



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



**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

**ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ**  
**ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ**

**ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΑΚΗ ΜΑΡΙΑ**

**ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ- ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ**

**Οκτώβριος 2016**

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

*ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ*

*ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ*

*ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ*

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: κ. Σαμαρά Μαρία

Μέλος : κ. Δαπόντε Αλέξανδρος

Μέλος : κ. Σάτρα Μαρία

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	σελίδες
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	1
ABSTRACT	2
1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	3
1.1. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ	3
1.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ	4
1.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ	6
1.4. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ	7
1.4.1. ΤΥΠΟΙ ΚΑΡΚΙΝΩΝ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ	7
1.4.2. ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ	8
1.4.3. ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ	10
1.5. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ	13
1.5.1. LYNCH ΣΥΝΔΡΟΜΟ	14
1.5.2. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΑΜΑΡΤΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΝΕΟΠΛΑΣΙΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ RΤΕΝ	17
1.6. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ	18
1.6.1. ΓΕΝΙΚΑ	18
1.6.2. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ	19
1.6.2.1. ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ	19
1.6.2.2. ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ	20
1.6.2.3. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ	21
1.6.3. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ	23
1.6.4. ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ	25

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	27
2.1. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΤΟΥ DNA	27
2.1.1. ΓΕΝΙΚΑ	27
2.1.2. ΑΜΕΣΗ ΑΝΑΣΤΡΟΦΗ ΒΛΑΒΗΣ	28
2.1.3. ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΑΝΘΑΣΜΕΝΩΝ ΖΕΥΓΩΝ ΒΑΣΕΩΝ	30
2.1.3.1. MMR ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ	32
2.1.3.2. ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ	33
2.1.4. ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΜΕ ΕΚΤΟΜΗ ΒΑΣΗΣ	35
2.1.5. ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΜΕ ΕΚΤΟΜΗ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ	36
2.1.6. ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΚΛΩΝΩΝ ΘΡΑΥΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ DNA	42
2.2. ΠΑΡΕΚΚΛΙΝΟΥΣΑ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΤΟΥ DNA	46
2.3. ΤΟ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟ ΓΟΝΙΔΙΟ P53	47
2.4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ	49
2.5. ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ ΓΙΑ ΤΑ ΑΤΟΜΑ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	58
3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	60
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	62

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ο πιο συχνός γυναικολογικός καρκίνος στον δυτικό χώρο και κυρίως στις αναπτυγμένες χώρες συμπεριλαμβανομένου και της Ελλάδας. Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο για εμφάνιση του καρκίνου του ενδομητρίου όπως η παρουσία της υψηλής συγκέντρωσης των οιστρογόνων . Ο καρκίνος του ενδομητρίου διακρίνεται σε δυο τύπους : α) τον οιστρογονοεξαρτώμενο (τύπου I) και β) τον μη οιστρογονοεξαρτώμενο (τύπου II). Επιπροσθέτως ο καρκίνος μπορεί να είναι σποραδικός ή κληρονομικός. Ο σποραδικός καρκίνος μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε άτομο χωρίς να υπάρχει οικογενειακό ιστορικό. Ο κληρονομικός καρκίνος εμφανίζεται κυρίως σε νεαρότερες ηλικίες και προκαλείται από την κληρονόμηση επιβλαβών γονιδίων. Κληρονομικά σύνδρομα με αυξημένο τον κίνδυνο εμφάνισης για καρκίνο του ενδομητρίου είναι το σύνδρομο Lynch και το σύνδρομο Cowden. Οι σημαντικότερες γενετικές μεταβολές που συμβάλλουν στην καρκινογένεση είναι η ενεργοποίηση των πρωτο-ογκογονιδίων, η γενετική αστάθεια και οι μεταλλάξεις των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Πιο συγκεκριμένα από τις πιο συχνές γενετικές μεταβολές που συμβαίνουν στον καρκίνο του ενδομητρίου είναι η μικροδορυφορική αστάθεια, η αδρανοποίηση του PTEN, η μετάλλαξη του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 κ.α. Επιπλέον διαταραχές στους επιγενετικούς μηχανισμούς, όπως η υπερμεθυλίωση των νησιδίων CpG, μπορεί να αυξήσει την πιθανότητα για καρκίνο του ενδομητρίου. Βλάβες στα συστήματα επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA έχουν ως αποτέλεσμα την καρκινογένεση. Στον καρκίνο του ενδομητρίου εμπλέκονται τα συστήματα των λανθασμένων ζευγών βάσεων, της εκτομής των βάσεων και των νουκλεοτιδίων. Βλάβη στο σύστημα MMR προκαλεί μικροδορυφορική αστάθεια ενώ φαίνεται να εμπλέκεται και στον σποραδικό καρκίνο με την υπερμεθυλίωση του υποκινητή του MLH1 γονιδίου. Όσον αφορά τα συστήματα επιδιόρθωσης BER και NER δεν υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη του καρκίνου. Ακόμη βρέθηκε και συσχέτιση της μικροδορυφορικής αστάθειας, της υπερέκφρασης του TP53 και της αδρανοποίησης του PTEN, επιβεβαιώνοντας την ανταγωνιστική δράση των δυο τελευταίων. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται ευρέως σήμερα είναι η ανοσοϊστοχημεία και η ανάλυση της μικροδορυφορικής αστάθειας, με την πρώτη να προτιμάται, αν και με μικρότερη ευαισθησία, επειδή υποδεικνύει τη ακριβή γονιδιακή βλάβη. Η ανακάλυψη και εφαρμογή νέων μοριακών τεχνικών, όπως η αλληλούχιση επόμενης γενιάς (NGS), αναμένεται να συμβάλλει ουσιαστικά στην έρευνα για τη γενετική προδιάθεση των ατόμων με καρκίνο του ενδομητρίου.

## ABSTRACT

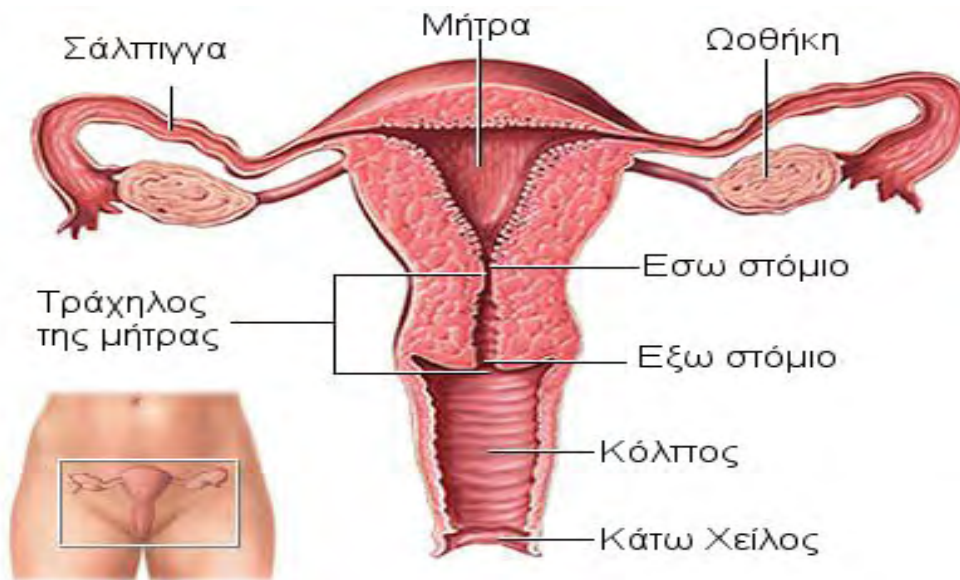
Endometrial cancer is the most frequent gynecological cancer in the west and especially in developed countries, including Greece. There are some factors which increase the risk for endometrial cancer such as the high concentration of estrogens. Endometrial cancer is classified in two groups: a) type I (estrogen related) and b) type II (non estrogen related). Furthermore, cancer can be sporadic or hereditary. Sporadic cancer can be occurred to everyone but hereditary cancer can be occurred to younger ages and it is caused by the inheritance of defective genes. Hereditary syndromes with increased risk for endometrial cancer are Lynch syndrome and Cowden syndrome. The most important genetic variations that cause endometrial cancer are microsatellite instability, deactivation of PTEN etc. Moreover damages in the epigenetic mechanisms, such as hypermethylation of CpGs islands can cause carcinogenesis and endometrial cancer. Defective DNA repair systems can cause carcinogenesis. Especially in endometrial cancer involved some of these systems such as MMR , BER and NER pathway. Defects in MMR pathway cause microsatellite instability while it seems that it plays a role in sporadic cancer with the hypermethylation of the promoter of MLH1 gene. Until today, there are no enough evidence about the fact that BER and NER pathways are involved in endometrial cancer. Also it is found that there is a correlation between the over expression of p53 and the inactivation of PTEN with the microsatellite instability. The laboratory techniques which are known and useful today are immunochemistry and microsatellite analysis. The first one is preferred because it detects the exact damages in genes. The discovery and the implication of new molecular techniques such as next generation sequencing will help for the prevention of people with high risk for endometrial cancer.

## 1.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 1.1. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Η μήτρα είναι ένα όργανο τοποθετημένο στη μικρή πύελο ανάμεσα στην ουροδόχο κύστη και στο παχύ έντερο. Είναι κοίλο όργανο με μέγεθος που κυμαίνεται σε 7,5-8 εκατοστά μήκος και πλάτος 5 εκατοστά. Μοιάζει με σχήμα αχλαδιού και επικοινωνεί μέσω των σαλπινγικών στομιών με τις σάλπιγγες και τις ωοθήκες. Προς τα κάτω επικοινωνεί με τον τραχηλικό σωλήνα και τη κοιλότητα του κόλπου. Η μήτρα αποτελείται από:

- τον τράχηλο
- τον ισθμό
- το σώμα της μήτρας που αποτελείται από τρία στρώματα: 1) το περιμήτριο που είναι ο εξωτερικός χιτώνας της μήτρας, 2) το μυομήτριο που είναι η μεσαία στιβάδα και 3) το ενδομήτριο που είναι το εσωτερικό στρώμα που καλύπτει τη μητρική κοιλότητα. Το ενδομήτριο είναι πλούσιο σε τριχοειδή, αδένια και λεμφοφόρα αγγεία (Φυσιολογία της Αναπαραγωγής).



Εικόνα 1. Ανατομία της μήτρας.

## 1.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ο πιο συχνός τύπος γυναικολογικού καρκίνου στο δυτικό κόσμο. Το 2014, 320.000 γυναίκες διαγνώστηκαν με καρκίνο του ενδομητρίου και περίπου 56.0000 γυναίκες πέθαναν από τη νόσο. Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (ΗΠΑ) ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ο τέταρτος πιο συχνός καρκίνος και αντιπροσωπεύει το 6% όλων των καρκίνων στις γυναίκες. Συγκεκριμένα, το 2014 διαγνώστηκαν 52.630 νέες περιπτώσεις με καρκίνο του ενδομητρίου από τις οποίες κατέληξαν οι 8.590 περιπτώσεις (Siegel R et al., 2014). Οι περιοχές της Βόρειας Αμερικής και της Βορειοανατολικής Ευρώπης παρουσιάζουν υψηλότερα ποσοστά εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου σε σχέση με τον υπόλοιπο κόσμο.

Στην Ευρώπη, καταγράφεται η μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου του ενδομητρίου και αντιπροσωπεύει το 1-2% του συνόλου των θανάτων από καρκίνο του ενδομητρίου (Glob can 2008). Τα ποσοστά στην Αφρική και στην Ασία είναι αρκετά χαμηλότερα. Δυστυχώς, με την πάροδο του χρόνου, σε αντίθεση με άλλους τύπους καρκίνου, ο καρκίνος του ενδομητρίου αυξάνεται διαρκώς, ιδιαίτερα στις αναπτυγμένες χώρες. Μια πιθανή εξήγηση αυτού του φαινομένου είναι η αύξηση της παχυσαρκίας, η έλλειψη κυήσεων και η αύξηση του προσδόκιμου ζωής. Στο Ηνωμένο Βασίλειο κάθε χρόνο διαγιγνώσκονται περίπου 7.000 γυναίκες με καρκίνο ενδομητρίου, ενώ στην Ευρωπαϊκή Ένωση ο αριθμός φτάνει στις 86.000 γυναίκες (National Cancer Institute).

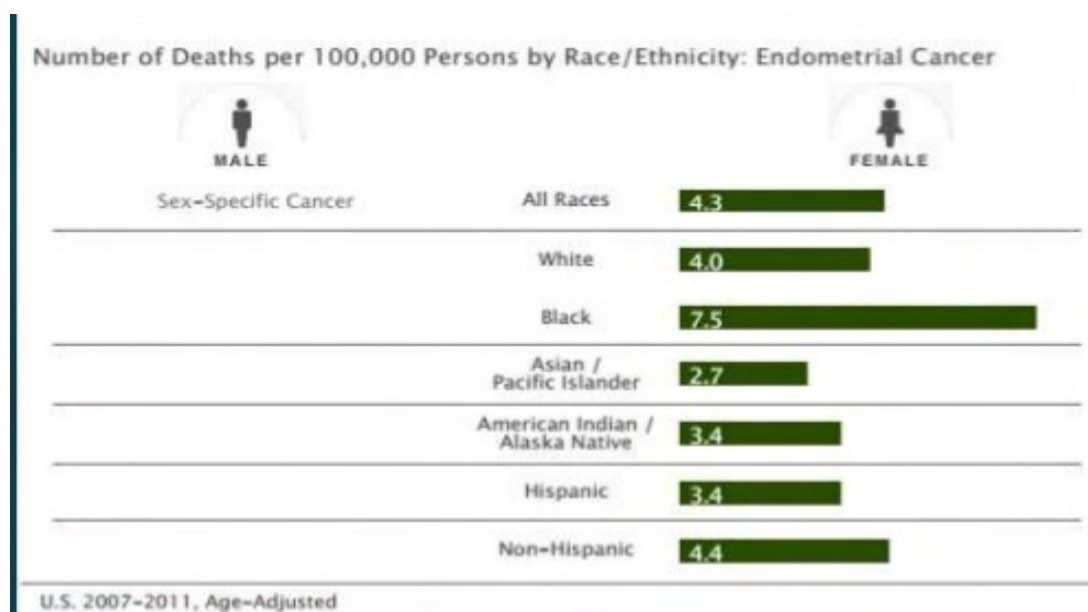
Οι χώρες με την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου το 2012 ήταν τα νησιά Μπαρμπάντος - με το υψηλότερο ποσοστό καρκίνου του ενδομητρίου- το ΦΥΡΟΜ και η Αρμενία (Siegel R et al., 2011). Η Ελλάδα συμβαδίζει σε συχνότητα και θνησιμότητα συγκριτικά με την υπόλοιπη Ευρώπη (Ferlay J et al., 2013).

Ο καρκίνος του ενδομητρίου συνήθως εμφανίζεται σε γυναίκες που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση με μέση ηλικία τα 63 έτη. Παρ' όλα αυτά μπορεί να εκδηλωθεί και σε προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες σε ποσοστό περίπου 25%(Wikipedia). Η μέση ηλικία διάγνωσης στις ΗΠΑ είναι τα 60 έτη. Γυναίκες που ανήκουν στην Καυκάσια φυλή παρουσιάζουν 2.88% κίνδυνο να εμφανίσουν καρκίνο του ενδομητρίου



κάποια στιγμή της ζωής τους συγκριτικά με Αφροαμερικανές γυναίκες στις οποίες ο κίνδυνος περιορίζεται σε ποσοστό 1.69%(Εικ. 2). Ωστόσο, είναι πιο πιθανό οι Αφροαμερικανικής καταγωγής γυναίκες να έχουν υψηλού βαθμού κακοήθειας μη ενδομητριοειδούς τύπου νεοπλασμάτα και προχωρημένου σταδίου νόσο τη στιγμή της διάγνωσης συγκριτικά με γυναίκες της Καυκάσιας φυλής με παρόμοια δημογραφικά στοιχεία (Oliver KE, et al. Racial disparities in histopathologic characteristics of uterine cancer are present in older, not younger blacks in an equal-access environment. *Gynecol Oncol* 2011;123(1):76–81).

Ο καρκίνος του ενδομητρίου δίνει συμπτώματα σχετικά νωρίς και έτσι διαγιγνώσκεται συνήθως σε πρώιμο στάδιο. Στις αναπτυσσόμενες κυρίως χώρες το ποσοστό πενταετούς επιβίωσης είναι σχετικά υψηλό. Συγκεκριμένα στις ΗΠΑ, το ποσοστό πενταετούς επιβίωσης για το σύνολο των περιπτώσεων του καρκίνου του ενδομητρίου είναι περίπου 69% (American Cancer Society, 2013). Εφόσον ο καρκίνος περιορίζεται στο σώμα της μήτρας, τα ποσοστά επιβίωσης αγγίζουν το 90% (European Society of Medical Oncology).



**Εικόνα 2.** Συνολικός αριθμός θανάτων από καρκίνο του ενδομητρίου ανά 100.000 άτομα ανάλογα με την εθνικότητα (National Cancer Institute).

### 1.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ

Μέχρι σήμερα δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως τα αίτια εμφάνισης του καρκίνου του ενδομητρίου. Ένας παράγοντας κινδύνου αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου αλλά δεν είναι απαραίτητο ότι θα προκαλέσει καρκίνο. Το μεγαλύτερο ποσοστό των περιπτώσεων που εμφανίζουν καρκίνο του ενδομητρίου οφείλεται στην παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων οιστρογόνων (απουσία οιστρογόνων παύουν να αναπτύσσονται οι όγκοι ή αναπτύσσονται πιο αργά). Άλλος σημαντικός παράγοντας κινδύνου είναι η ηλικία καθώς όσο μεγαλώνει η γυναίκα αυξάνεται ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου. Επιπρόσθετα, άτομα που έχουν συγγενείς πρώτου βαθμού με διαγνωσμένο καρκίνο του ενδομητρίου διατρέχουν σημαντικό κίνδυνο εμφάνισης.

Γνωρίζουμε σήμερα ότι γυναίκες με κληρονομικό μη πολυποδισιακό καρκίνο του παχέος εντέρου (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer, HNPCC), το γνωστό ως σύνδρομο Lynch, μπορεί να εμφανίσουν καρκίνο ενδομητρίου. . Γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών εμφανίζουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου λόγω των υψηλών ποσοτήτων οιστρογόνων. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι γυναίκες με ιστορικό καρκίνου του μαστού που έχουν αντιμετωπιστεί με ταμοξιφαίνη έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου εξαιτίας της διεγερτικής της δράσης στο ενδομήτριο. Η παχυσαρκία και ο διαβήτης αποτελούν σημαντικούς παράγοντες κινδύνου λόγω αύξησης των οιστρογονικών επιδράσεων. Η έλλειψη κυήσεων και η παρατεταμένη αιμορραγία αυξάνουν τον κίνδυνο για καρκίνο του ενδομητρίου. Αντιθέτως, η χορήγηση αντισυλληπτικών χαπιών που περιέχουν προγεστερόνη και οιστρογόνα φαίνεται να αντιρροπούν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου.

Μελέτες προτείνουν την έλλειψη φυσικής άσκησης, την κατανάλωση αλκοόλ και άλλους παράγοντες ως πιθανά αίτια εμφάνισης του καρκίνου του ενδομητρίου ωστόσο, τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα. Τελευταία, η πρόοδος της Μοριακής Βιολογίας και άλλων συναφών επιστημών έχει προσθέσει νέους παράγοντες που δρουν σε κυτταρικό επίπεδο και σχετίζονται με τη νόσο (European Society of Medical Oncology).

<b>Αύξηση του κινδύνου</b>	<b>Μείωση του κινδύνου</b>
<b>Εδραιωμένοι παράγοντες</b>	<b>Εδραιωμένοι παράγοντες</b>
Πρόωμη εμμηνορροχία	Καθυστερημένη εμμηνορροχία
Καθυστερημένη εμμηνόπαυση	Πρόωμη εμμηνόπαυση
Παχυσαρκία μετά την εμμηνόπαυση	Παχυσαρκία πριν την εμμηνόπαυση
Μεγάλη ηλικία	
Οικογενειακό ιστορικό με εμφάνιση σε νεαρές ηλικίες, αμφοτερόπλευρη νόσο ή εμφάνιση σε πολλούς συγγενείς	
Μεταλλάξεις των γονιδίων BRCA1 και 2	<b>Πιθανοί παράγοντες</b>
Τυπική και άτυπη υπερπλασία,	Εμμηνορροσία σε μη τακτά χρονικά διαστήματα με μεγάλα μεσοδιαστήματα
Σκληρωτική αδένωση, Ca in situ	Μητρικός θηλασμός

**Εικόνα 3.** Ενδογενείς παράγοντες και κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου (Ζαφράκας, Ελληνική Μαιευτική Γυναικολογία).

## 1.4. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

### 1.4.1. ΤΥΠΟΙ ΚΑΡΚΙΝΩΝ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ο πλέον διαδεδομένος από τους γυναικολογικούς καρκίνους. Είναι γνωστό ότι στην Ευρώπη 1 στις 200 γυναίκες θα αναπτύξει καρκίνο του ενδομητρίου σε κάποια στιγμή στη ζωή της. Ο καρκίνος του ενδομητρίου συνήθως εμφανίζεται σε γυναίκες > 50 ετών και επομένως εμμηνοπαυσιακές.

Ο καρκίνος του ενδομητρίου διακρίνεται σε δύο τύπους: τον τύπου I και τον τύπου II. Ο τύπου I είναι οιστρογονοεξαρτώμενος και εμφανίζεται κυρίως σε γυναίκες πριν την εμμηνοπαυση. Στον τύπου I ταξινομείται το 70% του σποραδικού καρκίνου με πιο σημαντικό εκπρόσωπο τον ενδομητριοειδή τύπο. Είναι λιγότερο

επιθετικός και περιλαμβάνει καρκίνους με βαθμό διαφοροποίησης 1 και 2. Ο τύπου II εμφανίζεται συνήθως σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση και δεν προέρχεται από υπερβολική ποσότητα οιστρογόνων. Εμφανίζεται σε ποσοστό περίπου 20%. Αφορά κυρίως καρκίνους με βαθμό διαφοροποίησης 3 και αντιπροσωπεύει τα θηλώδη-ορώδη και τα διαυγοκυτταρικά καρκινώματα. Είναι περισσότερο επιθετικός από τον τύπου I καθώς έχει τη τάση να εξαπλώνεται και έξω από τη μήτρα και για αυτό το λόγο εφαρμόζονται πιο επιθετικές θεραπείες στους ασθενείς που εμφανίζουν τύπου II καρκίνο του ενδομητρίου (European Society of Medical Oncology).

