

ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Ο ρόλος των μετρήσεων μεταλλοπρωτεϊνών στο περιφερικό αίμα σαν
βιοδείκτες εξωμητρίου κύησης και γυναικολογικού καρκίνου»**

Νιδήμος Αστέριος
Ειδικευόμενος Ιατρός Μαιευτικής-Γυναικολογίας

ΛΑΡΙΣΑ
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2016

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: Αλέξανδρος Δαπόντε, Αναπληρωτής Καθηγητής
Μέλος: Αντώνιος Γκαράς, Επίκουρος Καθηγητής
Μέλος: Μαρια Σάτρα, ΕΔΙΠ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Καταρχάς θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της διπλωματικής εργασίας μου, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Αλέξανδρο Ι. Δαπόντε για την εύστοχη επιλογή του θέματος και τη βοήθεια του, καθώς και όλους του διδάσκοντες του μεταπτυχιακού προγράμματος που όλο αυτό το διάστημα προσπάθησαν να μοιραστούν μαζί μας τη γνώση και την εμπειρία ετών. Πανω από όλα όμως ευχαριστώ τη σύζυγο μου Θεοδωρή Μαρία για την απεριόριστη υπομονή και συμπαράσταση της.

Νιδήμος Αστέριος

Περίληψη

Οι μεταλλοπρωτεΐνάσες αποτελούν μια υπεροικογένεια ενζύμων, ανήκουν στις ένδοπεπτιδάσες, και εμπλέκονται σε πολλές βιολογικές λειτουργίες των κυττάρων. Από τις μεταλλοπρωτεΐνάσες ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μετζινκίνες, οι οποίες στο καταλυτικό τους κέντρο φέρουν ένα κατιόν ψευδαργύρου σε σχηματισμό με τρία κατάλοιπα ιστιδίνης. Με την πρωτεολυτική τους δράση και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους διαδραματίζουν πρωτεύοντα ρόλο στην ομοίωση του εξωκυττάρου χώρου. Η στενή σχέση τους με τις διαδικασίες που διέπουν την μετανάστευση, την προσκόλληση και τη διήθηση των κυττάρων, έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας τα τελευταία τριάντα τουλάχιστον χρόνια. Η μετανάστευση των κυττάρων και η διείσδυση τους σε γειτονικούς ιστούς χαρακτηρίζουν κυρίως δύο ιδιαίτερες καταστάσεις στο κύκλο της ζωής, την εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου και την εμβρυϊκή ανάπτυξη, και την καρκινογένεση. Οι μεταλλοπρωτεΐνάσες κατέχουν πρωταγωνιστικό ρόλο τόσο στην εμφύτευση της τροφοβλάστης, όσο και στην διήθηση των καρκινικών κυττάρων στους πέριξ ιστούς.

Η εξωμήτριος κύηση και ο γυναικολογικός καρκίνος αποτελούν δύο από τα πιο σημαντικά αίτια νοσηρότητας και θνητότητας για τον γυναικείο πληθυσμό παγκοσμίως. Στη σύγχρονη Μαιευτική και Γυναικολογία η έγκαιρη διάγνωση, η ορθή προσέγγιση και η αποτελεσματική θεραπεία των νοσημάτων αυτών δεν είναι πάντα εύκολη. Επιπλέον των συνηθισμένων εργαστηριακών εξετάσεων, των κλινικών και απεικονιστικών ευρημάτων στη σύγχρονη ιατρική, καθημερινά γίνεται χρήση εξειδικευμένων βιοδεικτών. Ως βιοδείκτης ορίζεται οποιαδήποτε μετρήσιμη ουσία, στα διάφορα βιολογικά υλικά, η οποία είναι ενδεικτική μιάς παθολογικής κατάστασης. Η μέτρηση βιοδεικτών στο περιφερικό αίμα είναι η πλέον συνηθισμένη πρακτική, και εφαρμόζεται πλέον σε καθημερινή βάση για πληθώρα διαγνωστικών προβλημάτων και με τεράστια συμβολή στην επίλυση τους.

Η χρήση των μεταλλοπρωτεΐνών ως βιοδείκτη, μετρήσιμο σε δείγματα περιφερικού αίματος, για τη διάγνωση, την παρακολούθηση και την πρόγνωση της εξωμητρίου κύησης και του γυναικολογικού καρκίνου έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας των τελευταίων ετών. Ο ρόλος των μεταλλοπρωτεΐνών μέχρι σήμερα στην καθημερινή πρακτική είναι περιορισμένος, υπάρχουν όμως οι ενδείξεις εκείνες, ώστε να συνεχιστεί η ερευνητική προσπάθεια για την ανάδειξη ορισμένων σε χρήσιμους και προσιτούς βιοδείκτες. Απώτερος σκοπός δεν είναι άλλος από τη μείωση της νοσηρότητας και της θνητότητας των γυναικών τόσο της αναπαραγωγικής όσο και της μετεμμηνοπαυσιακής ηλικίας. Η ADAM-12 είναι ένας πολλά υποσχόμενος βιοδείκτης τόσο για τη

διαφοροδιάγνωση της εξωμητρίου κύησης όσο και για την σταδιοποίηση του καρκίνου των ωοθηκών. Απο τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα φαίνεται πως στο μέλλον η μέτρηση των μεταλλοπρωτεϊνών στο περιφερικό αίμα μπορεί να αποτελέσει πολύτιμο εργαλείο στα χέρια των κλινικών Μαιευτήρων και Γυναικολόγων στη διαχείριση τόσο της εξωμητρίου κύησης όσο και του γυναικολογικού καρκίνου.

Abstract

Metalloproteinases are a superfamily of enzymes belonging to endopeptidases, and are involved in many biological functions of cells. From metalloproteinases particular interest are metzincins which in their catalytic site have a zinc ion bind with three histidine residues. With their proteolytic activity and their specific characteristics play a key role in the homeostasis of the extracellular matrix. Their close relationship with the procedures governing the migration, adhesion and infiltration of cells, has been investigated over at least the last thirty years. The migration of cells and their penetration into neighboring tissues mainly characterize two specific situations in the life cycle, the implantation of the fertilized egg and embryonic development and carcinogenesis. Metalloproteinases holding a key role both in the implantation of the trophoblast, and the infiltration of tumor cells to surrounding tissues.

The ectopic pregnancy and gynecological cancer are two of the most important causes of morbidity and mortality for the female population worldwide. In modern obstetrics and gynecology early diagnosis, proper approach and effective treatment of these diseases is not always easy. In addition to the routine laboratory tests, clinical and imaging findings, in modern medicine specific biomarkers are used in daily base. A biomarker is defined as any measurable substance in various biological materials, which is indicative of a pathology. The measurement of biomarkers in peripheral blood is the most common practice, and is now applied on a daily basis for a variety of diagnostic problems and enormous contribution to their solution.

The use of metalloproteinases as biomarker, measurable in peripheral blood samples for diagnosis, monitoring and prognosis of ectopic pregnancy and gynecological cancer has been the subject of years of research. The role of metalloproteinases to date in everyday practice is limited but there are those signs, to continue the research effort to highlight some into useful and accessible biomarkers. The ultimate objective is none other than to reduce the morbidity and mortality of women both in reproductive and postmenopausal age. The ADAM-12 is a promising biomarker for both the differential of ectopic pregnancy and for the staging of ovarian cancer. From the recent literature it seems that in future the measurement of metalloproteinases in the peripheral blood can be a valuable tool for clinical Obstetricians and Gynecologists in the management of both ectopic pregnancy and gynecological cancer.

YHOMNHMA

MMP : Matrix metalloproteinases

ADAM : A disintegrin and metalloproteinase

ADAMTS : A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs

PAPP-A : Pregnancy-associated plasma protein A

MT-MMP : Membrane-type matrix metalloproteinase

IGFBP : Insulin-like growth factor binding protein

IGF : Insulin-like growth factor

TIMP : Tissue inhibitors of metalloproteinases

ERK : Extracellular signal-regulated kinase

MAPK :Mitogen-activated protein kinase

MBP : Eosinophil major basic protein

ITGB : Integrin beta

Tie-2 : Tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domain – 2

Flk-1 : Fetal Liver Kinase 1

VCAM-1 : Vascular cell adhesion protein 1

ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay

LCN-2 : Lipocalin-2

PGF_{a2}-FPR : Prostaglandin F2 α – Receptor

NFAT : Nuclear factor of activated T-cells

HPV : Human papilloma virus

HIV : Human Immunodeficiency Virus

ASCUS : Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance

LGSIL : Low Grade Squamous. Intraepithelial Lesions

HGSIL : High Grade Squamous Intraepithelial Lesion

CIN : Cervical intraepithelial neoplasia

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
1.1. Μεταλλοπρωτεΐνάσες γενικά	14
1.2. Μεταλλοπρωτεΐνάσες θεμέλιας ουσίας – MMPs	15
1.2.1. Εισαγωγή	15
1.2.2. Κολλαγενάσες	15
1.2.3. Ζελατινάσες	16
1.2.4. Στρομελυσίνες.....	16
1.2.5. Ματριλυσίνες	16
1.2.6. Μεμβρανικού τύπου	16
1.2.7. Ετερογενής ομάδα	16
1.2.8. Ο ρόλος των MMPs	17
1.3. Μεμβρανικού τύπου MMPs	19
1.4. Μεταλλοπρωτεΐνάσες με τομέα ντισιντεγκρίνης – ADAMs	21
1.4.1. Εισαγωγή	21
1.4.2. Ο ρόλος των ADAMs	23
1.5. ADAMs με μοτίβα Θρομβοσποντίνης	24
1.6. Παπαλυσίνες	25
1.7. Αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνάσεων – TIMPs	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΕΣ ΚΑΙ ΚΥΗΣΗ	27
2.1. MMPs και κύηση	27
2.2. ADAMs και κύηση	27
2.3. ADAMTs και κύηση	28
2.4. PAPP-A και κύηση	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΕΞΩΜΗΤΡΙΑ ΚΥΗΣΗ.....	30
3.1. Γενικό μέρος	30
3.2. Μεταλλοπρωτεΐνάσες και εξωμήτρια κύηση	32

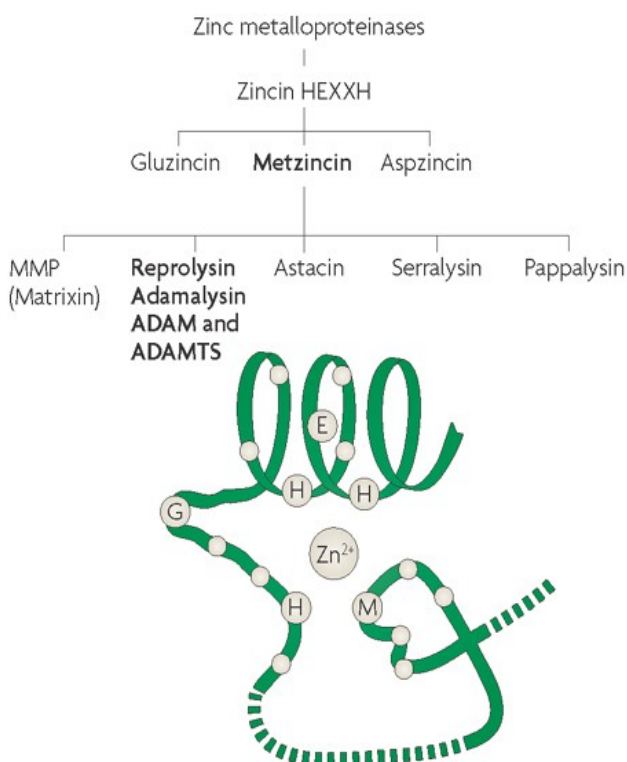
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ	34
4.1. Γενικά	34
4.2.1. Καρκίνος του ενδομητρίου.....	34
4.2.2. Μεταλλοπρωτεΐνάσες και καρκίνος του ενδομητρίου	36
4.3.1. Καρκίνος του τραχήλου	37
4.3.2. Μεταλλοπρωτεΐνάσες και καρκίνος του τραχήλου	39
4.4.1. Καρκίνος των ωοθηκών	41
4.4.2. Μεταλλοπρωτεΐνάσες και καρκίνος των ωοθηκών	43
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	46
 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	50

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Μεταλλοπρωτεΐνάσες γενικά

Στην ετερογενή ομάδα των μεταλλοπρωτεΐνών έχουν αναγνωριστεί μέχρι σήμερα περίπου πενήντα οικογένειες. Το κοινό τους χαρακτηριστικό γνώρισμα είναι η ενζυμική λειτουργία πεπτιδάσης που διεκπεραιώνουν διαμέσου ενός καταλυτικού κέντρου το οποίο φέρει ένα κατιόν μετάλλου, συνήθως ψευδαργύρου, αλλά και κοβαλτίου. Στο καταλυτικό κέντρο το κατιόν βρίσκεται συνδεδεμένο με κατάλοιπα αμινοξέων και ένα ασταθές μόριο νερού.

Οι Μετζινκίνες, μια ευρέως διαδεδομένη ομάδα μεταλλοπρωτεΐνών, αποτελούνται από πολύ γνωστές οικογένειες μεταλλοπρωτεΐνών όπως οι μεταλλοπρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας (MMPs), οι μεταλλοπρωτεΐνάσες με τομέα ντισιντεγκρίνης (ADAMs), οι ADAMs με μοτίβα θρομβοσποντίνης (ADAMTs), οι σεραλυσίνες των βακτηρίων, οι παπαλυσίνες, οι αστακίνες κ.α. (Εικόνα 1). Το κοινό χαρακτηριστικό στην υπεροικογένεια των Μετζινκινών είναι η παρουσία ενός κατιόντος ψευδαργύρου στο καταλυτικό κέντρο το οποίο συνδέεται με τρία κατάλοιπα ιστιδίνης, με μία πεπτιδική ακολουθία HExxHxxGxxH η οποία είναι παρούσα σε όλες τις πρωτεολυτικά ενεργές μετζινκίνες, και μια χαρακτηριστική, αυστηρώς διατηρημένη θηλιά με κατάλοιπο μεθειονίνης η οποία δημιουργεί μια υδροφοβική σχισμή για το κατιόν ψευδαργύρου. Η κατάλυση των



Εικόνα 1 (2)

προσδεδεμένα στην κυτταρική μεμβράνη(1). Πιο σύγχρονες προσεγγίσεις θεωρούν πως τα ένζυμα αυτά δε περιορίζονται μόνο στην πρωτεόλυση της εξωκυττάριας ουσίας. Μέσω της πρωτεόλυσης

πρωτεϊνικών υποστρωμάτων των μετζινκινών διενεργείται μέσω της ενεργοποίησης ενός ασταθούς μορίου νερού με τη συμμετοχή του διατηρημένου κατάλοιπου του γλουταμινικού, το οποίο στη συνέχεια αλληλεπιδρά σε ένα δεσμό στόχο στην καρβοξυλική ομάδα του υποστρώματος(1).

Οι βασικές λειτουργίες αυτών των μεταλλοπρωτεΐνών αφορούν την ρύθμιση και την τροποποίηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας μέσω της πρωτεολυτικής αποδόμησης των πρωτεϊνών που την αποτελούν και την απελευθέρωση βιολογικά ενεργών πρωτεϊνών όπως κυτταροκίνες, αυξητικούς παράγοντες κ.α.

από τα πρόδρομα μόρια τους που βρίσκονται

διαμεμβρανικών πρωτεϊνών συμμετέχουν στη μεταγωγή σήματος και διαδραματίζουν πρωτεύοντα ρόλο σε διαδικασίες όπως η αγγειογένεση, η καρκινογένεση, η μετάσταση, η φλεγμονή, η ανοσιακή απάντηση, η επούλωση και η ρύθμιση της διαπερατότητας των αγγείων (3).

1.2. Μεταλλοπρωτεϊνάσες θεμέλιας ουσίας – MMPs

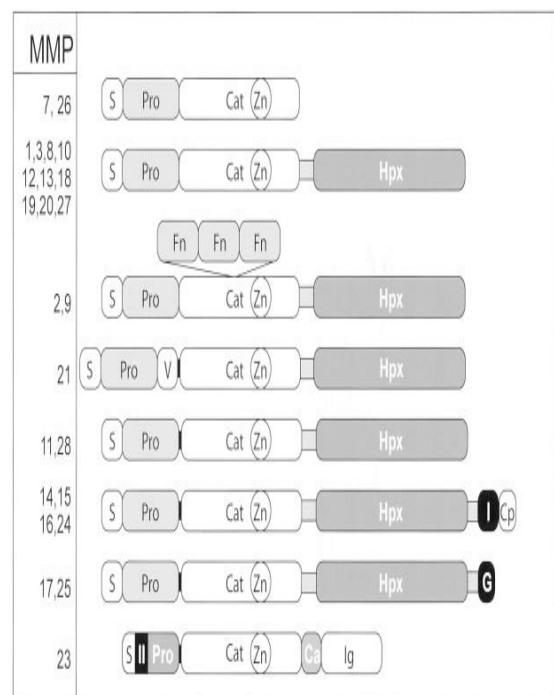
1.2.1. Εισαγωγή

Η πρώτη φορά που ανιχνεύθηκε δραστηριότητα μεταλλοπρωτεϊνάσης ήταν μίας κολλαγενάσης στην ουρα ενός αναπτυσσόμενου γυρίνου στη φάση της μεταμόρφωσης. Από τις 24 συνολικά που έχουν απομονωθεί στα σπονδυλωτά, στον άνθρωπο έχουν ταυτοποιηθεί 23 ενεργές MMPs. Τα κοινά χαρακτηριστικά γνωρίσματα της οικογένειας αυτής, είναι η ομόλογη νουκλεοτιδική αλληλουχία με την MMP-1, η παρουσία ενός μοτίβου κυστεΐνης στα πρόδρομα μόρια που διατηρεί τις MMPs στη μορφή προενζύμου (proMMPs) και το μοτίβο HexGHxxGxxH στο καταλυτικό κέντρο στο οποίο συνδέεται το κατιόν ψευδαργύρου. Εξαιρεση αποτελεί η MMP-23, στην οποία λείπει το μοτίβο κυστεΐνης στο προπεπτίδιο. Οι MMPs γενικά αποτελούνται από 4 διακριτές επικράτειες: την προεπικράτεια, την καταλυτική επικράτεια, τη συνδετική περιοχή και την επικράτεια της αιμοπηξίνης (Εικόνα 2). Ανάλογα με το αν βρίσκονται σταθερά συνδεδεμένες στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, με την ειδικότητα τους ως προς τα υποστρώματα, την ομοιότητα στη νουκλεοτιδική αλληλουχία, και την οργάνωση των επικρατειών, χωρίζονται σε έξι υποομάδες. (4)

Οι υποομάδες αυτές είναι οι κολλαγενάσες, οι Ζελατινάσες, οι Στρομελυσίνες, οι Ματριλυσίνες, οι μεμβρανικού τύπου (MT-MMP) και μια ετερογενή ομάδα.

1.2.2. Κολλαγενάσες

Στην υποομάδα αυτή ανήκουν οι MMP-1, MMP-8, και MMP-13. Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αυτών των ενζύμων είναι η ικανότητα τους να κόβουν το διάμεσο κολλαγόνο τύπου I,II και III σε ένα συγκεκριμένο σημείο στα 3/4 από το αμινοτελικό άκρο. Τα ένζυμα αυτά μπορούν πρωτεολύσουν πληθώρα πρωτεϊνικών μορίων που ανήκουν στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία ή ανεξάρτητα από αυτήν (4).



Εικόνα 2

1.2.3. Ζελατινάσες

Η ζελατινάση Α (MMP-2) και η ζελατινάση Β (MMP-9) ανήκουν στην υποομάδα αυτή. Τα ένζυμα αυτά μπορούν εύκολα και πρωτεολύουν τα μετουσιωμένα κατάλοιπα κολλαγόνου, τις ζελατίνες. Στην καταλυτική τους επικράτεια έχουν τρεις επαναλήψεις φιμπρονεκτίνης II, οι οποίες μπορούν να συνδέονται στη ζελατίνη, τα κολλαγόνα και τη λαμινίνη. Η MMP-2 σε αντίθεση με την MMP-9 μπορεί και πρωτεολύει το κολλαγόνο I, II και III (4).

1.2.4. Στρομελυσίνες

Σε αυτές ανήκουν οι MMP-3 και η MMP-10, στρομελυσίνη 1 και 2 αντίστοιχα, τα υποστρώματα των οποίων είναι κοινά. Η καταλυτική ικανότητα όμως της MMP-3 φαίνεται ότι υπερτερεί έναντι της MMP-10. Εκτός από την πρωτεόλυση των συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας η MMP-3 θεωρείται υπεύθυνη για την ενεργοποίηση αρκετών proMMP. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η συμμετοχή της στην πλήρη ενεργοποίηση της MMP-1 με την πρωτεόλυση του μερικώς πρωτεολυμένου proMMP-1. Η MMP-11 αν και αποκαλείται στρομελυσίνη 3 ταξινομείται συνήθως στην ετερογενή ομάδα των MMPs καθώς παρουσιάζει διαφορές τόσο στην αλληλουχία όσο και στα υποστρώματα (4).

