (ηπατικές μεταστάσεις, ηπατική νόσος).

Στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε μέτρηση του DPI προεγχειρητικά σε 29 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου χωρίς εικόνα μεταστατικής νόσου στο ήπαρ. Οι τιμές του DPI κυμάνθηκαν από 0,1 έως 0,77, με μέση τιμή 0,26 $\pm$0,209 sd. Οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε θεραπευτική εκτομή του όγκου και την ενδεικνυόμενη επικουρική θεραπεία.

Στατιστική ανάλυση των τιμών DPI με το στάδιο της νόσου κατά Dukes' δεν κατέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση παθολογικών τιμών (>0,3) και προχωρημένου σταδίου. Το εύρημα αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα μελέτης του DPI σε 120 ασθενείς, στην οποία διαπιστώνεται στατιστικά σημαντική συσχέτιση DPI και σταδίου νόσου κατά Dukes.[244] Στην παρούσα μελέτη ωστόσο, δεν καταδείχθηκε και στατιστικά σημαντική συσχέτιση αυξημένου DPI με προχωρημένο grade του όγκου, που ως γνωστό αποτελεί επίσης δείκτη επιθετικότητας και μεταστατικού δυναμικού του όγκου.

Στατιστική ανάλυση των τιμών DPI με την 5-ετή επιβίωση των ασθενών, για τους οποίους υπήρχαν στοιχεία, δεν κατέδειξε συσχέτιση τόσο με τη συνολική όσο και με την ελεύθερη νόσου επιβίωση, όπως δεν καταδείχθηκε και συσχέτιση παθολογικών τιμών DPI με την ανάπτυξη ηπατικών μεταστάσεων (3 από τους 30 ασθενείς). Αξίζει ωστόσο να σημειωθεί ότι η μη ανεύρεση συσχέτισης αφορά στην κατηγοριοποίηση των τιμών του DPI σε παθολογικές και φυσιολογικές με όριο την τιμή 0,3. Η τιμή αυτή προτάθηκε από τους Leen και συνεργάτες μετά σειρά μελετών, αρχικά σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου και εμφανή ηπατική μεταστατική νόσο και ακολούθως σε ασθενείς με ελεύθερο, στο χρονικό σημείο της διάγνωσης, ήπαρ που ανέπτυξαν μετεγχειρητικά μεταστάσεις και άρα έφεραν μη αντιληπτές μικρομεταστάσεις.[361, 364-368] Συσχέτισαν μάλιστα τις τιμές του DPI (παθολογικές >0,3 vs φυσιολογικές <0,3) στις ομάδες των ασθενών που μελέτησαν με την επιβίωση των ασθενών αυτών, αποδεικνύοντας επιπλέον καλύτερη συσχέτιση ακόμη και από το παθολογοανατομικό στάδιο κατά Dukes: 2-

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

ετής ελεύθερη νόσου επιβίωση σε Dukes A/B 70%, σε DPI φυσιολογικό (<0,3) 100% και συνολική 73% και 97% αντίστοιχα, ενώ σε Dukes C οι παραπάνω επιβιώσεις ήταν 35% και 49% αλλά για DPI παθολογικό (>0,3) ήταν 22% και 37% αντίστοιχα.[361] Με βάση μάλιστα τα ευρήματα αυτά, πρότειναν τη χρήση του DPI ως έναν από τους δείκτες για τη θεραπευτική επιλογή της χορήγησης επικουρικής θεραπείας σε ασθενείς χωρίς εμφανή ηπατική συμμετοχή και παθολογικό DPI.[244]

Παρά το γεγονός ότι αυξημένες τιμές DPI έχουν παρατηρηθεί σε αρκετές μελέτες σε πειραματόζωα με ηπατικές μεταστάσεις, παρόμοια αποτελέσματα με αυτά των Leen και συν. δεν έχουν αναπαραχθεί από άλλες κλινικές έρευνες.[228, 369] Για παράδειγμα ολλανδική μελέτη σε 133 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου και 4-ετή παρακολούθηση δεν βρήκε συσχέτιση των τιμών του DPI με την κατάσταση του ήπατος (μεταστάσεις στην αρχική διάγνωση, ανάπτυξη μετάχρονων μεταστάσεων, παραμονή ελεύθερου νόσου), ούτε με την πρόγνωση των ασθενών.[370]

Με βάση τα παραπάνω, στην παρούσα μελέτη, εκτός από τη χρήση της τιμής 0,3 ως ορίου μεταξύ φυσιολογικών και παθολογικών τιμών DPI, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των τιμών DPI σε σχέση με την 5-ετή επιβίωση των ασθενών, χρησιμοποιώντας ωστόσο ως όριο τη μέση παρατηρούμενη τιμή (median value) στο σύνολο των καταγεγραμμένων τιμών στην υπό μελέτη ομάδα, η οποία ήταν 0,2. Αξιοσημείωτο λοιπόν εύρημα ήταν η στατιστικά σημαντική συσχέτιση (Kaplan- Mayer, p=0,011), τιμών DPI > 0,2 με μειωμένη συνολική 5-ετή επιβίωση σε σύγκριση με τιμές DPI < 0,2 και αυξημένη 5-ετή επιβίωση. Το παραπάνω εύρημα δεν ισχύει για την ελεύθερη νόσου 5-ετή επιβίωση (p= 0,12). Η σημασία του ευρήματος χρήζει ίσως περαιτέρω ελέγχου με μεγαλύτερες σειρές ασθενών, δεδομένου ότι στις προαναφερθείσες μελέτες των Leen και συν. στις ομάδες ελέγχου (υγιείς μάρτυρες) οι τιμές DPI ήταν μικρότερες του 0,25, ενώ οι σαφώς αυξημένες τιμές >0,3 ανευρίσκονταν στους ασθενείς με εμφανή ηπατική νόσο.[366] Στους ασθενείς με ελεύθερο ήπαρ τη στιγμή της διάγνωσης και άρα τους πιθανόν φέροντες μικρομεταστάσεις, οι ευρισκόμενες τιμές DPI κυμαίνονταν σε φάσμα μεταξύ φυσιολογικών και παθολογικών τιμών, η δε εκτίμηση των αποτελεσμάτων παρακολούθησης των ασθενών αυτών έγινε με χρήση ως ορίου φυσιολογικών-παθολογικών τιμών την κατώτερη παθολογική 0,3 που είχε καταγραφεί στην περίπτωση των εμφανών ηπατικών μεταστάσεων.

Το γεγονός ότι παρατηρείται αλλαγή στην αγγείωση του ήπατος σε περίπτωση κατάληψής του από χωροκατακτητικές βλάβες (πρωτοπαθείς όγκοι, μεταστάσεις) είναι επιβεβαιωμένο, ωστόσο η ακριβής φύση, το χρονικό σημείο εγκατάστασης και η αξιόπιστη καταγραφή αυτών των αλλαγών διαφεύγουν της μέχρι τώρα έρευνας. Σύμφωνα με πειραματικά μοντέλα, φαίνεται ότι η αγγείωση των ηπατικών βλαβών προέρχεται αποκλειστικά από την ηπατική αρτηρία δικαιολογώντας κατ' αυτό τον τρόπο την αύξηση της αρτηριακής παροχής.[227, 228, 362] Ωστόσο η συνολική παροχή του ήπατος δεν αλλάζει, και έχει διαπιστωθεί ότι σε ένα προσβεβλημένο από χωροκατακτητική εξεργασία ήπαρ παρατηρείται και αντισταθμιστική μείωση της παροχής της πυλαίας φλέβας, η οποία αποδίδεται σε αύξηση των αντιστάσεων στη σπλαγχνική κυκλοφορία, σε άλλοτε άλλο ανάλογα με τη πειραματική μελέτη επίπεδο (ηπατικά κολποειδή, μεγαλύτερα στελέχη).[228] Η τελευταία ίσως να προκαλείται από την επίδραση αγγειοσυσπαστικών ουσιών παραγόμενων από τον όγκο.[369, 371]

Από την άλλη, σειρά μορίων με ενδεχόμενη συμβολή στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου βρίσκονται υπό μελέτη, όσον αφορά την παραγωγή και τους μηχανισμούς δράσης τους. Ανάμεσα σε αυτά, αρκετά υποσχόμενη είναι η Ενδοθηλίνη-1 (ET-1), ένα ισχυρό αγγειοσυσπαστικό πεπτίδιο που εμπλέκεται σε αρκετές καταστάσεις αυξημένης λειτουργίας λείων μυϊκών ινών, όπως η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

αρτηριακή και πνευμονική υπέρταση και ο βρογχόσπασμος.[248, 266, 372] Η ET-1 ασκεί τη δράση της συνδεόμενη με δυο υποδοχείς, τους $ET_AR$ και $ET_BR$, που ανήκουν στην οικογένεια των συνδεόμενων με την G-πρωτεΐνη υποδοχέων (G-Protein Coupled Receptors- GPCR).[373] Ερευνητικά και κλινικά δεδομένα υποστηρίζουν το ρόλο των GPCRs στην καρκινογένεση, καθώς έχει βρεθεί ότι τα καρκινικά κύτταρα υπερεκφράζουν αυτούς τους υποδοχείς, τους διεγείρουν με διάφορες καρκινικές και στρωματικές ουσίες και χρησιμοποιούν τα ενδοκυττάρια μονοπάτια που αυτοί πυροδοτούν για τον αυτόνομο πολλαπλασιασμό και διήθησή τους.[374]

Σειρά μελετών αποδεικνύουν ότι η ET-1 και οι GPC υποδοχείς της εμπλέκονται στην καρκινογένεση σειράς οργάνων όπως οι ωοθήκες, ο προστάτης, ο μαστός κ.α. αλλά και του παχέος εντέρου.[375-378] Συγκεκριμένα, η ET-1 προάγει καταρχάς τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Η δράση αυτή φαίνεται να ασκείται μέσω του $ET_AR$ και όχι του $ET_BR$, καθώς παρατηρείται αυξημένη έκφραση των Α υποδοχέων και μειωμένη των Β, στους περισσότερους επιθηλιακούς καρκίνους που έχουν μελετηθεί, όπως ωοθηκών, προστάτη, τραχήλου μήτρας, πνεύμονα, ρινοφάρυγγα και άλλων, αλλά και του παχέος εντέρου, και ότι μέσω της αυξημένης αυτής έκφρασης προάγεται το μιτογενετικό ερέθισμα της ET-1.[259, 379-386] Έχει, για παράδειγμα, αποδειχθεί ότι η διέγερση του $ET_AR$ οδηγεί αφενός στην ενεργοποίηση σειράς ενδοκυττάριων μονοπατιών σημαντικών στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, όπως αυτό της 3φωσφοσφορικής ινοσιτιδικής κινάσης (PI3K) και της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) αλλά και σε παράλληλη ενεργοποίηση του EGFR, γνωστού αυξητικού παράγοντα των επιθηλιακών κυττάρων, σε καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου.[387]

Από την άλλη, στην ET-1 έχει αποδοθεί όχι μόνο αυξητική δράση αλλά και αντιαποπτωτική, όπως και συμμετοχή σε όλα τα σταδιακά φαινόμενα της καρκινογένεσης, δηλαδή στην προσκόλληση, την μεσεγχυματική μεταμόρφωση, διήθηση, αγγειογένεση και μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων διαφόρων οργάνων.[388-391] Ειδικά στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου, οι Peduto-Eberl et.al. έδειξαν ότι η ET-1 ασκεί αντιαποπτωτική δράση, με χαμηλές συγκεντρώσεις του μορίου σε κυτταρικές καλλιέργειες καρκίνου του παχέος εντέρου να προάγουν αντίσταση στην απόπτωση μέσω του εξωγενούς μηχανισμού (FasL- mediated apoptosis).[392, 393] Μάλιστα, έχει αποδειχθεί ρόλος της ET-1 και στον ενδογενή μηχανισμό απόπτωσης μέσω επίδρασής της στο bcl-2 αντι-αποπτωτικό γονιδίο, σε μυοκύτταρα, ενδοθηλιακά, ωοθηκικά και κύτταρα προστάτη, νευρώνες και μελαννοκύτταρα, αν και ο μηχανισμός αυτός δεν έχει μελετηθεί έως τώρα στον καρκίνο του παχέος εντέρου.[389, 390]

Επιπλέον, εμπλοκή της ET-1 και στο μονοπάτι της β-κατενίνης (β-catenin pathway) έχει καταδειχθεί, με την ET-1 να αντιστρέφει τη διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και τη συνεπακόλουθη απόπτωση που προκαλείται σε καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου με την αναστολή του μονοπατιού της β-κατενίνης.[306] Μάλιστα, σε ωοθηκικές καρκινικές σειρές ανιχνεύεται πολλαπλός ρόλος της ET-1 στην προαγωγή από τη β-catenin της μεταγραφής γονιδίων σχετιζόμενων με τη μετάσταση .[394]

Επίσης, σε πρόσφατη μελέτη η ET-1 βρέθηκε να διεγείρει τον πολλαπλασιασμό ινοβλαστών σε καρκινικό περιβάλλον παχέος εντέρου, λειτουργώντας έτσι ως ένα ισχυρό ερέθισμα δημιουργίας καρκινικού στρώματος και παρουσιάζοντας κατ'αυτό τον τρόπο και παρακρινή δράση σε γειτονικά στρωματικά κύτταρα εκτός από αυτοκρινή στα ίδια τα καρκινικά.[395]

Παράλληλα, μελετάται και η αγγειογενετική δράση της ET-1. Έτσι, σε καρκίνο ωοθηκών και μαστού έχει βρεθεί διασύνδεση του μονοπατιού της ET-1 με αυτό του Αγγειακού Ενδοθηλιακού Αυξητικού Παράγοντα (Vascular Endothelial Growth Factor VEGF), μορίου γνωστού για τη σημασία του στην καρκινική νεοαγγείωση, η αναστολή του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

οποίου με αντίστοιχα αντισώματα έχει βρει και κλινική εφαρμογή σε σειρά καρκίνων.[396-400] Επίσης, σε καρκίνο ωοθηκών και δέρματος, η ET-1 φαίνεται να αυξάνει τη δράση της Cox-2, που επίσης εμπλέκεται στην καρκινική νεοαγγείωση.[401] Ωστόσο, στον καρκίνο του παχέος εντέρου δεν έχει μελετηθεί ακόμη η σημασία της ET-1 στο επίπεδο της νεοαγγείωσης.

Συνολικά, αυτός ο όλο και πιο σημαντικός ρόλος της ET-1, έχει οδηγήσει τα τελευταία χρόνια στην ανάπτυξη ανταγωνιστών των υποδοχέων της, η δράση των οποίων ερευνάται σε επίπεδο κλινικών μελετών σε καρκίνο ωοθηκών και μαστού καθώς και μεταστατικού καρκίνου του προστάτη ανθεκτικού σε ορμονοθεραπεία.[402-406]

Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια κατάδειξης του μοτίβου έκφρασης της ET-1 από τον καρκίνο του παχέος εντέρου και του ενδεχόμενου ρόλου της στην ανάπτυξη μεταστάσεων στο ήπαρ, που θα μπορούσε να εκτιμηθεί με την ανεύρεση αλλαγών στην αγγείωσή του.

