



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Καθηγήτριας Νίκη Ι. Αγγάντη**

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ
ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ p53 ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ
ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ p53 ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ 17 ΜΕ ΤΗΝ
ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΖΟΝΤΑ IN SITU ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΥ ΣΕ
ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

**Ντέμου Ασήμω
Ιατρός Παθολογοανατόμος**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2007



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000336985



Αρ. εισ.: 11037/2003





**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Καθηγήτῆς Νίκη Ι. Αγνάντη**

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ
ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ p53 ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ
ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ p53 ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ 17 ΜΕ ΤΗΝ
ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΖΟΝΤΑ IN SITU ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΥ ΣΕ
ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

**Ντέμου Ασήμω
Ιατρός Παθολογοανατόμος**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2007



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».



Ημερομηνία αίτησης της κ. Ντέμου Ασήμως 3-5-1993

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 239^α/22-6-1993

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπουσα

Αγνάντη Νίκη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας

Μέλη

Μήτση –Μαλάμου Βασιλική Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας

Στεφάνου Δημήτριος Επίκουρος Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας

Ημερομηνία Ανασυγκρότησης Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής 371^α/22-12-1998

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπουσα

Αγνάντη Νίκη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας

Μέλη

Μπάη Μαρία Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας

Στεφάνου Δημήτριος Επίκουρος Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 8-3-1994

«Συγκριτική μελέτη της Ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p53 και των αριθμητικών ανωμαλιών του γονιδίου p53 και του χρωμοσώματος 17 με την μέθοδο του φθορίζοντα in situ υβριδισμού σε νεοπλασματικές παθήσεις του παχέος εντέρου»

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 610^α/19-6-2007

Αγνάντη Νίκη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, επιβλέπουσα

Βουγιουκλάκης Θεόδωρος, Καθηγητής Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, μέλος

Ευαγγέλου Άγγελος Καθηγητής Φυσιολογίας, μέλος

Μπάη Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, μέλος

Στεφάνου Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας, μέλος

Σύρρου Μαρίκα, Επίκουρη Καθηγήτρια Γενικής Βιολογίας-Ιατρικής Γενετικής, μέλος

Τζαβάρας Θεόδωρος, Επίκουρος Καθηγητής Γενικής Βιολογίας, μέλος

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 27-6-2007

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Επαμεινώνδας Τσιάνος

Καθηγητής Παθολογίας



Προϊστάμενος της Σχολής

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΤΣΑΙΓΑΛΑ



Στους γονείς μου



Στο σύζυγό μου- στα παιδιά μου



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο της Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων .

Θερμότατα ευχαριστώ και εκφράζω την ευγνωμοσύνη μου στην Καθηγήτριά μου της Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Κα. Νίκη Ι. Αγνάντη , η οποία μου ανέθεσε αυτό το θέμα , είχε την επίβλεψη της διατριβής, σ' όλη την διάρκεια αυτής με παρότρυνε και χωρίς την υποστήριξή της δεν θα την είχα ξεκινήσει και ολοκληρώσει .

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια της Παθολογικής Ανατομικής Κα. Μαρία Μπάη, μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής και εξειδικευμένη σε θέματα In Situ Υβριδισμού , την ευχαριστώ θερμά για την επιστημονική καθοδήγηση και συνεχή παρακολούθηση σε όλα τα στάδια της διατριβής .

Ευχαριστώ, επίσης τον Αναπληρωτή Καθηγητή της Παθολογικής Ανατομικής Κο. Δημήτριο Στεφάνου μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής για τις χρήσιμες υποδείξεις που μου παρείχε πρόθυμα κατά τη διάρκεια της διατριβής.

Επίσης, ευχαριστώ τον Λέκτορα της ογκολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών Κο. Αριστοτέλη Μπάμια για τη διάθεση των κλινικών στοιχείων και τις χρήσιμες συμβουλές του όσον αφορά στην επεξεργασία τους στο τελικό στάδιο της διατριβής.

Ευχαριστώ θερμά την Κα. Αφροδίτη Κατσαράκη, στατιστικολόγο του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, για τη βοήθειά της στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων και των αποτελεσμάτων της διατριβής.

Επίσης ευχαριστώ τα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής τον Καθηγητή της Φυσιολογίας Κο. Ευαγγέλου Αγγελο, τον Καθηγητή της Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας Κο. Βουγιουκλάκη Θεόδωρο.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής στον Επίκουρο Καθηγητή της Γενικής Βιολογίας Κο. Θεόδωρο Τζαβάρα και στην Επίκουρη Καθηγήτρια της Γενικής Βιολογίας- Ιατρικής



Γενετικής Κα Μαρίκα Σύρρου, για τις ενδιαφέρουσες συζητήσεις και τις χρήσιμες υποδείξεις που πρόθυμα μου παρείχαν.

Ευχαριστώ την φίλη και συνάδελφό μου Κα. Σεβαστή Καμηνά για τις υποδείξεις της, την ηθική της συμπαράσταση και για το άριστο κλίμα της συνεργασίας μας.

Επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στους παρασκευαστές του Εργαστηρίου της Παθολογικής Ανατομικής, Κο. Μιχάλη Αλεξίου για τις άριστες τομές παραφίνης των υλικών και Κα. Αντιγόνη Χριστοδούλου, μέλος του ΕΔΤΠ, για τις επιτυχημένες ανοσοϊστοχημικές χρώσεις.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το σύζυγό μου και συνάδελφο Γεώργιο Σφαιρόπουλο, καθώς και τα παιδιά μου Δημήτρη και Βασιλική, γιατί με την κατανόηση και την ηθική τους υποστήριξη σε κάθε βήμα της εργασίας μου συνέβαλαν σημαντικά στην ολοκλήρωσή της .



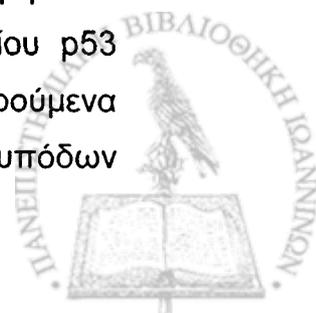
Πρόλογος

Τα τελευταία χρόνια με την μελέτη της γενετικής σύστασης των ανθρωπίνων νεοπλασιών έχουν ανακαλυφθεί πληθώρα χρωμοσωμικών ανωμαλιών πολλές απ' τις οποίες φαίνεται να συνδέονται με συγκεκριμένους τύπους νεοπλασμάτων. Βιβλιογραφικά έχουν περιγραφεί περίπου 600 χρωμοσωμικές ανωμαλίες σε περίπου 4000 ανθρώπινα νεοπλάσματα. Σήμερα ένας αυξανόμενος αριθμός νεοπλασιών εξετάζεται εκτός από την κλασσική κυτταρογενετική με μια πληθώρα νέων σύγχρονων τεχνικών μοριακής κυτταρογενετικής μεταξύ των οποίων βασική θέση έχει ο φθορίζων *in Situ* υβριδισμός (FISH). Τα πλεονεκτήματα του τελευταίου είναι ότι ανιχνεύει σε διαιρούμενα και σε μη κύτταρα όχι μόνο χρωμοσωμικές ανωμαλίες αλλά και συγκεκριμένες περιοχές γονιδίων. Ο προσδιορισμός των ανωμαλιών αυτών είναι σημαντικός στην πρόγνωση- όπου αυτό είναι δυνατόν- και στην κλινική αντιμετώπιση των ογκολογικών ασθενών συμβάλλοντας στην ακριβέστερη διάγνωση και στην εκτίμηση της πρόγνωσης. Επίσης μας παρέχει πληροφορίες για την ανίχνευση γονιδίων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της καρκινογένεσης.

Η κατανόηση των μηχανισμών μέσω των οποίων οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες παίζουν ρόλο στην διαδικασία της καρκινογένεσης είναι πολύ περιορισμένη. Εδώ γενιούνται βασικά ερωτήματα όπως: Γιατί και πώς δημιουργούνται οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες; Μπορεί μία χρωμοσωμική ανωμαλία να δώσει το έναυσμα της νεοπλασματικής εξαλλαγής; Είναι μία ειδική χρωμοσωμική ανωμαλία ικανή να αποτελέσει το έναυσμα της καρκινογένεσης και αν ναι, ποια είναι η παθογενετική σχέση αυτής με άλλες γενετικές αλλαγές που καθορίζουν τις καλοήθειες και κακοήθειες νεοπλασίες.

Μία από τις λιγότερο μελετημένες κυτταρογενετικά νεοπλασίες και ειδικότερα σε μη διαιρούμενα κύτταρα είναι το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου σε σύγκριση με τις αιματολογικές νεοπλασίες.

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η ανίχνευση των αριθμητικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 καθώς και της πρωτεϊνικής έκφρασης του τελευταίου σε μη διαιρούμενα κύτταρα σε μία σειρά αδενοκαρκινωμάτων και αδενωματωδών πολυπόδων



του παχέος εντέρου με τις τεχνικές του φθορίζοντα in Situ υβριδισμού και της ανοσοϊστοχημείας με μονοκλωνικά αντισώματα καθώς και της σύγκρισης των αποτελεσμάτων αυτών με την επιβίωση από την νόσο ομάδας ασθενών .



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή	7-75
1.1 Εμβρυολογία του παχέος εντέρου	9-10
1.2 Ανατομία του παχέος εντέρου	11-18
1.2.1 Τυφλό έντερο και σκωληκοειδής απόφυση	11-12
1.2.2 Το κόλον	13-14
1.2.3 Το απευθυσμένο	14-15
1.2.4 Αγγείωση του παχέος εντέρου	15-17
1.2.5 Λεμφικό σύστημα του παχέος εντέρου	17
1.2.6 Νεύρωση του παχέος εντέρου	18
1.3 Ιστολογία του παχέος εντέρου	19-23
1.4 Φυσιολογία της λειτουργίας του παχέος εντέρου	25-27
1.5 Καλοήγη νεοπλασμάτα του παχέος εντέρου	29-43
1.5.1 Επιθηλιακοί πολύποδες	29-37
1.5.2 Επιθηλιακή δυσπλασία του παχέος εντέρου	37-38
1.5.3 Συσχέτιση αδενωματωδών πολυπόδων με το αδενοκαρκίνωμα	39-41
1.5.4 Προτεινόμενη θεραπεία των αδενωματωδών πολυπόδων	41-43
1.6 Αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου	45-61
1.6.1 Γενικά χαρακτηριστικά	45-46
1.6.2 Κλινικές εκδηλώσεις του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου	47-48
1.6.3 Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου	49-50
1.6.4 Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου	50-51
1.6.5 Άλλοι μικροσκοπικοί τύποι του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου	52-53
1.6.6 Σταδιοποίηση των αδενοκαρκινωμάτων κατά Duke σύμφωνα με την τροποποίηση των Astel- Coller	54-55
1.6.7 Σταδιοποίηση των αδενοκαρκινωμάτων κατά το σύστημα TNM	55-56
1.6.8 Διασπορά και μεταστάσεις του αδενοκαρκινώματος	56
1.6.9 Θεραπεία του αδενοκαρκινώματος	57
1.6.10 Πρόγνωση του αδενοκαρκινώματος	57-61
1.7 Κυτταρογενετική	63-64



1.8 Μοριακές γενετικές μεταβολές των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου	65-66
1.8.1 Εισαγωγή στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου	66-72
1.8.2 Γονίδιο p53 – Πρωτεΐνη p53	73-75
2. Αντικείμενο της διατριβής	77-82
2.1 Αντικείμενο της διατριβής- Σκοπός της εργασίας	79-82
3. Υλικά και μέθοδοι	83-93
3.1 Υλικά	85
3.2 Μέθοδοι	87-91
3.2.1 Μέθοδος του φθορίζοντα in Situ υβριδισμού	87-89
3.2.2 Ανοσοϊστοχημική μέθοδος για μονοκλωνικά αντισώματα	90-91
3.2.3 Εκτίμηση του φθορίζοντα in Situ υβριδισμού και της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης	91-92
3.2.4 Στατιστική ανάλυση	93
4. Αποτελέσματα	95-116
5. Συζήτηση	117- 124
6. Συμπεράσματα	125-130
7. Περίληψη	131-136
7.1 Περίληψη	133-134
7.2 Summary	135-136
8. Βιβλιογραφία	137-150



1. Εισαγωγή



1.1. ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Το πρωτογενές ή αρχέγονο έντερο σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της τέταρτης εμβρυϊκής εβδομάδας από την ενσωμάτωση μέσα στο έμβρυο του ραχιαίου μέρους του λεκιθικού ασκού. Από καθαρά περιγραφική άποψη, αποτελείται από τρία μέρη: το πρόσθιο, το μέσο και το οπίσθιο έντερο.

Το εμβρυϊκό μέσο έντερο θα δώσει γένεση στην εγγύς περιοχή του κόλου, περιλαμβάνοντας το τυφλό, το ανιόν και τα πρώτα 2/3 του εγκάρσιου κόλου. Το υπόλοιπο τμήμα του κόλου και το ορθό προέρχονται από το εμβρυϊκό οπίσθιο έντερο. Το παχύ έντερο θα λάβει την τελική του θέση μέσα στην κοιλιακή κοιλότητα ύστερα από μια σύνθετη σειρά περιστροφών, ενώ στη συνέχεια θα επιμηκυνθεί καθώς το έμβρυο θα αναπτύσσεται. Στην αρχή το μέσο έντερο επικοινωνεί ευρύτατα με το λεκιθικό ασκό, αλλά αυτή η ένωση σε λίγο χρονικό διάστημα περιορίζεται σ' ένα στενό λεκιθικό μίσχο ή λεκιθικό πόρο. Γύρω στην πέμπτη εβδομάδα, καθώς το μέσο έντερο επιμηκύνεται, σχηματίζει μια κοιλιακή αγκύλη που έχει σχήμα **U** και προβάλλει μέσα στον ομφάλιο λώρο. Αυτός ο σχηματισμός της κήλης είναι μία κανονική μετανάστευση του μέσου εντέρου στο έξω σπλαχνικό κοίλωμα που γίνεται γιατί δεν υπάρχει αρκετός χώρος μέσα στην περιτοναϊκή κοιλότητα λόγω της αύξησης του ήπατος. Μέσα στον ομφάλιο λώρο η αγκύλη του μέσου εντέρου περιστρέφεται κατά 90 μοίρες αντίθετα από τη φορά των δεικτών του ωρολογιού και έτσι μεταφέρεται το κεντρικό τμήμα της προς τα δεξιά, και το περιφερικό σκέλος της προς τα αριστερά. Κατά τη δέκατη εβδομάδα, όλο το έντερο γυρνά γρήγορα στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Το λεπτό έντερο μπαίνει πρώτο στην περιτοναϊκή κοιλότητα, ενώ ακολουθεί το τυφλό. Κατά τη διάρκεια της επανεισόδου, το έντερο περιστρέφεται προσθέτοντας άλλες 180 μοίρες και έτσι το τυφλό παίρνει θέση στο δεξιό άνω κοιλιακό τεταρτημόριο. Μια παραπέρα επιμήκυνση αυτής της περιοχής έχει ως αποτέλεσμα την κάθοδο του τυφλού στο δεξιό κατώτερο κοιλιακό τεταρτημόριο, σχηματίζοντας έτσι το ανιόν κόλο και την αριστερή κολική καμπή. Η οπισθοσπληνική περιοχή του κόλου σπρώχνεται από την αριστερή θέση και κείται πριν το λεπτό έντερο.