1.2.5. Ματριλυσίνες

Οι ματριλυσίνες χαρακτηρίζονται από την έλλειψη της επικράτειας της αιμοπηξίνης και αποτελούνται από την MMP-7 και την MMP-26. Η MMP-7 εκτός από την πρωτεόλυση διαφόρων συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας, συμμετέχει στην ενεργοποίηση διαφόρων μορίων της κυτταρικής επιφάνειας όπως : του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (proTNF-a), του, της E-καντχερίνης και του Fas-ligand (4).

1.2.6. Μεμβρανικού τύπου

Στην ομάδα αυτή ανήκουν έξι μεταλλοπρωτεϊνάσες, από τις οποίες οι MMP-14, MMP-15, MMP-16 και MMP-24 είναι τύπου I διαμεμβρανικές πρωτεΐνες και δύο είναι προσδεδεμένες σε μόριο γλυκοσυλφωσατυδιλινοσιτόλης MMP-17 και MMP-25. Η ομάδα αυτή λόγω της ιδιαιτερότητας της θα παρουσιαστεί σε ξεχωριστή ενότητα(4).

1.2.7. Ετερογενής ομάδα

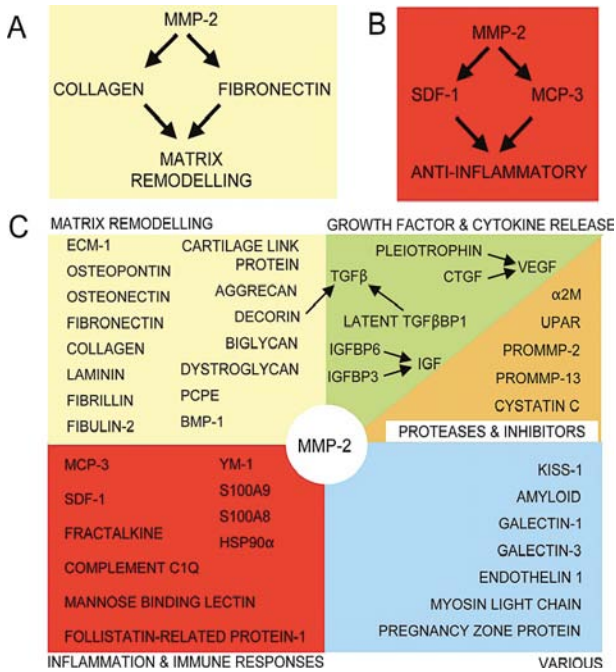
Συνολικά επτά MMPs δεν ταξινομούνται σε καμία από τις παραπάνω υποομάδες. Η MMP-12 εκφράζεται κυρίως στα μακροφάγα κύτταρα και είναι απαραίτητη για τη μετανάστευση τους. Εκτός από την ελαστίνη πρωτεολύει πληθώρα άλλων πρωτεϊνών. Η MMP-19 απομονώθηκε αρχικά στο ήπαρ και ως ένα προερχόμενο από τα T λεμφοκύτταρα αυτοαντιγόνο σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα. Η MMP-20 πρωτεολύει την αμελογενίνη, η οποία εντοπίζεται στο σμάλτο των νεοσχηματιζόμενων δοντιών. Η MMP-23, ή όπως αλλιώς αποκαλείται MMP χωρίς συστοιχία κυστεΐνης εκφράζεται κυρίως στους ιστούς της αναπαραγωγής. Το ένζυμο αυτό στερείται του

μοτίβου κυστεΐνης στο προπεπτιδίο και της επικράτειας της αιμοπηξίνης, αντιθέτως διαθέτει μια περιοχή πλούσια σε κυστεΐνη ακολουθούμενη από μια ακόμη περιοχή όμοια ανοσοσφαιρίνης. Έχει προταθεί η ύπαρξη και τύπου II, της οποίας η διαμεμβρανική περιοχή βρίσκεται στο αμινοτελικό άκρο του προπεπτιδίου. Η τελευταία προσθήκη στην οικογένεια των μεταλλοπρωτεϊνών θεμέλιας ουσίας είναι η MMP-28 η οποία εκφράζεται κυρίως στα κερατινοκύτταρα.(4)

1.2.8. Ο ρόλος των MMPs

Η πρώτη και βασικότερη λειτουργική ιδιότητα των MMPs δεν είναι άλλη από την αποδόμηση των συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και της βασικής μεμβράνης. Η εξωκυττάρια θεμέλια ουσία δεν είναι τίποτε άλλο από ένα πολύπλοκο πλέγμα δομικών και σηματοδοτικών μορίων το οποίο προσφέρει δυναμική στήριξη σε κύτταρα και ιστούς ενώ επιπρόσθετα εμπεριέχει ενσωματωμένες πληροφορίες οι οποίες διαμορφώνουν την κυτταρική συμπεριφορά. Είναι γενικά παραδεκτό ότι κάθε συστατικό της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας μπορεί να αποδομηθεί από μία ή περισσότερες MMPs. Πολυάριθμες έρευνες έχουν αποδείξει πως οι MMPs εμπλέκονται σχεδόν σε όλες τις βιολογικές διεργασίες που περιλαμβάνουν την αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας καθ' όλη τη διάρκεια του κύκλου ζωής των θηλαστικών, από την εμφύτευση του εμβρύου, μέχρι τον κυτταρικό θάνατο (5). Η πρωτεολυτική δράση τους έχει συνδεθεί με τη διαδικασία της οστεογένεσης και της αγγειογένεσης κατά την ανάπτυξη, ενώ φαίνεται ότι κατέχουν πρωταγωνιστικό ρόλο στην επούλωση των τραυμάτων, την αναδιαμόρφωση των ιστών (εμμηνορυσία), την αναπαραγωγική διαδικασία και τη φυσική ανοσιακή απάντηση. Σαν συνέπεια αυτών, η διαταραχή της ισορροπίας στην έκφραση και τη λειτουργικότητα των MMPs σχετίζεται με ένα ευρύ φάσμα παθολογικών καταστάσεων όπως, οι χρόνιες φλεγμονώδεις νόσοι και ο καρκίνος. Η συμμετοχή των MMPs σε όλες αυτές τις φυσιολογικές και παθολογικές διαδικασίες αρχικά είχε θεωρηθεί ότι αφορούσε κυρίως το ρόλο τους στην αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Νεότερα δεδομένα όμως έχουν αναδείξει έναν άλλο σημαντικό ρόλο των ενζύμων αυτών, την απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων μέσω αποδόμησης των κυτοκινών που τους μεταφέρουν και μπλοκάρουν τη βιολογική τους δράση (5).

Οι πολυάριθμες βιολογικές διεργασίες στις οποίες εμπλέκεται κάθε μια MMP σχετίζονται αποκλειστικά και μόνο με το υπόστρωμα το οποίο κάθε φορά υφίσταται την πρωτεολυτική δράση της (3). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η MMP-2 (Εικόνα 3) ένα πολυλειτουργικό ένζυμο



Εικόνα 3

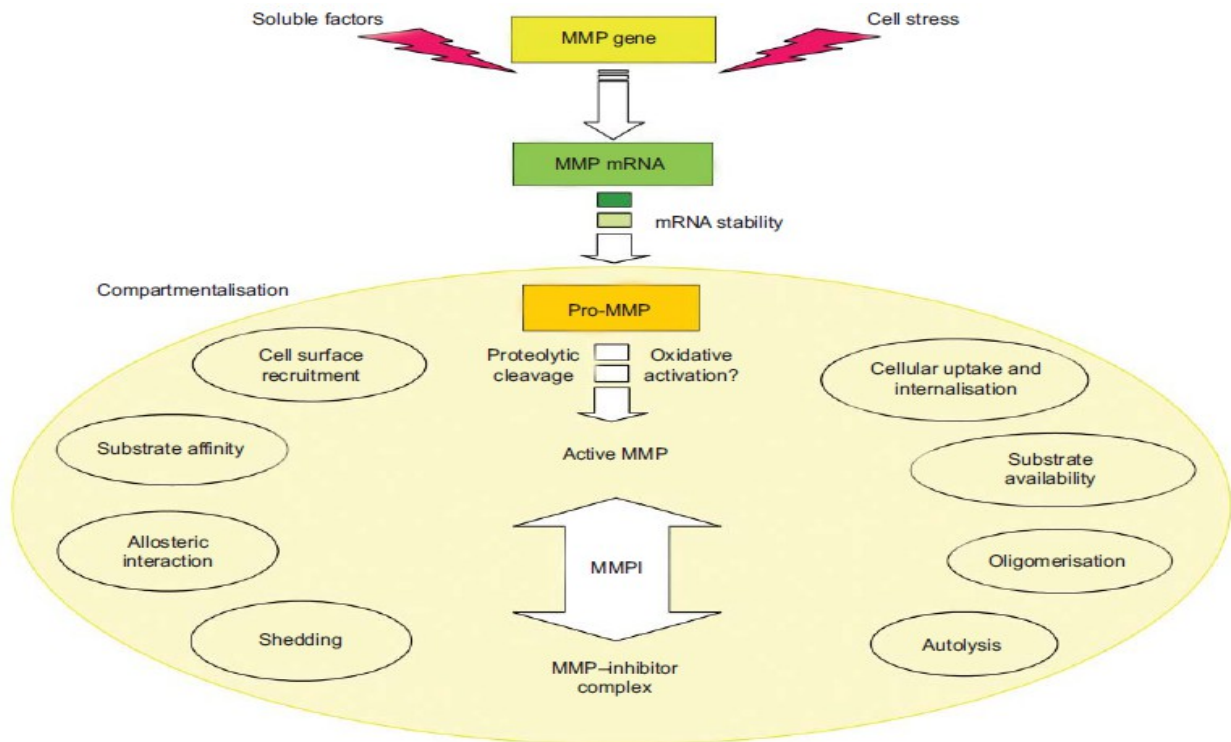
συγκεκριμένα η MMP-20 εκφράζεται μόνο στον οδοντικό ιστό, ενώ η έκφραση της MMP-28 φαίνεται πως περιορίζεται μόνο στα γεννητικά κύτταρα. Επιπλέον και οι MMPs -7, -8, -13, έχει βρεθεί πως εκφράζονται σε περιορισμένους κυτταρικούς τύπους και ιστούς(6).

Εξαιτίας του μεγάλου φάσματος των υποστρωμάτων αλλά και της μη ειδικής έκφρασης τους από πολυάριθμους κυτταρικούς τύπους, οι MMPs θεωρούνται σημαντικοί ρυθμιστές της ομοιόστασης και της ανοσίας εντός του δικτύου επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων και των ιστών. Είναι ευνόητο πως η ανεξέλεγκτη δραστηριότητα των MMPs μπορεί εύκολα να αποβεί καταστροφική και να οδηγήσει σε κατάρρευση της ομοιόστασης και για το λόγο αυτό η ενζυμική δραστηριότητα τους ρυθμίζεται σε πολλαπλά επίπεδα (6). Όπως φαίνεται στην Εικόνα 4, η καταλυτική ικανότητα των MMPs ελέγχεται αυστηρά σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα. Το πρώτο επίπεδο αφορά στην γονιδιακή έκφραση η οποία υπόκειται σε μεταγραφική και μετά-μεταγραφική ρύθμιση στην οποία εμπλέκονται διάφορες κυτταροκίνες, αυξητικοί παράγοντες, επιγενετικοί μηχανισμοί όπως η μεθυλίωση του DNA και η ακετυλίωση των ιστονών, η κυτταροπλασματική σταθερότητα του mRNA και η δράση miRNA. Το επόμενο στάδιο ελέγχου αφορά στη διαμερισματοποίηση, το οποίο ξεκινά άμεσα μετά-μεταφραστικά και αφορά στην κατευθυνόμενη έκκριση των MMPs στον εξωκυττάριο χώρο ανάλογα με τα ερεθίσματα που δέχεται το κύτταρο από το περιβάλλον στο οποίο βρίσκεται. Όπως έχει αναφερθεί οι MMPs αρχικά συντίθενται ως πρόδρομα μόρια (προένζυμα) και περιέχουν μια προ-επικράτεια η οποία είναι απαραίτητο να αφαιρεθεί ώστε το ένζυμο να γίνει ενεργό. Οι μισές σχεδόν MMPs, μεταξύ αυτών και όλες οι μεμβρανικού τύπου ενεργοποιούνται στο σύστημα Golgi με τη διαμεσολάβηση μιας κονβερτάσης,

το οποίο μπορεί να διαδραματίσει ρόλο κλειδί τόσο στην αναδιάταξη της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, όσο και στην ανοσιακή απάντηση και την ανάπτυξη. Με το παράδειγμα αυτό γίνεται εύκολα κατανοητό πως κάθε μία MMP μπορεί να διαδραματίζει πολλαπλούς διαφορετικούς ρόλους, από την αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και την ανοσιακή απάντηση έως την μεταγωγή σήματος και την κυτταρική επικοινωνία.

Ένα ακόμα χαρακτηριστικό γνώρισμα των MMPs είναι ότι εκφράζονται από μεγάλη ποικιλία κυττάρων και ιστών και μόνο ορισμένες παρουσιάζουν ειδικότητα στην έκφραση τους. Πιο

της φουρίνης. Οι υπόλοιπες εκκρίνονται ως προ-ένζυμα pro-MMPs στον εξωκυττάριο χώρο όπου και τελικά ενεργοποιούνται είτε από άλλες ενεργές MMPs είτε από άλλες πρωτεάσες. Το τελευταίο στάδιο ελέγχου της ενζυμικής δραστηριότητας αφορά τη συμμετοχή των ιστικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών TIMPs (6).



Εικόνα 4

1.3. Μεμβρανικού τύπου MMPs

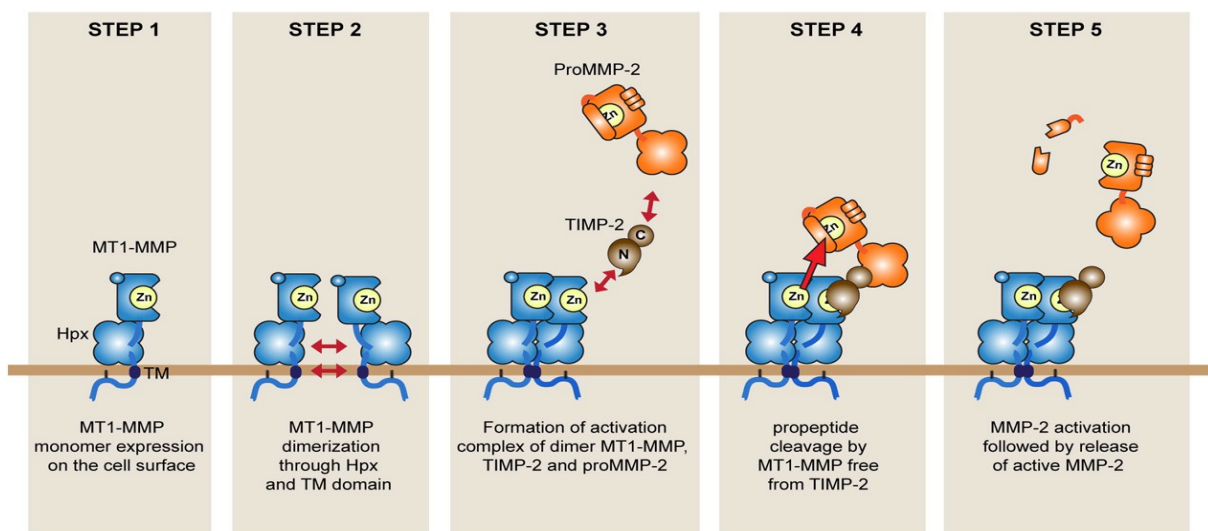
Η υποομάδα των μεμβρανικού τύπου μεταλλοπρωτεϊνών θεμέλιας ουσίας (MT-MMPs) αποτελείται όπως έχει ήδη αναφερθεί από έξι ένζυμα. Η πρώτη που ανακαλύφθηκε ήταν η MT1-MMP (MMP-14) η οποία χαρακτηρίστηκε ως μεμβρανικός ενεργοποιητής της proMMP-2. Τα αμέσως επόμενα χρόνια απομονώθηκαν και οι υπόλοιπες: MT2-MMP (MMP-15), MT3-MMP (MMP-16), MT4-MMP (MMP-17), MT5-MMP (MMP-24), MT6-MMP (MMP-26).

Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό γνώρισμα των MT-MMPs είναι η σύνδεση τους στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, μία ιδιότητα η οποία έχει ιδιαίτερη σημασία για τη ρύθμιση της κυτταρικής συμπεριφοράς. Διακρίνονται δύο διαφορετικοί τύποι σύνδεσης, οι MT4-MMP και MT6-MMP προσδένονται στην επιφάνεια του κυττάρου μέσω μίας άγκυρας γλυκόσυλφωσφατιδυλνισιτόλης (GPI) ενώ οι υπόλοιπες διαθέτουν διαμεμβρανική επικράτεια. Ένα άλλο χαρακτηριστικό γνώρισμα των MT-MMPs είναι ότι εκφράζονται στην κυτταρική επιφάνεια πάντα ως ενεργά ένζυμα. Η ενεργοποίησή τους γίνεται στο σύστημα Golgi, εξαιτίας σε ένα χαρακτηριστικό μοτίβο αμινοξέων RX(K/R)R στο καρβοξυτελικό άκρο των προενζύμων το

οποίο αναγνωρίζεται και αποκόπτεται από εξειδικευμένα ένζυμα, τις φουρίνες. Τέλος όσες MT-MMPs διαθέτουν διαμεμβρανική επικράτεια φέρουν και μια εσοχή 8-9 αμινοξέων στο καταλυτικό κέντρο η οποία δεν παρατηρείται στα υπόλοιπα μέλη των MMPs (7).

Η MT1-MMP αποτελεί μία από τις πλέον μελετημένες MMPs. Διαθέτει το μεγαλύτερο φάσμα υποστρωμάτων της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας ανάμεσα στις υπόλοιπες MT-MMPs και εκφράζεται σε πολλούς τύπους κυττάρων όπως οι ινοβλάστες, οι οστεοβλάστες, τα επιθηλιακά κύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα λιποκύτταρα, τα B- και T- λεμφοκύτταρα κ.α. Στη διαδικασία της ενεργοποίησης της proMMP-2 φαίνεται ότι δύο μόρια MT1-MMP σχηματίζουν ένα διμερές στο οποίο η μία καταλυτική επικράτεια αναστέλλεται από τον TIMP-2. Η proMMP-2 η οποία εμφανίζει συνάφεια για το κάρβοξυτελικό άκρο του TIMP-2 προσελκύεται και έτσι σχηματίζεται ένα τετραμερές σύμπλεγμα στο οποίο το ελεύθερο μόριο MT1-MMP κόβει το μόριο της proMMP-2 στο Asn37-Leu σημείο της προεπικράτειας επάγοντας την αυτοκατάλυση του ενδιάμεσου μορίου της MMP-2 (Εικόνα 5). Η ταυτόχρονη καταλυτική δραστηριότητα τόσο της MT1-MMP όσο και της MMP-2 είναι απαραίτητη για την αποδόμηση της βασικής μεμβράνης και φαίνεται ότι κατέχει σημαντικό ρόλο στην επέκταση των επιθηλιακών καρκινικών κυττάρων *in vivo* (7). Η ενεργοποίηση της proMMP-2 καταλύεται επίσης από τις MT2-MMP, την MT3-MMP και την MT5-MMP χωρίς τη συμμετοχή του TIMP-2.

Συνολικά η υποομάδα αυτή και ειδικότερα η MT1-MMP τόσο μέσω της ενεργοποίησης της MMP-2 όσο και μέσω της αποδόμησης του κολλαγόνου και των άλλων συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας προάγει την διήθηση και μετανάστευση των κυττάρων σε μια σειρά φυσιολογικών και παθολογικών διαδικασιών όπως : η διήθηση, μετάσταση και αγγειογένεση στον καρκίνο, την ανάπτυξη των οστών, την επούλωση των τραυμάτων, τη φλεγμονώδη διαδικασία, την αθηροσκλήρωση, τη μορφοποίηση των επιθηλίων, τη ρευματοειδή αρθρίτιδα κ.α. (7).