Table 1. Characteristics of Type I and Type II Endometrial Carcinomas		
Characteristic	Type I	Type II
Unopposed estrogen	Present	Absent
Growth	Slow-growing	Rapid progression
Precursor lesion	Atypical hyperplasia	Endometrial intra-epithelial carcinoma
Histology	Endometrioid	Serous, clear cell
Grade	Low	High
Depth of invasion	Usually superficial	Often deep
Molecular genetic changes	PTEN or KRAS gene mutation; microsatellite instability	p53 mutation

Source: Reference 15.

**Εικόνα 4.** Τύποι Καρκίνου του ενδομητρίου και χαρακτηριστικά τους.

#### 1.4.2. ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

**Μακροσκοπική μορφολογία:** Το καρκίνωμα του ενδομητρίου μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε περιοχή της κοιλότητας της μήτρας και να εξελίσσεται είτε περιορισμένα είτε κατ' επιφάνεια. Το σημαντικότερο στοιχείο δεν είναι ο όγκος του καρκινικού ιστού, αλλά η εις βάθος διήθηση του μυομητρίου, η οποία θεωρείται ως ένας από τους σημαντικούς προγνωστικούς δείκτες της εξέλιξης της νόσου (Kaku T et al., 2002).

**Μικροσκοπική μορφολογία:** Σχεδόν όλα τα καρκινώματα του ενδομητρίου είναι αδενοκαρκινώματα και παρουσιάζουν διαφορετικού βαθμού διαφοροποίηση (Grading), που συνιστά καθοριστικό προγνωστικό παράγοντα της νόσου (Στοιχεία Παθολογικής Ανατομικής και Ογκολογίας, Ανθούλη –Αναγωστοπούλου Φρ).

Συνήθως, στο μέσο του αδενικού επιθηλίου του ενδομητρίου βρίσκεται και το πλακώδες επιθήλιο. Όταν παρουσιάζει χαρακτήρες καλοήθειας τότε χαρακτηρίζεται ως αδenoακάνθωμα. Από την άλλη, όταν το πλακώδες επιθήλιο παρουσιάζει χαρακτήρες κακοήθειας αναφέρεται ως αδenoπλακώδες καρκίνωμα. Τα αδenoπλακώδη καρκινώματα του επιθηλίου είναι συνήθως χαμηλής διαφοροποίησης και κακής πρόγνωσης. Επιπλέον, σπάνια, παρατηρούνται και άλλα αδenoκαρκινώματα, τα οποία είναι γνωστά ως αδenoκαρκινώματα εκ των διαυγών κυττάρων του ενδομητρίου. Εντοπίζονται κυρίως σε γυναίκες που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση και έχουν χειρότερη πρόγνωση από τα τυπικά αδenoκαρκινώματα του ενδομητρίου.

Τα εκκριτικά καρκινώματα του ενδομητρίου είναι σπάνια, εμφανίζονται κυρίως σε προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες και η πρόγνωσή τους είναι αρκετά καλή. Σχετίζονται κυρίως με την επίδραση της προγεστερόνης στο ενδομήτριο, χωρίς ωστόσο αυτό να είναι απόλυτο καθώς εμφανίζονται και σε μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες.

Τα θηλώδη ορώδη καρκινώματα είναι επίσης σπάνια και ο βαθμός της διαφοροποίησής τους ποικίλλει ανάλογα με τη πρόγνωση. Παρουσιάζουν μεγάλη αναπλαστική δραστηριότητα του επιθηλίου και θηλωματώδη ανάπτυξη.

Σπάνια είναι επίσης τα βλεννώδη καρκινώματα και το πρωτοπαθές καρκίνωμα από πλακώδες επιθήλιο (Soutchcott BM, 2001, Σύνοψη Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Μαντελανάκης Σέργιος).

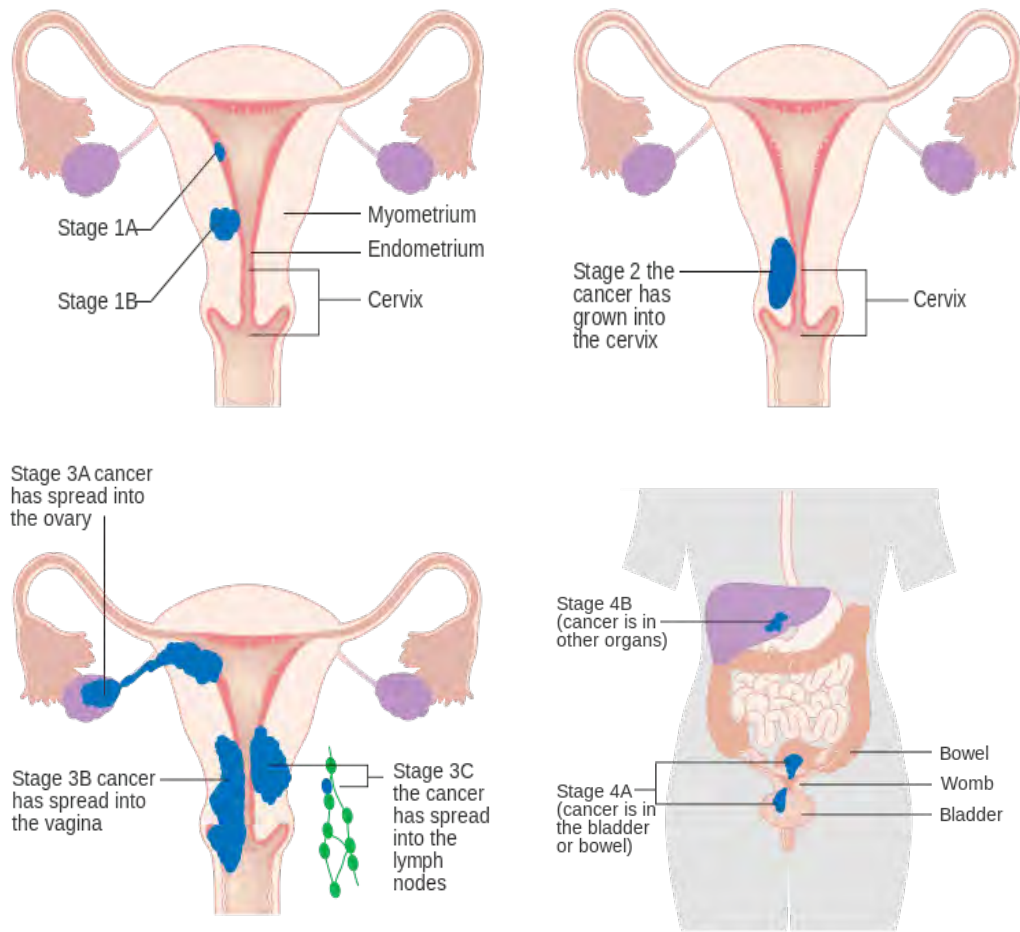
### 1.4.3. ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Για την αξιολόγηση της νόσου και την εκτίμηση της πρόγνωσης χρησιμοποιείται σύστημα σταδιοποίησης, που βασίζεται στην εξάπλωση του όγκου από την αρχική του θέση στο ενδομήτριο σε άλλους ιστούς ή όργανα. Έχει θεσπιστεί από τη Διεθνή Ομοσπονδία Γυναικολογίας και Μαιευτικής (International Federation of Gynecology and Obstetrics– FIGO). Η σωστή σταδιοποίηση είναι σημαντική καθώς συμβάλλει στην εκλογή της θεραπείας που θα ακολουθήσει η ασθενής μετά τη χειρουργική επέμβαση.

Για τον καρκίνο του ενδομητρίου το στάδιο ορίζεται μετά τη χειρουργική επέμβαση του ασθενούς και βασίζεται σε αυτά που είδε ο χειρουργός, κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης και στα αποτελέσματα της παθολογοανατομικής εξέτασης του όγκου που αφαιρέθηκε. Επομένως, η σταδιοποίηση είναι χειρουργική και παθολογοανατομική (Πίνακας 1, Εικ. 5). Ο παθολογοανατόμος ελέγχει την εξάπλωση των νεοπλασματικών αλλοιώσεων στον τράχηλο, τη θέση και έκταση του όγκου, το βαθμό διαφοροποίησής του, τον ιστολογικό τύπο, το βάθος της διήθησης του όγκου στους μυς της μήτρας και εκτιμά την παρουσία ή απουσία αγγειακής διήθησης (European Society of Medical Oncology).

Στάδιο	Ορισμός
Στάδιο I	Ο όγκος εντοπίζεται στη μήτρα και δεν έχει επεκταθεί εκτός αυτής
Στάδιο IA	Ο όγκος είτε περιορίζεται στο ενδομήτριο ή έχει διηθήσει λιγότερο από 50% του πάχους του μυός της μήτρας
Στάδιο IB	Έχει διηθήσει περισσότερο από το 50% του όγκου του μυός της μήτρας
Στάδιο II	Ο όγκος βρέθηκε στη μήτρα και έχει εξαπλωθεί στο τράχηλο
Στάδιο III	Ο όγκος έχει επεκταθεί εκτός της μήτρας, σε άλλο τμήμα των γυναικείων γεννητικών οργάνων (π.χ. κόλπος, ωοθήκες κλπ.) ή στους λεμφαδένες
Στάδιο IIIA	Ο όγκος έχει διηθήσει την εξωτερική πλευρά της μήτρας
Στάδιο IIIB	Ο όγκος έχει διηθήσει τον κόλπο ή το παραμήτριο
Στάδιο IIIC	Βρέθηκαν καρκινικά κύτταρα στους πυελικούς λεμφαδένες
Στάδιο IIIC2	Βρέθηκαν καρκινικά κύτταρα στους παρααορτικούς λεμφαδένες
Στάδιο IV	Ο όγκος έχει εξαπλωθεί στην ουροδόχο κύστη ή στο έντερο ή σε άλλα όργανα στο σώμα (μετάσταση)
Στάδιο IVA	Ο όγκος έχει διηθήσει στο βλεννογόνο του εντέρου ή της ουροδόχου κύστεως
Στάδιο IVB	Καρκινικά κύτταρα βρέθηκαν στους λεμφαδένες στη βουβωνική χώρα ή στην κοιλιά ή σε άλλα απομακρυσμένα όργανα

**Πίνακας 1.** Σύστημα σταδιοποίησης FIGO του 2009.



**Εικόνα 5.** Διαγραμματική απεικόνιση των σταδίων του καρκίνου του ενδομητρίου.



## 1.5. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Ο καρκίνος αποτελεί συχνό νόσημα, συνεπώς οι περισσότερες οικογένειες θα έχουν ένα ή περισσότερα μέλη με καρκίνο. Ο καρκίνος που δεν οφείλεται σε κληρονομήσιμη γενετική αλλαγή χαρακτηρίζεται «σποραδικού τύπου» καρκίνος. Αυτό σημαίνει ότι τυχαία κάποιος μπορεί να εμφανίσει οποιοδήποτε τύπο καρκίνου ακόμη και αν δεν υπάρχει μέλος της οικογένειας διαγνωσμένο με κάποιον τύπο καρκίνου.

Ο σποραδικός καρκίνος διαφέρει από τον κληρονομικό στα εξής:

- Ο κληρονομικός καρκίνος εμφανίζεται σε νεαρότερη ηλικία από τη σποραδική μορφή του καρκίνου και για το λόγο αυτό οι ειδικοί συχνά συστήνουν την έναρξη του προσυμπτωματικού ελέγχου σε νεαρότερη ηλικία για άτομα με ιστορικό κληρονομικού τύπου καρκίνου στην οικογένεια.
- Οι κληρονομικοί καρκίνοι είναι αποτέλεσμα κληρονόμησης κάποιας γενετικής αλλαγής που ευθύνεται για την καρκινογένεση του συγκεκριμένου τύπου καρκίνου και μεταβιβάζεται από τους γονείς στα παιδιά. Αντιθέτως, οι σποραδικοί καρκίνοι προκαλούνται από επίκτητες γενετικές αλλαγές που δημιουργήθηκαν λόγω δράσης ορμονών, περιβαλλοντικών παραγόντων, γήρανσης, αλλαγών στη διατροφή κ.α. Τα άτομα που έχουν κληρονομήσει μια γενετική αλλαγή μπορεί να παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης για περισσότερους από ένα τύπο καρκίνου.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το 90% του συνόλου των περιπτώσεων του καρκίνου του ενδομητρίου είναι σποραδικού τύπου και πολλοί από αυτούς προκαλούνται λόγω μεγάλης έκθεσης σε οιστρογόνα (τύπος I καρκίνου ενδομητρίου) (Gynecological Cancer Management. Identification, Diagnosis and Treatment).

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, στους σποραδικού τύπου καρκίνους του ενδομητρίου το KRAS γονίδιο είναι ενεργοποιημένο σε ποσοστό 10-31% των περιπτώσεων. Μεταλλάξεις στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο TP53 είναι συχνές και εμφανίζονται σε ποσοστό 10-47% των περιπτώσεων.

Εκτός από τις γενετικές αλλαγές που εμπλέκονται κατά την καρκινογένεση στο ενδομήτριο, σημαντικό ρόλο φαίνεται ότι έχουν επιγενετικές αλλαγές, όπως η μεθυλίωση του DNA. Η αδρανοποίηση του MLH1 γονιδίου, που κωδικοποιεί την αντίστοιχη πρωτεΐνη, που συμμετέχει σε μηχανισμό επιδιόρθωσης βλαβών του DNA (Mis-Match Repair, MMR), αποτελεί συχνή αιτία ανάπτυξης σποραδικού τύπου καρκίνων του ενδομητρίου. Η μη επιδιόρθωση των λαθών κατά το ζευγάρωμα των βάσεων του DNA προκαλεί μικροδορυφορική αστάθεια που απαντάται τόσο στη σποραδική μορφή μορφή του καρκίνου του ενδομητρίου. Η μικροδορυφορική αστάθεια παρατηρείται σε ποσοστό 17-23% των περιπτώσεων των σποραδικών καρκίνων (Gynecologic Oncology, Robert F.Ozols).

Στην κληρονομική μορφή (σύνδρομο Lynch) του καρκίνου του ενδομητρίου παρατηρείται συχνά αδρανοποίηση του MLH1 γονιδίου του συστήματος επιδιόρθωσης MMR. Ωστόσο, η αδρανοποίηση εδώ δεν είναι αποτέλεσμα μεθυλίωσης του γενετικού υλικού αλλά οφείλεται στην ύπαρξη γενετικών αλλαγών (μεταλλάξεις) στα αντίστοιχα γονίδια που κωδικοποιούν τα επιδιορθωτικά ένζυμα (Bajana et al.,2013).

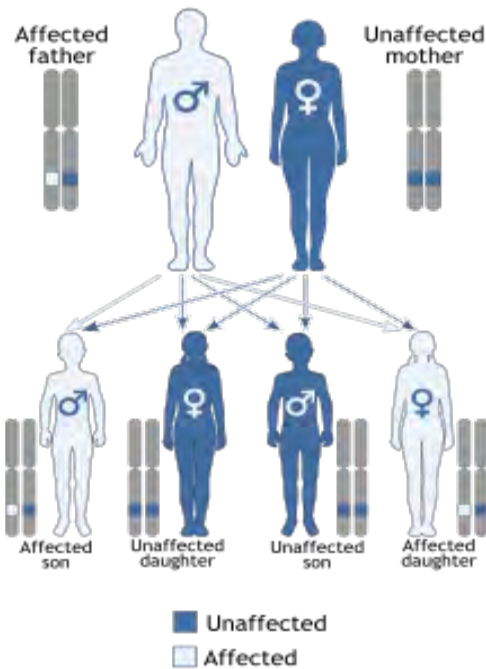
### **1.5.1 ΣΥΝΔΡΟΜΟ LYNCH**

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι το πιο συχνό στο σύνδρομο του κληρονομικού μη πολυποδισιακού καρκίνου του παχέος εντέρου (σύνδρομο Lynch) και κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή χαρακτήρα (Εικ. 6) .

Το σύνδρομο Lynch χωρίζεται σε δυο κατηγορίες:

- Τον κληρονομικού τύπου καρκίνο του παχέος εντέρου χωρίς πολυποδίαση (HNPCC) ή σύνδρομο Lynch
- Το οικογενές σύνδρομο καρκίνου ή σύνδρομο Lynch II, που χαρακτηρίζεται από υψηλό κίνδυνο εμφάνισης νεοπλασιών εκτός εντέρου, όπως ο καρκίνος του ενδομητρίου, ωθηκών κ.α. (Cancer Net).

## Autosomal dominant



**Εικόνα 6.** Αυτοσωμικός επικρατής τυπος κληρονόμησης που παρατηρείται στο σύνδρομο Lynch.

Δεδομένου ότι ο γενετικός έλεγχος είναι δαπανηρός και χρονοβόρος, έχουν θεσπιστεί κριτήρια για την αναγνώριση των ασθενών με κληρονομικού τύπου καρκίνο. Οι συγκεκριμένοι ασθενείς είναι πιθανόν να φέρουν μεταλλάξεις σε γονίδια επιδιόρθωσης βλαβών του DNA. Πρόκειται για τα κριτήρια Amsterdam τα οποία αναλύονται στη συνέχεια:

- Τουλάχιστον 3 συγγενείς με ιστολογικά επιβεβαιωμένο καρκίνο παχέος εντέρου ή καρκίνο άλλων οργάνων σχετιζόμενων με το σύνδρομο Lynch (ο ένας από τους συγγενείς πρέπει να είναι 1<sup>ου</sup> βαθμού με τους άλλους δυο).
- Ηλικία διάγνωσης ενός τουλάχιστον εκ των πασχόντων < 50 έτη.
- Προσβολή από τη νόσο τουλάχιστον δυο διαδοχικών γενεών (Shilpa Gover,2016).

Σε προηγούμενες μελέτες, αναφέρεται ότι η συχνότητα του καρκίνου του ενδομητρίου φτάνει σε ποσοστό το 20%, όταν υπάρχει σύνδρομο Lynch, συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό που δεν ξεπερνά σε ποσοστό το 3%. Σε αντίθεση με το

γενικό πληθυσμό, παρουσία του συνδρόμου Lynch ο καρκίνος του ενδομητρίου εμφανίζεται σε μικρότερες ηλικίες (Watson P., 1996). Το σύνδρομο Lynch προκαλείται από κληρονομήσιμες γενετικές αλλαγές που συμβαίνουν σε γονίδια που κωδικοποιούν επιδιορθωτικές πρωτεΐνες του MMR συστήματος. Η συχνότητα εμφάνισης των καρκίνων παχέος εντέρου και ενδομητρίου είναι 2-3% και 12% αντίστοιχα.

Μεταλλάξεις που εντοπίζονται σε κάποιο από τα γονίδια MLH1, MSH2, PMS1, PMS2 και MSH6 ενοχοποιούνται στο σύνδρομο Lynch (Peltomaki P. et al., 1997). Σε καρκινώματα του ενδομητρίου έχει αποδειχθεί ότι η αδρανοποίηση του συμπλέγματος MSH2/MSH6 διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην ανάπτυξη όγκων στο ενδομήτριο (Schweizer P. et al., 2001). Σε πρόσφατες μελέτες βρέθηκε ότι στο σύνδρομο Lynch παρατηρούνται συχνότερα μεταλλάξεις στα γονίδια MLH1 και MSH2 σε σχέση με τα MSH6 και PMS2 γονίδια (Yamamoto H et al., έτος;). Μάλιστα διαφαίνεται ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του ενδομητρίου ποικίλει σε ποσοστά ανάλογα με το γονίδιο που φέρει τη μετάλλαξη. Πιο συγκεκριμένα, για μεταλλάξεις που αφορούν στο MLH1 γονίδιο, ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου είναι 54%, ενώ μειώνεται σημαντικά όταν οι μεταλλάξεις αφορούν τα γονίδια MSH2 (21%) και MSH6 (16%).

Σε μελέτη των Hirai και συνεργατών, εξετάστηκαν 120 ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου οι οποίοι πληρούσαν τα κριτήρια του "Άμστερνταμ A (ένας ή περισσότεροι συγγενείς πρώτου βαθμού με καρκίνο σχετιζόμενο με το σύνδρομο Lynch) ή B (ασθενείς με δύο ή περισσότερους καρκίνους σχετιζόμενους με το σύνδρομο Lynch). Βρέθηκαν 18/120 ασθενείς με βλάβες σε γονίδια του MMR συστήματος και 9/120 ασθενείς με μεταλλάξεις στο MSH6γονίδιο. Από τους 72 ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια του Άμστερνταμ A , 14 είχαν βλάβες σε γονίδια του MMR συστήματος, ωστόσο κανείς δε διαγνώστηκε με σύνδρομο Lynch. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μελέτη προκύπτει ότι το MSH6 γονίδιο παίζει σημαντικό ρόλο στον καρκίνο του ενδομήτριο. Επιπλέον, φαίνεται ότι τα κριτήρια του Άμστερνταμ αναγνωρίζουν τις μισές μόνο από τις περιπτώσεις των καρκίνων που φέρουν μεταλλάξεις στα MMR γονίδια (Hirai et al., 2008).

## 1.5.2 ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΜΑΡΤΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΝΕΟΠΛΑΣΙΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ PTEN

Η νόσος των πολλαπλών αμαρτωμάτων είναι γνωστή και ως σύνδρομο Cowden και πήρε το όνομά της από το πρώτο περιστατικό το 1963 (Burgdorf WH., 2006). Χαρακτηρίζεται από αμαρτωματώδεις όγκους ενδοδερμικής, μεσοδερμικής και εκτοδερμικής προέλευσης, καθώς και από εξεργασίες του μαστού και του θυρεοειδούς.

Ακολουθεί αυτοσωμικό επικτρατή πρότυπο κληρονόμησης χαρακα και το υπεύθυνο γονίδιο εδράζεται στο χρωμόσωμα 10. Πρόκειται για το ογκοκατασταλτικό γονίδιο PTEN το οποίο έχει βρεθεί μεταλλαγμένο και σε σποραδικές μορφές καρκίνου του ενδομητρίου. Διαφορετικές μεταλλάξεις του γονιδίου PTEN ευθύνονται και για άλλα κληρονομούμενα καρκινικά σύνδρομα όπως το σύνδρομο Bannayan-Ruvalcaba-Riley (μακροκεφαλία, πολλαπλά λιπώματα και αιμαγγειώματα) (Pilarsky R et al., 2004) και η νόσος Lhermitte-Duclos (δυσπλαστικά γαγγλιοκυττώματα της παρεγκεφαλίδας).