Αρχικά, μελετήθηκε ανοσοϊστοχημικά η έκφραση του μορίου της ET-1 και των υποδοχέων της $ET_AR$ και $ET_BR$ σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου και έγινε συσχέτιση αυτής της έκφρασης με το στάδιο της νόσου. Η μελέτη κατέδειξε έκφραση της ET-1 από τα καρκινικά κύτταρα σε όλα τα δείγματα καρκίνου του παχέος εντέρου που εξετάσθηκαν. Αντίθετα, η έκφραση αυτή ήταν ελάχιστη ή και μηδαμινή στο γειτονικό φυσιολογικό εντερικό ιστό. Τα ευρήματα αυτά είναι σε συμφωνία με προηγηθείσες μελέτες σε πρωτεϊνικό επίπεδο και επίπεδο RNA. Για παράδειγμα, οι Inagaki et.al. κατέδειξαν πρώτοι, με μελέτες ραδιοσήμανσης, την παρουσία της ET-1 στο βλεννογόνο και στο νευρικό ιστό του παχέος εντέρου αλλά και σε καρκινικό ιστό παχέος εντέρου.[324, 407, 408] Ακολούθησαν ανοσοϊστοχημικές μελέτες της ET-1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου, που απέδειξαν την έκφραση της ET-1 όχι μόνο από τα καρκινικά κύτταρα αλλά και από τα αγγεία και τα στρωματικά κύτταρα του όγκου όπως και από τα κύτταρα ηπατικών μεταστάσεων από καρκίνο του παχέος εντέρου.[379, 409-411] Πιο πρόσφατα, οι Egidy et.al. κατέδειξαν όλο τον άξονα παραγωγής της ET-1 (προενδοθηλίνη, μετατρεπτικό ένζυμο της ET-1 ECE, υποδοχείς της) στο φυσιολογικό έντερο και στον καρκίνο του παχέος εντέρου.[412, 413] Προς ενίσχυση των ποιοτικών ευρημάτων κατά την ανοσοϊστοχημική κατάδειξη της ET-1, πραγματοποιήθηκε και ημιποσοτική μέτρηση της πρωτεΐνης με τη μέθοδο Western Blot σε ζεύγη δειγμάτων καρκινικού/φυσιολογικού νωπού ιστού παχέος εντέρου, όπως και σε 4 κυτταρικές καλλιέργειες καρκίνου του παχέος εντέρου. Η ET-1 μετρήθηκε σε αυξημένα επίπεδα τόσο στο νωπό καρκινικό ιστό σε σύγκριση με το φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο, όπου τα επίπεδά της ήταν ελάχιστα, όσο και στις καρκινικές κυτταρικές καλλιέργειες του παχέος εντέρου. Τα ευρήματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα ευρήματα άλλων μελετών που εξέτασαν την έκφραση της ET-1 σε πρωτεϊνικό επίπεδο και επίπεδο mRNA και υποστηρίζουν την υπόθεση ενός αυτοκρινούς ρόλου της ET-1 στο καρκινικό περιβάλλον του παχέος εντέρου.[409, 412-414] Για παράδειγμα, οι Peduto Eberl et. al. απέδειξαν αυξημένη έκφραση ET-1 από καρκινικές σειρές παχέος εντέρου (HT-29 και SW480), η δε έκφραση αυτή αυξάνεται με την παρουσία της ET-1 στο καλλιεργητικό ορό.[392, 393]

Παράλληλα με την έκφραση της ET-1, παρατηρήθηκε ανοσοϊστοχημικά αλλά και ημιποσοτικά με τη μέθοδο Western Blot, και σημαντική έκφραση του υποδοχέα $ET_AR$ στον καρκινικό ιστό σε όλα τα εξετασθέντα δείγματα αλλά όχι του $ET_BR$, εύρημα συμβατό με προηγηθείσες μελέτες.[334, 380, 415] Σε μια πολύ πρόσφατη μελέτη μάλιστα των Sorby et. al. αποδείχθηκε σημαντική έκφραση του γονιδίου του $ET_AR$ σε επίπεδο mRNA σε καρκινικό ιστό παχέος εντέρου σε σύγκριση με το φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο, ανώ αντίθετα ήταν πολύ χαμηλά τα επίπεδα mRNA του γονιδίου του $ET_BR$.[414]

Το πιο ενδιαφέρον εύρημα ωστόσο της μελέτης της ET-1 και των υποδοχέων της

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

στον καρκινικό ιστό ήταν η εντονότερη έκφραση της ET-1 και του $ET_AR$ στα βαθύτερα στρώματα του όγκου σε σύγκριση με τα επιφανειακότερα και μάλιστα η έκφραση αυτή ήταν πιο αισθητή στα σημεία που παρατηρείται διήθηση. Η δε στατιστική ανάλυση κατέδειξε σαφή συσχέτιση αυξημένης έκφρασης ET-1 και $ET_AR$ στο εν τω βάθει όριο και σταδίου νόσου κατά Duke's. Η συσχέτιση μάλιστα έγινε πιο εμφανής όταν η ανάλυση έγινε με βάση το στάδιο της νόσου κατά Astler- Coller, οπότε έγινε ομαδοποίηση των όγκων σε πρώιμο στάδιο (A και B1) και προχωρημένο (B2 και C), και αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική έκφραση της ET-1 και του $ET_AR$ στο εν τω βάθει όριο του όγκου σε προχωρημένο στάδιο της νόσου.

Το παραπάνω εύρημα δεν έχει καταγραφεί μέχρι τώρα σε προηγηθείσες μελέτες. Το γεγονός δε ότι η έκφαση του ET-1 και του $ET_AR$ είναι μεγαλύτερη και εντονότερη στα εν τω βάθει όρια του όγκου σε σύγκριση με τα επιφανειακά και η έκφραση αυτή σχετίζεται στατιστικά με προχωρημένο στάδιο της νόσου, αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον εάν ενταχθεί στο πλαίσιο των ευρημάτων άλλων ερευνών. Συγκεκριμένα, στην προαναφερθείσα μελέτη των Sorby et.al. γονίδια κεντρικά στην έκφραση και δράση της ενδοθηλίνης, και πιο συγκεκριμένα της ET-1 και του $ET_AR$, εκφράζονται σε μεγάλο βαθμό και σε μεταστατικό ιστό από καρκίνο παχέος εντέρου.[414] Επιπλέον, είναι γνωστό ότι από παθολογοανατομικής απόψεως υπάρχουν δύο όρια που χρήζουν ανάλυσης κατά τη σταδιοποίηση του όγκου: το εν τω βάθει όριο (deep margin) και το επιφανειακό (mucosal margin). Ποικίλες μελέτες έχουν δείξει ότι όρια τα οποία έχουν διαγνωσθεί με τον κλασικό τρόπο ως αρνητικά ή ελεύθερα νόσου, βρέθηκαν θετικά για την παρουσία καρκινικών/ προκαρκινικών κυττάρων με την εφαρμογή μεθόδων ανίχνευσης μοριακών δεικτών. Και μάλιστα έχουν καταδείξει ότι η υπόνοια παρουσίας γενετικά αλλοιωμένων κυττάρων στα όρια του όγκου, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής της νόσου ή ακόμη και εμφάνισης νέου καρκίνου. Για παράδειγμα, σειρά μοριακών δεικτών όπως παράγωγα της ανθρώπειου Ly-6D (hly-6D), το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 και μεταλλαγμένο DNA του TP53, έχουν δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε περιπτώσεις πλακώδους καρκινώματος κεφαλής και τραχήλου.[416-420] Επίσης, μια πρόσφατη μελέτη κατέδειξε αυξημένη κινητικότητα των καρκινικών κυττάρων εκ πλακώδους επιθηλίου κεφαλής και τραχήλου, η οποία προκλήθηκε μετά από ενεργοποίηση του EGFR σε στοματικούς ινοβλάστες κατά την καλλιέργειά τους με ET-1.[421]

Ακολούθως, εκτός από το κυτταρικό/ιστικό επίπεδο, η έκφραση της ET-1 μελετήθηκε και στον ορό των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου. Όπως αναφέρεται και κατά την περιγραφή των πειραμάτων, η ET-1 ορού μετρήθηκε προεγχειρητικά σε περιφερικό αίμα, διεγχειρητικά σε δείγμα από μεσεντέριο κλάδο απαγωγό του όγκου και μετεγχειρητικά σε περιφερικό αίμα. Αξιοσημείωτο εύρημα, που πρώτη φορά καταγράφεται, ήταν η συσχέτιση των τιμών της ET-1 στη μεσεντέρια κυκλοφορία με αυτές του περιφερικού αίματος προεγχειρητικά. Ακόμη πιο υποσχόμενο είναι όμως αυτό της μείωσης σε βαθμό στατιστικά σημαντικό των τιμών της ET-1 στο περιφερικό αίμα μετά την αφαίρεση του όγκου σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές προεγχειρητικά. Αυξημένα επίπεδα ενδοθηλίνης στο περιφερικό αίμα ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου, μεταστατικό και μη, έχουν καταγραφεί σε σειρά μελετών.[422, 423] Επίσης, έχει γίνει προσπάθεια συσχέτισης αυτών των αυξημένων τιμών ET-1 με την πρόγνωση των ασθενών.[424, 425] Τα αποτελέσματα ωστόσο αυτών των μελετών πρόγνωσης είναι αντικρουόμενα με άλλες να συσχετίζουν τις αυξημένες τιμές της ET-1 με κακή πρόγνωση και άλλες να μην ανευρίσκουν καμία συσχέτιση. Μεγαλύτερες μελέτες είναι απαραίτητες για να αποσαφηνίσουν τα παραπάνω ευρήματα και ή δυνατόν να τα επεκτείνουν σε κλινικό επίπεδο.

Τέλος, στα πλαίσια μιας αδρής μελέτης της ενδεχόμενης σημασίας της ET-1 στην

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

καρκινική νεοαγγείωση, παράλληλα με τη μέτρηση της ET-1 στα 3 προαναφερθέντα δείγματα ορού των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου, μετρήθηκε και ο VEGF. Ωστόσο, αντίθετα από την ET-1, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλλαγή των τιμών του VEGF στο περιφερικό αίμα μετά την αφαίρεση της πρωτοπαθούς εστίας. Το εύρημα αυτό, αν και ενδεικτικό μη άμεσης σχέσης των τιμών του VEGF στην περιφερική κυκλοφορία με αυτές της ET-1, δεν μπορεί να επεκταθεί περαιτέρω λόγω του μικρού αριθμού των δειγμάτων που μελετήθηκαν.

Το αποτέλεσμα της μελέτης έκφρασης της ET-1 στα δείγματα καρκίνου του παχέος εντέρου της παρούσας εργασίας, δηλαδή η ανεύρεση ισχυρής έκφρασης της ET-1 σε όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν αλλά και της στατιστικά σημαντικής συσχέτισης της παρουσίας της ET-1 και του υποδοχέα της Α στα εν τω βάθει όρια των όγκων προχωρημένου σταδίου, συσχετίσθηκε με τις τιμές DPI και δεν αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των τιμών DPI και της έκφρασης της ET-1. (Fisher's exact test, p=0,9)

Τέλος, η έκφραση της ET-1 αναλύθηκε σε σχέση με τη συνολική και την ελεύθερη νόσου επιβίωση των ασθενών, για τους οποίους υπήρξε δυνατή η 5ετής μετεγχειρητική παρακολούθηση. Δεν καταδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της έκφρασης της ET-1 και του ETAR με την 5-ετή επιβίωση των ασθενών. Όσον αφορά στη συσχέτιση της ET-1 με την επιβίωση ασθενών (συνολική και ελεύθερη νόσου) με καρκίνο παχέος εντέρου, δεν έχουν μέχρι στιγμής καταγραφεί αποτελέσματα.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, όσον αφορά στη σχέση των δύο παραμέτρων της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου που μελετήθηκαν, δηλαδή του DPI και της ET-1, δεν είναι δυνατό να επεκταθούν σε γενικότερα συμπεράσματα. Είναι πιθανό, οι αλλαγές που παρατηρούνται στην αγγείωση του ήπατος και αποτυπώνονται ως αύξηση του DPI σε περιπτώσεις ηπατικής συμμετοχής να μην οφείλονται σε επίδραση του πρωτοπαθούς όγκου, μέσω της παραγωγής και έκκρισης κάποιου μορίου όπως ενδέχεται το μόριο αυτό να μην είναι η Ενδοθηλίνη-1. Προς αυτή την κατεύθυνση συνηγορεί εύρημα μελέτης των Leen et. al., οι οποίοι σε 14 ασθενείς με μη μεταστατικό καρκίνο παχέος εντέρου μέτρησαν το DPI προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά και δεν κατέγραψαν σημαντικές μεταβολές μεταξύ των 2 ομάδων τιμών πριν και μετά την αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου στο έντερο (οι φυσιολογικές παρέμειναν αμετάβλητες ενώ οι παθολογικές παρουσίασαν μικρή πτώση αλλά παρέμειναν πάνω από το φυσιολογικό).[426] Κατέληξαν λοιπόν στο συμπέρασμα ότι δεν φαίνεται η πρωτοπαθής βλάβη αυτή καθαυτή να ευθύνεται για τις όποιες αλλαγές στην άρδευση του ήπατος.

Ενδέχεται επίσης, οι οποιεσδήποτε διαφορές είναι δυνατό να υπάρχουν να είναι μικρές, οπότε και ο απαιτούμενος αριθμός δειγμάτων ώστε αυτές να μπορούν να αποδειχθούν με τη στατιστική ανάλυση, να είναι μεγαλύτερος από τα δείγματα που μελετήθηκαν στην παρούσα πειραματική εργασία.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## ΣΤ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Στην παρούσα μελέτη μετρήθηκε προεγχειρητικά ο δείκτης αγγείωσης του ήπατος DPI σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου χωρίς εικόνα, κλινική και απεικονιστική, μεταστάσεων στο ήπαρ. Τιμές > 0.3 θεωρήθηκαν παθολογικές με βάση προηγηθείσες μελέτες. Οι τιμές του ανωτέρω δείκτη στην υπό μελέτη σειρά ασθενών κυμάνθηκαν από 0,1 έως 0,77, με μέση τιμή 0,26 $\pm$0,209 sd. Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση φυσιολογικών και μη τιμών DPI και σταδίου νόσου. Παρόμοια, δεν καταδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση τιμών DPI και grade όγκων.
2. Μετά τη θεραπευτική εκτομή της πρωτοπαθούς εστίας, σε τομές παραφίνης, μονιμοποιημένες με φορμαλίνη, από καρκινικό και φυσιολογικό ιστό παχέος εντέρου και από τους 39 υπό μελέτη ασθενείς πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημική μελέτη της έκφρασης του ισχυρού αγγειοσυσπαστικού και μιτογενετικού πεπτιδίου Ενδοθηλίνη -1 (ET-1) και των υποδοχέων της $ET_AR$ και $ET_BR$. Παρατηρήθηκε έκφραση της ET-1 και του $ET_AR$ και όλα τα εξετασθέντα δείγματα καρκινικού ιστού, ενώ η έκφραση αυτή ήταν μηδαμινή στο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο. Αντίθετα, η έκφραση του $ET_BR$ ήταν μηδαμινή στον καρκινικό ιστό. Αξιοσημείωτο ωστόσο εύρημα ήταν η διαφοροποίηση της έκφρασης της ET-1 και του $ET_AR$ ανάλογα με το επίπεδο του όγκου: στα επιφανειακά στρώματα ήταν ασθενής ενώ στα βαθύτερα στρώματα και μάλιστα στα περιφερικότερα σημεία, όπου σημειωνόταν και η διήθηση, ήταν ισχυρή σε 26 από τα μελετηθέντα δείγματα καρκίνου (70,3 %). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($X^2$, p=0,031) της έντονης έκφρασης της ET-1 και του $ET_AR$ με αυξημένο στάδιο της νόσου κατά Dukes. Η συσχέτιση γίνεται ισχυρότερη ($X^2$, p= 0,027) εάν η ανάλυση γίνει με ομαδοποίηση των σταδίων σε πρώιμα (A και B1) και προχωρημένα (B2, C,D) κατά Astler- Coller.
3. Ημιποσοτική μέτρηση της ET-1 και των υποδοχέων της σε ζεύγη δειγμάτων νωπού νεοπλασματικού / φυσιολογικού εντερικού ιστού και σε καρκινικές κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου (HT-29, HT-116, COLON 205, και SW-48), έδειξε σαφώς αυξημένα επίπεδα ET-1 αλλά και $ET_AR$, ενώ τα επίπεδα του $ET_BR$ ήταν εξαιρετικά χαμηλά ή και μη ανιχνεύσιμα.
4. Μέτρηση των επιπέδων ET-1 στη μεσεντέρια και περιφερική κυκλοφορία πριν την εκτομή του όγκου και στην περιφερική κυκλοφορία μετεγχειρητικά, κατέδειξε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της ET-1 μετά την εκτομή του όγκου σε σύγκριση τόσο με τη μεσεντέρια κυκλοφορία (p-value= 0,03), όσο και με την περιφερική κυκλοφορία πριν την αφαίρεση του όγκου (p-value= 0,01).
5. Μέτρηση των επιπέδων του VEGF στη μεσεντέρια και περιφερική κυκλοφορία πριν την εκτομή του όγκου και στην περιφερική κυκλοφορία μετεγχειρητικά, δεν κατέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά των επιπέδων του VEGF μετά την εκτομή του όγκου.
6. Στατιστική ανάλυση των τιμών DPI και της έκφρασης της ET-1 στα δείγματα που εξετάσθηκαν δεν κατέδειξε συσχέτιση των δύο αυτών παραμέτρων. Το εύρημα αυτό είναι ενδεικτικό της μη ύπαρξης σαφούς ρόλου της ET-1 στην πρόκληση αλλαγών στην αγγείωση του ήπατος. Μεγαλύτερες ωστόσο σειρές ασθενών είναι απαραίτητο να μελετηθούν προκειμένου το συγκεκριμένο εύρημα να θεωρηθεί δεδομένο.
7. Τέλος, στατιστική ανάλυση τόσο του DPI όσο και της έκφρασης της ET-1 με τη συνολική και την ελεύθερη νόσου επιβίωση των ασθενών δεν κατέδειξε σημαντική συσχέτιση.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ