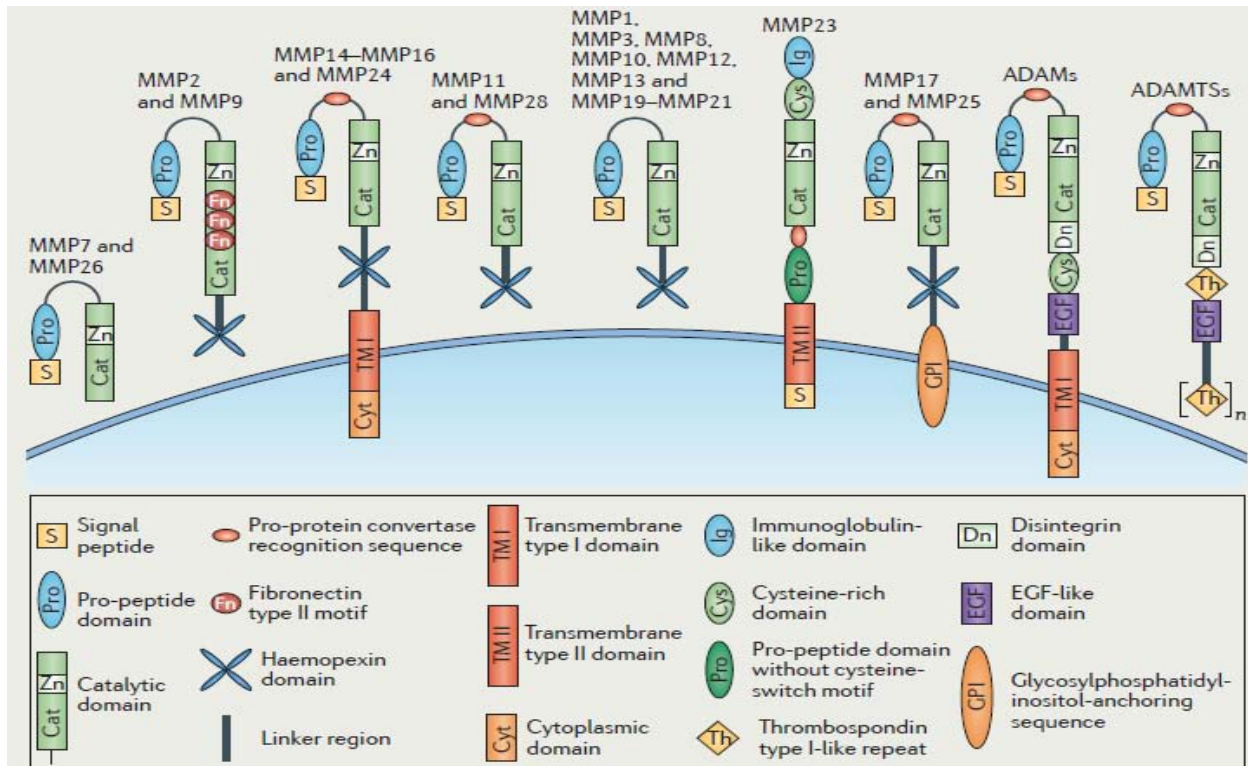
Εικόνα 5

1.4. Μεταλλοπρωτεΐνάσες με τομέα ντισιντεγκρίνης – ADAMs

1.4.1. Εισαγωγή

Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει τύπου I διαμεμβρανικές και διαλυτές γλυκοπρωτεΐνες (ADAM9, 10, 12,28) (8) οι οποίες φέρουν τομέα ντισιντεγκρίνης και μεταλλοπρωτεΐνάσης και διαθέτουν ποικιλία λειτουργιών όπως η πρωτεολυτική δραστηριότητα, η κυτταρική προσκόλλη, η μετανάστευση των κυττάρων και η μεταγωγή σήματος. Η πλέον γνωστή λειτουργία των διαμεμβρανικών ADAMs αφορά τη συμμετοχή τους στην αποδόμηση πρωτεϊνών της κυτταροπλασματικής μεμβράνης συμπεριλαμβανομένων λανθάνουσων μορφών αυξητικών παραγόντων, κυτταροκινών και των υποδοχέων τους καθώς και μορίων κυτταρικής προσκόλλησης. Η δυσλειτουργία της αποδομητικής λειτουργίας των ADAMs αποτελεί κρίσιμο στάδιο στην ανάπτυξη διάφορων παθολογικών καταστάσεων όπως η φλεγμονή, ο καρκίνος, καρδιαγγειακά νοσήματα, νευροεκφυλιστικά νοσήματα κ.α. Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί 40 διαφορετικές ADAMs στα θηλαστικά από τις οποίες 20 εκφράζονται στον άνθρωπο. Από αυτές μόνο 12 (ADAM8, 9, 10, 12, 15, 17, 19, 20, 21, 28, 30 και 33) περιλαμβάνουν λειτουργικό καταλυτικό κέντρο. Οι φυσιολογικές λειτουργίες των πρωτεολυτικά ανενεργών ADAMs (ADAM2, 7, 11, 18, 22, 23, 29 και 32) παραμένουν σε μεγάλο βαθμό άγνωστες αν και ορισμένα μέλη αυτής της ομάδας έχουν σημαντικούς ρόλους στην ανάπτυξη δρώντας βασικά σαν μόρια προσκόλλησης. Οι ADAMs εκφράζονται ευρέως στους ιστούς των θηλαστικών, ενώ ο αριθμός των υποστρωμάτων που υφίστανται πρωτεόλυση μεγαλώνει. Κάποια υποστρώματα φαίνεται πως αποτελούν στόχο πολλών ADAMs, ενώ ορισμένα εμφανίζουν ειδικότητα με ένα μόνο μέλος της οικογένειας (9).

Η γενικευμένη δομή μιας ADAM πρωτεΐνης συνίσταται από 8 διακριτές περιοχές ή επικράτειες. Μία τυπική πρωτεΐνη ADAM αποτελείται διαδοχικά από μια επικράτεια σήματος, μία προεπικράτεια, μία επικράτεια μεταλλοπρωτεΐνάσης, μία ντισιντεγκρίνης, μια επικράτεια πλούσια σε κυστεΐνη, μια επικράτεια όμοια του EGF(επιδερμικού αυξητικού παράγοντα), μια διαμεμβρανική επικράτεια και ένα ενδοκυτταρικό κάρβοξυτελικό άκρο (Εικόνα 6). Όπως οι περισσότερες πρωτεάσες έτσι και οι ADAMs αρχικά συντίθενται ως αδρανή προένζυμα. Όπως και με τις MMPs, αυτή η ανενεργή κατάσταση στις περισσότερες ADAMs οφείλεται στην αλληλεπίδραση ενός κατάλοιπου κυστεΐνης της προεπικράτειας με το ιόν ψευδαργύρου στην καταλυτική θέση. Για την ενεργοποίηση της πρωτεάσης απαιτείται η απομάκρυνση της προεπικράτειας με την ενζυμική δράση της φουρίνης ή με αυτοκατάλυση, ανάλογα με το συγκεκριμένο μέλος ADAM (10).

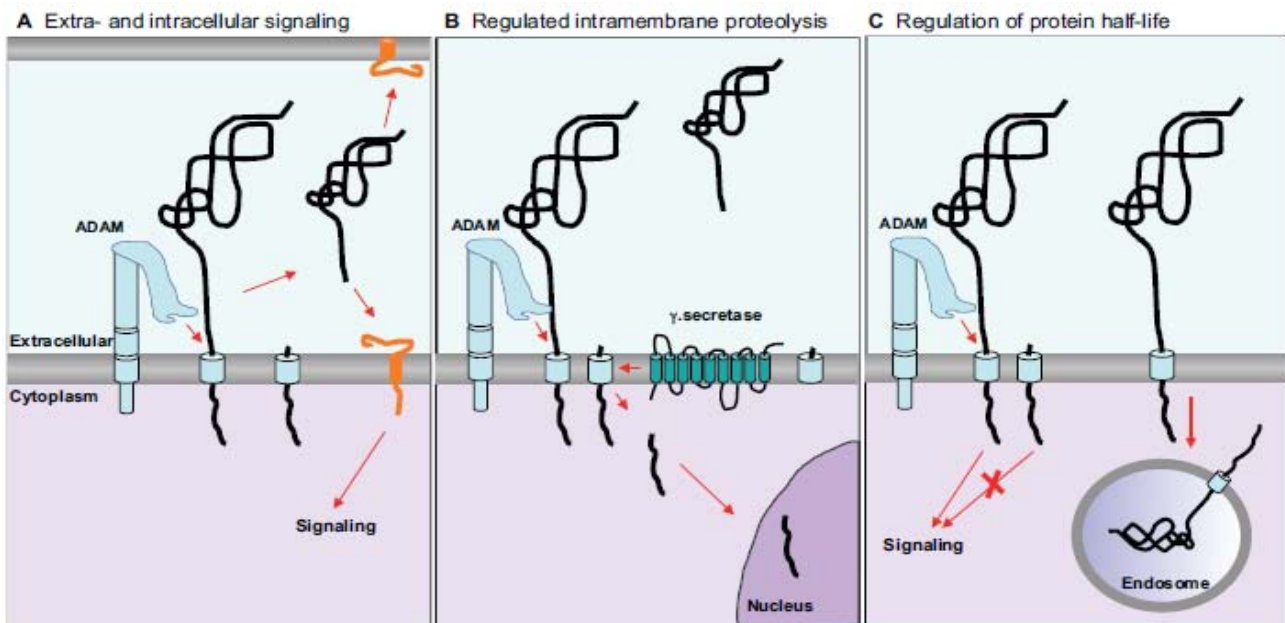


Εικόνα 6 (11)

Όπως έχουμε ήδη αναφερθεί, 12 μέλη της οικογένειας διαθέτουν πρωτεολυτική ικανότητα την οποία οφείλουν στη παρουσία της αλληλουχίας HexGHxxGxxHD στην επικράτεια μεταλλοπρωτεΐνάσης που διαθέτουν. Το καταλυτικό κέντρο των ADAMs χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας σφαιρικής δομής με δύο υπομονάδες μεταξύ των οποίων σχηματίζεται μια σχισμή όπου και βρίσκεται το κατιόν ψευδαργύρου. Η ρύθμιση της ενζυμικής ενεργότητας και ειδικότητας του καταλυτικού κέντρου ρυθμίζεται κυρίως από την πλούσια σε κυστεΐνη περιοχή. Οι επικράτειες μεταλλοπρωτεΐνάσης, ντισιντεγκρίνης και κυστεΐνης σχηματίζουν μία ημισεληνοειδή δομή επιτρέποντας τμήμα της επικράτειας κυστεΐνης να πλησιάσει το καταλυτικό κέντρο και να ρυθμίσει χωροταξιακά την λειτουργία του. Για τις ADAMs στις οποίες δεν είναι πρωτεολυτικά ενεργές, ο τομέας ντισιντεγκρίνης θεωρείται ότι προσδένεται σε ιντεγκρίνες και άλλα επιφανειακά μακρομόρια των κυττάρων ελέγχοντας την κυτταρική προσκόλληση χωρίς όμως να είναι εντελώς ξεκάθαρο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και το ενδοκυττάριο καρβοξυτελικό άκρο το οποίο ποικίλει στο μέγεθος, την αλληλουχία και την ικανότητα να συνδέεται με ενδοκυττάρια πρωτεΐνες (12). Η παρουσία καταλοίπων σερίνης, τυροσίνης και θρεονίνης, τα οποία αποτελούν θέσεις φωσφορυλίωσης από τις ενδοκυττάρια κινάσες στο καρβοξυτελικό άκρο των ADAMs, έχει οδηγήσει στην υπόθεση πως ο τομέας αυτός συμμετέχει στη ρύθμιση της λειτουργίας τους μέσα από μονοπάτια μεταγωγής σήματος του ενδο- και εξωκυττάρια χώρου (13).

1.4.2. Ο ρόλος των ADAMs

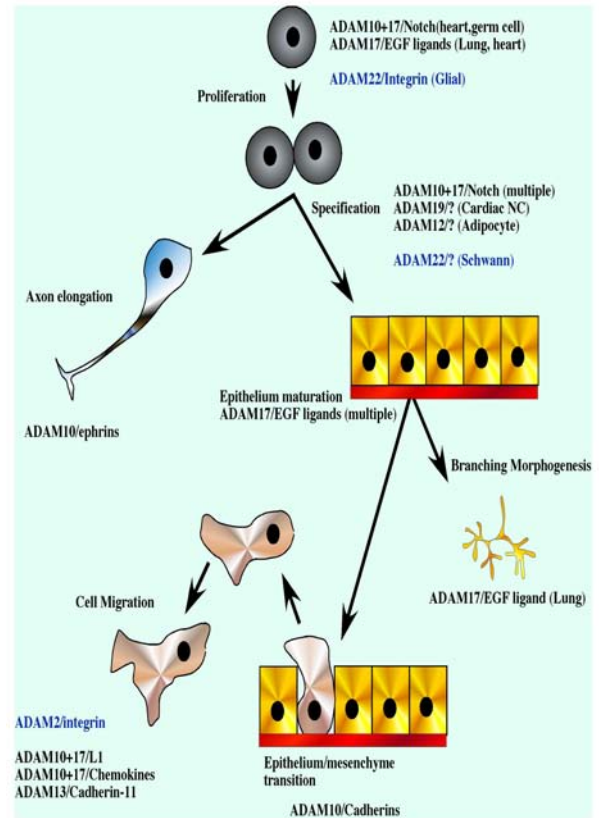
Οι πρωτεολυτικά ενεργές ADAMs μπορούν και ελέγχουν την τύχη των μορίων της κυτταρικής επιφάνειας με αρκετούς διαφορετικούς τρόπους μέσω της αποδόμησης τους. Η πρωτεολυτική τους δράση αφορά κυρίως διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες τύπου I και II και πρωτεΐνες συνδεδεμένες σε γλυκοσυλφωσφατίδυλινοσιτόλη (12). Αποδομώντας τις πρωτεΐνες αυτές στην εξωκυττάρια επιφάνεια του κυττάρου μπορεί να οδηγήσουν στη μεταγωγή σήματος εντός του ίδιου του κυττάρου ή εναλλακτικά τα απελευθερωμένα διαλυτά μόρια που προκύπτουν μπορούν να αλληλεπιδρούν με υποδοχείς σε γειτονικά κύτταρα σε κάποια απόσταση από το κύτταρο προέλευσης. Ένα επιπλέον αποτέλεσμα της αποδόμησης των πρωτεϊνών της κυτταρικής επιφάνειας είναι η ρύθμιση της ημίσειας ζωής των μορίων αυτών και η αδρανοποίηση υποδοχέων ή πρωτεϊνών κυτταρικής προσκόλλησης, μια διαδικασία που μπορεί να πραγματοποιείται παράλληλα με την ενδοκυττάρωση αυτών των πρωτεϊνών(12) (Εικόνα 7).



Εικόνα 7

Έχοντας αυτά υπ' όψιν είναι κατανοητό πως οι ADAMs ασκούν ένα μεγάλο φάσμα λειτουργιών άμεσα εξαρτώμενο από το υπόστρωμα που χρησιμοποιούν, το οποίο καθορίζεται από τον κυτταρικό τύπο και την διαμερισματοποίηση της έκφρασης τους. Είναι γνωστό πως ο μεταγραφικός έλεγχος, το εναλλακτικό μάτισμα, οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, η παρουσία αναστολέων (TIMPs), η αυτοαπόπτωση και η ενδοκυττάρια διακίνηση των ADAMs είναι καθοριστικοί παράγοντες για τη ρύθμιση της λειτουργίας τους ενώ επιπλέον παράγοντες όπως το ωσμωτικό και μηχανικό στρες, η ενεργοποίηση του υποδοχέα που συνδέεται με την G πρωτεΐνη, η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C, η αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου και η παρουσία αυξητικών παράγοντων μπορεί να τροποποιήσουν την ενζυμική δραστηριότητα των ADAMs(12).

Διάφορα πειραματικά μοντέλα σε ζώα έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα πως οι ADAMs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε όλα σχεδόν τα στάδια της εμβρυογένεσης (Εικόνα 8). Με την πληθώρα των υποστρωμάτων που διαθέτουν και την εκτεταμένη έκφραση τους σε πολλούς κυτταρικούς τύπους και ιστούς, εμπλέκονται και ελέγχουν λειτουργίες όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η κυτταρική διαφοροποίηση και εξειδίκευση, η επιμήκυνση κατά μήκος του άξονα, η μετανάστευση των κυττάρων και η δομική μορφοποίηση των οργάνων (14). Η δυσλειτουργία στη διαδικασία της αποδόμησης των εξωκυττάρων πρωτεϊνών αποτελεί κρίσιμο στάδιο σε μια σειρά σύνθετων παθολογικών καταστάσεων όπως ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η φλεγμονή και τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα (12).



Εικόνα 8

1.5. ADAMs με μοτίβα θρομβοσποντίνης

Η οικογένεια αυτή αριθμεί μέχρι σήμερα 19 μέλη, τα οποία παρουσιάζουν αρκετές ομοιότητες με τις ADAMs. Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό τους γνώρισμα τους είναι ή ύπαρξη επαναλαμβανόμενων μοτίβων θρομβοσποντίνης στο καρβοξυτελικό άκρο τους, στη θέση της επικράτειας όμοιας του EGF, του διαμεμβρανικού και κυτταροπλασματικού τομέα των ADAMs (15). Όλα τα μέλη της οικογένειας των ADAMTS εκκρίνονται στον εξωκυττάριο χώρο. Σε αντίθεση με τις ADAMs, οι ADAMTS διαθέτουν όλες πρωτεολυτικά ενεργό καταλυτικό κέντρο(9). Ανάλογα με το είδος του υποστρώματος, τη δομή και τη λειτουργία τους διακρίνονται σε υποομάδες: τις πρωτεογλυκανάσες (ADAMTS1, 4, 5, 8, 9,15 και 20) οι οποίες μπορούν και διασπούν πρωτεογλυκάνες που διαθέτουν δεσμούς θειϊκής χονδοϊτίνης, τις αμινο-προπεπτιδάσες του προκολλαγόνου (ADAMTS2, 3 και 14) οι οποίες συμμετέχουν στην ωρίμανση της τριπλής έλικας του κολλαγόνου, την ADAMTS13 που αποδομεί τον παράγοντα von-Willebrand, τις πρωτεάσες της θρομβοσποντίνης-5 (ADAMTS7 και 12), και άλλες 3 ορφανές υποομάδες οι οποίες

δεν έχουν ακόμα μελετηθεί εκτενώς (15).

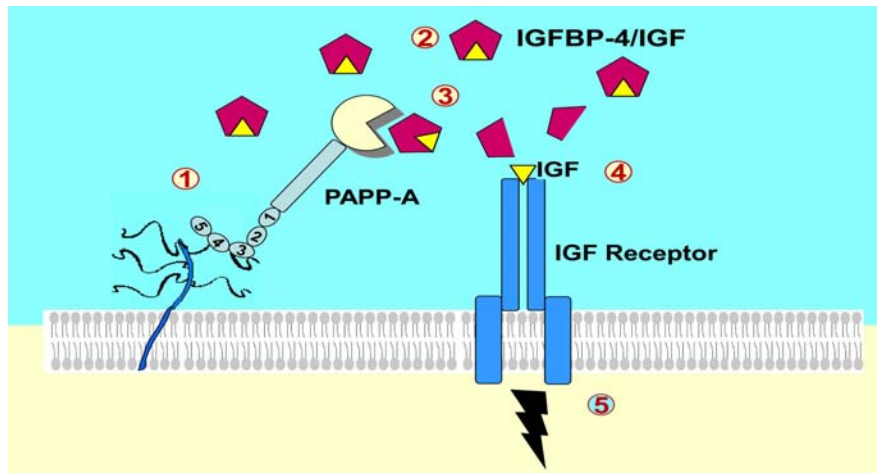
Αν και χαρακτηρίζονται ως ντισιντεγκρίνες, στην πράξη δε διαθέτουν την ικανότητα να συνδέονται με τις ιντεγκρίνες καθώς η επικράτεια αυτή φαίνεται πως στην πραγματικότητα αποτελεί μια περιοχή πλούσια σε κατάλοιπα κυστεΐνης η οποία συμμετέχει στη λειτουργία του καταλυτικού κέντρου. Η αλληλεπίδραση των ADAMTSs με τα συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας εξυπηρετείται δια μέσου μιας περιοχής 50 αμινοξέων η οποία μοιάζει με τις επαναλήψεις της θρομβοσποντίνης τύπου I και II και η οποία ακολουθείται από μια περιοχή 100 περίπου αμινοξέων με 10 διατηρημένα κατάλοιπα κυστεΐνης και εν συνεχεία από μια περισσότερο μεταβλητή περιοχή ελεύθερη κυστεΐνης (15).

Η έκφραση των ADAMTSs έχει ταυτοποιηθεί σε πλήθωρα ιστών και κυττάρων, καθώς διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στις διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την ανάπτυξη και την μορφοποίηση των διαφόρων δομών και οργάνων. Επιπλέον νεώτερα δεδομένα υποστηρίζουν πως η ενζυμική αποδόμηση των πρωτεογλυκανών σχετίζεται με διάφορες παθολογικές καταστάσεις της λειτουργίας των αγγείων όπως η αθηροσκλήρωση, την παθογένεια της αρθρίτιδας και τη φλεγμονή αλλά και τον καρκίνο. Όσον αφορά το τελευταίο φαίνεται πως στο μικροπεριβάλλον του όγκου αποτελούν ρυθμιστές στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ καρκινικών κυττάρων, στρώματος και ανοσοποιητικού συστήματος μιας και διαθέτουν τόσο ανταγωνιστικό όσο και αγωνιστικό ρόλο στην ανάπτυξη του καρκίνου (15).