Το οπίσθιο έντερο σχηματίζει το αριστερό 1/3 και το μισό από το εγκάρσιο κόλο, το κατιόν κόλο, το σιγμοειδές, το ορθό και το άνω τμήμα του πρωκτικού σωλήνα. Το υπόλοιπο τμήμα του σχηματίζεται από το πρωκτικό εντύπωμα. Το ουραίο τμήμα του οπίσθιου εντέρου σχηματίζει ένα ανεύρυσμα, την αμάρα, το οποίο διαιρείται με το ουροορθικό διάφραγμα σε ουρογεννητικό κόλπο και σε ορθό. Στην αρχή το ορθό χωρίζεται από τον πρόδομο του πρωκτού με την πρωκτική μεμβράνη αλλά αυτή, τις πιο πολλές φορές, αυτοκαταστρέφεται στο τέλος της έβδομης εβδομάδας (1).



1.2 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Το παχύ έντερο χρησιμεύει κυρίως για το σχηματισμό των κοπράνων, τα οποία προωθούνται με τις περισταλτικές κινήσεις του μυϊκού χιτώνα και τέλος αποβάλλονται από τον πρωκτό.

Το παχύ έντερο έχει συνολικό μήκος 1,5 μ. περίπου, εκτείνεται από την ειλεοκολική βαλβίδα μέχρι τον πρωκτό και εμφανίζει τρεις μικρότερες μοίρες τις εξής: α) το τυφλό έντερο μαζί με τη σκωληκοειδή απόφυση, β) το κόλο (ανιόν, εγκάρσιο, κατιόν και σιγμοειδές) και γ) το απευθυσμένο ή ορθό.

Εξωτερικά γνωρίσματα. Στην εξωτερική επιφάνεια αυτού υπάρχουν:

α) **Οι κολικές ταινίες.** Αυτές είναι τρεις και σχηματίζονται από την πάχυνση της επιμήκου μυϊκής στιβάδας. Αρχίζουν από την βάση της σκωληκοειδούς απόφυσης. Στο σιγμοειδές μειώνονται σε δύο και στο απευθυσμένο εξαφανίζονται.

β) **Τα εκκολπώματα,** που χωρίζονται το ένα από το άλλο με κυκλοτερείς περισφίξεις.

γ) **Οι επιπλοϊκές αποφύσεις.** Αυτές είναι λιπώδεις προσεκβολές του περιτοναίου, διατάσσονται σε στοίχους, και φέρονται κατά μήκος των κολικών ταινιών. Στο ανιόν, κατιόν και σιγμοειδές κόλο υπάρχουν δύο στοίχοι από επιπλοϊκές αποφύσεις, στο εγκάρσιο κόλο ένας, ενώ στο τυφλό και στο ορθό αυτές λείπουν.

Εσωτερικά γνωρίσματα. Στην εσωτερική επιφάνεια του παχέος εντέρου διαγράφονται οι κολικές ταινίες. Στα εξωτερικά εκκολπώματα αντιστοιχούν κοιλάνσεις, που λέγονται κολικές κυψέλες. Στις εξωτερικές περισφίξεις αντιστοιχούν εσωτερικά οι μηνοειδείς πτυχές. Επιπλέον, η εσωτερική επιφάνεια του παχέος εντέρου δεν παρουσιάζει λάχνες, ούτε πλάκες του Peyer(2).

1.2.1 ΤΟ ΤΥΦΛΟ ΕΝΤΕΡΟ ΚΑΙ Η ΣΚΩΛΗΚΟΕΙΔΗΣ ΑΠΟΦΥΣΗ

Το τυφλό έντερο έχει μήκος 6 εκ. και εσωτερική περίμετρο 7,5 εκ. είναι δε η πρώτη μοίρα του παχέος εντέρου και βρίσκεται στο δεξιό λαγόνιο βόθρο.



Προς τα πάνω συνεχίζεται στο ανιόν κόλο, εκεί δε που μεταπίπτει σ'αυτό δέχεται από την εσωτερική του επιφάνεια την εκβολή της ειλεοκολικής βαλβίδας (εσωτερικό όριο ανάμεσα στο τυφλό και το ανιόν κόλο).

Θέση και σχέσεις. Το τυφλό βρίσκεται στο δεξιό λαγόνιο βόθρο. Προς τα πίσω έρχεται σε σχέση με τον λαγόνιο, τον μείζονα φοίτη μυ και της περιτονίες τους. Προς τα μπρος έρχεται με το πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα, από το οποίο χωρίζεται με τις εντερικές έλικες (όταν είναι άδειο). Η θέση αυτού εξωτερικά αντιστοιχεί πάνω από το έξω ημιμόριο του βουβωνικού συνδέσμου. Σπάνια το τυφλό μπορεί να βρίσκεται ψηλότερα από το δεξιό λαγόνιο βόθρο ή να κρέμεται μέσα στην ελάσσονα πύελο, που είναι και η συνήθης θέση του, ή μπορεί να έχει και κάποια άλλη ανώμαλη θέση.

Στήριξη. Το κύριο στήριγμα αυτού είναι το περιτόναιο, που το περιβάλλει από παντού. Έστι το τυφλό γίνεται ευκίνητο και κρέμεται από πτυχή του περιτοναίου που λέγεται μεσότυφλο. Σπάνια (5%) το περιτόναιο καλύπτει το τυφλό μόνο από μπρος και το ακινητοποιεί στο δεξιό λαγόνιο βόθρο.

Στην **εξωτερική επιφάνεια** του τυφλού θα παρατηρήσουμε: α) εκκολπώματα, β) τρεις κολικές ταινίες (πρόσθια, οπίσθια-έσω και οπίσθια-έξω), γ) την έκφυση της σκωληκοειδούς απόφυσης και την έμφυση του ειλεού. Επιπλοϊκές αποφύσης δεν υπάρχουν.

Στην **εσωτερική επιφάνεια** του τυφλού θα παρατηρήσουμε: α) κολικές κυψέλες, β) μηνοειδείς πτυχές, γ) το στόμιο της σκωληκοειδούς απόφυσης και δ) την ειλεοκολική βαλβίδα.

Η **ειλεοκολική βαλβίδα** σχηματίζεται από την έμφυση του πέρατος του ειλεού στο παχύ έντερο, στη θέση που το τυφλό μεταπίπτει στο ανιόν κόλο.

Η **σκωληκοειδής απόφυση** εκπορεύεται κατά το όριο μεταξύ έσω και οπισθίου τοιχώματος του τυφλού, δύο περίπου εκ. κάτω από την έμφυση του ειλεού και παρουσιάζει τρία μέρη, τη βάση, το σώμα και την κορυφή. Περιβάλλεται παντού από περιτόναιο, είναι ευκίνητη και κρέμεται από περιτοναϊκή πτυχή που λέγεται μεσεντερίδιο.



1.2.2 ΤΟ ΚΟΛΟ

Το **κόλο** είναι η δεύτερη μοίρα του παχέος εντέρου και διακρίνεται στο ανιόν, στο εγκάρσιο, στο κατιόν και στο σιγμοειδές κόλον.

Το **ανιόν κόλο** έχει μήκος περίπου 15 εκ, αρχίζει από την ειλεοκολική βαλβίδα και φέρεται από πάνω μέχρι κάτω από το δεξιό λοβό του ήπατος, όπου κάμπτεται προς τ'αριστερά σχηματίζοντας την δεξιά κολική καμπή και μεταπίπτει στο εγκάρσιο κόλο. Το ανιόν κόλο καλύπτεται από το περιτόναιο μόνο από εμπρός και από τα πλάγια, ενώ η οπίσθια επιφάνεια συνάπτεται με χαλαρό συνδετικό ιστό με τα όργανα που βρίσκονται πίσω απ'αυτό (λαγόνιος μυς, τετράγωνος οσφυϊκός, κάτω τμήμα της πρόσθιας επιφάνειας του δεξιού νεφρού). Σπάνια περιβάλλεται από παντού με περιτόναιο και κρέμεται από μικρή πτυχή, το ανιόν μεσόκολο.

Το ανιόν κόλο εμφανίζει τρεις κολικές ταινίες (πρόσθια, οπίσθια-έξω και οπίσθια-έσω) και δύο στοίχους επιπλοϊκών αποφύσεων.

Η **δεξιά κολική καμπή** βρίσκεται κάτω από το δεξιό λοβό του ήπατος και εξωτερικά αντιστοιχεί στο 10ο πλευρικό χόνδρο.

Το **εγκάρσιο κόλο** έχει μήκος περίπου 50 εκ, αρχίζει από τη δεξιά κολική καμπή, φέρεται προς τ'αριστερά και πάνω φθάνοντας μέχρι το κάτω άκρο του σπληνός σχηματίζοντας την αριστερή κολική καμπή όπου μεταπίπτει στο κατιόν.

Το εγκάρσιο κόλο περιβάλλεται με περιτόναιο και κρέμεται από το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα με μια πλατιά πτυχή του περιτοναίου που λέγεται εγκάρσιο μεσόκολο. Στη στήριξη δε αυτού συμβάλλει και ο γαστροκολικός σύνδεσμος, ο οποίος παριστά την άνω μοίρα του μείζονος επιπλόου και συνδέει το μείζον τόξο του στομάχου με το εγκάρσιο κόλο.

Το εγκάρσιο κόλο εμφανίζει τη συνέχεια των τριών κολικών ταινιών του ανιόντος κόλου (μεσοκολική, επιπλοϊκή και ελεύθερη) και ένα στοίχο από επιπλοϊκές αποφύσεις.

Η **αριστερή κολική καμπή** βρίσκεται μεταξύ του κάτω άκρου του σπληνός και του αριστερού νεφρού και αντιστοιχεί στον 8ο αριστερό πλευρικό χόνδρο. Συγκρατιέται από μια πτυχή του περιτοναίου, τον φρενοκολικό σύνδεσμο.



Το κατιόν κόλο έχει μήκος περίπου 25 εκ, αρχίζει από την αριστερή κολική καμπή και φέρεται προς τα κάτω μέχρι το άνω στόμιο της ελάσσονος πυέλου, όπου μεταπίπτει στο σιγμοειδές κόλο. Το περιτόναιο το καλύπτει μόνο από εμπρός και τα πλάγια, ενώ η οπίσθια επιφάνειά του συνάπτεται με συνδετικό ιστό με τα όργανα που βρίσκονται πίσω του (έξω μοίρα του αριστερού νεφρού, τετράγωνος οσφυϊκός, λαγόνιος και μείζων ψοϊτης μυς). Σπάνια περιβάλλεται από περιτόναιο, οπότε και κρέμεται από βραχεία περιτοναϊκή πτυχή, το κατιόν μεσόκολο.

Το σιγμοειδές κόλο έχει μήκος περίπου 40 εκ, αρχίζει αριστερά από το άνω στόμιο της ελάσσονος πυέλου και φθάνει μέχρι μπροστά από τον τρίτο ιερό σπόνδυλο, όπου μεταπίπτει στο απευθυσμένο. Στην αρχή πορεύεται προς τα κάτω, στο αριστερό πλάγιο τοίχωμα της πυέλου μέχρι το πυελικό έδαφος. Ύστερα ανακάμπει προς τα δεξιά και άνω, όπου παρεμβάλλεται στο μεν άρρεν μεταξύ του απευθυσμένου και της ουροδόχου κύστης, στο δε θήλυ μεταξύ του απευθυσμένου και της μήτρας.

Το σιγμοειδές κόλο περιβάλλεται από περιτόναιο, κρέμεται από μια μακριά πτυχή του περιτοναίου, που ονομάζεται μεσοσιγμοειδές και γι' αυτό το λόγο είναι εξαιρετικά ευκίνητο.

1.2.3 Το απευθυσμένο

Το απευθυσμένο ή ευθύ ή ορθό έντερο έχει μήκος 15 εκ και είναι η συνέχεια του σιγμοειδούς, εκτείνεται δε από τον 3ο ιερό σπόνδυλο μέχρι τον αιμορροϊδικό δακτύλιο. Εμφανίζει δύο μοίρες, την ενδοπυελική και την περινεϊκή.

Το κύριο στήριγμα του ορθού είναι το περίνεο, το περιτόναιο, η περιτονία και τα αγγεία του. Το περιτόναιο καλύπτει τα άνω 2/3 από εμπρός και τα πλάγια. Από την πρόσθια επιφάνεια του απευθυσμένου το περιτόναιο ανακάμπει προς τα εμπρός, στο μεν άρρεν στην οπίσθια επιφάνεια της ουροδόχου κύστης (ευθυκυστικό κόλπωμα), στο δε θήλυ στην οπίσθια επιφάνεια του κολεού και της μήτρας (ευθυκολεϊκό, ευθυμητρικό κόλπωμα). Η περιτονία του απευθυσμένου περιβάλλει σαν έλυτρο το κατώτερο μέρος, ενώ προς τα πάνω υπάρχει μόνο πίσω απ' αυτό.



