

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000199859



ΔΔ Α  
610  
2ΗΣ  
1999

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ  
ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ  
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΠΑΙΔΑΓΩΓΙΚΗΣ  
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ  
ΠΑΤΡΑΣ

214

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ  
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΠΑΙΔΑΓΩΓΙΚΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ  
ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΠΑΤΡΑΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ε  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΣΤ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ζ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Η  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Θ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΑ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΒ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΓ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΔ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΕ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΣ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΤ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΥ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΖ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΑ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΒ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΓ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΔ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΕ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΣ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΤ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΥ  
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΖ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ  
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΠΑΙΔΑΓΩΓΙΚΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ

ΠΑΤΡΑΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 1999



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**  
**ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΣ-ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : Η ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΝΙΚΗ Ι. ΑΓΝΑΝΤΗ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΖΑΝΕΙΟΥ ΝΟΣ/ΜΕΙΟΥ ΠΕΙΡΑΙΑ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : Ο Δρ ΙΩΑΝΝΗΣ ΕΛΕΜΕΝΟΓΛΟΥ**

**« Η ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ**  
**ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΟΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**  
**(PCNA), ΤΟΥ Ki 67 ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ**  
**ΚΑΙ ΤΗΣ ΧΡΩΜΟΓΡΑΝΙΝΗΣ ΣΤΑ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ**  
**ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ. ΜΕΛΕΤΗ 100 ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΩΝ. »**

**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Β. ΖΗΣΗΣ**  
**ΙΑΤΡΟΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 1999**



136/2002



**Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343/32 άρθρο 202, παράγραφος 2).**



Αρ. εισ.:.....310.....2004..

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

*Νίκη Ι. Αγκάντη*

*Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής*

**ΜΕΛΗ**

*Επαμεινώνδας Τσιάνος*

*Καθηγητής Παθολογίας - Γαστρεντερολογίας*

*Βασιλική Μαλάμου-Μήτση*

*Αναπλ. Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής*



## ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

*Νίκη Ι. Αγάντη*

*Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής*

*Επαμεινώνδας Τσιάνος*

*Καθηγητής Παθολογίας-Γαστρεντερολογίας*

*Ιωάννης Βαράκης*

*Καθηγητής Ανατομίας και Ιστολογίας*

*Βασιλική Μαλάμου-Μήτση*

*Αναπλ. Καθηγ. Παθολογικής Ανατομικής*

*Δημήτριος Στεφάνου*

*Αναπλ. Καθηγ. Παθολογικής Ανατομικής*

*Μαρία Μπάη*

*Επίκ. Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής*

*Αντιγόνη Σκοπελίτου*

*Λέκτορας Παθολογικής Ανατομικής*



**Στη γυναίκα μου Θήβη**

**Στις κόρες μου  
Αλεξάνδρα και Σταματίνα**



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί στις μέρες μας μια από τις κυριότερες αιτίες θανάτου του πληθυσμού σ' όλο τον κόσμο.

Με την ευγενή φιλοδοξία να αποτελέσει μια μικρή συμβολή στην έρευνα για τον καρκίνο του παχέος εντέρου σχεδιάστηκε και ολοκληρώθηκε η παρούσα μελέτη.

Στη σεβαστή Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Νίκη Ι. Αγνάντη, κάτω από την έμπειρη καθοδήγηση της οποίας ολοκληρώθηκε αυτή η διατριβή εκφράζω την ευγνωμοσύνη μου.

Τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, Καθηγητή κ. Επαμ. Τσιάνο και Αναπλ. Καθηγήτρια κ. Βασιλική Μήτση που ανέλαβαν την παρακολούθηση και υποστήριξη της διατριβής, θερμά ευχαριστώ.

Το Διευθυντή του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του Τζανείου Νοσοκομείου Πειραιά Δρ. Ιωάννη Ελεμένογλου, θερμότατα ευχαριστώ για τις ανοσοϊστοχημικές χρώσεις που έγιναν στο εργαστήριό του καθώς και για τη συνεχή θερμή του συμπαράσταση σ' όλες τις φάσεις της προσπάθειας μέχρι την ολοκλήρωσή της.

Τη συνάδελφο και φίλη κ. Αδαμαντία Ζήζη-Σερμπετζόγλου και τη σύζυγό μου συνάδελφο κ. Θήβη Βασιλακάκη Επιμελήτριες Α' Παθολογοανατόμους στο Τζάνειο Νοσ/μείο Πειραιά πολύ ευχαριστώ για τις επεξηγήσεις και υποδείξεις τους στην πραγματοποίηση των ανοσοϊστοχημικών χρώσεων καθώς και στην εκτίμηση του υλικού αυτής της μελέτης.

Τέλος, τη συνάδελφο κ. Μυρσίνη Δεσποτέλλη που συνέβαλε στη στατιστική επεξεργασία της εργασίας θερμά ευχαριστώ.





## Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	6
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
Εισαγωγή .....	8
• Ανατομία και ιστολογία του παχέος εντέρου .....	10
• Επιδημιολογία του καρκίνου του παχέος εντέρου.....	11
• Συμπτώματα - Διάγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου.....	27
• Ιστολογικοί τύποι - Σταδιοποίηση του καρκίνου του παχέος εντέρου .....	29
• Θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του παχέος εντέρου .....	34
• Δείκτες Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού.....	37
α) Πυρηνικό Αντιγόνο πολλαπλασιαζομένων κυττάρων (PCNA) .....	37
β) Ki 67 αντιγόνο.....	40
• Χρωμογρανίνη.....	41
• Σκοπός της μελέτης.....	42
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
• Υλικό και μέθοδος μελέτης.....	43
• Αποτελέσματα.....	49
• Συζήτηση.....	73
• Συμπεράσματα.....	78
• Περίληψη.....	80
• Summary.....	83
• Βιβλιογραφία.....	85



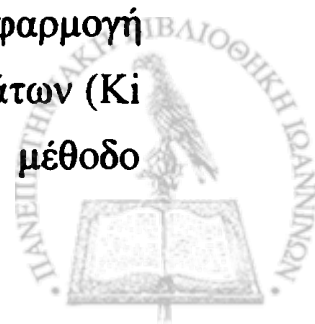
## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι μια μείζων αιτία νοσηρότητας και θνητότητας στις ανεπτυγμένες χώρες της Δυτικής Ευρώπης και της Βόρειας Αμερικής. Η αιτιολογία, διάγνωση και θεραπευτική αντιμετώπισή του εξακολουθούν να αποτελούν σοβαρά προβλήματα για το γιατρό καθ' όσον ο καρκίνος του παχέος εντέρου θεωρείται αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων πολλαπλών γενετικών μεταβολών.

Πέραν των ήδη χρησιμοποιούμενων παραμέτρων όπως ο ιστολογικός τύπος, ο βαθμός κακοηθείας και το στάδιο της νόσου για τον καθορισμό της βιολογικής συμπεριφοράς των νεοπλασμάτων γίνεται προσπάθεια ανεύρεσης αντικειμενικών βιολογικών διαγνωστικών και προγνωστικών δεικτών. Σημαντικό μέρος αυτής της προσπάθειας επικεντρώνεται στη μέτρηση του δείκτη πολλαπλασιασμού του νεοπλάσματος. Οι αναζητούμενοι δείκτες εκτός από την δυνατότητα αντικειμενικής μέτρησης του ρυθμού του κυτταρικού πολλαπλασιασμού πρέπει να είναι εύχρηστοι σε επίπεδο ρουτίνας και να είναι δυνατή η εξαγωγή συμπερασμάτων από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της εφαρμογής αυτών των δεικτών με άλλες παραμέτρους.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα για την μελέτη της κινητικής των κυττάρων έχουν προσφέρει πολλά στην ιστολογική ταξινόμηση των νεοπλασμάτων καθώς και στην εκτίμηση της προγνώσεώς τους. Ιδιαίτερα η εφαρμογή ανοσοϊστοχημείας με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων (Ki 67 και PCNA) αποτελεί απλή, γρήγορη και αξιόπιστη μέθοδο



έναντι της αυτοραδιογραφίας μετά από ενσωμάτωση τριτιωμένης θυμιδίνης και της κυτταρομετρίας ροής.

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η ανοσοϊστοχημική μελέτη της εκφράσεως των δεικτών κυτταρικού πολλαπλασιασμού PCNA και Ki67 και του νευροενδοκρινικού δείκτη χρωμογρανίνη Α σε αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου και η συσχέτιση της εκφράσεως με διάφορες παραμέτρους όπως φύλο, ηλικία, τοπογραφία, μέγεθος όγκου, ύπαρξη νέκρωσης, λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης, βαθμό διαφοροποιήσεως, διηθητική ανάπτυξη, ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων και επιβίωση. Τα αποτελέσματά μας συγκρίνονται με τα δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας και γίνεται συγκριτική μελέτη των ανωτέρω δεικτών για την ενδεχόμενη προγνωστική ή και διαγνωστική αξία τους στον καρκίνο του παχέος εντέρου.-



## ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Το παχύ έντερο παριστά τη συνέχεια του λεπτού εντέρου και εκτείνεται από το πέρας το ειλεού μέχρι τον πρωκτό. Αναγνωρίζονται σ' αυτό τρεις μοίρες : α) το τυφλό με τη σκωληκοειδή απόφυση, β) το κόλον, το οποίο διακρίνεται σε ανιόν, εγκάρσιο, κατιόν και σιγμοειδές κόλον και γ) το ορθό ή απευθυσμένο. Το μήκος του παχέος εντέρου ανέρχεται μέχρι τα 1.70 μέτρα.

Το παχύ έντερο αποτελείται από τέσσερις χιτώνες : τον ορογόνο, τον μυϊκό, τον υποβλεννογόνο και τον βλεννογόνο.

Ο ορογόνος χιτώνας προερχόμενος από το περισπλάχνιο πέταλο του περιτοναίου δεν καλύπτει εξωτερικά εξ ολοκλήρου όλες τις μοίρες αυτού. Εξ ολοκλήρου περιβάλλονται το τυφλό μετά της σκωληκοειδούς αποφύσεως, το εγκάρσιο και το σιγμοειδές ενώ το ανιόν το κατιόν κόλον και η πυελική μοίρα του ορθού καλύπτονται μόνο πρόσθια και πλάγια. Η τελική μοίρα του ορθού δεν καλύπτεται από ορογόνο. Ο ορογόνος χιτώνας φέρει επίσης κατά τόπους προσεκβολές πλήρεις λίπους, τις καλούμενες επιπλοεικές αποφύσεις. Ο μυϊκός χιτώνας συνιστάμενος από λείες μυϊκές ίνες αποτελείται από δύο στοιβάδες, την έξω επιμήκη και την έσω κυκλωτερή. Η επιμήκης στοιβάδα παχυνομένη κατά θέσεις σχηματίζει τις κολικές ταινίες.

Ο υποβλεννογόσιος χιτώνας συνίσταται από αραιό αγγειονευροφόρο συνδετικό ιστό.

Ο βλεννογόσιος του παχέος εντέρου στερείται κυκλωτερών πτυχών, λαχνών και πλακών του Peyer φέρει δε μονόστιβο



κυλινδρικό επιθήλιο. Η επιφάνεια που είναι απαραίτητη για την απορρόφηση και την παραγωγή βλέννας αποτελείται από μεγάλο αριθμό πυκνών, σωληνόμορφων, βαθιών κρυπτών. Οι κρύπτες εμφανίζουν άφθονα καλυκοειδή κύτταρα (βλεννογόνα) μεταξύ των κυλινδρικών κυττάρων ενώ στερούνται κοκκωδών και αργυροφίλων κυττάρων. Το χόριο του βλεννογόνου είναι αγγειοβριθές και εμφανίζει κατά τόπους μονήρη λεμφοζίδια, λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και εωσινόφιλα. Η βλεννογόνιος μυϊκή στιβάδα φέρεται κάτω από τις κρύπτες και είναι καλά ανεπτυγμένη<sup>1,2,3</sup>.

## ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

### *Α. Παγκόσμια κατανομή*

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου (ΚΠΕ), που αποτελεί τη μεγαλύτερη ομάδα καρκίνων του γαστρεντερικού συστήματος στο Δυτικό κόσμο, είναι η δεύτερη αιτία θανάτου για τους άνδρες μετά τον καρκίνο του πνεύμονος και η τρίτη για τις γυναίκες μετά τον καρκίνο του μαστού και του πνεύμονος.

Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής ο ΚΠΕ αποτελεί την τρίτη αιτία θανάτου από καρκίνο επί του συνόλου του πληθυσμού (άνδρες - γυναίκες) με 60.000 θανάτους ετησίως και περισσότερες από 150.000 νέες περιπτώσεις<sup>4</sup>.

Στην Ελλάδα, σύμφωνα με τα στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας διαγιγνώσκονται 1.300 περίπου περιπτώσεις το χρόνο ενώ από πλευράς συχνότητας ο ΚΠΕ κατέχει την τρίτη θέση. Ο

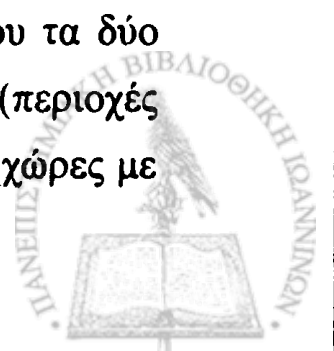


ΚΠΕ αποτελεί το 15% του συνόλου των νεοδιαγνωσσκομένων νεοπλασμάτων<sup>5</sup>.

Κύριο επιδημιολογικό χαρακτηριστικό του ΚΠΕ είναι η μεγάλη διακρατική μεταβλητότητα. Η μεγαλύτερη επίπτωση παρατηρείται στη Δυτική Ευρώπη, τη Βόρειο Αμερική και την Αυστραλία και ανέρχεται σε 30 ανά 100.000 πληθυσμού ανά έτος για τις ηλικίες 45-55 έτη, ενώ η μικρότερη επίπτωση παρατηρείται στις Ινδίες 1-3 περιπτώσεις ανά 100.000 πληθυσμού ανά έτος<sup>6</sup>. Αξίζει να σημειωθεί ότι η επίπτωση του ΚΠΕ στους άνδρες στη Βόρεια Ιταλία (>30/100.000/έτος) είναι πολύ υψηλότερη της αντίστοιχης της Αγγλίας (<20/100.000/έτος) ενώ η παραδοσιακά χαμηλή επίπτωση στην Ιαπωνία έχει μεταβληθεί και προσεγγίζει εκείνη της Αγγλίας<sup>7</sup>.

Η συχνότητα του ΚΠΕ ποικίλλει επίσης ανάλογα με τη φυλή και την εθνικότητα. Η μεγαλύτερη συχνότητα παρατηρείται στους λευκούς τόσο στη χώρα καταγωγής όσο και στη χώρα που μετανάστευσαν π.χ. Αυστραλία και Βόρειο Αμερική. Μικρότερες συχνότητες παρατηρήθηκαν στους λευκούς της Νότιας Ευρώπης. Οι συχνότητες όμως αυτές τείνουν να αυξηθούν στους μετανάστες, στους οποίους η επίπτωση του ΚΠΕ μέσα σε μια ή δυο γενεές εξισώνεται με εκείνη της χώρας υποδοχής. Η νοσηρότητα στις Ασιατικές χώρες είναι λιγότερο συχνή και πολύ σπάνια στις χώρες της Αφρικής, αλλά και σ' αυτά τα γεωγραφικά διαμερίσματα αυξάνει με τη μετανάστευση και την υιοθέτηση του Δυτικού τρόπου ζωής<sup>8,9</sup>.

Ο ΚΠΕ είναι ο μόνος καρκίνος που προσβάλλει εξίσου τα δύο φύλα. Εν τούτοις στη Βόρειο Αμερική και Αυστραλία (περιοχές με υψηλή επίπτωση) όσο και στην Ιαπωνία και Ιταλία (χώρες με



προοδευτική αύξηση της συχνότητας) η επίπτωση στους άνδρες ως προς την ηλικία υπερέχει εκείνης των γυναικών κατά 15% περίπου. Η τάση όμως είναι η συχνότητα να παραμείνει η ίδια στα δύο φύλα ή να είναι υψηλότερη στις γυναίκες προ της ηλικίας των 50 ετών και υψηλότερη στους άνδρες μετά την ηλικία των 50 ετών<sup>6,7</sup>.

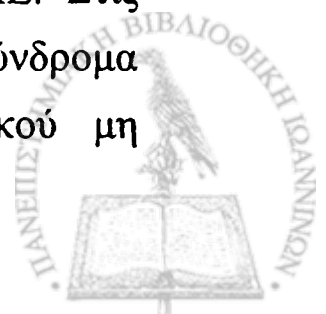
Αναφέρεται ακόμη διακύμανση της συχνότητας του ΚΠΕ ως προς την εντόπισή του στα διάφορα τμήματα του παχέος εντέρου. Έτσι παρατηρείται συχνότερη εντόπιση στο αριστερό ήμισυ στις χώρες με υψηλή επίπτωση συγκριτικά με τις χώρες με χαμηλή επίπτωση, στις οποίες ο καρκίνος εντοπίζεται συχνότερα στο δεξιό ήμισυ του παχέος εντέρου, γεγονός που συσχετίζεται και με το φύλο και την ηλικία προσβολής (γυναίκες μέσης ή νεώτερης ηλικίας)<sup>10,11</sup>.

Ως προς την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση του πληθυσμού κάθε χώρας ο ΚΠΕ δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές συχνότητας<sup>9,12</sup>.

Ο μέσος όρος της συχνότητας του ΚΠΕ παγκοσμίως και για τα δύο φύλα είναι 16 περίπου περιπτώσεις ανά 100.000 πληθυσμού ανά έτος<sup>13,14,15</sup>.

### ***B. Παράγοντες κινδύνου***

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι πολυπαραγοντική νόσος με πολύπλοκη εξελικτική διεργασία. Παρ' ότι παραμένει ακόμα ασαφής η αιτιολογία του ΚΠΕ υπάρχουν ωστόσο μικρές ομάδες ασθενών με σαφώς αύξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΚΠΕ. Στις ομάδες αυτές υψηλού κινδύνου περιλαμβάνονται τα σύνδρομα οικογενούς πολυποδίασης, το σύνδρομο κληρονομικού μη



πολυποδιασικού καρκίνου και η μακροχρόνια ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου.

Η πλειονότητα όμως των ασθενών αναπτύσσει “σποραδικό” καρκίνο του παχέος εντέρου και σ’ αυτούς δεν υπάρχουν ξεκάθαροι παράγοντες κινδύνου πλην της ηλικίας, του ιστορικού ΚΠΕ σε πρώτου βαθμού συγγενείς και του ατομικού ιστορικού αδενωμάτων του παχέος εντέρου.

### α) Σύνδρομα οικογενούς πολυποδίασης

Τα σύνδρομα αυτά διακρίνονται σε σύνδρομα αδενωματώδους πολυποδίασης (οικογενής αδενωματώδης πολυποδίασης, σύνδρομο Gardner και σύνδρομο Turcot) και σύνδρομα αμαρτωματώδους πολυποδίασης (σύνδρομο Peutz-Jeghers, νεανική πολυποδίαση, Cronkhite Canada και Cowden’s syndrome).

Η οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση είναι σπάνια νόσος (1 ανά 15.000 γεννήσεις περίπου) που μεταβιβάζεται κληρονομικά με τον αυτόσωμο επικρατούντα χαρακτήρα και χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη εκατοντάδων ή και χιλιάδων αδενωματωδών πολυπόδων<sup>16,17</sup>. Σε μερικές περιπτώσεις εντοπίζονται ταυτοχρόνως πολύποδες στο στομάχι, το δωδεκαδάκτυλο και τον ειλεό. Η οικογενής πολυποδίαση όπως και το σύνδρομο Gardner προέρχονται από μεταλλάξεις του γονιδίου της αδενωματώδους πολυποδίασης (APC) που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 5. Οι πολύποδες εμφανίζονται στη δεύτερη δεκαετία της ζωής και στην τέταρτη δεκαετία σχεδόν όλοι οι πάσχοντες έχουν αναπτύξει πολύποδες και τελικώς το σύνολο αυτών αναπτύσσει ΚΠΕ περί το 39<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας





τους. Εκ των πολυπόδων του ανώτερου πεπτικού εκείνοι της περιοχής του φύματος του Vater συνδέονται με την ανάπτυξη καρκίνου.

**Το σύνδρομο Gardner** διαφέρει από την οικογενή πολυποδίαση μόνο στο ότι συνοδεύεται και από εξωεντερικές εκδηλώσεις όπως οστεώματα, όγκοι μαλακών μορίων, δεσμοειδείς όγκοι, υπερτροφία του μελαγχρωστικού επιθηλίου του αμφιβληστροειδούς κ.ά.

**Το σύνδρομο Turcot** χαρακτηρίζεται από ανάπτυξη αδενωματωδών πολυπόδων στο παχύ έντερο με ταυτόχρονη εμφάνιση κακοήθων όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος.

**Το σύνδρομο Peutz-Jeghers** χαρακτηρίζεται από την παρουσία αμαρτωματωδών πολυπόδων στο λεπτό έντερο, το παχύ έντερο και το στομάχι και συνοδεύεται πολύ συχνά από μελάγχρωση των χειλέων, της στοματικής κοιλότητας και του δέρματος. Μεταβιβάζεται κληρονομικά με τον αυτόσωμο επικρατούντα χαρακτήρα. Η επίπτωση καρκίνου στους πάσχοντες κυμαίνεται από 2-13%.

**Το σύνδρομο της νεανικής πολυποδίασης (juvenile polyposis)** χαρακτηρίζεται από την παρουσία αμαρτωματωδών πολυπόδων κυρίως στο στομάχι και το παχύ έντερο. Εμφανίζεται κυρίως σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών σε ποσοστό 67%. Ο κίνδυνος καρκινωματούδους εξαλλαγής υπολογίζεται περίπου στο 10%<sup>18</sup>.

**Το Cronkhite Canada σύνδρομο** χαρακτηρίζεται από την παρουσία αμαρτωμάτων στο στομάχι και στο έντερο τα οποία συνδυάζονται με αλωπεκία και ονυχοδυστροφία. Το σύνδρομο τούτο προφανώς αποτελεί υποπερίπτωση της νεανικής



πολυποδίασης με εξωεντερικές αλλοιώσεις και χωρίς κληρονομική παρουσία.

Το Cowden's σύνδρομο κληρονομείται με τον αυτόσωμο επικρατούντα χαρακτήρα. Πρόκειται για σπάνια μορφή διάχυτης γαστροεντερικής πολυποδίασης με παρουσία αμαρτωμάτων και στο δέρμα.

### β) Σύνδρομο κληρονομικού μη πολυποδιασικού καρκίνου

Το σύνδρομο αυτό αφορά το 5-6% των περιπτώσεων ΚΠΕ και διακρίνεται στα σύνδρομα Lynch I και II. Είναι οκτώ φορές συχνότερο της οικογενούς πολυποδιάσεως και μεταβιβάζεται κληρονομικά κατά τον αυτόσωμο επικρατούντα χαρακτήρα με περισσότερο από 80% διεισδυτικότητα και οφείλεται σε μετάλλαξη στα γονίδια *mMLH1*, *hMSH2*, *hPMS1* και *hPMS2*.