Η νόσος Cowden είναι γνωστή για τις δερματοβλεννογόνιες εκδηλώσεις της, που περιλαμβάνουν τριχλημμώματα προσώπου, σιγμοειδείς υπερκερατώσεις παλαμών και πελμάτων, πολλαπλά ινώματα, λιπώματα, θηλώματα και αιμαγγειώματα δέρματος. Στα παιδιά τα μόνα ενδεικτικά σημεία της νόσου είναι η μακροκεφαλία, η ήπια νοητική καθυστέρηση και η οσχεοειδής γλώσσα.

Τα δύο τρίτα των ασθενών με νόσο Cowden παρουσιάζουν ευρήματα από το θυρεοειδή, με αυξημένη επίπτωση θυλακιδώδους αδενοκαρκινώματος, ενώ τα τρίτα τέταρτα αυτών εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού. Ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου εκτιμάται σε ποσοστό 5-10% των ατόμων με σύνδρομο Cowden ή σύνδρομο Bannayan-Ruvalcaba-Riley (Martinez-Mir A et al., 2003).

## 1.6. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ

### 1.6.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η εμφάνιση κακοήθους μορφώματος σε συγκεκριμένο ιστό ή όργανο είναι αποτέλεσμα της διαταραχής των ρυθμιστικών μηχανισμών που διέπουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μετατόπιση της ισορροπίας πολλαπλασιασμού-θανάτου προς την πλευρά του πολλαπλασιασμού (Hanahan D. et al., 2000).

Για τη διατήρηση της ανωτέρω ισορροπίας είναι απαραίτητη η παρουσία ρυθμιστικών μορίων που αποτελούν προϊόντα έκφρασης πρωτοογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Η επιτάχυνση του πολλαπλασιασμού ή η ελαττωμένη απόπτωση ή συνδυασμός και των δυο οδηγούν στη δημιουργία όγκων. Οι διαταραχές επιτυγχάνονται με μεταλλάξεις σε εμπλεκόμενα ρυθμιστικά μόρια, με αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη μη ελεγχόμενη απόπτωση (Σύγχρονη Μαστολογία, Σέκερης Κ).

Σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση φαίνεται να διαδραματίζουν οι βλάβες σε ρυθμιστικούς μηχανισμούς που ευθύνονται για το σωστό διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων με αποτέλεσμα την ανευπλοειδία. Αξίζει να σημειωθεί ότι η απώλεια της ετεροζυγωτίας (Loss Of Heterozygosity, LOH) αυξάνει την πιθανότητα απώλειας των ογκοκατασταλτικών γονιδίων (Orr Weaver T.L. et al., 2008).

Επιπρόσθετα, έχει αποδειχθεί ότι στη διατήρηση και επαύξηση της κυτταρικής μάζας συμβάλλουν μηχανισμοί αγγειογένεσης καθώς προσφέρουν στον όγκο οξυγόνο και θρεπτικές ουσίες (Hanahan D. et al., 1996). Βλάβες σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης βλαβών του DNA οδηγούν σε συσσώρευση μεταλλάξεων και γενετική αστάθεια, παράγοντες που επάγουν την καρκινογένεση.

## 1.6.2 ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Εδώ και περίπου έναν αιώνα έχει αποδειχθεί ότι ο καρκίνος έχει γενετικό υπόβαθρο. Σε αυτή την ανακάλυψη έχει συμβάλει δραστικά η πρόοδος της Μοριακής Βιολογίας η οποία συνετέλεσε στην κατανόηση της γενετικής βάσης της νόσου. Έτσι γνωρίζουμε πλέον τα βασικά γονίδια που εμπλέκονται στη νόσο, το ρόλο των πρωτεϊνών που κωδικοποιούν και τους πιθανούς μηχανισμούς που ρυθμίζουν την έκφρασή τους.

Κατά την ανάπτυξη του καρκίνου, τα φυσιολογικά κύτταρα μεταπίπτουν σε καρκινικά. Η γενετική βάση της καρκινογένεσης προτάθηκε από τους Fearson και Volgestein κατά τη μελέτη του αδενωματώδους πολύποδα παχέος εντέρου και τη σταδιακή του εξέλιξη σε αδενοκαρκίνωμα.

Μέχρι σήμερα έχουν διευκρινιστεί τρεις ομάδες γενετικών αλλαγών:

- ενεργοποίηση πρωτο - ογκογονιδίων
- μεταλλάξεις που οδηγούν σε αδρανοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων
- γενετική αστάθεια (Cooper, 2000).

### 1.6.2.1 ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ

Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερα από 50 διαφορετικά ογκογονίδια. Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα γονίδια αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορα ρυθμιστικά μονοπάτια όπως αυτά της απόπτωσης, της διαφοροποίησης, του κυτταρικού πολλαπλασιασμού κ.α. Η παρουσία ενεργοποιητικών μεταλλάξεων προκαλεί την μετατροπή των πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια με αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αναστολή της κυτταρικής απόπτωσης.

Τα ογκογονίδια ταξινομούνται σε πέντε κατηγορίες σύμφωνα με τις βιοχημικές και λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών που κωδικοποιούν. (Pierotti, 2000).

- Μεταγωγείς σηματοδοτικών μηνυμάτων που διακρίνονται σε πρωτεϊνικές κινάσες- που δε δρουν ως υποδοχείς- και G-πρωτεΐνες.

- Αυξητικοί παράγοντες (π.χ. TGF, EGF, VEGF) οι οποίοι ευθύνονται για το πολλαπλασιασμό των κυττάρων.
- Υποδοχείς αυξητικών παραγόντων (π.χ. HER2, EGFR, )
- Μεταγραφικοί παράγοντες οι οποίοι ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων-στόχων.
- Παράγοντες που ρυθμίζουν την απόπτωση.

#### 1.6.2.2. ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

Ο φυσιολογικός ρόλος των ογκοκατασταλτικών γονιδίων είναι να αναστέλλουν τον υπέρμετρο πολλαπλασιασμό των κυττάρων που φέρουν γενετικές βλάβες και να εμποδίζουν την μετάσταση. Αυτό επιτυγχάνεται παρεμβαίνοντας στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου ή παρατείνοντας τη φάση G2, στάδιο κατά το οποίο επιδιορθώνονται οι βλάβες που έχουν προκύψει κατά την αντιγραφή του γενετικού υλικού, διαφορετικά ενεργοποιούνται μηχανισμοί που οδηγούν το κύτταρο σε απόπτωση (Hartwell L, 1994).

Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης ταξινομούνται στις εξής κατηγορίες:

- Γονίδια-φρουροί των πυλών (Gatekeepers), δηλαδή γονίδια που κωδικοποιούν για ένα σύστημα ελέγχου το οποίο διασφαλίζει την ισορροπία μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απόπτωσης.
- Ρυθμιστικά γονίδια (Landscapeers), δηλαδή γονίδια που όταν υποστούν μετάλλαξη συμβάλλουν στην καρκινογένεση λόγω της αύξησης των καρκινικών κυττάρων και έτσι έχουμε απορρυθμισμένη κυτταρική αστάθεια.
- Γονίδια-φροντιστές (Caretakers), δηλαδή γονίδια που ελέγχουν τη σταθερότητα του γονιδιώματος. Οι μεταλλάξεις τους προκαλούν γενετική αστάθεια με συσσώρευση των μεταλλάξεων ή χρωμοσωμική αστάθεια.

Η απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων πραγματοποιείται μέσω σημειακών μεταλλάξεων ή μέσω κολόβωσης αλληλουχιών των πρωτεϊνών της



(Pierotti, 2000). Επίσης η αδρανοποίηση μπορεί να συμβεί μέσω απώλειας της ετεροζυγωτίας (LOH ή με μεθυλίωση σε ρυθμιστικές περιοχές του γενετικού υλικού (Versteeg, 1997 και Jones and Laird, 1999).

### **1.6.2.3. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ**

Ως γενετική αστάθεια ορίζεται η ανισορροπία μεταξύ των μηχανισμών που επιφέρουν βλάβες στο μόριο του DNA και των μηχανισμών επιδιόρθωσης των βλαβών.

Οι τυχαίες μεταλλάξεις που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια ζωής ενός ατόμου είναι αρκετά σπάνιες ώστε να θεωρηθούν ως ένα φαινόμενο μετασχηματισμού των φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά. Γι αυτό το λόγο πρέπει να υπάρχει ένας μηχανισμός που προκαλεί συσσώρευση των μεταλλάξεων και επάγει γενετική αστάθεια με επακόλουθη ανάπτυξη νεοπλασμάτων.

Η γενετική αστάθεια διακρίνεται σε χρωμοσωμική και μικροδορυφορική αστάθεια (Kinzer Kw et al., 1996). Στη χρωμοσωμική αστάθεια έχουμε χρωμοσωμικές ανακατατάξεις που αφορούν σε τμήμα ή ολόκληρο χρωμόσωμα. Η χρωμοσωμική αστάθεια προκαλεί απορρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης με αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση των ογκογονιδίων και αδρανοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Η χρωμοσωμική αστάθεια απαντάται κατά κανόνα σε προχωρημένα στάδια καρκίνου. Πρωταγωνιστικό ρόλο φαίνεται να έχει η πρωτεΐνη-φρουρός.

Η μικροδορυφορική αστάθεια έχει μελετηθεί εκτενέστερα και χαρακτηρίζεται από μικρές αλλαγές στην αλληλουχία του DNA, που συμβαίνουν κατά την

αντιγραφή και είναι συνήθως προσθήκες ή απαισιόφες μίας ή δυο νουκλεοτιδικών βάσεων. Οι αλλαγές αυτές παρατηρούνται συχνότερα σε περιοχές με επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA. Οι περιοχές αυτές χαρακτηρίζονται ως μικροδορυφορικές (Microsatellite) περιοχές του γονιδιώματος, καθώς η επαναλαμβανόμενη μονάδα περιέχει μία έως τέσσερις νουκλεοτιδικές βάσεις. Οι μικροδορυφορικές περιοχές εντοπίζονται τόσο σε κωδικοποιούσες περιοχές, που διεγείρουν την ανάπτυξη όγκων, όσο και σε μη κωδικοποιούσες ή ρυθμιστικές περιοχές γονιδίων (Perucho M., 1996). Φυσιολογικά, οι αναφερόμενες γενετικές βλάβες αποκαθίστανται μέσω των πρωτεϊνών των μηχανισμών επιδιόρθωσης (Chiaravalli AM et al., 2001).

Οι όγκοι οι οποίοι παρουσιάζουν χρωμοσωμική αστάθεια:

- Θεωρούνται ανευπλοειδείς
- Φέρουν σωματικές μεταλλαγές κυρίως στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο TP53 και στο ογκογονίδιο KRAS
- Θεωρούνται σταθεροί σε επίπεδο μικροδορυφορικής αστάθειας

Αντιθέτως, οι όγκοι που παρουσιάζουν φέρουν μικροδορυφορική αστάθεια:

- Χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα αστάθειας στις μικροδορυφορικές αλληλουχίες
- Είναι διπλοεδείς

Αν και υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ της χρωμοσωμικής και της μικροδορυφορικής αστάθειας, ωστόσο, υπάρχουν όγκοι στους οποίους συνυπάρχουν και τα δύο είδη γενετικής αστάθειας. Σε προηγούμενες μελέτες, η ανάλυση νεοπλασμάτων που παρουσίαζαν μικροδορυφορική αστάθεια με χρήση μικροσυστοιχιών ανέδειξε εκτεταμένες χρωμοσωμικές αλλαγές σε 5/23 περιστατικά, 7/23 περιπτώσεις έφεραν ταυτόχρονα βλάβες σε μικρό τμήμα του χρωμοσώματος, ενώ 11/23 δεν παρουσίαζαν χρωμοσωμική αστάθεια (Larissa Pikor et al., 2013).

### 1.6.3. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Στον καρκίνο του ενδομητρίου, οι γενετικές αλλαγές αφορούν κυρίως σε πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε μηχανισμούς μεταγωγής σημάτων και κυτταρικής επικοινωνίας. Το ενδομητριοειδές και το ορώδες καρκίνωμα του ενδομητρίου αντιπροσωπεύουν κατά κανόνα τους τύπους 1 και 2 αντίστοιχα και χαρακτηρίζονται από διαφορετικές γενετικές και μοριακές μεταβολές και συνεπώς διαφορετικούς παθογενετικούς μηχανισμούς (Bansal N., 2009) (Πίνακας 2).

Γενετικές μεταβολές	Καρκίνωμα Τύπου I	Καρκίνωμα Τύπου II
Αδρανοποίηση PTEN	50-80 %	10 %
Μεταλλάξεις K-RAS	15-30 %	0-5 %
Μεταλλάξεις β-catenin	20-40 %	0-3 %
Μικροδορυφορική αστάθεια	20-40 %	0-5 %
Διαταραχές HER-2/neu	10-30 %	40-80 %
Αδρανοποίηση p16	10 %	40 %
Μετάλλαξη TP53	10-20 %	80-90 %
Διαταραχές E-cadherin	10-20 %	60-90 %

**Πίνακας 2.** Γενετικές αλλαγές που παρατηρούνται σε τύπου I και τύπου II καρκινώματα του ενδομητρίου.

Η πλειονότητα των γενετικών αλλαγών που συμβαίνουν στον ενδομητριοειδή τύπο του καρκίνου του ενδομητρίου (τύπος I), παρατηρούνται σε πρώιμα στάδια χωρίς ωστόσο να καθίσταται σαφές ποιες είναι οι πρώτες ενδείξεις της κακοήθους εξαλλαγής. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2 η αδρανοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου PTEN είναι η πιο συχνή στον τύπου I καρκίνο του ενδομητρίου. Οι γενετικές αλλαγές στα MLH1 και MSH6 γονίδια σχετίζονται με μικροδορυφορική αστάθεια. Μεταλλάξεις στο ογκοκατασταλτικό TP53γονίδιο, υπερέκφραση του Her2/neu παράγοντα και η αδρανοποίηση της p16 πρωτεΐνης

που συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου θεωρούνται μεταγενέστερες γενετικές αλλαγές καθώς έχουν εντοπιστεί κυρίως σε όγκους χαμηλής διαφοροποίησης. Επίσης οι συγκεκριμένες αλλαγές δεν παρατηρούνται σε περιπτώσεις άτυπης υπερπλασίας του ενδομητρίου (Bansal N et al., 2009, Esteller M et al., 1997).

Αντιθέτως, στα τύπου II καρκινώματα ανιχνεύονται μεταλλάξεις στο γονίδιο TP53, και αδρανοποίηση της p16 πρωτεΐνης (Πίνακας 2). Επιπλέον, παρατηρούνται διαταραχές στην έκφραση της E-καντχερίνης (E-cadherin) και απώλεια ετεροζυγωτίας σε κάποια χρωμοσώματα (LOH) (Hecht JL et al., 2006).

Η ενεργοποίηση του PI3K/Akt/mTOR μονοπατιού παρατηρείται συχνά σε καρκινώματα του ενδομητρίου τύπου I κυρίως (Oza AM et al., 2011). Γενετικές αλλαγές σε γονίδια που κωδικοποιούν δομικές πρωτεΐνες του μονοπατιού αυτού εμφανίζονται συχνά σε καρκίνους του ενδομητρίου (Pavlidou A et al., 2014).

Υπάρχουν στοιχεία ότι η απορρύθμιση του PI3K/Akt/mTOR μονοπατιού από ογκογόνες μεταλλάξεις, η απώλεια της λειτουργίας του PTEN γονιδίου και/ή η υπερέκφραση των υποδοχέων της κινάσης τυροσίνης οδηγεί σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επιβίωση (Hecht JL et al., 2006). Το μονοπάτι σηματοδότησης των MAPK κινασών φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων στον καρκίνο του ενδομητρίου (Gori S. et al., 2009). Ωστόσο, υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών που αφορούν στο ρόλο του συγκεκριμένου σηματοδοτικού μονοπατιού στον καρκίνο του ενδομητρίου. Αξίζει να αναφερθεί ότι η παρατήρηση των Castellvi και συνεργατών, ότι τα επίπεδα έκφρασης της φωσφορυλιωμένης MAPK κινάσης ήταν αυξημένα στον ενδομητρικό καρκινικό ιστό με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς, υποδεικνύοντας την πιθανή σηματοδότηση του μονοπατιού των MAPK κινασών από τα οιστρογόνα. (Castellvi J. et al., 2009).

#### 1.6.4. ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ

Ο όρος "Επιγενετική" αναφέρεται σε έναν σχετικά νέο τομέα της Γενετικής, αν και ο όρος χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά περίπου πριν από 60 χρόνια. Σήμερα, ο ευρύτερα αποδεκτός ορισμός αναφέρεται στη μελέτη των κληρονομήσιμων αλλαγών της λειτουργίας του γονιδιώματος, που συντελούνται χωρίς τροποποίηση της αλληλουχίας του DNA. Περιλαμβάνει την διαδικασία επίδρασης στη λειτουργία ενός γονιδίου, χωρίς όμως να αλλάζει το ίδιο το DNA του γονιδίου. Συνοπτικά η Επιγενετική αποτελεί τη γέφυρα μεταξύ γονότυπου και φαινότυπου, τροποποιώντας το τελικό προϊόν του γονιδίου χωρίς αλλαγή της ακολουθίας του DNA, προσφέροντας ένα είδος μεταγραφικού ελέγχου, που ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί, που διαμορφώνουν την επιγενετική κατάσταση ενός οργανισμού, είναι απαραίτητοι για την κυτταρική διαφοροποίηση μεταφέροντας την γενετική πληροφορία κατά την κυτταρική διαίρεση. Οι επιγενετικές, όπως και οι γενετικές αλλαγές κληρονομούνται. Ωστόσο, είναι αναστρέψιμες και δύνανται να επηρεαστούν από ποικίλα ερεθίσματα και περιβαλλοντικούς παράγοντες (Goldberg et al., 2007).

Η επιγενετική κατάσταση του γονιδιώματος μεταβάλλεται δυναμικά στα κύτταρα των διαφόρων ιστών, σε αντίθεση με την ακολουθία του DNA, που παραμένει σταθερή και χρησιμοποιώντας ένα μεγάλο αριθμό ενζύμων σε συντονισμό μεταξύ τους, ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων και διαμορφώνει διαφορετικούς φαινότυπους σε διαφορετικά κύτταρα. Οι κύριοι μηχανισμοί που διαμορφώνουν την επιγενετική κατάσταση του γονιδιώματος είναι:

- η μεθυλίωση του DNA
- η τροποποίηση των ιστονών
- τα μη κωδικοποιούντα μόρια RNA

Η δυσλειτουργία των επιγενετικών μηχανισμών έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη σύνθετων νοσημάτων που προκαλούνται από το συνδυασμό επιγενετικών, γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Σε αυτά τα νοσήματα συμπεριλαμβάνεται και ο καρκίνος (Handel AE et al., 2010).

Πιο συγκεκριμένα, η πρώτη επιγενετική διαταραχή που παρατηρήθηκε στον καρκίνο είναι η υπομεθυλίωση των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του DNA κατά μήκος του γονιδιώματος, κωδικοποιουσών περιοχών και ιντρονίων, με αποτέλεσμα τη χρωμοσωμική αστάθεια.

Η υπερμεθυλίωση CpG νησίδίων που εντοπίζονται στους υποκινητές γονιδίων με ποικίλη δράση - στον κυτταρικό κύκλο, στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA, στην απόπτωση- και ογκοκατασταλτικών γονιδίων, έχει ως αποτέλεσμα την αδρανοποίησή τους και τη δημιουργία νεοπλασμάτων.

Σε συνδυασμό με τις διαταραχές της μεθυλίωσης συμμετέχουν η ακετυλίωση και ημεθυλίωση των ιστονών, με αποτέλεσμα διαταραχές στις διαδικασίες της αντιγραφής και μεταγραφής του DNA (Esteller M., 2008, Gal-Yam EN et al., 2008).

## 2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΒΛΑΒΩΝ ΤΟΥ DNA

#### 2.1.1 ΓΕΝΙΚΑ

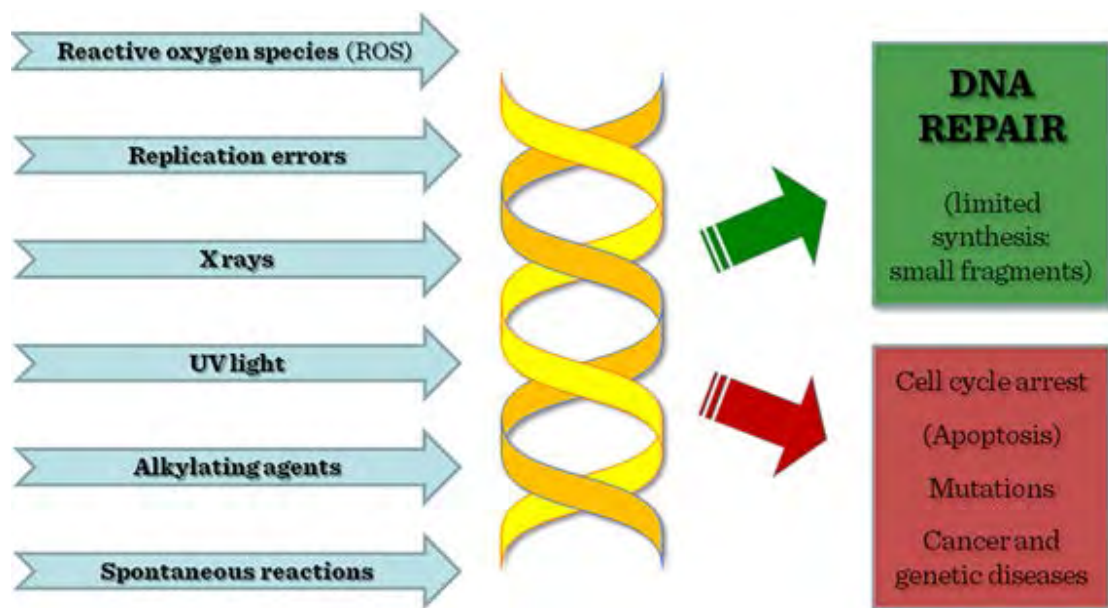
Το ανθρώπινο γονιδίωμα αποτελείται από 3 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων που κωδικοποιούν 30.000-40.000 γονίδια υπό την απειλή γοναδοτοξικών παραγόντων. Για το λόγο αυτό, είναι απαραίτητη η παρουσία διαφόρων μηχανισμών για την επιδιόρθωση ενδογενών ή εξωγενών αλλοιώσεων του DNA πριν τη σταθεροποίηση του γονιδιώματος μέσω της διαδικασίας της αντιγραφής (Christmann et al., 2003). Η αποκατάσταση των λαθών του DNA επιτυγχάνεται με διάφορα ένζυμα επιδιόρθωσης, τα οποία αποκόπτουν τις ελαττωματικές βάσεις και τις αντικαθιστούν μέχρι να αποκατασταθεί η φυσιολογική αλληλουχία του νουκλεοτιδίου. Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) είναι πιθανώς ο συνηθέστερος εξωγενής μεταλλαξιόγonos παράγοντας στο οποίο εκτίθενται τα ανθρώπινα κύτταρα.