1.6. Παπαλυσίνες

Η ανάλυση της δομής της PAPP-A ανέδειξε την παρουσία δύο δομικών μοτίβων που είναι χαρακτηριστικά των Μετζινκινών, την αλληλουχία με τα τρία κατάλοιπα ιστιδίνης στο καταλυτικό κέντρο HexxHxxGxxH και τη διατηρημένη θηλιά μεθειονίνης. Ωστόσο το μόριο της PAPP-A δεν διέθετε εκείνα τα στοιχεία ώστε να μπορέσει να ενταχθεί σε κάποια από έως τώρα γνωστές οικογένειες που αποτελούν τις Μετζινκίνες για τον λόγο αυτό αποτέλεσε το ιδρυτικό μέλος μια νέας οικογένειας. Το άλλο μέλος των παπαλυσινών είναι ένα ομολόγο μόριο της PAPP-A το οποίο διαθέτει κατα 46% όμοια αλληλουχία ονομάζεται PAPP-A2, και μπορεί να καταλύσει τη διάσπαση της IGFBP-5, σε αντίθεση με την PAPP-A η οποία έχει σαν υπόστρωμα τόσο την IGFBP-4 όσο και την IGFBP-5 (16). Το μόριο της PAPP-A απαντάται σε δύο μορφές. Στην εγκυμοσύνη σχηματίζει έτεροτετραμερές σύμπλοκο αποτελούμενο από δύο μόρια PAPP-A και 2 pro-MBP, και είναι πρωτεολυτικά ανενεργό. Αντίθετα η παραγόμενη από κύτταρα των αγγείων PAPP-A σχηματίζει διμερή τα οποία δε σχηματίζουν σύμπλοκο με την pro-MBP(16). Οι PAPP-A φαίνεται ότι

αποδομώντας το σύμπλοκο IGFBP – IGF συνεισφέρουν στον έλεγχο της βιοδιαθεσιμότητας των IGF I και II στον εξωκυττάριο χώρο (Εικόνα 9) και με τον τρόπο αυτό συμμετέχουν στη ρύθμιση της ανάπτυξης και της αναγέννησης των ιστών, ιδιαίτερα στην κύηση (16).



Εικόνα 9

1.7. Αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών – TIMPs

Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί τέσσερα πρωτεϊνικά μόρια τα οποία αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές της λειτουργίας των MMPs αλλά και άλλων μεταλλοπρωτεασών της υπεροικογένειας των μετζινκινών όπως οι ADAMs και οι ADAMTSs. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι οι TIMP1, 2, 3 και 4, παρουσιάζουν κατά 40% ομόλογη αλληλουχία και αλληλοεπικαλυπτόμενη λειτουργία. Αποτελούνται από 184 ως 194 αμινοξέα τα οποία σχηματίζουν ένα αμινοτελικό τομέα και έναν κάρβοξυτελικό υποτομέα οι οποίοι συνδέονται με 6 δισουλφιδικούς δεσμούς και σχηματίζουν σύμπλοκα με τις μεταλλοπρωτεϊνάσες σε αναλογία 1:1. Η ανασταλτική τους ιδιότητα οφείλεται στην αλληλεπίδραση του αμινοτελικού τομέα των TIMPs με την καταλυτική περιοχή των μεταλλοπρωτεϊνών (17).

Οι πρωτεΐνες αυτές εκφράζονται σε αρκετούς ιστούς των θηλαστικών ιδιαίτερα όμως στα γεννητικά όργανα και η έκφραση τους ρυθμίζεται από διάφορους αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες. Ως ρυθμιστές της λειτουργίας αρκετών MMPs, ADAMs και ADAMTSs κατέχουν σημαντικό ρόλο στην αναδιοργάνωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, την κυτταρική προσκόλληση και τη μεταγωγή σημάτων μέσω των οποίων ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και τη συμπεριφορά των κυττάρων. Οι πολύπλοκες αυτές αλληλεπιδράσεις των TIMPs κατέχουν σημαντικό ρόλο τόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις όπως η ανάπτυξη όσο και σε παθολογικές καταστάσεις όπως ο καρκίνος και για το λόγο αυτό έχουν αποτελέσει αντικείμενο έρευνας στο οποίο θα γίνει αναφορά σε επόμενη ενότητα (17).

2. ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΕΣ ΚΑΙ ΚΥΗΣΗ

2.1. MMPs και κύηση

Η επιτυχής διείσδυση της τροφοβλάστης στα αρχικά στάδια της κύησης προϋποθέτει την αποδόμηση της βασικής μεμβράνης, η οποία αποτελείται κυρίως από κολλαγόνο τύπου IV. Ο ρόλος των ζελατινασών MMP-2 και MMP-9 στη διαδικασία αυτή θεωρείται ιδιαίτερα σημαντικός και υπόκειται σε έλεγχο από τους αναστολείς TIMP-1 και TIMP-2 (18). Με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας και in-situ υβριδισμού έχει ανιχνευθεί η παρουσία της MMP-2 τόσο στα κύτταρα του φθαρτού όσο και στα κύτταρα της εξωλάχνιας τροφοβλάστης. Η βιοσύνθεση της MMP-2 είναι ιδιαίτερα αυξημένη στα πολύ αρχικά στάδια της κύησης και για τον λόγο αυτό θεωρείται το ρυθμιστικό ένζυμο της τροφοβλαστικής διείσδυσης στην αρχόμενη κύηση. Τα επίπεδα της MMP-9 αν και είναι χαμηλά νωρίς στην εγκυμοσύνη, αυξάνουν σταδιακά μετά την 8η εβδομάδα (18).

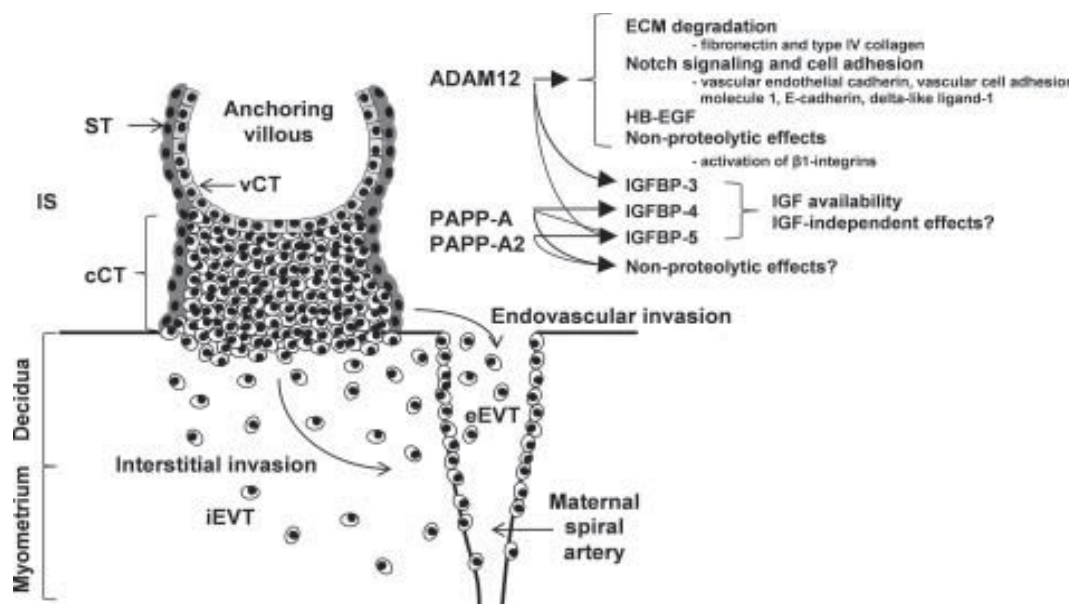
Ο ρόλος της MMP-2, και η ρύθμιση της ενζυμικής λειτουργίας της είναι ιδιαίτερα σημαντική καθ' όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Η διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ της διείσδυσης της τροφοβλάστης και της αποδιοργάνωσης του φθαρτού προϋποθέτει τη συμμετοχή πολλών διαφορετικών μορίων, μεταξύ αυτών και ο αναστολέας TIMP-2 ο οποίος εκφράζεται ιδιαίτερα προς το τέλος της κύησης (19).

2.2. ADAMs και κύηση

Από αυτή την οικογένεια μεταλλοπρωτεΐναιών, με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας έχει μελετηθεί ιδιαίτερα η παρουσία και ο ρόλος της ADAM-12 στη διείσδυση και λειτουργία της τροφοβλάστης. Η ADAM-12 συναντάται σε δύο παραλλαγές, οι οποίες είναι εξίσου πρωτεολυτικά ενεργές, την διαμεμβρανική ADAM-12L και την ελεύθερη μορφή ADAM-12S. Η έκφραση της ADAM-12S είναι έντονη τόσο στην συγκύτιοτροφοβλάστη όσο και στην εξωλάχνια τροφοβλάστη όπου και εμπλέκεται στη ρύθμιση της τροφοβλαστικής διείσδυσης και το σχηματισμό λαχνωτών δομών. Η συμμετοχή της ADAM-12S στις διαδικασίες αυτές φαίνεται πως σχετίζεται με την αποδόμηση των πρωτεϊνών IGFBP-3 και IGFBP-5 που αποτελούν υποστρώματα για το καταλυτικό της κέντρο. Η πρωτεόλυση των IGFBPs οδηγεί στην αύξηση της διαθεσιμότητας των αυξητικών παραγόντων IGF-I και IGF-II οι οποίοι σχετίζονται με την ανάπτυξη και λειτουργία της τροφοβλάστης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι πως στις περιπτώσεις προεκλαμψίας και ενδομήτριας καθυστέρησης της ανάπτυξης όπου η πλακουντοποίηση είναι κακή τα επίπεδα της ADAM-12S στο περιφερικό αίμα έχουν βρεθεί μειωμένα (20). Ένας ακόμη ρόλος της ADAM-12S

είναι η ρύθμιση της προσκόλλησης και μετακίνησης των τροφοβλαστικών κυττάρων μέσω της ενεργοποίησης της ιντεγκρινης-β1 (ITGB1), τα επίπεδα της οποίας είναι αυξημένα στη φάση της διαφοροποίησης της εξωλάχνιας τροφοβλάστης. Μένει να διευκρινιστεί αν ο σχηματισμός εξειδικευμένων δομών εξαρτώμενων από την ιντεγκρίνη σχετίζεται με την αλληλεπίδραση ADAM-12 – ITGB1 (21).

Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε πως η ADAM-12 μπορεί να αποδομήσει διάφορες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες των ενδοθηλιακών κυττάρων, όπως η καντχερίνη του ενδοθηλίου, η κινάση του υποδοχέα τυροσίνης (Tie-2), η κινάση του εμβρυϊκού ήπατος (Flk-1) και το μόριο προσκόλλησης του αγγειακού κυττάρου (VCAM-1), οι οποίες επηρεάζουν τη διαπερατότητα των αγγείων (Εικόνα 10). Η αποδόμηση αυτών των πρωτεϊνών, είναι ενδεχομένως το μονοπάτι διαμέσου του οποίου η ADAM-12 ρυθμίζει τη νεοαγγειογένεση και την αγγειακή διαπερατότητα στον πλακούντα (22). Τέλος το γεγονός ότι η ADAM-12 εκφράζεται και από τα κύτταρα του φθαρτού, μπορεί να σημαίνει ότι συμμετέχει στην διείσδυση της τροφοβλάστης δρώντας σαν παρακρινής παράγοντας (23).



Εικόνα 10

2.3. ADAMTs και κύηση

Από την οικογένεια των ADAMTs ιδιαίτερα αυξημένη έχει βρεθεί η έκφραση της ADAMTs-12 στα τροφοβλαστικά κύτταρα της εξωλάχνιας τροφοβλάστης σε αντίθεση με τη συγκυτιοτροφοβλάστη που η έκφραση είναι ελάχιστη (24). Υπάρχουν ενδείξεις πως η παρουσία της ADAMTs-12 πυροδοτώντας σηματοδοτικά μονοπάτια (π.χ. ERK/MAPK) επηρεάζει τη σύνθεση λαμινίνης και ιντεγκρινών από τα τροφοβλαστικά κύτταρα, λειτουργίες οι οποίες δε

σχετίζονται με την πρωτεολυτική ικανότητα της αλλά αφορούν κυρίως τον τομέα ντισιντεγκρίνης (24). Η ADAMTS-12 φαίνεται ότι μπορεί και συντονίζει την σύνδεση κυττάρου-εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, σε ορισμένα υποστρώματα του εξωκυττάριου χώρου, και την κυτταρική προσκόλληση που οφείλεται σε ορισμένες ιντεγκρίνες. Πιο συγκεκριμένα τα τροφοβλαστικά κύτταρα που εκφράζουν την ADAMTS-12 συνδέονται πιο αποτελεσματικά στο κολλαγόνο τύπου II και IV, και παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση των ιντεγκρινών αν και ανβ3 στην επιφάνεια τους. Η παρουσία αυτών των ιντεγκρινών συνδυάζεται με αύξηση της σηματοδοτικής ικανότητας των ιντεγκρινών και διηθητική συμπεριφορά των κυττάρων (25).

Σε περιπτώσεις τροφοβλαστικής νόσου έχει παρατηθεί ιδιαίτερα αυξημένη έκφραση των ADAMTS-4 και ADAMTS-5 στα τροφοβλαστικά κύτταρα των δευτερογενών λαχνών κατά το 1ο τρίμηνο της κύησης. Επιπλέον στους πολυπύρηνους τροφοβλάστες που έχουν απολέσει την διεισδυτική τους ικανότητα η έκφραση των ADAMTS-4 και ADMATS-5 είναι μειωμένη ή απουσιάζει, ενώ η έκφραση της ADAMTS-5 από τα τροφοβλαστικά κύτταρα μειώνεται σημαντικά στο 2ο και 3ο τρίμηνο όπου πλέον η διεισδυση έχει ολοκληρωθεί. Τα ευρήματα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα πως η παρουσία αυτών των δύο ADAMTSs σχετίζεται με ένα βιολογικό φαινόμενο των τροφοβλαστικών κυττάρων που συμμετέχει στη διαδικασία της τροφοβλαστικής διεισδυσης (26).

2.4. PAPP-A και κύηση

Κατά τη διάρκεια της κύησης η PaPP-A παράγεται τόσο από τα κύτταρα της συγκυτιοτροφοβλάστης όσο και από τα κύτταρα του φθαρτού και ανευρίσκεται στο αίμα της μητέρας, με τη συγκέντρωση της να αυξάνει όσο η κύηση εξελίσσεται ομαλά (16). Τα χαμηλά επίπεδα της PAPP-A στο 1ο τρίμηνο εδώ και πολλά χρόνια είναι γνωστό ότι σχετίζονται με το σύνδρομο Down, την προεκλαμψία, την ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης και τον πρόωρο τοκετό (16). Σήμερα είναι γνωστό πως η πρωτεολυτική δράση της στις IGFBPs (-4,-5) οδηγεί στην απελευθέρωση των αυξητικών παραγόντων IGFs I και II οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του πλακούντα, τον πολλαπλασιασμό των τροφοβλαστικών κυττάρων, την μετανάστευση των εξωλάχνιων τροφοβλαστών, την έκκριση ορμονών και την αναστολή της απόπτωσης (23). Εν κατακλείδι τα επίπεδα της PAPP-A στο αίμα αποτελούν δείκτη ανεπαρκούς ανάπτυξης και λειτουργίας του πλακούντα.

3. ΕΞΩΜΗΤΡΙΑ ΚΥΗΣΗ

3.1. Γενικό μέρος

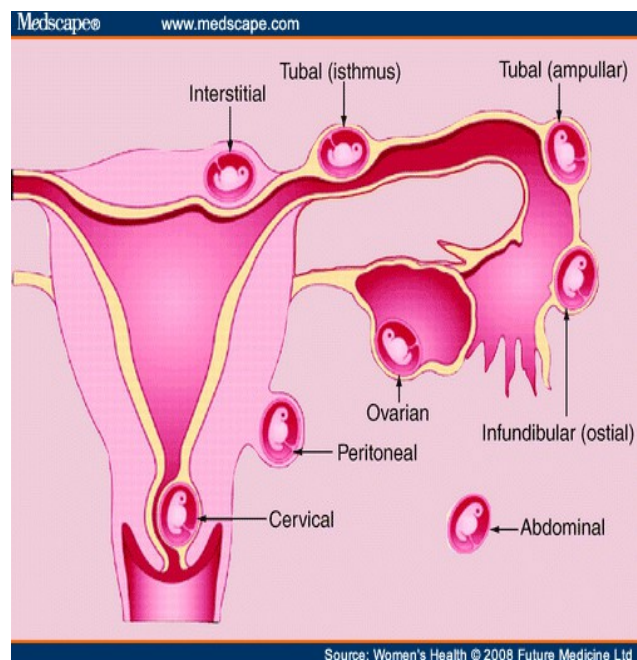
Όταν η εμφύτευση και ανάπτυξη του γονιμοποιημένου ωαρίου λαμβάνει χώρα εκτός της ενδομήτριας κοιλότητας, η κύηση ονομάζεται εξωμήτρια ή έκτοπη. Αν και εμφανίζεται στο 1-2% όλων των κυήσεων, η κατάσταση αυτή αποτελεί πολύ σοβαρό αίτιο νοσηρότητας και θνητότητας των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως. Στις ΗΠΑ η εξωμήτριος κύηση είναι υπεύθυνη για το 9% των θανάτων που σχετίζονται με την κύηση (27). Πέρα από τις άμεσες και απειλητικές για τη ζωή συνέπειες οι γυναίκες που νοσούν εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο για έκτοπη κύηση στο μέλλον αλλά και υπογονιμότητα (28).

Ο συχνότερος αιτιολογικός παράγοντας για την έκτοπη κύηση είναι η παθολογική λειτουργία των σαλπίγγων. Βλάβες στην ανατομία και τη λειτουργικότητα των σαλπίγγων μπορεί να προκύψουν ύστερα από χειρουργικές επεμβάσεις στην ελάσσονα πύελο, ιστορικό εξωμητρίου κύησης, υποτροπιάζοντα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα, φλεγμονώδη νόσο της πυέλου, ενδομήτρια έκθεση σε διαιθυσιλβεστρόλη κ.α. Αυξημένος θεωρείται ο κίνδυνος για εξωμήτρια κύηση σε γυναίκες που φέρουν ενδομήτρια αντισυλληπτική συσκευή σε περίπτωση εγκυμοσύνης αν και το ενδεχόμενο αυτό είναι σπάνιο. Μια ακόμη κατάσταση που σχετίζεται με την εξωμήτριο κύηση είναι η υπογονιμότητα και η εφαρμογή τεχνικών εξωσωματικής γονιμοποίησης (29).

Η εντόπιση της εξωμητρίου κύησης σχετίζεται με την συμπτωματολογία, την σοβαρότητα της ενδεχόμενης βλάβης και την μεταγενέστερη επίπτωση της στη γονιμότητα. Το 95% των εξωμητρίων κυήσεων εμφυτεύεται στις διάφορες ανατομικές θέσεις των σαλπίγγων (Εικόνα 11).

Η συχνότερη θέση εμφύτευσης είναι η λήκυθος του ωαγωγού με συχνότητα 70%, ακολουθούν με 12% ο ισθμός και 11% ο κώδωνας, στο 2,4% εντοπίζεται στο κέρασ και το υπόλοιπο 4,5% αφορά εξωσαλπιγγικές εντοπίσεις όπως η ωοθήκη (3,2%), η περιτοναϊκή κοιλότητα 1,3% και ο τράχηλος (30).