Το σύνδρομο Lynch I χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη αδenoκαρκινώματος μόνο στο παχύ έντερο κεντρικότερα της σπληνικής καμπής σε άτομα ηλικίας 45-50 ετών<sup>19</sup>. Αυτός ο τύπος καρκίνου μπορεί να εμφανισθεί με άλλοτε άλλη μορφή μονήρων ή πολλαπλών, σύγχρονων ή μετάχρονων καρκινωμάτων.

Έχει καταδειχθεί τελευταία ότι ο υπεύθυνος γόνος του συνδρόμου βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 2, στη θέση 2. Προϋποθέσεις για την τεκμηρίωση του συνδρόμου είναι : η ανεύρεση τριών συγγενών πρώτου βαθμού με ΚΠΕ εκ των οποίων ο ένας τουλάχιστον να είναι ηλικίας < 45 ετών και οι περιπτώσεις του ΚΠΕ να αναφέρονται σε δύο γενεές.

Το σύνδρομο Lynch II χαρακτηρίζεται εκτός από την ανάπτυξη ΚΠΕ επί πλέον με εμφάνιση καρκίνου στο ενδομήτριο, ωοθήκες



και μαστό και σπανιότερα στο πάγκρεας, λεπτό έντερο, στομάχι, νεφρούς και ουρητήρες.

Στο πρόγραμμα παρακολούθησης οικογενειών με σύνδρομο Lynch θεωρείται κατ' αρχήν απαραίτητη η πλήρης ενημέρωση για το μέγεθος του προβλήματος των ασθενών και των άλλων μελών των οικογενειών αυτών, έτσι ώστε να εξασφαλισθεί η μεγαλύτερη δυνατή συνεργασία τους. Η παρακολούθηση των μελών των οικογενειών με το σύνδρομο αρχίζει περίπου μια πενταετία ενωρίτερα από την πρωϊμότερη εμφάνιση καρκίνου στην οικογένεια. Ο κλινικοεργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει: test Hemoccult ανά εξάμηνο και κολονοσκόπηση ανά δύο έτη. Σε περίπτωση γυναικολογικού καρκίνου (Lynch II) έλεγχος ελάσσοнос πυέλου ανά έτος και μαστογραφία άπαξ ενώ σε ηλικία >40 ετών μαστογραφία ανά έτος.

### γ) Ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου

#### *Ελκώδης κολίτις*

Η χρονική διάρκεια της νόσου και η εκτεταμένη ή καθολική προσβολή του παχέος εντέρου είναι οι κυριότεροι παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα. Ο κίνδυνος είναι μεγαλύτερος στους ασθενείς με πανκολίτιδα καθώς και σε όσους η νόσος διαρκεί περισσότερο από 10 χρόνια<sup>20,21,22</sup>.

Τα ποσοστά ανάπτυξης καρκίνου κυμαίνονται από 0.8% στα 10 χρόνια, 5-10% στην 20ετία και 12-20% σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα επί 30ετία<sup>22,23,24</sup>.

Η εμφάνιση καρκίνου σε έδαφος ελκώδους κολίτιδος προϋποθέτει σχεδόν πάντοτε αλλοιώσεις του εντερικού επιθηλίου γνωστές με τον όρο "δυσπλασία". Η επιθηλιακή δυσπλασία παρουσιάζεται σε



μικρές εστίες. σε οιοδήποτε σημείο του πάσχοντος εντέρου, σε επηρμένο (πολυποειδή) ή επίπεδο βλεννογόνο<sup>25,26</sup>.

Η ιστολογική διαβάθμιση της δυσπλασίας σε χαμηλόβαθμη και υψηλόβαθμη βοηθά στην παρακολούθηση και στην έγκαιρη και σωστή αντιμετώπιση των ασθενών με μακροχρόνια ελκώδη κολίτιδα. Η παρουσία υψηλόβαθμης επιθηλιακής δυσπλασίας αποτελεί ισχυρή ένδειξη για ολική κολεκτομή<sup>27,28,29,30</sup>. Στα πλαίσια του προληπτικού ελέγχου για την πρώιμη διάγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου αλλά και των προκαρκινικών (δυσπλαστικών) αλλοιώσεων οι ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα με διάρκεια 8-10 χρόνια, πρέπει να υποβάλλονται σε ολική κολονοσκόπηση κάθε δύο χρόνια με λήψη πολλαπλών βιοψιών ανά 10 εκ. από όλες τις μοίρες του εντέρου και από κάθε ύποπτη περιοχή.

### **Νόσος Crohn**

Ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου σε ασθενείς με νόσο Crohn είναι μικρότερος σε σχέση με ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα<sup>31</sup>. Η μακρά διάρκεια της νόσου και η κολική ή ειλεο-κολική συμμετοχή θεωρούνται και στη νόσο αυτή παράγοντες κινδύνου<sup>32</sup>. Έχει παρατηρηθεί αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου σε νόσο Crohn με ορθοπρωκτική εντόπιση, συρίγγια, στενώσεις ή σε χειρουργικά παρακαμφθέντα τμήματα του παχέος εντέρου<sup>33</sup>. Δυσπλασία απαντάται και στη νόσο του Crohn αλλά σε περιορισμένη έκταση και σε μικρότερο ποσοστό συγκριτικά με την ελκώδη κολίτιδα και γι' αυτό αποτελεί λιγότερο χρήσιμο δείκτη παρακολούθησης σε ασθενείς με μακρόχρονη Crohn κολίτιδα.



## ΣΠΟΡΑΔΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Το μεγαλύτερο ποσοστό καρκίνων παχέος εντέρου που ανέρχεται στο 70% και πλέον των περιπτώσεων σχετίζεται με το λεγόμενο "σποραδικό" καρκίνο.

Έχει γίνει φανερό τα τελευταία χρόνια ότι η κληρονομική προδιάθεση παίζει σπουδαίο ρόλο μεταξύ αυτών των όγκων που εμφανίζονται σε μέλη οικογενειών περισσότερο συχνά απ' ότι θα μπορούσε κανείς να αναμένει σαν τυχαία περιστατικά<sup>17</sup>.

Έχει παρατηρηθεί ότι η οικογενειακή αυτή προδιάθεση με ποσοστό 20% θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα κληρονομικής μεταβίβασης με αυτόσωμο επικρατούντα χαρακτήρα μερικής διεισδυτικότητας<sup>17</sup>.

Παράγοντες κινδύνου, εκτός από τους περιβαλλοντικούς που αλληλεπιδρούν με τους γενετικούς για να καθορίσουν τα άτομα που θα αναπτύξουν αδένωμα ή καρκίνωμα, το οικογενειακό ιστορικό και η ηλικία θεωρούνται οι κυριότεροι για την εμφάνιση και ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου.

Άτομα με δύο ή περισσότερους συγγενείς πρώτου βαθμού με καρκίνο παχέος εντέρου έχουν τον πιο αυξημένο κίνδυνο αν και προσφάτως έχει καταδειχθεί ότι τα άτομα με ένα μόνο συγγενή πρώτου βαθμού με ΚΠΕ σε ηλικία μικρότερη των 50 ετών έχουν επίσης μεγάλο κίνδυνο ανάπτυξης ΚΠΕ<sup>34</sup>.

Η πολυσταδιακή διεργασία του καρκίνου παχέος εντέρου αρχίζει κατά τον Vogelstein και τους συνεργάτες του<sup>35</sup> από την κυτταρική υπερπλασία του εντερικού επιθηλίου, η οποία υποβοηθείται από μεταλλάξεις ή απώλεια του γονιδίου της οικογενούς αδενωματοδούς πολυποδίασης η οποία βαθμιαία οδηγεί στην εμφάνιση ενός μικρού αδενωματοδούς πολύποδα. Η



ανάπτυξη στη συνέχεια του αδενώματος προκύπτει από επιπρόσθετες μεταλλάξεις, συμπεριλαμβανομένης και της ενεργοποίησης του ογκογονιδίου *ras*. Τέλος, η εξέλιξη των μεγαλύτερων αδενωμάτων και η κατάληξή τους σε καρκίνους μπορεί να είναι αποτέλεσμα απενεργοποίησης των ογκοκατασταλτικών γονιδίων *DCC* και *p53*. Τέλος, έχουν βρεθεί σε μερικά νεοπλάσματα (όπως το σύνδρομο Lynch) διάχυτες ανωμαλίες στον αναδιπλασιασμό του DNA που οφείλεται σε μεταλλάξεις των γονιδίων του συστήματος επιδιόρθωσής του.

Καθοριστικό ρόλο στην τελική καρκινική έκφραση φαίνεται ότι παίζει ο αριθμός και όχι η χρονική σειρά των γενετικών μεταβολών οι οποίες αυξάνουν σε αναλογία με την αύξηση της διαμέτρου του πολύποδα<sup>35</sup>.

Τα ογκογονίδια *ras* των οποίων η ενεργοποίηση οφείλεται σε σημειακές μεταλλαγές παρουσιάζονται στο 50% των περιπτώσεων αυτού του είδους του καρκίνου του παχέος εντέρου<sup>36,37</sup>. Είναι αξιοσημείωτο, το γεγονός ότι, ενώ ένα παρόμοιο με το προαναφερθέν ποσοστό σημειακών μεταλλαγών ευρίσκεται σε αδενώματα μεγαλύτερα του 1 εκ., στις περιπτώσεις μικρών αδενωμάτων το ποσοστό δεν ξεπερνά το 10%<sup>35</sup>.

Το *ras-gene* (έχει τρία γένη το *Ha-ras*, το *Ki-ras* και το *Ni-ras*) κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη στο πλάσμα που συνδέεται στις μεμβράνες των κυττάρων, την *p21* που συνδέει ισχυρά τα νουκλεοτίδια της γουανίνης και παρουσιάζει δράση ασθενούς GTPασης. Λόγω των ιδιοτήτων της διαφαίνεται ο ρόλος της στην μετάδοση του αυξητικού σήματος στις κυτταρικές μεμβράνες. Ειδικές μεταλλάξεις προκαλούν μεταβολές στην

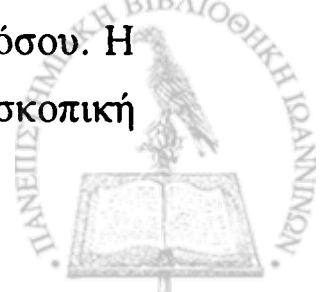


πρωτεΐνη p21 που έχει σαν αποτέλεσμα την απορρύθμιση της αυξητικής της δραστηριότητας. Σε πρόσφατες εργασίες έχουν αναφερθεί μεταλλάξεις στο Ki-ras gene και στη θέση 12 στο 50% των περιπτώσεων καρκίνου του παχέος εντέρου<sup>37</sup>. Οι παραπάνω εργασίες στοιχειοθετούν την άποψη ότι μετάλλαξη στο Ki-ras gene αποτελεί ένα γεγονός που προηγείται της κακοήθους εξαλλαγής. Φυσικά στην ανάπτυξη ενός αδενοκαρκινώματος υπεισέρχονται και άλλοι γενετικοί παράγοντες. Σε πρόσφατες έρευνες έχουν ευρεθεί ελλείψεις συγκεκριμένων γονιδίων σε περιπτώσεις καρκίνου του παχέος εντέρου που δεν μπορούν να αποδοθούν μόνο στη τύχη. Πιθανότατα αυτά τα γονίδια έχουν κατασταλτικό ρόλο. Έχει αναφερθεί απώλεια σε τμήμα του χρωμοσώματος 17 που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p53 με γνωστές ογκοκατασταλτικές ιδιότητες στο 77% των περιπτώσεων του καρκίνου παχέος εντέρου<sup>38</sup>.

Η προαναφερθείσα αλληλουχία φυσιολογικός βλεννογόνος - αδένωμα - καρκίνος υπολογίζεται ότι συντελείται εντός 8-10 χρόνων και αφορά την πλειονότητα του “σποραδικού” τύπου ΚΠΕ, που ανέρχεται όπως προαναφέρθηκε σε ποσοστό άνω του 70%<sup>39</sup>.

Ασθενείς με ένα μικρό σωληνώδες αδένωμα δεν έχουν αυξημένο κίνδυνο καρκίνου ενώ αυτός είναι αυξημένος σε ασθενείς με σωληνοδολαχνωτό, λαχνωτό ή μεγαλύτερο του 1 εκ. αδένωμα ή αν υπάρχουν πολλαπλά, ρθροσιγμοειδικά αδενώματα.

Η βιολογική αυτή συμπεριφορά του ΚΠΕ παρέχει τη δυνατότητα για δευτερογενή πρόληψη ή και πρώιμη διάγνωση της νόσου. Η παρέμβαση στο στάδιο των πολυπόδων με την ενδοσκοπική



αφαίρεσή τους οδηγεί σε σημαντική (85% περίπου) ελάττωση της επίπτωσης του ΚΠΕ<sup>40,41</sup>. ενώ η διάγνωση σε αρχόμενο στάδιο του καρκίνου προσδοκά σε καλύτερη πρόγνωση<sup>42</sup>.

### Γ. Πιθανοί αιτιολογικοί παράγοντες

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου θεωρείται σήμερα αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων πολλαπλών γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Αυτή η γνώση, θα οδηγήσει στη μείωση του αριθμού των πιθανών αιτιολογικών παραγόντων και θα διευκολύνει επίσης, την πρόληψη, μέσω της έγκαιρης διάγνωσης<sup>43,44,45,46</sup>.

Πολλές επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν ότι περιβαλλοντικοί και κυρίως διατροφικοί παράγοντες θα πρέπει να παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία του ΚΠΕ. Οι παράγοντες αυτοί αλληλεπιδρώντας σε άλλοτε άλλο βαθμό με παράγοντες κληρονομικής προδιάθεσης συντελούν στον καθορισμό των ατόμων που θα αναπτύξουν αδένωμα ή καρκίνωμα<sup>47</sup>.

Στις αναπτυγμένες χώρες, λόγω της υπερκατανάλωσης ζωικών πρωτεϊνικών και λιπαρών τροφών (Πίνακας 1), της μικρής λήψης φυτικών προϊόντων, παρατηρούνται υψηλά ποσοστά εμφάνισης ΚΠΕ, συγκριτικά με άλλες χώρες που δεν ακολουθούν τις διατροφικές συνήθειες και τον τρόπο ζωής των Δυτικών χωρών<sup>48,49,50</sup>.

Οι διαιτητικές συνήθειες μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη του ΚΠΕ με διάφορους πιθανούς μηχανισμούς, όπως η μεταβολή της φυσικής χλωρίδας του εντέρου, η διαταραχή του χρόνου διάβασης του πεπτικού υλικού, η τροποποίηση του εντερο-





ηπατικού κύκλου των χολικών αλάτων. Η αυξημένη λήψη λίπους με τις τροφές προκαλεί αύξηση της έκκρισης χολικών οξέων τα οποία υπό την επίδραση της μικροβιακής χλωρίδας μετατρέπονται σε δευτερογενή χολικά οξέα και άλλα τοξικά παράγωγα, τα οποία θεωρούνται καρκινογόνα<sup>51</sup>. Η μη πρόσληψη τροφής πλούσιας σε φυτικό υπόλειμμα αυξάνει το χρόνο διάβασης του εντερικού περιεχομένου, έτσι ώστε πιθανές καρκινογόνες ουσίες, που εμπεριέχονται στις τροφές ή δημιουργούνται ή ενεργοποιούνται από τις τροφές να έρχονται σε επαφή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα με τον εντερικό βλεννογόνο<sup>52,53</sup>. Αντιθέτως, η πρόσληψη τροφών που είναι πλούσιες σε φυτικές ίνες, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία κ.λπ. (Πίνακας 2) εκτός του ότι, αυξάνοντας τον όγκο των κοπράνων, μειώνουν τον χρόνο διέλευσης των τροφών, μειώνοντας έτσι και το χρόνο επαφής των καρκινογόνων ουσιών με το βλεννογόνο δεσμεύουν επίσης τα χολικά οξέα καθιστώντας αυτά ανενεργά, ενώ μεταβάλλουν και την εντερική χλωρίδα μειώνοντας τα αναερόβια και τη δραστηριότητα των διαφόρων ενζύμων, τα οποία μέσω των χολικών οξέων πιθανόν να συμβάλλουν στην καρκινογένεση<sup>54,55,56</sup>. Υπάρχουν ενδείξεις, όπως προκύπτει από διάφορες μελέτες ότι και άλλοι διαιτητικοί παράγοντες μπορεί να παίζουν προστατευτικό ρόλο στην ανάπτυξη του ΚΠΕ, όπως το ασβέστιο, δεσμεύοντας τα χολικά οξέα, καθώς και διάφορες βιταμίνες<sup>9,57</sup>. Τελευταία αναφέρεται πιθανός προστατευτικός ρόλος της ασπιρίνης και των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων μετά από μακροχρόνια χρήση<sup>58,59,60,61</sup>. Η ασπιρίνη επενεργεί στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέως, μη επιτρέποντας τη σύνθεση των



προσταγλανδινών, οι οποίες προάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό<sup>62,63</sup>. Υπάρχει επίσης θετική συσχέτιση αλκοόλ και ιδιαίτερα μπύρας με την εμφάνιση ΚΠΕ σύμφωνα με τελευταίες μελέτες<sup>64,65,66,67,68</sup>.

Ακόμη έχει ενοχοποιηθεί για ΚΠΕ ο τρόπος μαγειρέματος των τροφών και ίσως τα χημικά πρόσθετα, ο μεγάλος αριθμός γευμάτων, η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας, και το μεγάλο μέγεθος σώματος (ανάστημα και βάρος)<sup>9,69,70,71,72,73,74</sup>. Όσον αφορά το επάγγελμα οι απόψεις είναι αντικρουόμενες. Πολλοί πιστεύουν ότι μερικές επαγγελματικές εκθέσεις όπως ξυλουργοί, εργάτες βιομηχανικών αυτοκινήτων, εργάτες μετάλλων εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα καρκίνου παχέος εντέρου. Επίσης, το κάπνισμα πούρων ή πίπας συσχετίζεται με τον καρκίνο του παχέος εντέρου ενώ το κάπνισμα σιγαρέτων δεν έχει βρεθεί να σχετίζεται. Η ιδέα ότι η αναπαραγωγή και το ορμονικό καθεστώς σχετίζονται με τη συχνότητα του καρκίνου του παχέος εντέρου εμφανίζεται για πρώτη φορά το 1969 όταν οι Fraumeni και συν. διεπίστωσαν ότι στις καλόγριες όχι μόνον οι ορμονοεξαρτώμενοι καρκίνοι αλλά και ο καρκίνος του παχέος εντέρου ήταν συχνότεροι. Αργότερα διαπιστώθηκε η υπόθεση ότι η πολυτοκία, η πρόωμη τελειόμηνη εγκυμοσύνη και η χρήση αντισυλληπτικών από του στόματος σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης ΚΠΕ που αποδόθηκε στις μεταβολές των λιπιδίων και χολικών οξέων που συμβαίνουν λόγω τροποποίησης του ορμονικού περιβάλλοντος. Πάντως το όλο θέμα της σχέσης της αναπαραγωγής και του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι πολύπλοκο και σε άλλες μελέτες που έγιναν τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα και ενίοτε αντιφατικά.



Τέλος, η κατανάλωση καφέ σχετίζεται αρνητικά με την ανάπτυξη ΚΠΕ ενώ θετική συσχέτιση αυτής διαπιστώθηκε σε ειδικούς πληθυσμούς όπως στους Μορμόνους.

Συμπεραίνεται λοιπόν, από τις πολυάριθμες επιδημιολογικές συγκριτικές, αναδρομικές και casecontrol μελέτες ότι υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι διατροφικοί και γενικότερα περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν σχέση με την εμφάνιση και ανάπτυξη του ΚΠΕ<sup>9,50,55</sup>. Η πολυπλοκότητα της διαίτας όσον αφορά τις ειδικές θρεπτικές ουσίες, το είδος και την ομάδα των τροφίμων μπορεί να αμφισβητήσει τα αποτελέσματα πολλών προαναφερθεισών επιδημιολογικών μελετών<sup>68,75,76,77,78</sup>.

Αναλυτικές διατροφικές μελέτες που γίνονται όμως με τον καλύτερο δυνατό σχεδιασμό και μεθοδολογία μας παρέχουν περισσότερα και πιο σαφή δεδομένα για την καλύτερη κατανόηση της σχέσης διαίτας και ΚΠΕ<sup>79,80</sup>.

Για το σκοπό αυτό επίσης έχουν ήδη δρομολογηθεί μεγάλες μακροχρόνιες προοπτικές μελέτες τόσο σε ελληνικά (Υγειονομική Σχολή) όσο και σε ξένα επιστημονικά κέντρα<sup>70</sup>.



**ΠΙΝΑΚΑΣ 1.**

**ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΙ Ή ΜΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΘΕΩΡΕΙΤΑΙ ΟΤΙ ΠΡΟΑΓΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΡΘΟΥ**

- Υψηλή σε λίπος διαίτα
- Υψηλή θερμιδική πρόσληψη
- Χαμηλή σε φυτικό υπόλειμμα διαίτα
- Αιθυλική αλκοόλη (μπύρα...)
- Αυξημένη πρόσληψη φθορίου
- Προσταγλανδίνες
- Τρόπος μαγειρέματος των τροφών
- Χημικά πρόσθετα
- Περιβαλλοντική ρύπανση

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2.**

**ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΙ Ή ΜΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΘΕΩΡΕΙΤΑΙ ΟΤΙ ΑΣΚΟΥΝ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΡΘΟΥ**

- Αντιοξειδωτικά (φρούτα, λαχανικά, δράση μέσω φυτικού υπολείμματος, βιταμινών, αλάτων, ιχνοστοιχείων, ισοκυανικών, ινδολών, φλαβονοειδών και τερπενίων)
- Φυτικό υπόλειμμα
- Βιταμίνες Α, C, E, φυλλικό οξύ
- Σελήνιο
- Ψευδάργυρος
- Ασβέστιο - Βιταμίνη D
- Ασπιρίνη - Μ.Σ.Α.Φ.



## ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ - ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Η κλινική εικόνα του ΚΠΕ εξαρτάται από το μέγεθος του όγκου, την εντόπισή του και το στάδιο της νόσου. Τα πρώιμα συμπτώματα είναι συνήθως αμβληχρά και χαρακτηρίζονται από ακαθόριστα κοιλιακά ενοχλήματα όπως άλγος, μετεωρισμός, ελαφρές διαταραχές των κενώσεων ή και παρουσία αίματος στα κόπρανα, που συχνά εκλαμβάνεται ως αιμορροϊδοπάθεια<sup>81,82</sup>.