Διαταραχές της λειτουργίας των επιδιορθωτικών μηχανισμών του DNA έχει αρνητικές επιπτώσεις. Για παράδειγμα, βλάβες στην μεταγραφόμενη επηρεάζει αρνητικά τη γονιδιακή έκφραση (Hoeijmakers, 2001a).

Ο ποικίλος αριθμός βλαβών απαιτεί παρουσία περισσότερων του ενός μηχανισμών επιδιόρθωσης, ώστε να επιδιορθώνεται η πλειοψηφία αυτών. Στον άνθρωπο έχουν προσδιοριστεί > 130 γονίδια επιδιόρθωσης. Τα γονίδια επιδιόρθωσης διακρίνονται σε εκείνα που σχετίζονται με τη σηματοδότηση και ρύθμιση των επιδιορθωτικών μηχανισμών και σε εκείνα που παράγουν πρωτεϊνικούς παράγοντες επιδιόρθωσης. Η τελευταία κατηγορία περιλαμβάνει :

- Μηχανισμός άμεσης αναστροφής βλάβης (Direct Damage Repair, DDR)
- Επιδιόρθωση των λανθασμένων ζευγών βάσεων (Mis-Match Repair, MMR)
- Επιδιόρθωση των δίκλωνων θραυσμάτων του DNA (DNA Double Strand Break repair, DSB)
- Επιδιόρθωση με εκτομή βάσης (Base Excision Repair, BER)
- Επιδιόρθωση με εκτομή νουκλεοτιδίων (Nucleotide Excision Repair, NER) (Cooper GM., 2000)

Τα συστήματα που σχετίζονται με την ανάπτυξη του καρκίνου του ενδομητρίου και τα οποία θα μελετήσουμε εκτενέστερα είναι τα συστήματα MMR, NER και BER.



**Εικόνα 7.** Παράγοντες που ευθύνονται για βλάβες στο DNA και οι επιπτώσεις της δυσλειτουργίας των μηχανισμών επιδιόρθωσης.

### 2.1.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΜΕ ΑΜΕΣΗ ΑΝΑΣΤΡΟΦΗ ΒΛΑΒΗΣ

Οι βλάβες που προκαλούνται από αλκυλιωτικούς παράγοντες επιδιορθώνονται με άμεση αναστροφή βλάβης. Μια από τις πιο σημαντικές βλάβες είναι η O-6 αλκυλο-γουανίνη και πιο συγκεκριμένα οι O-6-μέθυλ- και O-6-αιθυλγουανίνη. Η παρουσία τους προκαλεί μεταστροφές του τύπου GC>AT (Christmann et al., 2003). Τα λάθη αυτά επιδιορθώνονται από την πρωτεΐνη αλκυλοτρανσφεράση της O-6

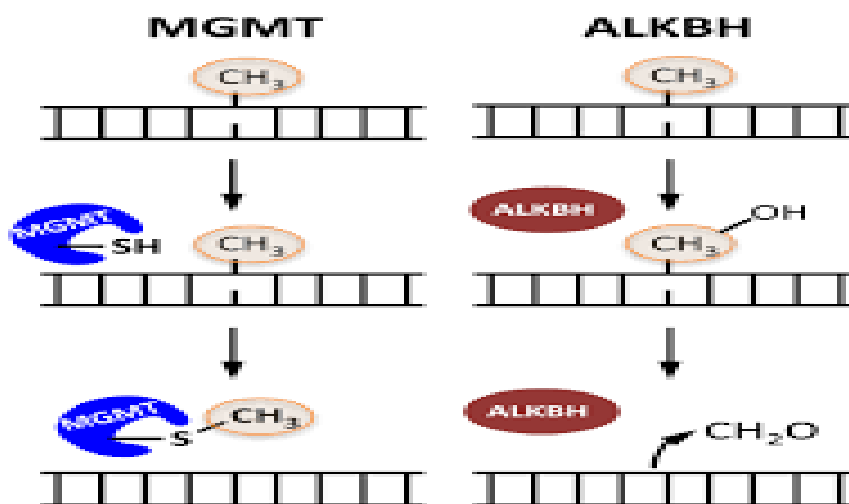


αλκυλογουανίνης (O-6-methylquanine-DNA methyltransferase, MGMT), η οποία κωδικοποιείται από το MGMT γονίδιο. Η πρωτεΐνη αυτή μεταφέρει την αλκυλομάδα από τη γουανίνη σε μια περιοχή κυστεΐνης στο ενεργό της κέντρο και έτσι επιδιορθώνεται η βλάβη. Στη συνέχεια η MGMT πρωτεΐνη απενεργοποιείται και αποικοδομείται από το πρωτεόσωμα (Christmann et al.,2003).

Ένα ακόμη ένζυμο που συμμετέχει στο συγκεκριμένο σύστημα επιδιόρθωσης είναι η πρωτεΐνη AlkB. Είναι μια οξυγενάση που επιδιορθώνει βλάβες που προκύπτουν από αλκυλιωτικούς παράγοντες όπως της 1-μεθυλαδενίνης και της 3-μεθυλκυτοσίνης στο βακτήριο E.coli. Τρία ανάλογα αυτού του ενζύμου βρέθηκαν στον ανθρώπινο οργανισμό και είναι τα ABH1, ABH2 και ABH3 ένζυμα (Christmann et al., 2003).

Ένα ακόμη παράδειγμα άμεσης επιδιόρθωσης παρατηρείται στα βακτήρια με το ένζυμο φωτολυάση. Η φωτολυάση προσδέεται σε βλάβες του DNA τα οποία είναι διμερή θυμίνης και προκαλούνται από την υπερϊώδη ακτινοβολία. Αφού το ένζυμο συνδεθεί και ενεργοποιηθεί, σπάει τους ομοιοπολικούς δεσμούς που συνδέουν τις παρακείμενες θυμίνες στα διμερή θυμίνης με αποτέλεσμα την επιδιόρθωση της βλάβης (Christmann et al.,2003).

Ο συγκεκριμένος μηχανισμός επιδιόρθωσης διαφέρει από τους υπόλοιπους μηχανισμούς επιδιόρθωσης γιατί είναι άμεσος, δηλαδή πραγματοποιείται σε ένα μόνο βήμα και από ένα ένζυμο κάθε φορά. Επιπλέον, διαφέρει από τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης με εκτομή, καθώς δεν απαιτεί την εξαγωγή των τροποποιημένων βάσεων από το DNA (Hakem, 2008).



**Εικόνα 8.** Ο μηχανισμός της άμεσης αναστροφής βλάβης από τα ένζυμα MGMT και AlkB αντίστοιχα.

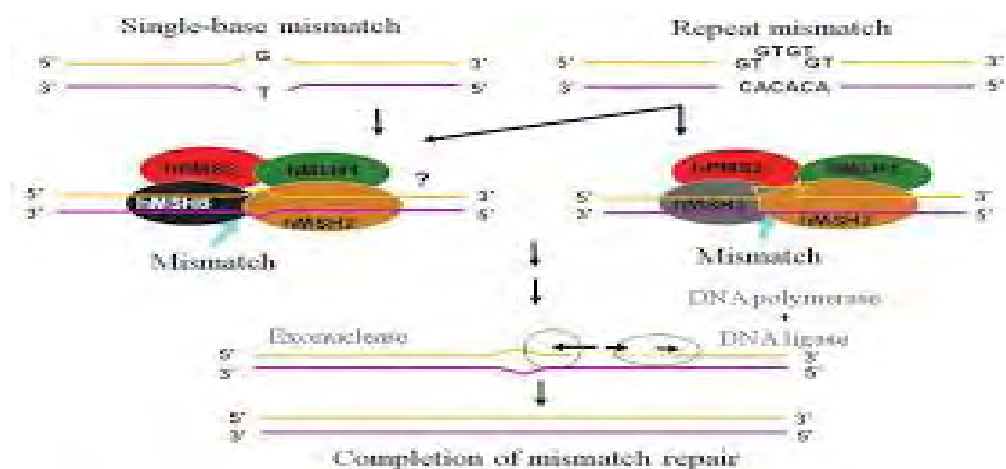
### 2.1.3 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΑΝΘΑΣΜΕΝΩΝ ΖΕΥΓΩΝ ΒΑΣΕΩΝ

Τα στοιχεία του συγκεκριμένου μηχανισμού επιδιόρθωσης (MMR) είναι συντηρημένα από τα βακτήρια μέχρι τον άνθρωπο. Αδρανοποίηση του μηχανισμού οδηγεί σε συσσώρευση μεταλλάξεων. Στον άνθρωπο μη λειτουργία του MMR μηχανισμού οδηγεί σε αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου. Αξίζει να σημειωθεί ότι οποιαδήποτε παρέκκλιση από το φυσιολογικό MMR μηχανισμό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της μικροδορυφορικής αστάθειας, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση των λαθών σε γονίδια που εμπλέκονται στην καρκινογένεση και μετατροπή των φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά (Jiricny J et al., 2006).

Το γονίδιο MLH1 εδράζεται στο μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 3 (3p21-p23) και είναι υπεύθυνο για την κωδικοποίηση της αντίστοιχης πρωτεΐνης που συμμετέχει στον συγκεκριμένο μηχανισμό επιδιόρθωσης βλαβών του DNA (Andersen SD et al., 2011, Raevaara TE, 2005). Το γονίδιο MSH2 εδράζεται στο μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 2 (2p21) και κωδικοποιεί την αντίστοιχη πρωτεΐνη επιδιόρθωσης. Η παραγόμενη πρωτεΐνη επιδιορθώνει σφάλματα που προκύπτουν κατά την αντιγραφή του DNA, πριν από την προετοιμασία της κυτταρικής διαίρεσης (Mitchell RJ et al., 2002). Το γονίδιο MSH6 εδράζεται επίσης στο χρωμόσωμα 2 (2p26) και εμπλέκεται στον ίδιο επιδιορθωτικό μηχανισμό. Τέλος, το γονίδιο που

κωδικοποιεί την PMS2 πρωτεΐνη εδράζεται στον μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 7 (7p22.2) (Edelbrock MA et al., 2013, Gill S. et al., 2005).

Τουλάχιστον έξι πρωτεΐνες συμμετέχουν στον μηχανισμό επιδιόρθωσης του λανθασμένου ζευγαρώματος του DNA στον άνθρωπο. Το πρωτεϊνικό σύμπλοκο για την αναγνώριση των λαθών της αντιγραφής αποτελείται από δύο ετεροδιμερή της MSH2 πρωτεΐνης με τις MSH3 και MSH6 πρωτεΐνες, που ονομάζονται hMutSa και hMutSβ και αναγνωρίζουν διαφορετικά υποστρώματα. Το hMutSa σύμπλοκο αναγνωρίζει και προσδέεται στα λάθος ζευγαρωμένα ζεύγη βάσεων, ενώ το hMutSβ σύμπλοκο αναγνωρίζει και προσδέεται μόνο στα ζεύγη που έχουν προύψει από την προσθήκη ή απαλοιφή κάποιας βάσης. Ένα άλλο ετεροδιμερές (hMutLα) των MLH1 και PMS2 πρωτεϊνών διασυνδέει το σύμπλοκο αναγνώρισης με άλλες πρωτεΐνες απαραίτητες για την επιδιόρθωση. Αυτές είναι το PCNA, οι DNA πολυμεράσες δ και ε, η DNA SSB (Single Strand Binding) πρωτεΐνη και πιθανόν κάποιες ελικάσες. Ο ρόλος άλλων πρωτεϊνών και των συμπλόκων τους είτε είναι γνωστός, όπως για το ετεροδιμερές των MLH1 – MLH3 (επιδιόρθωση θηλιών), είτε ακόμη ερευνάται όπως για το ετεροδιμερές hMutLβ των MLH1 – PMS1. Συνοπτικά, η δράση του MMR επιδιορθωτικού μηχανισμού στηρίζεται: α) στην αναγνώριση της βλάβης, β) ξετύλιγμα της έλικας (ελικάση), γ) αφαίρεση βλάβης (ενδονουκλεάση), δ) πολυμερισμός και συγκόλληση (πολυμεράση και λιγάση) (Marsischky GT et al., 1996, Leung WK et al., 2000).



**Εικόνα 9.** Ο μηχανισμός επιδιόρθωσης MMR στον άνθρωπο.

### 2.1.3.1 MMR ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των βλαβών σε γονίδια MMR επιδιόρθωσης και την καρκινογένεση του ενδομητρίου.

Μεταλλάξεις στα MMR γονίδια είτε παρεμποδίζουν την κωδικοποίηση των αντίστοιχων πρωτεϊνών, είτε οδηγούν στη δημιουργία μη λειτουργικής πρωτεΐνης. Έτσι προκαλείται συσσώρευση των λαθών κατά τη διάρκεια της αντιγραφής και συνεπώς αυξημένος κίνδυνος ογκογένεσης στο ενδομήτριο (Mitchell RJ et al., 2002, Pande M et al., 2012). Οι μεταλλάξεις στα hMLH1 και hMSH2 γονίδια, στα χρωμοσώματα 3 και 2 αντίστοιχα, ευθύνονται για την πλειοψηφία των HNPCC περιπτώσεων. Ωστόσο, οι μεταλλάξεις στο hMSH6 γονίδιο φαίνεται να σχετίζονται με HNPCC σύνδρομο σχετιζόμενο με καρκίνο του ενδομητρίου (Banno et al., 2009). Οι συχνότητες των μεταλλάξεων στις περιπτώσεις HNPCC σχετιζόμενες με καρκίνο του ενδομητρίου είναι 50-66% για το MSH2 γονίδιο, 24-40% για το MLH1 γονίδιο, 10-13% για το MSH6, και μόλις 5% για το PMS2 γονίδιο (Uterine Cancer: Diagnosis and Treatment, Shalini Rajaram).

Στον καρκίνο του ενδομητρίου, ποσοστό της τάξης 10-20% των ασθενών παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση κατά 10-20% του ετεροδιμερούς MLH1/PMS2, ωστόσο, μικρό ποσοστό αυτών είναι φορείς μεταλλάξεων (Daniel D. Buchanan et al., 2013). Μελέτες ατόμων που έφεραν μεταλλάξεις στα MLH1 και MSH2 γονίδια έδειξαν ότι αυτές οι πρωτεΐνες δεν εκφράζονται ήδη στο στάδιο της άτυπης υπερπλασίας ή της ενδομητρικής υπερπλασίας, πριν ακόμη διαγνωστεί ο καρκίνος του ενδομητρίου.

Το πρωτεϊνικό σύμπλοκο hMutSa, των πρωτεϊνών MSH2 και MSH6, ευθύνεται για την αναγνώριση των κακοζευγαρωμένων βάσεων και μικρών θηλιών, ενώ το σύμπλοκο hMutSb αναγνωρίζει μεγαλύτερου μεγέθους θηλιές που προκύπτουν από μεταλλάξεις προσθήκης ή απαλοιφής. Οι MSH3 και MSH6 πρωτεΐνες φαίνεται να είναι σχετικά περιττές, καθώς το σύμπλοκο hMutSa μπορεί μερικώς να «ισοφαρίσει» τη λειτουργία του hMutSa εφόσον αναγνωρίζει προσθήκες και απαλοιφές. Έτσι, παρουσία MSH6 μεταλλάξεων προκαλείται συσσώρευση βάσεων που έχουν αντικατασταθεί και σπανιότερα αλλάζει το πλαίσιο ανάγνωσης σε μικροδορυφορικές αλληλουχίες. Αυτό εξηγεί γιατί οι όγκοι με βλάβες στο MSH6

γονίδιο χαρακτηρίζονται από μικρή μικροδορυφορική αστάθεια (Reeta Kariola, 2002).

Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και σε μια άλλη μελέτη, όπου όλοι οι καρκίνοι του ενδομητρίου ασθενών που έφεραν μεταλλάξεις στα MLH1 και MSH2 γονίδια έδειξαν υψηλού βαθμού μικροδορυφορική αστάθεια. Αντιθέτως, υψηλή μικροδορυφορική αστάθεια παρατηρήθηκε μόνο σε ποσοστό 36% των ενδομητρικών καρκινωμάτων που έφεραν μεταλλάξεις στο MSH6 γονίδιο (Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs, Fattaneh A.)

Σε πρόσφατη μελέτη καρκινωμάτων του ενδομητρίου έγινε συσχέτιση των μεταλλάξεων που σχετίζονται με απώλεια της PTEN πρωτεΐνης με βλάβες στον MMR μηχανισμό επιδιόρθωσης με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους. Διαπιστώθηκε ότι ούτε η μετάλλαξη στο PTEN γονίδιο, ούτε η απώλεια της έκφρασης φάνηκε να σχετίζεται με τη μικροδορυφορική αστάθεια στα ενδομητριοειδή καρκινώματα. Αντιθέτως, στα μη-ενδομητριοειδή καρκινώματα η απώλεια της πρωτεϊνικής έκφρασης και οι μεταλλάξεις στο PTEN γονίδιο συμβαίνουν συχνότερα σε όγκους μικροδορυφορικά ασταθείς (Bojana Djordjevic et al., 2013).

### **2.1.3.2 ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ**

Η μικροδορυφορική αστάθεια ανευρίσκεται περίπου σε ποσοστό 15-20% περιπτώσεων του ορθοκολικού καρκίνου, του καρκίνου του στομάχου και του ενδομητρίου, ενώ παρατηρείται με μικρότερη συχνότητα σε άλλους τύπους καρκίνου (Yamamoto et al., 2015).

Αποτελεί συχνή γενετική διαταραχή στο ενδομητριοειδές καρκίνωμα του ενδομητρίου και εντοπίζεται σε ποσοστό περίπου 20-45% των σποραδικών περιπτώσεων, ενώ η ανεύρεσή της στα ορώδη-θηλώδη καρκινώματα του ενδομητρίου είναι σπάνια (Burks RT et al., 1994, Goodfellow PJ et al., 2003).

Η μικροδορυφορική αστάθεια χαρακτηρίζεται από συσσώρευση μεταλλάξεων στις μικρού μήκους επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες και είναι αποτέλεσμα των

σφαλμάτων που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της αντιγραφής και δεν επιδιορθώνονται (K.Kobayashi et al., 1995).

Η πιο συχνή βλάβη, που εμπλέκεται στον σποραδικού τύπου καρκίνο του ενδομητρίου, είναι η αδρανοποίηση του MLH1 γονιδίου, που επιτυγχάνεται με υπερμεθυλίωση θέσεων των CpG νησίδων στον υποκινητή του γονιδίου και ακολουθεί η αδρανοποίηση των MSH2 και MSH6 γονιδίων (Salvesen HB et al., 2000). Η αδρανοποίηση του MSH6 γονιδίου είναι αποτέλεσμα μεταλλάξεων, ενώ ο μηχανισμός αδρανοποίησης του MSH2 γονιδίου δεν είναι γνωστός. Η αδρανοποίηση του MLH1 γονιδίου ευθύνεται για τη μικροδορυφορική αστάθεια σε ποσοστό 70% των περιπτώσεων με.

Η μικροδορυφορική αστάθεια σχετίζεται με μεταλλάξεις στο PTEN γονίδιο και υπερέκφραση του TP53 ογκοκατασταλτικού γονιδίου. Ο Bilbao και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της αδρανοποίησης του PTEN γονιδίου και της μικροδορυφορικής αστάθειας σε καρκινώματα του ενδομητρίου, γεγονός που καθιστά το PTEN γονίδιο πιθανό στόχο για μεταλλάξεις σε περιπτώσεις μη αποτελεσματικής επιδιόρθωσης των λαθών του DNA (Bilbao C. Et al., 2006).