Η ενδοπυελική μοίρα του απευθυσμένου έρχεται σε σχέση με το ιερό οστό, τον κόκκυγα, τον απιοειδή μυ, το ιερό πλέγμα και το συμπαθητικό αυτόνομο νευρικό σύστημα, το ευθυκυστικό και το ευθυμητρικό κόλπωμα στο άρρεν και στο θήλυ αντίστοιχα. Μέσα σ'αυτά βρίσκονται εντερικές έλικες, το σιγμοειδές, ο πυθμένας της ουροδόχου κύστης, οι σπερματοδόχες κύστεις, ο προστάτης και το οπίσθιο τοίχωμα του κολεού.

Η περινεϊκή (πρωκτική) μοίρα ή πρωκτικός σωλήνας (μήκος 2-3 εκ.), φέρεται μέσα στους μυς του περινέου και φθάνει μέχρι τον πρωκτό. Στην εσωτερική επιφάνεια της περινεϊκής μοίρας βρίσκονται 8-10 επιμήκεις πτυχές του βλεννογόνου, οι πρωκτικοί στύλοι (στύλοι του Morgagni), που απολήγουν προς τα κάτω στον αιμορροϊδικό δακτύλιο, με πλατιά βάση. Ανάμεσα στους πρωκτικούς στύλους σχηματίζονται αύλακες, οι οποίες κοντά στον αιμορροϊδικό δακτύλιο μεταπίπτουν σε κολπώματα, τους πρωκτικούς κόλπους (κόλποι Morgagni). Τέλος, στο πέρας της περινεϊκής μοίρας παρατηρούμε ένα κυκλοτερές έπαρμα του βλεννογόνου, τον αιμορροϊδικό δακτύλιο, που έχει σαν υπόθεμα τον έσω σφιγκτήρα του πρωκτού. Η κυκλοτερής λεία μυϊκή στιβάδα του ορθού παχύνεται αντίστοιχα προς τον αιμορροϊδικό δακτύλιο και σχηματίζει τον έσω σφιγκτήρα του πρωκτού. Ο πρωκτός (ή δακτύλιος) αποτελείται από τον αιμορροϊδικό δακτύλιο και μια χωνοειδή κατάδυση του δέρματος, που λέγεται πρόδρομος του πρωκτού (2,3).

1.2.4 Αγγείωση του παχέος εντέρου

Το τυφλό, το ανιόν και το εγκάρσιο κόλο αγγειώνονται με κλάδους της **άνω μεσεντέριας αρτηρίας**, οι οποίοι είναι:

α) **Η μέση κολική αρτηρία**, η οποία φέρεται μέσα στο εγκάρσιο μεσόκολο και αποσχίζεται σε δύο κλάδους, τον δεξιό και τον αριστερό, που διανέμονται στο εγκάρσιο κόλο και εκτείνονται ως τις δύο αντίστοιχες κολικές καμπές. Αναστομώνονται δε αντίστοιχα με την δεξιά και την αριστερή κολική αρτηρία.

β) **Η δεξιά κολική αρτηρία** που φέρεται δεξιά μέχρι το ανιόν κόλο, όπου διαιρείται σε ανιόντα και κατιόντα κλάδο, οι οποίοι διανέμονται στο ανιόν κόλο. Ο ανιόντας κλάδος αναστομώνεται με την μέση κολική αρτηρία.



γ) Η **ειλεοκολική αρτηρία**, η οποία χορηγεί στην ειλεοτυφλική γωνία την τυφλική αρτηρία για το τυφλό, τον ειλεακό κλάδο για το τέλος του ειλεού και την σκωληκοειδή αρτηρία για την σκωληκοειδή απόφυση.

Το κατιόν κόλο, το σιγμοειδές και το μεγαλύτερο μέρος του ορθού αγγειώνονται με τους κλάδους της **κάτω μεσεντέριας αρτηρίας** που είναι:

1) Η **αριστερή κολική αρτηρία**, που διανέμεται στο κατιόν κόλο και η οποία αποσχίζεται σε ανιόντα και κατιόντα κλάδο. Ο πρώτος εκτείνεται μέχρι την αριστερή κολική καμπή και αναστομώνεται με την μέση κολική αρτηρία, ο δε δεύτερος αναστομώνεται με τη σιγμοειδή αρτηρία.

2) Η **σιγμοειδής αρτηρία**, η οποία διανέμεται στο σιγμοειδές κόλο και αναστομώνεται με την αριστερή κολική και την άνω αιμορροϊδική αρτηρία.

3) Η **άνω αιμορροϊδική αρτηρία** (ακρέμονας της κάτω μεσεντέριας), που διανέμεται στο μεγαλύτερο μέρος του απευθυσμένου και αναστομώνεται με τη σιγμοειδή αρτηρία. Το μικρότερο μέρος του απευθυσμένου αγγειώνεται από την μέση αιμορροϊδική (κλάδος της έσω λαγόνιας) και την κάτω αιμορροϊδική (κλάδος της έσω αιδοϊκής).

Οι παραπάνω αναστομώσεις είναι μεταξύ της άνω και της κάτω μεσεντέριας αρτηρίας (2). Οι μεγάλοι κλάδοι, όπως η ειλεοκολική, η δεξιά κολική, η αριστερή κολική και η σιγμοειδής αρτηρία, αναστομώνονται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να φτιάχνουν μια σειρά αρτηριακών τόξων με το κυρτό τους προς το παχύ έντερο. Αυτή η σειρά των αρτηριακών τόξων λέγεται **οριακή αρτηρία του Dirimmond**. Απ'αυτή φεύγουν τα ευθέα αγγεία τα οποία αγγειώνουν κατά μήκος το κόλο και τροφοδοτούνται από την άνω, κάτω μεσεντέρια και υπογάστρια αρτηρία. Το σημείο ένωσης της άνω και κάτω μεσεντέριας αρτηρίας λέγεται σημείο του **Griffith**. Το σημείο ένωσης της κάτω μεσεντέριας αρτηρίας και των υπογαστρικών αγγείων καλείται κριτικό σημείο του **Sudeck**. Το κόλο είναι περισσότερο ευαίσθητο για ισχαιμικές αλλοιώσεις σ'αυτές τις δυο περιοχές (4). Τέλος, στην περιοχή της αριστερής κολικής καμπής η οριακή αρτηρία είναι συχνά στενή, με αποτέλεσμα την ελάττωση της αιματικής ροής στην περιοχή αυτή. Τα ευθέα αγγεία διακλαδίζονται μέσα στον υποβλεννογόνο χιτώνα φτιάχνοντας ένα τριχοειδικό δίκτυο, το οποίο είναι περισσότερο λειτουργικό γύρω από τα ώριμα απορροφητικά κύτταρα του επικαλυπτικού επιθηλίου. Αυτό το δίκτυο μπορεί να θεωρηθεί σαν ένα "εντερικό σπείραμα". Τα τριχοειδή του εγγύς κόλου (τυφλό, ανιόν) είναι



περισσότερο θυριδωτά, συγκρινόμενα μ'αυτά του άπω κόλου, επιτρέποντας έτσι την απορρόφηση του νερού (4).

Τα φλεβίδια αποχετεύουν το αίμα από το κόλο δημιουργώντας ένα υποβλεννογόνο δίκτυο και ένα δεύτερο, λιγότερο καλά οργανωμένο δίκτυο έξω από την βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα. Οι φλέβες του τυφλού, του ανιόντος και του εγκαρσίου κόλου (ειλεοκολική, δεξιά κολική και μέση κολική φλέβα) αποχετεύουν στην **άνω μεσεντέρια φλέβα**. Ομοίως, του κατιόντος κόλου, σιγμοειδούς και του μεγαλύτερου μέρους του απευθυσμένου (άνω αιμορροϊδική, σιγμοειδική, αριστερή κολική φλέβα) αποχετεύουν στην **κάτω μεσεντέρια φλέβα**. Οι φλέβες της κατώτερης μοίρας του απευθυσμένου (μέση και κάτω αιμορροϊδική) εκβάλλουν στην **έσω λαγόνια φλέβα** και μ'αυτήν στο σύστημα της **κάτω κοίλης φλέβας**. Τέλος, η **άνω, η μέση και η κάτω αιμορροϊδική** σχηματίζουν το αιμορροϊδικό πλέγμα, που βρίσκεται κάτω από το βλεννογόνο της περινεϊκής μοίρας του απευθυσμένου. Σ'αυτήν την περιοχή έχουμε αναστόμωση της πυλαίας και κάτω κοίλης φλέβας (2).

1.2.5 Λεμφικό σύστημα του παχέος εντέρου.

Τα λεμφαγγεία αρχίζουν σαν **τριχοειδικό πλέγμα** το οποίο τυλίγεται γύρω από την βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα. Από εκεί εκπορεύονται μικροί κλαδίσκοι με τυφλό άκρο μέσα στο βλεννογόνο και φθάνουν όχι υψηλότερα από τις βάσεις των κρυπτών του Lieberkuhn. Από εκεί πορεύονται στον υποβλεννογόνο, αναστομώνονται μεταξύ τους και σχηματίζουν δίκτυο γύρω από τον μυϊκό χιτώνα(4). Από την συμβολή των τριχοειδών αυτών σχηματίζονται τα **προσαγωγά λεμφαγγεία** των αντίστοιχων τμημάτων του παχέος εντέρου και περνούν μέσα στους **επιχώριους λεμφαδένες**, οι οποίοι είναι:

α) Οι παρακολικοί, που βρίσκονται κατά μήκος του ενός χείλους του ανιόντος και κατιόντος κόλου και του μεσεντερικού χείλους του εγκαρσίου και σιγμοειδούς κόλου. **β) Οι μεσοκολικοί**, οι οποίοι βρίσκονται στη διαδρομή της δεξιάς, μέσης και αριστερής κολικής αρτηρίας. **γ) Οι αιμορροϊδικοί και ευθυπρωκτικοί**, που βρίσκονται στις αποσχίσεις της άνω και μέσης αιμορροϊδικής αρτηρίας και συλλέγουν την λέμφο από το απευθυσμένο. **δ) Οι ειλεοκολικοί (10-20)** που βρίσκονται στη διαδρομή της ειλεοκολικής αρτηρίας



και αθροίζουν λέμφο από την σκωληκοειδή απόφυση, το τυφλό και το πέρας του ειλεού.

Τα απαγωγά λεμφαγγεία ξεκινούν από τους επιχώριους, πορεύονται κατά μήκος των φλεβών και εκβάλλουν στους άνω, κάτω μεσεντέριους και έσω λαγόνιους λεμφαδένες(2).

1.2.6 Νεύρωση του παχέος εντέρου

Τα νεύρα του παχέος εντέρου (μέχρι το απευθυσμένο), **συμπαθητικά** και **παρασυμπαθητικά**, φέρονται με το άνω και το κάτω μεσεντέριο πλέγμα και απολήγουν στο μεσεντερικό πλέγμα του **Auerbach** και στο υποβλεννογόνιο πλέγμα του **Meissner**. Οι παρασυμπαθητικές ίνες μέχρι την αριστερή κολική καμπή προέρχονται από το πνευμονογαστρικό νεύρο, από την καμπή όμως και κάτω το παχύ έντερο δέχεται παρασυμπαθητικές ίνες από τα πνευλικά νεύρα. Στο απευθυσμένο, τα μεν συμπαθητικά προέρχονται από το άνω και μέσο αιμορροϊδικό πλέγμα, τα δε παρασυμπαθητικά από το 3^ο-4^ο ιερό νεύρο(4).



1.3 ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.

Το τοίχωμα του παχέος εντέρου αποτελείται από τέσσερις χιτώνες, οι οποίοι απ'έξω προς τα μέσα είναι οι εξής:

α) Ο ορογόνος χιτώνας, ο οποίος προέρχεται από το περισπλάγγνιο πέταλο του περιτοναίου.

β) Ο μυϊκός χιτώνας, ο οποίος αποτελείται από μία έσω κυκλοτερή και μία έξω επιμήκη μυϊκή στιβάδα. Η τελευταία δεν είναι συνεχής, αλλά συγκεντρώνεται σε τρεις ταινίες, τις κολικές ταινίες. Μεταξύ των δύο μυϊκών στιβάδων υπάρχουν τα μυεντερικά πλέγματα του Auerbach.

γ) Ο υποβλεννογόνιος χιτώνας ή χόριο, που αποτελείται από συνδετικό ιστό, λιποκύτταρα, αγγεία και νεύρα. Σ'αυτόν υπάρχουν τα πλέγματα του Meissner.

δ) Η βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα, η οποία είναι καλά αναπτυγμένη, έχει ίνες εσωτερικά κυκλοτερείς και εξωτερικά επιμήκεις. Στέλνει δε λείες μυϊκές ίνες μέσα στο χόριο(3) .

ε) Ο βλεννογόνος του παχέος εντέρου, διπλασιάζει το πάχος του κατά την πορεία του από το τυφλό προς το ορθό. Η επιφάνεια του παχέος εντέρου είναι διευθετημένη κατά ομαλό γεωγραφικό τρόπο, σε ένα επίπεδο, μεγάλης επιφάνειας εντερικό βλεννογόνο, ομαλά στιγματισμένο, όπου ανοίγουν οι κρύπτες του Lieberkuhn. Αυτές έχουν μήκος περίπου 0,5 mm, εκτείνονται από τον εντερικό αυλό ως την βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα και αθροίζονται σε ομάδες των πέντε ή έξι, διαχωριζόμενες με βαθιές αύλακες. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, διαπιστώνεται ότι, ο μακροσκοπικά ομαλός, επίπεδος βλεννογόνος αποτελείται από ομαλά αλληλοσυνδεόμενες περιοχές που περιέχουν 10 έως 100 παράλληλες κρύπτες του Lieberkuhn, με στόμια διαμέτρου 25 έως 50 μm, διαχωριζόμενα και εμβυθισμένα σε ομάδες. Γύρω από την κάθε ομάδα υπάρχει ένας όχθος από κυλινδρικά κύτταρα (3,4). Η βλέννη εκκρίνεται από τις ανοιγόμενες κρύπτες του Lieberkun και καλύπτει την επιφάνεια του βλεννογόνου, η οποία αποτελείται από απορροφητικά κύτταρα και τα ανώμαλα, διεσπαρμένα μεταξύ αυτών, ώριμα καλυκοειδή κύτταρα. Αυτά αναγνωρίζονται από τις ανώμαλες μικρολάχνες αφ'ένός και από τις σταγόνες της βλέννης αφ'ετέρου. Οι κρύπτες επενδύονται από αλληλοεπικαλυπτόμενα, απορροφητικά καλυκοειδή κύτταρα και μικρό αριθμό

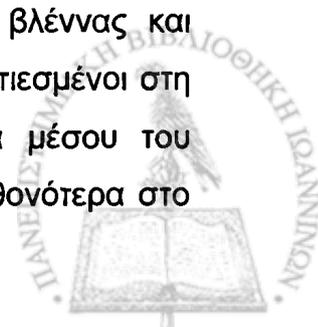


ενδοκρινικών κυττάρων. Μεμονωμένα απορροφητικά κύτταρα έχουν γεωμετρικό σχήμα και φυσιολογικά επικαλύπτονται από ομαλά διασκορπισμένες μικρολάχνες με οζώδη άκρα .