Όταν ο όγκος εντοπίζεται στο δεξιό τμήμα του εντέρου λόγω της μεγάλης και ανώμαλης αγγείωσης, που χαρακτηρίζει τους καρκίνους, το πρώτο σύμπτωμα μπορεί να είναι η σιδηροπενική αναιμία ή επί μεγαλύτερης αιμορραγίας σπανιότερα βυσινόχροα ή μαύρα κόπρανα. Σε προχωρημένο στάδιο της νόσου παρατηρείται απώλεια βάρους ενώ ο ασθενής παραπονείται για αδυναμία και εύκολη κόπωση. Κατά την αντικειμενική εξέταση ψηλαφητή μάζα στο δεξιό λαγόνιο βόθρο ανευρίσκεται σε μικρό ποσοστό ασθενών. Αποφρακτικά φαινόμενα δεν παρατηρούνται λόγω του μεγάλου εύρους του αυλού στο τμήμα αυτό του εντέρου<sup>82,83,84</sup>.

Συμπτώματα και σημεία αποφράξεως παρατηρούνται όταν ο όγκος εντοπίζεται περιφερικότερα της σπληνικής καμπής. Δυσκοιλιότητα που επιμένει, λόγω του στενού αυλού και του μεγέθους ίσως του όγκου, μπορεί να οδηγήσει σε αποφρακτικό ειλεό, ενώ οι αιματηρές κενώσεις γίνονται μεγαλύτερες και συχνότερες. Σε προχωρημένο στάδιο του καρκίνου, ανεξαρτήτως εντοπίσεώς του, εκτός από την καχεξία και ανορεξία, η τοπική διήθηση ή και επέκταση του όγκου εκτός του εντερικού



τοιχώματος μπορεί να οδηγήσει σε συμπτώματα προερχόμενα από πίεση ή και απόφραξη γειτονικών προς το παχύ έντερο οργάνων και συστημάτων<sup>82,85</sup>.

Η διαγνωστική προσέγγιση του ΚΠΕ θα πρέπει να αρχίζει με τη λήψη λεπτομερούς ατομικού και οικογενειακού ιστορικού του ασθενούς με το πιθανό καρκίνο για τον εντοπισμό των ατόμων υψηλού κινδύνου. Η αντικειμενική εξέταση ελάχιστη βοήθεια προσφέρει κυρίως στα πρώιμα στάδια της νόσου. Η δακτυλική εξέταση του ορθού θα πρέπει πάντοτε να γίνεται γιατί και απλή είναι και τεράστια σημασία έχει όταν γίνεται με σωστό τρόπο (τεχνική), για τη διάγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου.

Ένα πρώτο βήμα για τη διάγνωση του ΚΠΕ μπορεί να είναι η εξέταση για την ανίχνευση αίματος στα κόπρανα και κυρίως οι νεότερες μέθοδοι ανίχνευσης αιμοσφαιρίνης με τα πλέον αξιόπιστα και υψηλά σε ποσοστό (~95%) αποτελέσματα<sup>86,87,88,89</sup>.

Ο βαριούχος υποκλυσμός με εμφύσηση αέρα και η ενδοσκόπηση του παχέος εντέρου αλληλοσυμπληρώνονται στην προσπάθεια που κάνει ο εξεταστής για τη διάγνωση του ΚΠΕ. Η ορθοσιγμοειδοσκόπηση είναι η εξέταση εκλογής, η οποία μάλιστα μπορεί να εκτελείται την ίδια ημέρα με την εκτέλεση του βαριούχου υποκλυσμού με διπλή σκιαγράφηση<sup>90,91</sup>. Από τα ευρήματα των δύο προαναφερθέντων διαγνωστικών εξετάσεων, που μπορεί να καθορίσουν την εντόπιση, το μέγεθος και τον αριθμό των όγκων, εξαρτάται, τις περισσότερες φορές, ο προγραμματισμός της διαγνωστικής ή ενδεχομένως και επεμβατικής κολονοσκόπησης<sup>92,93</sup>. Σε περίπτωση ενός ή και



δεύτερου καρκίνου η κολonosκόπηση θα καθορίσει τον τύπο της χειρουργικής επέμβασης.

Μετεγχειρητικά γίνεται ενδοσκοπικός έλεγχος της περιοχής της αναστόμωσης κάθε 6 μήνες για 2 έτη και στη συνέχεια κολonosκόπηση κάθε 3 έτη για τυχόν αποκάλυψη μετάχρονων καρκίνων σε πρώιμο στάδιο.

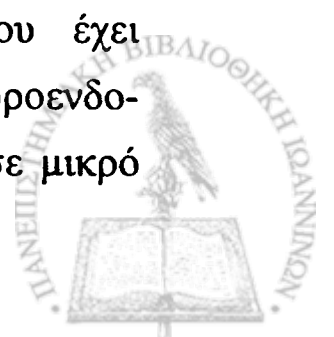
Η εξέταση εκλογής, προεγχειρητικά, που μπορεί να καθορίσει επακριβώς την τοπική διήθηση και επέκταση του όγκου πέραν του εντερικού τοιχώματος και να συμβάλλει μ' αυτόν τον τρόπο στη σταδιοποίηση, θεωρείται σήμερα η ενδοσκοπική υπερηχοτομογραφία.

Τέλος, η αξονική τομογραφία χρησιμεύει κυρίως για τη διάγνωση λεμφαδενικών και ακόμη περισσότερο για μεταστάσεις σε απομακρυσμένα όργανα.

## ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ

### ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Η πλειονότητα των καρκίνων του παχέος εντέρου είναι αδενοκαρκινώματα. Ο βαθμός της διαφοροποίησης αυτών (grade) εξαρτάται κυρίως από τα αρχιτεκτονικά χαρακτηριστικά των αδενικών στοιχείων του όγκου. Στα μέτρια διαφοροποιημένα καρκινώματα τουλάχιστον το 25% του όγκου διατάσσεται σε συμπαγείς αθροίσεις ενώ στα χαμηλής διαφοροποίησεως λιγότερο από το 25% του όγκου έχει αδενικούς σχηματισμούς. Κύτταρα Paneth και νευροενδοκρινικά κύτταρα μπορεί να υπάρχουν, αλλά συνήθως σε μικρό



αριθμό. Τα αδενοκαρκινώματα στην πλειονότητά τους ( $\approx 75\%$ ) είναι συνήθως καλής - μέτριας διαφοροποίησης<sup>94</sup>.

### ***Ειδικοί ιστολογικοί τύποι του καρκίνου του παχέος εντέρου***

#### ***1. Βλεννώδες καρκίνωμα***

Αποτελεί το 10% των καρκινωμάτων του παχέος εντέρου. Χαρακτηρίζεται από παραγωγή βλέννης σε ποσοστό  $>50\%$  του όγκου. Στον κολλοειδή τύπο έχουμε παραγωγή αφθόνου εξωκυττάριας βλέννης, ενώ στον τύπο από κύτταρα με μορφολογία "σφραγιστήρος δακτυλίου" η άθροιση της βλέννης είναι ενδοκυττάρια. Τα βλεννώδη καρκινώματα έχουν κακή πρόγνωση και είναι συχνά στις νεότερες ηλικίες. Ο τύπος από κύτταρα "σφραγιστήρος δακτυλίου" (1%) έχει την χειρότερη πρόγνωση (18% η πενταετής επιβίωση). Το βλεννώδες καρκίνωμα αναπτύσσεται συνήθως σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα, ορθοπρωκτικά συρίγγια και σε λαχνωτά αδενώματα.

#### ***2. Αδενοπλακώδες καρκίνωμα***

Είναι σπάνιο νεόπλασμα, αβέβαιης ιστογενετικής προέλευσης στο οποίο συνυπάρχουν τόσο το αδενοκαρκίνωμα όσο και το κακόηθες πλακώδες επιθήλιο. Έχει επιθετική βιολογική συμπεριφορά.

#### ***3. Καρκίνωμα με χοριοκαρκινωματώδη στοιχεία***

Τροφοβλαστική διαφοροποίηση σε κύτταρα του όγκου έχει αναφερθεί αλλά αυτό είναι εξαιρετικά σπάνιο. Ανοσοϊστοχημικά τα εν λόγω κύτταρα είναι θετικά στη χρώση για χοριακή γοναδοτροφίνη ( $\beta$ -HCG).





#### 4. Μικροαδενικό καρκίνωμα

Ο τύπος αυτός χρήζει διαφορικής διαγνώσεως από τα καρκινοειδή.

#### 5. Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα

Το αδιαφοροποίητο καρκίνωμα αναπτύσσεται είτε ως συμπαγής υπερκυτταρικός όγκος από μεγάλα κύτταρα με φυσαλλιδώδη πυρήνα, προέχον πυρήνιο και λίγες μιτώσεις, είτε ως μικροκυτταρικό καρκίνωμα όμοιο με τα cat-cell καρκινώματα του πνεύμονα.

#### 6. Καρκινοσάρκωμα - Αμιγές μαλπιγιακό καρκίνωμα : Σπάνιοι τύποι

Η σταδιοποίηση των όγκων του παχέος εντέρου είναι καθοριστική για την παρακολούθηση και την πρόγνωση των ασθενών.

Το σύστημα TNM παγκοσμίως αποδεκτό περιγράφει κατά τρόπο γενικό και αδρό τη θέση και κυρίως την εξάπλωση του όγκου.

#### Σταδιοποίηση του ΚΠΕ κατά AJCC και UICC

Στάδιο 0	:	Tis, N <sub>0</sub> , M <sub>0</sub>
Στάδιο I	:	T <sub>1</sub> , N <sub>0</sub> , M <sub>0</sub> or T <sub>2</sub> , N <sub>0</sub> , M <sub>0</sub>
Στάδιο II	:	T <sub>2</sub> , N <sub>0</sub> , M <sub>0</sub> or T <sub>4</sub> , N <sub>0</sub> , M <sub>0</sub>
Στάδιο III	:	Tany, N <sub>1</sub> , M <sub>0</sub> or Tany, N <sub>2</sub> , N <sub>3</sub> , M <sub>0</sub>
Στάδιο IV	:	Tany, Nany, M <sub>1</sub>



### Σταδιοποίηση κατά *Dukes* (1928)

- Στάδιο A : Ο όγκος περιορίζεται στο εντερικό τοίχωμα.
- Στάδιο B : Επέκταση του όγκου στους ιστούς εκτός του εντερικού τοιχώματος αλλά χωρίς μεταστάσεις στους επιχώριους λεμφαδένες.
- Στάδιο C : Μεταστάσεις στους επιχώριους λεμφαδένες.  
Τροποποίηση του σταδίου C (1935).
- Στάδιο C<sub>1</sub> : Μεταστάσεις στους επιχώριους λεμφαδένες.
- Στάδιο C<sub>2</sub> : Μεταστάσεις σε απομακρυσμένους λεμφαδένες.

### Σταδιοποίηση κατά *Astler και Coller*

- Στάδιο A : Ο όγκος περιορίζεται στον βλεννογόνο.
- Στάδιο B<sub>1</sub> : Επέκταση του όγκου μέχρι τη μυϊκή στοιβάδα.
- Στάδιο B<sub>2</sub> : Ο όγκος διαπερνά τη μυϊκή στοιβάδα.
- Στάδιο C<sub>1</sub> : Ο όγκος μεθίσταται στους λεμφαδένες αλλά παραμένει ακόμη εντός του εντερικού τοιχώματος.
- Στάδιο C<sub>2</sub> : Ο όγκος μεθίσταται στους λεμφαδένες και σε ιστούς πέραν του εντερικού τοιχώματος.



Σταδιοποίηση κατά Jass

Παθολογικές μεταβλητές	Score	
Όγκος εντός του εντερικού τοιχώματος		
Ναι	0	
Όχι	1	
Διηθημένα όρια		
Ναι	0	
Όχι	1	
Αριθμός λεμφαδένων με μεταστάσεις		
0	0	
1-4	1	
>4	2	
Λεμφοκυτταρική διήθηση		
Ναι	0	
Όχι	1	
<b>Ομάδα</b>	<b>Ολικό score</b>	<b>Πενταετής επιβίωση (%)</b>
I	0-1	94
II	2	83
III	3	56
IV	4-5	27

Η πληθώρα των διαφόρων συστημάτων ταξινόμησης που έχουν προταθεί και η άλλοτε άλλη χρήση τους από τα διάφορα κέντρα έχει επιφέρει μια μικρή σύγχυση. Το πλεονέκτημα των ταξινομήσεων κατά Jass και κατά AJCC και UICC είναι ότι ασχολούνται και με τον αριθμό των διηθημένων λεμφαδένων σε αντίθεση με τις δύο άλλες. Ωστόσο, οι περισσότερες εργασίες φαίνεται να βασίζονται τα αποτελέσματά τους στην ταξινόμηση



κατά Dukes με χρήση της υποομαδοποίησης του σταδίου C του συστήματος ταξινόμησης κατά Astler - Coller.

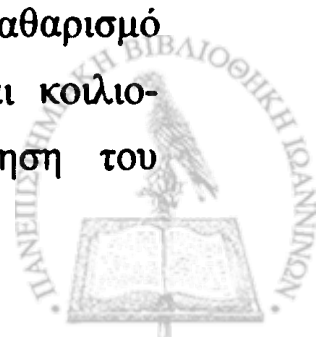
Ο ιστολογικός τύπος του όγκου, η διαφοροποίηση, η σταδιοποίηση, η ύπαρξη ή όχι διηθημένων αγγείων και η καθαρότητα των χειρουργικών ορίων εκτομής έχουν πολύ μεγάλη σημασία για τη διάγνωση, θεραπευτική αντιμετώπιση και πρόγνωση της νόσου.

## **ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

Οι μέθοδοι της σύγχρονης αντιμετώπισης του ΚΠΕ είναι η χειρουργική επέμβαση, η ακτινοθεραπεία, η χημειοθεραπεία και προσφάτως η ανοσο-θεραπεία.

Το είδος της θεραπείας και η στρατηγική που θα ακολουθηθεί εξαρτάται από την εντόπιση του όγκου και το στάδιο της νόσου<sup>95</sup>.

Η θεραπεία εκλογής για τους καρκίνους που περιορίζονται στο εντερικό τοίχωμα είναι η χειρουργική επέμβαση, η οποία περιλαμβάνει την εκτομή του πάσχοντος τμήματος του εντέρου με το συνοδό τμήμα του μεσοκόλου και αποκατάσταση της συνέχειας του εντέρου με τελικο-τελική αναστόμωση<sup>96,98</sup>. Στόχος της χειρουργικής θεραπείας του ΚΠΕ είναι η εξαίρεση της πρωτοπα-θούς εστίας επί υγιούς ιστού σε στάδιο κατά το δυνατό πρωϊμότερο. Η επέμβαση διασφαλίζεται με τη σύγχρονη αφαίρεση φλεβικών στελεχών και το λεμφαδενικό καθαρισμό της περιοχής. Στον καρκίνο του ορθού εφαρμόζεται κοιλιο-περινεϊκή ή χαμηλή πρόσθια εκτομή με διατήρηση του



σφικκτήρα. Θεραπευτική εγχείρηση πραγματοποιείται περίπου στο 60% των περιπτώσεων ΚΠΕ.

Την τελευταία τριακονταετία το προσδόκιμο επιβίωσης των πασχόντων από ΚΠΕ παρέμεινε στάσιμο και μόνο τα τελευταία χρόνια υπάρχουν ενδείξεις παράτασης της επιβίωσης με το συνδυασμό χειρουργικής επέμβασης και χημειοθεραπείας (5FU και Λεβαμιζόλη ή φυλλικό οξύ ή IFNα).

Με τον ανωτέρω συνδυασμό επιτυγχάνεται μείωση των υποτροπών κατά 40% και της θνησιμότητας κατά 30% σε ασθενείς σταδίου C<sup>98,99</sup>.

Επίσης, ο συνδυασμός της χειρουργικής θεραπείας με ακτινοθεραπεία ενδείκνυται στις εντοπίσεις του καρκίνου στο ορθό και το δακτύλιο του πρωκτού με καλά αποτελέσματα στη συνολική επιβίωση των ασθενών. Σε ορισμένες πάντως περιπτώσεις καρκίνου του ορθού προεγχειρητικά ή μετεγχειρητικά εφαρμόζεται ακτινοθεραπεία σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία.

Για την αντιμετώπιση των μεταστάσεων στο ήπαρ από πρωτοπαθές καρκίνωμα παχέος εντέρου ο ρόλος ανήκει στις μελλοντικές και πολλά υποσχόμενες ανοσοθεραπείες με μονοκλωνικά αντισώματα (17-1A) ή και άλλους παράγοντες (ιντερφερόνες, ιντερλευκίνες), με σκοπό την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή κατά του καρκίνου<sup>100,101</sup>. Σε ανεγχείρητους καρκίνους εφαρμόζεται παρηγορητική θεραπεία με χρήση laser ή τοποθέτηση stents ή τέλος παρακαμπτήριες επεμβάσεις.

Η παρακολούθηση των ασθενών μετά κολεκτομή για ΚΠΕ πρέπει να γίνεται σε τακτά χρονικά διαστήματα για έλεγχο



συμπτωμάτων υποτροπής ή μετεγχειρητικών επιπλοκών. Μετεγχειρητικά, γίνεται ενδοσκοπικός έλεγχος της περιοχής της αναστόμωσης κάθε 6 μήνες για 2 έτη και στη συνέχεια κολονοσκόπηση κάθε 3 έτη για τυχόν αποκάλυψη μετάχρονων καρκίνων σε πρώιμο στάδιο.

Σε χαμηλή πρόσθια εκτομή με διατήρηση του σφιγκτήρα για καρκίνο του ορθού συνιστάται άκαμπτη ή εύκαμπτη σιγμοειδοσκόπηση κάθε 3-6 μήνες για τα δύο πρώτα χρόνια.

Η παρακολούθηση των συγγενών πασχόντων από ΚΠΕ φαίνεται στους πίνακες 3 και 4.

<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 3.</b>			
<b>ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΥΓΓΕΝΩΝ ΠΑΣΧΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΚΠΕ</b>			
<b>Κατηγορία</b>	<b>Εξέταση</b>	<b>Έναρξη</b>	<b>Συχνότητα</b>
Ένας 1ου βαθ. συγγ. με ΚΠΕ	FS	35-40	Κάθε 5 έτη
	FOBT	35-40	Ετησίως
Ένας 1ου βαθ. συγγ. με ΚΠΕ < 55 ετ.	Κολον.	50	Κάθε 5 έτη
	FOBT	35-40	Ετησίως
Δύο 1ου βαθ. συγγ. με ΚΠΕ	Κολον.	35-40	Κάθε 5 έτη
	FOBT	35-40	Ετησίως



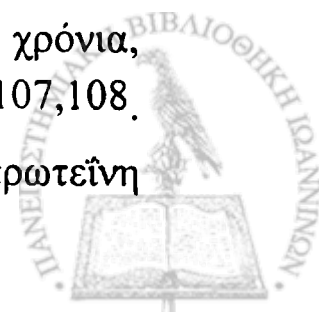
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.			
ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΥΓΓΕΝΩΝ ΠΑΣΧΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΚΠΕ			
Κατηγορία	Εξέταση	Έναρξη	Συχνότητα
3 ή περισ. 1ου βαθμ.συγγ. με ΚΠΕ	Κολον.	35-40	Κάθε 2-3 χρ.
1 ή περισ. 2ου βαθ. συγγ. με ΚΠΕ	FS FOBT	50 50	Κάθε 5 χρ. Ετησίως
1 1ου και 2ου βαθ. συγγ. με ΚΠΕ	Κολον. FOBT	50 50	Κάθε 3-5 χρ. Ετησίως

## ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

### *α) Πυρηνικό Αντιγόνο Πολλαπλασιαζομένων Κυττάρων (PCNA)*

Το Πυρηνικό Αντιγόνο Πολλαπλασιαζομένων Κυττάρων (PCNA) είναι μία όξινη πρωτεΐνη του πυρήνα των κυττάρων μοριακού βάρους 36 KD και ισοηλεκτρικού σημείου 4.8. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της πρωτεΐνης αυτής είναι περίπου 20 ώρες<sup>102,103</sup>.

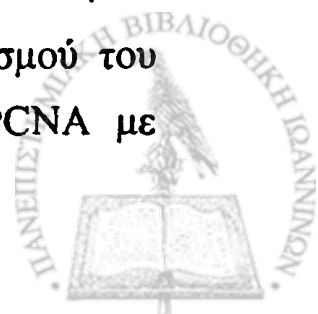
Για πρώτη φορά ταυτοποιήθηκε το 1978 με την μέθοδο του ανοσοφθορισμού σε διεγερμένα λεμφοκύτταρα και συνδέθηκε άμεσα με τον κυτταρικό κύκλο των κυττάρων, συγκεκριμένα δε με το τέλος της φάσης G1 και τη φάση S συνθέσεως του DNA<sup>104,105,106</sup>. Το PCNA ταυτίζεται με μία πρωτεΐνη του κυτταρικού κύκλου που ταυτοποιήθηκε πριν μερικά χρόνια, περιγράφηκε από τον Brano και ονομάσθηκε κυκλίνη<sup>107,108</sup>. Επίσης, το PCNA έχει αποδειχθεί ότι είναι βοηθητική πρωτεΐνη



της DNA πολυμεράσης-δ, που ως γνωστόν έχει σπουδαίο ρόλο στην αντιγραφή του DNA και επομένως απαραίτητο στοιχείο στη σύνθεση του DNA. Μεταξύ των πρωτεϊνών που η έκφρασή τους συνδέεται με τον κυτταρικό κύκλο είναι και η κυκλίνη που κωδικοποιείται από το ογκογονίδιο c-myc. Η κυκλίνη εκφράζεται στα κύτταρα σε χρόνο ενωρίτερο από εκείνο που εκφράζεται η PCNA/κυκλίνη<sup>109,110,111,112</sup>. Επί πλέον η έκφραση της PCNA/κυκλίνης είναι παρόμοια με την έκφραση των προϊόντων του ογκογονιδίου c-myc και του κατασταλτικού γονιδίου p53. Το 1987 κλωνοποιήθηκε το γονίδιο του PCNA στον άνθρωπο, διαθέτει έξι εξώνια και αποτελείται από 4.961 ζεύγη βάσεων<sup>112,113</sup>. Το γονίδιο μεταγράφεται σε ικανό βαθμό τόσο στα ηρεμούντα κύτταρα όσο και στα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα. Η πρωτεΐνη του γονιδίου του PCNA βρίσκεται μέσα στο κύτταρο σε πολυμερή μορφή και η σύνθεσή του συνδέεται με την κατάσταση πολλαπλασιασμού του κυττάρου<sup>114</sup>. Διάφορες μελέτες σχετικές με την κατανομή της πρωτεΐνης PCNA κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου αποκάλυψαν δραματικές αλλαγές όσον αφορά στην πυρηνική της εντόπιση κατά τη διάρκεια της φάσης S του κύκλου.

Μέχρι σήμερα έχουν γίνει πολλές μελέτες κυρίως σε υλικό παραφίνης με τη χρήση αντισώματος PC-10 όπως σε καρκινώματα στομάχου, παχέος εντέρου, παγκρέατος, νεφρού, ενδοτραχήλου, πνεύμονος, μαστού, σε στρωματικούς όγκους του γαστρεντερικού σωλήνος, αιμαγγειοπερικυττώματα, σε παθήσεις του αιμοποιητικού συστήματος κ.ά.<sup>115,116,117,118,119,120</sup>.