Οι Banno et al., μελέτησαν το προφίλ και τα χαρακτηριστικά του κληρονομούμενου καρκίνου του ενδομητρίου συγκεντρώνοντας το ιατρικό και οικογενειακό ιστορικό από 385 ασθενείς που είχαν κάνει θεραπεία για καρκίνο του ενδομητρίου. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση της μικροδορυφορικής αστάθειας (MicroSatellite Instability, MSI) σε 38 ασθενείς. Παράλληλα, συγκέντρωση οικογενειακού ιστορικού καρκίνου 890 συγγενών (439 άνδρες, 451 γυναίκες) από τους 38 ασθενείς αναλύθηκαν για μικροδορυφορική αστάθεια ανέδειξε υψηλό κίνδυνο για καρκίνο του ενδομητρίου, ορθοκολικό καρκίνο και καρκίνο των ωοθηκών, αποδεικνύοντας ότι ο κληρονομικός παράγοντας (κοινός με αυτόν του συνδρόμου Lynch) παίζει σημαντικό ρόλο στον καρκίνο του ενδομητρίου. Επιπρόσθετα, η MSI ανάλυση ανίχνευσε αστάθεια σε τουλάχιστον 5 μικροδορυφορικούς δείκτες σε 12/38 ασθενείς. Η αναλογία αυτή είναι ιδιαίτερα υψηλή συγκρινόμενη με τη μικροδορυφορική αστάθεια που παρατηρείται σε άλλους τύπους καρκίνου, επιβεβαιώνοντας ότι βλάβες στον MMR μηχανισμό αυξάνουν τη πιθανότητα για καρκίνο του ενδομητρίου. Στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι οι ασθενείς με μικροδορυφορική αστάθεια είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να

εμφανίσουν δυο είδη καρκίνου (π.χ καρκίνος των ωθηκών) σε σχέση με αυτούς δεν παρουσίασαν μικροδορυφορική αστάθεια (Banno et al., 2011)

#### **2.1.4 ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΜΕ ΕΚΤΟΜΗ ΒΑΣΗΣ**

Ο συγκεκριμένος μηχανισμός επιδιόρθωσης διορθώνει βλάβες, που συμβαίνουν με αποπουρίνωση, αλκυλίωση κ.α. με εκτομή βάσης (Chan et al., 2006). Το πρώτο βήμα είναι η αναγνώριση του λάθους από τις DNA γλυκοζυλάσες. Πιο συγκεκριμένα, οι DNA γλυκοζυλάσες αναγνωρίζουν τις βάσεις που έχουν ενσωματωθεί λανθασμένα και τις απομακρύνουν μέσω υδρόλυσης του N-γλυκοζιτικού δεσμού. Οι θέσεις που προκύπτουν αναγνωρίζονται και απομακρύνονται μέσω ενδονουκλεασών (APE I) και έτσι προκύπτει ένα ελεύθερο 5'- και 3'- άκρο. Το κενό που προκύπτει στον ένα κλώνο της διπλής έλικας του DNA καλύπτεται από τη δράση της DNA πολυμεράσης. Στην συνέχεια λαμβάνει χώρα η σύνδεση των γειτονικών νουκλεοτιδίων με τη βοήθεια των DNA λιγασών I και III. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο συγκεκριμένος μηχανισμός επιδιόρθωσης περιλαμβάνει δυο ξεχωριστά μονοπάτια: α) το SN-BER που αφήνει κενό ενός νουκλεοτιδίου στο σημείο της βλάβης και β) το LP-BER που αφήνει κενό μερικών νουκλεοτιδίων (2-9). Η λιγάση I αλληλεπιδρά με το προϊόν του PCNA γονιδίου και συμμετέχει στο μονοπάτι LP-BER (Long Patch BER) (Acilan et al., 2007), ενώ η λιγάση III αλληλεπιδρά με το προϊόν του γονιδίου XRCC1 και την DNA πολυμεράση β και συμμετέχει στο μονοπάτι SN-BER (Single Nucleotide BER) (Christmann et al., 2003).

Σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό επιδιόρθωσης BER διαδραματίζει η πρωτεΐνη PARP (πολύ-APP-ριβοζοπολυμεράση). Πρόκειται για μια πρωτεΐνη που προσδένεται σε σπασίματα του DNA και συνθέτει αλυσίδες ολιγο- ή πολυ- (ADP – ριβόζης) χρησιμοποιώντας το  $NAD^+$  (Malanga et al. 2005). Τέλος μια ακόμη πρωτεΐνη που συμμετέχει στο μονοπάτι BER είναι η PNK (πολυνουκλεοτιδική κινάση). Πρόκειται για ένα ένζυμο που προστατεύει τα μονόκλιωνα άκρα και τα ψαλιδίζει κατάλληλα για να ακολουθήσει η σύνθεση DNA (Whitehouse et al., 2001).

### 2.1.5. ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΜΕ ΕΚΤΟΜΗ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ

Χαρακτηριστικό του μηχανισμού επιδιόρθωσης με εκτομή νουκλεοτιδίων είναι να αποκαθιστά ένα μεγάλο εύρος βλαβών που παραμορφώνουν την έλικα του DNA. Κάποιες από τις βλάβες είναι τα διμερή πυριμιδίνης, φωτοπροϊόντα που δημιουργούνται από την υπεριώδη ακτινοβολία και βλάβες που δημιουργούνται από πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες και χημειοθεραπευτικά φάρμακα με αλκυλιωτική δράση (Hoeijmakers et al., 2001a, Leibel et al., 2006).

Πραγματοποιείται αποκοπή και απομάκρυνση μιας μικρής περιοχής του DNA, που περιέχει τη βλάβη και στη συνέχεια αποκαθίσταται η αλληλουχία του DNA μέσω πολυμερισμού χρησιμοποιώντας ως μήτρα την άθικτη αλυσίδα.

Στον μηχανισμό επιδιόρθωσης NER υπάρχουν δυο διακριτά μονοπάτια:

- Το GG-NER (Global Genome NER), το οποίο επιδιορθώνει βλάβες κατά μήκος ολόκληρου του γονιδιώματος
- Το TC-NER (Transcription Coupled NER), το οποίο επιδιορθώνει βλάβες κατά μήκος των μεταγραφόμενων αλυσίδων DNA των μεταγραφικά ενεργών γονιδίων (Hanawalt, 2002).

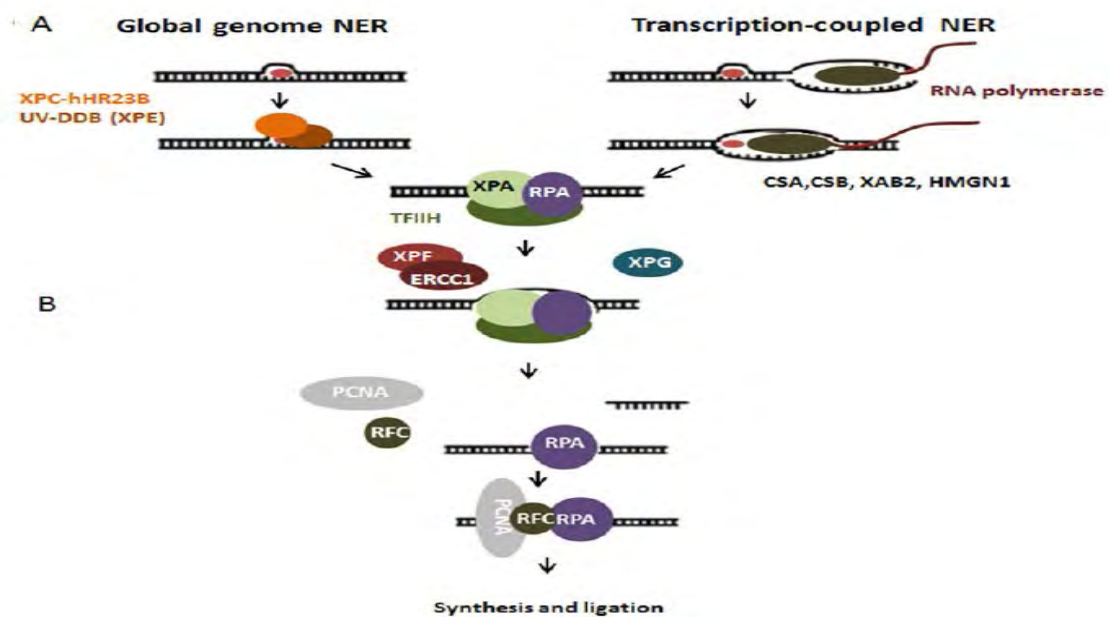
Η ενεργοποίηση του GG-NER μονοπατιού προκαλείται από την αναγνώριση της παραμόρφωσης στην έλικα του DNA λόγω της βλάβης από τα σύμπλοκα XPC και XPC-HR23B. Αντίθετα, η ενεργοποίηση του TC-NER μονοπατιού απαιτεί την ακινητοποίηση της RNA πολυμεράσης II στο σημείο της βλάβης. Από εκεί και πέρα τα βήματα που ακολουθούν είναι κοινά στα δυο μονοπάτια (Fousteri et al., 2008).

Το πρώτο βήμα είναι η αναγνώριση της βλάβης. Στο μονοπάτι GG-NER αυτό επιτυγχάνεται μέσω του πρωτεϊνικού παράγοντα XPC που αποτελεί μέρος του ετεροδιμερούς συμπλόκου XPC/HR23B. Η πρόσδεση του συμπλόκου στο σημείο της βλάβης προϋποθέτει την παρουσία του συμπλόκου XPC προκειμένου να γίνει η στρατολόγηση και των υπολοίπων πρωτεϊνών του συστήματος επιδιόρθωσης (Fousteri et al., 2008). Στο TC-NER μονοπάτι σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση της βλάβης διαδραματίζουν οι πρωτεΐνες CSA και CSB. Η πρωτεΐνη CSB αναγνωρίζει την ακινητοποιημένη RNA πολυμεράση II και προσδένεται σε αυτή. Είναι απαραίτητη για τη μεταφορά της πρωτεΐνης CSA στο πυρηνόπλασμα του κυττάρου και για τη συγκρότηση του συμπλόκου ενεργοποίησης και στρατολόγησης των υπολοίπων



παραγόντων που απαιτούνται για την ολοκλήρωση του μηχανισμού επιδιόρθωσης NER (Newman et al., 2006).

Επόμενο βήμα είναι το ξετύλιγμα της έλικας του DNA στην περιοχή της βλάβης. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν ο μεταγραφικός παράγοντας TFIIH και η πρωτεΐνη RPA (Leibeling et al., 2006). Η πρωτεΐνη RPA ενισχύει τη δράση του παράγοντα TFIIH σχηματίζοντας σύμπλοκο με τη πρωτεΐνη XPA προκειμένου να σταθεροποιήσει το ξετύλιγμα της έλικας του DNA γύρω από τη βλάβη. Η βλάβη απομακρύνεται από τις ενδονουκλεάσες XPG και ECCR1-XPG. Αναλυτικότερα, η ενδονουκλεάση κόβει μια αλληλουχία μήκους 5 νουκλεοτιδίων δεξιά από τη βλάβη και με κατεύθυνση 5'→3', ενώ το σύμπλοκο ECCR1-XPG κόβει μια αλληλουχία μήκους περίπου 20 νουκλεοτιδίων αριστερά της βλάβης με κατεύθυνση 5'→3' (Emmert et al., 2001). Η πρωτεΐνη PCNA, αυτή προσδένεται στο κενό που έχει προκύψει και στη συνέχεια οι πολυμεράσες δ και ε συνθέτουν DNA χρησιμοποιώντας ως μήτρα τον άθικτο κλώνο. Η DNA λιγάση I συνδέει τον καινούριο κλώνο με τα γειτονικά νουκλεοτίδια (Fousteri et al., 2008).



**Εικόνα 10.** Τα δυο μονοπάτια του συστήματος επιδιόρθωσης GG-NER,TC-NERR και το κοινό μονοπάτι NER.

## BER, NER ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε νοσοκομείο της Πολωνίας συλλέχθηκε αίμα από 94 γυναίκες (μέση ηλικία: 48 έτη, BMI: 28) με καρκίνο του ενδομητρίου και μελετήθηκε η συσχέτιση του καρκίνου του ενδομητρίου και των διαφόρων νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) των γονιδίων που μετέχουν στους BER και NER μηχανισμούς επιδιόρθωσης. Συγκεκριμένα μελέτησαν τους πολυμορφισμούς: p.Arg194Trp και p.Arg399Gln του XRCC1 γονιδίου, p.Ser326Cys του hoGG1γονιδίου και p.Lys751Gln του ERCC2 γονιδίου. Οι συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί επιλέχθηκαν λόγω της συσχέτισής τους με άλλους τύπους καρκίνου, όπως ο καρκίνος του μαστού, του πνεύμονα και του δέρματος (Sobczuk et al., 2012).

Τα αποτελέσματα έδειξαν συσχέτιση μεταξύ του γονοτύπου Gln/Gln του p.Lys751Gln πολυμορφισμού του ERCC2 (XPD) γονιδίου και του καρκίνου του ενδομητρίου (Πίνακας 3). Δεν προέκυψαν συσχετίσεις για τους υπόλοιπους πολυμορφισμούς μεταξύ ασθενών και υγιών ατόμων (ομάδα ελέγχου)(Πίνακες 4,5). Παράλληλα εξετάστηκαν οι συνδυασμένοι γονότυποι των συγκεκριμένων πολυμορφισμών. Η ανάλυση έδειξε ότι ο γονότυπος Arg/Arg του XRCC1 γονιδίου αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου παρουσία του γονοτύπου751 Gln/Gln στο ERCC2 γονίδιο (Πίνακας 6). Επιπλέον, προέκυψε ότι οι Cys/Cys και Arg/Arg γονότυποι του p.Ser326Cys πολυμορφισμού του hoGG1 γονιδίου και ο Arg/Gln γονότυπος του XRCC1 γονιδίου όταν συνυπάρχουν φαίνεται να έχουν προστατευτικό ρόλο καθώς μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου. Ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου που έφεραν το γονότυπο Gln/Gln του p.Lys751Gln πολυμορφισμού στο ERCC2 γονίδιο παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου.

Ασθενείς (n=94)			Ομάδα ελέγχου (n=114)		
Γονότυπος	Αριθμός	Συχνότητα	Αριθμός	Συχνότητα	OR
Lys/Lys	30	0.32	38	0.33	0.93
Lys/Gln	36	0.38	64	0.56	0.48
Gln/Gln	28	0.30	12	0.11	3.95
Lys	96	0.52	140	0.61	0.65
Gln	92	0.48	88	0.39	1.52

**Πίνακας 3.** Η συχνότητα των αλληλομόρφων και των γονοτύπων και η συχνότητα των πιθανοτήτων (OR) του p.Lys751Gln πολυμορφισμού του ERCC2 γονιδίου στον καρκίνο του ενδομητρίου.

Ασθενείς (n=94)			Ομάδα ελέγχου (n=114)		
Γονότυπος	Αριθμός	Συχνότητα	Αριθμός	Συχνότητα	OR
Ser/Ser	64	0.68	83	0.73	0.79
Ser/Cys	23	0.24	28	0.24	0.99
Cys/Cys	7	0.07	3	0.02	2.97
Ser	151	0.82	194	0.85	0.71
Cys	37	0.18	34	0.15	1.39

**Πίνακας 4.** Η συχνότητα των αλληλομόρφων και των γονοτύπων και η συχνότητα των πιθανοτήτων (OR) του p.Ser326Cys πολυμορφισμού του hOGG1 γονιδίου στον καρκίνο του ενδομητρίου.

Ασθενείς (n=94)			Ομάδα ελέγχου (n=114)		
Γονότυπος	Αριθμός	Συχνότητα	Αριθμός	Συχνότητα	OR
Arg/Arg	27	0.29	43	0.37	0.66
Arg/Gln	45	0.48	48	0.42	1.22
Gln/Gln	22	0.23	23	0.21	1.21
Arg	99	0.53	134	0.58	0.78
Gln	89	0.47	94	0.42	1.28
Ασθενείς (n=94)			Ομάδα ελέγχου (n=114)		
Γονότυπος	Αριθμός	Συχνότητα	Αριθμός	Συχνότητα	OR
Arg/Arg	89	0.95	103	0.90	1.90
Arg/Trp	5	0.05	11	0.10	0.53
Trp/Trp	0	-	0	-	-
Arg	183	0.97	217	0.95	1.85
Trp	5	0.03	11	0.05	0.50

**Πίνακας 5.** Η συχνότητα των αλληλομόρφων και των γονοτύπων και η συχνότητα των πιθανοτήτων (OR) των πολυμορφισμών p.Arg399Gln και p.Arg194Trp του γονιδίου XRCC1 στον καρκίνο του ενδομητρίου.

Ασθενείς (n=94)			Ομάδα ελέγχου (n=114)		
Γονότυπος	Αριθμός	Συχνότητα	Αριθμός	Συχνότητα	OR
Arg/Arg- Lys/Lys	28	0.30	36	0.31	0.92
Arg/Arg- Lys/Gln	33	0.35	57	0.50	0.54
Arg/Arg- Gln/Gln	28	0.30	10	0.09	4.41
Arg/Trp- Lys/Lys	2	0.02	2	0.02	1.21
Arg/Trp- Lys/Gln	3	0.03	7	0.06	0.29
Arg/Trp- Gln/Gln	0	-	2	0.02	-
Trp/Trp- Lys/Lys	0	-	0	-	-
Trp/Trp- Lys/Gln	0	-	0	-	-
Trp/Trp- Gln/Gln	0	-	0	-	-

**Πίνακας 6.** Η διασπορά των συνδυασμένων γονοτύπων του p.Arg194Trp πολυμορφισμού του XRCC1 γονιδίου και του p.Lys571Gln πολυμορφισμού του ERCC2 γονιδίου στον καρκίνο του ενδομητρίου.

Ασθενείς (n=94)			Ομάδα ελέγχου (n=114)		
Γονότυπος	Αριθμός	Συχνότητα	Αριθμός	Συχνότητα	OR
Ser/Ser-Arg/Arg	16	0.17	33	0.29	0.50
Ser/Ser-Arg/Gln	30	0.32	34	0.30	1.10
Ser/Ser-Gln/Gln	18	0.19	16	0.14	1.45
Ser/Cys-Arg/Arg	9	0.10	9	0.08	1.23
Ser/Cys-Arg/Gln	12	0.13	12	0.10	1.24
Ser/Cys-Gln/Gln	2	0.02	7	0.06	0.33
Cys/Cys-Arg/Arg	2	0.02	1	0.01	2.45
Cys/Cys-Arg/Gln	3	0.03	2	0.02	1.85
Cys/Cys-Gln/Gln	3	0.02	0	-	-

**Πίνακας 7.** Η διασπορά των συνδυασμένων γονότυπων του p.Ser326Cys πολυμορφισμού του hOGG1 γονιδίου και του p.Arg399Gln πολυμορφισμού του XRCC1 γονιδίου στον καρκίνο του ενδομητρίου.

Ο τύπος I του καρκίνου του ενδομητρίου είναι οιστρογονοεξαρτώμενος. Οι μηχανισμοί πρόκλησης του συγκεκριμένου τύπου καρκίνου του ενδομητρίου δεν είναι κατανοητοί. Φαίνεται πως ο μεταβολισμός των οιστρογόνων στα ανθρώπινα

κύτταρα παίζει ρόλο στην ανάπτυξη όγκων, πιθανά μέσω βλαβών που προκαλούνται στο DNA λόγω της παραγωγής του ROS που προκαλεί οξειδωτική καταστροφή στο DNA. Αυτού του είδους οι βλάβες αποκαθίστανται από τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης BER και NER, επομένως δυσλειτουργία τους ενδέχεται να προκαλέσει καρκίνο του ενδομητρίου.

Ωστόσο, από τις μέχρι τώρα μελέτες δεν προκύπτουν ισχυρές ενδείξεις για τη συσχέτιση των γονιδίων των μηχανισμών BER και NER με τον καρκίνο του ενδομητρίου, συνεπώς απαιτείται περαιτέρω έρευνα (Sobczuk et al., 2012).

#### **2.1.6. ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΤΩΝ ΔΙΚΛΩΝΩΝ ΘΡΑΥΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ DNA**

Τα δίκλινα θραύσματα θεωρούνται σοβαρή απειλή για το κύτταρο και το γονιδιώμά του. Είναι αποτέλεσμα βλαβών που δημιουργούνται στο DNA από ενεργές μορφές οξυγόνου και εμποδίζουν το σχηματισμό της δικιάλας της αντιγραφής (Shen et al., 2007). Ρήγματα μπορούν επίσης να προκύψουν και από διάφορες αντικαρκινικές ενώσεις, οι οποίες αναστέλλουν τις τοποϊσομεράσες I και II και εμποδίζουν τη διαδικασία της αντιγραφής.

Όταν ο επιδιορθωτικός μηχανισμός δεν είναι σε θέση να αποκαταστήσει αυτά τα ρήγματα ενεργοποιείται ο μηχανισμός απόπτωσης του κυττάρου ή δημιουργούνται χρωμοσωμικές αλλαγές μεταξύ των οποίων είναι οι μετατοπίσεις και τα ελλείμματα, χαρακτηριστικά που απαντώνται στα καρκινικά κύτταρα.

Στον άνθρωπο, τα δίκλινα ρήγματα διορθώνονται με 2 τρόπους:

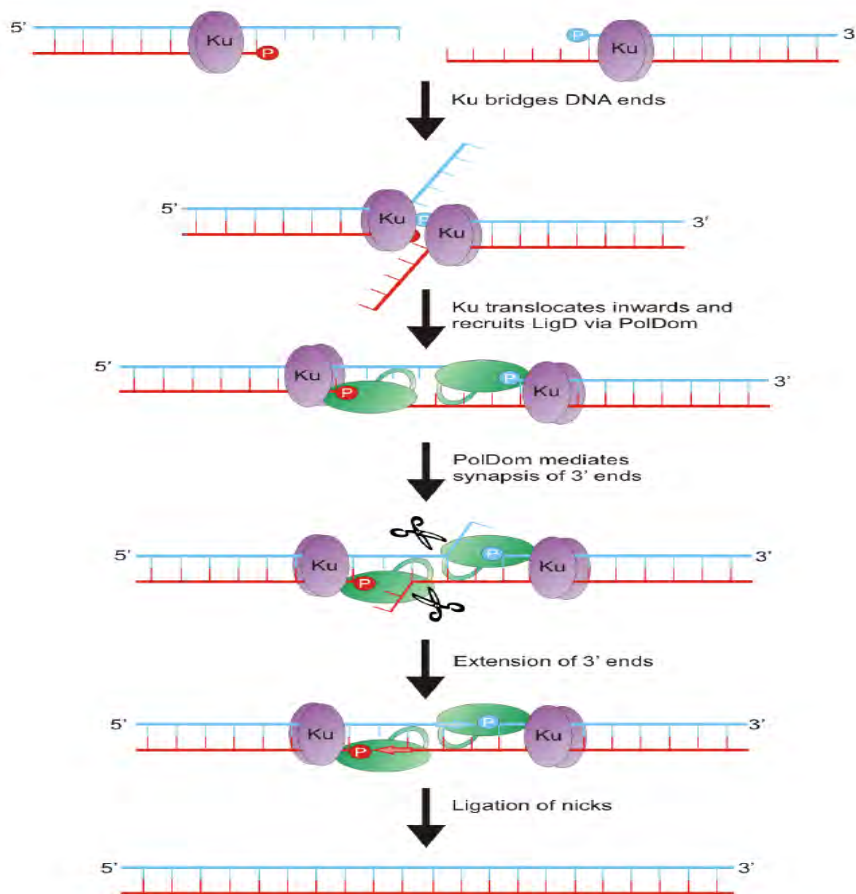
- μη ομόλογη σύνδεση άκρων (NHEJ)
- ομόλογη σύνδεση (HR) (Shrivastav et al., 2008)

- **ΜΗ ΟΜΟΛΟΓΗ ΣΥΝΔΕΣΗ ΤΩΝ ΑΚΡΩΝ**

Ο συγκεκριμένος μηχανισμός αν και φαίνεται ιδιαίτερα απλός δεν είναι γιατί απαιτεί τη συγχρονισμένη δράση πολλών ενζύμων. Το πρώτο βήμα στο συγκεκριμένο μηχανισμό είναι η πρόσδεση του Ku70/80 στα δυο άκρα του δίκλινου θραύσματος του DNA. Η πρόσδεση του ετεροδιμερούς είναι απαραίτητη

για τη στρατολόγηση των υπόλοιπων ενζύμων αλλά και για την προστασία από εξωνουκλεάσες ( Lieber, 2010, Christmann et al., 2003). Στη συνέχεια το σύμπλοκο DNA/Ku προσελκύει την καταλυτική υπομονάδα της DNA – εξαρτώμενης πρωτεϊνικής κινάσης (DNA-PKs). Τα δυο παραπάνω ένζυμα μεταφέρονται στο δίκλωνο ρήγμα και η κινάση φέρνει τα δυο άκρα του DNA κοντά (Mladenov et al., 2011).