Το φυσιολογικό επιθήλιο του παχέος εντέρου συνίσταται από:

α) αδιαφοροποίητα κύτταρα, β) ώριμα καλυκοειδή κύτταρα, γ) ανώριμα απορροφητικά κύτταρα, δ) ώριμα απορροφητικά και ε) αργυρόφιλα κύτταρα , με φυσιολογικό πρότυπο διαφοροποίησης των κυττάρων, προχωρώντας από την βάση των κρυπτών προς την επιφάνεια του επικαλυπτικού επιθηλίου (9). Τα αδιαφοροποίητα κύτταρα εντοπίζονται στο κατώτερο 1/2 των κρυπτών. Τα πλάγια των κρυπτών σχηματίζονται από βλεννοεκκριτικά, ανώριμα και σπάνια ενδοκρινικά κύτταρα. Το επικαλυπτικό επιθήλιο που υπάρχει μεταξύ των κρυπτών αποτελείται από καλυκοειδή και ώριμα απορροφητικά κύτταρα. Τα βασικά ανώριμα κύτταρα χαρακτηρίζονται από πολυάριθμα ριβοσωμάτια και λίγα κυτταρικά οργανίδια, ο πυρήνας τους είναι εσπειραμένος και περιέχει ευκρινές πυρηνίσκο. Όσο τα κύτταρα διαφοροποιούνται, το κυτταρόπλασμα τους γίνεται πυκνότερο και αυτό οφείλεται στην εμφάνιση του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου (RER). Φαίνονται δε μικρές, σταγόνες έκκρισης, όμοιες μ'αυτές των ώριμων καλυκοειδών κυττάρων. Τα περισσότερα από τα κύτταρα που επενδύουν το άνω 1/2 των κρυπτών, διατάσσονται σε διπλό στοίχο και εδώ εντοπίζεται η ζώνη μετάπτωσης των μερικώς διαφοροποιημένων κυττάρων, τα οποία μπορούν ακόμη να υφίστανται μίτωση. Τα ανώριμα κύτταρα περιέχουν μικρό αριθμό κυστιδίων με ινιδικές γλυκοπρωτεΐνες που συμμετέχουν στην δημιουργία του γλυκοκάλυκα. Εκτός αυτού, αυτά συνθέτουν ένα σύνθετο δίκτυο από ινίδια των 10 nm που περιβάλλουν τους πυρήνες και σχηματίζουν εκτεταμένες δεσμίδες στον τελικό ιστό. Αυτό φαίνεται και στα ενδιάμεσα ινίδια, τα οποία αναχωρούν από τα πλάγια των δεσμοσωματίων . Αναλυτικότερα :

Τα καλυκοειδή ή λαγηνοειδή κύτταρα αν και καταλαμβάνουν πολύ μεγαλύτερο όγκο, είναι αριθμητικά πολύ λιγότερα από τα κυλινδρικά κύτταρα. Ένα καλυκοειδές αντιστοιχεί για κάθε τέσσερα κυλινδρικά κύτταρα. Όσο αυτά διαφοροποιούνται, προοδευτικά, πληρούνται από σταγονίδια βλέννας και μεταναστεύουν προς την επιφάνεια. Οι πυρήνες τους είναι συμπιεσμένοι στη βάση του κυττάρου και η έκκριση της βλέννας γίνεται δια μέσου του ανοίγματος των κυττάρων με εξωκύτωση. Αυτά υπάρχουν αφθονότερα στο



σιγμοειδές και στο ορθό. Πρώιμη έκκριση βλέννας μπορεί να παρατηρηθεί στη βάση των κρυπτών στα αδιαφοροποίητα και στα ανώριμα καλυκοειδή κύτταρα. Σ' αυτή την περιοχή, τα σταγονίδια της βλέννας έχουν ποικίλο μέγεθος και σχήμα, περιέχουν δε δικτυωτές ίνες. Το κυτταρόπλασμα των καλυκοειδών περιέχει άφθονα ριβοσωμάτια που εφάπτονται στην έξω επιφάνεια της μεμβράνης, επιμηκύνοντας έτσι τους χώρους του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου. Οι χώροι αυτοί είναι παράλληλοι στα πλάγια του κυττάρου ή στο περίγραμμα του πυρήνα. Το σύστημα του Golgi εντοπίζεται κάτω από τον πυρήνα. Οι μικρολάχνες έχουν ανώμαλο σχήμα, είναι ακανόνιστες, βραχύτερες και πυκνότερες απ' αυτές των απορροφητικών κυττάρων. Όσο τα κύτταρα διαστέλλονται, τόσο οι μικρολάχνες γίνονται αραιότερες. Τα καλυκοειδή κύτταρα εκκρίνουν θειούχα-υδρογονανθρακικά πρωτεϊνικά συμπλέγματα, τα οποία συνθέτονται στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο και μετά γλυκοσιλιώνονται, θειώνονται και ενσωματώνονται στο δίκτυο του Golgi. Τα σταγονίδια της βλέννας μεταναστεύουν στην κορυφή της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και εξωκυττώνονται. Η σύνθεση και έκκριση της βλέννας συμβαίνει συνέχεια σ' όλη την κυτταρική ζωή. Υπάρχει διαφορά στην σύνθεση της βλέννας μεταξύ του αριστερού και του δεξιού τμήματος του παχέος εντέρου. Στο αριστερό κόλο και ορθό οι βλέννες είναι περισσότερο όξινες γιατί επικρατούν οι θειϊκές, ενώ στο δεξιό κόλο και τυφλό είναι λιγότερο όξινες γιατί επικρατούν οι σιαλικές.

Τα **υψηλά κυλινδρικά** ή (απορροφητικά) κύτταρα είναι ο πιο συχνός τύπος επιθηλιακού κυττάρου του παχέος εντέρου. Είναι στενά, λεπτοφυή κύτταρα και δίνουν την εντύπωση ότι αποτελούν την μειονότητα γιατί συμπιέζονται ανάμεσα στα πολύ μεγαλύτερα βλεννοπαραγωγά (καλυκοειδή) κύτταρα. Τα ώριμα απορροφητικά κύτταρα πιστεύεται ότι φέρουν σε πέρας την αλατοαπορροφητική και υδατοαπορροφητική λειτουργία του παχέος εντέρου. Τους λείπουν τα ένζυμα της ψηκτροειδούς παρυφής και έτσι δεν συμμετέχουν στην πεπτική αποδόμηση, έχουν όμως ευδιάκριτους πλάγιους μεσοκυττάριους χώρους, γεγονός που υπονοεί ενεργητική μεταφορά υγρού.

Επιπλέον, είναι καλά εξοπλισμένα με ΑΤΡασες Na^+ και K^+ στις πλάγιες κυτταρικές μεμβράνες. Τα απορροφητικά κύτταρα έχουν πολυάριθμες, μικρές με ομοιόμορφο σχήμα μικρολάχνες, ψηκτροειδή παρυφή και υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορούν να παράγουν και να εκκρίνουν έναν ουδέτερο



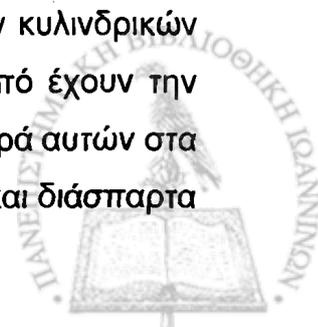
πολυσακχαρίτη που είναι θετικός στην ιστοχημική χρώση υπερωδικού οξέος για βλέννη (Periodic Acid – Schiff, PAS) και είναι πιθανά υλικό του γλυκοκάλυκα. Οι μικρολάχνες αυξάνονται σε αριθμό και επιμηκύνονται όσο τα κύτταρα πλησιάζουν στην επιφάνεια. Στο κυτταρόπλασμα των απορροφητικών κυττάρων υπάρχουν μιτοχόνδρια, σταγονίδια λιπιδίων, λυσοσωμάτια και κορυφαία κυστίδια. Ο πυρήνας αυτών είναι στρογγυλός και τοποθετημένος στη βάση.

Τα ενδοκρινικά κύτταρα στο παχύ έντερο είναι σχετικά λίγα σε αριθμό και βρίσκονται διάσπαρτα ανάμεσα στους άλλους τύπους κυττάρων, κυρίως στο κατώτερο ήμισυ κάθε σωληνώδους κατάδυσης. Έχουν πλατιά βάση, ενώ στενεύουν προς την προσαύλια επιφάνειά τους που καλύπτεται από μικρολάχνες. Τα νευροενδοκρινικά τους κοκκία είναι τοποθετημένα ανάμεσα στη βάση και τον πυρήνα. Στο τυφλό επικρατούν τα αργενταφινικά ενδοκρινή κύτταρα, ενώ στο ορθό τα αργυρόφιλα. Ανοσοϊστοχημικά αποδεικνύεται ότι παράγουν σεροτονίνη, μπομπεσίνη (κύτταρα P), παγκρεατικά πεπτίδια, γλυκαγόνο και σωματοστατίνη.

Τα αρχέγονα κύτταρα. Εκτός από τα παραπάνω κύτταρα, στη βάση των κρυπτών υπάρχουν τα βαθυχρωματικά αρχέγονα κύτταρα (Stem cells), τα οποία έχουν υψηλό πυρηνοκυτταροπλασματικό λόγο. Αυτά μπορούν να διαφοροποιηθούν είτε σε βλενώδη ή κυλινδρικά, είτε σε ενδοκρινή κύτταρα του παχέος εντέρου. Διάσπαρτα κύτταρα Paneth βρίσκονται συνήθως στο βλεννογόνο του τυφλού και του ανιόντος κόλου.

Στο χόριο του παχέος εντέρου υπάρχει λεμφικός ιστός τύπου GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue). Όπως και στο λεπτό έντερο, τα διάσπαρτα εξωεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα είναι T και μάλιστα περισσότερο T4, ενώ τα αθροιζόμενα σε λεμφοζίδια είναι κυρίως B (μέρος του GALT), καθώς και ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα.

Το επιθήλιο πάνω από τις λεμφοζιδιακές αθροίσεις παρουσιάζει πυκνά διατασσόμενα και περισσότερο υψηλά, τα κυλινδρικά απορροφητικά κύτταρα. Το φαινόμενο αυτό ίσως έχει σχέση με την πρόσληψη και το χειρισμό μεγαλομοριακών αντιγόνων και είναι ανάλογα των μεμβρανικών κυλινδρικών κυττάρων M (membranous cells) του λεπτού εντέρου που σκοπό έχουν την πρόσληψη από τον εντερικό αυλό των αντιγόνων και την μεταφορά αυτών στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Στο χόριο υπάρχουν και διάσπαρτα



μακροφάγα, ορισμένα από τα οποία είναι PAS-θετικά. Τα τελευταία αντιστοιχούν σε βλεννοφάγα κύτταρα ή σε δενδριτικά κύτταρα που σχετίζονται με την επεξεργασία και προβολή των αντιγόνων και είναι συχνότερα στο ορθό. Κατά διαστήματα, υπάρχουν μεγαλύτεροι λεμφοζιδιακοί σχηματισμοί που διασπούν την βλεννογόνια μυική στιβάδα και εκτείνονται στον υποβλεννογόνιο χιτώνα.

Ανοσοϊστοχημικά το επιθήλιο του παχέος εντέρου είναι αρνητικό στο CALLA ή CD-10 (ουδέτερη ενδοπεπτιδάση, neutral Endopeptidase) και πρακτικά αρνητικό στα αντιγόνα HLA-DR (Human Leucocyte Antigen System)(3,4,5).



1.4 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Μία από τις κυριότερες λειτουργίες του παχέος εντέρου είναι η απορρόφηση ηλεκτρολυτών και νερού, μετατρέποντας έτσι τα 400-1500 ml ισότονου χυμού, που διοχετεύονται μέσα σ'αυτό ημερήσια από τον ειλεό, σε 150 γραμμάρια περίπου ημιστερεών κοπράνων. Η ειλεοκολική βαλβίδα φυσιολογικά παραμένει κλειστή. Με την άφιξη όμως ενός περισταλτικού κύματος του λεπτού εντέρου αυτή ανοίγει για μικρό χρονικό διάστημα και επιτρέπει έτσι την διοχέτευση προς το παχύ έντερο μικρής ποσότητας χυμού. Κατά τη διοχέτευση της τροφής από το στομάχι προς το λεπτό έντερο, το τυφλό υφίσταται χάλαση και έτσι επιτείνεται η διοχέτευση του χυμού δια μέσου της ειλεοκολικής βαλβίδας (γαστροειλεϊκό αντανακλαστικό). Αυτό αποτελεί αντανακλαστικό, το οποίο επιτελείται μέσω του πνευμονογαστρικού νεύρου (παρασυμπαθητικό σύστημα). Ο ερεθισμός όμως του συμπαθητικού συστήματος έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του τόνου της ειλεοκολικής βαλβίδας και το κλείσιμό της.