Στις περισσότερες μελέτες έγινε προσπάθεια συσχέτισμού του ποσοστού των θετικών χρωσμένων κυττάρων στο PCNA με





άλλες παραμέτρους όπως το βαθμό διαφοροποίησεως, το βάθος διηθήσεως, την ύπαρξη ή όχι διηθημένων λεμφαδένων και την πρόγνωση<sup>117,118</sup>. Δυνατή όμως θεωρείται η αξιοποίησή του και ως ανεξάρτητου δείκτη καθορισμού του βαθμού ιστολογικής κακοηθείας και ως τέτοιος χρησιμοποιήθηκε στα μη Hodgkin λεμφώματα, στα λεμφώματα του γαστρεντερικού σωλήνος, στα καρκινώματα της ουροδόχου κύστεως, στα αιμάγγειο-πерикуττώματα και στους στρωματικούς όγκους του γαστρεντερικού σωλήνα<sup>115,116,121,122</sup>. Έχει επίσης αναφερθεί ότι σε αρκετά νεοπλάσματα το ποσοστό θετικών στο PCNA κυττάρων σχετίζεται με την SPF του κυτταρικού κύκλου και είναι σημαντικά υψηλότερο σε ανευπλοϊδικούς όγκους από ότι σε διπλοϊδικούς όγκους.

Την προγνωστική αξία όμως του εν λόγω δείκτη αμφισβητούν ορισμένοι συγγραφείς λόγω του ότι χρώννυνται θετικά κύτταρα μη ευρισκόμενα στην S φάση του κυτταρικού κύκλου με αποτέλεσμα υπερεκτίμηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, η δε ένταση της χρώσης επηρεάζεται σημαντικά από τον τρόπο και τον χρόνο μονιμοποίησεως του υλικού και από την ξήρανσή του κατά την επίστρωσή του στο πλακίδιο<sup>113,123,124,125</sup>. Είναι γνωστό ότι για να εκφρασθεί το PCNA πρέπει να προηγηθούν άριστες συνθήκες μονιμοποίησεως η οποία δεν πρέπει σε καμία περίπτωση να υπερβαίνει τις 48 ώρες<sup>121,123</sup>.

Για την ερμηνεία της χρώσης κυττάρων μη ευρισκομένων στην S φάση υποστηρίχθηκε ότι το PC10 αναγνωρίζει το αυτόχθον κυτταρικό PCNA το οποίο ανευρίσκεται σε όλες τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου ενώ ο υψηλότερος βαθμός συνθέσεώς του



παρατηρείται όπως προαναφέρθηκε διαρκούς της S φάσης του κύκλου<sup>113,121</sup>.

### **β) Ki67**

Το Ki67 πυρηνικό αντιγόνο είναι μία μη ιστονική πρωτεΐνη με περιχρωμοσωμιακή εντόπιση κατά τη διάρκεια της μιτώσεως. εξαιρετικά ευαίσθητη στις πρωτεάσες με μοριακό βάρος 345 KD και 395 KD. Υψηλή περιεκτικότητα Ki67 αντιγόνου διεπιστώθει στο πυρήνιο όπου φαίνεται να σχετίζεται με το πυκνό ινιδικό συστατικό του πυρηνίου στο οποίο λαμβάνει χώρα η μεταγραφή του ριβοσωμιακού RNA (rRNA)<sup>126,127,128</sup>. Το Ki67 εκφράζεται από τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα κατά τις G1, S, G2 και M φάσεις του κυτταρικού κύκλου, αρχίζοντας από το μέσο της G1 και κορυφώνεται στις G2 και M φάσεις. Κύτταρα των φάσεων G0 ή της αρχής της G1, δεν εκφράζουν το αντιγόνο<sup>129</sup>.

Το Ki67 εκφράζεται σε αρκετά νεοπλάσματα όπως λεμφώματα, καρκίνο μαστού, αδenoκαρκίνωμα πνεύμονος, παχέος εντέρου, καρκινώματα ουροδόχου κύστεως, προστάτου, τραχήλου, ηπατοκυτταρικά καρκινώματα, σεμινώματα, μηνιγγιώματα και σε όγκους μαλακών μορίων<sup>127,128,130,131,132, 133,134</sup>.

Το Ki67 έχει δείξει καλή συσχέτιση με άλλους πολλαπλασιαστικούς δείκτες όπως είναι η σήμανση με τριτιωμένη θυμιδίνη, η βρωμοδεοξουριδίνη, οι AgNORs και η κυτταρομετρία ροής. Έχει επίσης συσχετισθεί και με κλινικούς και ιστολογικούς παράγοντες διαφόρων νεοπλασμάτων. Προκειμένου δε περί καρκινωμάτων του μαστού και του παχέος εντέρου δεν φαίνεται να σχετίζεται με τον βαθμό ιστολογικής κακοηθείας, γεγονός που μπορεί να εξηγηθεί από την



παρατηρούμενη ετερογένεια αυτών των όγκων. Εν αντιθέσει προς τα ανωτέρω αρκετές μελέτες δείχνουν μια σταθερή συσχέτιση μεταξύ του Ki67 και του ιστολογικού βαθμού κακοηθείας (grade) σε μη Hodgkin λεμφώματα. Αναφορικά με την προγνωστική αξία του εν λόγω δείκτη πρέπει να αναφερθεί η παρατήρηση ότι λεμφώματα χαμηλής κακοηθείας με έντονη έκφραση Ki67 έχουν επιβαρυσμένη πρόγνωση ενώ αντίθετα σε λεμφώματα υψηλής κακοηθείας με έντονη Ki67 έκφραση η πρόγνωση επηρεάζεται ευνοϊκά<sup>100</sup>.

### ΧΡΩΜΟΓΡΑΝΙΝΗ

Οι χρωμογρανίνες είναι μια ομάδα όξινων πρωτεϊνών ποικίλου μεγέθους, οι οποίες αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των διαλυτών πρωτεϊνών των εκκριτικών κοκκίων του μυελού των επινεφριδίων. Το μεγαλύτερο πολυπεπτίδιο είναι η χρωμογρανίνη-A μοριακού βάρους 75 KD η οποία αποτελεί και την πλειονότητα αυτών<sup>135</sup>.

Αντισώματα στη χρωμογρανίνη A, έχουν χρησιμοποιηθεί στη διάγνωση ενδοκρινών και νευροενδοκρινικών όγκων, όγκων από C-κύτταρα του θυρεοειδούς, νεοπλασμάτων παραθυρεοειδών αδένων, νησιδίων του παγκρέατος, προσθίου λοβού της υπόφυσης κ.ά.<sup>136,137,138</sup>.



## ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν :

1. Η ταξινόμηση 100 περιπτώσεων αδenoκαρκινώματος παχέος εντέρου ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, το μέγεθος και τοπογραφία του όγκου, την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων, την ύπαρξη ή όχι λεμφοπλασματοκυτταρικής διηθήσεως στον όγκο, την νέκρωση, το βάθος διήθησης του όγκου και την επιβίωση.
2. Η ανοσοϊστοχημική μελέτη της εκφράσεως των δεικτών κυτταρικού πολλαπλασιασμού PCNA και Ki67 και του νευροενδοκρινικού δείκτη χρωμογρανίνης-A 100 αδenoκαρκινωμάτων παχέος εντέρου και η συσχέτιση της εκφράσεως με : φύλο, ηλικία, τοπογραφία και μέγεθος όγκου, ύπαρξη νεκρώσεως, λεμφοπλασματοκυτταρικής διηθήσεως, βαθμό διαφορο-ποιήσεως, διηθητική ανάπτυξη, ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων και επιβίωση.
3. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων μας με τα δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας και η συγκριτική μελέτη των δεικτών αυτών για την ενδεχόμενη προγνωστική ή και διαγνωστική αξία τους.



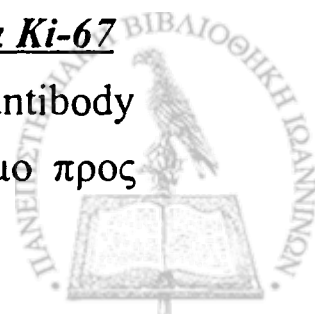
## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το υλικό μας αποτέλεσαν 100 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων παχέος εντέρου από κολεκτομές, οι οποίες εξετάσθηκαν στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Τζανείου Νοσοκομείου Πειραιά τη χρονική περίοδο 1980-1982. Τα περιστατικά αφορούσαν 58 άνδρες και 42 γυναίκες ηλικίας από 33 έως 85 ετών (Μ.Τ.= 68.7). Η μέγιστη διάμετρος του όγκου ήταν από 1.2 - 14 εκ. 11 περιπτώσεις ήταν άνωτέρας, 82 μετρίας και 7 χαμηλής διαφοροποίησης. Σε 22 περιπτώσεις ο όγκος παρουσίαζε εστίες νεκρώσεως και σε 52 συνοδεύονταν από λεμφοπλασματοκυτταρικές φλεγμονώδεις διηθήσεις. Σε 33 περιπτώσεις υπήρχαν λεμφαδενικές μεταστάσεις. 16 περιπτώσεις εντοπίζονταν στο τυφλό, 2 στο ανιόν, 9 στο εγκάρσιο, 5 στο κατιόν, 48 στο σιγμοειδές και 20 στο ορθό. Το νεόπλασμα διηθούσε όλο το εντερικό τοίχωμα σε 88 περιπτώσεις ενώ σε 8 περιπτώσεις διηθούσε μέχρι και τον μυϊκό χιτώνα και σε 4 περιπτώσεις εντοπίζονταν στον υποβλεννογόνιο χιτώνα (πίν. 5). Από κάθε περίπτωση ελήφθησαν τιμές πάχους 5 μm από κύβους παραφίνης όπου περιεκλείετο ικανή ποσότης νεοπλασματικής μάζας. Η μέθοδος της ανοσοϊστοχημικής χρώσης για τον κάθε αντιορό δίδεται παρακάτω.

#### α. Μέθοδος ανοσοϊστοχημικής χρώσης για το αντίσωμα Ki-67

Ο αντιορός που χρησιμοποιήθηκε, ο Mouse monoclonal antibody Ki-67 με κωδικό PR0224 σε φυαλίδιο των 5 ml έτοιμο προς



χρήση ήταν της Εταιρείας Ylem Avezzano/Italy. Η χρώση έγινε με την ακόλουθη διαδικασία :

1. Οι ιστοτομές απλώθηκαν σε υδατόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας (μικρότερης των 60°C) και επιστρώθηκαν σε θετικά ιονισμένα πλακίδια τα οποία τοποθετήθηκαν σε κλίβανο 40° θερμοκρασίας 24 ώρες για να στεγνώσουν.
2. Ακολούθησε η αποπαραφίνωση των ιστοτομών σε ξυλόλη και η κατιούσα ενυδάτωση σε σειρά οιοπνευμάτων αρχίζοντας από 100° μέχρι και 50°. Κατόπιν αυτές εκπλύθηκαν με απεσταγμένο νερό και τοποθετήθηκαν στο PBS (Phosphate Buffer Saline) για 5 λεπτά.
3. Μέσα σε ειδικά δοχεία φούρνου μικροκυμάτων προθερμάνθηκαν σε μέγιστη θερμοκρασία το Citrate Buffer και απεσταγμένο νερό.
4. Οι ιστοτομές τοποθετήθηκαν μέσα στο καυτό Buffer και ακολούθησε η διεργασία του φούρνου μικροκυμάτων για 15 λεπτά.
5. Οι ιστοτομές αφήνονται εκτός φούρνου για 20 λεπτά ώστε να επανέλθει ο ιστός σταδιακά σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Τοποθέτηση στο απεσταγμένο νερό για 5 λεπτά.
7. Οι ιστοτομές τοποθετήθηκαν σε διάλυμα Buffer (PBS) για 5 λεπτά.
8. Οι ιστοτομές καλύφθηκαν με το PBA για 10 λεπτά.
9. Ακολούθησε η προσθήκη του πρωτογενούς ειδικού αντισώματος (Mouse monoclonal antibody Ki-67) για 75 λεπτά.
10. Εκπλήθηκαν οι ιστοτομές με Buffer (PBS) για 5 λεπτά.



11. Οι ιστοτομές καλύφθηκαν με το δευτερογενές πολυδύναμο αντίσωμα για 30 λεπτά.
12. Εκπλύθηκαν οι ιστοτομές με buffer (PBS) για 5 λεπτά.
13. Ακολούθησε η προσθήκη του ανοσοσυμπλέγματος στρεπταβιδίνη - αλκαλική φωσφατάση για 30 λεπτά.
14. Εκπλήθηκαν οι τομές με buffer (PBS) για 5 λεπτά.
15. Προστέθηκε ο χρωμογόνος παράγων (fast-red) για 15 λεπτά.
16. Έκπλυση με buffer για 6 λεπτά.
17. Ακολούθησε η χρώση των ιστοτομών με αιματοξυλίνη για 1 λεπτό.
18. Έκπλυση με νερό βρύσης.
19. Οι ιστοτομές στη συνέχεια αφυδατώθηκαν σε ανιόντα οινόπνευμα. Ακολούθησε η διαύγαση σε ξυλόλη και ετοποθετήθηκαν οι καλυπτρίδες.

### β. Μέθοδος ανοσοϊστοχημικής χρώσης για το αντίσωμα PCNA

Ο αντιορός που χρησιμοποιήθηκε, ο Mouse monoclonal antibody PCNA με κωδικό PR0223 σε φυαλίδιο των 5 ml έτοιμο προς χρήση ήταν της Εταιρείας Ylem Avezzano/Italy. Η χρώση έγινε με την ακόλουθη διαδικασία :

Βήματα 1 έως 7 όπως προηγουμένως.

8. Οι ιστοτομές επώασθηκαν σε διάλυμα 5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> επί 20 λεπτά εντός σκοτεινού θαλάμου για την εξουδετέρωση της ενδογενούς υπεροξειδάσης.
9. Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό για 5 λεπτά.
10. Έκπλυση με buffer (PBS) για 5 λεπτά.
11. Οι ιστοτομές καλύφθηκαν με το PBA για 10 λεπτά.



Ακολούθησε η προσθήκη του πρωτογενούς ειδικού αντισώματος (mouse monoclonal antibody PCNA) για 75 λεπτά.

1. Εκπλύθηκαν οι ιστοτομές με buffer (PBS) για 5 λεπτά.
2. Οι ιστοτομές εκαλύφθηκαν με το δευτερογενές πολυδύναμο αντίσωμα για 30 λεπτά.
3. Εκπλύθηκαν οι ιστοτομές με buffer (PBS) για 5 λεπτά.
4. Ακολούθησε η προσθήκη του ανοσοσυμπλέγματος στρεπταβιδίνη-υπεροξειδάση για 30 λεπτά.
5. Εκπλύθηκαν οι τομές με buffer (PBS) για 5 λεπτά.
6. Προστέθηκε ο χρωμογόνος παράγων (DAB) για 15 λεπτά.
7. Έκπλυση με buffer για 5 λεπτά.
8. Ακολούθησε η χρώση των ιστοτομών με αιματοξυλίνη για 1 λεπτό.
9. Έκπλυση με νερό βρύσης.
10. Οι ιστοτομές στη συνέχεια αφυδατώθηκαν σε ανιόντα οινόπνευμα. Ακολούθησε η διαύγαση σε ξυλόλη και ετοποθετήθηκαν οι καλυπτρίδες.

### γ. Μέθοδος ανοσοϊστοχημικής χρώσης για το αντίσωμα χρωμογρανίνη

Ο αντιορός που χρησιμοποιήθηκε, η μονοκλωνική χρωμογρανίνη με κωδικό LK2H10 σε φυαλίδιο έτοιμο προς χρήση ήταν της εταιρείας IMMUNON.

Η ανωτέρω χρώση έγινε με τη μέθοδο στρεπταβιδίνης-υπεροξειδάσης όπως περιγράφεται στη χρώση για PCNA χωρίς όμως τη διεργασία του φούρνου.





Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του ανοσοϊστοχημικού ελέγχου

Για την εκτίμηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του κάθε δείκτη αξιολογήθηκε η εκατοστιαία αναλογία των θετικώς χρωσθέντων νεοπλασματικών κυττάρων κάθε περιστατικού. Για την εξαγωγή του εκατοστιαίου ποσοστού μετρήθηκαν σε κάθε περίπτωση 1000 κακοήθη κύτταρα σε τυχαία οπτικά πεδία μεγάλης μεγέθυνσης και οι περιπτώσεις μας ταξινομήθηκαν ανάλογα σε 6 κατηγορίες : >76% (6), μεταξύ 51%-75% (5), μεταξύ 26%-50% (4), μεταξύ 11%-25% (3), μεταξύ 1%-10% (2) και αρνητικό (1).

Ακολούθως η ανοσοϊστοχημική έκφραση των ανωτέρω δεικτών συσχετίστηκε με τις ακόλουθες παραμέτρους : φύλο, ηλικία, τοπογραφία, μέγεθος όγκου, ύπαρξη νέκρωσης, λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση στον όγκο, διηθητική ανάπτυξη, ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων, βαθμό διαφοροποίησης και επιβίωση.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων μας έγινε σε δύο επίπεδα :

α) Συσχέτιση του κάθε δείκτη (Ki-67, PCNA και χρωμογρανίνη) ξεχωριστά με τις ανωτέρω παραμέτρους. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε το test ανεξαρτησίας  $\chi^2$ . β) Σύγκριση των ποσοστών έκφρασης των δεικτών PCNA και Ki67 μεταξύ τους. Εδώ εφαρμόστηκε το “τεστ σημαντικότητας της διαφοράς των μέσων τιμών”.



<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 5.</b>			
<b>ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ 100 ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΑΔΕΝΟΣΑ ΠΑΧΕΟΣ</b>			
<b>ΕΝΤΕΡΟΥ</b>			
<b>Αριθμ. περιστατικών</b>		<b>Αριθμός περιστατικών</b>	
<b>Φύλο</b>		<b>Λεμφοκυτταροπλασματική διήθηση</b>	
Αντρες	58	0	48
Γυναίκες	42	+	52
<b>Διαφοροποίηση</b>		<b>Βάθος διήθησης</b>	
Καλή	11	Υποβλενογόνου	4
Μέτρια	82	Μυϊκού	8
Χαμηλή	7	Ορογόνου	88
<b>Τοπογραφία</b>		<b>Νέκρωση</b>	
Τυφλό	16	0	78
Αιόν	2	+	22
Εγκάρσιο	9	<b>Ηλικία</b>	
Κατιόν	5	31 - 40	3
Σιγμοειδές	48	41 - 50	7
Ορθό	20	51 - 60	15
<b>Μεγίστη</b>		61 - 70	36
<b>διάμετρος</b>			
≤ 2.5 εκ.	4	71 - 80	25
2.6 - 5 εκ.	46	81 - 90	14
5.1 - 7.5 εκ.	32	<b>Επιβίωση</b>	
7.6 - 10 εκ.	14	1 έτος	7
> 10 εκ.	4	1-3 έτη	22
<b>Λεμφαδένες</b>		3-5 έτη	26
-	67	5-10 έτη	31
+	33	> 10 έτη	14



## Α Π Ο Τ Ε Λ Ε Σ Μ Α Τ Α

### *ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ*

### *ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ (Πίνακας 5)*

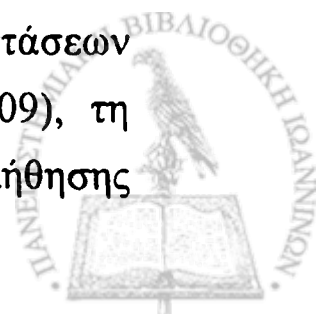
Οι 82 από τους 100 νεοπλασματικούς όγκους του παχέος εντέρου ήταν μετρίας διαφοροποίησης. Συνηθέστερα οι όγκοι εντοπιζόνταν στο σιγμοειδές (46 περιπτώσεις) και στο ορθό (20 περιπτώσεις). Στο 46% των περιπτώσεων η μεγίστη διάμετρος κυμαινόταν μεταξύ 2.6 - 5 εκ., ενώ μόνο 4 όγκοι είχαν διάμετρο μεγαλύτερη από 10 εκ. Η μέση ηλικία εμφάνισης του καρκίνου του παχέος εντέρου ήταν τα 68.7 έτη και στο 88% των περιπτώσεων διηθούσε όλο το εντερικό τοίχωμα. Η πενταετής επιβίωση στο υλικό μας ανήρχετο στο 45%.

### *ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ*

#### Χρωμογρανίνη

Η χρωμογρανίνη ανιχνεύθηκε σε 16 από τα 100 αδενοκαρκινώματα που εξετάσθηκαν. Το αποτέλεσμα της χρώσεως ήταν πολύ ικανοποιητικό. Η χρωστική αντίδραση ήταν κυτταροπλασματική και ορισμένες φορές λεπτοκοκκιώδης (Φωτ. 1). Σ' όλα τα περιστατικά που ανιχνεύθηκε η χρωμογρανίνη το ποσοστό των θετικώς χρωσθέντων νεοπλασματικών κυττάρων κυμαινόταν από 1% έως 10%.

Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της χρωμογρανίνης με το φύλο ( $p=0.3$ ), την ύπαρξη λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης ( $p=0.6$ ), την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών καταστάσεων ( $p=0.9$ ), την ηλικία ( $p=0.056$ ), την τοπογραφία ( $p=0.09$ ), τη μεγίστη διάμετρο του όγκου ( $p=0.07$ ), το βάθος διήθησης



( $p=0.2$ ) και το βαθμό διαφοροποίησης ( $p=0.7$ ) (Πίνακας 6, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15).

Αντιθέτως παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της έκφρασης της χρωμογρανίνης με την ύπαρξη νέκρωσης ( $p=0.008 < 0.05$ ) και με την επιβίωση ( $p < 0.009$ ) (Πίνακας 8, 13).