Όταν τα άκρα του ρήγματος καταλήγουν σε ζεύγος βάσεων τότε τα δυο άκρα ενώνονται απ' ευθείας μεταξύ τους. Όμως όταν καταλήγουν σε 3' ή 5' μονόκλωνο τμήμα για να ενωθούν θα πρέπει να γίνουν συμπληρωματικά με αυτά του απέναντι κλώνου. Το ένζυμο ενδονουκλεάση Artemis είναι αυτό που είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση της συμπληρωματικής αλληλουχίας. Μετά το σύμπλοκο λιγάση IV/XRCC4 είναι απαραίτητο για τη σύνδεση των άκρων του DNA (Weterings et al., 2008).



**Εικόνα 11.** Το μονοπάτι της μη ομόλογης σύνδεσης των άκρων.

- **ΟΜΟΛΟΓΟΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ**

Κατά τη διαδικασία του ομόλογου ανασυνδυασμού, η γενετική πληροφορία της συμπληρωματικής αλυσίδας ή της αδελφής χρωματίδας χρησιμεύει ως μήτρα για την επιδιόρθωση. Αν και ο μιτωτικός ανασυνδυασμός θα μπορούσε να αποκαταστήσει την αρχική φυσική οργάνωση του γονιδιώματος αυτό δε συμβαίνει γιατί θα είχαμε απώλεια της ετεροζυγωτίας (Jasin, 2000).

Το πρώτο βήμα στην επιδιόρθωση των δίκλωνων ρηγμάτων είναι με ομόλογο ανασυνδυασμό είναι η επεξεργασία του DNA ώστε να προκύψουν 3' άκρα για το σχηματισμό του νηματίου Rad51 .Για να προκύψουν τα 3' άκρα απαραίτητη είναι η παρουσία των πρωτεϊνών MRX (Mre11-Rad50-Xrs2), την 5'-3' εξωνουκλεάση Exo1 και τη πρωτεΐνη SAE . Να σημειωθεί ότι πιο πριν στο μονόκλωνο DNA είναι συνδεδεμένη η πρωτεΐνη RPA.

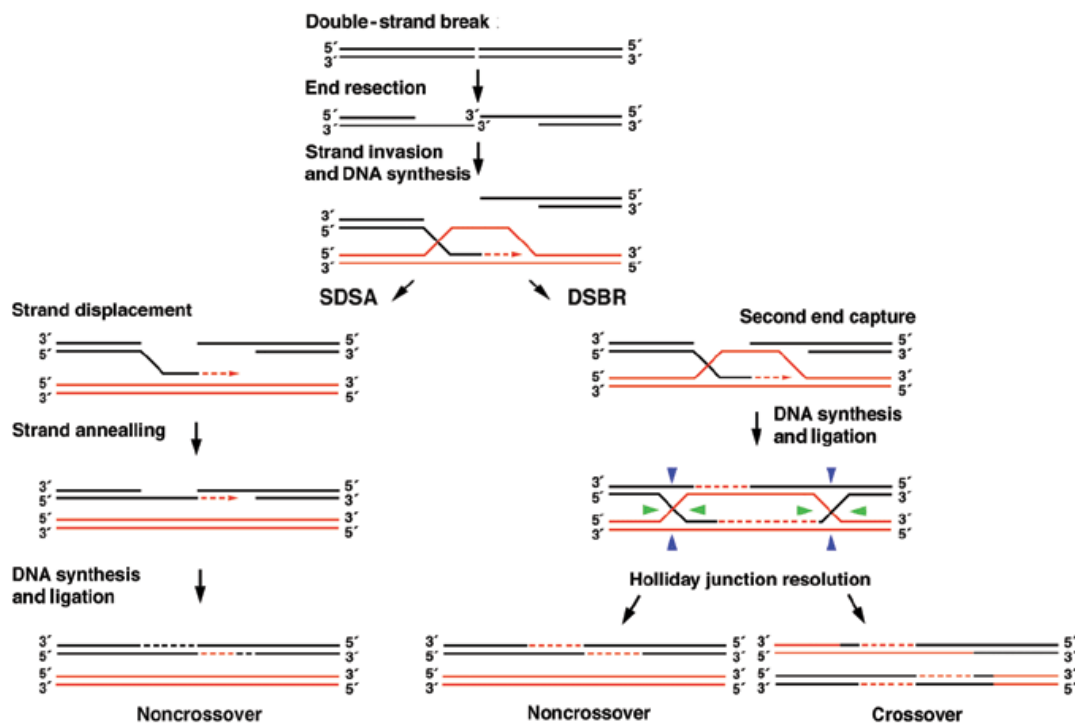
Στη συνέχεια ακολουθεί το στάδιο της σύναψης δηλαδή η αναζήτηση ομολογίας και η διείσδυση του κλώνου στο DNA μέσω των πρωτεϊνών που έχουμε ήδη αναφέρει.

Από αυτό το στάδιο και πέρα ο μηχανισμός μπορεί να ακολουθήσει διάφορες πορείες:

- στην περιοχή του ρήγματος μπορεί να δεσμεύσει και το δεύτερο άκρο του DNA και να αρχίσει η σύνθεση σ' αυτό το σημείο(δομή Holliday)
- ο κλώνος εισχωρεί στο δίκλωνο μόριο DNA, δημιουργώντας μια διχάλα αντιγραφής και έτσι αντιγράφεται όλο το DNA που χρησιμεύει ως μήτρα
- η θηλιά D διαλύεται αφού πρώτα πραγματοποιηθεί μιας μικρής έκτασης σύνθεσης DNA και μετά απομακρύνεται και συνδέεται με το άλλο άκρο του DNA (Li et al., 2008).



Ο ομόλογος ανασυνδυασμός θεωρείται πιο ακριβής από τη μη ομόλογη σύνδεση άκρων διότι χρησιμοποιούν ομόλογες αλληλουχίες για την αποκατάσταση των βλαβών. Παρ' όλα αυτά και η μη ομόλογη σύνδεση άκρων είναι απαραίτητη τόσο για την καταστολή των όγκων όσο και για τη σταθερότητα του γονιδιώματος. Επομένως συμπεραίνουμε ότι και οι δυο μηχανισμοί είναι σημαντικοί για αποφυγή της καρκινογένεσης (Shrivastav et al., 2008).



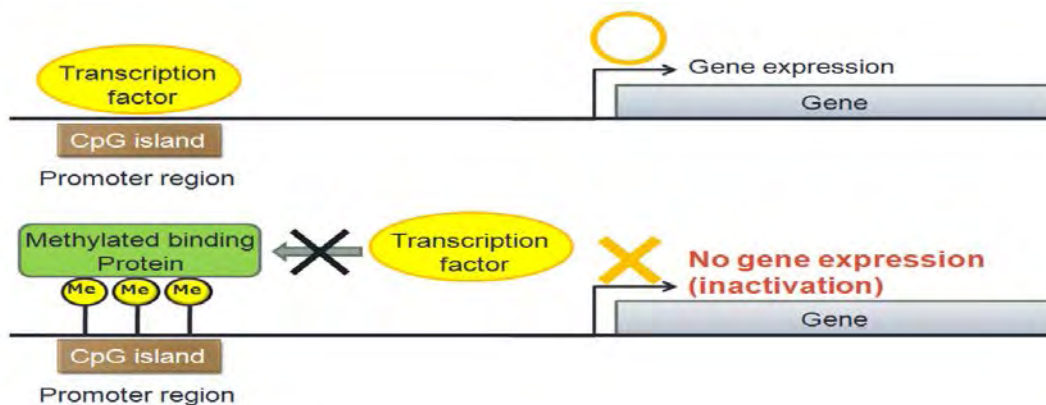
**Εικόνα 12.** Ο μηχανισμός του ομόλογου ανασυνδυασμού.

Σε μια έρευνα που έγινε στην Αγγλία το 2011 αποδείχθηκε ότι πιθανώς οι αναστολείς της PARP να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία καρκίνου του ενδομητρίου. Όπως είναι γνωστό η απώλεια της λειτουργίας του ογκοκατασταλτικού γονιδίου PTEN μπορεί να οδηγήσει σε ανάπτυξη καρκίνου του ενδομητρίου. Οι Dedes et al., απέδειξαν ότι τα κύτταρα που έχουν χάσει την απώλεια της λειτουργίας του PTEN δε μπορούν να χρησιμοποιήσουν τον ομόλογο ανασυνδυασμό και επομένως τη συσσώρευση μεταλλάξεων και την επαγωγή της καρκινογένεσης.

## 2.2. ΠΑΡΕΚΚΛΙΝΟΥΣΑ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΤΟΥ DNA

Η μεθυλίωση του DNA διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για ορισμένες ασθένειες που σχετίζονται με φαινοτύπους στον άνθρωπο, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου. Η μεθυλίωση του DNA τροποποιεί την έκφραση του γονιδίου, αλλά δεν αλλάζει τις γενετικές πληροφορίες του κυττάρου. Η μεθυλίωση DNA περιλαμβάνει την προσθήκη μιας μεθυλομάδας στην κυτοσίνη ενός μορίου DNA και σε αυτό το σημείο ν' ανοίξει η διπλή έλικα έτσι ώστε να προβάλλεται επί τα εκτός του νοητού καθέτου άξονα του μορίου η κυτοσίνη (Issa Jr, 2004). Στο φυσιολογικό όμως γονιδίωμα η μεθυλίωση της κυτοσίνης πραγματοποιείται σε επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA και όχι σε εξόνια. Η μεθυλίωση των υποκινητών γενικά επιφέρει μεταβολή στη δραστικότητα των γονιδίων (Issa Jr, 2004).

Το γονίδιο του συστήματος επιδιόρθωσης MMR, hMLH1 τυπικά απενεργοποιείται από DNA μεθυλίωση. Στον καρκίνο του ενδομητρίου η απενεργοποίηση του γονιδίου hMLH1 βρέθηκε στο 40% των περιπτώσεων και είναι ένα σημαντικό βήμα στο πρώιμα στάδια της καρκινογένεσης, με τη απώλεια της λειτουργικότητας του συστήματος επιδιόρθωσης MMR να οδηγεί και στη μετάλλαξη ορισμένων γονιδίων όπως του PTEN. Η παρεκκλίνουσα μεθυλίωση ανευρίσκεται στον τύπο I του καρκίνου του ενδομητρίου αλλά όχι στον τύπο II. Αυτή η διαφορά στα επίπεδα της μεθυλίωσης ανάμεσα στον τύπο I και II μπορεί να εξηγηθεί από την αυξημένη έκφραση της DNA μεθυλοτρανσφεράσης 1 και της 3 σε αντίθεση με τη μειωμένη έκφραση τους στον τύπο II (Epigenetics in Human Disease, Trygve Tollefsbol). Οι Banno et al., βρήκαν σε ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου ανώμαλη υπερμεθυλίωση του hMLH1, APC, E-cadherin and CHFR στο 40.4 %, 22%, 14% και 13.3% των περιπτώσεων αντίστοιχα. Μια σημαντική μείωση της έκφρασης βρέθηκε σε ασθενείς με ανώμαλη μεθυλίωση του hMLH1 και της E-cadherin, ενώ ανώμαλη μεθυλίωση βρέθηκε περίπου και στο 14.3 % των ασθενών με άτυπη υπερπλασία του ενδομητρίου.



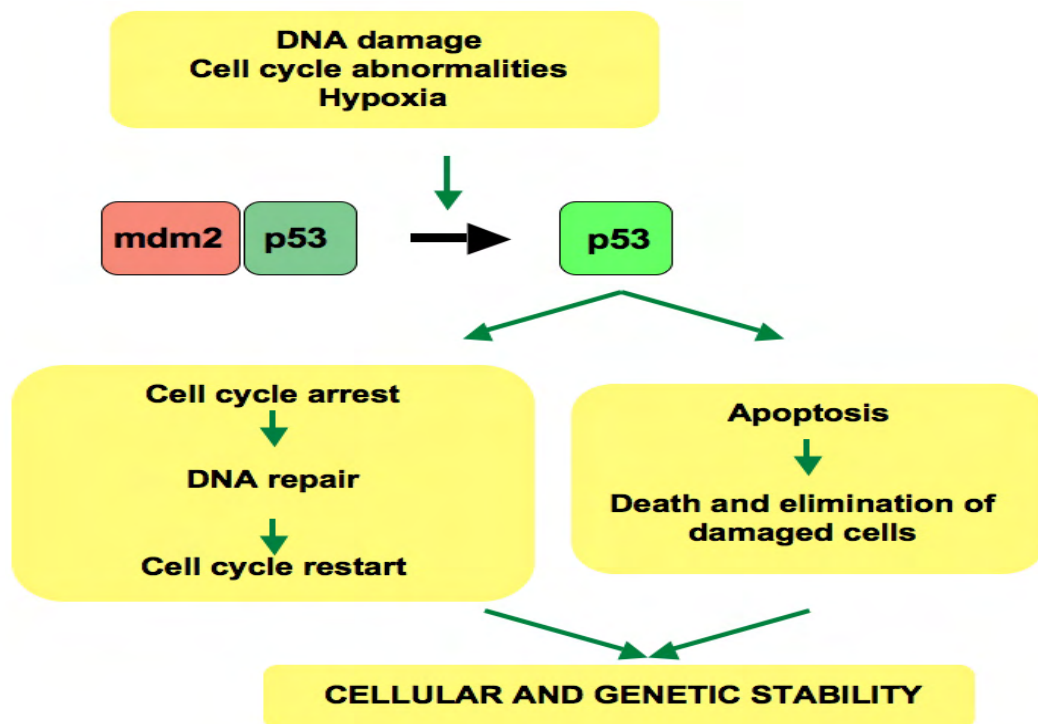
**Εικόνα 13.** Ο μηχανισμός της απενεργοποίησης των γονιδίων λόγω ανώμαλης μεθυλίωσης του DNA.

### 2.3. ΤΟ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟ ΓΟΝΙΔΙΟ P53

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 εντοπίζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 στη ζώνη p13 (Umesh et al.,1988). Είναι το κυριότερο γονίδιο που προστατεύει το κύτταρο από βλάβες του DNA είτε συμμετέχοντας στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης είτε οδηγώντας το κύτταρο σε απόπτωση (Harris et al.,1993, Hollstein et al., 1991, Levine et al., 1991). Σε φυσιολογικές συνθήκες λειτουργίας του κυττάρου το γονίδιο p53 ενεργοποιείται και ρυθμίζει τη μετάβαση του κυττάρου από τη φάση G1 στη φάση S του κυτταρικού κύκλου. Έτσι έχουμε προσωρινή διακοπή του κυτταρικού κύκλου για να μπορέσουν να επιδιορθωθούν τυχόν βλάβες στο DNA με τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης ή να οδηγηθεί σε απόπτωση. Το μεταλλαγμένο γονίδιο TP53 αποτελεί την πιο συχνή γενετική μετάλλαξη που συναντάται στον άνθρωπο. Πρόκειται για μεταλλάξεις 5-8 εξονίων του χρωμοσώματος 17(Stewart et al., 1998). Όμως σε περίπτωση μετάλλαξης του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 τα κύτταρα συνεχίζονται να αναπτύσσονται, δεν οδηγούνται σε απόπτωση και είναι πιθανό να αναπτυχθούν όγκοι. Για να αναπτυχθούν όμως όγκοι είναι απαραίτητο σε κάποια κύτταρα να μεταλλαχθεί και

το δεύτερο αντίγραφο του p53.(Kinzler et al.,2001, Fearon et al.,2008, Vasquez et al., 2008).

Σε ότι αφορά τη σχέση της πρωτεΐνης p53 με τη πρωτεΐνη PTEN δε φαίνεται να υπάρχει κάποια συνεργική δράση αλλά αντίθετα η ύπαρξη της μιας αναστέλλει την ανίχνευση της άλλης (Kouf A. et al., 2002). Το ίδιο ισχύει και για τη σχέση της μικροδορυφορικής αστάθειας με την p53. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την ανεύρεση της PTEN και του MSI στο τύπο I του καρκίνου του ενδομητρίου σε αντίθεση με τη πρωτεΐνη p53 η οποία ανιχνεύεται στον τύπου II καρκίνο του ενδομητρίου.



Εικόνα 14. Το μονοπάτι της πρωτεΐνης p53.

## 2.4 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Η διεθνώς αναγνωρισμένη μέθοδος για τη διάγνωση του καρκίνου του ενδομητρίου είναι η κλασματική απόξεση της μήτρας, της οποίας η ειδικότητα και η ευαισθησία αγγίζουν το 100%.

Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας πραγματοποιείται απόξεση του ενδοτραχήλου δια λεπτού ξέστρου, χωρίς να έχει προηγηθεί διαστολή του έσω τραχηλικού στομίου, ώστε να μην υπάρχει ανάμειξη των ξεσμάτων του ενδοτραχήλου με αυτά της ενδομητρικής κοιλότητας. Το μήκος της μήτρας υπολογίζεται με τη βοήθεια της μήλης, γεγονός που είναι αρκετά σημαντικό που άλλοτε λαμβανόταν σοβαρά υπόψη στη σταδιοποίηση του ενδομητρικού καρκινώματος, με όριο τα 8 cm, αν και οι διαστάσεις της μήτρας μπορεί να είναι μεγάλες και για άλλους λόγους εκτός από τον καρκίνο (π.χ. ινομυώματα). Πρέπει να γίνει προσεκτική διαστολή του έσω τραχηλικού στομίου και πλήρης κένωση της ενδομητρικής κοιλότητας με τη χρήση αμβλέων ξέστρων προκειμένου να αποφύγουμε την απόξεση της μήτρας και θα υπάρχει και αρκετό υλικό για διάγνωση (Kaku T et al., 2004, Deruelle P et al., 2001).

Η δοκιμαστική απόξεση αποτελεί διαγνωστική μέθοδος και όχι θεραπευτική και γι' αυτό η διαδικασία θα πρέπει να σταματά όταν έχουμε πάρει αρκετό υλικό. Αν γίνουν λάθος χειρισμοί κατά την κλασματική απόξεση μπορεί να αναμιχθεί υλικό από το ενδομήτριο στα ξέσματα του ενδοτραχήλου οπότε θα προκύψει λανθασμένη εκτίμηση του σταδίου του καρκίνου και άσκοπη υπερθεραπεία.

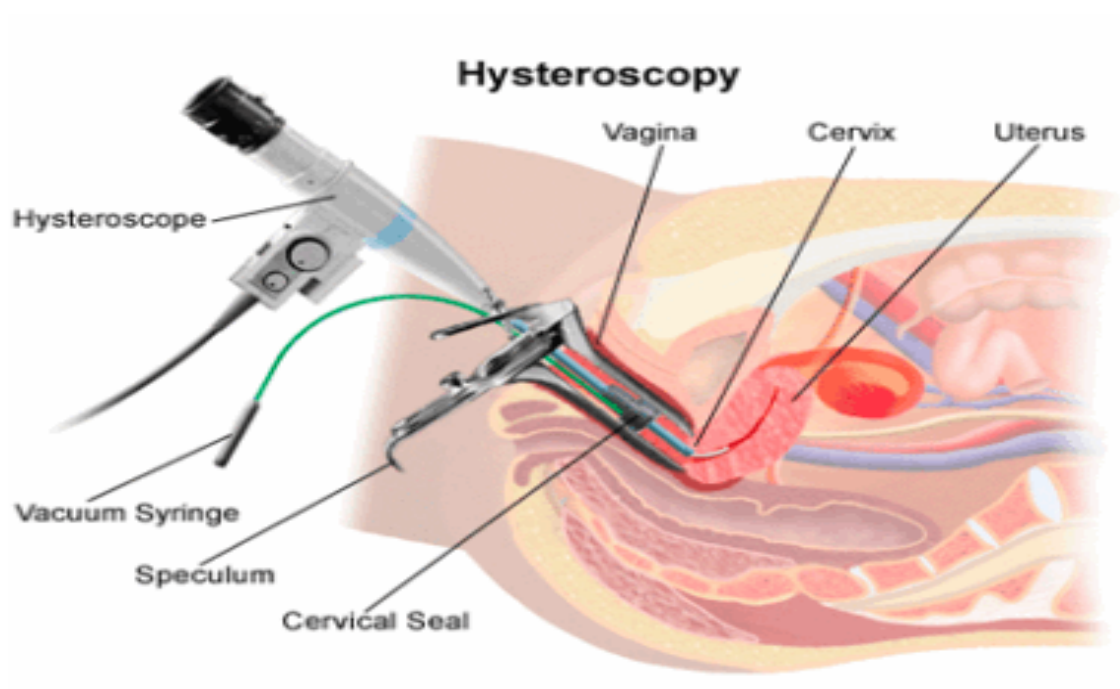
Ευτυχώς και με την πρόοδο της επιστήμης σήμερα εφαρμόζονται όλο και περισσότερες μέθοδοι οι οποίες δεν απαιτούν νάρκωση και νοσηλεία στο νοσοκομείο αλλά μπορούν εύκολα να εφαρμοστούν σε εξωτερικό ιατρείο χωρίς την ταλαιπωρία των γυναικών (Gupta JK et al., 2002, Perasadie RJ, 2002).

Η τελειοποίηση των συσκευών υστεροσκοπήσεων εργαλείων φωτισμού και κατόπτευσης, έχει επαναφέρει στην κλινική πράξη τη συγκεκριμένη μέθοδο, με εξαιρετικά αποτελέσματα. Ο εκτελών την επέμβαση μπορεί να προσδιορίσει κάθε βλάβη στον ενδοτράχηλο και το ενδομήτριο, να εντοπίσει πολύ μικρές εστίες καρκίνου, οι οποίες θα μπορούσαν να διαφύγουν κατά τη κλασματική απόξεση, να προσδιορίσει την έκταση μιας βλάβης, τη γειτνίαση της κακοήθειας προς τον ισθμό

ή την επινέμηση του ενδοτραχήλου και να λάβει βιοψίες ακριβώς από τις ύποπτες περιοχές.