1. LH Sobin CW: UICC Classification of Malignant Tumors. Edited by New York, Wiley, 2002, p.
2. H. L: Ueber polypose Vegetationen der gesammten Dickdarmschleimhaut, Arch Pathol Anat Physiol Klin Med 1861, 133-142
3. P L-M: Cancer and heredity, Lancet 1925, 427-429
4. Dushinsky R PE: The synthesis of 5-fluoropyrimidines, J Am Chem Soc 1957, 4559-4560.
5. Shirasaka T: Development history and concept of an oral anticancer agent S-1 (TS-1): its clinical usefulness and future vistas, Jpn J Clin Oncol 2009, 39:2-15
6. Barry Feig DB, George Fuhrman: The M.D. Anderson Surgical Oncology Handbook. Edited by Houston, Lippicott Williams & Wilkins, 2006, p.
7. Meza R, Jeon J, Renehan AG, Luebeck EG: Colorectal cancer incidence trends in the United States and United kingdom: evidence of right- to left-sided biological gradients with implications for screening, Cancer Res 2010, 70:5419-5429
8. Lopez-Abente G, Ardanaz E, Torrella-Ramos A, Mateos A, Delgado-Sanz C, Chirlaque MD: Changes in colorectal cancer incidence and mortality trends in Spain, Ann Oncol 2010, 21 Suppl 3:iii76-82
9. ACS: Global Cancer Facts & Figures Edited by Atlanta, American Cancer Society., 2011, p.
10. ACS: American Cancer Society Website Cancer Facts and Figures. Edited by p.
11. Fenoglio L, Castagna E, Comino A, Luchino C, Senore C, Migliore E, Capucci F, Panzone S, Silvestri A, Ghezzo L, Ferrigno D: A shift from distal to proximal neoplasia in the colon: a decade of polyps and CRC in Italy, BMC Gastroenterol 2010, 10:139
12. Park SY, Kim BC, Shin SJ, Lee SK, Kim TI, Kim WH: Proximal shift in the distribution of adenomatous polyps in Korea over the past ten years, Hepatogastroenterology 2009, 56:677-681
13. Cheng L, Eng C, Nieman LZ, Kapadia AS, Du XL: Trends in colorectal cancer incidence by anatomic site and disease stage in the United States from 1976 to 2005, Am J Clin Oncol 2011, 34:573-580
14. Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E: Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008, Eur J Cancer 2010, 46:765-781
15. ACS: Colorectal Cancer Facts & Figures 2008-2010. Edited by Atlanta, American cancer society, 2010, p.
16. Merrill RM, Anderson AE: Risk-adjusted colon and rectal cancer incidence rates in the United States, Dis Colon Rectum 2011, 54:1301-1306
17. Promthet SS, Pientong C, Ekalaksananan T, Wiangnon S, Poomphakwaen K, Songserm N, Chopjitt P, Moore MA, Tokudome S: Risk factors for colon cancer in Northeastern Thailand: interaction of MTHFR codon 677 and 1298 genotypes with environmental factors, J Epidemiol 2010, 20:329-338
18. Doherty G.H. WL: CURRENT Surgical Diagnosis & Treatment Edited by USA, Mc Graw-Hill, 2006, p.
19. Westlake S: Cancer incidence and mortality in the United Kingdom and constituent countries, 2003-05, Health Stat Q 2008, 91-97
20. Mistry M, Parkin DM, Ahmad AS, Sasieni P: Cancer incidence in the United Kingdom: projections to the year 2030, Br J Cancer 2011, 105:1795-1803
21. O'Leary KE, Cruess DG, Pleau D, Swede H, Anderson J, Rosenberg D: Sex differences in associations between psychosocial factors and aberrant crypt


Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

foci among patients at risk for colon cancer, Gend Med 2011, 8:165-171
22. Loeve F, Boer R, Zauber AG, Van Ballegooijen M, Van Oortmarssen GJ, Winawer SJ, Habbema JD: National Polyp Study data: evidence for regression of adenomas, Int J Cancer 2004, 111:633-639
23. Haggitt RC, Glotzbach RE, Soffer EE, Wruble LD: Prognostic factors in colorectal carcinomas arising in adenomas: implications for lesions removed by endoscopic polypectomy, Gastroenterology 1985, 89:328-336
24. Kikuchi R, Takano M, Takagi K, Fujimoto N, Nozaki R, Fujiyoshi T, Uchida Y: Management of early invasive colorectal cancer. Risk of recurrence and clinical guidelines, Dis Colon Rectum 1995, 38:1286-1295
25. Nascimbeni R, Burgart LJ, Nivatvongs S, Larson DR: Risk of lymph node metastasis in T1 carcinoma of the colon and rectum, Dis Colon Rectum 2002, 45:200-206
26. Sellar CM, Courneya KS: Physical activity and gastrointestinal cancer survivorship, Recent Results Cancer Res 2011, 186:237-253
27. Han Y, Haraguchi T, Iwanaga S, Tomotake H, Okazaki Y, Mineo S, Moriyama A, Inoue J, Kato N: Consumption of some polyphenols reduces fecal deoxycholic acid and lithocholic acid, the secondary bile acids of risk factors of colon cancer, J Agric Food Chem 2009, 57:8587-8590
28. Rafter J, Bennett M, Caderni G, Clune Y, Hughes R, Karlsson PC, Klinder A, O'Riordan M, O'Sullivan GC, Pool-Zobel B, Rechkemmer G, Roller M, Rowland I, Salvadori M, Thijs H, Van Loo J, Watzl B, Collins JK: Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients, Am J Clin Nutr 2007, 85:488-496
29. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, van den Brandt PA, Colditz GA, Folsom AR, Freudenheim JL, Giovannucci E, Goldbohm RA, Graham S, Holmberg L, Kim DH, Malila N, Miller AB, Pietinen P, Rohan TE, Sellers TA, Speizer FE, Willett WC, Wolk A, Hunter DJ: Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies, Ann Intern Med 2004, 140:603-613
30. Ferrari P, Jenab M, Norat T, Moskal A, Slimani N, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Jensen MK, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Rohrmann S, Linseisen J, Boeing H, Bergmann M, Kontopoulou D, Trichopoulou A, Kassapa C, Masala G, Krogh V, Vineis P, Panico S, Tumino R, van Gils CH, Peeters P, Bueno-de-Mesquita HB, Ocke MC, Skeie G, Lund E, Agudo A, Ardanaz E, Lopez DC, Sanchez MJ, Quiros JR, Amiano P, Berglund G, Manjer J, Palmqvist R, Van Guelpen B, Allen N, Key T, Bingham S, Mazuir M, Boffetta P, Kaaks R, Riboli E: Lifetime and baseline alcohol intake and risk of colon and rectal cancers in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC), Int J Cancer 2007, 121:2065-2072
31. Poynter JN, Haile RW, Siegmund KD, Campbell PT, Figueiredo JC, Limburg P, Young J, Le Marchand L, Potter JD, Cotterchio M, Casey G, Hopper JL, Jenkins MA, Thibodeau SN, Newcomb PA, Baron JA: Associations between smoking, alcohol consumption, and colorectal cancer, overall and by tumor microsatellite instability status, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2009, 18:2745-2750
32. van Duijnhoven FJ, Bueno-De-Mesquita HB, Ferrari P, Jenab M, Boshuizen HC, Ros MM, Casagrande C, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Thorlacius-Ussing O, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Kaaks R, Linseisen J, Boeing H, Nothlings U, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Misirli G, Palli D, Sieri S, Panico S, Tumino R, Vineis P, Peeters PH, van Gils CH, Ocke MC, Lund E, Engeset D, Skeie G, Suarez LR, Gonzalez CA, Sanchez MJ,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Dorronsoro M, Navarro C, Barricarte A, Berglund G, Manjer J, Hallmans G, Palmqvist R, Bingham SA, Khaw KT, Key TJ, Allen NE, Boffetta P, Slimani N, Rinaldi S, Gallo V, Norat T, Riboli E: Fruit, vegetables, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, Am J Clin Nutr 2009, 89:1441-1452

33. Baron JA, Beach M, Mandel JS, van Stolk RU, Haile RW, Sandler RS, Rothstein R, Summers RW, Snover DC, Beck GJ, Bond JH, Greenberg ER: Calcium supplements for the prevention of colorectal adenomas. Calcium Polyp Prevention Study Group, N Engl J Med 1999, 340:101-107

34. Baron JA, Beach M, Mandel JS, van Stolk RU, Haile RW, Sandler RS, Rothstein R, Summers RW, Snover DC, Beck GJ, Frankl H, Pearson L, Bond JH, Greenberg ER: Calcium supplements and colorectal adenomas. Polyp Prevention Study Group, Ann N Y Acad Sci 1999, 889:138-145

35. Cho E, Smith-Warner SA, Spiegelman D, Beeson WL, van den Brandt PA, Colditz GA, Folsom AR, Fraser GE, Freudenheim JL, Giovannucci E, Goldbohm RA, Graham S, Miller AB, Pietinen P, Potter JD, Rohan TE, Terry P, Toniolo P, Virtanen MJ, Willett WC, Wolk A, Wu K, Yaun SS, Zeleniuch-Jacquotte A, Hunter DJ: Dairy foods, calcium, and colorectal cancer: a pooled analysis of 10 cohort studies, J Natl Cancer Inst 2004, 96:1015-1022

36. Park SY, Murphy SP, Wilkens LR, Nomura AM, Henderson BE, Kolonel LN: Calcium and vitamin D intake and risk of colorectal cancer: the Multiethnic Cohort Study, Am J Epidemiol 2007, 165:784-793

37. Forman MR, Levin B: Calcium plus vitamin D3 supplementation and colorectal cancer in women, N Engl J Med 2006, 354:752-754

38. Luebeck EG, Moolgavkar SH, Liu AY, Boynton A, Ulrich CM: Does folic acid supplementation prevent or promote colorectal cancer? Results from model-based predictions, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008, 17:1360-1367

39. Garcia Rodriguez LA, Huerta-Alvarez C: Reduced incidence of colorectal adenoma among long-term users of nonsteroidal antiinflammatory drugs: a pooled analysis of published studies and a new population-based study, Epidemiology 2000, 11:376-381

40. Asano TK, McLeod RS: Non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and Aspirin for preventing colorectal adenomas and carcinomas, Cochrane Database Syst Rev 2004, CD004079

41. Flossmann E, Rothwell PM: Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies, Lancet 2007, 369:1603-1613

42. Grodstein F, Newcomb PA, Stampfer MJ: Postmenopausal hormone therapy and the risk of colorectal cancer: a review and meta-analysis, Am J Med 1999, 106:574-582

43. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial, JAMA 2002, 288:321-333

44. Chan JA, Meyerhardt JA, Chan AT, Giovannucci EL, Colditz GA, Fuchs CS: Hormone replacement therapy and survival after colorectal cancer diagnosis, J Clin Oncol 2006, 24:5680-5686

45. Xie J, Itzkowitz SH: Cancer in inflammatory bowel disease, World J Gastroenterol 2008, 14:378-389

46. Jawad N, Direkze N, Leedham SJ: Inflammatory bowel disease and colon cancer, Recent Results Cancer Res 2011, 185:99-115

47. Viennot S, Deleporte A, Moussata D, Nancey S, Flourie B, Reimund JM: Colon cancer in inflammatory bowel disease: recent trends, questions and

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

answers, Gastroenterol Clin Biol 2009, 33 Suppl 3:S190-201
48. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF: The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis, Gut 2001, 48:526-535
49. Giouleme O, Diamantidis MD, Katsaros MG: Is diabetes a causal agent for colorectal cancer? Pathophysiological and molecular mechanisms, World J Gastroenterol 2011, 17:444-448
50. Fauci B: Harrison's PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE Edited by USA, The McGraw-Hill Companies., 2008, p.
51. Huang YC, Lin JK, Chen WS, Lin TC, Yang SH, Jiang JK, Chang SC, Lan YT, Wang HS, Liu CY, Yang YW, Teng HW: Diabetes mellitus negatively impacts survival of patients with colon cancer, particularly in stage II disease, J Cancer Res Clin Oncol 2011, 137:211-220
52. Yuhara H, Steinmaus C, Cohen SE, Corley DA, Tei Y, Buffler PA: Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer?, Am J Gastroenterol 2011, 106:1911-1921; quiz 1922
53. Lee MY, Lin KD, Hsiao PJ, Shin SJ: The association of diabetes mellitus with liver, colon, lung, and prostate cancer is independent of hypertension, hyperlipidemia, and gout in Taiwanese patients, Metabolism 2012, 61:242-249
54. Larsson SC, Wolk A: Obesity and colon and rectal cancer risk: a meta-analysis of prospective studies, Am J Clin Nutr 2007, 86:556-565
55. Moghaddam AA, Woodward M, Huxley R: Obesity and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of 31 studies with 70,000 events, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007, 16:2533-2547
56. Samad AK, Taylor RS, Marshall T, Chapman MA: A meta-analysis of the association of physical activity with reduced risk of colorectal cancer, Colorectal Dis 2005, 7:204-213
57. Harriss DJ, Atkinson G, Batterham A, George K, Cable NT, Reilly T, Haboubi N, Renehan AG: Lifestyle factors and colorectal cancer risk (2): a systematic review and meta-analysis of associations with leisure-time physical activity, Colorectal Dis 2009, 11:689-701
58. Boleij A, Schaeps RM, Tjalsma H: Association between Streptococcus bovis and colon cancer, J Clin Microbiol 2009, 47:516
59. Forsyth CB, Tang Y, Shaikh M, Zhang L, Keshavarzian A: Alcohol stimulates activation of Snail, epidermal growth factor receptor signaling, and biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in colon and breast cancer cells, Alcohol Clin Exp Res 2010, 34:19-31
60. Schernhammer ES, Leitzmann MF, Michaud DS, Speizer FE, Giovannucci E, Colditz GA, Fuchs CS: Cholecystectomy and the risk for developing colorectal cancer and distal colorectal adenomas, Br J Cancer 2003, 88:79-83
61. Jenkins PJ, Besser M: Clinical perspective: acromegaly and cancer: a problem, J Clin Endocrinol Metab 2001, 86:2935-2941
62. Rokkas T, Pistiolas D, Sechopoulos P, Margantinis G, Koukoulis G: Risk of colorectal neoplasm in patients with acromegaly: a meta-analysis, World J Gastroenterol 2008, 14:3484-3489
63. Swerdlow AJ, Higgins CD, Adlard P, Preece MA: Risk of cancer in patients treated with human pituitary growth hormone in the UK, 1959-85: a cohort study, Lancet 2002, 360:273-277
64. Migliore L, Migheli F, Spisni R, Coppede F: Genetics, cytogenetics, and epigenetics of colorectal cancer, J Biomed Biotechnol 2011, 2011:792362
65. Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, Starling N: Colorectal cancer, Lancet 2010, 375:1030-1047
66. Lynch HT, de la Chapelle A: Hereditary colorectal cancer, N Engl J Med 2003, 348:919-932

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

67. Iwama T, Ishida H: [Hereditary colorectal cancer; familial adenomatous polyposis, MUTYH associated polyposis and Lynch syndrome], Nihon Rinsho 2011, 69 Suppl 3:59-64
68. Beck NE, Tomlinson IP, Homfray TF, Frayling IM, Hodgson SV, Bodmer WF: Frequency of germline hereditary non-polyposis colorectal cancer gene mutations in patients with multiple or early onset colorectal adenomas, Gut 1997, 41:235-238
69. Niessen RC, Berends MJ, Wu Y, Sijmons RH, Hollema H, Ligtenberg MJ, de Walle HE, de Vries EG, Karrenbeld A, Buys CH, van der Zee AG, Hofstra RM, Kleibeuker JH: Identification of mismatch repair gene mutations in young patients with colorectal cancer and in patients with multiple tumours associated with hereditary non-polyposis colorectal cancer, Gut 2006, 55:1781-1788
70. Minde DP, Anvarian Z, Rudiger SG, Maurice MM: Messing up disorder: how do missense mutations in the tumor suppressor protein APC lead to cancer?, Mol Cancer 2011, 10:101
71. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW: Hereditary and familial colon cancer, Gastroenterology 2010, 138:2044-2058
72. Half E, Bercovich D, Rozen P: Familial adenomatous polyposis, Orphanet J Rare Dis 2009, 4:22
73. Nieuwenhuis MH, Vasen HF: Correlations between mutation site in APC and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): a review of the literature, Crit Rev Oncol Hematol 2007, 61:153-161
74. Sampson JR, Jones N: MUTYH-associated polyposis, Best Pract Res Clin Gastroenterol 2009, 23:209-218
75. Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, Livingston AL, Williams GT, Hodges AK, Davies DR, David SS, Sampson JR, Cheadle JP: Inherited variants of MYH associated with somatic G:C-->T:A mutations in colorectal tumors, Nat Genet 2002, 30:227-232
76. Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ, Snyder CL, Lynch JF, Boland CR: Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications, Clin Genet 2009, 76:1-18
77. Lynch HT, Lynch JF, Attard TA: Diagnosis and management of hereditary colorectal cancer syndromes: Lynch syndrome as a model, CMAJ 2009, 181:273-280
78. Lynch HT, Shaw TG: Commentary: The shifting role of family history in Lynch syndrome diagnosis, Colorectal Dis 2009, 11:461-463
79. Sarroca C, Peltomaki P, Alfano N, Tedesco G, Della Valle A, Dominguez A, Lynch HT: Three new mutations in hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome II) in Uruguay, Cancer Genet Cytogenet 2003, 142:13-20
80. Lynch HT, Cristofaro G, Rozen P, Vasen H, Lynch P, Mecklin JP, St John J: History of the International Collaborative Group on Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer, Fam Cancer 2003, 2:3-5
81. Jenne DE, Reimann H, Nezu J, Friedel W, Loff S, Jeschke R, Muller O, Back W, Zimmer M: Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase, Nat Genet 1998, 18:38-43
82. Calva D, Howe JR: Hamartomatous polyposis syndromes, Surg Clin North Am 2008, 88:779-817, vii
83. Brosens LA, van Hattem A, Hylind LM, Iacobuzio-Donahue C, Romans KE, Axilbund J, Cruz-Correa M, Tersmette AC, Offerhaus GJ, Giardiello FM: Risk of colorectal cancer in juvenile polyposis, Gut 2007, 56:965-967
84. Jass JR, Iino H, Ruszkiewicz A, Painter D, Solomon MJ, Koorey DJ, Cohn D, Furlong KL, Walsh MD, Palazzo J, Edmonston TB, Fishel R, Young J, Leggett BA: Neoplastic progression occurs through mutator pathways in hyperplastic polyposis of the colorectum, Gut 2000, 47:43-49