<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 6.</b>			
<b>ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟ ΦΥΛΟ</b>			
<b>Χρωμογρανίνη</b>			
<b>Φύλο</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
Άνδρες	8	50	58
Γυναίκες	8	34	42
Σύνολο	16	84	100

<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 7.</b>			
<b>ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΥΠΑΡΞΗ</b>			
<b>ΛΕΜΦΟΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΗΘΗΣΗΣ</b>			
<b>Χρωμογρανίνη</b>			
	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
ΝΑΙ	8	44	52
ΟΧΙ	8	40	48
Σύνολο	16	84	100

<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 8.</b>			
<b>ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΥΠΑΡΞΗ ΝΕΚΡΩΣΗΣ</b>			
<b>Χρωμογρανίνη</b>			
<b>Νέκρωση</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
ΝΑΙ	7	15	22
ΟΧΙ	9	69	78
Σύνολο	16	84	100



<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 9.</b>			
<b>ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΥΠΑΡΞΗ</b>			
<b>ΛΕΜΦΑΔΕΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΩΝ</b>			
<b>Χρωμογρανίνη</b>			
	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
<b>ΝΑΙ</b>	5	28	33
<b>ΟΧΙ</b>	11	56	67
<b>Σύνολο</b>	16	84	100

<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 10.</b>			
<b>ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ</b>			
<b>Χρωμογρανίνη</b>			
<b>Ηλικία</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
31 - 40	1	2	3
41 - 50	2	5	7
51 - 60	1	14	15
61 - 70	7	29	36
71 - 80	4	21	25
81 - 90	1	13	14
<b>Σύνολο</b>	16	84	100



**ΠΙΝΑΚΑΣ 11.  
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΤΟΠΟΓΡΑΦΙΑ**

<b>Χρωμογρανίνη</b>			
<b>Τοπογραφία</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
Τυφλό	3	13	16
Ανιόν	0	2	2
Εγκάρσιο	4	5	9
Κατιόν	1	4	5
Σιγμοειδές	7	41	48
Ορθό	1	19	20
<b>Σύνολο</b>	<b>16</b>	<b>84</b>	<b>100</b>

**ΠΙΝΑΚΑΣ 12.  
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ Μ. ΔΙΑΜΕΤΡΟ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ**

<b>Χρωμογρανίνη</b>			
<b>Μ.Δ. Όγκου</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
≤ 2.5 εκ.	0	4	4
2.6 - 5 εκ.	10	36	46
5.1 - 7.5 εκ.	5	27	32
7.6 - 10 εκ.	1	13	14
> 10 εκ.	0	4	4
<b>Σύνολο</b>	<b>16</b>	<b>84</b>	<b>100</b>



**ΠΙΝΑΚΑΣ 13.  
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ**

<b>Χρωμογρανίνη</b>			
<b>Επιβίωση</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
1 έτος	2	5	7
1-3 έτη	6	16	22
3-5 έτη	7	19	26
5 - 10 έτη	1	30	31
> 10 έτη	0	14	14
<b>Σύνολο</b>	<b>16</b>	<b>84</b>	<b>100</b>

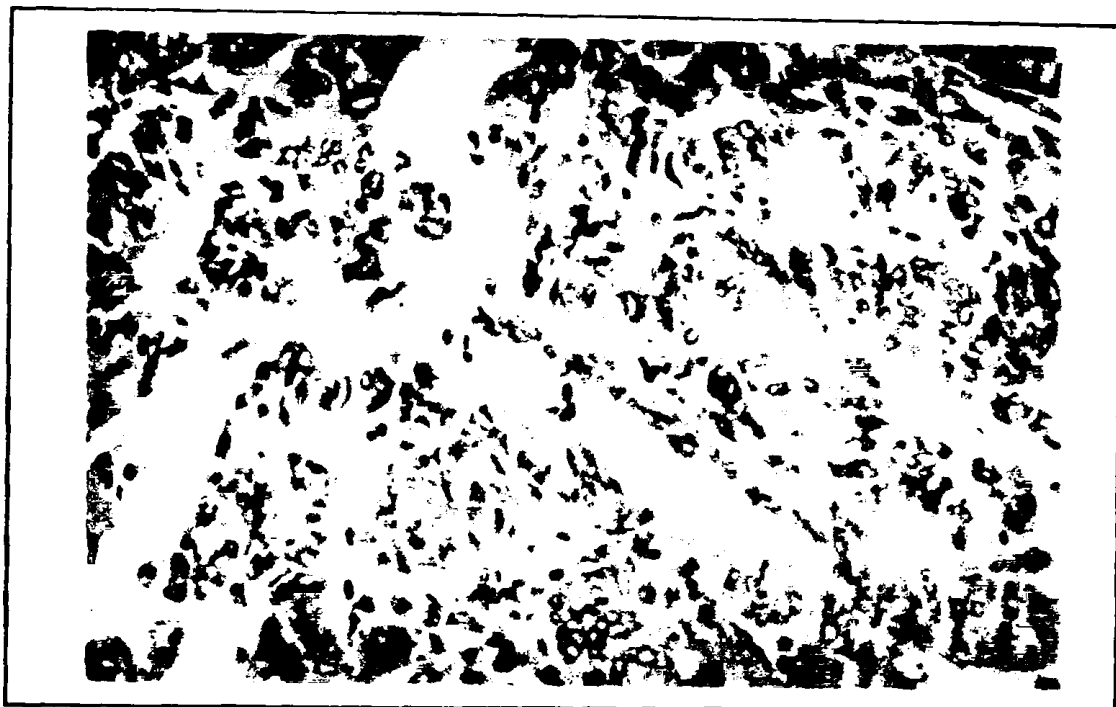
**ΠΙΝΑΚΑΣ 14.  
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟ ΒΑΘΟΣ ΤΗΣ ΔΙΗΘΗΣΗΣ**

<b>Χρωμογρανίνη</b>			
<b>Βάθος διήθησης</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
Βλεννογ.+Υποβλεν.	0	4	4
Μυϊκού	1	7	8
Ορογόνου	15	73	88
<b>Σύνολο</b>	<b>16</b>	<b>84</b>	<b>100</b>

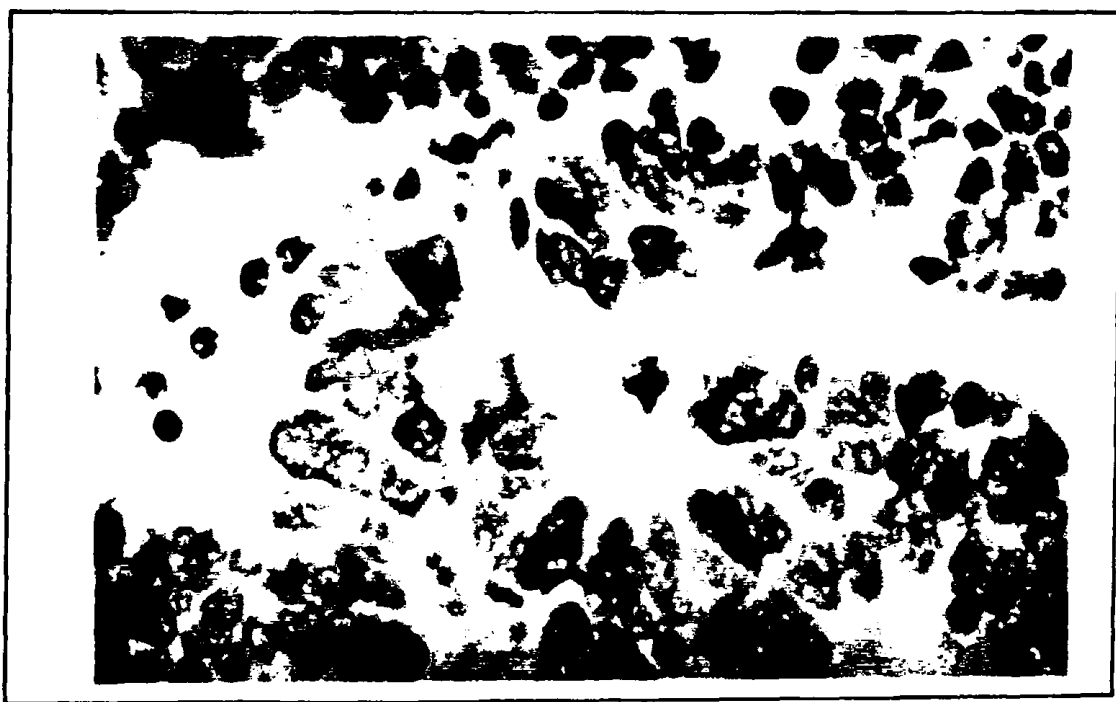
**ΠΙΝΑΚΑΣ 15.  
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟ ΒΑΘΜΟ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ**

<b>Χρωμογρανίνη</b>			
<b>Διαφοροποίηση</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Σύνολο</b>
Καλή	0	11	11
Μέτρια	16	66	82
Χαμηλή	0	7	7
<b>Σύνολο</b>	<b>16</b>	<b>84</b>	<b>100</b>



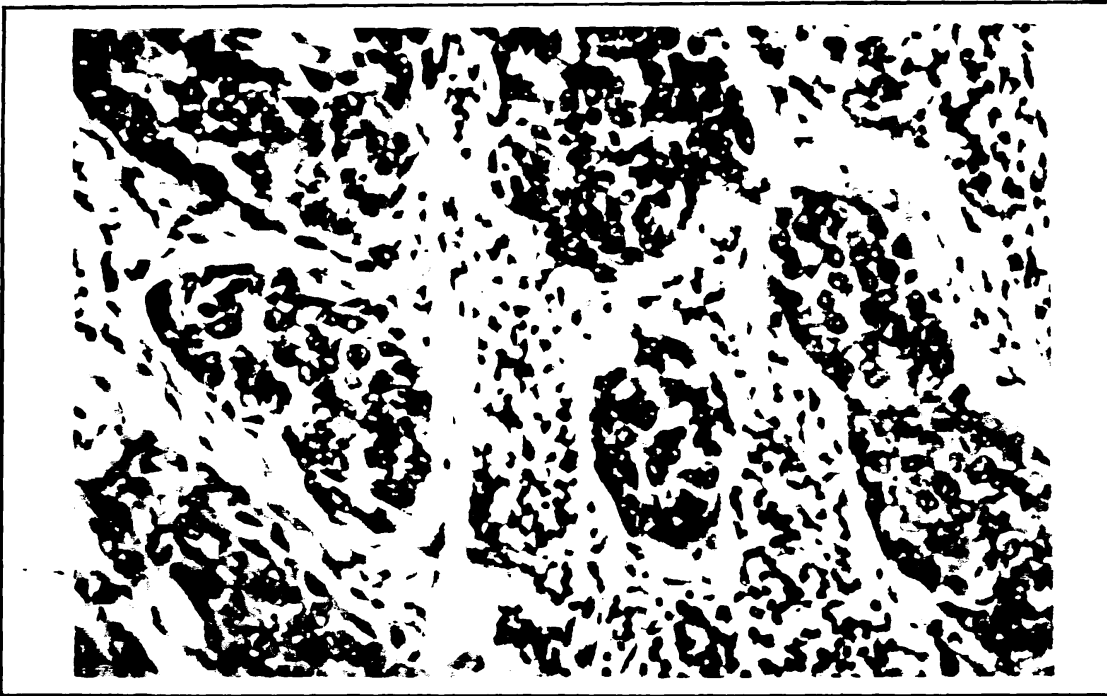


*Φωτ. 1. Αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου. Θετική χρώση με  
χρωμογρανίνη (x 200).*

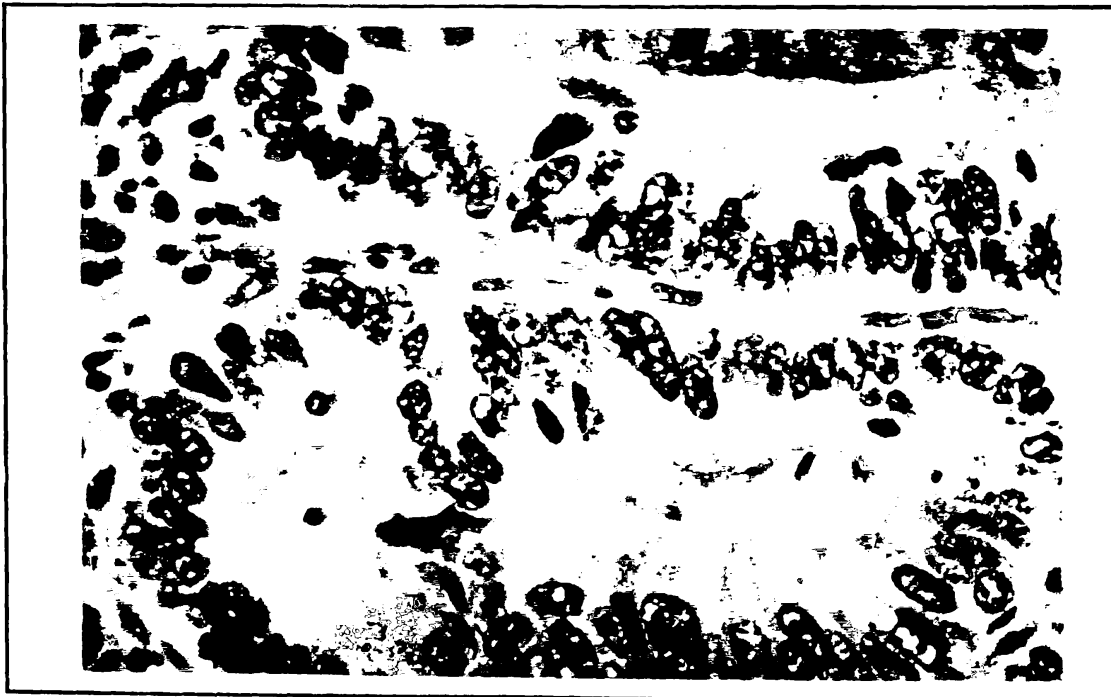


*Φωτ. 2. Αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου. Έντονα θετική χρώση με Ki67  
(x 400).*





*Φωτ. 3. Αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου. Έντονη θετική χρώση με PCNA (x 200).*



*Φωτ. 4. Αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου. Έντονα θετική χρώση με PCNA (x 400).*

### PCNA και Ki67

Τα αποτελέσματα της χρώσεως ήταν πολύ ικανοποιητικά. Η χρώση ήταν πυρηνική, διάχυτη ή κοκκιώδης. Τα χρωσθέντα κύτταρα ήταν ευκόλως ορατά. Παρατηρήθηκε ετερογένεια σε ορισμένους όγκους ως προς την κατανομή των θετικά χρωσθέντων κυττάρων (Φωτ. 2, 3, 4).

Η συσχέτιση των ανωτέρω δεικτών με την ηλικία, την τοπογραφία, τη μέγιστη διάμετρο του όγκου, το βάθος διήθησης, την ύπαρξη νέκρωσης, την επιβίωση, την ύπαρξη λεμφοκυτταρικής διήθησης, την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων, το βαθμό διαφοροποίησης και το φύλο φαίνεται στους πίνακες 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 και 25.



ΠΙΝΑΚΑΣ 16  
Συσχέτιση με την ηλικία

Ηλικία	Ki 67						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
31 - 40	0	1	0	1	1	0	3
41 - 50	0	1	1	3	2	0	7
51 - 60	2	3	2	4	2	2	15
61 - 70	0	6	10	13	5	2	36
71 - 80	0	4	5	10	4	2	25
81 - 90	3	3	2	3	2	1	14
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 20.73 < 37.6525 = \chi^2_{25;0.05}$							
$p = 0.71 > 0.05$							

Ηλικία	PCNA						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
31 - 40	0	0	0	1	1	1	3
41 - 50	0	0	1	3	1	2	7
51 - 60	0	2	2	4	4	3	15
61 - 70	1	2	2	14	7	10	36
71 - 80	0	2	1	5	9	8	25
81 - 90	1	2	0	3	4	4	14
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 13.72 < 37.6525 = \chi^2_{25;0.05}$							
$p = 0.97 > 0.05$							

Η έκφραση τόσο του δείκτη Ki67 όσο και του PCNA δεν μπορεί να συσχετισθεί με την ηλικία, αφού η διαφοροποίηση του ποσοστού έκφρασης με την ηλικία δεν είναι στατιστικά σημαντική.



## ΠΙΝΑΚΑΣ 17

## Συσχέτιση με την τοπογραφία

Τοπογραφία	Κi 67						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
Τυφλό	2	2	3	7	1	1	16
Ανιόν	0	0	1	0	0	1	2
Εγκάρσιο	0	1	3	3	2	0	9
Κατιόν	1	0	2	1	1	0	5
Σιγμοειδές	1	9	7	18	9	4	48
Ορθό	1	6	4	5	3	1	20
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 22.57 < 37.6525 = \chi^2_{25;0.05}$							
$p = 0.60 > 0.05$							

Τοπογραφία	PCNA						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
Τυφλό	0	2	1	4	3	6	16
Ανιόν	0	0	0	1	0	1	2
Εγκάρσιο	0	0	1	2	3	3	9
Κατιόν	0	0	0	2	1	2	5
Σιγμοειδές	1	4	3	19	10	11	48
Ορθό	1	2	1	2	9	5	20
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 13.72 < 37.6525 = \chi^2_{25;0.05}$							
$p = 0.97 > 0.05$							

Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της έκφρασης σε κανέναν από τους δείκτες σε σχέση με την τοπογραφία.



## ΠΙΝΑΚΑΣ 18

Συσχέτιση με τη μεγ. Διάμετρο του όγκου

Μεγ. Διάμετρος όγκου	Κι 67						Σύνολο
	0 %	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
≤ 2.5 cm	1	1	1	1	0	0	4
2.6 - 5.0 cm	1	9	8	17	8	3	46
5.1 - 7.5 cm	1	5	8	10	6	2	32
7.6 - 10.0 cm	2	2	2	4	2	2	14
> 10.0 cm	0	1	1	2	0	0	4
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 12.03 < 31.4104 = \chi^2_{20;0.05}$							
$p = 0.91 > 0.05$							

Μεγ. διάμετρος όγκου	PCNA						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76- 100%	
≤ 2.5 cm	0	0	0	1	2	1	4
2.6 - 5.0 cm	1	5	2	14	11	13	46
5.1 - 7.5 cm	1	3	3	10	7	8	32
7.6 - 10.0 cm	0	0	1	3	5	5	14
> 10.0 cm	0	0	0	2	1	1	4
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 7.32 < 31.4104 = \chi^2_{20;0.05}$							
$p = 0.99 > 0.05$							

Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της έκφρασης σε κανέναν από τους δείκτες σε σχέση με την διάμετρο του όγκου.



**ΠΙΝΑΚΑΣ 19**  
**Συσχέτιση με το βάθος διήθησης**

Βάθος διήθησης	Ki 67						Σύνολο
	0 %	1-10 %	11-25 %	26-50 %	51-75 %	76-100 %	
Βλεννογ.+Υποβλεν	0	2	0	1	1	0	4
Μυϊκού	2	1	1	1	2	1	8
Ορογόνου	3	15	19	32	13	6	88
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 13.28 < 18.3070 = \chi^2_{10;0.05}$							
$p = 0.21 > 0.05$							

Βάθος διήθησης	PCNA						Σύνολο
	0 %	1-10 %	11-25 %	26-50 %	51-75 %	76-100 %	
Βλεννογ.+Υποβλεν	0	1	0	2	0	1	4
Μυϊκού	0	1	0	2	1	4	8
Ορογόνου	2	6	6	26	25	23	88
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 6.80 < 18.3070 = \chi^2_{10;0.05}$							
$p = 0.74 > 0.05$							

*Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της έκφρασης σε κανέναν από τους δείκτες σε σχέση με το βάθος διήθησης.*



## ΠΙΝΑΚΑΣ 20

## Συσχέτιση με την ύπαρξη νέκρωσης

Νέκρωση	0%	Ki 67					Σύνολο
		1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
ΝΑΙ	2	4	5	6	4	1	22
ΟΧΙ	3	14	15	28	12	6	78
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
		$\chi^2 = 13.75 < 11.0705 = \chi^2_{5;0.05}$					
		$p = 0.88 > 0.05$					

Νέκρωση	0%	PCNA					Σύνολο
		1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
ΝΑΙ	0	2	1	5	6	8	22
ΟΧΙ	2	6	5	25	20	20	78
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
		$\chi^2 = 1.92 < 11.0705 = \chi^2_{5;0.05}$					
		$p = 0.98 > 0.05$					

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, η έκφραση των δεικτών είναι στατιστικά ανεξάρτητη από την ύπαρξη νέκρωσης.



## ΠΙΝΑΚΑΣ 21

Συσχέτιση με την επιβίωση

Επιβίωση	Ki 67						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
1 έτος	0	1	2	3	0	1	7
1 - 3 έτη	2	4	5	8	3	0	22
3 - 5 έτη	1	3	2	9	7	4	26
5 - 10 έτη	2	6	8	10	3	2	31
> 10 έτη	0	4	3	4	3	0	14
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 16.58 < 31.4104 = \chi^2_{20;0.05}$							
$p = 0.68 > 0.05$							

Επιβίωση	PCNA						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
1 έτος	0	0	0	3	1	3	7
1 - 3 έτη	0	3	1	7	6	5	22
3 - 5 έτη	1	2	4	8	4	7	26
5 - 10 έτη	1	2	1	8	11	8	31
> 10 έτη	0	1	0	4	4	5	14
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 12.99 < 31.4104 = \chi^2_{20;0.05}$							
$p = 0.98 > 0.05$							

Η έκφραση των δεικτών, όπως φαίνεται, είναι ανεξάρτητη από την επιβίωση.





## ΠΙΝΑΚΑΣ 22

Συσχέτιση με την ύπαρξη λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης

Λεμφοπλ/κη διήθηση	Κι 67						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
ΝΑΙ	3	11	8	19	8	3	52
ΟΧΙ	2	7	12	15	8	4	48
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 2.35 < 11.0705 = \chi^2_{5;0.05}$							
$p = 0.80 > 0.05$							

Λεμφοπλ/κη διήθηση	PCNA						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
ΝΑΙ	1	6	3	13	11	18	52
ΟΧΙ	1	2	3	17	15	10	48
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 5.28 < 11.0705 = \chi^2_{5;0.05}$							
$p = 0.98 > 0.05$							

Η έκφραση των δεικτών δεν φαίνεται να συσχετίζεται με την ύπαρξη λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης.



## ΠΙΝΑΚΑΣ 23

Συσχέτιση με την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων

Λεμφαδενικές μεταστάσεις	Ki 67						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
ΝΑΙ	3	5	8	9	5	3	33
ΟΧΙ	2	13	12	25	11	4	67
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 3.30 < 11.0705 = \chi^2_{5;0.05}$							
$p = 0.65 > 0.05$							

Λεμφαδενικές μεταστάσεις	PCNA						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
ΝΑΙ	0	2	2	12	6	11	33
ΟΧΙ	2	6	4	18	20	17	67
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 3.54 < 11.0705 = \chi^2_{5;0.05}$							
$p = 0.98 > 0.05$							

Δεν παρατηρείται συσχέτιση της έκφρασης των δεικτών με την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων.