Κλινικά η εξωμήτρια κύηση εκδηλώνεται με δευτεροπαθή αμηνόρροια, κοιλιακό άλγος, ήπια κοιλιακή αιμόρροια ή και συμπτώματα κύησης. Ωστόσο αρκετές φορές οι γυναίκες δεν βιώνουν κάποιο ιδιαίτερο

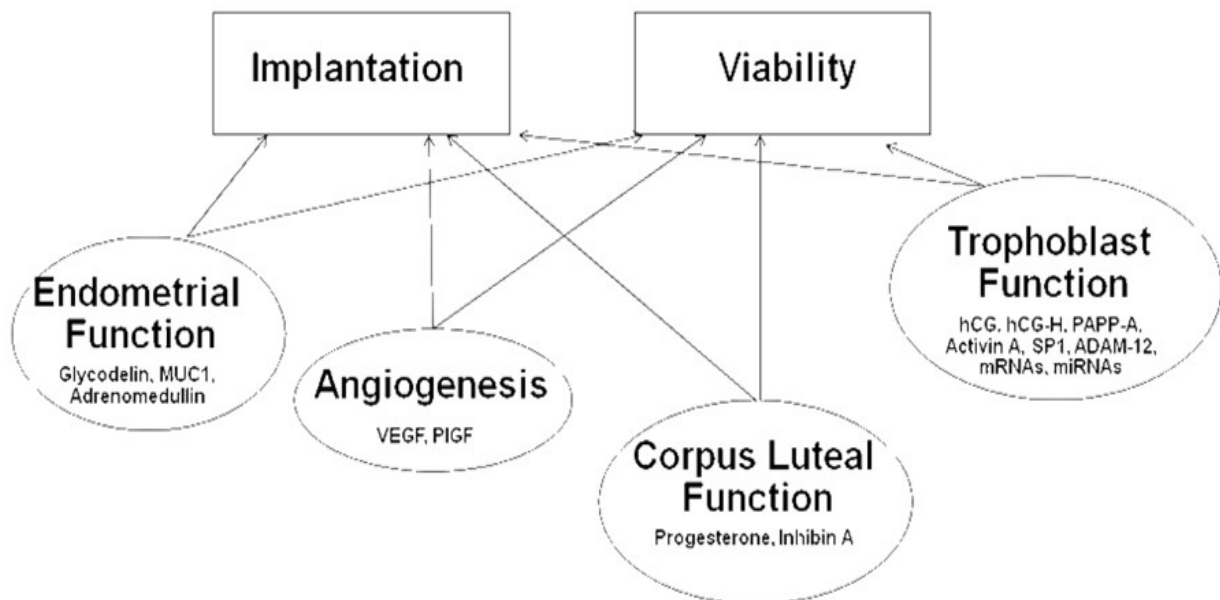


Εικόνα 11

σύμπτωμα μέχρι τη ρήξη της σάλπιγγας. Η ρήξη της σάλπιγγας αποτελεί τη σημαντικότερη επιπλοκή της εξωμητρίου κύησης και μπορεί να οδηγήσει σε αθρόα ενδοκοιλιακή αιμορραγία και δυνητικά στον θάνατο(31)

Η διάγνωση της εξωμητρίου κύησης δεν είναι πάντα προφανής, πολλές φορές η ασθενής θα χρειαστεί να υποβληθεί σε επαναλαμβανόμενες επισκέψεις για υπερηχογραφικό έλεγχο και εργαστηριακές εξετάσεις, ή ακόμα και χειρουργικές επεμβάσεις για να τεθεί η οριστική διάγνωση (32). Στη διαγνωστική διαδικασία σημαντική θέση κατέχει η β -hCG η οποία αποτελεί βιοδείκτη της προόδου της αρχόμενης κύησης. Η μέτρηση της β -hCG στο περιφερικό αίμα ανα τακτά χρονικά διαστήματα σε συνδυασμό με το διακολπικό υπερηχοτομογράφημα αποτελούν τα βασικά εργαλεία στη διαφοροδιάγνωση της έκτοπης κύησης. Σε αυτό το πλαίσιο η εφαρμογή ενός επιπλέον βιοδείκτη μετρήσιμου στο περιφερικό αίμα οποίος θα είναι έγκυρος, προσιτός και ενδεικτικός όχι μόνο της βιωσιμότητας αλλά και της εντόπισης της κύησης θα βοηθήσει στην έγκαιρη διάγνωση της εξωμητρίου κύησης και στην ορθή αντιμετώπιση της (32).

Η φυσιολογία της αρχόμενης κύησης και εμφύτευσης της τροφοβλαστικής διακρίνεται για την πολυπλοκότητα της. Οι παράγοντες που εμπλέκονται είναι αρκετοί και οι σχέσεις μεταξύ τους είναι σχεδόν άγνωστες, μπορούν όμως να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με το επίπεδο του οποίου τη δυσλειτουργία εκφράζουν. Σχηματικά στην Εικόνα 12, διακρίνονται τα δύο βασικά προαπαιτούμενα της κύησης, η εμφύτευση και η βιωσιμότητα σε σχέση τα κομβικά σημεία δυσλειτουργίας, την τροφοβλάστη, το ωχρό σωματίο, το ενδομήτριο και την αγγειογένεση.



Εικόνα 12

Στην προσπάθεια αυτή η Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Π.Γ.Ν.Λάρισας για περισσότερα από δέκα χρόνια έχει επιδείξει ιδιαίτερα ενδιαφέρον ερευνητικό έργο στο τομέα των

βιοδεικτών της εξωμητρίου κύησης (33,34,35,36,37,38)

3.2. Μεταλλοπρωτεΐνάσες και εξωμήτρια κύηση

Η ανώμαλη εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου εκτός της ενδομήτριας κοιλότητας χαρακτηρίζεται από την απουσία των κυττάρων του φθαρού στο σημείο της διείσδυσης, κύτταρα τα οποία αλληλεπιδρούν με τα διεισδυτικά τροφοβλαστικά κύτταρα σε μια λεπτή ισορροπία που διασφαλίζει την ομαλή ανάπτυξη του εμβρύου. Όπως έχει ήδη παρουσιαστεί σε προηγούμενη ενότητα, οι μεταλλοπρωτεΐνάσες φαίνεται ότι διαδραματίζουν πρωταρχικό ρόλο στην εμφύτευση και τη λειτουργία της τροφοβλάστης. Η μέτρηση μεταλλοπρωτεΐνών στο περιφερικό αίμα ως βιοδείκτη της εξωμητρίου κύησης σε γυναίκες με κύηση αγνώστου εντόπισης έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας τις τελευταίες δεκαετίες με ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Από πολύ παλιά πρώτη η PAPP-A είχε προταθεί ως βιοδείκτης της έκτοπης κύησης καθώς βρέθηκε πως τα επίπεδα της στο αίμα είναι χαμηλότερα στις περιπτώσεις που η ανάπτυξη του γονιμοποιημένου ωαρίου λαμβάνει χώρα εκτός της ενδομήτριας κοιλότητας (39). Έκτοτε έχουν γίνει διάφορες έρευνες ώστε να μπορέσει η μέτρηση της PAPP-A στο αίμα, σε συνδυασμό και με άλλες πρωτεΐνες, να αποτελέσει βιοδείκτη της εξωμητρίου κύησης (32). Η συγκέντρωση της όμως στο περιφερικό αίμα πριν την 7η εβδομάδα διατηρείται σε αρκετά χαμηλά επίπεδα (40), ενώ παράλληλα είναι γνωστό πως τα επίπεδα της PAPP-A στο περιφερικό αίμα μπορεί να ελαττωθούν και σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως οι ανευλοειδίες, η προεκλαμψία και η ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (16,23). Τα ευρήματα αυτά έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα πως η PAPP-A αποτελεί βιοδείκτη της βιωσιμότητας της αρχόμενης κύησης χωρίς ιδιαίτερη διακριτική ικανότητα για την εντόπιση της (32).

Σε προηγούμενη ενότητα έγινε εκτενής αναφορά για τη σημασία της ADAM-12 στις διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα σε κυτταρικό επίπεδο κατά την εμφύτευση και διείσδυση του πλακούντα. Βασισμένοι σε αυτά τα δεδομένα που προέκυψαν από ανοσοϊστοχημικές εξετάσεις, ορισμένοι ερευνητές προχώρησαν στο σχεδιασμό μελετών που θα έλεγχαν κατά πόσο η μέτρηση της ADAM-12 στο περιφερικό αίμα θα μπορούσε να αποτελέσει βιοδείκτη της έκτοπης ή της παλίνδρομης κύησης. Σε μια μελέτη ασθενών μαρτύρων σε γυναίκες με επιβεβαιωμένη ενδομήτρια (n=100) και εξωμήτρια (n=99) κύηση (41) μετρήθηκε με ανοσοφθορισμό (DELFI) η συγκέντρωση της ADAM-12 στον ορό του περιφερικού αίματος. Τα αποτελέσματα έδειξαν χαμηλότερη συγκέντρωση της ADAM-12 ($p < 0,0001$) στις γυναίκες με εξωμήτρια κύηση, χωρίς ωστόσο να βρεθεί μία ιδανική τιμή που θα προσφέρει εξίσου υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα σε ακόμα μία μελέτη ασθενών μαρτύρων (n=204) όπου η

συγκέντρωση της ADAM-12 μετρήθηκε στον ορό του αίματος (DELFA) τόσο σε γυναίκες με εξωμήτριο κύηση όσο και σε γυναίκες με παλίνδρομη κύηση, αυτόματη αποβολή και μύλη κύηση (42). Και εδώ η ADAM-12 μετρήθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα ($p < 0,05$) στην εξωμήτρια κύηση ($n=56$) σε σχέση με τις ενδομήτριες κυήσεις που εξελίχθηκαν ομαλά.

Μετά τα πρώτα ενθαρρυντικά αποτελέσματα, σε μια μελέτη κοόρτης σε γυναίκες που προσήλθαν με κύηση αγνώστου εντόπισης ($n=120$) μετρήθηκε η συγκέντρωση της ADAM-12 (ELISA) στον ορό του περιφερικού αίματος και σε δεύτερο χρόνο επιβεβαιώθηκε η πορεία της κύησης και η τυχόν θεραπεία. Η συγκέντρωση της ADAM-12, στη μελέτη αυτή, βρέθηκε αυξημένη στις γυναίκες που τελικά διαγνώστηκαν με εξωμήτριο κύηση σε σχέση με τις γυναίκες που η εγκυμοσύνη τους αποδείχθηκε ενδομήτρια και βιώσιμη (43). Τέλος σε μία ακόμη μελέτη ασθενών μαρτύρων, συλλέχθηκε τυχαία αίμα από από γυναίκες στην διάρκεια του εμμηνορυσιακού κύκλου, από γυναίκες με αρχόμενη κύηση και από γυναίκες με επιβεβαιωμένη εξωμήτριο κύηση και μετρήθηκε η συγκέντρωση της ADAM-12 με χρήση ELISA. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων δεν παρουσίασαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως προς τη χρησιμότητα της ADAM-12 σαν βιοδείκτη της έκτοπης κύησης (44).

Από τα μέχρι τώρα δεδομένα υπάρχουν ενδείξεις πως η ADAM-12 θα μπορούσε να αποτελέσει βιοδείκτη της έκτοπης κύησης, μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλες μετρήσεις (41). Τα σημαντικότερα μειονεκτήματα των μέχρι τώρα ερευνών εντοπίζονται στο μέγεθος του δείγματος και τη μέθοδο ανίχνευσης της ADAM-12 στο αίμα.

4.ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

4.1. Γενικά

Με τον όρο γυναικολογικό καρκίνο εννοούνται όλα τα κακοήθη νεοπλάσματα των έσω και έξω γεννητικών οργάνων, σε αυτά περιλαμβάνονται τα νεοπλάσματα των ωοθηκών, της μήτρας, των σαλπίγγων, του τραχήλου της μήτρας, του κόλπου, του αιδοίου, η τροφοβλαστική νόσος της κύησης και ο πρωτοπαθής καρκίνος του περιτοναίου. Μετά τον καρκίνο του μαστού και του πνεύμονα, ο γυναικολογικός καρκίνος αποτελεί την 3η αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες των ΗΠΑ (45). Αν και αναφερόμαστε γενικά στο γυναικολογικό καρκίνο, τα νεοπλάσματα αυτά παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές τόσο σε ότι αφορά την παθογένεια όσο και σε ότι αφορά την πρόγνωση, την επιδημιολογία και τη θεραπεία. Για το λόγο αυτό θα παρουσιαστούν πιο αναλυτικά τα σημαντικότερα νεοπλάσματα αναφορικά με τη συχνότητα και τη σοβαρότητα τους.

4.2.1. Καρκίνος του ενδομητρίου

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ο συχνότερος γυναικολογικός καρκίνος των ανεπτυγμένων χωρών με την επίπτωση του να έχει αυξητικές τάσεις. Για το 2012 περίπου 100.000 νέα περιστατικά διαγνώστηκαν στην Ευρώπη, ενώ παγκοσμίως έγινε καταγραφή 320.000 νέων περιστατικών. Ο καρκίνος του ενδομητρίου εμφανίζεται κατά κύριο λόγο σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με μέση ηλικία τα 63 έτη. Το 90% των περιπτώσεων αφορά γυναίκες άνω των 50 ετών, ενώ μόνο το 5% των γυναικών που νοσεί έχει ηλικία κάτω των 40 ετών (46). Στην πλειοψηφία η διάγνωση γίνεται στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης του καρκίνου (80% στο στάδιο I) όπου η πενταετής επιβίωση αγγίζει το 95%, κάτι που δεν ισχύει όμως όταν η νόσος έχει επεκταθεί τοπικά ή έχει δώσει μεταστάσεις (47).

Ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου θεωρείται η εξωγενής και ενδογενής έκθεση σε οιστρογόνα που σχετίζεται με την παχυσαρκία, τον σακχαρώδη διαβήτη, την πρόιμη εμμηναρχή, την όψιμη εμμηνόπαυση, την ατοκία και η λήψη ταμοξιφένης. Ο συσχετισμός του σακχαρώδη διαβήτη δεν είναι ξεκάθαρο αν είναι ανεξάρτητος ή όχι από την παχυσαρκία. Οι ασθενείς με Σ. Lynch εμφανίζουν σωρευτικό κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου του ενδομητρίου μέχρι την ηλικία των 70 ετών από 16% έως 54% ανάλογα με το είδος των μεταλλάξεων.

Τα τελευταία 30 χρόνια ο καρκίνος του ενδομητρίου ταξινομείται σε δύο τύπους με κριτήρια τα ιστολογικά χαρακτηριστικά, τους ορμονικούς υποδοχείς και την διαφοροποίηση: το ενδομητριοειδές ή τυπου I αδενοκαρκίνωμα που είναι και το συχνότερο (80-90%) και το τυπου II ή

μη ενδομητριοειδές (47). Στον τύπου II (10-20%) περιλαμβάνονται το ορώδες, το διαυγοκυτταρικό και αδιαφοροποίητα καρκινώματα καθώς και το καρκινοσάρκωμα ή μικτός όγκος του Muller. Η ταξινόμηση αυτή σήμερα αν και χρησιμοποιείται ευρέως στην καθημερινή κλινική πράξη, θεωρείται ελλιπής καθώς το 20% των ενδομητριοειδών καρκινωμάτων θα υποτροπιάσει ενώ το 50% των μη ενδομητριοειδών όχι. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν στο συμπέρασμα ότι ο καρκίνος του ενδομητρίου περιλαμβάνει μια σειρά από νοσήματα με διακριτά γενετικά και μοριακά χαρακτηριστικά (47)

Το συχνότερο σύμπτωμα είναι η κολπική αιμόρροια κυρίως μετεμμηνοπαυσιακά η οποία συναντάται στο 90% των περιπτώσεων. Η διάγνωση μπορεί εύκολα να τεθεί μετά από λήψη βιοψίας ενδομητρίου (pipelle). Όταν αυτή δεν είναι εφικτή ή τα αποτελέσματα είναι ανεπαρκή τότε είναι απαραίτητο να γίνει διαγνωστική υστεροσκόπηση και βιοψία από το σημείο της βλάβης και όχι απλά διαγνωστική απόξεση (46).

Η προεγχειρητική σταδιοποίηση αφορά κυρίως τη ανίχνευση τυχόν επέκτασης της νόσου στο μυομήτριο, τον τράχηλο και τους λεμφαδένες και είναι απαραίτητη για το σχεδιασμό της χειρουργικής επέμβασης. Η καλύτερη απεικονιστική μέθοδος για τη σταδιοποίηση του καρκίνου του ενδομητρίου είναι η μαγνητική τομογραφία, ενώ και ο διακολπικός υπέρηχος μπορεί να προσφέρει αρκετά στοιχεία στα χέρια ενός έμπειρου ακτινοδιαγνώστη με εξαίρεση τη λεμφογενή επέκταση της νόσου. Περιληπτικά η σταδιοποίηση του καρκίνου του ενδομητρίου ορίζεται ως εξής: Σταδιο I – Η νόσος περιορίζεται στο μυομήτριο, Στάδιο II – Υπάρχει διήθηση του τραχήλου χωρίς η νόσος να επεκτείνεται εκτός μήτρας, Σταδιο III – Η νόσος επεκτείνεται εκτός της μήτρας στα παραμήτρια, τα εξαρτήματα και σε επιχώριους ή απομακρυσμένους λεμφαδένες, Στάδιο IV – Η επέκταση αφορά γειτονικά (ουρ. Κύστη, έντερο) ή απομακρυσμένα όργανα (46). Η 5ετής επιβίωση στα στάδια I-II είναι 74-91%, στο σταδιο III 57-66% και στο στάδιο IV 20-26%.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι μια νεοπλασματική νόσο που στην πλειοψηφία των περιπτώσεων διαγιγνώσκεται έγκαιρα και εύκολα, πλήττει σε μεγάλο βαθμό συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες και στα αρχικά στάδια η 5ετής επιβίωση φτάνει το 90%. Γενικά δε συστήνεται ο προληπτικός έλεγχος σε ασυμπτωματικές γυναίκες χαμηλού, μέτριου και ελαφρά αυξημένου κινδύνου (47), άρα η ανάπτυξη κάποιου βιοδείκτη διαγνωστικού χαρακτήρα ενδεχομένως δεν έχει κάποιο ιδιαίτερο κλινικό ενδιαφέρον ή κοινωνικοοικονομικό όφελος. Αντιθέτως λόγω της μακράς επιβίωσης των γυναικών και της ενδεχομένως ατελούς προεγχειρητικής σταδιοποίησης θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμη η ανάπτυξη βιοδεικτών για την αξιολόγηση της πρόγνωσης προεγχειρητικά και την παρακολούθηση πιθανής υποτροπής μετεγχειρητικά.

4.2.2. Μεταλλοπρωτεϊνάσες και καρκίνος του ενδομητρίου

Στην παρούσα ενότητα θα παρουσιαστούν τα νεότερα βιβλιογραφικά δεδομένα αναφορικά με τη συσχέτιση των μεταλλοπρωτεϊνών με τον καρκίνο του ενδομητρίου.

Σε ένα πειραματικό μοντέλο σε ποντίκια, η υπερέκφραση του μεταγραφικού παράγοντα ERM/ETV5 στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης, σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του ενδομητρίου οδήγησε στην αύξηση της σύνθεσης της MMP-2 από τα καρκινικά κύτταρα. Η ζελατινάση MMP-2 είναι υπεύθυνη για την αποδόμηση του κολλαγόνου τύπου IV, το κύριο κολλαγόνο της βασικής μεμβράνης. Τα αυξημένα επίπεδα του ERM/ETV5 συνδυάστηκαν επίσης με αυξημένη αποδόμηση της ζελατίνης, οδηγώντας στο συμπέρασμα πως ένα από τα αρχικά στάδια στη διήθηση του μυομητρίου είναι η αυξημένη ενζυμική δράση της MMP-2 μέσα από ενεργοποίηση του γονιδίου της από τον μεταγραφικό παράγοντα ERM/ETV5 (48).

Με τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας σε ιστολογικά παρασκευάσματα από γυναίκες με ενδομητριοειδές καρκίνο του ενδομητρίου (n=107) και μάρτυρες (n=30), βρέθηκε πως η αυξημένη έκφραση της MMP-2 σχετίζεται με υψηλότερο βαθμό κακοήθειας (grade), μεγαλύτερο βάθος διήθησης του μυομητρίου και πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου. Επιπλέον τα επίπεδα της MMP-2 αποτέλεσαν στην έρευνα αυτή ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της επιβίωσης στις γυναίκες με προχωρημένη νόσο (49).

Μια άλλη ερευνητική ομάδα εκτός από τις ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις στα ιστολογικά παρασκευάσματα, προχώρησε και στη συλλογή δειγμάτων περιφερικού αίματος από τις γυναίκες με καρκίνο του ενδομητρίου πριν και μετά τη χειρουργική επέμβαση. Συνολικά υπολογίστηκε η έκφραση της MMP-1 σε n=50 παρασκευάσματα γυναικών με φυσιολογικό ενδομήτριο, και σε n=98 παρασκευάσματα γυναικών με καρκίνο του ενδομητρίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν σχεδόν 9πλάσια έκφραση της MMP-1 στα καρκινικά κύτταρα σε σχέση με τα φυσιολογικά (p=0,0003) ενώ σε ότι αφορά τη συγκέντρωση της MMP-1 στον ορό του αίματος, βρέθηκε ότι τα επίπεδα (ELISA) της είναι υψηλότερα στις γυναίκες με καρκίνο σε σχέση με τις υγιείς (p=0,017), αλλά και σε σχέση με τα μετεγχειρητικά επίπεδα (p=0,0003) των γυναικών που υποβλήθηκαν σε χειρουργική θεραπεία (50).