Επίσης το κολπικό υπερηχογράφημα έχει δοκιμαστεί στην απεικόνιση του πάχους του ενδομητρίου, ως στοιχείου ενδεικτικού κακοήθειας. Δυστυχώς υπάρχει υπερκάλυψη τιμών στο πάχος του ενδομητρίου μεταξύ καρκίνου και διαφόρων άλλων καταστάσεων, με αποτέλεσμα η θετική προγνωστική αξία της μεθόδου να μην είναι ικανοποιητική.

Τελευταία η μαγνητική τομογραφία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της έκτασης και του βάθους διηθήσεως του μυομητρίου, αλλά η μέθοδος αυτή είναι πολύ ακριβή για να εφαρμοσθεί στην καθημερινή κλινική πράξη, και θα μπορούσε να αντικατασταθεί με το τρισδιάστατο υπερηχογράφημα (Gurta JK et al., 2002, Persadie RJ, 2002, Dubinsky TJ, 2004).



**Εικόνα 15.** Η διαδικασία της υστεροσκόπησης

Η διάγνωση του συνδρόμου Lynch, που αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου, μπορεί να επιτευχθεί με γενετικό έλεγχο. Πιο συγκεκριμένα, για τους ασθενείς που πληρούν τα κριτήρια διάγνωσης του

συνδρόμου Lynch και για επιβεβαίωση της μετάλλαξης που αδρανοποιεί το MMR γονίδιο μπορούν να χρησιμοποιηθούν δυο δοκιμασίες:

- Η ανίχνευση της μικροδορυφορικής αστάθειας
- Η ανοσοϊστοχημεία (IHC)

Η δοκιμασία ανίχνευσης της μικροδορυφορικής αστάθειας βασίζεται στο γεγονός ότι όταν γονίδια των επιδιορθωτικών μηχανισμών δεν λειτουργούν σωστά δεν επιδιορθώνονται τα λάθη και συνεπώς υπάρχει αστάθεια στις μικροδορυφορικές αλληλουχίες οι οποίες αποτελούν επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες μήκους 1-6 νουκλεοτιδίων. Το National Cancer Institute προτείνει τον έλεγχο πέντε μικροδορυφορικών αλληλουχιών: τριών δινουκλεοτιδικών δεικτών (D2S123, D5S346, D17S250) και δυο μονονουκελοτιδικών (BAT25, BAT 26), για τον έλεγχο της μικροδορυφορικής αστάθειας με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR).

Εάν κανείς από τους μικροδορυφορικούς δείκτες δεν εμφανίσει μικροδορυφορική αστάθεια, το νεόπλασμα χαρακτηρίζεται μικροδορυφορικά σταθερό (MicroSatellite Stable). Η παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας σε  $\geq 2$  στους 5 δείκτες υποδηλώνει μη αποδοτικό μηχανισμό επιδιόρθωσης και το νεόπλασμα χαρακτηρίζεται υψηλής μικροδορυφορικής αστάθειας (>40%). Όταν η μικροδορυφορική αστάθεια περιορίζεται σε έναν μόνο μικροδορυφορικό δείκτη (<20%) το νεόπλασμα χαρακτηρίζεται ως χαμηλής μικροδορυφορικής αστάθειας.

Ωστόσο, η παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας δεν είναι απολύτως ειδική για το σύνδρομο Lynch, καθώς μπορεί να αφορά και σε σποραδικές μορφές καρκίνου. Σε αυτή την περίπτωση η μικροδορυφορική αστάθεια είναι αποτέλεσμα της υπερμεθυλίωσης των CpG νησίδων στον υποκινητή του γονιδίου MLH1 με αποτέλεσμα την αδρανοποίησή του.

Στην προκειμένη περίπτωση γίνεται έλεγχος της μετάλλαξης V600E στο BRAF γονίδιο για τη διάκριση του συνδρόμου Lynch από τον σποραδικό τύπου καρκίνο. Τα νεοπλάσματα που παρουσιάζουν απώλεια της MLH1 πρωτεΐνης αλλά όχι μεταλλάξεις BRAF-V600E δε συνδέονται με το σύνδρομο Lynch.

Σε ποιους ασθενείς συνίσταται η εξέταση των MMR πρωτεϊνών; Σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες της κλινικής ογκολογίας σε αυτή την κατηγορία εμπíπτουν:

- Ασθενείς ηλικίας <50 ετών με αυξημένη πιθανότητα παρουσίας συνδρόμου Lynch ή εναλλακτικά όλοι οι ασθενείς ηλικίας <70 ετών και ασθενείς ηλικίας > 70 ετών που πληρούν τα κριτήρια Bethesda.
- Ασθενείς με καρκίνο σταδίου II, στους οποίους σχεδιάζεται η έναρξη χημειοθεραπείας με τη χρήση φλουοροορυμιδινών (5-FU).

Στην ανοσοϊστοχημική εξέταση (Immunohistochemistry, IHC) γίνεται η χρήση αντισωμάτων για την αναγνώριση συγκεκριμένων πρωτεϊνών. Στον καρκίνο του ενδομητρίου χρησιμοποιούνται αντισώματα για τις πρωτεΐνες MLH1, MSH2, MSH6 και PMS2. Η IHC είναι μια τεχνική διαθέσιμη στο ιστολογικό παρασκεύασμα του όγκου του υποψηφίου ή του συγγενικού προσώπου που πληροί τα κριτήρια του Lynch.

Εάν δεν υπάρχει ιστολογικό παρασκεύασμα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ιστός από όγκο άλλου οργάνου του ασθενούς, με μικρότερη ωστόσο ευαισθησία. Η ευαισθησία και η εξειδίκευση όταν χρησιμοποιούμε και τους τέσσερις MMR πρωτεϊνικούς δείκτες είναι 91% και 83% αντίστοιχα.

Μεταξύ των δυο τεχνικών, αν και η ευαισθησία της ανίχνευσης της μικροδορυφορικής αστάθειας είναι ελαφρώς υψηλότερη προτιμάται ως πρώτη επιλογή η ανοσοϊστοχημεία, στις οικογένειες με αυξημένο κίνδυνο μετάλλαξης, επειδή υποδεικνύει την ακριβή γονιδιακή βλάβη από το είδος της παρατηρούμενης χρώσης. Ωστόσο, η IHC τεχνική δεν ανιχνεύει μεταλλάξεις της βλαστικής σειράς στις οποίες οι MMR πρωτεΐνες παράγονται, αλλά είναι μη λειτουργικές, όπως στην περίπτωση των μη νοσηματικών μεταλλάξεων (Adele Wong, 2015).

Οι φυσιολογικές MMR πρωτεΐνες λειτουργούν ως ετεροδιμερή σύμπλοκα. Η MLH1 πρωτεΐνη σχηματίζει σύμπλοκο με την πρωτεΐνη PMS2 και η πρωτεΐνη MSH2 με την MLH6 πρωτεΐνη. Μετάλλαξη σε μια από τις πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών συμπλόκων έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της χρώσης της πρωτεΐνης με την οποία σχηματίζει το σύμπλοκο. Για παράδειγμα, σωματική μετάλλαξη, μέσω



μεθυλίωσης του υποκινητή του MLH1γονιδίου, έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της χρώσης της PMS2πρωτεΐνης.

Ωστόσο, μεταλλάξεις της βλαστικής σειράς στα MSH6 και PMS2 γονίδια δεν οδηγούν σε απώλεια της χρώσης των MSH2 και MLH1 πρωτεϊνών αντίστοιχα. Η απώλεια της χρώσης μόνο των πρωτεϊνών PMS2 ή MLH6 υποδεικνύει πιθανή μετάλλαξη στη βλαστική σειρά των αντίστοιχων γονιδίων (Adele Wong, 2015).

Ένα κοινό πρόβλημα της IHC είναι ότι τα λεμφοκύτταρα εντός του όγκου μπορούν λανθασμένα να θεωρηθούν κύτταρα του όγκου και στην περίπτωση που έχουμε μια φυσιολογική χρώση να οδηγηθούμε σε λάθος συμπεράσματα και σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Ένα ακόμη πρόβλημα είναι η δυσκολία να υποθέσουμε την ετερογενή φύση της χρώσης του MSH6 IHC δείκτη.

MSIανάλυση	Ανοσοϊστοχημική έκφραση των πρωτεϊνών				Πιθανές αιτίες	Αντιμετώπιση
	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2		
MSS/MSI-L	+	+	+	+	Σποραδικός καρκίνος	Καμία
MSI-H	+	+	+	+	Μεταλλάξεις της βλαστικής σειράς των MMR ή EPCAM γονιδίων	Γενετικός έλεγχος του MLH1, MSH2 και μετά MSH6,PMS2 και EPCAM γονιδίων
MSI-H	NA	NA	NA	NA	Σποραδικές ή μεταλλάξεις της βλαστικής σειράς των MMR και EPCAM γονιδίων	Ανάλογα με την IHC προτείνεται και ο αντίστοιχος γενετικός έλεγχος αλλιώς γενετικός έλεγχος των MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 και

						EPCAM γονιδίων
MSI-H or NA	-	+	+	-	Σποραδικός καρκίνος ή μεταλλάξεις της βλαστικής σειράς του MLH1	Έλεγχος της μεθυλίωσης του υποκινητή του MLH1. Γενετικός έλεγχος του MLH1 αν δεν υπάρχει υπερμεθυλίωση ή δεν είναι διαθέσιμο το τεστ
MSI-H or NA	-	+	+	+	Μετάλλαξη της βλαστικής σειράς του MLH1	Γενετικός έλεγχος του MLH1
MSI-H or NA	+	+	+	-	Μετάλλαξη της βλαστικής σειράς του PMS2,σπανίως του MLH1	Γενετικός έλεγχος του PMS2 αν είναι αρνητικό το γενετικό τεστ για το MLH1
MSI-H or NA	+	-	-	+	Μετάλλαξη της βλαστικής σειράς του MSH2 ή του EPCAM,σπάνια του MSH6	Γενετικός έλεγχος του MSH2, εάν είναι αρνητικό το τεστ για EPCAM και MSH6
MSI-H or NA	+	-	+	+	Μετάλλαξη της βλαστικής σειράς του MSH2	Γενετικός έλεγχος του MSH2, εάν είναι αρνητικό το τεστ για EPCAM
MSI-H, MSI-	+	+	-	+	Μετάλλαξη	Γενετικός έλεγχος

L or MSS					της βλαστικής σειράς του MSH6, και λιγότερα συχνά του MSH2	του MSH2, εάν είναι αρνητικό το τεστ για MSH6
----------	--	--	--	--	---------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------

**Πίνακας 8.** Δοκιμασίες ανίχνευσης μικροδορυφορικής αστάθειας, ανοσοϊστοχημείας και επιπρόσθετα τεστ για την ανίχνευση του συνδρόμου Lynch σε ενδομητριοειδή καρκινώματα (Adele Wong, 2015).

Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των προαναφερόμενων τεχνικών.

Η δοκιμασία ανίχνευσης της μικροδορυφορικής αστάθειας προσφέρει έναν εξαιρετικό δείκτη εκτίμησης της μικροδορυφορικής αστάθειας. Πρόσφατες βελτιώσεις της συγκεκριμένης τεχνικής μείωσαν το κόστος και βελτίωσαν την ακρίβεια (Promega kit). Η δοκιμασία ανάλυσης της μικροδορυφορικής αστάθειας έχει > 90% ευαισθησία. Επιπλέον, η συγκεκριμένη τεχνική πλεονεκτεί στο γεγονός ότι ανιχνεύει τις βλάβες των MMR γονιδίων ακόμα και όταν υπάρχει φυσιολογική χρώση στη τεχνική της ανοσοϊστοχημείας (πιθανότατα λόγω μη νοηματικών μεταλλάξεων). Τέλος, η MSI ανάλυση μπορεί να αναγνωρίσει στους όγκους μικροδορυφορική αστάθεια που δεν οφείλεται σε βλάβες αποκλειστικά στα γονίδια MLH1, MSH2, MSH6 και PMS2.

Ωστόσο η συγκεκριμένη μέθοδος απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό και χρειάζεται δείγμα τόσο από νεοπλασματικό όσο και από φυσιολογικό ιστό. Το πιο σημαντικό μειονέκτημα είναι οι όγκοι με μεταλλάξεις στο MSH6 γονίδιο τείνουν να εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα μικροδορυφορικής αστάθειας και έτσι είναι λιγότερο ευαίσθητη στην απώλεια της πρωτεΐνης MSH6 (Liying Zhang, 2008).

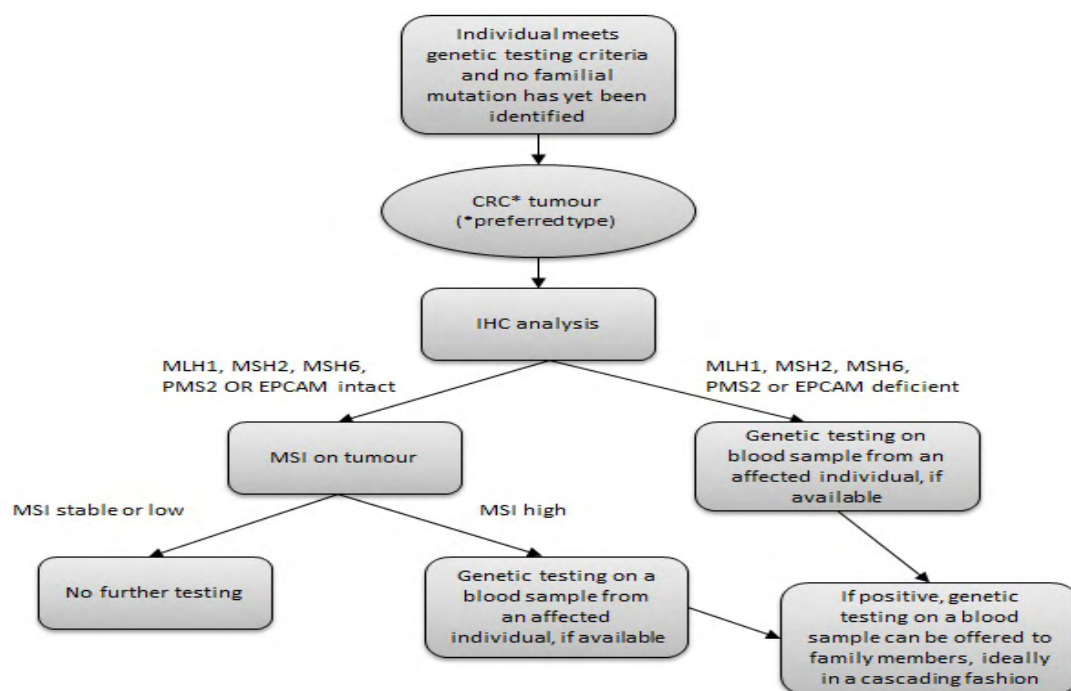
Σε άτομα υψηλού κινδύνου πραγματοποιείται ανοσοϊστοχημική εξέταση και ανάλογα με τα αποτελέσματα ακολουθεί ανάλυση της μικροδορυφορικής αστάθειας με γενετικό τεστ.

Οι ασθενείς με θετική δοκιμασία MSI (MSI-H) χρειάζονται γενετική συμβουλευτική. Ο γενετικός έλεγχος πρέπει να προτείνεται σε συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με γνωστή μετάλλαξη στα MMR γονίδια. Το ίδιο ισχύει

και για ασθενείς χωρίς γνωστή μετάλλαξη των MMR γονιδίων στην οικογένεια εφόσον πληρείται το 1 από τα 3 τροποποιημένα κριτήρια Bethesda. Τα αποτελέσματα που είναι πιθανόν να προκύψουν είναι τα εξής:

- Θετικό αποτέλεσμα. που σημαίνει παρουσία συγκεκριμένης γενετικής μετάλλαξης που σχετίζεται με το σύνδρομο Lynch
- Αρνητικό αποτέλεσμα, που υποδηλώνει απουσία συγκεκριμένης μετάλλαξης. Αυτό δεν αποκλείει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου σε ποσοστά όμως ανάλογα με αυτά του γενικού πληθυσμού
- Μη πληροφοριακό αρνητικό αποτέλεσμα (ψευδώς θετικό), που σημαίνει ότι δεν μπορούμε να ξέρουμε αν έχει κληρονομήσει τη μετάλλαξη ή όχι εξαιτίας επιβαρυσμένου οικογενειακού ιστορικού (National Cancer institute)

Το γενετικό τεστ υπερτερεί των μεθόδων IHC και MSI καθώς μπορεί να ανιχνεύσει κάθε είδους μετάλλαξη και να βρει πιθανές μεταλλάξεις για άλλους κληρονομικούς καρκίνους. Ωστόσο, είναι αρκετά πιο ακριβό από τις προηγούμενες δοκιμασίες ανίχνευσης. Εάν το γενετικό τεστ ανιχνεύσει μια αλλαγή η οποία είναι κοινή στον γενικό πληθυσμό χωρίς καρκίνο, η αλλαγή αυτή είναι γνωστή ως πολυμορφισμός (National Cancer Institute).



**Εικόνα 16.** Πρωτόκολλο διαχείρισης ατόμων υψηλού κινδύνου για το σύνδρομο Lynch σχετιζόμενο με τον καρκίνο του ενδομητρίου.

Η γενετική συμβουλευτική ενημερώνει τα άτομα που πρόκειται να κάνουν το τεστ για τους κινδύνους, τα οφέλη, τους περιορισμούς του τεστ στη συγκεκριμένη περίπτωση.

Η γενετική συμβουλευτική περιλαμβάνει λεπτομερές ιατρικό ιστορικό του ατόμου, που πρόκειται να κάνει την εξέταση και της οικογένειάς του. Επίσης περιλαμβάνει πληροφορίες για θέματα όπως:

- πότε το γενετικό τεστ θεωρείται κατάλληλο, ποια συγκεκριμένα τεστ μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ποια η ακρίβεια του τεστ,
- οι ιατρικές εφαρμογές ενός θετικού ή αρνητικού αποτελέσματος,
- η πιθανότητα το τεστ να μη μπορεί να μας δώσει τις πληροφορίες που χρειαζόμαστε και να μη μπορούμε να πάρουμε αποφάσεις,
- τα ψυχολογικά οφέλη και τους κινδύνους μαθαίνοντας τα αποτελέσματα του τεστ
- ο κίνδυνος να περάσει μια γενετική μετάλλαξη στα παιδιά στην περίπτωση που υπάρχει στον ένα γονέα

Η εφαρμογή των μοριακών τεχνικών μπορεί να συμβάλλει στην έγκαιρη διάγνωση και πρόγνωση των διαφόρων τύπων καρκίνου.

Η γνώση της παρουσίας μιας συγκεκριμένης μετάλλαξης σε ασθενείς που έχουν διαγνωσθεί με καρκίνο του ενδομητρίου μπορεί να βοηθήσει στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας. Γνωρίζοντας τη ακριβή γενετική διαταραχή του ασθενούς μπορεί να τροποποιηθεί η θεραπεία και να μειωθούν οι παρενέργειες (National Cancer Institute).

Το σύνδρομο Lynch αντιπροσωπεύει μεγάλο ποσοστό των περιπτώσεων με καρκίνο του ενδομητρίου. Ωστόσο,, πολλά άλλα γονίδια σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου. Τελευταία, υπάρχει η δυνατότητα με ένα γενετικό τεστ να αναλυθεί ταυτόχρονα πλήθος γονιδίων, όπως τα BRCA1, BRCA2,

CHEK2, EPCAM , MLH1, MSH6, MSH2, PMS2, MUTYH, PTEN, TP53 γονίδια, που συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου. προσφέροντας παράλληλα υψηλή ευαισθησία και απόδοση.

Γονίδια υψηλής διεισδυτικότητας	Γονίδια χαμηλής διεισδυτικότητας
Γονίδια: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, PTEN	Γονίδια: BRCA1, BRCA2, TP53, MUTYH, CHEK2
Καλά μελετημένα	Όχι τόσο καλά μελετημένα στον καρκίνο του ενδομητρίου
Σημαντικά αυξημένος κίνδυνος για καρκίνο του ενδομητρίου	Τα δεδομένα βασίζονται ίσως σε μικρή ομάδα ασθενών
Κίνδυνος και για άλλους καρκίνους	Ακριβείς κίνδυνοι για καρκίνο του ενδομητρίου δεν έχουν οριστεί
Πρωτόκολλα διάγνωσης και πρόληψης υπάρχουν ήδη	Αυξημένος κίνδυνος για άλλους καρκίνους
	Πρωτόκολλα διάγνωσης και πρόληψης δεν έχουν διευκρινιστεί ακόμα

**Πίνακας 9.** Χαρακτηριστικά των γονιδίων υψηλού και χαμηλού κινδύνου που ενοχοποιούνται στον καρκίνο του ενδομητρίου.

Η ταυτόχρονη γενετική ανάλυση πολλών γονιδίων είναι δυνατή με τεχνικές αλληλούχισης επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS) σε ειδικό αναλυτή και με τη βοήθεια σύνθετων και εξειδικευμένων εργαλείων βιοπληροφορικής. (Hampel et al., 2006, Pennington KP et al., 2013, Barnetson RA et al., 2007).

## 2.5 ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ ΓΙΑ ΑΤΟΜΑ ΥΨΗΛΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Υπάρχει ποικιλία μεθόδων πρόληψης για ασθενείς που διαγνώστηκαν με γνωστή μετάλλαξη σχετιζόμενη με τον καρκίνο του ενδομητρίου.

Όσον αφορά στο σύνδρομο Lynch υπάρχει πρωτόκολλο παρακολούθησης για ασθενείς με θετικό γενετικό έλεγχο ή ασθενή που πληροί τα κριτήρια Amsterdam II

ή τα αναθεωρημένα κριτήρια Bethesda με αδυναμία πραγματοποίησης του γενετικού ελέγχου αλλά με θετικό αποτέλεσμα από την ανίχνευση της μικροδορυφορικής αστάθειας ή ή θετική IHC απώλεια έκφρασης των πρωτεϊνών επιδιόρθωσης του DNA με ανοσοϊστοχημεία. Προτείνονται λοιπόν τα εξής:

- Κολονοσκόπηση κάθε 1-2 χρόνια ξεκινώντας από νεαρή ηλικία.
- Για τις γυναίκες προτείνεται ετήσια γυναικολογική εξέταση με τεστ Παπανικολάου, διαγνωστική απόξεση του ενδομητρίου, ενδοκολπικό υπερηχογράφημα μήτρας ή ωοθηκών και μέτρηση των επιπέδων του δείκτη CA 125 στον ορό του αίματος σε ηλικία  $\geq 30-35$  ετών.
- Γαστροσκόπηση κάθε 1-2 χρόνια σε ηλικία  $\geq 30-35$  ετών, σε οικογένειες με θετικό οικογενειακό ιστορικό σε περιοχές με μεγάλη επίπτωση του καρκίνου του στομάχου.