## ΠΙΝΑΚΑΣ 24

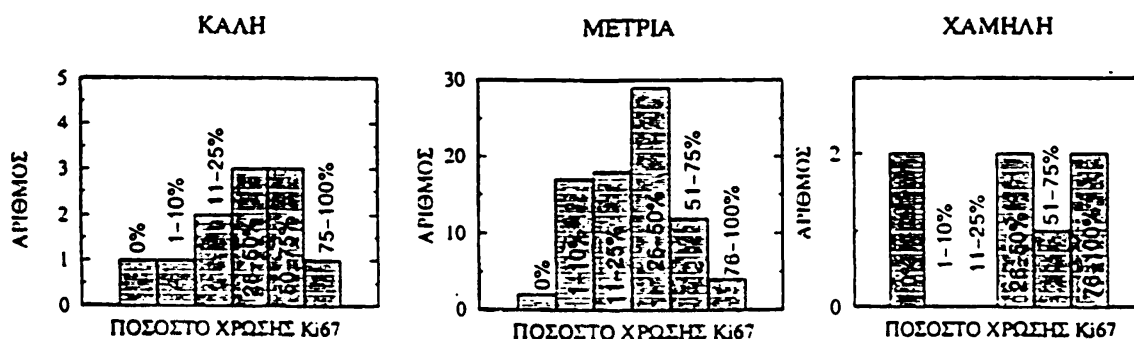
## Συσχέτιση με το βαθμό διαφοροποίησης

Διαφοροποίηση	Ki 67						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
Καλή	1	1	2	3	3	1	11
Μέτρια	2	17	18	29	12	4	82
Χαμηλή	2	0	0	2	1	2	7
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 19.37 > 18.3070 = \chi^2_{10-0.05}$							
$p = 0.036 < 0.05$							

Διαφοροποίηση	PCNA						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
Καλή	0	1	0	4	3	3	11
Μέτρια	2	7	6	23	21	23	82
Χαμηλή	0	0	0	3	2	2	7
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 3.03 < 18.3070 = \chi^2_{10-0.05}$							
$p = 0.98 > 0.05$							

Όπως προκύπτει από τον παραπάνω πίνακα, η έκφραση του δείκτη Ki67 συσχετίζεται σημαντικά ( $p = 0.035$ ) με το βαθμό διαφοροποίησης. Αυτό έχει να κάνει με την χαμηλή έκφραση του δείκτη στα μετριας διαφοροποίησης περιστατικά. Πιο συγκεκριμένα, στα μετριας διαφοροποίησης περιστατικά 66 από τα 82 (ποσοστό 80%) είχαν ποσοστό έκφρασης του δείκτη κάτω του 50%, ενώ στα καλής και χαμηλής διαφοροποίησης παρατηρείται σχετική ισοκατανομή περιστατικών με υψηλό (> 50%) και χαμηλό (< 50%) ποσοστό χρώσης (σχ. 1). Αντίθετα δεν φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση του ποσοστού έκφρασης του δείκτη PCNA με το βαθμό διαφοροποίησης.



Σχήμα 1: Η απεικόνιση (ιστόγραμμα) της κατανομής του αριθμού των περιστατικών καλής, μετριας και χαμηλής διαφοροποίησης συναρτήσει του ποσοστού θετικής χρώσης του δείκτη Ki67.



## ΠΙΝΑΚΑΣ 25

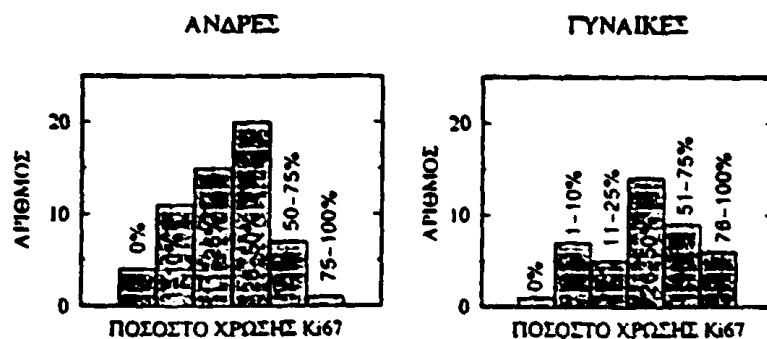
### Συσχέτιση με το φύλο

Φύλο	Κi 67						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
Άνδρες	4	11	15	20	7	1	58
Γυναίκες	1	7	5	14	9	6	42
Σύνολο	5	18	20	34	16	7	100
$\chi^2 = 10.27 < 11.0705 = \chi^2_{5,0.05}$							
$p = 0.068 > 0.05$							

Φύλο	PCNA						Σύνολο
	0%	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
Άνδρες	1	5	4	18	13	17	58
Γυναίκες	1	3	2	12	13	11	42
Σύνολο	2	8	6	30	26	28	100
$\chi^2 = 1.12 < 11.0705 = \chi^2_{5,0.05}$							
$p = 0.98 > 0.05$							

Στο επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$  δε φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση κανενός από τους δείκτες με το φύλο. Παρόλα αυτά, με χαλαρότερο κριτήριο, δηλαδή επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha$  μεγαλύτερο από το  $p$  που υπολογίστηκε (π.χ.  $p = 0.1$ ), υπάρχει συσχέτιση της έκφρασης του Κi67 με το φύλο. Πιο συγκεκριμένα ο δείκτης αυτός εκφράστηκε λιγότερο στους άνδρες απ' ό,τι στις γυναίκες: από τα 58 περιστατικά των ανδρών παρατηρήθηκε έκφραση του Κi67 πάνω από 50% μόνο στα 8, ενώ αντίθετα στις γυναίκες σε 15 από τα 42 περιστατικά είχε έκφραση άνω του 50% (σχ. 2). Η έκφραση του PCNA δεν φαίνεται να συσχετίζεται με το φύλο.



Σχήμα 2: Η απεικόνιση (ιστόγραμμα) της κατανομής του αριθμού των περιστατικών ανδρών και γυναικών συναρτήσει του ποσοστού θετικής χρώσης του δείκτη Κi67.

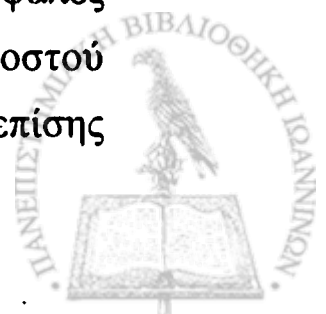
### Το τεστ σημαντικότητας της διαφοράς δύο μέσων τιμών

Στο μέρος που ακολουθεί έγινε σύγκριση του ποσοστού έκφρασης των δύο δεικτών Ki67 και PCNA. Η μέση τιμή και η διασπορά για το ποσοστό έκφρασης υπολογίστηκε για τον κάθε δείκτη ξεχωριστά στο σύνολο των περιστατικών και σε κάθε κατηγορία. Εφαρμόστηκε το “τεστ σημαντικότητας της διαφοράς των μέσων τιμών” για τον έλεγχο του κατά πόσον είναι στατιστικά σημαντική ( $\alpha = 0.05$ ) η διαφορά της μέσης τιμής του ποσοστού έκφρασης των δύο δεικτών. Για τη διαφορά αυτή επίσης υπολογίστηκε το ασφαλές διάστημα διακύμανσής της σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$ .

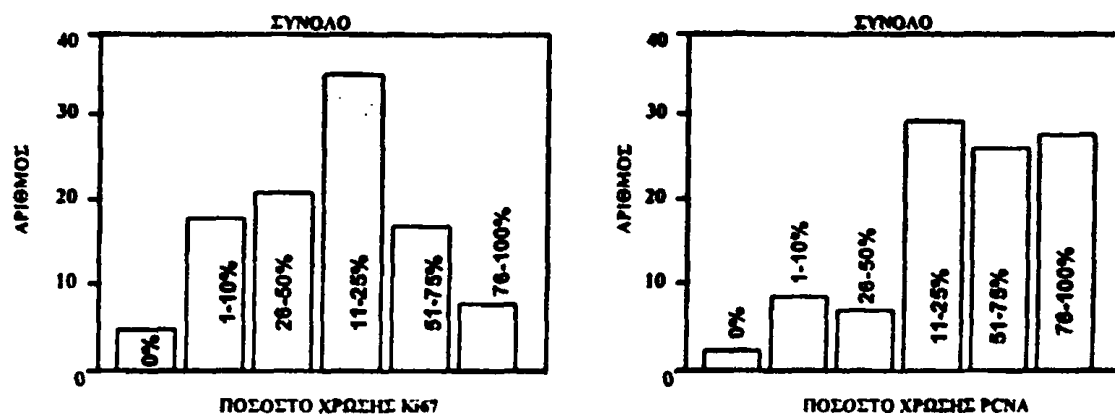
Για το σύνολο των περιστατικών παρατίθενται τα αντίστοιχα ιστογράμματα της κατανομής των περιστατικών συναρτήσει του ποσοστού έκφρασης (Σχ. 3). Όπως φαίνεται από το σχήμα αυτό η κατανομή του αριθμού των περιστατικών για το PCNA είναι μετατοπισμένη σε υψηλότερα ποσοστά έκφρασης, σε σχέση με αυτή του Ki67.

Ο πίνακας 26 περιέχει τις μέσες τιμές των ποσοστών έκφρασης των δεικτών, τις αντίστοιχες διασπορές, την τιμή του  $z$  και την τιμή του  $p$ . Με αστερίσκο δίπλα από την τιμή του  $p$  σημειώνονται οι περιπτώσεις εκείνες για τις οποίες το αποτέλεσμα είναι στατιστικά σημαντικό ( $p < 0.05$ ), δηλαδή το PCNA έχει ψηλότερη μέση τιμή στο ποσοστό έκφρασης από το Ki67 σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$ .

Για το σύνολο των περιστατικών και για τις περιπτώσεις εκείνες που το  $p$  είναι ικανοποιητικά χαμηλό υπολογίστηκε το ασφαλές διάστημα για τη διαφορά της μέσης τιμής του ποσοστού έκφρασης των δύο δεικτών σε επίπεδο σημαντικότητας επίσης



$\alpha=0.05$ : π.χ. όπως φαίνεται παρακάτω (πίνακας 27) για το σύνολο των περιστατικών, η μέση τιμή του ποσοστού έκφρασης του δείκτη PCNA είναι αρκετά μεγαλύτερη της αντίστοιχης του Ki67 και η διαφορά των δύο τιμών κυμαίνεται από 13.10 έως 27.8 με πιθανότητα 95% (ή πιθανότητα  $\alpha = 0.05$  να μην βρίσκεται στο διάστημα αυτό). Τα αποτελέσματα για τη διαφορά των μέσων τιμών των δύο ποσοστών έκφρασης, και το ασφαλές διάστημα ( $\alpha = 0.05$ ) βρίσκονται στον πίνακα 27.



**Σχήμα 3:** Αλεικόνιση (ιστόγραμμα) της κατανομής του αριθμού των περιστατικών συναρτήσει του ποσοστού έκφρασης για τους δείκτες Ki67 και PCNA.

Χαρακτηριστικό	N	Μέση Τιμή		Διασπορά		z	p
		Ki67	PCNA	Ki67	PCNA		
<b>Ηλικία:</b>							
31-40	3	33.33	< 60.83	23.51	23.12	1.44	0.15
41-50	7	34.86	< 50.21	19.87	27.01	1.21	0.13
51-60	15	32.03	< 45.93	29.14	28.44	1.32	0.10
61-70	36	30.93	< 50.25	21.87	28.34	3.24	0.0006*
71-80	25	34.20	< 58.30	23.48	26.87	3.38	0.0007*
81-90	14	25.79	< 50.68	26.84	31.55	2.25	0.018*
<b>Τοπογραφία:</b>							
Τυρλό	16	27.28	< 54.50	22.05	30.82	2.87	0.004*
Ανιόν	2	53.00	< 59.75	35.00	28.25	0.21	0.53
Εγκάρσιο	9	31.11	< 59.33	18.87	25.31	2.68	0.009*
Κατιόν	5	26.10	< 60.40	20.99	25.30	2.33	0.03*
Σιγμοειδές	48	34.61	< 47.34	24.83	27.85	2.36	0.009*
Ορθό	20	26.97	< 54.95	24.02	28.65	3.35	0.001*
<b>Μέγιστη Διάμετρος:</b>							
≤ 2.5cm	4	13.75	< 61.38	12.15	20.04	4.06	0.004*
2.6-5.cm	46	32.54	< 50.90	23.77	29.43	3.29	0.0005*
5.1-7.5cm	32	32.52	< 47.83	23.81	29.33	2.29	0.011*
7.6-10cm	14	33.93	< 61.96	29.26	24.07	2.77	0.005*
> 10cm	4	21.62	< 53.50	10.82	23.71	2.45	0.03*
<b>Βάθος Διήθησης:</b>							
Βλεννογόν.+ Υποβλεννογ	4	26.38	< 39.13	23.66	30.15	0.67	0.3
Μυϊκού	8	33.62	< 60.44	31.59	31.10	1.71	0.06
Ορογόνου	88	31.58	< 51.81	23.51	28.02	5.19	1×10 <sup>-7</sup> *
<b>Βαθμός Διαφοροποίησης:</b>							
Καλή	11	37.54	< 53.14	26.63	27.10	1.36	0.1
Μέτρια	82	29.74	< 51.44	22.41	29.11	5.35	4×10 <sup>-8</sup> *
Χαμηλή	7	43.14	< 56.64	34.67	23.74	0.85	0.22
<b>Ύπαρξη Νέκρωσης:</b>							
ΝΑΙ	22	29.14	< 57.66	23.97	28.58	3.59	0.0005*
ΟΧΙ	78	32.22	< 50.39	24.34	28.38	4.29	9×10 <sup>-6</sup> *
<b>Επιβίωση:</b>							
1 ετος	7	32.00	< 60.21	24.58	26.18	2.08	0.03*
1-3 έτη	22	25.14	< 48.77	18.69	28.25	3.27	0.0011*
3-5 έτη	26	43.42	< 46.27	27.32	30.20	0.36	0.4
5-10 έτη	31	27.64	< 54.13	23.00	27.30	4.13	0.00002*
>10 έτη	14	27.93	< 58.82	20.79	26.93	3.39	0.001*
<b>Φύλο:</b>							
Ανδρες	58	25.68	< 51.40	19.61	29.15	5.58	1×10 <sup>-8</sup> *
Γυναίκες	42	39.63	< 52.80	27.58	27.75	2.18	0.014*
<b>Λεμφοπλκή Διήθηση:</b>							
ΝΑΙ	52	30.21	< 53.34	23.74	30.75	4.29	9×10 <sup>-6</sup> *
ΟΧΙ	48	32.98	< 50.53	24.79	25.95	3.39	0.00035*
<b>Λεμφικές Μεταστάσεις:</b>							
ΝΑΙ	33	31.33	< 53.67	26.02	28.37	3.33	0.0004*
ΟΧΙ	67	31.64	< 51.16	23.39	28.65	4.32	8×10 <sup>-6</sup> *
Σύνολο	100	31.54	< 51.99	24.29	28.58	5.45	2.5×10 <sup>-8</sup> *

Πίνακας 26 : Οι μέσες τιμές, οι διασπορές για το ποσοστό έκφρασης των δεικτών Ki67 και PCNA καθώς και οι τιμές των z και p για κάθε κατηγορία και για το σύνολο των περιστατικών. Με αστερίσκο σημειώνονται στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα ( $p < 0.05$ ).



Χαρακτηριστικό	Κατηγορία	Διαφορά	Ασφαλές διάστημα της διαφοράς
Ηλικία	61 - 70 ετών	19.32	[ 7.62 - 31.02 ]
	71 - 80 ετών	24.10	[ 9.61 - 38.59 ]
Τοπογραφία	Ορθό	27.98	[ 10.88 - 45.07 ]
Μέγ. διάμετρος	2.6 - 5 cm	18.36	[ 7.43 - 29.29 ]
Βάθος διήθησης	Ορογόνου	20.22	[ 12.58 - 27.86 ]
Διαφοροποίηση	Μέτρια	21.69	[ 13.75 - 29.64 ]
Νέκρωση	ΝΑΙ	28.52	[ 12.31 - 44.72 ]
	ΟΧΙ	18.17	[ 9.88 - 26.47 ]
Επιβίωση	5 - 10 έτη	26.48	[ 11.98 - 49.80 ]
	> 10 έτη	30.89	[ 11.98 - 49.80 ]
Φύλο	Ανδρες	25.72	[ 16.68 - 34.77 ]
	Γυναίκες	13.17	[ 1.33 - 25.00 ]
Λεμφ/κή διήθηση	ΝΑΙ	23.12	[ 12.57 - 33.68 ]
	ΟΧΙ	17.55	[ 7.40 - 27.70 ]
Λεμφαδ. μεταστάσεις	ΝΑΙ	22.33	[ 9.20 - 35.47 ]
	ΟΧΙ	19.52	[ 10.67 - 28.37 ]
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>		<b>20.45</b>	<b>[ 13.10 - 27.80 ]</b>

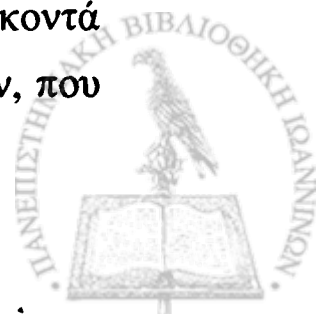
**Πίνακας 27 :** Η υπολογισμένη διαφορά των μέσων τιμών των ποσοστών έκφρασης για τους δύο δείκτες και το ασφαλές διάστημα για τη διαφορά αυτή σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$ . Ο υπολογισμός έγινε μόνο για τις περιπτώσεις εκείνες του πίνακα 26 που το  $p$  είναι ικανοποιητικά χαμηλό ( $\leq 0.001$ ).





## Συμπεράσματα

1. Το ποσοστό έκφρασης του PCNA είναι υψηλότερο αυτού του Ki67. Στο σύνολο των περιστατικών η μέση τιμή του ποσοστού έκφρασης του PCNA ήταν της τάξης του 52%, ενώ η αντίστοιχη τιμή για το Ki67 ήταν μόλις 31.5%. Το αποτέλεσμα ότι το PCNA έχει υψηλότερο ποσοστό έκφρασης είναι στατιστικά σημαντικό με πολύ υψηλό βαθμό εμπιστοσύνης (το  $p$  είναι πρακτικά μηδέν).
2. Σε όλες τις κατηγορίες των περιστατικών το PCNA έδειξε να έχει αρκετά υψηλότερη μέση τιμή του ποσοστού έκφρασης και στην πλειοψηφία των κατηγοριών το αποτέλεσμα ήταν στατιστικά σημαντικό.
3. Οι περιπτώσεις στις οποίες το αποτέλεσμα δεν είναι στατιστικά σημαντικό αφορά συνήθως μικρά δείγματα. Για μεγάλα δείγματα η τιμή του  $p$  είναι πρακτικά μηδέν. Πάντως σε καμιά περίπτωση η μέση τιμή του ποσοστού έκφρασης του Ki67 δεν ήταν μεγαλύτερη της αντίστοιχης τιμής για το PCNA.
4. Η μεγάλη τιμή της διαφοράς των μέσων τιμών των ποσοστών έκφρασης, μας επέτρεψε να εξάγουμε ασφαλή διαστήματα για την τιμή της διαφοράς αυτής. Μία διαφορά της τάξης των 20 ποσοστιαίων μονάδων είναι συμβατή με όλα τα διαστήματα εμπιστοσύνης που βρέθηκαν (για όλες τις κατηγορίες των χαρακτηριστικών που εξετάστηκαν) και επίσης είναι κοντά στην τιμή που βρέθηκε για το σύνολο των περιστατικών, που



είναι και η πιο αξιόπιστη λόγω του μεγάλου μεγέθους του δείγματος.

5. Σχετικά με το φύλο και το βαθμό διαφοροποίησης φαίνεται να υπάρχει μία σαφής διαφορά ανάμεσα στις υποκατηγορίες, όσον αφορά την μέση τιμή του ποσοστού έκφρασης του Ki67 (βλέπε προηγούμενη ανάλυση). Πιο συγκεκριμένα η μέση τιμή για τις γυναίκες είναι αρκετά ψηλότερη σε σχέση με τους άνδρες και επίσης στα χαμηλής διαφοροποίησης περιστατικά η μέση τιμή είναι ψηλότερη από ότι στα υψηλής και μετρίου. Λόγω της μεγάλης μέσης τιμής του ποσοστού έκφρασης στις γυναίκες το  $p$  είναι υψηλό σε σχέση με το αντίστοιχο των ανδρών καθιστώντας το αποτέλεσμα λιγότερο ισχυρό. Παρομοίως στα χαμηλής διαφοροποίησης το  $p$  είναι μεγαλύτερο του 0.05, πράγμα που σημαίνει ότι το αποτέλεσμα είναι δεν στατιστικά σημαντικό. Αντιθέτως στα μετρίου και υψηλής το αποτέλεσμα είναι στατιστικά σημαντικό. Πάντως στην περίπτωση του φύλου, που επιχειρήθηκε ο υπολογισμός ασφαλών διαστημάτων για τη διαφορά των μέσων τιμών παρατηρείται μία μεγάλη διαφοροποίηση στις τιμές των άκρων των διαστημάτων για τα δύο φύλα, που οφείλεται στη διαφοροποίηση της έκφρασης του Ki67.

Παρ' όλο που το PCNA αριθμητικά έχει υψηλότερα ποσοστά έκφρασης εν τούτοις δεν θεωρούμε τον εν λόγω δείκτη περισσότερο ειδικό του Ki67, καθ' όσον ως γνωστόν με το PCNA χρώννυνται θετικά κύτταρα μη ευρισκόμενα στην S φάση του κυτταρικού κύκλου με αποτέλεσμα την υπερεκτίμηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.



## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η σημαντική συμβολή της ανοσοϊστοχημείας ως μεθόδου διαγνωστικής προσπέλασης του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι πλέον αποδεδειγμένη. Ο ρόλος της δεν περιορίζεται μόνο στη διαφορική διάγνωση ενός αδιαφοροποίητου καρκινώματος αλλά επεκτείνεται και στη μελέτη της ιστογένεσης διαφόρων τύπων καρκίνου του παχέος εντέρου.

Είναι γνωστό ότι ένα ποσοστό των καρκινωμάτων του γαστρεντερικού περιέχουν νευροενδοκρινικά κύτταρα και έχουν γίνει προσπάθειες να συσχετισθεί ο αριθμός τους με την τοπογραφία, το βαθμό διαφοροποίησης και το στάδιο των νεοπλασματικών όγκων αλλά μέχρι στιγμής καμιά στατιστικά σημαντική σχέση δεν έχει αποδειχθεί.

Όσον αφορά όμως την προγνωστική τους αξία τα αποτελέσματα είναι αντιφατικά. Μερικοί συγγραφείς υποστήριξαν ότι η παρουσία νευρο-ενδοκρινικών κυττάρων ταυτοποιεί μια κατηγορία ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου που έχουν χειρότερη πρόγνωση. Ορισμένοι μάλιστα τόνισαν τη σημασία του αριθμού αυτών υποστηρίζοντας ότι ασθενείς με πολυάριθμα νευροενδοκρινικά κύτταρα στον όγκο είχαν σημαντικά χειρότερη πρόγνωση σε σύγκριση με ασθενείς με μικρό αριθμό παρόμοιων κυττάρων<sup>139,140,141</sup>.

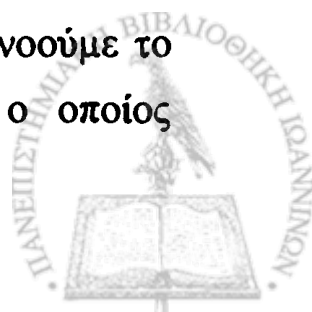
Αρκετές θεωρίες έχουν διατυπωθεί σχετικά με τη φύση της προέλευσης των ενδοκρινικών κυττάρων στα αδενοκαρκινώματα του γαστρεντερικού. Η επικρατέστερη εξ αυτών υποστηρίζει την ίδια ότι τα εντερικά ενδοκρινικά κύτταρα προέρχονται από τα ίδια ενδοδερμικά προγονικά κύτταρα όπως και τα επιθηλιακά



κύτταρα του εντέρου<sup>142,143,144</sup>. Πρόσφατες ανοσοϊστοχημικές μελέτες κατέδειξαν ότι τα θετικά στη χρωμογρανίνη κύτταρα στο καρκίνωμα του παχέος εντέρου έχουν μορφολογικούς χαρακτήρες κακοηθείας, όπως πυρηνικό πλειομορφισμό και υπερχρωμασία ενώ η κατανομή της χρωματίνης εκτός αυτών διαφέρει από αυτή που παρατηρείται στα φυσιολογικά ενδοκρινικά κύτταρα του βλεννογόνου<sup>145,146</sup>. Πάντως λίγες σχετικά μελέτες μέχρι σήμερα έχουν ασχοληθεί με την προγνωστική αξία του εν λόγω δείκτη στα καρκινώματα του παχέος εντέρου.