Σε μια αναδρομική μελέτη n=85 γυναικών με υψηλού βαθμού κακοήθειας (grade III) καρκίνο του ενδομητρίου ενδομητριοειδούς, ορώδους και διαυγοκυτταρικού τύπου υπολογίστηκε η έκφραση της MMP-9 και της LCN-2 στα ιστολογικά παρασκευάσματα με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους. Η MMP-9 ανιχνεύθηκε στα 2/3 (65,9%) των περιπτώσεων στα καρκινικά κύτταρα και

στα κύτταρα του στρώματος όχι όμως και στα φυσιολογικά κύτταρα του ενδομητρίου. Αν και η ανίχνευση της MMP-9 και LCN-2 δε συσχετίστηκε με κάποιο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της νόσου (στάδιο, διήθηση μυομητρίου κτλ) βρέθηκε ότι η αυξημένη έκφραση συνδέεται με μικρότερη συνολική επιβίωση και μικρότερο ελεύθερο νόσου χρονικό διάστημα (51).

Σε μια μελέτη ασθενών μαρτύρων μετρήθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημικών τεχνικών η έκφραση της ADAMTS-1 στα καρκινικά και ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του όγκου σε παρασκευάσματα υψηλής, μέτριας και χαμηλής διαφοροποίησης σε σχέση με την ωοθυλακική φάση του κύκλου. Η έκφραση της ADAMTS-1 ήταν αυξημένη τόσο στα καρκινικά κύτταρα όσο και στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του όγκου ανεξάρτητα από τη διαφοροποίηση. Αντίθετα στα παρασκευάσματα των γυναικών που βρισκόταν στην ωοθυλακική φάση του κύκλου, μια περίοδο με υψηλή συχνότητα μιτώσεων και έντονη αναδιαμόρφωση του ιστού, η έκφραση της ADAMTS-1 ήταν χαμηλή. Η έκφραση της ADAMTS-1 στα καρκινικά κύτταρα του ενδομητρίου φαίνεται ότι σχετίζεται τον υποδοχέα προσταγλανδίνης (PGF_{a2}-FPR) και την ενεργοποίηση ενός σηματοδοτικού μονοπατιού (Gq-calmodulin-NFAT) (52).

4.3.1. Καρκίνος του τραχήλου

Στην πιο πρόσφατη επιδημιολογική μελέτη με θέμα τον καρκίνο το 2012, ο καρκίνος του τραχήλου με 528.000 νέα περιστατικά το χρόνο παγκοσμίως αποτελεί το 4ο συχνότερο συχνότερο νεόπλασμα στις γυναίκες μετά τον καρκίνο του μαστού, του παχέως εντέρου και του πνεύμονα (53). Αν και στις ΗΠΑ για το 2016 υπολογίζεται ότι θα καταγραφούν 12.900 νέα περιστατικά και 4.120 θάνατοι από καρκίνο του τραχήλου (54), στις αναπτυσσόμενες χώρες ο καρκίνος του τραχήλου είναι η συχνότερη αιτία θανάτου από γυναικολογικό καρκίνο (55).

Η λοίμωξη των κυττάρων της ζώνης μετάπλασης του τραχήλου, από τον ιό των κονδυλωμάτων HPV, οδηγεί στην αναστολή της απόπτωσης των κυττάρων αυτών και τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό τους. Στο 70% περίπου των περιπτώσεων υπεύθυνη για την ανάπτυξη του καρκίνου στον τράχηλο θεωρείται η λοίμωξη από τα στελέχη 16 και 18 (56). Αυτό δε σημαίνει πως κάθε γυναίκα που μολύνεται από τον ιό θα εμφανίσει καρκίνο ή προκαρκινικές βλάβες. Το 90% περίπου των νέων γυναικών με λοίμωξη από τον HPV μέσα σε διάστημα 1-2 ετών θα καταφέρουν καταπολεμήσουν τον ιό χωρίς όμως αυτό να σημαίνει πάντα ότι έχουν απαλλαγεί οριστικά. Γενικά ισχύει πως όσες περισσότερες είναι οι υποτροπιάζουσες λοιμώξεις τόσο μεγαλύτερος ο κίνδυνος να εμφανιστούν προκαρκινικές βλάβες και καρκίνος του τραχήλου (56). Το κάπνισμα, η ανοσοκαταστολή, η λοίμωξη από τον HIV, η λήψη αντισυλληπτικών δισκίων και οι

πολλαπλοί ερωτικοί σύντροφοι αυξάνουν τον κίνδυνο να υποτροπιάσει μια λοίμωξη από HPV (57).

Ήδη από το 1920 ο Γ. Παπανικολάου είχε προτείνει τη λήψη κολπικού και τραχηλικού επιχρίσματος για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου, το γνωστό "τέστ Παπ". Η εξέταση αυτή αποτελεί ακόμα και σήμερα μια ιδιαίτερα χρήσιμη μέθοδο screening του πληθυσμού, καθώς όπου εφαρμόστηκε η θνητότητα και η θνησιμότητα του καρκίνου του τραχήλου μειωθήκαν σημαντικά. Αν και η περιορισμένη ευαισθησία του τεστ μπορεί και αντισταθμίζεται από την ετήσια επανάληψη του, η ανάγκη για πιο σύγχρονη και αποτελεσματική προσέγγιση του προβλήματος οδήγησε στην εφαρμογή μιας μεθόδου ανίχνευσης του DNA του ιού σε δείγματα υγρής κυτταρολογίας. Το HPV-DNA test σήμερα εφαρμόζεται εξατομικευμένα είτε αναδρομικά (reflex) σε υπάρχον δείγμα υγρής κυτταρολογίας, είτε ταυτόχρονα (co-testing) με την υγρή κυτταρολογία είτε και ανεξάρτητα, με στόχο την καλύτερη διαλογή των περιστατικών και τον περαιτέρω έλεγχο τους με κολποσκόπηση. Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται περιληπτικά οι συστάσεις για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου που εφαρμόζονται στις ΗΠΑ (57). Στις εξελίξεις αυτές ήρθε να προστεθεί και η καθιέρωση προληπτικών εμβολιασμών των νέων γυναικών και ανδρών ενάντια σε συγκεκριμένα στελέχη του HPV, από τα εθνικά συστήματα υγείας (56). Όπου έχουν εφαρμοστεί προγράμματα screening για την έγκαιρη ανίχνευση προκαρκινικών αλλοιώσεων και την ταυτοποίηση του HPV έχουν οδηγήσει σε μείωση της επίπτωσης του καρκίνου του τραχήλου (57).

Πίνακας 1

Πληθυσμός	Μέθοδος screening	Σχόλια
<i>Ηλικία <21 έτη</i>	<i>Καμία</i>	
<i>Ηλικία 21-29 έτη</i>	<i>Κυτταρολογία ανα 3ετία</i>	
<i>Ηλικία 30-65 έτη</i>	<i>Co-testing ανά 5ετία ή κυτταρολογία ανα 3ετία</i>	<i>Το HPV-DNA test μόνο του δε συστήνεται</i>
<i>Ηλικία >65 έτη</i>	<i>Καμία εφόσον δεν υπάρχει ιστορικό λοίμωξης</i>	<i>Τουλάχιστον 20 χρόνια παρακολούθηση σε περίπτωση CIN2, CIN3 ή In situ αδενοCa</i>
<i>Μετά από υστερεκτομή</i>	<i>Καμία</i>	<i>Προϋπόθεση ή αφαίρεση του τραχήλου, το ελεύθερο ιστορικό</i>
<i>Μετά από εμβολιασμό</i>	<i>Ισχύουν τα παραπάνω</i>	

Η φυσική ιστορία της λοίμωξης από τον HPV περιλαμβάνει εξάρσεις και υφέσεις, παροδικές ή μόνιμες αλλοιώσεις του τραχηλικού επιθηλίου με τελική κατάληξη την εξαλλαγή σε καρκίνωμα in situ και διεισδυτικό καρκίνο. Οι προκαρκινικές αλλοιώσεις του τραχήλου συνοπτικά περιγράφονται με τους όρους : ASC-US άτυπα απροσδιορίστου σημασίας πλακώδη κύτταρα, LGSIL χαμηλού βαθμού πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις, HGSIL υψηλού βαθμού πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις, AGC άτυπα αδενικά κύτταρα. Ο διεισδυτικός καρκίνος του

τραχήλου συνήθως προέρχεται από πλακώδη (69%) και αδενικά κύτταρα (25%) ενώ περιγράφεται και το καρκίνωμα *in situ* όπου η βλάβη περιορίζεται πάνω από τη βασική μεμβράνη.

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας στην πλειοψηφία των περιπτώσεων είναι ασυμπτωματικός στα αρχικά στάδια. Τα κυριότερα συμπτώματα είναι η κολπική αιμόρροια, το αίσθημα βάρους χαμηλά στην πύελο, το πυελικό άλγος και η δυσπαρεούνια. Η διάγνωση και ταυτοποίηση της βλάβης τίθεται μετά από τεστ Παπ, κολποσκόπηση και βιοψία της βλάβης. Η σταδιοποίηση είναι κυρίως κλινική και ολοκληρώνεται με τη χρήση CT, MRI, κύστεοσκόπησης, κολονοσκόπησης κτλ. Περιληπτικά τα στάδια του καρκίνου του τραχήλου κατα FIGO είναι τα εξής: Στάδιο I – Η βλάβη περιορίζεται στον τράχηλο με βάθος διήθησης στο στρώμα έως 5mm και μέγεθος ως 7mm, Στάδιο II – Η βλάβη είναι ορατή με γυμνό μάτι και μπορεί να επεκτείνεται έξω από τον τράχηλο στα άνω 2/3 του κόλπου, τα παραμήτρια όχι όμως στο πυελικό έδαφος, Στάδιο III – Η βλάβη επεκτείνεται στο πυελικό έδαφος, στο κάτω 1/3 του κόλπου και μπορεί να υπάρχει υδρονέφρωση, Στάδιο IV – Ο όγκος επεκτείνεται έξω από την αληθή πύελο και διηθεί τα γειτονικά όργανα. Η πρόγνωση του καρκίνου του τραχήλου στο στάδιο I αγγίζει το 80-93% , στο στάδιο II 58-63%, στο στάδιο III 32-35% και στο στάδιο IV ~15%.

Το μεγάλο χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την εμφάνιση της κυτταρικής ατυπίας μέχρι την ανάπτυξη του διηθητικού καρκίνου, η προσιτή και αποτελεσματική θεραπεία των προκαρκινικών αλλοιώσεων, η ασυμπτωματική εξάπλωση και εξέλιξη της βλάβης, η πολύ κακή πρόγνωση του σε προχωρημένο στάδιο και η έλλειψη κάποιου καινούργιου αξιόπιστου βιοδείκτη για την έγκαιρη διάγνωση, καθιστούν τον καρκίνο του τραχήλου την πλέον κατάλληλη ασθένεια για την εφαρμογή screening ελέγχου του πληθυσμού. Παρά το γεγονός ότι η εφαρμογή των μέχρι τώρα μεθόδων screening έχει προσφέρει πολλά στη μείωση της θνησιμότητας, μεμονωμένα αυτοί διακρίνονται από μικρή ειδικότητα και μικρή συμμόρφωση των ασθενών. Ως εκ τούτου προκύπτει η ανάγκη ανάπτυξης νέων βιοδεικτών που θα συμπληρώσουν τις ήδη υπάρχουσες μεθόδους και θα αυξήσουν την πιθανότητα ανίχνευσης καρκινικών κυττάρων σε πρώιμα στάδια (55).

4.3.2. Μεταλλοπρωτεΐνάσες και καρκίνος του τραχήλου

Στη πλέον πρόσφατη βιβλιογραφία, αν και υπάρχουν αρκετές έρευνες που εξετάζουν τη σχέση μεταξύ μεταλλοπρωτεϊνών και καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, αυτές δεν αφορούν την μέτρηση των επιπέδων τους στο περιφερικό αίμα αλλά την ανίχνευση τους σε ιστολογικά ή κυτταρολογικά παρασκευάσματα. Στοιχεία από τις μελέτες αυτές θα παρουσιαστούν σε αυτήν την ενότητα.

Η έκφραση της MMP-2 και της MMP-9 έχει βρεθεί αυξημένη σε προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας, ενώ τα τελευταία χρόνια η έκφραση τους έχει

συσχετιστεί με την ανάπτυξη και την πρόγνωση του καρκίνου. Πιο συγκεκριμένα σε μια σειρά εργασιών βρέθηκε πως η υπερέκφραση τους είναι συχνότερη στις HGSIL και στον καρκίνο ενώ στις LGSIL και το φυσιολογικό επιθήλιο απουσιάζει ή είναι σπάνια. Επίσης έχει παρατηρηθεί πως η MMP-2 και MMP-9 εκφράζονται τόσο στα καρκινικά όσο και στα κύτταρα του στρώματος και του ανοσοποιητικού συστήματος. Η παρουσία των μεταλλοπρωτεϊνών στα κύτταρα αυτά πιστεύεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταγωγή σήματος μέσω της παραγωγής κυτταροκινών, αυξητικών παραγόντων κτλ. δημιουργώντας ένα ιδανικό περιβάλλον που ευνοεί την εξέλιξη, διήθηση και μετάσταση του καρκίνου (58).

Σε μια σειρά n=225 γυναικών που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση για τη θεραπεία του καρκίνου του τραχήλου με ανοσοϊστοχημική εξέταση των παρασκευασμάτων, ελέγχθηκε αν στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων εκφράζεται η MMP-9. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η MMP-9 ανιχνεύθηκε στο 73,3% των περιπτώσεων καρκίνου και μόνο στο 12% των μαρτύρων. Επιπλέον η έκφραση της MMP-9 συσχετίστηκε θετικά με το βάθος διήθησης του στρώματος, τη λεμφογενή μετάσταση, το στάδιο κατά FIGO και τη διήθηση των αγγείων. Το σημαντικότερο συμπέρασμα της μελέτης αυτής ήταν πως οι ασθενείς, στα παρασκευάσματα των οποίων ανιχνεύθηκε η MMP-9, εμφάνισαν μικρότερο μέσο όρο επιβίωσης ανεξάρτητα από το στάδιο της νόσου. Αποτελώντας ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα η MMP-9 θα μπορούσε να αποτελέσει βιοδείκτη κακής πρόγνωσης και σε συνδυασμό με τα υπόλοιπα ευρήματα να σχεδιάζεται το είδος και η επιθετικότητα της θεραπείας (59).

Σε μια ακόμη έρευνα με n=53 ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου ελέγχθηκε πέρα από το επίπεδο έκφρασης της MMP-9, τα επίπεδα του miR-183, η συσχέτιση μεταξύ MMP-9 και miR-183 και τέλος σε πειραματικές κυτταρικές σειρές το κατά πόσο το miR-183 μπορεί να αποτελέσει ογκοκατασταλτικό παράγοντα μέσω της MMP-9. Τα αποτελέσματα έδειξαν αυξημένη έκφραση της MMP-9 και μειωμένη έκφραση του miR-183 στα περιστατικά με καρκίνο του τραχήλου, ενώ η έκφραση της MMP-9 φάνηκε πως ρυθμίζεται άμεσα από τα επίπεδα του miR-183. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν υπέρ μιας ογκοκατασταλτικής ιδιότητας του miR-183 η οποία αφορά τον άμεσο έλεγχο των επιπέδων της MMP-9 που όπως έχει ήδη αναφερθεί αποτελεί ένζυμο κλειδί στις διαδικασίες διήθησης και μετάστασης των καρκινικών κυττάρων στον καρκίνο του τραχήλου (60).

Δύο παρόμοιες έρευνες σε πειραματικές κυτταρικές σειρές του καρκίνου του τραχήλου, κατέληξαν στο συμπέρασμα πως στη ρύθμιση της αυξημένης έκφρασης των MMP-2, MMP-9 και MT1-MMP που σχετίζεται με την διήθηση και την επιθετικότητα των καρκινικών κυττάρων, κατέχουν σημαντικό ρόλο οι ογκοπρωτεΐνες E6 και E7 του στελέχους HPV16 (61,62).

Σε μια μελέτη με n=50 ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου ή CIN3, έγινε ανοσοϊστοχημική μελέτη των παρασκευασμάτων μετά από βιοψία ή χειρουργική αφαίρεση του όγκου με σκοπό τον

υπολογισμό της έκφρασης της ADAM-9 σε σύγκριση με δείγματα φυσιολογικού τραχηλικού επιθηλίου. Στο 86,1% και 92,9% των CIN3 και του καρκίνου εκ πλακωδών κυττάρων αντίστοιχα η έκφραση της ADAM-9 βρέθηκε έντονα αυξημένη σε αντίθεση με το 40,9% και 22,4% του πλακώδους και του αδενικού φυσιολογικού επιθηλίου αντίστοιχα, όπου η έκφραση ήταν ασθενής (63).

Βασισμένη σε αυτά και ανάλογα αποτελέσματα μια ομάδα ερευνητών προχώρησε στην καλλιέργεια καρκινικών κυτταρικών σειρών στο εργαστήριο και στην ανοσοϊστοχημική μελέτη $n=31$ παρασκευασμάτων LGSIL, HGSIL και καρκίνου του τραχήλου με σκοπό να μελετήσει την έκφραση ορισμένων ADAMs και των αναστολέων τους καθώς και το μεταγραφικό μοτίβο των πρωτεϊνών αυτών από τα καρκινικά κύτταρα. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η έκφραση των ADAM-9, ADAM-10, ADAM-12, TIMP-2 και TIMP-3 είναι αυξημένη στα καρκινικά κύτταρα σε σχέση με τα φυσιολογικά, και ανάλογη με το βαθμό δυσπλασίας/κακοήθειας. Το εύρημα αυτό οδηγεί στην υπόθεση πως οι πρωτεΐνες αυτές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της καρκινογένεσης σε αλληλεπίδραση με τις ογκοπρωτεΐνες του HPV και πιθανές μεταλλάξεις των επιθηλιακών κυττάρων του τραχήλου (64). Τέλος σε μια παρόμοια μελέτη βρέθηκε πως στα ιστολογικά παρασκευάσματα του καρκίνου η έκφραση της MMP-9, της ADAM-17 και του EMMPRIN ήταν αυξημένη σε σχέση με τα φυσιολογικά. Ενώ, η έντονη έκφραση αυτών των πρωτεϊνών συσχετίστηκε θετικά με τη διαφοροποίηση, της λεμφογενή μετάσταση, το στάδιο, τη διήθηση των παραμητρίων και αρνητικά με τη συνολική επιβίωση. Η έκφραση της ADAM-17 επιπλέον αποτέλεσε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για τον καρκίνο του τραχήλου (65).

4.4.1. Καρκίνος των ωοθηκών

Ο καρκίνος των ωοθηκών με 22.280(21%) νέα περιστατικά για το 2016 αποτελεί τον 2ο συχνότερο γυναικολογικό καρκίνο και ταυτόχρονα είναι την 1η αιτία θανάτου από γυναικολογικό καρκίνο για το 2016 με 14.240(46%) θανάτους στις ΗΠΑ (54). Στα 2/3 περίπου των περιπτώσεων η διάγνωση γίνεται στο στάδιο III-IV όπου η 5ετής επιβίωσης βρίσκεται μεταξύ 25-30% σε αντίθεση με τα στάδια I-II όπου αγγίζει το 80-95% (66). Τα νεοπλάσματα της ωοθήκης ταξινομούνται ως επιθηλιακοί όγκοι, όγκοι εκ γεννητικών κυττάρων, όγκοι εκ του γοναδικού στρώματος, μεσεγχυματικοί και μεταστατικοί όγκοι. Οι συχνότεροι με συχνότητα ~90% είναι οι επιθηλιακοί κακοήθεις όγκοι οι οποίοι είναι το συχνότερο αίτιο θανάτου από γυναικολογικό καρκίνο. Η μέση ηλικία εμφάνισης είναι τα 60 έτη για του επιθηλιακούς όγκους ενώ οι όγκοι εκ γεννητικών κυττάρων εμφανίζονται πολύ νωρίτερα. Τα καρκινώματα της ωοθήκης διακρίνονται

ανάλογα με τον τύπο των κυττάρων σε ορώδη (70%), βλεννώδη (10%), ενδομητριοειδή (5%), διαυγοκυτταρικά (3%), αδιαφοροποίητα (10%) κ.α. (66)

Οι κυριότεροι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου των ωοθηκών σχετίζονται με το μεγάλο αριθμό ωοθυλακιορρηκτικών κύκλων. Αυτοί είναι η πρόωμη εμμηναρχή, η όψιμη εμμηνόπαυση, η ατοκία και η χρήση ορμονικών σκευασμάτων για τη διέγερση των ωοθηκών στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, αν και το τελευταίο αμφισβητείται. Αντιθέτως έχει παρατηρηθεί πως η επίπτωση του καρκίνου των ωοθηκών μειώνεται με την πολυτοκία, τον θηλασμό και τη χρήση αντισυλληπτικών δισκίων. (66).