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

85. Rubio CA, Stemme S, Jaramillo E, Lindblom A: Hyperplastic polyposis coli syndrome and colorectal carcinoma, Endoscopy 2006, 38:266-270
86. Mukherjee A, McGarrity TJ, Ruggiero F, Koltun W, McKenna K, Poritz L, Baker MJ: The revised Bethesda guidelines: extent of utilization in a university hospital medical center with a cancer genetics program, Hered Cancer Clin Pract 2010, 8:9
87. Lipton LR, Johnson V, Cummings C, Fisher S, Risby P, Eftekhar Sadat AT, Cranston T, Izatt L, Sasieni P, Hodgson SV, Thomas HJ, Tomlinson IP: Refining the Amsterdam Criteria and Bethesda Guidelines: testing algorithms for the prediction of mismatch repair mutation status in the familial cancer clinic, J Clin Oncol 2004, 22:4934-4943
88. Macrae F, Harris M: Re: Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability, J Natl Cancer Inst 2005, 97:936-937; author reply 937-938
89. Urso E, Pucciarelli S, Agostini M, Maretto I, Mescoli C, Bertorelle R, Viel A, Rugge M, Nitti D: Proximal colon cancer in patients aged 51-60 years of age should be tested for microsatellites instability. A comment on the Revised Bethesda Guidelines, Int J Colorectal Dis 2008, 23:801-806
90. Kalady MF, McGannon E, Vogel JD, Manilich E, Fazio VW, Church JM: Risk of colorectal adenoma and carcinoma after colectomy for colorectal cancer in patients meeting Amsterdam criteria, Ann Surg 2010, 252:507-511; discussion 511-503
91. Francisco I, Albuquerque C, Lage P, Belo H, Vitoriano I, Filipe B, Claro I, Ferreira S, Rodrigues P, Chaves P, Leitao CN, Pereira AD: Familial colorectal cancer type X syndrome: two distinct molecular entities?, Fam Cancer 2011, 10:623-631
92. Rybak C, Hall MJ: Interpretation of genetic testing for lynch syndrome in patients with putative familial colorectal cancer, J Natl Compr Canc Netw 2011, 9:1311-1320
93. Bazan V, Agnese V, Corsale S, Calo V, Valerio MR, Latteri MA, Vieni S, Grassi N, Cicero G, Dardanoni G, Tomasino RM, Colucci G, Gebbia N, Russo A: Specific TP53 and/or Ki-ras mutations as independent predictors of clinical outcome in sporadic colorectal adenocarcinomas: results of a 5-year Gruppo Oncologico dell'Italia Meridionale (GOIM) prospective study, Ann Oncol 2005, 16 Suppl 4:iv50-55
94. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates J, Dix BR, Iacopetta BJ, Young J, Walsh T, Ward R, Hawkins N, Beranek M, Jandik P, Benamouzig R, Jullian E, Laurent-Puig P, Olschwang S, Muller O, Hoffmann I, Rabes HM, Zietz C, Troungos C, Valavanis C, Yuen ST, Ho JW, Croke CT, O'Donoghue DP, Giaretti W, Rapallo A, Russo A, Bazan V, Tanaka M, Omura K, Azuma T, Ohkusa T, Fujimori T, Ono Y, Pauly M, Faber C, Glaesener R, de Goeij AF, Arends JW, Andersen SN, Lovig T, Breivik J, Gaudernack G, Clausen OP, De Angelis PD, Meling GI, Rognum TO, Smith R, Goh HS, Font A, Rosell R, Sun XF, Zhang H, Benhattar J, Losi L, Lee JQ, Wang ST, Clarke PA, Bell S, Quirke P, Bubb VJ, Piris J, Cruickshank NR, Morton D, Fox JC, Al-Mulla F, Lees N, Hall CN, Snary D, Wilkinson K, Dillon D, Costa J, Pricolo VE, Finkelstein SD, Thebo JS, Senagore AJ, Halter SA, Wadler S, Malik S, Krtolica K, Urosevic N: Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study, Br J Cancer 2001, 85:692-696
95. Russo A, Bazan V, Iacopetta B, Kerr D, Soussi T, Gebbia N: The TP53 colorectal cancer international collaborative study on the prognostic and predictive significance of p53 mutation: influence of tumor site, type of mutation, and adjuvant treatment, J Clin Oncol 2005, 23:7518-7528

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

96. Iacopetta B, Russo A, Bazan V, Dardanoni G, Gebbia N, Soussi T, Kerr D, Elsaleh H, Soong R, Kandioler D, Janschek E, Kappel S, Lung M, Leung CS, Ko JM, Yuen S, Ho J, Leung SY, Crapez E, Duffour J, Ychou M, Leahy DT, O'Donoghue DP, Agnese V, Cascio S, Di Fede G, Chieco-Bianchi L, Bertorelle R, Belluco C, Giaretti W, Castagnola P, Ricevuto E, Ficorella C, Bosari S, Arizzi CD, Miyaki M, Onda M, Kampman E, Diergaarde B, Royds J, Lothe RA, Diep CB, Meling GI, Ostrowski J, Trzeciak L, Guzinska-Ustymowicz K, Zalewski B, Capella GM, Moreno V, Peinado MA, Lonnroth C, Lundholm K, Sun XF, Jansson A, Bouzourene H, Hsieh LL, Tang R, Smith DR, Allen-Mersh TG, Khan ZA, Shorthouse AJ, Silverman ML, Kato S, Ishioka C: Functional categories of TP53 mutation in colorectal cancer: results of an International Collaborative Study, Ann Oncol 2006, 17:842-847

97. Gao Y, Cao Y, Tan A, Liao C, Mo Z, Gao F: Glutathione S-transferase M1 polymorphism and sporadic colorectal cancer risk: An updating meta-analysis and HuGE review of 36 case-control studies, Ann Epidemiol 2010, 20:108-121

98. Zhu W, Wei BB, Shan X, Liu P: -765G>C and 8473T>C polymorphisms of COX-2 and cancer risk: a meta-analysis based on 33 case-control studies, Mol Biol Rep 2010, 37:277-288

99. Reeves SG, Rich D, Meldrum CJ, Colyvas K, Kurzawski G, Suchy J, Lubinski J, Scott RJ: IGF1 is a modifier of disease risk in hereditary non-polyposis colorectal cancer, Int J Cancer 2008, 123:1339-1343

100. Lascorz J, Forsti A, Chen B, Buch S, Steinke V, Rahner N, Holinski-Feder E, Morak M, Schackert HK, Gorgens H, Schulmann K, Goecke T, Kloor M, Engel C, Buttner R, Kunkel N, Weires M, Hoffmeister M, Pardini B, Naccarati A, Vodickova L, Novotny J, Schreiber S, Krawczak M, Broring CD, Volzke H, Schafmayer C, Vodicka P, Chang-Claude J, Brenner H, Burwinkel B, Propping P, Hampe J, Hemminki K: Genome-wide association study for colorectal cancer identifies risk polymorphisms in German familial cases and implicates MAPK signalling pathways in disease susceptibility, Carcinogenesis 2010, 31:1612-1619

101. Tenesa A, Farrington SM, Prendergast JG, Porteous ME, Walker M, Haq N, Barnetson RA, Theodoratou E, Cetnarskyj R, Cartwright N, Semple C, Clark AJ, Reid FJ, Smith LA, Kavoussanakis K, Koessler T, Pharoah PD, Buch S, Schafmayer C, Tepel J, Schreiber S, Volzke H, Schmidt CO, Hampe J, Chang-Claude J, Hoffmeister M, Brenner H, Wilkening S, Canzian F, Capella G, Moreno V, Deary IJ, Starr JM, Tomlinson IP, Kemp Z, Howarth K, Carvajal-Carmona L, Webb E, Broderick P, Vijayakrishnan J, Houlston RS, Rennert G, Ballinger D, Rozek L, Gruber SB, Matsuda K, Kidokoro T, Nakamura Y, Zanke BW, Greenwood CM, Rangrej J, Kustra R, Montpetit A, Hudson TJ, Gallinger S, Campbell H, Dunlop MG: Genome-wide association scan identifies a colorectal cancer susceptibility locus on 11q23 and replicates risk loci at 8q24 and 18q21, Nat Genet 2008, 40:631-637

102. Houlston RS, Webb E, Broderick P, Pittman AM, Di Bernardo MC, Lubbe S, Chandler I, Vijayakrishnan J, Sullivan K, Penegar S, Carvajal-Carmona L, Howarth K, Jaeger E, Spain SL, Walther A, Barclay E, Martin L, Gorman M, Domingo E, Teixeira AS, Kerr D, Cazier JB, Niittymaki I, Tuupanen S, Karhu A, Aaltonen LA, Tomlinson IP, Farrington SM, Tenesa A, Prendergast JG, Barnetson RA, Cetnarskyj R, Porteous ME, Pharoah PD, Koessler T, Hampe J, Buch S, Schafmayer C, Tepel J, Schreiber S, Volzke H, Chang-Claude J, Hoffmeister M, Brenner H, Zanke BW, Montpetit A, Hudson TJ, Gallinger S, Campbell H, Dunlop MG: Meta-analysis of genome-wide association data identifies four new susceptibility loci for

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

colorectal cancer, Nat Genet 2008, 40:1426-1435
103. Muleris M, Chalastanis A, Meyer N, Lae M, Dutrillaux B, Sastre-Garau X, Hamelin R, Flejou JF, Duval A: Chromosomal instability in near-diploid colorectal cancer: a link between numbers and structure, PLoS One 2008, 3:e1632
104. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B: Genetic instability in colorectal cancers, Nature 1997, 386:623-627
105. Dutrillaux B: [Recent data on the cytogenetics of colorectal adenocarcinoma], Bull Cancer 1988, 75:509-516
106. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, Kern SE, Simons JW, Ruppert JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Thomas G, Kinzler KW, et al.: Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers, Science 1990, 247:49-56
107. Korn WM, Yasutake T, Kuo WL, Warren RS, Collins C, Tomita M, Gray J, Waldman FM: Chromosome arm 20q gains and other genomic alterations in colorectal cancer metastatic to liver, as analyzed by comparative genomic hybridization and fluorescence in situ hybridization, Genes Chromosomes Cancer 1999, 25:82-90
108. De Angelis PM, Clausen OP, Schjolberg A, Stokke T: Chromosomal gains and losses in primary colorectal carcinomas detected by CGH and their associations with tumour DNA ploidy, genotypes and phenotypes, Br J Cancer 1999, 80:526-535
109. Hermsen M, Postma C, Baak J, Weiss M, Rapallo A, Sciutto A, Roemen G, Arends JW, Williams R, Giaretti W, De Goeij A, Meijer G: Colorectal adenoma to carcinoma progression follows multiple pathways of chromosomal instability, Gastroenterology 2002, 123:1109-1119
110. Diep CB, Kleivi K, Ribeiro FR, Teixeira MR, Lindgjaerde OC, Lothe RA: The order of genetic events associated with colorectal cancer progression inferred from meta-analysis of copy number changes, Genes Chromosomes Cancer 2006, 45:31-41
111. Camps J, Armengol G, del Rey J, Lozano JJ, Vauhkonen H, Prat E, Egozcue J, Sumoy L, Knuutila S, Miro R: Genome-wide differences between microsatellite stable and unstable colorectal tumors, Carcinogenesis 2006, 27:419-428
112. Fensterer H, Radlwimmer B, Strater J, Buchholz M, Aust DE, Julie C, Radvanyi F, Nordlinger B, Belluco C, Van Cutsem E, Kohne CH, Kestler HA, Schwaenen C, Nessling M, Lutz MP, Lichter P, Gress TM: Matrix-comparative genomic hybridization from multicenter formalin-fixed paraffin-embedded colorectal cancer tissue blocks, BMC Cancer 2007, 7:58
113. Knutsen T, Padilla-Nash HM, Wangsa D, Barenboim-Stapleton L, Camps J, McNeil N, Difilippantonio MJ, Ried T: Definitive molecular cytogenetic characterization of 15 colorectal cancer cell lines, Genes Chromosomes Cancer 2010, 49:204-223
114. Jass JR: Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features, Histopathology 2007, 50:113-130
115. van Roon EH, van Puijenbroek M, Middeldorp A, van Eijk R, de Meijer EJ, Erasmus D, Wouters KA, van Engeland M, Oosting J, Hes FJ, Tops CM, van Wezel T, Boer JM, Morreau H: Early onset MSI-H colon cancer with MLH1 promoter methylation, is there a genetic predisposition?, BMC Cancer 2010, 10:180
116. Lin CC, Lai YL, Lin TC, Chen WS, Jiang JK, Yang SH, Wang HS, Lan YT, Liang WY, Hsu HM, Lin JK, Chang SC: Clinicopathologic features and prognostic analysis of MSI-high colon cancer, Int J Colorectal Dis 2012, 27:277-286
117. Ramirez N, Bandres E, Navarro A, Pons A, Jansa S, Moreno I, Martinez-

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Rodenas F, Zarate R, Bitarte N, Monzo M, Garcia-Foncillas J: Epigenetic events in normal colonic mucosa surrounding colorectal cancer lesions, Eur J Cancer 2008, 44:2689-2695
118. Karpinski P, Myszka A, Ramsey D, Misiak B, Gil J, Laczmanska I, Grzebieniak Z, Sebzda T, Smigiel R, Stembalska A, Sasiadek MM: Polymorphisms in methyl-group metabolism genes and risk of sporadic colorectal cancer with relation to the CpG island methylator phenotype, Cancer Epidemiol 2010, 34:338-344
119. Nystrom M, Mutanen M: Diet and epigenetics in colon cancer, World J Gastroenterol 2009, 15:257-263
120. Pelaez IM, Kalogeropoulou M, Ferraro A, Voulgari A, Pankotai T, Boros I, Pintzas A: Oncogenic RAS alters the global and gene-specific histone modification pattern during epithelial-mesenchymal transition in colorectal carcinoma cells, Int J Biochem Cell Biol 2010, 42:911-920
121. Liu M, Chen H: The role of microRNAs in colorectal cancer, J Genet Genomics 2010, 37:347-358
122. Li D, Peng X, Yan D, Tang H, Huang F, Yang Y, Peng Z: Msi-1 is a predictor of survival and a novel therapeutic target in colon cancer, Ann Surg Oncol 2011, 18:2074-2083
123. Siddiqui AD, Piperdi B: KRAS mutation in colon cancer: a marker of resistance to EGFR-I therapy, Ann Surg Oncol 2010, 17:1168-1176
124. Price TJ, Hardingham JE, Lee CK, Weickhardt A, Townsend AR, Wrin JW, Chua A, Shivasami A, Cummins MM, Murone C, Tebbutt NC: Impact of KRAS and BRAF Gene Mutation Status on Outcomes From the Phase III AGITG MAX Trial of Capecitabine Alone or in Combination With Bevacizumab and Mitomycin in Advanced Colorectal Cancer, J Clin Oncol 2011, 29:2675-2682
125. Brown G: Colorectal Cancer. Edited by Reznek RH. New York, Cambridge University Press, 2007, p.
126. Soetikno RM, Kaltenbach T, Rouse RV, Park W, Maheshwari A, Sato T, Matsui S, Friedland S: Prevalence of nonpolypoid (flat and depressed) colorectal neoplasms in asymptomatic and symptomatic adults, JAMA 2008, 299:1027-1035
127. Cassidy J: Colorectal cancer. Edited by New York, USA, Informa Healthcare, 2007, p.
128. Hamilton SR: World Health Organization Classification of Tumours.Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. Edited by Lyon, International Agency for Research on Cancer., 2000, p.
129. Hayat MA: Colorectal Cancer. Edited by Union, NJ, USA, Springer Science, 2009 p.
130. Vieth M, Quirke P, Lambert R, von Karsa L, Risio M: Annex to Quirke et al. Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis: annotations of colorectal lesions, Virchows Arch 2011, 458:21-30
131. Quirke P, Risio M, Lambert R, von Karsa L, Vieth M: Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis-European recommendations, Virchows Arch 2011, 458:1-19
132. Speake D, O'Sullivan J, Evans DG, Lalloo F, Hill J, McMahon RF: Hyperplastic polyps are innocuous lesions in hereditary nonpolyposis colorectal cancers, Int J Surg Oncol 2011, 2011:653163
133. Pontone S, Pironi D, Eberspacher C, Pontone P, Filippini A: Endoscopic management of multiple large antral hyperplastic polyps causing gastric outlet obstruction, Ann Ital Chir 2011, 82:297-300
134. Kim KM, Lee EJ, Ha S, Kang SY, Jang KT, Park CK, Kim JY, Kim YH, Chang DK, Odze RD: Molecular features of colorectal hyperplastic polyps and sessile serrated adenoma/polyps from Korea, Am J Surg Pathol 2011, 35:1274-1286