Στην παρούσα εργασία δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της χρωμογρανίνης με το φύλο, την ηλικία, την τοπογραφία, τη μ. διάμετρο του όγκου, το βάθος διήθησης, τη λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση στον όγκο, την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων και το βαθμό διαφοροποίησης. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της χρωμογρανίνης τόσο με την ύπαρξη νέκρωσης στον όγκο όσο και με χειρότερη πρόγνωση παρ' όλο που ο αριθμός των θετικώς χρωσθέντων κυττάρων δεν υπερέβαινε το 1-10% του συνολικού αριθμού των κυττάρων του όγκου κάθε περίπτωσης. Τα αποτελέσματά μας συνηγορούν στο ότι η νευροενδοκρινική διαφοροποίηση είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης και η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της χρωμογρανίνης είναι χρήσιμη για την κατάδειξη μιας ομάδας ασθενών με χειρότερη πρόγνωση μεταξύ των πασχόντων από αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου.

Με τον όρο κινητική των κυττάρων (cell kinetics) εννοούμε το βαθμό αναπαραγωγής στον κύκλο του κυττάρου ο οποίος



αποτελείται από τις φάσεις G<sub>0</sub>, G<sub>1</sub>, S (σύνθεση), G<sub>2</sub>, M (μίτωση). Εάν ο βαθμός αναπαραγωγής είναι υψηλός (μεγαλύτερος από το φυσιολογικό) τότε πρόκειται για νεόπλασμα, η πρόγνωση του οποίου επηρεάζεται από το ύψος του βαθμού αναπαραγωγής.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα για τη μελέτη της κινητικής των κυττάρων έχουν προσφέρει πολλά στην ιστολογική ταξινόμηση των νεοπλασμάτων καθώς και στην εκτίμηση της προγνώσεώς τους. Ιδιαίτερα η εφαρμογή ανοσοϊστοχημείας με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων κυρίως σε υλικό παραφίνης αποτελεί απλή, γρήγορη και αξιόπιστη μέθοδο. Οι δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 και PCNA έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως σε αρκετά νεοπλάσματα και η έκφρασή τους συσχετίστηκε ικανοποιητικά με διάφορες παραμέτρους. Αρκετές μελέτες έδειξαν μια σταθερή συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του Ki67 και της πρόγνωσης στα σαρκώματα των μαλακών μορίων και στα λεμφώματα. Λεμφώματα χαμηλής κακοηθείας με έντονη έκφραση Ki67 έχουν επιβαρυνόμενη πρόγνωση ενώ αντίθετα σε λεμφώματα υψηλής κακοηθείας με έντονη Ki67 έκφραση η πρόγνωση επηρεάζεται ευνοϊκά<sup>147</sup>. Καλή συσχέτιση της έκφρασης του Ki67 με διάφορες κλινικοϊστολογικές παραμέτρους στο μαστό έχει αναφερθεί, αλλά τα αποτελέσματα αμφισβητούνται<sup>147</sup>. Ως προγνωστικός δείκτης το Ki67 χρησιμοποιήθηκε επίσης και σε καρκινώματα του προστάτη, grade II TCCs<sup>148</sup>. Τα τελευταία μπορούν να διακριθούν ανάλογα του αριθμού των Ki67 θετικών κυττάρων σε δύο ομάδες εκ των οποίων η με χαμηλό Ki67



SCORE ομάδα έχει καλή πρόγνωση, ενώ στην με υψηλό SCORE ομάδα η πρόγνωση επιβαρύνεται<sup>149</sup>.

Επίσης το PCNA έχει χρησιμοποιηθεί ως ανεξάρτητος δείκτης καθορισμού του βαθμού ιστολογικής κακοήθειας στα μη Hodgkin λεμφώματα, στα λεμφώματα του γαστρεντερικού σωλήνα, στα καρκινώματα της ουροδόχου κύστεως, στα αιμαγγειοπερικυττώματα και αλλού.

Πάντως όσον αφορά τα καρκινώματα του παχέος εντέρου από τις διάφορες μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα διεθνώς, δεν έχει αποδειχθεί καμία ιδιαίτερη συσχέτιση των ανωτέρω δεικτών (PCNA και Ki67) με τις διάφορες κλινικοϊστολογικές παραμέτρους που εξετάστηκαν<sup>150,151,152,153,154,155,156,157</sup>.

Έτσι δεν αποτελούν μέχρι στιγμής αξιόπιστους προγνωστικούς δείκτες στα καρκινώματα του παχέος εντέρου όπως σε άλλα νεοπλάσματα. Σε υποτροπιάζοντες όγκους του παχέος εντέρου η έκφραση του Ki67 έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει στο 51.9%.

Στην παρούσα εργασία δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης των δεικτών κυτταρικού πολλαπλασιασμού με την ηλικία, την τοπογραφία, τη μεγ. διάμετρο του όγκου, το βάθος διήθησης, την λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση στον όγκο, την επιβίωση και την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων. Επίσης, το PCNA δεν βρέθηκε να συσχετίζεται με το φύλο και το βαθμό διαφοροποίησης. Όμως ο δείκτης Ki67 βρέθηκε στο υλικό μας να συσχετίζεται σημαντικά ( $p=0.035$ ) με το βαθμό διαφοροποίησης. Αυτό έχει να κάνει με τη χαμηλή έκφραση του δείκτη στα μετρίου διαφοροποίησης περιστατικά σε ποσοστό 80%. Στα καλής και χαμηλής διαφοροποίησης περιστατικά



παρατηρήθηκε σχετική ισοκατανομή με υψηλό (>50%) και χαμηλό (<50%) ποσοστό χρώσης. Επίσης, ο δείκτης Ki67 στο υλικό μας εκφράστηκε λιγότερο στους άνδρες από ότι στις γυναίκες: από τα 58 περιστατικά των ανδρών παρατηρήθηκε έκφραση του Ki67 πάνω από 50% μόνο στα 8, ενώ αντίθετα στις γυναίκες σε 15 από τα 42 περιστατικά είχε έκφραση άνω του 50%. Τούτο βέβαια υπολογίστηκε με χαλαρότερο κριτήριο, δηλαδή επίπεδο σημαντικότητας α μεγαλύτερο από το p.

Τα αποτελέσματά μας όσον αφορά τους δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού είναι σύμφωνα μ' αυτά της διεθνούς βιβλιογραφίας αν εξαιρέσει κανείς τη συσχέτιση του Ki67 με το βαθμό διαφοροποίησης που παρατηρήθηκε στο υλικό μας και την υψηλότερη έκφραση του ίδιου δείκτη στις γυναίκες.



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα συμπεράσματα από τη μελέτη μας είναι τα εξής :

- 1) Το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου εντοπίζεται συνηθέστερα στο σιγμοειδές με δεύτερη θέση προτίμησης το ορθό και το τυφλό.
- 2) Η μέγιστη διάμετρος του όγκου κύμαίνεται συνηθέστερα μεταξύ 2.6 - 7.5 εκ. και είναι στην πλειονότητα των περιπτώσεων μετρίας διαφοροποιήσεως.
- 3) Το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου συχνότερα εμφανίζεται στην έβδομη και όγδοη δεκαετία της ζωής.
- 4) Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της έκφρασης της χρωμογρανίνης με την ύπαρξη νέκρωσης ( $p=0.008$ ) και με την επιβίωση ( $p<0.009$ ). Αντίθετα οι υπόλοιπες παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν αρνητικές.
- 5) Η νευροενδοκρινική διαφοροποίηση είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης και η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της χρωμογρανίνης είναι χρήσιμη για την κατάδειξη μιας ομάδας ασθενών με χειρότερη πρόγνωση μεταξύ των πασχόντων από αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου. Το εύρημά μας αποτελεί μια προγνωστική συμβολή γι' αυτή την ομάδα των ασθενών.





- 6) Το Ki67 συσχετίζεται σημαντικά ( $p=0.035$ ) με το βαθμό διαφοροποίησης, λόγω της χαμηλής έκφρασης του δείκτη στα μετρίας διαφοροποίησης περιστατικά σε ποσοστό 80%.
- 7) Παρόλο που οι δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 και PCNA δεν έδωσαν τα αναμενόμενα στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα, λόγω του ότι η πλειονότης του υλικού μας ήταν μετρίας διαφοροποιήσεως, πιστεύουμε ότι πρέπει να περιλαμβάνονται στο οπλοστάσιο των ανοσοϊστοχημικών δεικτών, ιδιαίτερα για την ομάδα των καλά διαφοροποιημένων καρκίνων.



## Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Η

Το υλικό μας απετέλεσαν 100 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων παχέος εντέρου από κολεκτομές, οι οποίες εξετάστηκαν στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Τζανείου Νοσοκομείου Πειραιά τη χρονική περίοδο 1980-82.

Από κάθε περίπτωση ελήφθησαν τομές πάχους 5 μm από κύβους παραφίνης και οι αντιοροί που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανοσοϊστοχημικές χρώσεις ήταν:

- α) ο Mouse monoclonal antibody Ki67.
- β) ο Mouse monoclonal antibody PCNA.
- γ) η μονοκλωνική χρωμογρανίνη

Σκοπός της εργασίας ήταν :

1. Η ταξινόμηση των 100 περιπτώσεων αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, το μέγεθος και τοπογραφία του όγκου, την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων, την ύπαρξη ή όχι λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησεως, την νέκρωση, το βάθος διήθησης του όγκου και την επιβίωση.
2. Η ανοσοϊστοχημική μελέτη της εκφράσεως των δεικτών κυτταρικού πολλαπλασιασμού PCNA και Ki67 και του νευροενδοκρινικού δείκτη χρωμογρανίνης-A στα 100 αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου και η συσχέτιση της εκφράσεως με : φύλο, ηλικία, τοπογραφία και μέγεθος όγκου, ύπαρξη νέκρωσης, λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση, βαθμό διαφοροποίησης, διηθητική ανάπτυξη, ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων και επιβίωση.



3. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων μας με τα δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας και η συγκριτική μελέτη των δεικτών αυτών για την ενδεχόμενη προγνωστική ή και διαγνωστική αξία τους.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας είναι :

1. Το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου εντοπίζεται συνηθέστερα στο σιγμοειδές, εμφανίζεται συνήθως στην έβδομη ή όγδοη δεκαετία της ζωής και η μεγ. διάμετρος του όγκου κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 2.6 - 7.5 εκ.
2. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της χρωμογρανίνης με το φύλο, την ηλικία, την τοπογραφία, τη μεγ. διάμετρο του όγκου, το βάθος διήθησης, τη λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση στον όγκο, την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων και το βαθμό διαφοροποίησης.

Αντιθέτως, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της έκφρασης της χρωμογρανίνης με την ύπαρξη νέκρωσης ( $p=0.008$ ) και την επιβίωση ( $p<0.009$ ).

3. Η νευροενδοκρινική διαφοροποίηση είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης και η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της χρωμογρανίνης είναι χρήσιμη για την κατάδειξη μιας ομάδας ασθενών με χειρότερη πρόγνωση μεταξύ των πασχόντων από αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου.
4. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης των δεικτών κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Ki67 και PCNA) με την ηλικία, την τοπογραφία, τη μεγ. διάμετρο του όγκου, το βάθος διήθησης, τη λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση στον όγκο, την επιβίωση και την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών



μεταστάσεων. Επίσης, το PCNA δεν βρέθηκε να συσχετίζεται με το φύλο και το βαθμό διαφοροποίησης.

5. Το Ki67 συσχετίζεται σημαντικά ( $p=0.035$ ) με το βαθμό διαφοροποίησης λόγω της χαμηλής έκφρασης του δείκτη στα μετρίας διαφοροποίησης περιστατικά σε ποσοστό 80%.

Επίσης ο δείκτης Ki67 έχει υψηλότερη έκφραση στις γυναίκες χωρίς όμως τούτο να είναι στατιστικά σημαντικό.

6. Οι δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 και PCNA δεν αποτελούν αξιόπιστους προγνωστικούς δείκτες στα καρκινώματα του παχέος εντέρου όπως σε άλλα νεοπλάσματα.



## SUMMARY

**“Immunohistochemical study on the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Ki67 antigen and chromogranin in 100 cases of human colorectal adenocarcinoma”.**

**Dimitrios Zissis**

Our material accounts 100 cases of colorectal adenocarcinomas from colectomy which were reviewed at the Dept. of Pathology of the Tzanion Hospital of Piraeus during a period of 3 years (1980 - 1982).

For immunohistochemical staining, paraffin embedded tissue sections of 5  $\mu$ m thick were selected. The antibodies used were the following: Mouse mono-clonal antibody Ki67, Mouse monoclonal antibody PCNA and monoclonal chromogranin.

The purpose of the present study was :

1. Our cases were divided according to the status of the lymph nodes, the age of the patient, the sex, the size and the location of the tumor, the lymphocytic response, the necrosis, the depth of invasion, and the survival of the patient.
2. The immunohistochemical study on the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Ki67 antigen and chromogranin in 100 cases of human colorectal adenocarcinomas and their correlation of all the above parameters.
3. The comparison of our results with the data of the international literature.



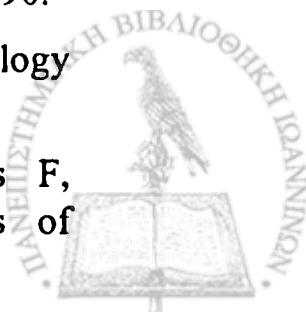
Our results are as follows :

1. In most cases adenocarcinoma of large bowel is localized in the sigmoid colon, the diameter of the tumor ranges between 2,6-7,5 cm and most patients are in the seventh and eighth decade.
2. There aren't any relationships between the expression of chromogranin antigen and the age of the patient, the size and the location of the tumor, the lymphocytic response, the sex, the depth of invasion, grading of the neoplasm and the status of the lymph nodes. Statistically significant differences were found at the expression of chromogranin and the tumor necrosis ( $p=0.008$ ) and the survival of the patient too ( $p<0.009$ ).
3. The neuroendocrine differentiation is an independent prognostic factor and the chromogranin immunoreactivity is useful for detecting a subgroup with a worse prognosis among patients with colorectal cancer.
4. There aren't any relationships between the expression of proliferation cell markers (Ki67 and PCNA) and the age of the patient, the size and the location of the tumor, the depth of invasion, the lymphocytic response, the survival and the status of the lymph nodes. PCNA index was also independent of sex and histologic grade.
5. Statistically significant differences were found at the expression of Ki67 antigen and the tumor grading ( $p=0.035$ ).
6. The proliferation cell markers, Ki67 and PCNA, appears not to be reliable prognostic factors in colorectal carcinomas such as others neoplasms.

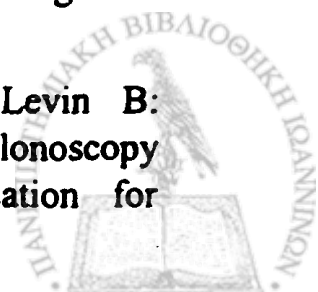


## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Τσούρας Σ: Μαθήματα Ιστολογίας του Ανθρώπου. Θεσσαλονίκη, 1976.
2. Kuhnel W: Άτλας ιστολογίας, κυτταρολογίας και μικροσκοπικής ανατομικής. 6<sup>η</sup> έκδοση, 1986.
3. Morson BC, Dawson I.P.: Gastrointestinal Pathology third edition by Blackwell Scientific Publications. London, 1990.
4. Wingo P, Tong T, Bolden S: Cancer statistics 1995. CA Cancer J Clin 45: 8-30, 1995.
5. Cancer Facts and Figures 1990. Atlanta CA, American Cancer Society inc, 1990.
6. Muir C, Waterhouse et al: Cancer incidence in five continents. Vol 5 IARC Scient Publ. No-88, Lyon, France, 1987.
7. Parkin DM, Muir CS, et al: Cancer incidence in five continents. Vol 6, IARC scient. Publ. No 120, Lyon, France, 1992.
8. Schottenfeld D, Winawer SJ: Large intestine. Στο Cancer Epidemiology and Prevention. Eds. D. Schottenfeld, J.F. Froumeni Jr, W.B. Saunders Comp. London p. 703-727, 1982.
9. Potter JD, Slattery ML, et al: Colon cancer: a review of the epidemiology. Epiderm. Rew. 15: 499-545, 1993.
10. Correa P, Haenszel W: The epidemiology of large bowel cancer. Adv. Cancer res. 26: 1-45, 1978.
11. Mc Michael AJ, Potter JD: Reproduction endogenous and exogenous sex hormones and colon cancer: a review and hypothesis. J Nat. Cancer Inst. 65: 1201-1207, 1980.
12. WHO, IARC. Cancer: Causes, Occurrence and Control. Ed. L. Tomatis. IARC Scient Publ. No 100, Lyon, France, 1990.
13. Boyle P, Zaridge DG, Smans M: Descriptive epidemiology of Colorectal cancer. Int J Cancer 36: 8-9, 1985.
14. Papadimitriou C, Day N, Tzonou A, Gerovassilis F, Manousos O, Trichopoulos D: Biosocial correlates of

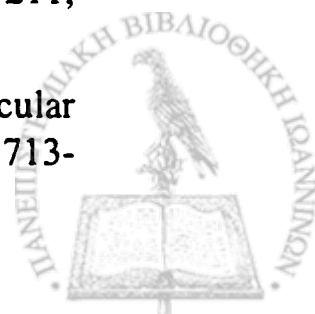


- Colorectal Cancer in Greece. *Int J Epidemiol* 13: 155-159, 1984.
15. Davis DL, Hoel D, Fox J, Lopez L: International trends in cancer mortality in France, West Germany, Italy, Japan, England and Wales and the USA. *Lancet* 336: 474-481, 1990.
  16. Rustgi AK: Hereditary gastrointestinal polyposis and non polyposis syndromes. *N Engl J Med* 331: 1694-1702, 1994.
  17. Leppert M, Burt R, Hughes JP, et al: Genetic analysis of a inherited predisposition to colon cancer in a family with a variable number of adenomatous polyps. *N Engl J Med* 322: 904-908, 1994.
  18. O' Riordain DS, O' Dwyer PJ, Cullen AE, et al: Familial juvenile polyposis coli and colorectal cancer. *Cancer* 68: 889-892, 1991.
  19. Lynch HT, Samyrk TC, Watson PC, et al: Genetics natural history, tumor spectrum and pathology of hereditary non polyposis colorectal cancer: an updated review. *Gastroenterology* 104: 1535-1549, 1993.
  20. Butt JH, Price A, Williams CB: Dysplasia and cancer in ulcerative colitis in Inflammatory bowel disease: Churchill Livingstone Puhl, London 140-153, 1983.
  21. Ransohoff DF: Colon cancer in ulcerative colitis: *Gastroenterology* 94: 1089-91, 1988.
  22. Lannards-Jones JE: Precancer and cancer in extensive ulcerative colitis. Finding among 401 patients over 22 years. *Gut* 31: 800-806, 1990.
  23. Desaint B, Legendre Cl, Florent Ch: Dysplasia and cancer in ulcerative colitis. *Hepatogastroenterol* 36: 219-226, 1989.
  24. Greenstein AJ, Sacher DB, Smith H, Pricillo A, Kreel I, Gellar SA, Janowitz HD, Autses AH: Cancer in universal and left-sided ulcerative colitis. Factors determining risk. *Gastroenterology* 77: 290-294, 1979.
  25. Blackstone MD, Riddel PH, Rogers BHG, Levin B: Dysplasia associated lesion or mass detected by colonoscopy in long standing ulcerative colitis: an indication for





- colectomy. *Gastroenterology* 80: 364-74, 1981.
26. Butt JH, Konishi F, Morson BC, Lennard-Jones JE, Ritchie JK: Macroscopic lesions in dysplasia and carcinoma complicating ulcerative colitis. *Dig Dis Sa* 28: 18-26, 1983.
  27. Σπηλιάδη Χαρ., Σπηλιάδης Χ, Εμμανουηλίδης Α, Lennard Jones: Συσχέτιση ορατών βλαβών στην ελκώδη κολίτιδα με την επιθηλιακή δυσπλασία και τον καρκίνο. Πρακτικά Γαστρεντερολογικών Ημερών, Θεσσαλονίκη, 1986.
  28. Σπηλιάδη Χ, Πετράκη Κ, Σωτηροπούλου Μ, Παπαδόπουλος Σ : Ανοσο-ϊστοχημική μελέτη της ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου. Πρακτικά Β' Πανελληνίου Συνεδρίου Παθολογικής Ανατομικής, Θεσσαλονίκη, 1989.
  29. Cell JP, Schneiderman DJ: Ulcerative Colitis in: Sleisenger and Fordtran (eds). *Gastrointestinal Disease*, 4<sup>th</sup> ed, Saunders, Philadelphia, 1435-76, 1989.
  30. Former RG, Hamilton SR, Morson BC, et al: Ulcerative Colitis in: Berk (ed), *Bockus Gastroenterology*, 4<sup>th</sup> ed Saunders, Philadelphia, 2137-45, 1985.
  31. Lashner BA, Brzezinski A: Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease. *Current Opinion in Gastroenterology* 10: 374-383, 1994.
  32. Itzkowitz SH, Greenwald B, Meltzer SJ: Basic science review: Colon Carcinogenesis in inflammatory bowel disease. *Inflam. Bowel Dis* 1: 142-158, 1995.
  33. Feldes JB, Korelitz BI: Cancer in inflammatory bowel disease. *Current opinion in Gastroenterology* 9: 552, 1993.
  34. Bazzedi F, Fossi St, Sottili S, Pozzato P, Rocco M, Zaggari MC, Morelli, Taroni F, Roda E: The risk of adenomatous polyps in Asymptomatic First-Degree Relatives of person with colon cancer. *Gastroenterology* 109: 783-788, 1995.
  35. Vogelstein B, Fearon ER, et al: Genetic alterations during colorectal tumor development. *N Engl Med* 319: 207-211, 1988.
  36. Weinberg RA: Oncogenes, anti-oncogenes and the molecular bases of multistep carcinogenesis. *Cancer Res* 49: 3713-3721, 1989.