Οι κινήσεις του παχέος εντέρου συμπεριλαμβάνουν ενδογενείς μεταβολές του τόνου και συστολές κατατμήσεων. Με τις κινήσεις αυτές πραγματοποιείται η ανάμιξη του περιεχομένου του παχέος εντέρου. Με την αύξηση της επαφής του βλεννογόνου με το περιεχόμενο υποβοηθείται η απορρόφηση. Με τα περισταλτικά κύματα γίνεται η προώθηση του περιεχομένου προς το ορθό, περιστασιακά όμως παρατηρούνται ασθενείς αντιπερισταλτικές κινήσεις. Μαζικές κινήσεις, οι οποίες συνιστούνται από ισχυρές περισταλτικές κινήσεις, παρατηρούνται δύο ή τρεις φορές την ημέρα. Όπως και τα υπόλοιπα περισταλτικά κύματα, οι μαζικές κινήσεις αρχίζουν μετά από μία τοπική διάταση του παχέος εντέρου και είναι ανεξάρτητες από την εξωγενή νεύρωση, ενώ δεν παρατηρούνται όταν έχει υποστεί βλάβη το μυεντερικό πλέγμα του Auerbach. Με τις μαζικές κινήσεις προωθούνται μεγάλα ποσά του περιεχομένου του παχέος εντέρου σε σημαντική απόσταση. Αυτές φυσιολογικά δεν γίνονται αισθητές και δεν έχουν καμιά άμεση σχέση με την αφόδευση. Συνήθως απαιτούνται 3 έως 4 μαζικές κινήσεις για να προωθηθεί το περιεχόμενο του εντέρου από τον ειλεό μέχρι το ορθό. Οι κινήσεις του παχέος εντέρου φαίνονται να συντονίζονται από ένα βραδύ κύμα διέγερσης,



του οποίου η συχνότητα βαίνει αυξανόμενη από 2 λεπτά στην ειλεοκολική βαλβίδα, σε 6 λεπτά στο σιγμοειδές.

Η έκκριση βλέννας από τους αδένες του παχέος εντέρου διεγείρεται από την επαφή του περιεχομένου με τα βλενώδη κύτταρα. Η έκκριση αυτή είναι ανεξάρτητη από κάποια ορμονική ή νευρική διέγερση, αν και μία επιπρόσθετη έκκριση μπορεί να προκληθεί δια μέσου τοπικών αντανακλαστικών απαντήσεων, οι οποίες πραγματοποιούνται δια μέσου των πνευλικών και σπλαγχνικών νεύρων. Το έκκριμα των αδένων του παχέος εντέρου δεν περιέχει πεπτικά ένζυμα. Ο βλεννογόνος του παχέος εντέρου διαθέτει μεγάλη απορροφητική ικανότητα. Ιόντα νατρίου απορροφώνται ενεργητικά μέσω της αντλίας K^+ , Na^+ ATPάσης, ενώ το νερό ακολουθεί παθητικά λόγω του υπάρχοντος ωσμωτικού πρηνούς. Παρατηρείται επίσης απέκκριση ιόντων K^+ και HCO_3^- προς τον αυλό του παχέος εντέρου. Επίσης, ο βλεννογόνος του παχέος εντέρου απορροφά και πρωτεΐνες από τον αυλό του.

Μέσα στον αυλό του παχέος εντέρου ανευρίσκονται μικροοργανισμοί, οι οποίοι συμπεριλαμβάνουν όχι μόνο βακίλλους, όπως είναι το κολοβακτηρίδιο (*Escherichia coli*) και ο αεριογόνος εντερόκοκκος (*Enterobacter aerogenus*), αλλά και διάφορους τύπους κόκκων, όπως είναι το κλωστηρίδιο *welchii* (*Clostridium welchii*) και οι βάκιλλοι της αεριογόνου γάγγραινας, οι οποίοι είναι δυνατόν να προκαλέσουν βαρεία νόσο σε ιστούς που βρίσκονται πέρα από το παχύ έντερο. Μεγάλος όγκος μικροοργανισμών αποβάλλεται με τα κόπρανα. Κατά τη γέννηση, το παχύ έντερο του νεογνού είναι στείρο μικροβίων, η εντερική του όμως βακτηριακή χλωρίδα εγκαθίσταται πολύ νωρίς. Με την επίδραση των μικροοργανισμών γίνεται η συμπληρωματική πέψη των υδατανθράκων (κυτταρίνη) και η σηπτική επεξεργασία των λευκωμάτων. Προϊόντα μεταβολισμού της εντερικής χλωρίδας είναι η βιταμίνη K, καθώς και οι βιταμίνες B₁, B₂, B₁₂, βιοτίνη, νιασίνη και το φολικό οξύ, μέρος του οποίου επαναρροφάται. Η αμμωνία παράγεται εντός του παχέος εντέρου και επαναρροφάται. Στο κεντρικό τμήμα του παχέος εντέρου επιτελείται κυρίως η απορρόφηση του νερού και των ηλεκτρολυτών έτσι ώστε το περιεχόμενό του να μετατραπεί σε ημιστερεά κατάσταση, ενώ στο περιφερικό τμήμα αυτού γίνεται η εναποθήκευσή του.

Φαίνεται ότι το παχύ έντερο έχει ανοσολογικές και ενδοκρινικές λειτουργίες. Οι ανοσολογικές επιτελούνται από την πληθώρα των λεμφοζιδίων της



σκωληκοειδούς απόφυσης, του ορθού και ολόκληρου του υποβλεννογόνιου χιτώνα του υπολοίπου παχέος εντέρου, ενώ η ενδοκρινική λειτουργία επιτελείται από τον ετερογενή πληθυσμό των ενδοκρινικών κυττάρων (3,4,6).



1.5 ΚΑΛΟΗΘΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ

1.5.1 Επιθηλιακοί πολύποδες

Ο όρος πολύποδας είναι περιγραφικός και αναφέρεται σε κάθε περιγραπτη ογκοειδή επεξεργασία που προβάλλει πάνω από την επίπεδη επιφάνεια μιας φυσιολογικής βλεννογονικής μεμβράνης. Οι πολύποδες του παχέος εντέρου στην πλειοψηφία τους είναι επιθηλιακής προέλευσης. Μπορούν να ταξινομηθούν σε πέντε διαφορετικές κατηγορίες, αναγνωρίζοντας και την ύπαρξη ενδιάμεσων μορφών.

A) Αδενωματώδεις πολύποδες (αδενώματα). Η συχνότητά τους αυξάνει με την πάροδο της ηλικίας (30 % έως 35% στους ενήλικες). Στα άτομα της μαύρης φυλής εμφανίζονται με μικρότερη συχνότητα απ' ό,τι στα άτομα της λευκής, με υπεροχή στην εντόπισή τους στο δεξιό κόλο. Αυτοί βρίσκονται σε ποσοστό 40% στο δεξιό και αριστερό κόλο αντίστοιχα και 20% στο ορθό. Στην εμφάνιση αυτών φαίνεται να παίζει ρόλο μια κληρονομική προδιάθεση, η οποία κληρονομείται με ένα αυτοσωματικό επικρατές γονίδιο. Οι περισσότεροι πολύποδες, κλινικά, είναι ασυμπτωματικοί, αλλά μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα αιμορραγία από συστροφή ή αγγειακή απόφραξη. Εάν είναι μεγάλοι σε μέγεθος, μπορεί να έχουμε αλλαγές στις συνήθειες του παχέος εντέρου ή και εγκολεασμό.

Μακροσκοπικά, οι περισσότεροι έχουν διάμετρο μεγαλύτερη του ενός εκ. Μπορεί να είναι άμισχοι ή έμμισχοι , μονήρεις ή πολλαπλοί. Οι τελευταίοι έχουν την τάση να αθροίζονται κατά εστίες. Όταν είναι έμμισχοι, μπορεί να έχουν βραχύ ή μακρύ μίσχο, ο οποίος έρχεται σε επαφή με μια στενή βάση. Οι άμισχοι μπορεί να προβάλλουν, να είναι επίπεδοι ή εμβυθισμένοι .

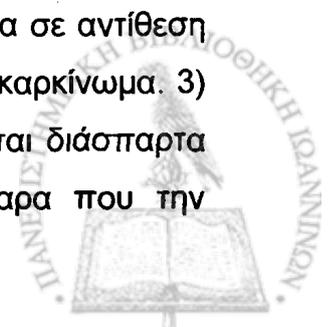
Μικροσκοπικά, παρατηρείται αύξηση του αριθμού των αδενίων και των αδενικών κυττάρων για κάθε μονάδα επιφάνειας του πολύποδα, συγκρινόμενη με τον αντίστοιχο φυσιολογικό βλεννογόνο. Τα κύτταρα των αδενίων είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος, έχουν επιμήκεις, υπερχρωματικούς πυρήνες, με αύξηση του αριθμού των μιτώσεων, μερικές από τις οποίες μπορεί να είναι άτυπες. Δεν παρατηρούνται αξιοσημείωτες μορφολογικές διαφορές μεταξύ των προβαλλόντων, επιπέδων και εμβυθισμένων αδενωματωδών πολυπόδων. Η παραγωγή της βλέννας ποικίλλει αλλά συνήθως είναι ελαττωμένη. Η βασική



μεμβράνη δεν είναι παχυσμένη. Οι αλλαγές γίνονται εμφανείς πρώτα στις επιφανειακές θέσεις των αδενίων. Οι αδενωματώδεις πολύποδες έχουν εστιακά θηλώδη διαμόρφωση. Με βάση αυτά διακρίνονται ιστολογικά σε τρεις υποκατηγορίες στο **σωληνώδη αδενωματώδη**, που χαρακτηρίζεται από σωληνώδεις σχηματισμούς, στο **λαχνωτό αδενωματώδη**, που χαρακτηρίζεται από θηλώδη ή λαχνωτή διάταξη των υπερπλαστικών επιθηλιακών κυττάρων και στο **σωληνολαχνωτό αδενωματώδη πολύποδα**, που χαρακτηρίζεται από σωληνώδεις, λαχνωτούς ή θηλώδεις επιθηλιακούς σχηματισμούς. Η θηλώδης διαμόρφωση αυξάνεται ευθέως ανάλογα με το μέγεθος του πολύποδα, φθάνοντας σε ποσοστό 76% για πολύποδες με διάμετρο μεγαλύτερη του 1 εκ.

Όλες οι παραπάνω υποκατηγορίες αποτελούν διαφορετικές ιστολογικές μορφές ανάπτυξης της ίδιας παθολογικής οντότητας. Κοινό χαρακτηριστικό τους είναι οι μορφολογικές κυτταρικές μεταβολές της επιθηλιακής δυσπλασίας ή ατυπίας, ο βαθμός της οποίας είναι σχετικός με την ηλικία του ασθενούς, τον αριθμό των υπάρχοντων πολυπόδων στο παχύ έντερο, το μέγεθος του πολύποδα και την παρουσία θηλωδών σχηματισμών. Η ατυπία μπορεί να διαβαθμισθεί από ελαφρού έως ικανού και σοβαρού βαθμού. Η τελευταία είναι ταυτόσημη με το αδενοκαρκίνωμα *in situ*. Μερικές φορές μέσα στην βλεννογόνια μυική στιβάδα των αδενωματωδών πολυπόδων παρατηρούμε ομάδες εγκλωβισμένων άτυπων αδενίων καθώς και λίμνες βλέννας. Αυτή προέρχεται όταν μερικά νεοπλασματικά αδένια διαταθούν κυστικά και ραγούν και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να έχουμε τον σχηματισμό λιμνών βλέννας. Τα παραπάνω μπορούν να μας οδηγήσουν στην εσφαλμένη διάγνωση της κακοήθους εξαλλαγής. Τα χαρακτηριστικά που μας βοηθούν στην αναγνώριση αυτών είναι τα ακόλουθα:

1) Τα κυτταρικά χαρακτηριστικά των εγκλωβισμένων αδενίων στη βλεννογόνια μυική στιβάδα είναι ίδια με αυτά των επιφανειακών αδενίων και του επικαλυπτικού επιθηλίου. 2) Το στρώμα που βρίσκεται γύρω απ' αυτά τα αδένια είναι χαλαρό, φλεγμονωδώς διηθημένο και περικλείει δεσμίδες λείων μυικών ινών, οι οποίες ανήκουν στην βλεννογόνια μυική στιβάδα σε αντίθεση με την δεσμοπλαστική αντίδραση που τα αντικαθιστά στο αδενοκαρκίνωμα. 3) Στο στρώμα επίσης γύρω απ'τα εγκλωβισμένα αδένια βρίσκονται διάσπαρτα άφθονα κοκκία αιμοσιδηρίνης, καθώς και αφρώδη ιστοκύτταρα που την



φαγοκυτταρώνουν. 4) Οι λίμνες βλέννας δεν περιέχουν επιθηλιακά κύτταρα του πολύποδα. Αυτή η ψευδοκαρκινωματώδης διήθηση είναι το αποτέλεσμα συστρόφης του μίσχου του πολύποδα. Ανάλογες αλλοιώσεις μπορούν να παρατηρηθούν μετά τη λήψη βιοψίας. Στο στρώμα του πολύποδα παρατηρείται ήπια ή και μέτρια φλεγμονώδης αντίδραση. Σπάνια ο πολύποδας έχει μοροειδή εμφάνιση, εστιακή πλακώδη μετάπλαση, ελάχιστα κύτταρα *paneth* και ενδοκρινή κύτταρα (Grimelius - θετικά). Σπάνια, μπορεί να συμβαίνει το φαινόμενο της μαλακοπλακίας του στρώματος του πολύποδα, η εμφάνιση οστέινης μετάπλασης ή και η παρουσία μεταστάσεων από άλλες νεοπλασίες στον πολύποδα(4,7,8).

B) Οι " Aberrant crypts " έχουν περιγραφεί στο παχύ έντερο πειραματοζώων μετά από λήψη καρκινογόνων ουσιών. Παρόμοιες αλλοιώσεις έχουν παρατηρηθεί και στο ανθρώπινο παχύ έντερο.

Μικροσκοπικά, οι κρύπτες είναι επιμηκυσμένες, υπερπλαστικές και εστιακά παρατηρείται επιθηλιακή δυσπλασία. Ο όρος αυτός είναι ταυτόσημος με το μέχρι τώρα χρησιμοποιούμενο "μικροαδένωμα".

Η θεραπεία των αδενωματωδών πολυπόδων είναι η ενδοσκοπική αφαίρεσή τους. Η πιθανότητα επανεμφάνισης νέων αδενωματωδών πολυπόδων σε ομάδα ασθενών με μέσο χρόνο παρακολούθησης 26 μηνών ήταν 30% (4,7,8).