Οι ομοιότητες μεταξύ του καρκίνου της ωοθήκης και του καρκίνου των σαλπίγγων είναι πολλές, κάτι το οποίο μπορεί αφενός να εξηγηθεί λόγω της κοινής εμβρυολογικής προέλευσης, υπάρχει όμως και η θεωρία πως η καρκινογένεση συμβαίνει στους κροσσούς των σαλπίγγων και από εκεί τα κύτταρα μεταναστεύουν και εγκαθίστανται στις ωοθήκες όπου και αναπτύσσεται ο όγκος. Το σενάριο αυτό συμφωνεί με τη συσχέτιση ωοθυλακιορρηξίας και καρκίνου των ωοθηκών. Κατα την ωοθυλακιορρηξία πέρα από το ωάριο απελευθερώνεται ωοθυλακικό υγρό και άφθονα κοκκώδη κύτταρα, ένα μίγμα από φλεγμονώδεις παράγοντες, κυτταροκίνες, στεροειδείς ορμόνες και ελεύθερες ρίζες O_2 . Στα συστατικά αυτά εκτίθονται άμεσα τόσο τα επιθηλιακά κύτταρα της επιφάνειας της ωοθήκης όσο και τα κύτταρα των κροσσών του κώδωνα και μπορεί να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις, εξαλλαγή σε καρκίνο και μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων από τη σάλπιγγα στην ωοθήκη (67).

Ο καρκίνος των ωοθηκών είναι ασυμπτωματικός στα αρχικά στάδια και συχνά η διάγνωση τίθεται τυχαία μετά από κάποια γυναικολογική εξέταση ρουτίνας. Σε πιο προχωρημένα στάδια συνήθως εμφανίζονται άτυπα συμπτώματα όπως διάταση της κοιλιάς και ασκίτης, διαταραχές ούρησης και των κενώσεων, κοιλιακό άλγος, δυσπεψία κ.α. Για τη διαφορική διάγνωση ενός κυστικόμορφου όγκου των ωοθηκών συνήθως απαιτείται καλή κλινική εξέταση, διακολπικό υπερηχογράφημα, αξονική ή/και μαγνητική τομογραφία και εργαστηριακές εξετάσεις π.χ. Ca125, ενώ κάποιες φορές μπορεί να χρειαστεί να γίνει παρακέντηση ασκίτικου υγρού ή/και κατευθυνόμενη βιοψία προκειμένου να ταυτοποιηθεί ιστολογικά η βλάβη. Τα στάδια της νόσου εν συντομία είναι τα εξής: Στάδιο I – Η νόσος περιορίζεται στις ωοθήκες, Στάδιο II – Ο όγκος εντοπίζεται στη μία ή και στις δύο ωοθήκες με επέκταση στην πύελο, Στάδιο III – Υπάρχουν περιτοναϊκές εμφυτεύσεις εκτός πυέλου ή/και πυελικοί ή παραορτικοί λεμφαδένες, επιφανειακές εντοπίσεις στο ήπαρ, ή περιορισμένη νόσος στην πύελο με ιστολογικά τεκμηριωμένη βλάβη στο μείζον επίπλου ή το λεπτό έντερο, Στάδιο IV – Απομακρυσμένες μεταστάσεις, παρεγχυματική νόσος του ήπατος, πλευριτική συλλογή που κυτταρολογικά τεκμηριωμένη.

Η φύση της νόσου, η σιωπηλή εξέλιξη της, η δύσκολη διαφορική διάγνωση και η κακή

πρόγνωση τελικά των ασθενών καθιστά τον καρκίνο των ωοθηκών την αιτία για τους μισούς σχεδόν θανάτους από γυναικολογικό καρκίνο. Μέχρι σήμερα ο διακολπικός υπερηχος και η μέτρηση της Ca125 αποτελούν τις πιο προσιτές και συχνές εξετάσεις στις οποίες υποβάλλονται οι γυναίκες στα πλαίσια της πρόληψης, μόνο που καμία από τις δύο δεν διαθέτει την ευαισθησία και την ειδικότητα που απαιτείται ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον screening έλεγχο του πληθυσμού. Η ανάγκη της εφαρμογής ενός αξιόπιστου βιοδείκτη για την έγκαιρη διάγνωση και την πρόληψη του καρκίνου των ωοθηκών αλλά και ενός βιοδείκτη χρήσιμου για την παρακολούθηση και την διαχείριση των ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών έχει οδηγήσει εδώ και πολλά χρόνια σε πολυάριθμες μελέτες χωρίς όμως μέχρι σήμερα να έχει καθιερωθεί στην κλινική πράξη κάτι νεό. Στο πλαίσιο αυτό, στην ενότητα που ακολουθεί, θα γίνει παρουσίαση ορισμένων πρόσφατων εργασιών με θέμα τη θέση των μεταλλοπρωτεϊνάσων στον καρκίνο των ωοθηκών και την μέτρηση τους στο περιφερικό αίμα ως βιοδείκτη του καρκίνου των ωοθηκών.

4.4.2. Μεταλλοπρωτεϊνάσες και καρκίνος των ωοθηκών

Σε μια μελέτη ασθενών μαρτύρων, σε δείγμα $n=81$ ασθενών με όγκο ωοθήκης έγινε αφενός ανοσοϊστοχημική μελέτη των χειρουργικών παρασκευασμάτων για τον υπολογισμό της έκφρασης ορισμένων MMPs και TIMPs στους ιστούς, και αφετέρου σε δείγμα $n=157$ ασθενών επίσης με όγκο ωοθήκης με χρήση της ELISA μετρήθηκαν στο αίμα τα επίπεδα της MMP-9. Τα αποτελέσματα έδειξαν αυξημένη έκφραση της MMP-9 και της MMP-2 στον καρκίνο των ωοθηκών ($p<0,05$) σε σχέση με τους ιστούς φυσιολογικών ωοθηκών. Επίσης η έκφραση της MMP-9 συσχετίστηκε θετικά με το στάδιο της νόσου και αρνητικά με τη συνολική επιβίωση. Επιπλέον τα επίπεδα της MMP-9 στο αίμα ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών βρέθηκαν αυξημένα τόσο σε σχέση με τους μάρτυρες ($p<0,01$) όσο και σε σχέση με τους ασθενείς με καλοήγη νεοπλάσματα ($p<0,05$). Τέλος στους ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών τα προεγχειρητικά επίπεδα της MMP-9 στο αίμα ήταν υψηλότερα ($p<0,05$) σε σχέση με τα μετεγχειρητικά (68).

Μια μετα-ανάλυση 8 δημοσιεύσεων και $n=965$ ασθενών συνολικά εξέτασε τη σχέση μεταξύ της έκφρασης της MMP-2 και της πρόγνωσης του καρκίνου των ωοθηκών. Η έκφραση της MMP-2 στα καρκινικά κύτταρα όχι όμως και στο στρώμα, συσχετίστηκε θετικά με την ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων ($p=0,001$) και αρνητικά με τη συνολική επιβίωση. Με βάση τα ευρήματα αυτά η αυξημένη έκφραση της MMP-2 στα καρκινικά κύτταρα των ωοθηκών αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα και η ανίχνευση της μπορεί να βοηθήσει στην καλύτερη διαχείριση των ασθενών τόσο προεγχειρητικά όσο και μετεγχειρητικά (69).

Η μεσολάβηση ενός σηματοδοτικού μονοπατιού μέσω της ενεργοποίησης της Ras1 από την C3G, βρέθηκε πως οδηγεί στην αύξηση της παραγωγής της MMP-2 και της MMP-9 από τα καρκινικά κύτταρα και σχετίζεται με τη μετανάστευση και την σύμπτυση των καρκινικών κυττάρων στο περιτόναιο (70).

Μια άλλη προσέγγιση της συμμετοχής των MMPs στη συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων, ήταν η μέτρηση στο περιφερικό αίμα των επιπέδων του αναστολέα TIMP-1 σε γυναίκες με κακόηθες νεόπλασμα της ωοθήκης. Σε μια αναδρομική μελέτη, n=115 ασθενών που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση λόγω όγκου των ωοθηκών, μετρήθηκε σε προεγχειρητικό δείγμα ορού περιφερικού αίματος η συγκέντρωση ορισμένων MMPs και των αναστολέων τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι υψηλές συγκεντρώσεις του TIMP-1 (αναστολέα της MMP-9) σε γυναίκες με ορώδες αδενοκαρκίνωμα των ωοθηκών προεγχειρητικά συνδέονταν με χειρότερα κλινικά ευρήματα και μικρότερη συνολική επιβίωση (p=0,03), κάτι που δε μπόρεσε να φανεί στις μετρήσεις της MMP-9 λόγω της μεγάλης απόκλισης των τιμών που μετρήθηκαν (71).

Σε μια μικρότερη έρευνα n=61 ασθενών με όγκο ωοθήκης, αφού μετρήθηκαν τα επίπεδα των MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 και του συμπλόκου MMP-2-TIMP-2 στον ορό του περιφερικού αίματος, εξετάστηκε η σχέση τους με τα ιστολογικά ευρήματα. Τα επίπεδα της TIMP-1 βρέθηκαν αυξημένα στα κακοήθη νεοπλάσματα όχι όμως και στα οριακής κακοήθειας ή τα καλοήθη. Επιπλέον οι λόγοι TIMP-1/MMP-2 και TIMP-1/MMP-2-TIMP-2 φάνηκε πως είχαν ακόμα μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα μεταξύ καλοήθους, κακοήθους και borderline όγκου με αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα. Οι μετρήσεις αυτές στο περιφερικό αίμα γυναικών με όγκο στην ωοθήκη θα μπορούσαν να αποτελέσουν πολύτιμο εργαλείο στην προεγχειρητική διαφορική διάγνωση (72).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η Ca125 αποτελεί τον πλέον διαδεδομένο βιοδείκτη στη διάγνωση του καρκίνου των ωοθηκών, η προεγχειρητική μέτρηση της Ca125 στο περιφερικό αίμα ταυτόχρονα με τη μέτρηση των επιπέδων της MMP-7 και των κυτταροκινών CCL-11 και CCL-8 αποτέλεσε αντικείμενο μιας έρευνας n=105 ασθενών με καλοήθους όγκους και επιθηλιακά καρκινώματα. Αν και η Ca125 φάνηκε να έχει καλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα σε σύγκριση με τους άλλους βιοδείκτες, η συνδυασμένη μέτρηση και των τεσσάρων αύξησε την ευαισθησία της Ca125 στο 100% με ειδικότητα 60,7% (73).

Δυο πειραματικές μελέτες σε ποντίκια και κυτταρικές σειρές καρκίνου των ωοθηκών, ανέδειξαν τη συμμετοχή της PAPP-A τόσο στις διαδικασίες της ανάπτυξης και επέκτασης του όγκου όσο και στη δημιουργία μεταστάσεων και την νέοαγγειογένεση (74,75)

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη ιστολογικών παρασκευασμάτων γυναικών οι οποίες υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση για αφαίρεση όγκου των ωοθηκών, έδειξε πως η έκφραση

των ADAMTS-5, ADAMTS-1 και TIMP-3 ήταν αυξημένη τόσο στους κακοήθεις όσο και στους οριακής κακοήθειας όγκους σε σχέση με τα καλοήθη νεοπλάσματα. Επιπλέον η έντονη έκφραση της ADAMTS-1 και του TIMP-3 συσχετίστηκε αρνητικά με την επιβίωση των ασθενών (76).

Η έκφραση της ADAM-12 βρέθηκε ιδιαίτερα αυξημένη σε ορισμένους επιθηλιακούς κακοήθεις όγκους των ωοθηκών σε σχέση με τις φυσιολογικές ωοθήκες, σε ένα σημαντικό όμως αριθμό καρκίνων δεν εκφράστηκε καθόλου και για το λόγο αυτό η προγνωστική αξία της περιορίστηκε μόνο στα νεοπλάσματα που εμφάνιζαν έκφραση ADAM-12 στους ιστούς τους (77). Σε μια αναδρομική μελέτη n=102 ασθενών με ορώδες αδενοκαρκίνωμα των ωοθηκών που υποβλήθηκαν σε κυτταρομειωτική χειρουργική επέμβαση, έγινε ανοσοϊστοχημική μελέτη των ιστολογικών παρασκευασμάτων η οποία ανέδειξε πως η υπερέκφραση της ADAM-12 σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση και μικρότερη επιβίωση ανεξάρτητα από το στάδιο της νόσου (78). Τέλος ακόμη μία έρευνα εξέτασε, προεγχειρητικά δείγματα ορού, περιφερικού αίματος από n=84 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε κυτταρομειωτική χειρουργική επέμβαση λόγω υψηλού βαθμού ορώδους αδενοκαρκινώματος σταδίου III-IV. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως ανάμεσα στις γυναίκες με χαμηλή και υψηλή συγκέντρωση της ADAM-12 στον ορό υπήρχε στατιστικώς σημαντική διαφορά στην συνολική επιβίωση και το ελεύθερο νόσου χρονικό διάστημα, καθιστώντας την ADAM-12 ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της επιβίωσης (79).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η πλειοψηφία της βιβλιογραφίας που παρουσιάστηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία, βασίστηκε στην ανίχνευση των μεταλλοπρωτεϊνών στους ιστούς με τη χρήση κυρίως ανοσοϊστοχημικών τεχνικών σε χειρουργικά παρασκευάσματα και πειραματικές κυτταρικές σειρές καρκινικών κυττάρων. Τα ευρήματα από τις μετρήσεις ορισμένων μεταλλοπρωτεϊνών στο περιφερικό αίμα αν και περιορισμένα, είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά, και ενδεχομένως να αποτελούν τη βάση για τη μελλοντική χρήση τους ως βιοδείκτες στην έκτοπη κύηση και τον γυναικολογικό καρκίνο. Παρόλα αυτά η μέτρηση των μεταλλοπρωτεϊνών στο περιφερικό αίμα φαίνεται ότι επηρεάζεται από διάφορους αστάθμιστους παράγοντες όπως ο τρόπος συλλογής και διαχείρισης των δειγμάτων αλλά και από την εργαστηριακή μέθοδο που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση τους (80). Οι υψηλές τιμές ορισμένων MMPs στο πλάσμα του αίματος οφείλεται στην αποδόμηση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων και έτσι δε συστήνεται η συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων σε αυτή τη μορφή. Συγκεκριμένα για τις MMPs η πιο αξιόπιστη μέθοδος είναι η συλλογή του περιφερικού αίματος σε φυαλίδια με κιτρικό τρινάτριο, τα οποία χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο του πήκτικου μηχανισμού (81). Με γνώμονα τα παραπάνω ο σχεδιασμός ενός ερευνητικού πρωτοκόλλου πρέπει να γίνεται ανάλογα με τον βιοδείκτη που εξετάζεται και με τέτοιο τρόπο ώστε τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα και να περιοριστούν τα διαδικαστικά σφάλματα.

Ο ρόλος των μεταλλοπρωτεϊνών στη μετανάστευση, τη διείσδυση και την αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων μέσω της ρύθμισης της σύστασης της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας αλλά και της παρακρινούς και αυτοκρινούς δράσης τους αποτελεί αντικείμενο έρευνας εδώ και δεκαετίες. Οι διαδικασίες τόσο της εμφύτευσης-διείσδυσης της τροφοβλάστης όσο και της διήθησης των καρκινικών κυττάρων στους πέριξ υγιείς ιστούς φαίνεται ότι διαμεσολαβούνται από κοινά μόρια κλειδιά της οικογένειας των μεταλλοπρωτεϊνών. Οι ζελατινάσες MMP-2 και MMP-9, ο αναστολέας των μεταλλοπρωτεϊνών TIMP-1 και η ADAM-12 φαίνεται ότι εμπλέκονται ενεργά στις διαδικασίες αυτές καθώς έχει παρατηρηθεί αυξημένη μεταγραφική/μεταφραστική δραστηριότητα στα κύτταρα, αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα στους ιστούς και υψηλή συγκέντρωση τους στο περιφερικό αίμα.

Η περιορισμένη σε έκταση βιβλιογραφία για τη χρησιμότητα της ADAM-12 ως βιοδείκτη της έκτοπης κύησης έχει καταλήξει σε αντιφατικά αποτελέσματα. Ο διαφορετικός σχεδιασμός των ερευνών (κοόρτης/ασθενών-μαρτύρων), το περιορισμένο σε μέγεθος δείγμα αλλά και η διαφορετική μεθοδολογία μέτρησης των επιπέδων της ADAM-12 (ELISA/AutoDelfia Platform) αποτελούν τα κυριότερα εμπόδια στην ασφαλή εξαγωγή συμπερασμάτων από τις μέχρι τώρα

έρευνες. Παρά τις όποιες αντιφάσεις όμως, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις πως η συγκέντρωση της ADAM-12 στο περιφερικό αίμα είναι χαμηλότερη στις περιπτώσεις ανώμαλης ανάπτυξης της τροφοβλάστης στα αρχικά στάδια της κύησης. Η έκτοπη ανάπτυξη του γονιμοποιημένου ωαρίου στο τοίχωμα των σαλπίνγων χαρακτηρίζεται, από την έλλειψη των κυττάρων του φθαρού και την αλληλεπίδραση τους με τα κύτταρα της εξωλάχνιας τροφοβλάστης, και από ανώμαλη νέοαγγειογένεση. Στις διαδικασίες αυτές η ADAM-12 διαδραματίζει πρωταρχικό ρόλο, γεγονός που αντικατοπτρίζεται στα αυξημένα επίπεδα της ADAM-12 στο περιφερικό αίμα στις περιπτώσεις όπου η ανάπτυξη του κυήματος εξελίσσεται ομαλά.

Ο καρκίνος του ενδομητρίου αν και αποτελεί τον συχνότερο γυναικολογικό καρκίνο στο δυτικό κόσμο, η έγκαιρη και εύκολη διάγνωση του έχει εστιάσει το ερευνητικό ενδιαφέρον στο ρόλο των μεταλλοπρωτεϊνών ως προγνωστικό βιοδείκτη, μιας και ο screening έλεγχος του πληθυσμού δεν φαίνεται πως έχει να προσφέρει. Η πλειονότητα των ερευνών αφορούσε την εκτίμηση της έκφρασης διάφορων μεταλλοπρωτεϊνών στα καρκινικά κύτταρα και τη συσχέτιση της με την πρόγνωση των ασθενών. Εκτός από την MMP-1 που παρουσιάστηκε σαν βιοδείκτης με πολύ καλά αποτελέσματα σε προηγούμενη ενότητα, σε ακόμη μια εργασία n=98 ασθενών μετρήθηκαν τα προεγχειρητικά τα επίπεδα των MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 και του συμπλόκου MMP-2-TIMP-2 στο περιφερικό αίμα. Στατιστικά σημαντικό εύρημα ήταν μόνο οι αυξημένες τιμές του TIMP-1 στις περιπτώσεις καρκίνου του ενδομητρίου σε σχέση με τους μάρτυρες. Ο αναστολέας TIMP-1 αποτελεί ρυθμιστικό μόριο της δραστηριότητας της MMP-9, ένα ένζυμο που εμπλέκεται στις διαδικασίες διήθησης των καρκινικών κυττάρων. Τα επίπεδα της MMP-9 στο περιφερικό αίμα των ασθενών στη μελέτη αυτή δεν παρουσίασαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, έμμεσα όμως η παρουσία του αναστολέα της σε υψηλές συγκεντρώσεις βρέθηκε πως σχετίζεται με μικρότερη συνολική επιβίωση (82).

Για τον καρκίνο του τραχήλου αν και δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με τη μέτρηση των μεταλλοπρωτεϊνών στο περιφερικό αίμα ως βιοδείκτη, η ανίχνευση τους σε κυτταρολογικό υλικό και βιοψίες με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας έχει συσχετιστεί με την επιθετική συμπεριφορά του όγκου και την κακή πρόγνωση. Αν και οι εξελίξεις στον τομέα της πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου έχουν βελτιώσει κατά πολύ την προσέγγιση του προβλήματος, η πλειοψηφία των εξετάσεων απαιτεί την τακτική παρακολούθηση και τη συμμόρφωση των γυναικών, καθώς και την παροχή εξειδικευμένων υπηρεσιών από ειδικούς. Στο πλαίσιο αυτό η ανάπτυξη κάποιου βιοδείκτη που θα μετράται στο περιφερικό αίμα και θα προσφέρει επιπλέον πληροφορίες τόσο για τη διαφορική διάγνωση όσο και για την παρακολούθηση των γυναικών θα μπορούσε να αποτελέσει αντικείμενο έρευνας. Ο σημαντικός ρόλος των μεταλλοπρωτεϊνών στην διαδικασία της καρκινογένεσης και της επέκτασης των καρκινικών κυττάρων στον καρκίνο του τραχήλου

ενδεχομένως να μπορεί να αντικατοπτριστεί στα επίπεδα τους στο περιφερικό αίμα, κάτι το οποίο μένει να ερευνηθεί.