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

135. Tadepalli US, Feihel D, Miller KM, Itzkowitz SH, Freedman JS, Kornacki S, Cohen LB, Bamji ND, Bodian CA, Aisenberg J: A morphologic analysis of sessile serrated polyps observed during routine colonoscopy (with video), Gastrointest Endosc 2011, 74:1360-1368
136. Anderson JC, Rangasamy P, Rustagi T, Myers M, Sanders M, Vaziri H, Wu G, Birk JW, Protiva P: Risk factors for sessile serrated adenomas, J Clin Gastroenterol 2011, 45:694-699
137. Muramoto T, Oono Y, Fu KI, Ikematsu H, Yano T, Kojima T, Minashi K, Kaneko K: Inverted sessile serrated polyp diagnosed by magnifying image-enhanced colonoscopy, Endoscopy 2011, 43 Suppl 2 UCTN:E201-202
138. Yamada A, Notohara K, Aoyama I, Miyoshi M, Miyamoto S, Fujii S, Yamamoto H: Endoscopic features of sessile serrated adenoma and other serrated colorectal polyps, Hepatogastroenterology 2011, 58:45-51
139. Aust DE, Baretton GB: Serrated polyps of the colon and rectum (hyperplastic polyps, sessile serrated adenomas, traditional serrated adenomas, and mixed polyps)-proposal for diagnostic criteria, Virchows Arch 2010, 457:291-297
140. Drini M, Young JP: Molecular change that distinguishes traditional serrated adenomas from sessile serrated adenomas, J Gastroenterol Hepatol 2011, 26:1472-1474
141. Lee SK, Chang HJ, Kim TI, Kim WH, Park CK, Chang DK, Park DI, Sohn JH, Byeon JS, Yang SK, Kim JO, Lee SH, Jin SY, Park CH, Baek IH, Eun CS, Han DS, Park SJ, Chang HK, Jeen YT, Kim HS, Park DH, Shin SJ, Chang MS: Clinicopathologic findings of colorectal traditional and sessile serrated adenomas in Korea: a multicenter study, Digestion 2008, 77:178-183
142. Appelman HD: Con: High-grade dysplasia and villous features should not be part of the routine diagnosis of colorectal adenomas, Am J Gastroenterol 2008, 103:1329-1331
143. Chung WC, Lee BI, Roh SY, Kwak JW, Hwang SM, Ko YH, Oh JH, Cho H, Chae HS, Cho YS: Increased prevalence of colorectal neoplasia in korean patients with sporadic duodenal adenomas: a case-control study, Gut Liver 2011, 5:432-436
144. Gupta AK, Samadder J, Elliott E, Sethi S, Schoenfeld P: Prevalence of any size adenomas and advanced adenomas in 40- to 49-year-old individuals undergoing screening colonoscopy because of a family history of colorectal carcinoma in a first-degree relative, Gastrointest Endosc 2011, 74:110-118
145. Jin XF, Chai TH, Shi JW, Yang XC, Sun QY: A meta-analysis for evaluating the accuracy of endoscopy with narrow band imaging in detecting colorectal adenomas, J Gastroenterol Hepatol 2011,
146. Toll AD, Fabius D, Hyslop T, Pequignot E, DiMarino AJ, Infantolino A, Palazzo JP: Prognostic significance of high-grade dysplasia in colorectal adenomas, Colorectal Dis 2011, 13:370-373
147. Chaput U, Alberto SF, Terris B, Beuvon F, Audureau E, Coriat R, Roche H, Gaudric M, Prat F, Chaussade S: Risk factors for advanced adenomas amongst small and diminutive colorectal polyps: a prospective monocenter study, Dig Liver Dis 2011, 43:609-612
148. Hamilton. S: World Health Organization Classification of Tumours.Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. . Edited by Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2000, p.
149. Taylor I: Fast Facts:Colorectal Cancer. Edited by Oxford UK, Health Press Limited, 2010, p.
150. Rodriguez-Bigas MA, Stoler DL, Bertario L, Anderson GR, Baba S: Colorectal cancer: how does it start? How does it metastasize?, Surg Oncol Clin N Am 2000, 9:643-652; discussion 653-644

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

151. Jellema P, van der Windt DA, Bruinvels DJ, Mallen CD, van Weyenberg SJ, Mulder CJ, de Vet HC: Value of symptoms and additional diagnostic tests for colorectal cancer in primary care: systematic review and meta-analysis, BMJ 2010, 340:c1269
152. Olde Bekkink M, McCowan C, Falk GA, Teljeur C, Van de Laar FA, Fahey T: Diagnostic accuracy systematic review of rectal bleeding in combination with other symptoms, signs and tests in relation to colorectal cancer, Br J Cancer 2010, 102:48-58
153. Naito Y, Okabe Y, Nagayama M, Nishinakagawa T, Taira T, Kawahara A, Hattori S, Machida K, Ishida Y, Kaji R, Mikagi K, Kinoshita H, Yasumoto M, Akiba J, Kage M, Nakashima M, Ohshima K, Yano H: Accuracy of differential diagnosis for pancreatic cancer is improved in the combination of RCAS1 and CEA measurements and cytology in pancreatic juice, Med Mol Morphol 2011, 44:86-92
154. Banaszkiewicz Z, Jarmocik P, Frasz J, Tojek K, Mrozowski M, Jawien A: Usefulness of CEA concentration measurement and classic colonoscopy in follow-up after radical treatment of colorectal cancer, Pol Przegl Chir 2011, 83:310-318
155. Lin JK, Lin CC, Yang SH, Wang HS, Jiang JK, Lan YT, Lin TC, Li AF, Chen WS, Chang SC: Early postoperative CEA level is a better prognostic indicator than is preoperative CEA level in predicting prognosis of patients with curable colorectal cancer, Int J Colorectal Dis 2011, 26:1135-1141
156. Meller B, Rave-Franck M, Breunig C, Schirmer M, Baehre M, Nadrowitz R, Liersch T, Meller J: Novel Carcinoembryonic-Antigen-(CEA)-Specific Pretargeting System to Assess Tumor Cell Viability after Irradiation of Colorectal Cancer Cells, Strahlenther Onkol 2011, 187:120-126
157. Brown G: Contemporary Issues in Cancer Imaging/Colorectal cancer. Edited by CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS., 2007, p.
158. Berrington de Gonzalez A, Kim KP, Yee J: CT colonography: perforation rates and potential radiation risks, Gastrointest Endosc Clin N Am 2010, 20:279-291
159. Sosna J, Sella T, Sy O, Lavin PT, Eliahou R, Fraifeld S, Libson E: Critical analysis of the performance of double-contrast barium enema for detecting colorectal polyps > or = 6 mm in the era of CT colonography, AJR Am J Roentgenol 2008, 190:374-385
160. Kim DH, Pickhardt PJ, Taylor AJ, Leung WK, Winter TC, Hinshaw JL, Gopal DV, Reichelderfer M, Hsu RH, Pfau PR: CT colonography versus colonoscopy for the detection of advanced neoplasia, N Engl J Med 2007, 357:1403-1412
161. Graser A, Stieber P, Nagel D, Schafer C, Horst D, Becker CR, Nikolaou K, Lottes A, Geisbusch S, Kramer H, Wagner AC, Diepolder H, Schirra J, Roth HJ, Seidel D, Goke B, Reiser MF, Kolligs FT: Comparison of CT colonography, colonoscopy, sigmoidoscopy and faecal occult blood tests for the detection of advanced adenoma in an average risk population, Gut 2009, 58:241-248
162. Tan CH, Iyer R: Use of computed tomography in the management of colorectal cancer, World J Radiol 2010, 2:151-158
163. Kinkel K, Lu Y, Both M, Warren RS, Thoeni RF: Detection of hepatic metastases from cancers of the gastrointestinal tract by using noninvasive imaging methods (US, CT, MR imaging, PET): a meta-analysis, Radiology 2002, 224:748-756
164. Bai HL, Chen B, Zhou Y, Wu XT: Five-year long-term outcomes of laparoscopic surgery for colon cancer, World J Gastroenterol 2010, 16:4992-4997
165. Braga M, Pecorelli N, Frasson M, Vignali A, Zuliani W, Carlo VD: Long-term

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

outcomes after laparoscopic colectomy, World J Gastrointest Oncol 2011, 3:43-48
166. Makino T, Milsom JW, Lee SW: Feasibility and safety of single-incision laparoscopic colectomy: a systematic review, Ann Surg 2012, 255:667-676
167. Buunen M, Veldkamp R, Hop WC, Kuhry E, Jeekel J, Haglind E, Pahlman L, Cuesta MA, Msika S, Morino M, Lacy A, Bonjer HJ: Survival after laparoscopic surgery versus open surgery for colon cancer: long-term outcome of a randomised clinical trial, Lancet Oncol 2009, 10:44-52
168. van Steenbergen LN, Elferink MA, Krijnen P, Lemmens VE, Siesling S, Rutten HJ, Richel DJ, Karim-Kos HE, Coebergh JW: Improved survival of colon cancer due to improved treatment and detection: a nationwide population-based study in The Netherlands 1989-2006, Ann Oncol 2010, 21:2206-2212
169. Rivadulla-Serrano MI, Martinez-Ramos D, Armengol-Carrasco M, Escrig-Sos J, Paiva-Coronel GA, Fortea-Sanchis C, Salvador-Sanchis JL: Impact of the total number of harvested lymph nodes after colon cancer resections on survival in patients without involved lymph node, Rev Esp Enferm Dig 2010, 102:296-301
170. Paulson EC, Mahmoud NN, Wirtalla C, Armstrong K: Acuity and survival in colon cancer surgery, Dis Colon Rectum 2010, 53:385-392
171. Tsoulfas G, Pramateftakis MG, Kanellos I: Surgical treatment of hepatic metastases from colorectal cancer, World J Gastrointest Oncol 2011, 3:1-9
172. Khajanchee YS, Hammill CW, Cassera MA, Wolf RF, Hansen PD: Hepatic resection vs minimally invasive radiofrequency ablation for the treatment of colorectal liver metastases: a Markov analysis, Arch Surg 2011, 146:1416-1423
173. Chan KM, Chiang JM, Lee CF, Yu MC, Lee WC, Chen JS, Wang JY: Outcomes of resection for colorectal cancer hepatic metastases stratified by evolving eras of treatment, World J Surg Oncol 2011, 9:174
174. Poston GJ, Adam R, Alberts S, Curley S, Figueras J, Haller D, Kunstlinger F, Mentha G, Nordlinger B, Patt Y, Primrose J, Roh M, Rougier P, Ruers T, Schmoll HJ, Valls C, Vauthey NJ, Cornelis M, Kahan JP: OncoSurge: a strategy for improving resectability with curative intent in metastatic colorectal cancer, J Clin Oncol 2005, 23:7125-7134
175. Mise Y, Imamura H, Hashimoto T, Seyama Y, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M, Nakajima J, Kokudo N: Cohort study of the survival benefit of resection for recurrent hepatic and/or pulmonary metastases after primary hepatectomy for colorectal metastases, Ann Surg 2010, 251:902-909
176. Park JS, Kim HK, Choi YS, Kim K, Shim YM, Jo J, Lee WY, Chun HK, Park YS, Kang WK, Kim J: Outcomes after repeated resection for recurrent pulmonary metastases from colorectal cancer, Ann Oncol 2010, 21:1285-1289
177. Icli F, Akbulut H, Bazarbashi S, Kuzu MA, Mallath MK, Rasul KI, Strong S, Syed AA, Zorlu F, Engstrom PF: Modification and implementation of NCCN guidelines on colon cancer in the Middle East and North Africa region, J Natl Compr Canc Netw 2010, 8 Suppl 3:S22-25
178. NCCN G: Colon Cancer. Edited by 2012, p.
179. Adam R, Hoti E, Bredt LC: Evolution of neoadjuvant therapy for extended hepatic metastases--have we reached our (non-resectable) limit?, J Surg Oncol 2010, 102:922-931
180. Thomay AA, Charpentier KP: Optimizing resection for "responding" hepatic metastases after neoadjuvant chemotherapy, J Surg Oncol 2010, 102:1002-1008
181. Modest DP, Jung A, Moosmann N, Laubender RP, Giessen C, Schulz C, Haas M, Neumann J, Boeck S, Kirchner T, Heinemann V, Stintzing S: The influence of KRAS and BRAF mutations on the efficacy of cetuximab-based first-line therapy of metastatic colorectal

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

cancer: An analysis of the AIO KRK-0104-trial, Int J Cancer 2011,
182. Cohen MH, Gootenberg J, Keegan P, Pazdur R: FDA drug approval summary: bevacizumab (Avastin) plus Carboplatin and Paclitaxel as first-line treatment of advanced/metastatic recurrent nonsquamous non-small cell lung cancer, Oncologist 2007, 12:713-718
183. Mizota A, Shitara K, Kondo C, Nomura M, Yokota T, Takahari D, Ura T, Inaba Y, Yamaura H, Sato Y, Kato M, Muro K: Retrospective analysis of cetuximab monotherapy for patients with irinotecan-intolerant metastatic colorectal cancer, Int J Clin Oncol 2011, 16:416-420
184. Prewett M, Bassi R, Paz K, Amatulli M, Deevi D, Li H, Wang S, Witte L, Samakoglu S, Tonra JR: Estimating preclinical efficacy targets utilizing cetuximab efficacy in KRAS mutant and wild-type colorectal cancer models, Anticancer Res 2011, 31:2149-2160
185. Lopez R, Salgado M, Reboredo M, Grande C, Mendez JC, Jorge M, Romero C, Quintero G, de la Camara J, Candamio S: A retrospective observational study on the safety and efficacy of first-line treatment with bevacizumab combined with FOLFIRI in metastatic colorectal cancer, Br J Cancer 2010, 103:1536-1541
186. Pahlman L: [Surgery and radiotherapy best in the treatment of rectal cancer. Correct use of patient registries can further increase the quality], Lakartidningen 2000, 97:3564-3566
187. Caravatta L, Padula GD, Picardi V, Macchia G, Deodato F, Massaccesi M, Sofo L, Pacelli F, Rotondi F, Cecere G, Sallustio G, Di Lullo L, Piscopo A, Mignogna S, Bonomo P, Cellini N, Valentini V, Morganti AG: Concomitant boost radiotherapy and multidrug chemotherapy in the neoadjuvant treatment of locally advanced rectal cancer: results of a phase II study, Acta Oncol 2011, 50:1151-1157
188. Dubois JB, Bussieres E, Richaud P, Rouanet P, Becouarn Y, Mathoulin-Pelissier S, Saint-Aubert B, Ychou M: Intra-operative radiotherapy of rectal cancer: results of the French multi-institutional randomized study, Radiother Oncol 2011, 98:298-303
189. Matsuoka H, Masaki T, Takayama M, Tonari A, Sato K, Kobayashi T, Sugiyama M, Atomi Y: Impact of intra-operative radiotherapy on evacuatory function following ultra-low anterior resection. A preliminary result of prospective randomized trial, Hepatogastroenterology 2009, 56:1656-1660
190. Masaki T, Takayama M, Matsuoka H, Abe N, Ueki H, Sugiyama M, Tonari A, Kusuda J, Mizumoto S, Atomi Y: Intraoperative radiotherapy for oncological and function-preserving surgery in patients with advanced lower rectal cancer, Langenbecks Arch Surg 2008, 393:173-180
191. Vahrmeijer AL, Van Der Eb MM, Van Dierendonck JH, Kuppen PJ, Van De Velde CJ: Delivery of anticancer drugs via isolated hepatic perfusion: a promising strategy in the treatment of irresectable liver metastases?, Semin Surg Oncol 1998, 14:262-268
192. Cosimelli M, Golfieri R, Cagol PP, Carpanese L, Sciuto R, Maini CL, Mancini R, Sperduti I, Pizzi G, Diodoro MG, Perrone M, Giampalma E, Angelelli B, Fiore F, Lastoria S, Bacchetti S, Gasperini D, Geatti O, Izzo F: Multi-centre phase II clinical trial of yttrium-90 resin microspheres alone in unresectable, chemotherapy refractory colorectal liver metastases, Br J Cancer 2010, 103:324-331
193. Tsimberidou AM, Fu S, Ng C, Lim JA, Wen S, Hong D, Wheler J, Bedikian AY, Eng C, Wallace M, Camacho LH, Kurzrock R: A phase 1 study of hepatic arterial infusion of oxaliplatin in combination with systemic 5-fluorouracil, leucovorin, and bevacizumab in patients