Διακοιλιακό υπερηχογράφημα, γενική και κυτταρολογική εξέταση ούρων κάθε 1-2 έτη, εφόσον υπάρχει ιστορικό καρκίνου του ουροποιητικού συστήματος. Η χειρουργική αντιμετώπιση του συνδρόμου Lynch περιλαμβάνει:

- Την προφυλακτική κολεκτομή, συνίσταται σε ασθενείς με μετάλλαξη στα MMR γονίδια
- την προφυλακτική ολική υστερεκτομή με τα εξαρτήματα. Αποτελεί θεραπευτική επιλογή για γυναίκες συνήθως ηλικίας  $\geq 40$  έτη, που έχουν πραγματοποιήσει τον οικογενειακό τους προγραμματισμό. Αυτή η εγχείρηση μειώνει αρκετά τον κίνδυνο για καρκίνο του ενδομητρίου (cancer.net)

Παράλληλα, τα άτομα με αυξημένο κίνδυνο για κληρονομικού τύπου καρκίνους που αφορούν μεταλλάξεις του PTEN γονιδίου (σύνδρομο Cowden) πρέπει να ελέγχονται ως εξής:

- Κλινική εξέταση μαστού σε νεαρότερη ηλικία
- Γνώση του μαστού από την ίδια τη γυναίκα και τακτική αυτοεξέταση του μαστού
- Μαστογραφία και υπερηχογραφία του μαστού σε νεαρότερη ηλικία
- Βιοψία ενδομητρίου και διακολπικό υπερηχογράφημα σε νεαρότερη ηλικία για την πρόληψη έναντι του καρκίνου του ενδομητρίου

- Στην περίπτωση της χειρουργικής αντιμετώπισης προτείνεται η προφυλακτική μαστεκτομή ή υστερεκτομή.

Σημειώνεται ότι σε όλες τις περιπτώσεις είναι σημαντικό τα άτομα να ακολουθούν υγιεινή διατροφή και να αθλούνται(NCCN Clinical practice Guidelines in Oncology).

### 3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο καρκίνος του ενδομητρίου αποτελεί έναν από τους συχνότερους γυναικολογικούς καρκίνους. Μεταλλάξεις γονιδίων και δομικές αλλαγές του DNA εμπλέκονται στην αιτιοπαθογένεια του όγκου. Στην παρούσα εργασία εστίασαμε στη μελέτη των κύριων μηχανισμών επιδιόρθωσης βλαβών του DNA και στη συσχέτισή τους με τον καρκίνο του ενδομητρίου.

Το σύστημα επιδιόρθωσης των λανθασμένων ζευγών βάσεων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση του καρκίνου του ενδομητρίου. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ο MMR μηχανισμός επιδιόρθωσης υφίσταται βλάβες από γενετικές και επιγενετικές αλλαγές. Η μικροδορυφορική αστάθεια αποτελεί συχνή γενετική αλλαγή στο ενδομητριοειδές καρκίνωμα του ενδομητρίου, ενώ η ανεύρεσή της στα ορώδη-θηλώδη τύπου καρκινώματα του ενδομητρίου είναι σπάνια. Η υπερμεθυλίωση του υποκινητή του MLH1 γονιδίου αποτελεί συχνή αιτία σποραδικού καρκίνου του ενδομητρίου, ενώ στο σύνδρομο Lynch και πάλι η μικροδορυφορική αστάθεια διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο με την συχνή παρουσία μεταλλάξεων στο MLH1 γονίδιο. Παράλληλα, Διαπιστώθηκε συσχέτιση της μικροδορυφορικής αστάθειας με την υπερέκφραση του TP53 γονιδίου και την



αδρανοποίηση του PTEN γονιδίου. Οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης BER και NER φαίνεται να εμπλέκονται στον καρκίνο του ενδομητρίου, χωρίς ωστόσο ισχυρές ενδείξεις μέχρι σήμερα.

Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται ευρέως σήμερα είναι η ανοσοϊστοχημεία και η ανάλυση της μικροδορυφορικής αστάθειας, με την πρώτη να προτιμάται, αν και με μικρότερη ευαισθησία, επειδή υποδεικνύει τη ακριβή γονιδιακή βλάβη. Η ανακάλυψη και εφαρμογή νέων μοριακών τεχνικών, όπως η αλληλούχιση επόμενης γενιάς (NGS), αναμένεται να συμβάλλει ουσιαστικά στην έρευνα για τη γενετική προδιάθεση των ατόμων με καρκίνο του ενδομητρίου. Στόχος της μελέτης των μηχανισμών επιδιόρθωσης είναι να διευκρινιστούν όλες γενετικές και επιγενετικές αλλαγές που ενοχοποιούνται στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου και να βρεθούν κατάλληλοι βιοδείκτες που θα αποτελέσουν στόχους για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Παράλληλα, θα συμβάλλουν στην ανάπτυξη δεικτών που θα επιτρέπουν την πρόγνωση και έγκαιρη διάγνωση της νόσου με αποτέλεσμα την καλύτερη και ταχύτερη θεραπευτική αντιμετώπιση.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ανθούλη - Αναγνωστοπούλου Φρ., Ε. Κανέλλος.: *Στοιχεία Παθολογικής Ανατομικής και Ογκολογίας*. Εκδόσεις Λύχνος, 2001; 145-148, 175-176
- Μανταλενάκης Σέργιος. *Σύνοψη Μαιευτικής και Γυναικολογίας*. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, εκδ. 3<sup>η</sup>. 1996; 63: 502-508
- Σέκερης Κ, Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια στον καρκίνο, Σύγχρονη Μαστολογία , Εκδ. Λ. Ιωαννίδου Μουζάκα, Αθήνα 1996, 461-474
- Φυσιολογία της Αναπαραγωγής , μεταπτυχιακό πρόγραμμα Βιολογία της Αναπαραγωγής
- Acilan C, Potter DM, Saunders WS. DNA repair pathways involved in anaphase bridge formation. *Genes, Chromosomes and Cancer* 2007; 46(6): 522-531
- Adele Wong, Joanne Ngeow. Hereditary syndromes manifesting as Endometrial Carcinoma: How can pathological features aid risk assessment? *BioMed Research International* 2015;1-17
- American Cancer Society: Detailed Guide: Endometrial Cancer: What are the risk factors for Endometrial Cancer? Atlanta, Ga: American Ca Andersen SD, Liberti SE, Lutzen A, et al. Functional characterization of MLH1 missense variants identified in Lynch syndrome patients. *Hum Mutat* 2012; 33(12): 1647-55  
ncer Society, 2005.
- Banno K, Yanokura M, Kobayashi Y, Kawaguchi M, Nomura H, Hirasawa A, Susumu N, Aoki D. Endometrial cancer as a familial tumor: Pathology and molecular carcinogenesis (review). *Curr. Genomics*, 2009; 10: 127-132
- Bansal N, Yendluri V, Wenham RM. The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification and targeted therapies. *Cancer Control*. 2009 Jan; 16(1); 8-13
- Barnetson RA, Devlin L, Miller J, Farrington SM, Slater S, Drake AC, et al. Germline mutation prevalence in the base excision repair gene, MYH, in patients with endometrial cancer. *Clin Genet*.2007;72:551-5

- Bilbao C, Rodriguez G, Ramirez R, et al. The relationship between microsatellite instability and PTEN gene mutations in endometrial cancer. *Int J Cancer* 2006; 119(3): 563-570
- Bojana Djordjevic, Bedia A. Barkoh, Rajyalakshmi Luthra, Russel R. Broaddus. Relationship between PTEN, DNA mismatch repair and tumor histotype in endometrial carcinoma: Retained positive expression of PTEN preferentially identifies sporadic non-endometrioid carcinomas. *Mod Pathol.* 2013; 26(10): 1401-1412
- Buchanan DD, Tan YY, Walsh MD, Clendenning M, Metcalf AM, Ferguson K, Arnold ST, Thompson BA, Lose Fa, Parsons MT, Walters RJ, Pearson SA, Cummings M et al. Tumor mismatch repair immunohistochemistry and DNA MLH1 methylation testing of patients with endometrial cancer diagnosed at age younger than 60 years optimizes triage for population-level germline mismatch repair gene mutation testing. *J Clin. Oncol.*, 2014; 32(2): 90-100
- Burgdorf WH. Cancer associated genodermatoses: a personal history. *Exp. Dermatol* 2006; 15(9):653-665
- Burks RT, Kessis TD, Cho KR, Hedrick L. Microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Oncogene* 1994; 9 :1163-6
- Cancer.net
- Castellvi J, Garcia A, Ruiz-Marcellan C, Hernandez-Losa J, Peg V, Salcedo M, Gil-Moreno A, Ramon y Cajal S. Cell Signalling in endometrial cancer correlates with aggressive tumors and prognosis. *Hum Pathol*, 2009; 10:1418-26
- Chan KKL, Zhang Q-M, Dianov GL. Base excision repair fidelity in normal and cancer cells. *Mutagenesis* 2006; 21(3):173-178
- Chiaravalli AM, Fuplan D, Facco C. Immunohistochemical pattern of hMSH2/hMLH1 in familial and sporadic colorectal gastric, endometrial and ovarian carcinomas with instability in microsatellite sequences. *Virchows Arch* 2001; 438: 39-48
- Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. The mechanisms of human DNA and repair: an update, *Toxicology* 2003; 193(1-2): 3-34

- Cooper, GM. *The Cell – A Molecular Approach*. 2<sup>nd</sup> ed. Sunderland(MA): Sinauer Associates, Inc.; 2000
- Das Gupta R, Kolodner RD. (2000) Novel dominant mutations in *Saccharomyces cerevisiae* MSH6. *Nat Genet*. 24:53-56.
- Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*. 2008 Mar 13; 358(1)
- European Society of Medical Oncology: Endometrial Cancer Guide For Patients based on the ESMO Clinical Practice Guidelines
- Edelbrock MA, Kaliyaperumal S, Williams KJ. Structural, molecular and cellular functions of MSH2 and MSH6 during DNA mismatch repair, damage signaling and other noncanonical activities. *Mutat. Res*. 2013; 743-744: 53-66
- Fearon ER and Vogelstein B. Tumor Suppressor Gene Defects in Human Cancer. In: *Cancer Medicine*. 5<sup>th</sup> ed. (2000)
- Ferlay J, Soerjomataram I, Evrik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F.GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No.11. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013.
- Fousteri M, Mullenders LHF. Transcription-coupled nucleotide excision repair in mammalian cells: molecular mechanisms and biological effects. *Cell Res* 2008; 18(1): 73-84
- Gal-Yam EN, Saito Y, Egger G, Jones PA. Cancer epigenetics: modifications, screening, and therapy. *Annu Rev Med*. 2008; 59:267-80 1):1148-59
- Gill S, Lindor NM, Burgart LJ, et al. Isolated loss of PMS2 expression in colorectal cancers: frequency, patient age, and familial aggregation . *Clin Cancer Res*. 2005; 11(18): 6466-71
- Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell*. 2
- Goodfellow PJ, Buttin BM, Herzog TJ, et al. Prevalence of defective DNA mismatch repair and MSH6 mutation in an unselected series of endometrial cancer. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 5908-13
- Gori S, Sidoni A, Colozza M, Ferri I, Mameli MG, Fenocchio D, Stocchi L, Foglietta J, Ludovini V, Minenza E, De Angelis V , Crino L: EGFR, pMAPK, pAkt and PTEN status by immunohistochemistry: correlation with clinical outcome in HER2positive

metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab. *Ann Oncol.* 120; 648-654,2009

- Gynecological Cancer Management: Identification, diagnosis and Treatment, Daniel L. Clarke-Pearson, John T. Soper, 2011
- Gynecologic Oncology, Ozols, Robert F., εκδ. 2013, 29-31
- Hanahan D. and Weinberg R.A., The Hallmarks of Cancer, *Cell* 100, 2000, 57-70
- Hanahan D. and Folkman J., Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis, *Cell* 86 (1996), 353-364
- Handel AE, Ebers GC, Ramagopalan SV. Epigenetics: molecular mechanisms and implications for disease. *Trends Mol Med.* 2010 Jan; 16(1):7-16. 007 Feb 23; 128(4):635-8
- Hakem R. DNA damage repair; the good the bad and the ugly. *EMBO J.* 2008; 27(4): 589-60
- Hampel H, Frankel W, Panescu J et al. Screening for Lynch syndrome among endometrial cancer patients. *Cancer Res* 2006; 66:7810
- Hanawalt P. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation *Oncogene* 2002; 21(58): 8949-8956
- Harris CC, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor suppressor gene. *N Engl J Med* 1993; 329: 1318-132
- Hecht JL, Mutter GL. Molecular and pathologic aspects of endometrial carcinogenesis. *J Clin. Oncol.* 2006, 24; 4783-91
- Hirai Y, Banno K, Suzuki M, Ichikawa Y, Udagawa Y, Miki Y. Molecular epidemiological and mutational analysis of DNA mismatch repair (MMR) genes in endometrial patients with HNPCC-associated familial predisposition to cancer. *Cancer Science* 2008; 99; 1715-1719
- Hoeijmakers JHJ. DNA repair and mechanisms, *Maturitas* 2001; 38: 17-22
- Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris C. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53
- Issa JP. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4 : 988-93

- Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nat Rev Mol Cell Biology* 2006; 7(5): 335-346
- Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nature Genet.*1999;21: 163-167
- Kaku T, Kawano Y, Hagiwara T. [Histologic diagnosis of endometrial cancer] *Nippon Rinsho.* 2004; 62 Suppl 10:309-12.
- Kenta Masuda, Kouji Banno, Megumi Yanokura, Yusuke Kobayashi, Iori Kisu, Arisa Ueki, Asuka Ono, Nana Asahara, Hiroyuki Nomura, Akira Hirasawa, Nobuyuki Susumu, Daisuke Aoki. Relationship between DNA mismatch repair deficiency and endometrial cancer. *Mol Biol Int.* 2011: 256063
- Kinzer KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87:159-170
- K. Kobayashi, S. Sagae, R. Kudo, H. Saito, S.Koi, Y. Nakamura. Microsatellite instability in endometrial carcinomas frequent replication errors in tumors of early onset and/ or of poorly differentiated type. *Genes Chromosomes and Cancer*, 1995; 14(2): 128-132
- Koul A, Bendahl P-O, Borg A, Ferno M et al. TP53 protein expression analysis by luminometric immunoassay in comparison with gene mutation status and prognostic factors in early stage endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2002; 12: 362-371
- Larissa Pikor, Kelsei Thu, Emily Vucic, Wan Lam. The detection of genome instability in cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2013;32(2-4): 341-352
- Leibel D, Laspe P, Emmert S. Nucleotide excision repair and cancer. *Journal of Molecular Histology* 2006; 37(5): 225-238
- Leung WK, Kim JJ, Wu L, Sepulveda JL, Sepulveda AR. (2000) Identification of a second MutL DNA mismatch repair complex (hPMS1 and hMLH1) in human epithelial cells. *J Biol Chem.* 275:15728-15732.
- Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 51: 453-456
- Li X, Heyer W-D. Homologous recombination in DNA repair and DNA damage tolerance. *Cell Res* 2008; 18(1); 99-113

- Lieber MR. The Mechanism of Double-Strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. Annual Review of Biochemistry 2010; 79(1); 181-211
- Liying Zhang. Immunochemistry versus Microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. J Mol Diag. 2008; 10(4): 301-307
- Malanga M, Athaus FR. The role of poly (ADP-ribose) in the DNA damage signaling network. Biochemistry and Cell Biology 2005; 83(3): 354-364
- Marsischky GT, Filosi N, Kane MF, Kolodner R. (1996) Redundancy of Saccharomyces cerevisiae MSH3 and MSH6 in MSH2-dependent mismatch repair. Genes Dev. 10:407-420.
- Martinez-Mir A, Christiano AM. Genodermatoses: Cowden's disease. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP et al Dermatology. Mosby 2003;887-891
- Mitcell PJ, Carothers AM, Han JH, Harding JD, Kas , Venolia L. Multiple transcription start sites, DNase I-hypersensitive sites, and an opposite strand exon in the 5' region of the CHO dhfr gene. Molecular and Cellular Biology 1986; 6: 425-440
- Mladenov E, Iliakis G. Induction and repair of DNA double strand breaks: The increasing spectrum of non-homologous and joining pathways. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 2011; 711(1-2): 61-72
- National Cancer Institute: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/genetic-testing-fact-sheet>
- NCCN Clinical practice Guidelines in Oncology: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp)
- Newman JC, Bailey AD, Weiner AM. Cockayne syndrome group B protein plays a general role in chromatin maintenance and remodeling. Proceedings of the National Academy of Sciences 2006; 103(25): 9613-1

- Oliver KE, et al. Racial disparities in histopathologic characteristics of uterine cancer are present in older, not younger blacks in an equal-access environment. *Gynecol Oncol* 2011; 123(1):76–81.).
- Orr- Weaver T.L. and Weinberg R.A., A checkpoint on the road to cancer, *Nature* 392 (1998), 223-224
- Oza AM, Elit L, Tsao MS, Kamel-Reid S, Biagi J, Provencher DM, Gotlieb WH, Hoskins PJ, Ghatage P, Tonkin KS, Mackay HJ, Mazurka J, Sederias J, Ivy P, Dancey JE, Eisenhauer EA. Phase II study of temsirolimus in women with recurrent or metastatic endometrial cancer: a trial of the NCIC Clinical Trials Group. *J Clin. Oncol.* 2011;29: 3278-85
- Pande M, Wei C, Chen J et al. Cancer spectrum in DNA mismatch repair gene mutation carriers :results from a hospital based Lynch syndrome registry *Fam. Cancer*, 2012; 11:441-447
- Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs, Fattaneh A., IARC press , Lyon 2003, 358-360
- Pavlidou A, Vlahos NF. Molecular alteration of PI3K/Akt/mTOR pathway: a therapeutic target in endometrial cancer. *Scientific World Journal*, 2014
- Peltomaki P, Vasen HF. The International Collaborative Group on HNPCC. Mutations predisposing to hereditary nonpolyposis colorectal cancer: database and results of a collaborative study. *Gastroenterology* 1997; 113; 1146-58
- Pierotti MA, Schichman SA, Sozzi G, Croce CM. *Oncogenes*. In: *Cancer Medicine*. 5<sup>th</sup> ed. Bast RC Jr., Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RP, Holland JF, Frei III E, Gansler TS. BC Decker, Inc, 2000
- Pennington KP, Walsh T, Lee M, Pennil C, Novetsky AP, Agnew KJ, Thornton A, Garcia R, Mutch D, King MC, Goodfellow P, Swisher EM. BRCA1, TP53, and CHEK2 germline mutations in uterine serous carcinoma. *Cancer* 2013;119(2): 332-8
- Perucho M. Microsatellite instability: the mutator that mutates the other mutator. *Nat. Med.* 1996; 2:630-631



- Pilarsky R, Eng C. Will the real Cowden syndrome please stand up (again)? Expanding mutational and clinical spectra of the PTEN hamartoma tumour syndrome. *J Med. Genet.* 2004; 41(5); 323-326
- Rævaara TE, Korhonen MK, Lohi H, et al. Functional significance and clinical phenotype of nontruncating mismatch repair variants of MLH1. *Gastroenterology* 2005; 129(2): 537-549
- Salvesen HB, MacDonald N, Ryan A et al. Methylation of hMLH1 in a population-based series of endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3607-1
- Schweizer P, Moisio AL, Kuismanen SA et al. Lack of MSH2 and MSH6 characterizes endometrial but not colon carcinomas in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 2001; 61; 2813-5
- Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014 Jan-Feb; 64(1): 9-29
- Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A., Cancer Statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin.* 2011 Jul-Aug; 61: 212-36
- Shilpa Grover MD, J Thomas Lamont MD, Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer): Clinical manifestation and diagnosis, 2016
- Shen Z, Nickoloff J. Mammalian homologous recombination repair and cancer intervention. DNA repair, Genetic instability, and Cancer, World Scientific Publishing Co. 2007; 119-156
- Shrivastav M, De Haro LP, Nickoloff JA. Regulation of DNA double-strand break repair pathway choice. *Cell Res* 2008;18(1): 134-147
- Anna Sobzuk, Tomasz Polawski, Janusz Blasiak. Polymorphisms of DNA repair genes in endometrial cancer. *Pathol Oncol Res* 2012; 18(4): 1015-1020
- Southcott BM. Carcinoma of the endometrium. *Drugs.* 2001; 61:1395-405.
- Stewart RL, Royds JA, Burton JL, Heatley MK, Wells M. Direct sequencing of the p53 gene shows absence of mutations in endometrioid endometrial adenocarcinomas expressing p53 protein. *Histopathology* 1998; 33: 440-445
- Trygve Tollefsbol. Epigenetics in Human Disease. Elsevier ed. 2012 p.473-475

- Umesh M, Wolf D, Frossard PM. Ball and Scal RFLPs at the human p53 gene locus. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 7757-7762
- Uterine Cancer: Diagnosis and Treatment, Shalini Rajaram , Springer 2015, 25-33
- Versteeg R. Aberrant methylation in cancer *Am J Hum. Genet.* 1997;60; 751-754
- Watson P, Vasen HF, Mecklin JP, Jarvinen H, Lynch HT. The risk of endometrial cancer in hereditary non polyposis colorectal cancer. *Am J Med* 1994; 96:516-520
- Weterings E, Chen DJ. The endless tale of non-homologous end-joining. *Cell Res* 2008; 18(1): 114-124
- Whitehouse CJ, Taylor RM, Thistlethwaite A, Zhang H, Karimi-Busheri F, Lasko DD et al. XRCC1 stimulates human polynucleotide kinase activity at damaged DNA termini and accelerates DNA single-strand break repair 2001; 104(1): 107-117
- Yamamoto H, Imai K. Microsatellite instability: an update. *Arch Toxicol.*2015