Ο καρκίνος των ωοθηκών αποτελεί ακόμα και σήμερα τόσο διαγνωστικά όσο και θεραπευτικά πρόκληση. Τα μέχρι τώρα διαγνωστικά εργαλεία (διακολπικό υπερηχογράφημα, Ca125) υπολείπονται σε ευαισθησία και ειδικότητα, και στην πράξη δεν υπάρχει κάποια μέθοδος screening που να μπορεί να εντοπίσει με ακρίβεια τον καρκίνο των ωοθηκών στα αρχικά στάδια. Η ασυμπτωματική εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών και η κακή πρόγνωση του στα στάδια III-IV η οποία συνδυάζεται με χαμηλή ποιότητα ζωής, είναι οι βασικοί λόγοι που καθιστούν αναγκαία την εύρεση νέων βιοδεικτών. Οι μεταλλοπρωτεΐνες κατέχουν σημαντικό ρόλο στη μετανάστευση-πρόσδεση και διείσδυση των καρκινικών κυττάρων μέσα στην περιτοναϊκή κοιλότητα, γεγονός που αλλάζει κατά πολύ το προσδόκιμο επιβίωσης. Από τα μέχρι τώρα δεδομένα η μέτρηση στο αίμα του αναστολέα TIMP-1, ως έμμεσο βιοδείκτης της δραστηριότητας των μεταλλοπρωτεϊνών, φαίνεται πως έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα τόσο στη διαφορική διάγνωση όσο και στην πρόγνωση του καρκίνου των ωοθηκών. Από τις μεταλλοπρωτεΐνες, η προεγχειρητική μέτρηση της ADAM-12 στο περιφερικό αίμα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν βιοδείκτης της επιθετικότητας του ορώδους αδενοκαρκινώματος των ωοθηκών αλλά και του εξαιρεσιμου ή όχι της βλάβης.

Αν και η βιβλιογραφία σχετικά με το ρόλο των μεταλλοπρωτεϊνών στο αίμα ως βιοδείκτη της έκτοπης κύησης και του γυναικολογικού καρκίνου είναι περιορισμένη, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις για τον κυρίαρχο ρόλο τους στις διαδικασίες που αφορούν τη μετανάστευση και διείσδυση των κυττάρων στις καταστάσεις αυτές. Η ADAM-12 θα μπορούσε να αποτελέσει ένα σημαντικό βιοδείκτη για την έγκαιρη διάγνωση της εξωμητρίου κύησης, τη διάγνωση και την πρόγνωση του καρκίνου των ωοθηκών. Απαραίτητη προϋπόθεση για την αξιολόγηση και την εξέλιξη τόσο της ADAM-12 όσο και άλλων μεταλλοπρωτεϊνών ως βιοδείκτες, είναι η διεξαγωγή ερευνών μεγαλύτερης κλίμακας με τον κατάλληλο σχεδιασμό και τη σωστή μεθοδολογία. Η εφαρμογή των βιοδεικτών αυτών στη ρουτίνα της κλινικής πράξης θα μπορούσε να βοηθήσει τον Μαιευτήρα-Γυναικολόγο στη λήψη δύσκολων αποφάσεων και να συμβάλει σημαντικά στη μείωση της θνητότητας και της νοσηρότητας των γυναικών.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Klein T., Bischoff R., Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases, *Amino Acids* 1. (2011) 41:271–290
2. *Nature Reviews Cancer* 2008; 8:932-941
3. Butler G., Overall C. Updated Biological Roles for Matrix Metalloproteinases and New “Intracellular” Substrates Revealed by Degradomics, *Biochemistry* 2009, 48, 10830–10845
4. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92: 827–839.
5. Rodriguez D., Morrison C., Overall C., Matrix metalloproteinases: What do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics, *Biochimica et Biophysica Acta* 1803 (2010) 39–54
6. Loffek S., Schilling O., Frankze C-W., Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance, *Eur Respir J* 2011; 38: 191–208
7. Itoh Y. Membrane-type matrix metalloproteinases: Their functions and regulations, *Matrix Biol.* (2015) 44–46, 207–223
8. Nyren-Erickson E., Boulton M., Raval M., Totzauer J. et al, Urinary concentrations of ADAM 12 from breast cancer patients pre- and post-surgery vs. cancer-free controls: a clinical study for biomarker validation, *Journal of Negative Results in BioMedicine* 2014, 13:5
9. Takeda Soichi, ADAM and ADAMTS Family Proteins and Snake Venom Metalloproteinases: A Structural Overview, *Toxins* 2016, 8, 155
10. Duffy M., Mullyooly M., O'Donovan N., Sukor S. et al, The ADAMs family of proteases: new biomarkers and therapeutic targets for cancer?, *Clinical Proteomics* 2011 8:9
11. Khokha R., Murthy A., Weiss A., Metalloproteinases and their natural inhibitors in inflammation and immunity., *Nat Rev Immunol.* 2013 Sep;13(9):649-65
12. Weber S., Saftig P., Ectodomain shedding and ADAMs in development., *Development* 139, 3693-3709 (2012)
13. Edwards, D.R.; Handsley, M.M.; Pennington, C.J. The ADAM metalloproteinases. *Mol. Asp. Med.* 2009, 29, 258–289.
14. Alfandari, D., McCusker, C. and Cousin, H. ADAM function in embryogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol* 2009 20(2), 153-163
15. Kelwick, R.; Desanlis, I.; Wheeler, G.N.; Edwards, D.R. The ADAMTS (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs) family. *Genome Biol.* 2015, 16, 113
16. Conover C., Key Questions and Answers about Pregnancy-Associated Plasma Protein-A, *Trends*

Endocrinol Metab. 2012 May ; 23(5): 242–249

17. Murphy G., Tissue inhibitors of metalloproteinases, *Genome Biology* 2011, 12:233
18. Nissi R., Talvensaaari-Mattila A., Kotila V. et al, Circulating matrix metalloproteinase MMP-9 and MMP-2/TIMP-2 complex are associated with spontaneous early pregnancy failure, *Reproductive Biology and Endocrinology* 2013, 11:2
19. Kizaki K., Ushizawa K., Takahashi T., Yamada O., et al Gelatinase (MMP-2 and -9) expression profiles during gestation in the bovine endometrium, *Reproductive Biology and Endocrinology* 2008, 6:66
20. Aghababaei M, Perdu S, Irvine K, Beristain AG. A disintegrin and metalloproteinase 12 (ADAM12) localizes to invasive trophoblast, promotes cell invasion and directs column outgrowth in early placental development. *Mol Hum Reprod* 2014 Mar;20(3):235e49
21. Biadasiewicz K, Fock V, Dekan S, Proestling K, Velicky P, Haider S, et al. Extravillous trophoblast-associated ADAM12 exerts pro-invasive properties, including Induction of integrin beta 1-Mediated cellular spreading. *Biol Reprod* 2014 May;90(5):101.
22. Aghababaei M., Beristain AG., Importance of metzincin proteases in trophoblast biology and placental development: A focus on ADAM12, *Placenta* 36, S12 Supplement 1, *Trophoblast Research*, Vol. 29 (2015) S11eS19
23. Christians JK., Beristain AG., ADAM12 and PAPP-A: Candidate regulators of trophoblast invasion and first trimester markers of healthy trophoblasts, *Cell Adhesion & Migration*, 10:1-2, 147-153
24. Zou Junxuan, The characterization of ADAMTS-12 in the regulation of human trophoblast invasion in vitro. Thesis PhD U.B.C.2010
25. Beristain AG, Zhu H, Leung PCK. Regulated expression of ADAMTS-12 in human trophoblastic cells: a role for ADAMTS-12 in epithelial cell invasion? *PLoS ONE* 2011;6:e18473
26. Lee S., Lee H., Gil M., Kim CJ., et al, Differential Expression Patterns of a Disintegrin and Metalloproteinase With Thrombospondin Motifs (ADAMTS) -1, -4, -5, and -14 in Human Placenta and Gestational Trophoblastic Diseases, *Arch Pathol Lab Med—Vol 138*, May 2014
27. Barash J., Buchanan E., Hillson C., Diagnosis and Management of Ectopic Pregnancy, *Am Fam Physician*. 2014;90(1):34-40
28. Creanga A., Shapino-Mendoza C., Bish C., Zane S. et al., Trends in Ectopic Pregnancy Mortality in the United States 1980–2007, *Obstet Gynecol* 2011;117:837–43)
29. Hoover K., Tao G., Kent C., Trends in the Diagnosis and Treatment of Ectopic Pregnancy in the United States, *Obstet Gynecol* 2010;115:495–502

30. Bouyer J., Costel J., Fernandez H., Pouly J., Job-Spiral N., Sites of ectopic pregnancy: a 10 year population-based study of 1800 cases, *Human Reproduction* Vol.17, No.12 pp. 3224–3230, 2002
31. Tulandi T. Clinical manifestations, diagnosis, and management of ectopic pregnancy. UpToDate. <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-diagnosis-and-management-of-ectopic-pregnancy>. Accessed March 4, 2014.
32. Senapati S., Barnhart K., Biomarkers for Ectopic Pregnancy and Pregnancy of Unknown Location, *Fertil Steril*. 2013 March 15; 99(4): 1107–1116
33. Daponte A., Deligeoroglou E., Garas A., Pournaras S. et al, Activin A and Follistatin as Biomarkers for Ectopic Pregnancy and Missed Abortion, *Disease Markers* Volume 35 (2013), Issue 5, Pages 497–503
34. Daponte A., Deligeoroglou E., Pournaras S., Hadjichristodoulou C. et al Interleukin-15 (IL-15) and anti-C1q antibodies as serum biomarkers for ectopic pregnancy and missed abortion, *Immunology Developmental and Clinical* pages 6, 637513 ID Article, 2013 V
35. Daponte A., Deligeoroglou E., Pournaras S., Tsezou A. et al, Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 as serum biomarkers for ectopic pregnancy and missed abortion: a case-control study, *Clinica Chimica Acta* 415 (2013) 145–151
36. Daponte A., Pournaras S., Deligeoroglou E., Skentou H., Messinis IE, Serum interleukin-1 β , interleukin-8 and anti-heat shock 60 Chlamydia trachomatis antibodies as markers of ectopic pregnancy, *Journal of Reproductive Immunology* 93 (2012) 102–108
37. Daponte A., Pournaras S., Polyzos NP., Tsezou A., Skentou H. et al, Soluble FMS-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) and serum placental growth factor (PlGF) as biomarkers for ectopic pregnancy and missed abortion, *J Clin Endocrinol Metab*, September 2011, 96(9):E1444 –E1451
38. Daponte A., Pournaras S., Zintzaras E., Kallitsaris A. et al, The value of a single combined measurement of VEGF, glycodelin, progesterone, PAPP-A, HPL and LIF for differentiating between ectopic and abnormal intrauterine pregnancy, *Human Reproduction* Vol.20, No.11 pp. 3163–3166, 2005
39. Bischof P, Reyes H, Herrmann WL, Sizonenko PC. Circulating levels of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and human chorionic gonadotrophin (hCG) in intrauterine and extrauterine pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol*. 1983; 90:323–5.
40. Tong S., Skubisz M., Horne A., Molecular diagnostics and therapeutics for ectopic pregnancy, *Molecular Human Reproduction*, Vol.21, No.2 pp. 126–135, 2015
41. Rausch ME, Beer L, Sammel MD, Takacs P, Chung K, et al (2011) A disintegrin and metalloprotease protein-12 as a novel marker for the diagnosis of ectopic pregnancy. *Fertil Steril* 95(4): p. 1373–1378

42. Yang J, Wu J, Guo F, Wang D, Chen K, Li J, et al. Maternal serum disintegrin and metalloprotease protein-12 in early pregnancy as a potential marker of adverse pregnancy outcomes. *PloS one* 2014:e97284.
43. Horne AW, Brown JK, Tong S, Kaitu'u-Lino T. Evaluation of ADAM-12 as a diagnostic biomarker of ectopic pregnancy in women with a pregnancy of unknown location. *PloS One* 2012;7: e41442.
44. Zou S., Li X., Feng Y., Sun S., Li J. et al Comparison of the diagnostic values of circulating steroid hormones, VEGF-A, PIGF, and ADAM12 in women with ectopic pregnancy, *Journal of Translational Medicine* 2013, 11:44
45. Faubion S., MacLaughlin K., Long M., Pruthi S., Casey P., Surveillance and Care of the Gynecologic Cancer Survivor, *JOURNAL OF WOMEN'S HEALTH* Volume 24, Number 11, 2015
46. Morice P., Leary A., Creutzberg C., Abu-Rustum N., Darai E., Endometrial cancer, *Lancet* 2016; 387: 1094–108
47. Colombo N., Creutzberg C., Amant F., Bosse T., Gonzalez-Martin A. et al, ESMO–ESGO ESTRO consensus conference on endometrial cancer: Diagnosis, treatment and follow-up, *Radiotherapy and Oncology* 117 (2015) 559–581
48. Monge M, Colas E, Doll A, Gonzalez M, Gil-Moreno A, Planaguma J, Quiles M, Arbos MA, Garcia A, Castellvi J, et al: ERM/ETV5 up-regulation plays a role during myometrial infiltration through matrix metalloproteinase-2 activation in endometrial cancer. *Cancer Res* 2007, 67:6753–6759
49. Yuan Y., Shen N., Yang S., Zhao L. Guan Y. Extracellular matrix metalloproteinase inducer and matrix metalloproteinase-2 overexpression is associated with loss of hormone receptor expression and poor prognosis in endometrial cancer, *ONCOLOGY LETTERS* 10: 342-348, 2015
50. Lin C-Y., Chao A., Wang T-H., Hsueh S., Lee Y-S. Et al, A dual tyrosine kinase inhibitor lapatinib suppresses overexpression of matrix metalloproteinase 1 (MMP1) in endometrial cancer, *J Mol Med* (2014) 92:969–981
51. Srdelic Mihalj S., Kuzmic Prusac I., Zekic Tomas S. et al, Lipocalin-2 and matrix metalloproteinase-9 expression in high-grade endometrial cancer and their prognostic value, *Histopathology* 2015, 67, 206–215. DOI: 10.1111/his.12633
52. Keightley M., Sales K., Jabbour H., PGF2a-F-prostanoid receptor signalling via ADAMTS1 modulates epithelial cell invasion and endothelial cell function in endometrial cancer, *BMC Cancer* 2010, 10:488
53. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Mathers C., Rebelos M. et al, Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012, *Int. J. Cancer*:

136, E359–E386 (2015)

54. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2016*. Atlanta: American Cancer Society; 2016.
55. Dasari S., Wudayagiri R., Valluru L., *Cervical cancer: Biomarkers for diagnosis and treatment*, *Clinica Chimica Acta* 445 (2015) 7–11
56. Lees B., Erickson B., Huh W., *Cervical cancer screening: evidence behind the guidelines*, *Am J Obstet Gynecol* 2016.
57. *Practice Bulletin Cervical Cancer Screening and Prevention, OBSTETRICS & GYNECOLOGY VOL. 127, NO. 1, JANUARY 2016*
58. Libra M., Scalisi A., Vella N., Clementi S. et al, *Uterine cervical carcinoma: Role of matrix metalloproteinases*, *INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY* 34: 897-903, 2009
59. Li Y, Wu T, Zhang B, Yao Y and Yin G. *Matrix metalloproteinase-9 is a prognostic marker for patients with cervical cancer*. *Med Oncol* 2012; 29: 3394-3399
60. Fan D., Wang Y., Qi P., Chen Y. et al, *MicroRNA-183 functions as the tumor suppressor via inhibiting cellular invasion and metastasis by targeting MMP-9 in cervical cancer*, *Gynecologic Oncology* 141 (2016) 166–174
61. Zhu D., Ye M., Zhang W., *E6/E7 oncoproteins of high risk HPV-16 upregulate MT1-MMP, MMP-2 and MMP-9 and promote the migration of cervical cancer cells*, *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(5):4981-4989
62. Kaewprag J, Umnajvijit W, Ngamkham J, Ponglikitmongkol M (2013) *HPV16 Oncoproteins Promote Cervical Cancer Invasiveness by Upregulating Specific Matrix Metalloproteinases*. *PLoS ONE* 8(8): e71611. doi:10.1371/journal.pone.0071611
63. Zubel A., Flechtenmacher Ch., Edler L., Alonso a., *Expression of ADAM9 in CIN3 lesions and squamous cell carcinomas of the cervix*, *Gynecologic Oncology* 114 (2009) 332–336
64. Shaker M., Yokoyama Y., Mori S., Tsujimoto M. et al, *Aberrant Expression of Disintegrin-Metalloprotease Proteins in the Formation and Progression of Uterine Cervical Cancer*, *Pathobiology* 2011;78:149–161
65. Xu, Q., Ying, M., Chen, G. et al., *ADAM17 is associated with EMMPRIN and predicts poor prognosis in patients with uterine cervical carcinoma*, *Tumor Biol.* (2014) 35: 7575
66. Al-Alem L., Curry T., *OVARIAN CANCER: INVOLVEMENT OF THE MATRIX METALLOPROTEINASES*, *Reproduction*. 2015 August ; 150(2): R55–R64.
67. Fathalla MF. *Incessant ovulation and ovarian cancer - a hypothesis re-visited*. *Facts Views Vis Obgyn*. 2013; 5:292–297.
68. Hu X, Li D, Zhang W, Zhou J, Tang B, Li L. *Matrix metalloproteinase-9 expression correlates*

- with prognosis and involved in ovarian cancer cell invasion. *Arch Gynecol Obstet.* 2012; 286:1537–1543.
69. Fu Z., Xu S., Xu Y., Ma J. et al, The Expression of Tumor-Derived and Stromal-Derived Matrix Metalloproteinase 2 Predicted Prognosis of Ovarian Cancer, *Int J Gynecol Cancer* 2015;25: 356-362
70. Che Y-L., Luo S-J., Li G., Cheng M. et al, The C3G/Rap1 pathway promotes secretion of MMP-2 and MMP-9 and is involved in serous ovarian cancer metastasis, *Cancer Letters* 359 (2015) 241–249
71. Rauvala M., Puistola U., Turpeenniemi-Hujanen T., Gelatinases and their tissue inhibitors in ovarian tumors; TIMP-1 is a predictive as well as a prognostic factor, *Gynecologic Oncology* 99 (2005) 656 – 663
72. Maatta M., Talvensaaari-Mattila A., Turpeenniemi-Hujanen T., Santala M., Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) and -9 (MMP-9) and their Tissue Inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in Differential Diagnosis Between Low Malignant Potential (LMP) and Malignant Ovarian Tumours, *ANTICANCER RESEARCH* 27: 2753-2758 (2007)
73. Zohny F. Samir, Fayed T. Salah, Clinical utility of circulating matrix metalloproteinase-7 (MMP-7), CC chemokine ligand 18 (CCL18) and CC chemokine ligand 11 (CCL11) as markers for diagnosis of epithelial ovarian cancer, *Med Oncol* (2010) 27:1246–1253
74. Boldt HB, Conover CA. Overexpression of pregnancy-associated plasma protein-A in ovarian cancer cells promotes tumor growth in vivo. *Endocrinology.* 2011; 152:1470–8.
75. Becker M., Haluska P., Bale L., Oxvig C., Conover C., A Novel Neutralizing Antibody Targeting Pregnancy-Associated Plasma Protein-A Inhibits Ovarian Cancer Growth and Ascites Accumulation in Patient Mouse Tumorgrafts, *Mol Cancer Ther.* 2015 April ; 14(4): 973–981
76. Lima M, A, dos Santos L, Turri J, A, Nonogaki S, Buim M, Lima J, F, de Jesus Viana Pinheiro J, Bueno de Toledo Osório C, A, Soares F, A, Freitas V, M, Prognostic Value of ADAMTS Proteases and Their Substrates in Epithelial Ovarian Cancer. *Pathobiology* 2016;83:316-326
77. Sasaroli D, Gimotty PA, Pathak HB et al. Novel surface targets and serum biomarkers from the ovarian cancer vasculature. *Cancer Biol Ther* 2011;12:169-180.
78. Vlad C., Kubelac P., Onisim A., Fetica B., Fulop A. et al, Expression of CDCP1 and ADAM12 in the ovarian cancer microenvironment, *JBUON* 2016; 21(4): 973-978
79. Cheon D-J., Li A., Beach J., Walts A. et al, ADAM12 is a prognostic factor associated with an aggressive molecular subtype of high-grade serous ovarian carcinoma, *Carcinogenesis*, 2015, Vol. 36, No. 7, 739–747
80. JUNG K., Preanalytical Biases in Measurement of Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Inhibitors in Peripheral Blood, *J Rheumatol* 2007;34:890-892

81. Fatas M., Franquelo P., Franquelo R., Impact of Blood Sampling on the Circulating Matrix Metalloproteinases 1, 2, 3, 7, 8, and 9, *Clinical Chemistry* 54:4 (2008)
82. Honkavuori M., Talvensaari-Mattila A., Puistola U., Turpeenniemi-Hujanen T., Santala M., High Serum TIMP-1 is Associated with Adverse Prognosis in Endometrial Carcinoma, *ANTICANCER RESEARCH* 28: 2715-2720 (2008)