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

with advanced solid tumors metastatic to the liver, Cancer 2010, 116:4086-4094
194. Alberts SR, Roh MS, Mahoney MR, O'Connell MJ, Nagorney DM, Wagman L, Smyrk TC, Weiland TL, Lai LL, Schwarz RE, Molina R, Dentchev T, Bolton JS: Alternating systemic and hepatic artery infusion therapy for resected liver metastases from colorectal cancer: a North Central Cancer Treatment Group (NCCTG)/ National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) phase II intergroup trial, N9945/CI-66, J Clin Oncol 2010, 28:853-858
195. Martin RC, Robbins K, Tomalty D, O'Hara R, Bosnjakovic P, Padr R, Rocek M, Slauf F, Scupchenko A, Tatum C: Transarterial chemoembolisation (TACE) using irinotecan-loaded beads for the treatment of unresectable metastases to the liver in patients with colorectal cancer: an interim report, World J Surg Oncol 2009, 7:80
196. Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Ibrahim SM, Sato KT, Ryu RK, Atassi B, Newman S, Talamonti M, Omary RA, Benson A, 3rd, Salem R: Radioembolization of colorectal hepatic metastases using yttrium-90 microspheres, Cancer 2009, 115:1849-1858
197. Tsai S, Marques HP, de Jong MC, Mira P, Ribeiro V, Choti MA, Schulick RD, Barroso E, Pawlik TM: Two-stage strategy for patients with extensive bilateral colorectal liver metastases, HPB (Oxford) 2010, 12:262-269
198. Howlader N: SEER Cancer Statistics Review,1975-2008. Edited by National Cancer Institute., 2010, p.
199. Smith RA, Cokkinides V, Brooks D, Saslow D, Shah M, Brawley OW: Cancer screening in the United States, 2011: A review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening, CA Cancer J Clin 2011, 61:8-30
200. Philip AK, Lubner MG, Harms B: Computed tomographic colonography, Surg Clin North Am 2011, 91:127-139
201. Freedman AN, Slattery ML, Ballard-Barbash R, Willis G, Cann BJ, Pee D, Gail MH, Pfeiffer RM: Colorectal cancer risk prediction tool for white men and women without known susceptibility, J Clin Oncol 2009, 27:686-693
202. Barugel ME, Vargas C, Krygier Waltier G: Metastatic colorectal cancer: recent advances in its clinical management, Expert Rev Anticancer Ther 2009, 9:1829-1847
203. Leen E: The detection of occult liver metastases of colorectal carcinoma, J Hepatobiliary Pancreat Surg 1999, 6:7-15
204. Abdel-Misih SR, Schmidt CR, Bloomston PM: Update and review of the multidisciplinary management of stage IV colorectal cancer with liver metastases, World J Surg Oncol 2009, 7:72
205. Stillwell AP, Ho YH, Veitch C: Systematic review of prognostic factors related to overall survival in patients with stage IV colorectal cancer and unresectable metastases, World J Surg 2011, 35:684-692
206. Gallagher DJ, Kemeny N: Metastatic colorectal cancer: from improved survival to potential cure, Oncology 2010, 78:237-248
207. Westlake S, Cooper N: Cancer incidence and mortality: trends in the United Kingdom and constituent countries, 1993 to 2004, Health Stat Q 2008, 33-46
208. Hayne D, Brown RS, McCormack M, Quinn MJ, Payne HA, Babb P: Current trends in colorectal cancer: site, incidence, mortality and survival in England and Wales, Clin Oncol (R Coll Radiol) 2001, 13:448-452
209. Benson AB, 3rd: Epidemiology, disease progression, and economic burden of colorectal cancer, J Manag Care Pharm 2007, 13:S5-18
210. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A: Cancer statistics, 2011: The

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths, CA Cancer J Clin 2011, 61:212-236
211. Grand DJ, Beland M, Noto RB, Mayo-Smith W: Optimum imaging of colorectal metastases, J Surg Oncol 2010, 102:909-913
212. Floriani I, Torri V, Rulli E, Garavaglia D, Compagnoni A, Salvolini L, Giovagnoni A: Performance of imaging modalities in diagnosis of liver metastases from colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis, J Magn Reson Imaging 2010, 31:19-31
213. Low RN, Gurney J: Diffusion-weighted MRI (DWI) in the oncology patient: value of breathhold DWI compared to unenhanced and gadolinium-enhanced MRI, J Magn Reson Imaging 2007, 25:848-858
214. Valls C, Andia E, Sanchez A, Guma A, Figueras J, Torras J, Serrano T: Hepatic metastases from colorectal cancer: preoperative detection and assessment of resectability with helical CT, Radiology 2001, 218:55-60
215. Wernecke K, Rummeny E, Bongartz G, Vassallo P, Kivelitz D, Wiesmann W, Peters PE, Reers B, Reiser M, Pircher W: Detection of hepatic masses in patients with carcinoma: comparative sensitivities of sonography, CT, and MR imaging, AJR Am J Roentgenol 1991, 157:731-739
216. Mainenti PP, Mancini M, Mainolfi C, Camera L, Maurea S, Manchia A, Tanga M, Persico F, Addeo P, D'Antonio D, Speranza A, Bucci L, Persico G, Pace L, Salvatore M: Detection of colo-rectal liver metastases: prospective comparison of contrast enhanced US, multidetector CT, PET/CT, and 1.5 Tesla MR with extracellular and reticulo-endothelial cell specific contrast agents, Abdom Imaging 2010, 35:511-521
217. Quaia E, D'Onofrio M, Palumbo A, Rossi S, Bruni S, Cova M: Comparison of contrast-enhanced ultrasonography versus baseline ultrasound and contrast-enhanced computed tomography in metastatic disease of the liver: diagnostic performance and confidence, Eur Radiol 2006, 16:1599-1609
218. Wildi SM, Gubler C, Hany T, Petrowsky H, Clavien PA, Jochum W, Gerlach T, Fried M, Mullhaupt B: Intraoperative sonography in patients with colorectal cancer and resectable liver metastases on preoperative FDG-PET-CT, J Clin Ultrasound 2008, 36:20-26
219. Sahani DV, Kalva SP, Tanabe KK, Hayat SM, O'Neill MJ, Halpern EF, Saini S, Mueller PR: Intraoperative US in patients undergoing surgery for liver neoplasms: comparison with MR imaging, Radiology 2004, 232:810-814
220. Goligher JC: Operability of Carcinoma of the Rectum, Br Med J 1941, 2:393-397
221. Finlay IG, Meek DR, Gray HW, Duncan JG, McArdle CS: Incidence and detection of occult hepatic metastases in colorectal carcinoma, Br Med J (Clin Res Ed) 1982, 284:803-805
222. Finlay IG, McArdle CS: Occult hepatic metastases in colorectal carcinoma, Br J Surg 1986, 73:732-735
223. Finlay IG, Meek D, Brunton F, McArdle CS: Growth rate of hepatic metastases in colorectal carcinoma, Br J Surg 1988, 75:641-644
224. Nott DM, Grime SJ, Yates J, Day DW, Baxter JN, Jenkins SA, Cooke TG: Changes in the hepatic perfusion index during the development of experimental hepatic tumours, Br J Surg 1989, 76:259-263
225. Hemingway DM, Cooke TG, Grime SJ, Nott DM, Jenkins SA: Changes in hepatic haemodynamics and hepatic perfusion index during the growth and development of hypovascular HSN sarcoma in rats, Br J Surg 1991, 78:326-330
226. Leveson SH, Wiggins PA, Giles GR, Parkin A, Robinson PJ: Deranged liver blood flow patterns in the detection of liver metastases, Br J Surg 1985, 72:128-130

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

227. Ridge JA, Bading JR, Gelbard AS, Benua RS, Daly JM: Perfusion of colorectal hepatic metastases. Relative distribution of flow from the hepatic artery and portal vein, Cancer 1987, 59:1547-1553
228. Kruskal JB, Thomas P, Kane RA, Goldberg SN: Hepatic perfusion changes in mice livers with developing colorectal cancer metastases, Radiology 2004, 231:482-490
229. Carter R, Anderson JH, Cooke TG, Baxter JN, Angerson WJ: Splanchnic blood flow changes in the presence of hepatic tumour: evidence of a humoral mediator, Br J Cancer 1994, 69:1025-1026
230. Yarmenitis SD, Kalogeropoulou CP, Hatjikondi O, Ravazoula P, Petsas T, Siamblis D, Kalfarentzos F: An experimental approach of the Doppler perfusion index of the liver in detecting occult hepatic metastases: histological findings related to the hemodynamic measurements in Wistar rats, Eur Radiol 2000, 10:417-424
231. Kopljar M, Brkljacic B, Doko M, Horzic M: Nature of Doppler perfusion index changes in patients with colorectal cancer liver metastases, J Ultrasound Med 2004, 23:1295-1300
232. Leveson SH, Wiggins PA, Nasiru TA, Giles GR, Robinson PJ, Parkin A: Improving the detection of hepatic metastases by the use of dynamic flow scintigraphy, Br J Cancer 1983, 47:719-721
233. Ballantyne KC, Charnley RM, Perkins AC, Pye G, Whalley DR, Wastie ML, Hardcastle JD: Hepatic perfusion index in the diagnosis of overt metastatic colorectal cancer, Nucl Med Commun 1990, 11:23-28
234. Platt JF, Francis IR, Ellis JH, Reige KA: Liver metastases: early detection based on abnormal contrast material enhancement at dual-phase helical CT, Radiology 1997, 205:49-53
235. Sato S, Ohnishi K, Sugita S, Okuda K: Splenic artery and superior mesenteric artery blood flow: nonsurgical Doppler US measurement in healthy subjects and patients with chronic liver disease, Radiology 1987, 164:347-352
236. Nakamura T, Moriyasu F, Ban N, Nishida O, Tamada T, Kawasaki T, Sakai M, Uchino H: Quantitative measurement of abdominal arterial blood flow using image-directed Doppler ultrasonography: superior mesenteric, splenic, and common hepatic arterial blood flow in normal adults, J Clin Ultrasound 1989, 17:261-268
237. Robertson J, Leen E, Goldberg JA, Angerson WJ, Sutherland GR, McArdle CS: Flow measurement using duplex Doppler ultrasound: haemodynamic changes in patients with colorectal liver metastases, Clin Phys Physiol Meas 1992, 13:299-310
238. Leen E, Goldberg JA, Robertson J, Sutherland GR, Hemingway DM, Cooke TG, McArdle CS: Detection of hepatic metastases using duplex/color Doppler sonography, Ann Surg 1991, 214:599-604
239. Leen E, Angerson WJ, Warren H, Goldberg JA, Leiberman DP, Cooke TG, McArdle CS: Hepatic arterial haemodynamics changes following intra-arterial angiotensin II infusion: duplex/colour Doppler sonography, Clin Radiol 1993, 47:321-324
240. Kyriakopoulou K, Antoniou A, Fezoulidis IV, Kelekis NL, Dalekos GN, Vlychou M: The role of Doppler Perfusion Index as screening test in the characterization of focal liver lesions, Dig Liver Dis 2008, 40:755-760
241. Leen E, Goldberg JA, Robertson J, Angerson WJ, Sutherland GR, Cooke TG, McArdle CS: Early detection of occult colorectal hepatic metastases using duplex colour Doppler sonography, Br J Surg 1993, 80:1249-1251
242. Oppo K, Leen E, Angerson WJ, Cooke TG, McArdle CS: Doppler perfusion index: an interobserver and intraobserver reproducibility study, Radiology 1998, 208:453-457

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

243. Oppo K, Leen E, Angerson WJ, McArdle CS: The effect of resecting the primary tumour on the Doppler Perfusion Index in patients with colorectal cancer, Clin Radiol 2000, 55:791-793
244. Leen E, Goldberg JA, Angerson WJ, McArdle CS: Potential role of doppler perfusion index in selection of patients with colorectal cancer for adjuvant chemotherapy, Lancet 2000, 355:34-37
245. Ramnarine KV, Leen E, Oppo K, Angerson WJ, McArdle CS: Contrast-enhanced Doppler perfusion index: clinical and experimental evaluation, J Ultrasound Med 2002, 21:1121-1129
246. Roumen RM, Scheltinga MR, Slooter GD, van der Linden AW: Doppler perfusion index fails to predict the presence of occult hepatic colorectal metastases, Eur J Surg Oncol 2005, 31:521-527
247. Hickey KA, Rubanyi G, Paul RJ, Highsmith RF: Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells, Am J Physiol 1985, 248:C550-556
248. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells, Nature 1988, 332:411-415
249. Levin ER: Endothelins, N Engl J Med 1995, 333:356-363
250. Lee ME, Bloch KD, Clifford JA, Quertermous T: Functional analysis of the endothelin-1 gene promoter. Evidence for an endothelial cell-specific cis-acting sequence, J Biol Chem 1990, 265:10446-10450
251. Inoue A, Yanagisawa M, Takuwa Y, Mitsui Y, Kobayashi M, Masaki T: The human preproendothelin-1 gene. Complete nucleotide sequence and regulation of expression, J Biol Chem 1989, 264:14954-14959
252. Wilson DB, Dorfman DM, Orkin SH: A nonerythroid GATA-binding protein is required for function of the human preproendothelin-1 promoter in endothelial cells, Mol Cell Biol 1990, 10:4854-4862
253. Nelson J, Bagnato A, Battistini B, Nisen P: The endothelin axis: emerging role in cancer, Nat Rev Cancer 2003, 3:110-116
254. Rubin SA, Levin ER: Clinical review 53: The endocrinology of vasoactive peptides: synthesis to function, J Clin Endocrinol Metab 1994, 78:6-10
255. Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M: ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1, Cell 1994, 78:473-485
256. de Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, Vane JR: Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor, Proc Natl Acad Sci U S A 1988, 85:9797-9800
257. Burkhardt M, Barton M, Shaw SG: Receptor- and non-receptor-mediated clearance of big-endothelin and endothelin-1: differential effects of acute and chronic ETA receptor blockade, J Hypertens 2000, 18:273-279
258. Bremnes T, Paasche JD, Mehlum A, Sandberg C, Bremnes B, Attramadal H: Regulation and intracellular trafficking pathways of the endothelin receptors, J Biol Chem 2000, 275:17596-17604
259. Battistini B, Chailler P, D'Orleans-Juste P, Briere N, Sirois P: Growth regulatory properties of endothelins, Peptides 1993, 14:385-399
260. Vijayaraghavan J, Scicli AG, Carretero OA, Slaughter C, Moomaw C, Hersh LB: The hydrolysis of endothelins by neutral endopeptidase 24.11 (enkephalinase), J Biol Chem 1990, 265:14150-14155
261. Orry AJ, Wallace BA: Modeling and docking the endothelin G-protein-coupled receptor, Biophys J 2000, 79:3083-3094

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

262. Mobarec JC, Filizola M: Advances in the Development and Application of Computational Methodologies for Structural Modeling of G-Protein Coupled Receptors, Expert Opin Drug Discov 2008, 3:343-355
263. Puett D, Li Y, DeMars G, Angelova K, Fanelli F: A functional transmembrane complex: the luteinizing hormone receptor with bound ligand and G protein, Mol Cell Endocrinol 2007, 260-262:126-136
264. Masaki T: The endothelin family: an overview, J Cardiovasc Pharmacol 2000, 35:S3-5
265. Rozengurt E: Mitogenic signaling pathways induced by G protein-coupled receptors, J Cell Physiol 2007, 213:589-602
266. Miyauchi T, Tomobe Y, Shiba R, Ishikawa T, Yanagisawa M, Kimura S, Sugishita Y, Ito I, Goto K, Masaki T: Involvement of endothelin in the regulation of human vascular tonus. Potent vasoconstrictor effect and existence in endothelial cells, Circulation 1990, 81:1874-1880
267. Simonson MS, Dunn MJ: Cellular signaling by peptides of the endothelin gene family, Faseb J 1990, 4:2989-3000
268. Ito H, Hirata Y, Adachi S, Tanaka M, Tsujino M, Koike A, Nogami A, Murumo F, Hiroe M: Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II-induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes, J Clin Invest 1993, 92:398-403
269. Cozza EN, Chiou S, Gomez-Sanchez CE: Endothelin-1 potentiation of angiotensin II stimulation of aldosterone production, Am J Physiol 1992, 262:R85-89
270. Boulanger C, Luscher TF: Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide, J Clin Invest 1990, 85:587-590
271. Prins BA, Hu RM, Nazario B, Pedram A, Frank HJ, Weber MA, Levin ER: Prostaglandin E2 and prostacyclin inhibit the production and secretion of endothelin from cultured endothelial cells, J Biol Chem 1994, 269:11938-11944
272. Kohno M, Yasunari K, Yokokawa K, Murakawa K, Horio T, Takeda T: Inhibition by atrial and brain natriuretic peptides of endothelin-1 secretion after stimulation with angiotensin II and thrombin of cultured human endothelial cells, J Clin Invest 1991, 87:1999-2004
273. Haynes WG, Webb DJ: Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone, Lancet 1994, 344:852-854
274. Lopez JA, Armstrong ML, Piegors DJ, Heistad DD: Vascular responses to endothelin-1 in atherosclerotic primates, Arteriosclerosis 1990, 10:1113-1118
275. Kurihara H, Yamaoki K, Nagai R, Yoshizumi M, Takaku F, Satoh H, Inui J, Yazaki Y: Endothelin: a potent vasoconstrictor associated with coronary vasospasm, Life Sci 1989, 44:1937-1943
276. Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, Fujino M, Imada A: Endothelin in myocardial infarction, Nature 1990, 344:114
277. Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, Heublein DM, Kao PC, Edwards WD, Burnett JC, Jr.: Endothelin in human congestive heart failure, Circulation 1994, 89:1580-1586
278. Mattoli S, Mezzetti M, Riva G, Allegra L, Fasoli A: Specific binding of endothelin on human bronchial smooth muscle cells in culture and secretion of endothelin-like material from bronchial epithelial cells, Am J Respir Cell Mol Biol 1990, 3:145-151
279. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ: Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension, N Engl J Med 1993, 328:1732-1739
280. Chan L, Chittinandana A, Shapiro JI, Shanley PF, Schrier RW: Effect of an endothelin-receptor antagonist on