Γ) Οι αδενωματώδεις πολύποδες της οικογενούς πολυποδίασης του παχέος εντέρου (Familial polyposis coli), αν και έχουν την ίδια ιστολογική εικόνα στο απλό και στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο με τους σποραδικούς αδενωματώδεις πολύποδες πρέπει να διαχωρίζονται απ' αυτούς γιατί έχουν γενετική βάση. Αυτή η γενετική ανωμαλία είναι ένα αυτοσωματικό κυρίαρχο Μεντελιανό χαρακτηριστικό με μεγάλη διαβάθμιση στη διεισδυτικότητα και οφείλεται σε μεταλλάξεις ενός γονιδίου το οποίο εντοπίζεται στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 5 (5q21). Η κακοήθης εξαλλαγή των πολυπόδων της οικογενούς πολυποδίασης σε αδενοκαρκίνωμα γίνεται γρηγορότερα απ' ό,τι στους σποραδικούς αδενωματώδεις πολύποδες, συνήθως κατά την δεύτερη δεκαετία της ζωής. Με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) μπορεί να γίνει η προσυμπτωματική διάγνωση της ασθένειας.

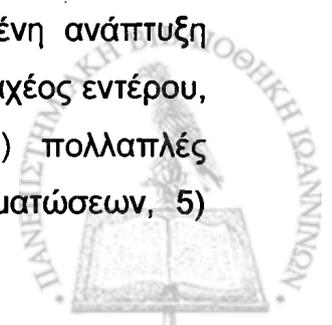
Μακροσκοπικά, το παχύ έντερο στην οικογενή πολυποδίαση έχει το λιγότερο 100 πολύποδες σε αριθμό (στην πραγματικότητα είναι εκατοντάδες). Αυτοί



εμφανίζονται με τη μορφή μιας ελαφράς προβολής του φυσιολογικού βλεννογόνου έως μιας σχετικά μεγάλης μάζας καθώς και σαν επίπεδο ή εμβυθισμένο αδένωμα. Μικροαυτοραδιογραφικές μελέτες σε ασθενείς με οικογενή πολυποδίαση απέδειξαν μια αυξημένη σύνθεση DNA στα κύτταρα του επικαλυπτικού και του αδενικού επιθηλίου, καθώς και στο ενδιάμεσο τμήμα του βλεννογόνου του παχέος εντέρου. Ομοίως, η d-καρβοξυλική ορνιθίνη, η οποία είναι ένα ουσιώδες ένζυμο και παίζει σπουδαίο ρόλο στην υπερπλασία του εντερικού βλεννογόνου, βρέθηκε σε υψηλό ποσοστό τόσο στους πολύποδες όσο και στον ενδιάμεσο αυτών βλεννογόνο .

Μεταλλάξεις του K-ras γονιδίου βρέθηκαν στο 1/4 των περιπτώσεων, ποσοστό όμοιο μ ' αυτό που βρέθηκε στους σποραδικούς αδενωματώδεις πολύποδες. Κυτταρογενετικά, οι πολύποδες της οικογενούς πολυποδίασης τείνουν να έχουν λιγότερες ανωμαλίες στην αρχιτεκτονική τους δομή απ 'ό,τι οι σποραδικοί. Και στις δύο όμως περιπτώσεις είναι συχνές οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Στην οικογενή πολυποδίαση, πολύποδες μπορεί να βρεθούν και σε άλλα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα, όπως είναι ο στόμαχος και το λεπτό έντερο. Μακροσκοπικά, στον ειλέο μοιάζουν με την εστιακή λεμφοζιδιακή υπερπλασία. Εάν η οικογενής πολυποδίαση εντοπίζεται στο αριστερό κόλο και δεν αντιμετωπισθεί χειρουργικά, ένα ή περισσότερα αδενοκαρκινώματα θα εμφανισθούν πολύ γρήγορα. Αδενοκαρκινώματα σε έδαφος οικογενούς πολυποδίασης, εμφανίζονται 20 χρόνια νωρίτερα, απ'ό,τι τα σποραδικά αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου και μάλιστα κατά την πρώτη τριακονταετία της ζωής. Προληπτικές κολεκτομές είναι απαραίτητο να γίνονται κατά το 20-25ο έτος της ζωής. Εάν η χειρουργική αποκατάσταση είναι η ειλεοορθική, η οποία έχει σαν σκοπό την διατήρηση της λειτουργίας του ορθού, τότε υπάρχει πιθανότητα εμφάνισης πολύποδων και αδενοκαρκινώματος στο εναπομείναν τμήμα του παχέος εντέρου. Εκτός από το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου, αδενοκαρκινώματα μπορούν να αναπτυχθούν και σε άλλα όργανα, όπως είναι η χοληδόχος κύστη, ο θυρεοειδής αδένας και τα επινεφρίδια(4,7) .

Δ) Το σύνδρομο Gardner , χαρακτηρίζεται από συνδυασμένη ανάπτυξη πολλών παθήσεων που είναι: 1) αδενωματώδεις πολύποδες παχέος εντέρου, 2) πολλαπλά οστεώματα κρανίου και κάτω γνάθου, 3) πολλαπλές επιδερμίδικές κύστες, 4) όγκοι μαλακών μορίων, ειδικά ινωματώσεων, 5)



διαταραχές των οδόντων, 6) καρκινώματα του θυρεοειδούς και της περιοχής του φύματος του Vater και 7) νεοπλάσματα του Κ.Ν.Σ. Οι ινωματώσεις είναι ενδοκοιλιακές και εμφανίζονται μετά από χειρουργική επέμβαση. Οι αδενωματώδεις πολύποδες μπορεί να εμφανιστούν στο λεπτό έντερο και στον στόμαχο. Η πιθανότητα εμφάνισης αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου είναι ίδια με αυτήν της οικογενούς πολυποδίασης. Αυτές οι αλλοιώσεις φανερώνουν συνυπάρχουσες σωματικές και γενετικές μεταλλάξεις στο γονίδιο APC, οι οποίες υποδηλώνουν ότι η απενεργοποίηση και των δύο αλληλίων αυτού του γονιδίου εμπλέκεται στην ανάπτυξή τους. Η θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών με σύνδρομο Gardner, όσον αφορά στους αδενωματώδεις πολύποδες και τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου, είναι ίδια με αυτήν της οικογενούς πολυποδίασης(7).

Ε) Το σύνδρομο Turcot χαρακτηρίζεται από την συνδιασμένη ανάπτυξη αδενωματωδών πολυπόδων παχέος εντέρου και νεοπλασμάτων του εγκεφάλου, συνήθως γλοιοβλαστώματος. Αυτό το σύνδρομο μπορεί να είναι το αποτέλεσμα δύο διαφορετικών τύπων μεταλλάξεων στο γονίδιο : μεταλλάξεις στο γονίδιο APC ή μετάλλαξη στη διαδικασία διόρθωσης του γονιδίου(7) .

Μερικοί ερευνητές αναφέρουν συσχετίσεις της οικογενούς πολυποδίασης με το ηπατοβλάστωμα, τα πολλαπλά νεοπλάσματα ενδοκρινών αδένων και το ρινοφαρυγγικό αγγειοίωμα. Έχει επίσης περιγραφεί ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης καρκινώματος του θυρεοειδούς αδένου ή και του παγκρέατος σε ασθενείς με οικογενή πολυποδίαση.

ΣΤ) Σύνδρομο του κληρονομούμενου επίπεδου αδενώματος (hereditary flat adenoma syndrome). Είναι μια άλλη μορφή οικογενούς πολυποδίασης, η οποία χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη πολλαπλών (<100 , σε αριθμό) αδενωματωδών πολυπόδων. Οι περισσότεροι απ'αυτούς είναι επίπεδοι και σπάνια προβάλλοντες. Συνήθως εντοπίζονται στο δεξιό κόλο. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αυτού του συνδρόμου εντοπίζονται στην ίδια γονιδιακή θέση με αυτές της γνήσιας οικογενούς πολυποδίασης και επηρεάζουν μεμονωμένα την εμφάνιση ίδιων αλλοιώσεων στον ανώτερο γαστρεντερικό σωλήνα(7).

Ζ) Λαχνωτός πολύποδας ή λαχνωτό αδένωμα (Villous papilloma). Είναι ένας σχετικά σπάνιος τύπος πολύποδα, ο οποίος απαντάται σε μεγάλες



ηλικίες και στις περισσότερες περιπτώσεις εμφανίζεται σαν μονήρης μάζα στο ορθό ή στο ορθοσιγμοειδές. Μερικές φορές σχετίζεται με την απώλεια νερού και ηλεκτρολυτών ή και με φαινόμενα απόφραξης του εντέρου, όταν ο πολύποδας έχει μεγάλες διαστάσεις. Η σύστασή του είναι μαλακή, έχει θηλώδη ή λαχνωτή εμφάνιση και συνήθως εξορμάται από ευρεία βάση, ενώ ένα ποσοστό περίπου 10% φέρει ορισμένο μίσχο.

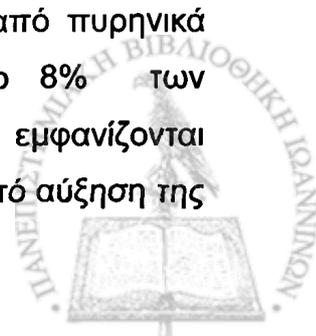
Μικροσκοπικά, παρατηρείται λαχνωτή διαμόρφωση με μεγάλες και διακλαδιζόμενες θηλές. Η σύσταση των βλεννών καθώς και η ανοσοϊστοχημική έκφραση του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου είναι ίδια μ'αυτή των αδενωματώδων πολυπόδων. Συν το χρόνο, ένα ποσοστό 29% έως 70% των λαχνωτών πολυπόδων εμφανίζει μορφολογικούς χαρακτήρες κακοήθους εξαλλαγής.

Εστιακή εκτομή της αλλοίωσης είναι αρκετή όταν αυτή δεν έχει υποστεί κακοήθη εξαλλαγή. Μερικές φορές χρειάζεται κοιλιοπερινεϊκή εκτομή λόγω των μεγάλων διαστάσεων που μπορεί να προσλάβει ο πολύποδας(7,8,9) .

Η) Υπερπλαστικοί (ή μεταπλαστικοί) πολύποδες.

Αυτοί συχνά κλινικά είναι δυσδιάγνωστοι από ένα φυσιολογικό βλεννογόνο ή έναν αδενωματώδη πολύποδα. Χαρακτηριστικά είναι άμισχοι και μικροί σε μέγεθος, σπάνια ξεπερνούν τα 5 χιλ, αν και μπορεί να είναι έμμισχοι ή μεγάλοι με διάμετρο πάνω από μερικά εκ. Οι υπερπλαστικοί πολύποδες απαντώνται σε ποσοστό 30% έως 50% στους ενήλικες .

Μικροσκοπικά, παρατηρούμε επιμηκυσμένα αδένια με ενδοαυλική αναδίπλωση, που είναι το αποτέλεσμα της οδοντωτής διαμόρφωσης των αδενίων. Η μιτωτική δραστηριότητα είναι αυξημένη μόνο στη βάση των κρυπτών, όπως παρατηρείται και στο φυσιολογικό βλεννογόνο, σε αντίθεση με τον αδενωματώδη και τον λαχνωτό πολύποδα όπου οι μιτώσεις παρατηρούνται στα υπερπλαστικά αδένια. Τα επιθηλιακά κύτταρα περιέχουν ένα μικρό, μόλις διακρινόμενο πυρήνα, τοποθετημένο στη βάση και άφθονο κυτταρόπλασμα γεμάτο με βλέννα. Η βασική μεμβράνη είναι λεπτή και εύκολα αναγνωρίσιμη στις τομές αιματοξυλίνης- ηωσίνης (Ε-Η). Το επικαλυπτικό επιθήλιο έχει μικροθηλώδη διαμόρφωση και συχνά διηθείται από πυρηνικά αποτρίμματα. Κύτταρα Paneth ανευρίσκονται περίπου στο 8% των περιπτώσεων. Με την αύξηση του μεγέθους του πολύποδα εμφανίζονται αλλαγές στην αρχιτεκτονική του δομή, οι οποίες συνοδεύονται από αύξηση της



έκφρασης του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου, αλλοιώσεις που ανιχνεύονται στον ορό του αίματος, καθώς και αλλοιώσεις στην έκκριση των σιαλοβλεννών.

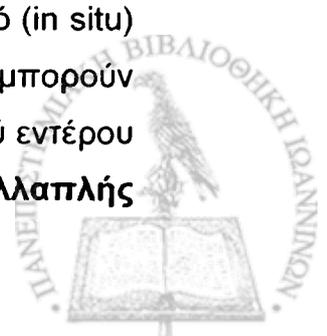
Θ) Οι μικτοί υπερπλαστικοί- αδενωματώδεις πολύποδες χαρακτηρίζονται από την εξέχουσα ελικο-οδοντωτή εμφάνισή τους, σε σημείο που προτάθηκε ο εναλλακτικός όρος του «οδοντωτού αδενώματος». Μία άλλη κατηγορία υπερπλαστικού πολύποδα είναι ο γνωστός **ανάστροφος τύπος**, που αναπτύσσεται συχνότερα στο δεξιό κόλο και χαρακτηρίζεται από την ενδοφυτική ανάπτυξή του μέσα στον υποβλεννογόνο χιτώνα. Οι υπερπλαστικοί πολύποδες δεν εξαλάσσονται αν και αδενοκαρκινώματα έχουν βρεθεί να συνεχονται με υπερπλαστικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου.

Ι) Σύνδρομο των πολλαπλών υπερπλαστικών πολυπόδων. Στους ασθενείς αυτούς οι πολύποδες είναι μεγάλοι σε μέγεθος και μερικές φορές συνοδεύονται με αδενοκαρκίνωμα(4,7) .

Κ) Νεανικός (Juvenile) πολύποδας. Είναι ο συχνότερος πολύποδας της παιδικής ηλικίας, αλλά το 1/3 των περιπτώσεων ανευρίσκεται στους ενήλικες. Είναι μονήρης, με συχνότερη εντόπιση στην ορθοσιγμοειδική περιοχή, αν και τελευταία, με την αυξημένη χρήση του ενδοσκοπίου έχουν βρεθεί και περιπτώσεις με περισσότερους πολύποδες από έναν στο εγγύς σιγμοειδές κόλο. Κλινικά, έχουμε αιμορραγία από το ορθό ή και αυτόματη αποκοπή και απόρριψή του από τον πρωκτό λόγω προηγηθείσης συστροφής και νέκρωσης του μίσχου.

Μακροσκοπικά, ο νεανικός πολύποδας έχει κοκκιώδη και αιμορραγική επιφάνεια και στη διατομή εμφανίζει όψη κυστική και δεσμιδωτή.