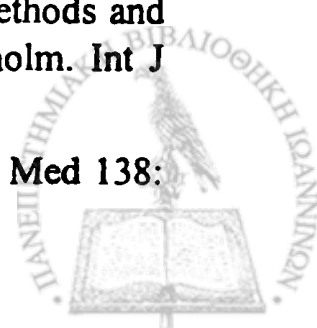


37. Bos IL, Fearon ER, Hamilton SR, Verlaan - De Vries M, Van Bloom IH, et al: Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. *Nature* 327: 293-297, 1987.
38. Baker S, Fearon R et al: Chromosome 17 and p53 gene mutations in colorectal mutations. *Science* 744: 217-21, 1991.
39. Lieberman D, Overview of colon cancer screening. American Society for Gastrointestinal Endoscopy, Post-graduate Course: Endoscopy and Cancer. When, why and how. Boston MA, 291, 1993.
40. Winawer SJ, Zauber Ag, O' Brien MJ, et al: Randomized comparison of Surveillance intervals after colonoscopic removal of newly diagnosed adenomatous polyps. *N Engl J Med* 328: 901, 1993.
41. Bond JH: Position paper polyp guideline: diagnosis, treatment and surveillance for patients with nonfamilial colorectal polyps. *Ann Intern Med* 119: 836-843, 1993.
42. Cancer Research Campaign. Cancer of the large bowel. Factsheet 18 London: CRS, 1993.
43. Bresalier R and Kim Y in *Gastrointestinal Disease* P. 1449, ed. Sleisenger and Fordtran, fifth edition, Saunders, London, 1993.
44. Bresalier RS, Toribara NW: Familiar Colon Cancer in Fastwood GC (ed). Premalignant conditions of the Gastrointestinal tract. *Controversies in Gastroenterology Series*. New York, Elsevier Science, Publishers, p. 227, 1990.
45. Doll R, Peto J: Avoidable risks of cancer in the United States. *J Nat Cancer Inst* 96: 1191, 1981.
46. Willer W: The Search for the Cause of breast and Colon cancer. *Nature* 338: 389, 1989.
47. Burt R, Petersen GM: Familiar Colorectal Cancer Diagnosis and Management in Prevention and Early Detection of Colorectal Cancer. Young G, Rozen P, Levin BWB, Saunders, 1996.
48. Reddy BS: Dietary fat and its relationship to large bowel

- cancer. *Cancer Res* 41: 3700-3706, 1981.
49. Drasar BS, Irving D: Environmental factors and cancer of the colon and breast. *Br J Cancer*, 27: 169, 1973.
  50. Prentice RL, Sheppard L: Dietary fat and cancer. *Cancer Causes Control* 1: 81, 1990.
  51. Reddy BS, Wynder EL: Large bowel carcinogenesis: fecal constituents of populations with diverse incidence rates of colon cancer. *J Nat Cancer* 50: 1437, 1973.
  52. Manousos O, Day NE, Trichopoulos D, Gerovassilis F, Tzonou A, Polychronopoulou A: Diet and colorectal cancer: a case control study in Greece. *Int J Cancer* 32: 1-15, 1983.
  53. Κογεβίνας Μ: Επιδημιολογία και αιτιολογία του καρκίνου του παχέος εντέρου και του ορθού. Ογκολογία πεπτικού συστήματος. Π. Κοσμίδης - Ι.Κ. Τριανταφυλλίδης. Βήτα Ιατρικές Εκδόσεις, σελ. 232-236, Αθήνα, 1991.
  54. Burkitt DP, Walker ARP, Painter NS: Dietary fiber and disease. *JAMA*, 229: 1068, 1974.
  55. Cummings JH, Bingham SA, Heaten KW, Eastwood MA: Fecal weight, colon cancer risk and dietary intake of nonstarch polysaccharides (Dietary fiber). *Gastroenterology*, 103: 1783, 1992.
  56. Kritenevsky D: Fiber and Cancer. *Med. Oncol. Tumor Pharmacotherapy*, 7: 137, 1990.
  57. Garland C, Chekelle RB, et al: Dietary vit D and calcium and risk of colorectal cancer: A 19 year prospective study in men. *Lancet*, 1: 307, 1985.
  58. Rosenberg L, Palmer JR, et al: A hypothesis: nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduce the incidence of large bowel cancer. *J Nat Cancer Inst.* 83: 355, 1991.
  59. Kune GA, Kune S, Walson LF: Colorectal cancer risk, Chronic illnesses, operations and medications: case control results from the Melbourne colorectal cancer study. *Cancer Res* 48: 4399, 1988.
  60. Peleg I, Maibach HT, et al: Aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drug use and the risk of subsequent colorectal



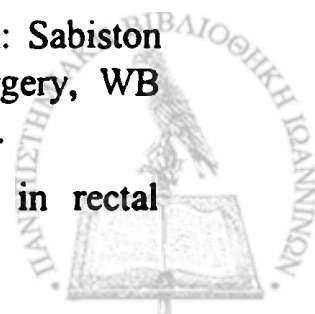
- cancer. Arch Int Med 154: 394, 1994.
61. Giovannucci E, Egan MPH, et al: Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. The N Engl J Med 333 (10): 609, 1995.
  62. Marcus A: Aspirin as prophylaxis against colorectal cancer. The N Engl J Med 333 (10): 656, 1995.
  63. Thum MJ, Namboodirc MM, Heath CW: Aspirin use and reduced of fatal colon cancer. N Engl Med 325: 1593-1596, 1991.
  64. Willet W: Nutritional Epidemiology. Oxford University press, Oxford, 1990.
  65. Lee WC, Nengut AL, et al: Cigarettes, alcohol, coffee and caffeine as risk factors for colorectal adenomatous polyps. Ann Epider 3: 239-244, 1993.
  66. Klatsky AL, Armrstrong MA, et al: The relation of alcolic beverage use to colon and rectal cancer. Am J Epidem 128: 1007, 1988.
  67. Higginson J: Etiologic factors in gastrointestinal cancer in men. J Nat Cancer Inst 37: 527, 1966.
  68. Graham S, Dial H, et al: Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum. J Nat Cancer Inst 61: 709, 1978.
  69. Trichopoulos D, Polychronopoulou A: Epidemiology, diet and colorectal cancer. Eur J Cancer Clin Oncol 22: 335-337, 1986.
  70. Austoker J: Diet and cancer. In Cancer Prevention p. 44 BMJ Pubei Shing Group London, 1995.
  71. Modam B: Diet and cancer: casual relation or just wishful thinking? The Cancet 340: 162, 1992.
  72. Sian MS: Diet and nutritional factors in the etiology of Colon Cancer (review). Anticaner Res 7: 293, 1987.
  73. Gerharson DE, Verdier M, et al: Meat cooking methods and colorectal cancer. A case control study in Stockholm. Int J Cancer 49: 520, 1991.
  74. Jukes TH: How safe is our food supply? Arch Int Med 138: 772-74, 1978.



75. Macquat-Moulin, Riboli E, et al: Case control study on colorectal cancer and diet in Marseilles. *Int J Cancer* 38: 183, 1986.
76. Kune S, Kune GA, Watson LF: Case control study of dietary etiology factors. The Melbourne Colorectal Cancer Study. *Nutr Cancer*, 9: 21, 1987.
77. Greewald P, Lanza E, Eddy GA: Dietary fiber in the reduction at colon risk. *J Am Diet* 87: 1178, 1987.
78. Korn JE: Colon cancer epidemiology fat, fiber and fortility. In Shrock TR (ed). *Perspectives in Colon and Rectal Surgery*, Vol 3, No 2, St Louis, Quality Medical Publishing, p. 297, 1990.
79. Willett W, Stapfer M, et al: Relation of meat, fat and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *The New Engl J M* 323: 1664, 1990.
80. Doll R: The lessons of life: Keynote address to the Nutrition and Cancer Conference. *Cancer Res (Supp)* 52: 245, 1992.
81. McDermott FT, Hughes S, Pihl E, Milne BJ, Price AB: Prognosis in relation to symptom duration in colon cancer. *Br J Surg* 68: 846, 1981.
82. Silverman AL, Desai TK, Dhar R, et al: Clinical Features Evaluation and Detection of Colorectal Cancer. *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 17: 713-725, 1988.
83. Mecral FA, Saint John DJB: Relationship between patients of bleeding and Hemocult Sensitivity in patients with colorectal cancers and adenomas. *Gastroenterology*, 82: 891, 1982.
84. Αντσακλής Γ: Κακοήθεις νόσοι του παχέος εντέρου και του ορθού. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Γαστρεντερολογίας της Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρείας, 1991.
85. Bentler B, Cerami A: Cachestin: More than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 316: 379, 1987.
86. Ahiquist DA, Klee GG, McGill DB, Elleston RD: Colorectal cancer detection in the practice setting: impact of fecal blood testing. *Arc Intern Me* 150: 1041-1045, 1990.



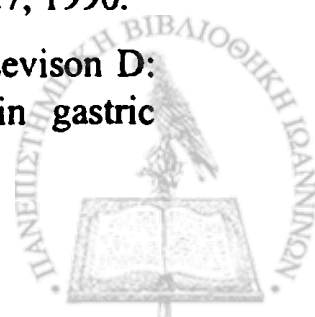
87. Thomas WM, Pye G, Hardcastle D, Walker AR: Screening for colorectal carcinoma: an analysis of the sensitivity of Hemocult. *Br J Surg* 79: 833-835, 1992.
88. Kewenter J, Engaras B, Haglind E, Jensen J: Value of retesting subjects with a positive Hemocult in screening for colorectal cancer. *Br J Surg* 77: 1349-1351, 1990.
89. Adamsen S, Kronberg O, Hage E, Fenger C: Reproducing and diagnostic value of Hemocult II test: a colonoscopic evaluation in asymptomatic patients. *Scand J Gastroenterol* 23: 1073-1077, 1985.
90. Karasick S, Ehrlich SM, Levin DC, et al: Trends in use of barium enema examination, colonoscopy and sigmoidoscopy: is use commensurate with risk of disease? *Radiology*, 195: 777-784, 1995.
91. Brewster NT, Crieve DC, Saunders IH: Double-contrast barium enema and flexible sigmoidoscopy for routine colonic investigation. *Br J Surg* 81: 445-447, 1994.
92. Levin B, Murphy GP: Revision in American Cancer Society recommendation for the early detection of colorectal cancer. *CA Cancer J Clin*, 42: 296-299, 1992.
93. Winaver SJ, John DJS, Bond JH, et al: Prevention of colorectal cancer: guidelines based on new data. *Bulletin of the North Health Organization*, 73: 7-10, 1995.
94. Malafosse M, Foutanier G: Le traitement du cancer du rectum. Monographie de l'association française du chirurgie ed Masson. Paris p. 1-4, 1987.
95. Lazorthes F, Fages P, Ciotasso P, Bugat R: Synchronous abdomino-transsphinteric resection of low rectal cancer: new technique for direct colonal anastomosis. *Br Journ Surg* 73: 573-575, 1986.
96. Lieberman D: Colon cancer screening: Beyond efficacy. *Gastroentero-logy* 106: 803-812, 1994.
97. Lyerly HK, Clary BM: The colon and rectum in: Sabiston DC, Luerly HK eds, *Sabiston Essentials of Surgery*, WB Saunders Co, 2<sup>nd</sup> ed, Philadelphia, pp 344-358, 1994.
98. Ravitch MM: Varietes of stapled anastomoses in rectal



- surgery. *Surg Clin North Amer* 64: 543-554, 1984.
99. Gordon PH, Vasilevsky CA: Experience with stapling in rectal surgery. *Surg Clin North Amer* 64: 554-566, 1984.
  100. Steele G: Accomplishment and promise in the understanding and treatment of colorectal cancer. *Lancet* 342: 1092-1096, 1993.
  101. Tempero M, Anderson J: Progress in colon screening: Beyond efficacy. *Gastroenterology* 106: 803-812, 1994.
  102. Ogata K, Ogata V, Nakamura RM, Tan EM: Purification and N-terminal amino acid sequence of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) / cyclin and development of elisa for anti-PCNA Antibodies. *The Journal of Immunology* 135 (4): 2223-2227, 1985.
  103. Bravo R, Macdonald - Bravo H: Existence of two population of cyclin / proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: Association with DNA replication sites. *The Journal of Cell Biology* 326: 515-517, 1987.
  104. Kurki P, Lotz M, Ogata M, Ogata K, Tan EM: Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin in activated human T lymphocytes. *The Journal of Immunology* 138 (12): 4114-4120, 1987.
  105. Miyachi K, Fritzer MJ, Tan EM: Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *Journal of Immunology* 121 (6): 2228-2234, 1978.
  106. Gardia RL, Coltera MD, Gown AM: Analysis of proliferative grade using anti PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed embedded tissues. *Am J Pathology* 134: 733-739, 1989.
  107. Mathews MB, Bernstein RM, Fraza BR, Garrels IL: Identify of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature* 309: 374-376, 1984.
  108. Ogata K, Kurki P, Celis JE, Nakamura RM, Tan EM: Monoclonal antibodies to a nuclear protein (PCNA/cyclin) associated with DNA replication. *Exp Cell Res* 168: 475-486, 1987.
  109. Landberg G, Tan EM, Roos G: Flow cytometric multiparameter analysis of proliferating cell nuclear antigen



- (Cyclin and Ki-67 Antigen): A new view of the cell cycle. *Exp. Cell Research* 187: 111-118, 1990.
110. Kyle RA: Multiple myeloma. Review of 869 cases. *Mayo Clin Proc* 50: 29-40, 1975.
  111. Loke SL, Neckers LM, Schwab G, Jaffe ES: C-myc protein in Normal Tissue. Effects of Fixation on its apparent Subcellular Distribution. *Am J Pathol* 131(1): 29-37, 1988.
  112. Almendral JM, Huebsch D, Blundell PA, Macdonald - Bravo H, Bravo B: Cloning sequence of the human nuclear protein cyclin: Homology with DNA binding proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 1575-79, 1987.
  113. Wijsman JH, Van Dierendonck JH, Keijzer R, Van De Velde CJH, Cornelisse CJ: Immunoreactivity of proliferating cell nuclear antigen compared with bromodeoxyuridine incorporation in normal and neoplastic rat tissue. *Journal of Pathology* 168: 75-83, 1992.
  114. Travali S, Ku De-Hui, Rizzo MG, Ottavio L, et al: Structure of the human gene for the proliferating cell nuclear antigen. *The Journal of biological chemistry* 264(13): 7466-7472, 1989.
  115. Yu C, Fletcher C, Newman P, Goodlad J, et al: A comparison of proliferating nuclear antigen immunostaining, Nucleolar organizer region staining and histological grading in gastrointestinal stromal tumors. *J Pathol* 425-429, 1992.
  116. Yu C, Hall P, Fletcher C, et al: Immunohistochemical staining with a monoclonal antibody to proliferating cell nuclear antigen may be a good indicator of prognosis. *J Pathol* 342, 1992.
  117. Fontanini G, Macchiarini P, Pepestefano S, Ruggiero A, Hardin M, et al: The expression of Proliferating cell nuclear Antigen in Paraffin Section of Peripheral Node-Negative Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer* 70: 1520-1527, 1990.
  118. Jains S, Fillipe M, Hall P, Wassem N, Lane D, Levison D: Prognostic value of proliferating cell nuclear in gastric carcinoma. *J Clin Pathology* 44: 655-659, 1991.

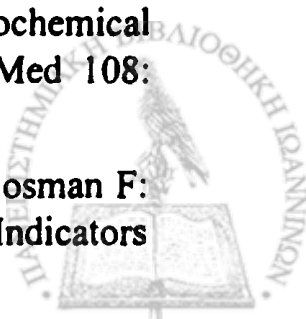




119. Woods A, Hauby A, Hall P, et al: The prognostic value of PCNA immunostaining in gastrointestinal lymphoma. *J Pathol* 168, 1992.
120. Robbins B, Delavega D, Ogata K, et al: Immunohistochemical Detection of Proliferating Cell Nuclear Antigen in Solid Human Malignancies. *Arch Path Lab Med* 111: 841-845, 1987.
121. Hall PA, Levison DA, Woods AL: Proliferating cell nuclear antigen immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *Journal of Pathology* 162: 285-294, 1990.
122. Mittal Khush, Demopoulos R, Goswani S: Proliferating cell nuclear Antigen Expression in Normal and Adnormal Cervical Squamous Epithelia. *American J of Surgical Pathol* 17(2): 117-122, 1993.
123. Start RD, Gross SS, Clelland C, Silcocks PB, Rogers K, Smith HF: Delay in fixation does not affect the immunoreactivity of proliferating cell nuclear antigen. *Journal of Pathology* 168: 197-199, 1992.
124. Diebold J, Dopfer K, Lai M, Lohrs U: Comparison of Different Monoclonal Antibodies for the Immunohistochemical Assesment of Cell Proliferation in Routine Colorectal biopsy specimens. *Gastroenterol* 29: 47-53, 1994.
125. Yamada K, Yoshitake K, Sato M, Ahnen DJ: Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression in Normal, Preneoplastic and Neoplastic Colonic Epithelium of the rat. *Gastroenterology* 103: 160-167, 1992.
126. Hall PA, DA Levison: Assessment of cell proliferation in histological material. *J Clin Path* 43: 184-192, 1990.
127. Quinn C, Wright N: The Clinical assessment of proliferation and Growth in human Tumors: evaluation of method and applications of prognostic variables. *J of Pathology* 160: 93-102, 1990.
128. Soomro I, Whimster W: Growth fraction in lung Tumors determined by Ki 67 immunostaining and comparison with AgNOR Scores. *J Pathology* 162: 217-222, 1990.



129. Scott RJ, Hall PA, Haldane JS, et al: A comparison of immunohisto-chemical markers of cell proliferation with experimentally determined growth fraction. *Journal of Pathol.* 165: 173-178, 1991.
130. Raymond W, Leong A: The relationship between growth fractions and oestrogen in human breast carcinoma, as determined by immunohisto-chemical staining. *J Pathology* 158: 203-211, 1989.
131. Wintzer H, Zipfel I, et al: Immunostaining human breast tumors and its relation ship to prognosis. *Cancer* 67: 421-428, 1991.
132. Raymond W, Leung A, Bult J, Milios J, Jose J: Growth fractors in human prostatic carcinoma determinated by Ki 67 immunostaining. *J Pathology* 156: 161-167, 1988.
133. Johnston P, O' Brien J, Dervan P, Carney N: Immunohistochemical Analysis of cell kinetic parametres in Colonic Adenocarcinoma, Adenomas and Normal Mucosa. *Human Pathology* 20: 696-700, 1989.
134. Sadi M, Barrack E: Determination of Growth fraction in Advanced Prostate Cancer by Ki67 immunostaining and its relationship to the time to tumor progression after hormonal therapy. *Cancer* 67: 3065-3071, 1991.
135. Hagan C, Schmidt KW, Fischer-Cojbrie R, Winkley H: Chromogranin A, B and C in human adrenal medulla and endocrine tissues. *Lab Invest* 55: 405, 1986.
136. Wilson BS, Lloyd RV: Detection of chromogranin in neuroendocrine cells with a monoclonal antibody. *Am J Pathol* 115: 458, 1984.
137. Lloyd RV, Mervak I, Schmidt K, et al: Immunohistochemical detection of chromogranin and neuron-specific enolase in pancreatic endocrine neoplasms. *Am J Surg Pathol* 8: 607, 1984.
138. Lloyd RV, Shapira B, Sisson JC, et al: Immunohistochemical study of pheochromocytomas. *Arch Pathol Lab Med* 108: 541, 1984.
139. Wiggers TH, Arends JW, Schutte B, Volovics L, Bosman F: A multivariate Analysis of Pathologic Prognostic Indicators



- in Large Bowel Cancer. *Cancer* 61: 386-395, 1988.
140. Chen PH: Immunocytochemical study of enterochromaffin cells in carcinoma of the large intestine. *Chinese Journal of Pathology* 19 (2): 86-9, 1990.
  141. Oishi A: Immunohistochemical and clinicopathological studies of chromogranin immunoreactive cells in large bowel carcinoma. *Journal of Japanese Surgical Society* 90 (10): 1742-51, 1989.
  142. Pagani A, Papatti M, Abbona GC, Bussolati G: Chromogranin Gene Expressions in Colorectal Adenocarcinomas. *Modern Pathology*, 8 (6): 626-632, 1995.
  143. Park JG, Choe GY, Helman LJ, Gazdar AF, Yang HK, Kim JP, Park SH, Kim Y: Chromogranin-A expression in gastric and colon cancer tissues. *Int J Cancer* 51: 189, 1992.
  144. Finley GG, Koski RA, Melhem MF, Pipas JM, Meisler AI: Expression of the gastrin gene in the normal colon and colorectal adenocarcinoma. *Cancer Res* 53: 2919, 1993.
  145. Hamada Y, Oishi A, Shoji T, Takada H, Yamamura M, Hioki K, Yamamoto M: Endocrine Cells and Prognosis in Patients with Colorectal Carcinoma. *Cancer* 69: 2641-2646, 1992.
  146. Kirkland SC: Clonal origin of columnar, mucous and endocrine cell lineages in human colorectal epithelium. *Cancer* 61: 1359-1363, 1988.
  147. Linden M, Ma C, Kubus J, Brown R, Zarbo RJ: Ki67 and Proliferating Cell Nuclear Antigen Tumor Proliferative Indices in DNA Diploid Colorectal Adenocarcinoma. *Am J Clin Pathology* 100: 206-212, 1993.
  148. Sadi M, Barrack E: Determination of Growth fraction in Advanced Prostate Cancer by Ki67 immunostaining and its relationship to the time to tumor progression after hormonal therapy. *Cancer* 67: 3065-3071, 1991.
  149. Mulder A, Hootegen J, Sylvester R, et al: Prognostic factors in bladder carcinoma: histologic parametres and expression of a cell cycle-related nuclear antigen (Ki67). *Journal of Pathol* 166: 37-43, 1992.



150. Teixeira CR, Tanaka S, Haruma K, Yoshihera M, Sumii Koji, Kajiyama Goro: Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression at the invasive Tumor Margin Predicts Malignant Potential of Colorectal Carcinomas. *Cancer* 73: 575-9, 1994.
151. Porschen R, Kriegel A, Landed C, Classen S, Hilse M, Lohe B, Hengels K, Borchard F: Assessment of proliferative activity in carcinomas of the human alimentary tract by Ki67 immunostaining. *Int J Cancer* 47: 686-691, 1991.
152. Porschen R, Lohe B, Hengels KJ, Borchard F: Assessment of Cell Proliferation in Colorectal Carcinomas Using Monoclonal Antibody Ki67. *Cancer* 64: 2501-2505, 1989.
153. Leon M, Sant M, Micheli A, Sacchetti C, DiGregorio C, Fante R, et al: Clinical and Pathologic Prognostic Indicators in Colorectal Cancer. *Cancer* 69: 626-635, 1992.
154. Berenzi A, Benetti A, Bertalot G, Rodolti A, Portolani N, Giulini SM, Pulcini G, et al: Ki67 immunohistochemical evaluation in colorectal cancer and normal colonic mucosa. Possible clinival applications. *Pathologica* 84: 155-63, 1992.
155. Diebold J, Lai MD, Loehrs U: Analysis of proliferative activity in colorectal mucosa by immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) Methological aspects and application to routine diagnostic material. *Virchows Archiv. B Cell Pathol.* 62 (5): 283-9, 1992.
156. Al-Sheneber IF, Shibata HR, Sampalis J, Jothy S: Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in colorectal cancer. *Cancer* 71 (6): 1954-9, 1993.
157. Tanaka K, Murata N, Yanai H, Okita K: Immunohistological study on the expression of proliferating cell nuclear antigen in human colorectal lesions. *Japanese Journal of gastroenterology*, 89 (2): 493-7, 1992.