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

ischemic acute renal failure, Am J Physiol 1994, 266:F135-138
281. Levin ER: Atrial natriuretic peptide and endothelin: Interactions in the central nervous system and the periphery, Mol Cell Neurosci 1991, 2:189-201
282. Bagnato A, Spinella F, Rosano L: The endothelin axis in cancer: the promise and the challenges of molecularly targeted therapy, Can J Physiol Pharmacol 2008, 86:473-484
283. Vacca F, Bagnato A, Catt KJ, Tecce R: Transactivation of the epidermal growth factor receptor in endothelin-1-induced mitogenic signaling in human ovarian carcinoma cells, Cancer Res 2000, 60:5310-5317
284. Bagnato A, Spinella F, Rosano L: Emerging role of the endothelin axis in ovarian tumor progression, Endocr Relat Cancer 2005, 12:761-772
285. Rosano L, Di Castro V, Spinella F, Tortora G, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A: Combined targeting of endothelin A receptor and epidermal growth factor receptor in ovarian cancer shows enhanced antitumor activity, Cancer Res 2007, 67:6351-6359
286. Del Bufalo D, Di Castro V, Biroccio A, Varmi M, Salani D, Rosano L, Trisciuoglio D, Spinella F, Bagnato A: Endothelin-1 protects ovarian carcinoma cells against paclitaxel-induced apoptosis: requirement for Akt activation, Mol Pharmacol 2002, 61:524-532
287. Bagnato A, Cirilli A, Salani D, Simeone P, Muller A, Nicotra MR, Natali PG, Venuti A: Growth inhibition of cervix carcinoma cells in vivo by endothelin A receptor blockade, Cancer Res 2002, 62:6381-6384
288. Rosano L, Di Castro V, Spinella F, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A: ZD4054, a specific antagonist of the endothelin A receptor, inhibits tumor growth and enhances paclitaxel activity in human ovarian carcinoma in vitro and in vivo, Mol Cancer Ther 2007, 6:2003-2011
289. Akhavan A, McHugh KH, Guruli G, Bies RR, Zamboni WC, Strychor SA, Nelson JB, Pflug BR: Endothelin receptor A blockade enhances taxane effects in prostate cancer, Neoplasia 2006, 8:725-732
290. Bek EL, McMillen MA: Endothelins are angiogenic, J Cardiovasc Pharmacol 2000, 36:S135-139
291. Salani D, Di Castro V, Nicotra MR, Rosano L, Tecce R, Venuti A, Natali PG, Bagnato A: Role of endothelin-1 in neovascularization of ovarian carcinoma, Am J Pathol 2000, 157:1537-1547
292. Wulfing P, Kersting C, Tio J, Fischer RJ, Wulfing C, Poremba C, Diallo R, Bocker W, Kiesel L: Endothelin-1-, endothelin-A-, and endothelin-B-receptor expression is correlated with vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in breast cancer, Clin Cancer Res 2004, 10:2393-2400
293. Wenger RH: Mammalian oxygen sensing, signalling and gene regulation, J Exp Biol 2000, 203:1253-1263
294. Spinella F, Rosano L, Di Castro V, Natali PG, Bagnato A: Endothelin-1 induces vascular endothelial growth factor by increasing hypoxia-inducible factor-1alpha in ovarian carcinoma cells, J Biol Chem 2002, 277:27850-27855
295. Spinella F, Rosano L, Di Castro V, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A: Inhibition of cyclooxygenase-1 and -2 expression by targeting the endothelin a receptor in human ovarian carcinoma cells, Clin Cancer Res 2004, 10:4670-4679
296. Minchenko A, Caro J: Regulation of endothelin-1 gene expression in human microvascular endothelial cells by hypoxia and cobalt: role of hypoxia responsive element, Mol Cell Biochem 2000, 208:53-62
297. Grimshaw MJ, Naylor S, Balkwill FR: Endothelin-2 is a hypoxia-induced autocrine survival factor for breast tumor cells, Mol Cancer Ther 2002, 1:1273-1281
298. Grimshaw MJ, Hagemann T, Ayhan A, Gillett CE, Binder C, Balkwill FR: A role for endothelin-2 and its

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

receptors in breast tumor cell invasion, Cancer Res 2004, 64:2461-2468
299. Spinella F, Rosano L, Di Castro V, Decandia S, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A: Endothelin-1 and endothelin-3 promote invasive behavior via hypoxia-inducible factor-1alpha in human melanoma cells, Cancer Res 2007, 67:1725-1734
300. Sood AK, Fletcher MS, Coffin JE, Yang M, Seftor EA, Gruman LM, Gershenson DM, Hendrix MJ: Functional role of matrix metalloproteinases in ovarian tumor cell plasticity, Am J Obstet Gynecol 2004, 190:899-909
301. Bagnato A, Rosano L, Spinella F, Di Castro V, Tecce R, Natali PG: Endothelin B receptor blockade inhibits dynamics of cell interactions and communications in melanoma cell progression, Cancer Res 2004, 64:1436-1443
302. Rosano L, Spinella F, Di Castro V, Dedhar S, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A: Integrin-linked kinase functions as a downstream mediator of endothelin-1 to promote invasive behavior in ovarian carcinoma, Mol Cancer Ther 2006, 5:833-842
303. Rosano L, Spinella F, Di Castro V, Nicotra MR, Dedhar S, de Herreros AG, Natali PG, Bagnato A: Endothelin-1 promotes epithelial-to-mesenchymal transition in human ovarian cancer cells, Cancer Res 2005, 65:11649-11657
304. Jamal S, Schneider RJ: UV-induction of keratinocyte endothelin-1 downregulates E-cadherin in melanocytes and melanoma cells, J Clin Invest 2002, 110:443-452
305. Rosano L, Cianfrocca R, Masi S, Spinella F, Di Castro V, Biroccio A, Salvati E, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A: Beta-arrestin links endothelin A receptor to beta-catenin signaling to induce ovarian cancer cell invasion and metastasis, Proc Natl Acad Sci U S A 2009, 106:2806-2811
306. Kim TH, Xiong H, Zhang Z, Ren B: beta-Catenin activates the growth factor endothelin-1 in colon cancer cells, Oncogene 2005, 24:597-604
307. Sun P, Xiong H, Kim TH, Ren B, Zhang Z: Positive inter-regulation between beta-catenin/T cell factor-4 signaling and endothelin-1 signaling potentiates proliferation and survival of prostate cancer cells, Mol Pharmacol 2006, 69:520-531
308. Hinsley EE, Hunt S, Hunter KD, Whawell SA, Lambert DW: Endothelin-1 stimulates motility of head and neck squamous carcinoma cells by promoting stromal-epithelial interactions, Int J Cancer 2011,
309. Knowles JP, Shiwen X, Haque SU, Bhalla A, Dashwood MR, Yang S, Taylor I, Winslet MC, Abraham DJ, Loizidou M: Endothelin-1 stimulates colon cancer adjacent fibroblasts, Int J Cancer 2011,
310. Guise TA, Mohammad KS, Clines G, Stebbins EG, Wong DH, Higgins LS, Vessella R, Corey E, Padalecki S, Suva L, Chirgwin JM: Basic mechanisms responsible for osteolytic and osteoblastic bone metastases, Clin Cancer Res 2006, 12:6213s-6216s
311. Van Sant C, Wang G, Anderson MG, Trask OJ, Lesniewski R, Semizarov D: Endothelin signaling in osteoblasts: global genome view and implication of the calcineurin/NFAT pathway, Mol Cancer Ther 2007, 6:253-261
312. Yin JJ, Mohammad KS, Kakonen SM, Harris S, Wu-Wong JR, Wessale JL, Padley RJ, Garrett IR, Chirgwin JM, Guise TA: A causal role for endothelin-1 in the pathogenesis of osteoblastic bone metastases, Proc Natl Acad Sci U S A 2003, 100:10954-10959
313. Carducci MA, Jimeno A: Targeting bone metastasis in prostate cancer with endothelin receptor antagonists, Clin Cancer Res 2006, 12:6296s-6300s
314. Khodorova A, Navarro B, Jouaville LS, Murphy JE, Rice FL, Mazurkiewicz JE, Long-Woodward D, Stoffel M, Strichartz GR, Yukhananov R, Davar G: Endothelin-B receptor activation triggers an endogenous analgesic cascade at

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

sites of peripheral injury, Nat Med 2003, 9:1055-1061
315. Hans G, Deseure K, Adriaensen H: Endothelin-1-induced pain and hyperalgesia: a review of pathophysiology, clinical manifestations and future therapeutic options, Neuropeptides 2008, 42:119-132
316. Buckanovich RJ, Facciabene A, Kim S, Benencia F, Sasaroli D, Balint K, Katsaros D, O'Brien-Jenkins A, Gimotty PA, Coukos G: Endothelin B receptor mediates the endothelial barrier to T cell homing to tumors and disables immune therapy, Nat Med 2008, 14:28-36
317. Corder R, Douthwaite JA, Lees DM, Khan NQ, Viseu Dos Santos AC, Wood EG, Carrier MJ: Endothelin-1 synthesis reduced by red wine, Nature 2001, 414:863-864
318. Spinella F, Rosano L, Di Castro V, Decandia S, Albini A, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A: Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits the endothelin axis and downstream signaling pathways in ovarian carcinoma, Mol Cancer Ther 2006, 5:1483-1492
319. Kajiyama H, Shibata K, Terauchi M, Morita T, Ino K, Mizutani S, Kikkawa F: Neutral endopeptidase 24.11/CD10 suppresses progressive potential in ovarian carcinoma in vitro and in vivo, Clin Cancer Res 2005, 11:1798-1808
320. Smollich M, Gotte M, Fischgrabe J, Macedo LF, Brodie A, Chen S, Radke I, Kiesel L, Wulfing P: ETAR antagonist ZD4054 exhibits additive effects with aromatase inhibitors and fulvestrant in breast cancer therapy, and improves in vivo efficacy of anastrozole, Breast Cancer Res Treat 2010, 123:345-357
321. Russo A, Bronte G, Rizzo S, Fanale D, Di Gaudio F, Gebbia N, Bazan V: Anti-endothelin drugs in solid tumors, Expert Opin Emerg Drugs 2010, 15:27-40
322. James ND, Caty A, Borre M, Zonnenberg BA, Beuzeboc P, Morris T, Phung D, Dawson NA: Safety and efficacy of the specific endothelin-A receptor antagonist ZD4054 in patients with hormone-resistant prostate cancer and bone metastases who were pain free or mildly symptomatic: a double-blind, placebo-controlled, randomised, phase 2 trial, Eur Urol 2009, 55:1112-1123
323. Growcott JW: Preclinical anticancer activity of the specific endothelin A receptor antagonist ZD4054, Anticancer Drugs 2009, 20:83-88
324. Inagaki H, Bishop AE, Escrig C, Wharton J, Allen-Mersh TG, Polak JM: Localization of endothelinlike immunoreactivity and endothelin binding sites in human colon, Gastroenterology 1991, 101:47-54
325. Inagaki H, Bishop AE, Yura J, Polak JM: Localization of endothelin-1 and its binding sites to the nervous system of the human colon, J Cardiovasc Pharmacol 1991, 17 Suppl 7:S455-457
326. Inagaki H, Bishop AE, Eimoto T, Polak JM: Autoradiographic localization of endothelin-1 binding sites in human colonic cancer tissue, J Pathol 1992, 168:263-267
327. Asham EH, Loizidou M, Taylor I: Endothelin-1 and tumour development, Eur J Surg Oncol 1998, 24:57-60
328. Aliev G, Smith MA, Seyidova D, Neal ML, Shi J, Loizidou M, Turmaine M, Friedland RP, Taylor I, Burnstock G, Perry G, Lamanna JC: Increased expression of NOS and ET-1 immunoreactivity in human colorectal metastatic liver tumours is associated with selective depression of constitutive NOS immunoreactivity in vessel endothelium, J Submicrosc Cytol Pathol 2002, 34:37-50
329. Shankar A, Loizidou M, Aliev G, Fredericks S, Holt D, Boulos PB, Burnstock G, Taylor I: Raised endothelin 1 levels in patients with colorectal liver metastases, Br J Surg 1998, 85:502-506
330. Egidy G, Juillerat-Jeanneret L, Korth P, Bosman FT, Pinet F: The endothelin system in normal human colon, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000, 279:G211-222

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

331. Egidy G, Juillerat-Jeanneret L, Jeannin JF, Korth P, Bosman FT, Pinet F: Modulation of human colon tumor-stromal interactions by the endothelin system, Am J Pathol 2000, 157:1863-1874
332. Ali H, Dashwood M, Dawas K, Loizidou M, Savage F, Taylor I: Endothelin receptor expression in colorectal cancer, J Cardiovasc Pharmacol 2000, 36:S69-71
333. Hoosein MM, Dashwood MR, Dawas K, Ali HM, Grant K, Savage F, Taylor I, Loizidou M: Altered endothelin receptor subtypes in colorectal cancer, Eur J Gastroenterol Hepatol 2007, 19:775-782
334. Ali H, Loizidou M, Dashwood M, Savage F, Sheard C, Taylor I: Stimulation of colorectal cancer cell line growth by ET-1 and its inhibition by ET(A) antagonists, Gut 2000, 47:685-688
335. Thornberry NA, Lazebnik Y: Caspases: enemies within, Science 1998, 281:1312-1316
336. Eberl LP, Valdenaire O, Saintgiorgio V, Jeannin JF, Juillerat-Jeanneret L: Endothelin receptor blockade potentiates FasL-induced apoptosis in rat colon carcinoma cells, Int J Cancer 2000, 86:182-187
337. Peduto Eberl L, Bovey R, Juillerat-Jeanneret L: Endothelin-receptor antagonists are proapoptotic and antiproliferative in human colon cancer cells, Br J Cancer 2003, 88:788-795
338. Giles RH, van Es JH, Clevers H: Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer, Biochim Biophys Acta 2003, 1653:1-24
339. Cohen MM, Jr.: Molecular dimensions of gastrointestinal tumors: some thoughts for digestion, Am J Med Genet A 2003, 122A:303-314
340. Grant K, Knowles J, Dawas K, Burnstock G, Taylor I, Loizidou M: Mechanisms of endothelin 1-stimulated proliferation in colorectal cancer cell lines, Br J Surg 2007, 94:106-112
341. Sorby LA, Kleiveland CR, Andersen SN, Bukholm IR, Jacobsen MB: The endothelin axis in the metastatic process of colon carcinoma, Anticancer Res 2011, 31:861-869
342. Peeters CF, Thomas CM, Sweep FC, Span PN, Wobbes T, Ruers TM: Elevated serum endothelin-1 levels in patients with colorectal cancer; relevance for prognosis, Int J Biol Markers 2000, 15:288-293
343. Arun C, Swift B, Porter KE, West KP, London NJ, Hemingway DM: The role of big endothelin-1 in colorectal cancer, Int J Biol Markers 2002, 17:268-274
344. Lloyd GM, Neal CP, Arun C, London NJ, Hemingway DM: The prognostic value of circulating big endothelin-1 in patients undergoing potentially curative resection for colorectal cancer, Colorectal Dis 2011, 13:290-295
345. Arun C, London NJ, Hemingway DM: Prognostic significance of elevated endothelin-1 levels in patients with colorectal cancer, Int J Biol Markers 2004, 19:32-37
346. Portera CA, Jr., Berman RS, Ellis LM: Molecular determinants of colon cancer metastasis, Surg Oncol 1998, 7:183-195
347. Folkman J: How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? G.H.A. Clowes memorial Award lecture, Cancer Res 1986, 46:467-473
348. Ferrara N: Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications, Semin Oncol 2002, 29:10-14
349. Guba M, Seeliger H, Kleespies A, Jauch KW, Bruns C: Vascular endothelial growth factor in colorectal cancer, Int J Colorectal Dis 2004, 19:510-517
350. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM: Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer, Cancer Res 1995, 55:3964-3968

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

351. Warren RS, Yuan H, Matli MR, Gillett NA, Ferrara N: Regulation by vascular endothelial growth factor of human colon cancer tumorigenesis in a mouse model of experimental liver metastasis, J Clin Invest 1995, 95:1789-1797

352. Stoeltzing O, Liu W, Reinmuth N, Parikh A, Ahmad SA, Jung YD, Fan F, Ellis LM: Angiogenesis and antiangiogenic therapy of colon cancer liver metastasis, Ann Surg Oncol 2003, 10:722-733

353. Werther K, Christensen IJ, Brunner N, Nielsen HJ: Soluble vascular endothelial growth factor levels in patients with primary colorectal carcinoma. The Danish RANX05 Colorectal Cancer Study Group, Eur J Surg Oncol 2000, 26:657-662