Μικροσκοπικά, η επιφάνεια του πολύποδα είναι εξελκωμένη και επικαλύπτεται από αγγειοβριθή φλεγμονώδη κοκκιώδη ιστό. Κάτω απ' αυτόν υπάρχουν κυστικά διατεταμένα αδένια γεμάτα με βλέννα, χωρίς κυτταρική ατυπία και διαχωρίζονται από οίδηματώδες και φλεγμονωδώς διηθημένο στρώμα. Υπερπλαστικές αλλοιώσεις του βλεννογόνου υπάρχουν στο 20% περίπου των περιπτώσεων. Οι αλλοιώσεις αυτές είναι ανόμοιες μ' αυτές που συναντούμε στα αληθή νεοπλάσματα, αν και σπανιότατα μπορούμε να παρατηρήσουμε εστίες με σοβαρού βαθμού δυσπλαστικές αλλοιώσεις / ενδοεπιθηλιακό (in situ) αδενοκαρκίνωμα. Σπάνια, πολλαπλοί πολύποδες αυτού του τύπου μπορούν να παρατηρηθούν σ' όλη την έκταση του παχέος αλλά και του λεπτού εντέρου καθώς και του στομάχου. Τότε γίνεται λόγος για το σύνδρομο της **πολλαπλής**



νεανικής πολυποδίασης (multiple juvenile polyposis), η οποία κληρονομείται με αυτοσωματικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Σ' αυτήν ο κίνδυνος της κακοήθους εξαλλαγής είναι μικρότερος μεν από την οικογενή πολυποδίαση, αλλά δεν παύει να είναι υπαρκτός και να σχετίζεται με την σύγχρονη εμφάνιση αδενωματοδών πολυπόδων και αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου, δωδεκαδακτύλου, στομάχου και παγκρέατος (4,7,8).

Λ) Σύνδρομο Cronkhite-Canada. Είναι μη κληρονομούμενο σύνδρομο και χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη πολλαπλών, νεανικού τύπου πολυπόδων του παχέος εντέρου και συνδιάζεται με την σύγχρονη εμφάνιση αλωπεκίας, ατροφίας των ονύχων και υπέρχρωση του δέρματος.

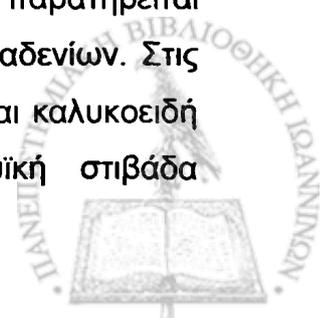
Οι πολύποδες που σχετίζονται με αυτό το σύνδρομο είναι σπανιότερα έμμοιοι σε σχέση με άλλους νεανικούς πολύποδες και αδενωματοειδείς αλλαγές και αδενοκαρκινώματα μπορούν να παρατηρηθούν στους ασθενείς του συνδρόμου αυτού.

Οι πολυποδοειδείς αλλαγές, οι οποίες παρατηρούνται σε θέσεις ουρητηροσιγμοειδοστομίας έχουν όμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά με τον αναφερόμενο πολύποδα (αλλά μικτού με στοιχεία και αδενωματοειδούς πολύποδα)(7) .

Μ) Πολύποδες Peutz - Jeghers. (Σύνδρομο Peutz-Jeghers).

Αυτό το σύνδρομο κληρονομείται με τον αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα και χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη πολυπόδων στο παχύ και στο λεπτό έντερο, καθώς και στο στόμαχο. Οι ασθενείς παρουσιάζουν επίσης υπέρχρωση των χειλέων και του βλεννογόνου της στοματικής κοιλότητας, δακτύλων, παλαμών και πελμάτων.

Μακροσκοπικά, οι πολύποδες αυτού του συνδρόμου δε διαφέρουν από τους αδενωματοειδείς, αλλά μικροσκοπικά είναι διαφορετικοί. Τα αδένια διαχωρίζονται από δεσμίδες λείων μυϊκών ινών, οι οποίες προέρχονται από την βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα, είναι παχιές στο κέντρο του πολύποδα και λεπτότερες στην περιφέρειά του και δίνουν έτσι την «αμαρτωματώδη» εμφάνιση. Η στενή ανάμιξη των αδενίων με τις λείες μυϊκές ίνες μπορεί να μας οδηγήσει στη λάθος διάγνωση του αδενοκαρκινώματος. Δεν παρατηρείται κυτταρική ατυπία και διαταραχή της αρχιτεκτονικής δομής των αδενίων. Στις επιφανειακές θέσεις του πολύποδα ανευρίσκονται κυλινδρικά και καλυκοειδή κύτταρα, ενώ στις βαθύτερες θέσεις και κοντά στη μυϊκή στιβάδα



ανευρίσκονται Paneth και ενδοκρινή κύτταρα. Μερικές περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων του γαστρεντερικού σωλήνα έχουν περιγραφεί σε ασθενείς μ' αυτό το σύνδρομο. Αυτά εντοπίζονται στο παχύ και στο λεπτό έντερο και στο στομάχο. Σε μερικές περιπτώσεις διηθητικού αδενοκαρκινώματος βλέπουμε τη συνύπαρξη αυτού με το αδενωμάτωδες στοιχείο και το αδενοκαρκίνωμα *in situ*. Οι ασθενείς με σύνδρομο Peutz-Jeghers μπορούν να εμφανίσουν νεοπλασμάτα ωθηκών, μαστού (συχνά είναι αμφοτερόπλευρο), αλλά και άλλους τύπους κακοήθειας(7).

Ν) Σύνδρομο Cowden. (multiple hamartoma syndrome). Κληρονομείται κατά τον αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα και χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη βλεννογονοδερματικών αλλοιώσεων (τριχειλίμωμα προσώπου, κεράτωση άκρων και θηλώματα βλεννογόνου στοματικής κοιλότητας), πολυπόδων του παχέος εντέρου και αυξημένη συχνότητα εμφάνισης κακοήθειας σε άλλες θέσεις. Οι πολύποδες έχουν τα χαρακτηριστικά αμαρτώματος, με υπερπλασία και διαταραχή της αρχιτεκτονικής της βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας, αλλά διαφέρουν από τους πολύποδες του συνδρόμου Peutz - Jeghers. Επίσης εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα κακοήθους εξαλλαγής(7).

Ξ) Μεταβατικός πολύποδας (transitional polyp). Αυτός ο όρος έχει προταθεί για μια μικρή πολυποδοειδή αλλοίωση, η οποία χαρακτηρίζεται από επιμήκυνση και διεύρυνση των κρυπτών και διόγκωση των καλυκοειδών κυττάρων με αυξημένη παραγωγή βλέννας. Η παραπάνω αλλοίωση είναι όμοια μ' αυτήν που παρατηρείται στον παρακείμενο βλεννογόνο του αδενοκαρκινώματος ή και άλλων νεοπλασμάτων(7).

1.5.2 Επιθηλιακή δυσπλασία του παχέος εντέρου .

Οι αλλοιώσεις της επιθηλιακής δυσπλασίας του παχέος εντέρου είναι θηλώδους και αδενωμάτωσης τύπου. Και εδώ υπάρχει πρόβλημα στη διάκριση των ακραίων περιπτώσεων από τις αναγεννητικές αλλοιώσεις και το *in situ* αδενοκαρκίνωμα. Το τελευταίο είναι δύσκολο να καθορισθεί και κατά πολλούς ταυτίζεται με τη σοβαρού βαθμού δυσπλασία. Ο όρος του «διηθητικού» ενδοβλεννογόνιου αδενοκαρκινώματος αποφεύγεται στο παχύ έντερο, γιατί σε αντίθεση με το αντίστοιχο του στομάχου σπάνια



μεθίσταται. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ο βλεννογόνος του παχέος εντέρου δεν έχει λεμφαγγεία πάνω από τη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα σε αντίθεση με το βλεννογόνο του στομάχου και του λεπτού εντέρου. Επομένως, από πρακτική άποψη, για διηθητικό αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου μπορεί να γίνει λόγος μόνον όταν υπάρχει διήθηση της βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας. Οι διαβαθμίσεις της επιθηλιακής δυσπλασίας διακρίνονται σε ελαφρού, μέσου, ικανού και σοβαρού βαθμού. Η διαβάθμιση αυτή γίνεται με βάση: α) Τις κυτταρικές αλλοιώσεις, όπως ατυπία, ανισοχρωμία, ανισομεγέθια πυρήνων, δυστροφικά καλυκοειδή, βλεννοπενία, απώλεια προσανατολισμού και ψευδοστιβαδοποίηση των κυττάρων και β) Τις αρχιτεκτονικές ανωμαλίες που είναι σωληνώδους, αδενωματώδους και θηλώδους τύπου.

Η ελαφρού βαθμού δυσπλασία χαρακτηρίζεται από ελαφρά διαταραχή της αρχιτεκτονικής των σωληνωδών σχηματισμών. Οι πυρήνες είναι τοποθετημένοι στη βάση των κυττάρων είναι επιμήκεις, υπερχρωματικοί και δεν έχουν εμφανές πυρήνιο. Παρατηρείται αύξηση των μιτώσεων και μικρή ελάττωση της βλέννας. Δεν παρατηρείται ιδιαίτερη πολυμορφία και απώλεια του προσανατολισμού των κυττάρων. **Η μετρίου βαθμού δυσπλασία** χαρακτηρίζεται από την ελάττωση του χώρου μεταξύ των σωληνωδών σχηματισμών, στιβαδοποίηση των πυρήνων και μικρή διαταραχή του προσανατολισμού. Οι πυρήνες γίνονται πιο ωοειδείς, με εμφανές πυρήνιο, αρχόμενη πολυμορφία και ικανού βαθμού μείωση της βλέννας.

Η ικανού βαθμού δυσπλασία χαρακτηρίζεται από την απώλεια του χώρου ανάμεσα στους σωληνώδεις σχηματισμούς. Οι πυρήνες εμφανίζουν πολυμορφία, απώλεια του προσανατολισμού, ένα ή περισσότερα πυρήνια και πολλές μιτώσεις. **Η σοβαρού βαθμού δυσπλασία** χαρακτηρίζεται από την παρουσία ακανόνιστων σωληνωδών σχηματισμών, με ενδοσωληνώδη υπερπλασία που έχουν ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό γεφυρών. Η ιστολογική εικόνα είναι ίδια με αυτή του αδενοκαρκινώματος *in situ* (7,8).

Καταστάσεις οι οποίες εμφανίζουν σε μεγάλη σχετικά συχνότητα δυσπλαστικές αλλοιώσεις και μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου είναι οι αδενωματώδεις πολύποδες, η οικογενής πολυποδίαση, η χρόνια ελκώδης κολίτιδα, η σχιστοσωμίαση και η ουρητηροσιγμοειδοστομία. Σε μικρότερη συχνότητα και σχετικά σπάνια



εμπλέκονται η νεανική πολυποδίαση, η νόσος του Crohn και οι υπερπλαστικοί πολύποδες(7).

1.5.3 Συσχέτιση των αδενωματωδών πολυπόδων με το αδενοκαρκίνωμα

Από τα παραπάνω αναφερόμενα για τους πολύποδες του παχέος εντέρου συνεπάγεται ότι:

1)Οι μονήρεις υπερπλαστικοί (που αντιπροσωπεύουν και το μεγαλύτερο ποσοστό των πολυπόδων του παχέος εντέρου), οι νεανικοί καθώς και οι πολύποδες Peutz-Jeghers δεν εξαλλάσσονται σχεδόν ποτέ.

2) Ασθενείς με κάποιον τύπο συνδρόμου πολυποδίασης έχουν αυξημένη πιθανότητα να αναπτύξουν αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου. Αυτή η πιθανότητα είναι εξαιρετικά υψηλή σχεδόν 100% στην οικογενή πολυποδίαση και στο σύνδρομο Gardner. Είναι χαμηλότερη, αλλά παρόλα αυτά αυξημένη, σε ασθενείς με τα σύνδρομα Peutz – Jeghers, της νεανικής πολυποδίασης και των πολλαπλών υπερπλαστικών πολυπόδων. Αυτό σχετίζεται με το γεγονός ότι μπορεί να παρατηρηθούν αδενωματώδεις αλλαγές σε μερικούς από τους πολύποδες αυτών των συνδρόμων πολυποδίασης. Επίσης σε ασθενείς με το σύνδρομο της οικογενούς πολυποδίασης υπάρχει αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης αδενοκαρκινώματος στο δωδεκαδάκτυλο και στο φύμα του Vater.

3)Ο λαχνωτός αδενωματώδης πολύποδας μπορεί να υποστεί κακοήθη εξαλλαγή, σε ποσοστό 29% -70% των περιπτώσεων .

4) Όλοι οι αδενωματώδεις πολύποδες δυνητικά μπορούν να υποστούν κακοήθη εξαλλαγή. (Αυτό αφορά και τους σωληνολαχνωτούς πολύποδες οι οποίοι, για λόγους διευκόλυνσης, συμπεριλαμβάνονται στην ομάδα των αδενωματωδών πολυπόδων). Αυτό όμως δεν συμβαίνει γιατί γνωρίζοντας τη συχνότητα εμφάνισης των αδενωματωδών πολυπόδων στο γενικό πληθυσμό θα έπρεπε αυτόματα και η συχνότητα εμφάνισης του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου να ήταν τουλάχιστον 20 φορές υψηλότερη απ'αυτή που είναι στην πραγματικότητα. Ομοίως, οι ασθενείς με εικοσαετή και πλέον διαγνωσμένη οικογενή πολυποδίαση, θα'πρεπε να εμφανίσουν όχι ένα ή μερικά αλλά εκατοντάδες αδενοκαρκινώματα στο παχύ έντερο, πράγμα το οποίο δεν γίνεται.



Από πρακτικής πλευράς μας ενδιαφέρει η πιθανότητα κακοήθους εξαλλαγής των αδενωματωδών πολυπόδων κατά την διάρκεια της ζωής τους. Εάν θεωρήσουμε δεδομένο ότι όλα τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου προέρχονται από τους πολύποδες κι αν συγκρίναμε το ποσοστό εμφάνισης αυτών με το αντίστοιχο των αδενοκαρκινωμάτων στο γενικό πληθυσμό, θα καταλήγαμε σ'ένα ποσοστό γύρω στο 5%. Ποσοστό φυσικά χαμηλότερο μ'αυτό που συνήθως αφορά τις περιπτώσεις του εστιακού αδενοκαρκινώματος που βρέθηκε σε αδενωματώδεις πολύποδες.