354. Hsu JY, Wakelee HA: Monoclonal antibodies targeting vascular endothelial growth factor: current status and future challenges in cancer therapy, BioDrugs 2009, 23:289-304

355. Grimshaw MJ: Endothelins and hypoxia-inducible factor in cancer, Endocr Relat Cancer 2007, 14:233-244

356. Lee KJ, Kim MK, Park YH, Seol HJ, Lim JE, Lee JN, Oh MJ: Vascular endothelial growth factor induces endothelin-1 production via matrix metalloproteinase-2 rather than endothelin-converting enzyme-1, Hypertens Pregnancy 2007, 26:189-199

357. Rassidakis GZ, Jones D, Lai R, Ramalingam P, Sarris AH, McDonnell TJ, Medeiros LJ: BCL-2 family proteins in peripheral T-cell lymphomas: correlation with tumour apoptosis and proliferation, J Pathol 2003, 200:240-248

358. Kouvaraki MA, Korapati AL, Rassidakis GZ, Tian L, Zhang Q, Chiao P, Ho L, Evans DB, Claret FX: Potential role of Jun activation domain-binding protein 1 as a negative regulator of p27kip1 in pancreatic adenocarcinoma, Cancer Res 2006, 66:8581-8589

359. Porstmann T, Kiessig ST: Enzyme immunoassay techniques. An overview, J Immunol Methods 1992, 150:5-21

360. Avrameas S: Amplification systems in immunoenzymatic techniques, J Immunol Methods 1992, 150:23-32

361. Leen E: The detection of occult liver metastases of colorectal carcinoma, J Hepatobiliary Pancreat Surg 1999, 6:7-15

362. Leveson SH, Wiggins PA, Giles GR, Parkin A, Robinson PJ: Deranged liver blood flow patterns in the detection of liver metastases, Br J Surg 1985, 72:128-130

363. Nakamura T, Moriyasu F, Ban N, Nishida O, Tamada T, Kawasaki T, Sakai M, Uchino H: Quantitative measurement of abdominal arterial blood flow using image-directed Doppler ultrasonography: superior mesenteric, splenic, and common hepatic arterial blood flow in normal adults, J Clin Ultrasound 1989, 17:261-268

364. Leen E, Goldberg JA, Anderson JR, Robertson J, Moule B, Cooke TG, McArdle CS: Hepatic perfusion changes in patients with liver metastases: comparison with those patients with cirrhosis, Gut 1993, 34:554-557

365. Leen E, Angerson WJ, Warren H, Goldberg JA, Leiberman DP, Cooke TG, McArdle CS: Hepatic arterial haemodynamics changes following intra-arterial angiotensin II infusion: duplex/colour Doppler sonography, Clin Radiol 1993, 47:321-324

366. Leen E, Goldberg JA, Robertson J, Angerson WJ, Sutherland GR, Cooke TG, McArdle CS: Early detection of occult colorectal hepatic metastases using duplex colour Doppler sonography, Br J Surg 1993, 80:1249-1251

367. Leen E, Angerson WJ, Wotherspoon H, Moule B, Cooke TG, McArdle CS: Comparison of the Doppler perfusion index and intraoperative ultrasonography in diagnosing colorectal liver metastases. Evaluation with

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

postoperative follow-up results, Ann Surg 1994, 220:663-667
368. Leen E, Angerson WG, Cooke TG, McArdle CS: Prognostic power of Doppler perfusion index in colorectal cancer. Correlation with survival, Ann Surg 1996, 223:199-203
369. Yarmenitis SD, Kalogeropoulou CP, Hatjikondi O, Ravazoula P, Petsas T, Siamblis D, Kalfarentzos F: An experimental approach of the Doppler perfusion index of the liver in detecting occult hepatic metastases: histological findings related to the hemodynamic measurements in Wistar rats, Eur Radiol 2000, 10:417-424
370. Roumen RM, Scheltinga MR, Slooter GD, van der Linden AW: Doppler perfusion index fails to predict the presence of occult hepatic colorectal metastases, Eur J Surg Oncol 2005, 31:521-527
371. Carter R, Anderson JH, Cooke TG, Baxter JN, Angerson WJ: Splanchnic blood flow changes in the presence of hepatic tumour: evidence of a humoral mediator, Br J Cancer 1994, 69:1025-1026
372. Levin ER: Endothelins, N Engl J Med 1995, 333:356-363
373. Warner TD, Battistini B, Allcock GH, Vane JR: Endothelin ETA and ETB receptors mediate vasoconstriction and prostanoid release in the isolated kidney of the rat, Eur J Pharmacol 1993, 250:447-453
374. Dorsam RT, Gutkind JS: G-protein-coupled receptors and cancer, Nat Rev Cancer 2007, 7:79-94
375. Bhalla A, Haque S, Taylor I, Winslet M, Loizidou M: Endothelin receptor antagonism and cancer, Eur J Clin Invest 2009, 39 Suppl 2:74-77
376. Bagnato A, Spinella F, Rosano L: The endothelin axis in cancer: the promise and the challenges of molecularly targeted therapy, Can J Physiol Pharmacol 2008, 86:473-484
377. Bagnato A, Rosano L: The endothelin axis in cancer, Int J Biochem Cell Biol 2008, 40:1443-1451
378. Nelson J, Bagnato A, Battistini B, Nisen P: The endothelin axis: emerging role in cancer, Nat Rev Cancer 2003, 3:110-116
379. Asham E, Shankar A, Loizidou M, Fredericks S, Miller K, Boulos PB, Burnstock G, Taylor I: Increased endothelin-1 in colorectal cancer and reduction of tumour growth by ET(A) receptor antagonism, Br J Cancer 2001, 85:1759-1763
380. Ali H, Dashwood M, Dawas K, Loizidou M, Savage F, Taylor I: Endothelin receptor expression in colorectal cancer, J Cardiovasc Pharmacol 2000, 36:S69-71
381. Del Bufalo D, Di Castro V, Biroccio A, Varmi M, Salani D, Rosano L, Trisciuoglio D, Spinella F, Bagnato A: Endothelin-1 protects ovarian carcinoma cells against paclitaxel-induced apoptosis: requirement for Akt activation, Mol Pharmacol 2002, 61:524-532
382. Del Bufalo D, Di Castro V, Biroccio A, Salani D, Rosano L, Spinella F, Bagnato A: Endothelin-1 acts as a survival factor in ovarian carcinoma cells, Clin Sci (Lond) 2002, 103 Suppl 48:302S-305S
383. Carducci MA, Jimeno A: Targeting bone metastasis in prostate cancer with endothelin receptor antagonists, Clin Cancer Res 2006, 12:6296s-6300s
384. Bagnato A, Cirilli A, Salani D, Simeone P, Muller A, Nicotra MR, Natali PG, Venuti A: Growth inhibition of cervix carcinoma cells in vivo by endothelin A receptor blockade, Cancer Res 2002, 62:6381-6384
385. Boldrini L, Gisfredi S, Ursino S, Faviana P, Lucchi M, Melfi F, Mussi A, Basolo F, Fontanini G: Expression of endothelin-1 is related to poor prognosis in non-small cell lung carcinoma, Eur J Cancer 2005, 41:2828-2835
386. Mai HQ, Zeng ZY, Feng KT, Ye YL, Zhang CQ, Liang WJ, Guo X, Mo HY,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

Hong MH: Therapeutic targeting of the endothelin a receptor in human nasopharyngeal carcinoma, Cancer Sci 2006, 97:1388-1395
387. Grant K, Knowles J, Dawas K, Burnstock G, Taylor I, Loizidou M: Mechanisms of endothelin 1-stimulated proliferation in colorectal cancer cell lines, Br J Surg 2007, 94:106-112
388. Nelson JB, Udan MS, Guruli G, Pflug BR: Endothelin-1 inhibits apoptosis in prostate cancer, Neoplasia 2005, 7:631-637
389. Kawamura T, Ono K, Morimoto T, Akao M, Iwai-Kanai E, Wada H, Sowa N, Kita T, Hasegawa K: Endothelin-1-dependent nuclear factor of activated T lymphocyte signaling associates with transcriptional coactivator p300 in the activation of the B cell leukemia-2 promoter in cardiac myocytes, Circ Res 2004, 94:1492-1499
390. Kadekaro AL, Andrade LN, Floeter-Winter LM, Rollag MD, Virador V, Vieira W, Castrucci AM: MT-1 melatonin receptor expression increases the antiproliferative effect of melatonin on S-91 murine melanoma cells, J Pineal Res 2004, 36:204-211
391. Rosano L, Spinella F, Di Castro V, Nicotra MR, Dedhar S, de Herreros AG, Natali PG, Bagnato A: Endothelin-1 promotes epithelial-to-mesenchymal transition in human ovarian cancer cells, Cancer Res 2005, 65:11649-11657
392. Eberl LP, Valdenaire O, Saintgiorgio V, Jeannin JF, Juillerat-Jeanneret L: Endothelin receptor blockade potentiates FasL-induced apoptosis in rat colon carcinoma cells, Int J Cancer 2000, 86:182-187
393. Peduto Eberl L, Bovey R, Juillerat-Jeanneret L: Endothelin-receptor antagonists are proapoptotic and antiproliferative in human colon cancer cells, Br J Cancer 2003, 88:788-795
394. Rosano L, Bagnato A: Convergent pathways link the endothelin A receptor to the beta-catenin: the beta-arrestin connection, Cell Cycle 2009, 8:1462-1463
395. Knowles JP, Shi-Wen X, Haque SU, Bhalla A, Dashwood MR, Yang S, Taylor I, Winslet MC, Abraham DJ, Loizidou M: Endothelin-1 stimulates colon cancer adjacent fibroblasts, Int J Cancer 2012, 130:1264-1272
396. Grimshaw MJ: Endothelins and hypoxia-inducible factor in cancer, Endocr Relat Cancer 2007, 14:233-244
397. Yamashita K, Discher DJ, Hu J, Bishopric NH, Webster KA: Molecular regulation of the endothelin-1 gene by hypoxia. Contributions of hypoxia-inducible factor-1, activator protein-1, GATA-2, AND p300/CBP, J Biol Chem 2001, 276:12645-12653
398. Bagnato A, Spinella F, Rosano L: Emerging role of the endothelin axis in ovarian tumor progression, Endocr Relat Cancer 2005, 12:761-772
399. Spinella F, Rosano L, Di Castro V, Decandia S, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A: Endothelin-1 and endothelin-3 promote invasive behavior via hypoxia-inducible factor-1alpha in human melanoma cells, Cancer Res 2007, 67:1725-1734
400. Wulfing P, Kersting C, Tio J, Fischer RJ, Wulfing C, Poremba C, Diallo R, Bocker W, Kiesel L: Endothelin-1-, endothelin-A-, and endothelin-B-receptor expression is correlated with vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in breast cancer, Clin Cancer Res 2004, 10:2393-2400
401. Spinella F, Rosano L, Elia G, Di Castro V, Natali PG, Bagnato A: Endothelin-1 stimulates cyclooxygenase-2 expression in ovarian cancer cells through multiple signaling pathways: evidence for involvement of transactivation of the epidermal growth factor receptor, J Cardiovasc Pharmacol 2004, 44 Suppl 1:S140-143
402. Bagnato A, Natali PG: Endothelin receptors as novel targets in tumor therapy, J Transl Med 2004, 2:16

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

403. Smollich M, Gotte M, Fischgrabe J, Macedo LF, Brodie A, Chen S, Radke I, Kiesel L, Wulfing P: ETAR antagonist ZD4054 exhibits additive effects with aromatase inhibitors and fulvestrant in breast cancer therapy, and improves in vivo efficacy of anastrozole, Breast Cancer Res Treat 2010, 123:345-357
404. Russo A, Bronte G, Rizzo S, Fanale D, Di Gaudio F, Gebbia N, Bazan V: Anti-endothelin drugs in solid tumors, Expert Opin Emerg Drugs 2010, 15:27-40
405. James ND, Caty A, Borre M, Zonnenberg BA, Beuzeboc P, Morris T, Phung D, Dawson NA: Safety and efficacy of the specific endothelin-A receptor antagonist ZD4054 in patients with hormone-resistant prostate cancer and bone metastases who were pain free or mildly symptomatic: a double-blind, placebo-controlled, randomised, phase 2 trial, Eur Urol 2009, 55:1112-1123
406. Growcott JW: Preclinical anticancer activity of the specific endothelin A receptor antagonist ZD4054, Anticancer Drugs 2009, 20:83-88
407. Inagaki H, Bishop AE, Yura J, Polak JM: Localization of endothelin-1 and its binding sites to the nervous system of the human colon, J Cardiovasc Pharmacol 1991, 17 Suppl 7:S455-457
408. Inagaki H, Bishop AE, Eimoto T, Polak JM: Autoradiographic localization of endothelin-1 binding sites in human colonic cancer tissue, J Pathol 1992, 168:263-267
409. Asham EH, Loizidou M, Taylor I: Endothelin-1 and tumour development, Eur J Surg Oncol 1998, 24:57-60
410. Shankar A, Loizidou M, Aliev G, Fredericks S, Holt D, Boulos PB, Burnstock G, Taylor I: Raised endothelin 1 levels in patients with colorectal liver metastases, Br J Surg 1998, 85:502-506
411. Aliev G, Smith MA, Seyidova D, Neal ML, Shi J, Loizidou M, Turmaine M, Friedland RP, Taylor I, Burnstock G, Perry G, Lamanna JC: Increased expression of NOS and ET-1 immunoreactivity in human colorectal metastatic liver tumours is associated with selective depression of constitutive NOS immunoreactivity in vessel endothelium, J Submicrosc Cytol Pathol 2002, 34:37-50
412. Egidy G, Juillerat-Jeanneret L, Korth P, Bosman FT, Pinet F: The endothelin system in normal human colon, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000, 279:G211-222
413. Egidy G, Juillerat-Jeanneret L, Jeannin JF, Korth P, Bosman FT, Pinet F: Modulation of human colon tumor-stromal interactions by the endothelin system, Am J Pathol 2000, 157:1863-1874
414. Sorby LA, Kleiveland CR, Andersen SN, Bukholm IR, Jacobsen MB: The endothelin axis in the metastatic process of colon carcinoma, Anticancer Res 2011, 31:861-869
415. Hoosein MM, Dashwood MR, Dawas K, Ali HM, Grant K, Savage F, Taylor I, Loizidou M: Altered endothelin receptor subtypes in colorectal cancer, Eur J Gastroenterol Hepatol 2007, 19:775-782
416. Bradley PJ, MacLennan K, Brakenhoff RH, Leemans CR: Status of primary tumour surgical margins in squamous head and neck cancer: prognostic implications, Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2007, 15:74-81
417. Graveland AP, de Maaker M, Braakhuis BJ, de Bree R, Eerenstein SE, Bloemena E, Leemans CR, Brakenhoff RH: Molecular detection of minimal residual cancer in surgical margins of head and neck cancer patients, Cell Oncol 2009, 31:317-328
418. Brennan JA, Mao L, Hruban RH, Boyle JO, Eby YJ, Koch WM, Goodman SN, Sidransky D: Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck, N Engl J Med 1995, 332:429-435
419. van Houten VM, Leemans CR, Kummer JA, Dijkstra J, Kuik DJ, van den Brekel MW, Snow GB, Brakenhoff RH: Molecular diagnosis of surgical margins

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149

and local recurrence in head and neck cancer patients: a prospective study, Clin Cancer Res 2004, 10:3614-3620
420. Poeta ML, Manola J, Goldenberg D, Forastiere A, Califano JA, Ridge JA, Goodwin J, Kenady D, Saunders J, Westra W, Sidransky D, Koch WM: The Ligamp TP53 Assay for Detection of Minimal Residual Disease in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Surgical Margins, Clin Cancer Res 2009, 15:7658-7665
421. Hinsley EE, Hunt S, Hunter KD, Whawell SA, Lambert DW: Endothelin-1 stimulates motility of head and neck squamous carcinoma cells by promoting stromal-epithelial interactions, Int J Cancer 2012, 130:40-47
422. Arun C, Swift B, Porter KE, West KP, London NJ, Hemingway DM: The role of big endothelin-1 in colorectal cancer, Int J Biol Markers 2002, 17:268-274
423. Peeters CF, Thomas CM, Sweep FC, Span PN, Wobbes T, Ruers TM: Elevated serum endothelin-1 levels in patients with colorectal cancer; relevance for prognosis, Int J Biol Markers 2000, 15:288-293
424. Arun C, London NJ, Hemingway DM: Prognostic significance of elevated endothelin-1 levels in patients with colorectal cancer, Int J Biol Markers 2004, 19:32-37
425. Lloyd GM, Neal CP, Arun C, London NJ, Hemingway DM: The prognostic value of circulating big endothelin-1 in patients undergoing potentially curative resection for colorectal cancer, Colorectal Dis 2011, 13:290-295
426. Oppo K, Leen E, Angerson WJ, McArdle CS: The effect of resecting the primary tumour on the Doppler Perfusion Index in patients with colorectal cancer, Clin Radiol 2000, 55:791-793

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
16/04/2024 19:54:12 EEST - 18.224.67.149