5) Επιδημιολογικές μελέτες αποδεικνύουν ότι πληθυσμοί οι οποίοι έχουν υψηλά ποσοστά εμφάνισης πολυπόδων, έχουν επίσης αυξημένη συχνότητα εμφάνισης αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου και το αντίστροφο. Τμήμα παχέος εντέρου με αδενοκαρκίνωμα έχει υψηλότερο ποσοστό συνύπαρξης πολυπόδων απ' ό,τι ένα άλλο ελεύθερο αδενοκαρκινώματος. Τα μορφολογικά, ιστοχημικά, ανοσοϊστοχημικά και υπερμικροσκοπικά χαρακτηριστικά καθώς η κυτταρομετρία ροής και η πυρηνική μορφομετρία των αδενοκαρκινωμάτων είναι όμοια μ'αυτά των περισσότερο άτυπων περιοχών των αδενωματωδων πολυπόδων.

6) Η κακοήθης εξαλλαγή των αδενωματωδών πολυπόδων (η αποκαλούμενη αλληλουχία αδενώματος-αδενοκαρκινώματος) σε αδενοκαρκίνωμα έχει αποδειχθεί μετά την προκλητή χημική εμφάνιση σε πειραματόζωα. Πρόσφατα προτείνεται δε σαν πρότυπο της καρκινογένεσης στο παχύ έντερο. Αυτό επίσης επιβεβαιώνεται από την μορφολογική εξέλιξη του αδενωματώδους πολύποδα με την ελαφρού έως σοβαρού βαθμού δυσπλασία (αδενοκαρκίνωμα *in situ*) στο διηθητικό και μεταστατικό αδενοκαρκίνωμα. Όλα αυτά συνοδεύονται και πιθανά προκαλούνται από μία σειρά μοριακών αλλαγών (μοντέλο Fearon). Αυτές οι γενετικές μεταβολές συμπεριλαμβάνουν μεταλλάξεις που προκαλούν την ενεργοποίηση των ογκογονιδίων και την απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων .

7) Η κολonosκοπική αφαίρεση των πολυπόδων μας δίνει την δυνατότητα της ιστολογικής διερεύνησης του και έχει σαν αποτέλεσμα την μειωμένη συχνότητα εμφάνισης αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου που προέρχεται απ'αυτούς, στον πληθυσμό που υπόκειται σ'αυτήν τη διαδικασία.

8) Μερικά αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου είναι αυτοφυή και φαίνεται να προέρχονται από επίπεδο βλεννογόνο παρά από κακοήθη εξαλλαγή



προϋπάρχοντα πολύποδα, γιατί σπάνια μπορεί να βρεθεί υπολειμματικό αδενωματώδες επιθήλιο στην παρυφή αυτού.

Τελικά, η εμφάνιση του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου φαίνεται να μην είναι υψηλότερη μεταξύ των ασθενών με μεμονωμένους μικρούς πολύποδες, συγκρινόμενη μ' αυτούς που δεν έχουν, αν και φαίνεται να είναι ελαφρά αυξημένη η συχνότητα εμφάνισης αυτού όταν ο πολύποδας έχει διάμετρο μεγαλύτερη του 1εκ .

1.5.4 Προτεινόμενη θεραπεία των αδενωματωδών πολυπόδων

Χρησιμοποιώντας αυτές τις πληροφορίες, από πρακτικής άποψης η καλύτερη θεραπεία για τους ασθενείς με πολύποδες του παχέος εντέρου θα ήταν:

1) Η απλή αφαίρεση κολonosκοπικά των μονήρων νεανικών πολυπόδων είναι αρκετή.

2) Η κολεκτομή ενδείκνυται σε ασθενείς με οικογενή πολυποδίαση ακόμη κι αν αυτοί είναι νεαρής ηλικίας γιατί λογικά θα αναπτύξει αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου. Η επέμβαση εξαρτάται από τον αριθμό των πολυπόδων και μπορεί να απαιτείται ολική κολεκτομή με κολοστομία ή κολεκτομή με ειλεοορθική αναστόμωση. Χρήση του μη στεροειδούς αντιφλεγμονώδους φαρμάκου σουλινδάκη και η λήψη ασβεστίου από το στόμα, έχει βρεθεί ότι ελαττώνει το μέγεθος και τον αριθμό των αδενωματωδών πολυπόδων, αλλά το αποτέλεσμα τους είναι περιορισμένο και γ'αυτό θεωρείται απίθανο να αντικατασταθεί η κολεκτομή από την θεραπεία εκλογής.

3) Ο λαχνωτός πολύποδας θα πρέπει να αφαιρείται ακέραιος σ' ένα ιστοτεμάχιο. Αυτό επιτρέπει τον καλύτερο προσανατολισμό του δείγματος και την ιστολογική διερεύνηση έτσι ώστε, στην περίπτωση ανεύρεσης εστιακού αδενοκαρκινώματος, να μπορεί να εκτιμηθεί η έκτασή του. Αυτός ο προσδιορισμός είναι μεγίστης σημασίας για την μετέπειτα χειρουργική αντιμετώπιση του ασθενούς.

4) Ο μονήρης αδενωματώδης πολύποδας, ο οποίος ανευρίσκεται κατά τη διαδικασία της σιγμοειδοσκόπησης ή της κολonosκόπησης, πρέπει να αφαιρείται ενδοσκοπικά. Σ'αυτή την περίπτωση υπάρχει μικρός κίνδυνος εμφάνισης ενός επακόλουθου αδενοκαρκινώματος, γ'αυτό πρέπει να γίνει κολonosκοπική επανεκτίμηση σε διάστημα λιγότερο των τριών ετών. Δύσκολα



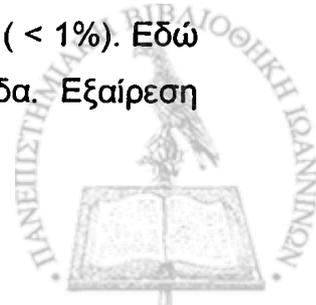
όμως αφαιρούνται οι αδενωματώδεις πολύποδες που ανευρίσκονται στο ανιόν κόλο ή στο τυφλό παρά την πρόοδο του ενδοσκοπίου. Από τη στιγμή που το πολυποειδές μόρφωμα είναι προσιτό μ' αυτή την τεχνική πρέπει να αφαιρεθεί, εκτός κι αν υπάρχουν αντενδείξεις. Κατ'αυτόν τον τρόπο αποφεύγεται η περιοδική ακτινολογική εξέταση που χρειάζεται αν ο πολύποδας δεν έχει αφαιρεθεί και η λαπαροτομία που κάποτε ήταν απαραίτητη για την εκτομή τέτοιων αλλοιώσεων. Παρόλα αυτά τα δείγματα του πολύποδα που παίρνονται με το κολonosκόπιο συνήθως είναι κατακερματισμένα και είναι δύσκολο να ελεγχθούν ιστολογικά για υπάρχουσα διήθηση του μίσχου σε περίπτωση εστιακού αδενοκαρκινώματος. Υπάρχουν περιπτώσεις βιοψιών οι οποίες ελήφθησαν από την επιφάνεια της πολυποδοειδούς αλλοίωσης και διαγνώσθηκαν ιστολογικά ως αδενοκαρκίνωμα αλλά η μετέπειτα ιστολογική εξέταση ολόκληρης της αλλοίωσης έδειξε απλώς έναν αδενωματώδη πολύποδα με εστιακό καρκίνωμα και χωρίς διήθηση του συναφαιρεθέντος μίσχου.

5) Όταν υπάρχουν ολιγάριθμοι πολλαπλοί πολύποδες, η αφαίρεση των με το ενδοσκόπιο είναι αρκετή παρά με τμηματική ή ολική κολεκτομή.

6) Εάν ο πολύποδας είναι ευμεγέθης η ενδοσκοπική βιοψία αυτού μπορεί να αποδειχθεί ανεπαρκής για τον προσδιορισμό υπάρχουσας κακοήθους εξαλλαγής. Τέτοιοι πολύποδες είναι καλύτερα να αντιμετωπίζονται με χειρουργική αφαίρεση αυτών μαζί με μικρού τμήματος του τοιχώματος του παχέος εντέρου.

7) Δεν έχουν βρεθεί ποτέ λεμφαδενικές μεταστάσεις στην περίπτωση που η κακοήθης εξαλλαγή του αδενωματώδους πολύποδα εντοπίζεται μόνο στον βλεννογόνο και στον υποβλεννογόνο, πάνω όμως από την βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα (αδενοκαρκίνωμα *in situ*). Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι στον υποβλεννογόνο (σε αντίθεση με το λεπτό έντερο) τα λεμφαγγεία βρίσκονται ακριβώς κάτω από την βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα. Έτσι για θεραπεία αρκεί η απλή εκτομή του εξαλλαγέντος αδενωματώδους πολύποδα.

8) Όταν υπάρχει διήθηση της βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας αλλά όχι του μίσχου του πολύποδα (εστιακό αδενοκαρκίνωμα με ελεύθερο μίσχο), μπορεί να βρεθούν λεμφαδενικές μεταστάσεις σε πολύ χαμηλό ποσοστό (< 1%). Εδώ φαίνεται λογική η θεραπεία της απλής εκτομής του πολύποδα. Εξαιρέση



αποτελεί μόνο όταν το αδενοκαρκίνωμα είναι αδιαφοροποίητο ή συνοδεύεται από διήθηση αιμοφόρων αγγείων.

9) Η διήθηση να εκτείνεται στη βάση του μίσχου ή πέραν αυτού (εστιακό αδενοκαρκίνωμα με διήθηση του μίσχου). Σε μερικές απ' αυτές τις περιπτώσεις παρατηρούμε διήθηση και του ορίου εκτομής, το οποίο αναγνωρίζεται από τις τυπικές αλλοιώσεις της διαθερμίας. Εδώ υπάρχει μια πολύ μικρή πιθανότητα λεμφαδενικών μεταστάσεων, αλλά είναι αρκετή για να δικαιολογήσει την τυπική εκτομή του εντέρου. Αυτή η ένδειξη γίνεται ακόμη περισσότερο συγκεκριμένη όταν το αδενοκαρκίνωμα εντοπίζεται στον υποβλεννογόνιο και φθάνει στη μυϊκή στιβάδα ή επεκτείνεται στο όριο εκτομής (3,4,7,8) .



1.6 ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

1.6.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου είναι το τρίτο σε συχνότητα εμφάνισης κακόηθες νεόπλασμα μετά το καρκίνωμα του πνεύμονα και του μαστού στην Βορειοδυτική Ευρώπη, Βόρεια Αμερική και σε άλλες Αγγλοσαξωνικές χώρες, ενώ είναι σπάνιο στην Αφρική, Ασία και σε μερικές χώρες της νότιας Αμερικής. Στην Βρετανία αποτελεί τη δεύτερη κύρια αιτία θανάτου από κακοήθη νεοπλασμάτα μετά τα καρκινώματα του πνεύμονα στους άντρες και την τρίτη στις γυναίκες μετά τα καρκινώματα του μαστού (7,10). Στην Αμερική είναι το συχνότερο αλλά και το πιο αποτελεσματικά θεραπεύσιμο καρκίνωμα του γαστρεντερικού σωλήνα. Γενικά, αναπτύσσεται συχνότερα στο ορθό και στην ορθοσιγμοειδική περιοχή (50% των περιπτώσεων) και αμέσως μετά στην υπόλοιπη μοίρα του σιγμοειδούς εντέρου (25%). Το υπόλοιπο 25% των περιπτώσεων αφορά το τυφλό, το εγκάρσιο, το ανιόν και το κατιόν κόλο. Στις αναπτυγμένες οικονομικά χώρες η συχνότητα εμφάνισής του είναι υψηλότερη. Το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου έχει την ίδια συχνότητα εμφάνισης και στα δύο φύλα, με μέση ηλικία το 62^ο έτος. Το αδενοκαρκίνωμα φαίνεται να σχετίζεται με περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες. Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι μετανάστες που προέρχονται από χώρες με μικρή συχνότητα σε χώρες με μεγάλη συχνότητα ανάπτυξης αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου αποκτούν τον ίδιο μεγάλο κίνδυνο προσβολής με τους νέους συμπατριώτες τους. Κατά συνέπεια φαίνεται ότι η διατροφή είναι σπουδαίος αιτιολογικός παράγοντας για το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου. Τροφή πλούσια σε κυτταρίνη, η οποία αφήνει πολλά κατάλοιπα, διέρχεται γρήγορα από το έντερο σε αντίθεση με αυτή που περιέχει απλούς υδατάνθρακες και ζωικές πρωτεΐνες. Η ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου είναι πιο συχνή στην τελευταία περίπτωση. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι η περιεκτικότητα της τροφής σε λίπη σχετίζεται με τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου. Λήψη άφθονων λιπαρών ουσιών οδηγεί στην δημιουργία χοληστερόλης και των μεταβολιτών της, που μπορεί να είναι καρκινογόνοι. Φαίνεται ότι διαφορές στην

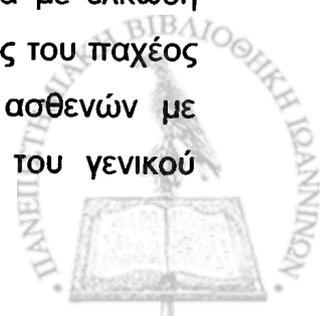


περιεκτικότητα της τροφής σε λίπη και σε ινώδεις ουσίες (π.χ.κυτταρίνη) δημιουργούν μεταβολές στην σύνθεση της βακτηριακής χλωρίδας του εντέρου. Στα άτομα που αναπτύσσουν συχνότερα αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου έχει βρεθεί αυξημένο ποσοστό “βακτηριοειδών” που πιστεύεται ότι αποδομούν τα χολικά άλατα και παράγουν υποπροϊόντα με καρκινογόνες ιδιότητες. Κατά καιρούς, στην παθογένεια του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου έχουν ενοχοποιηθεί και άλλοι παράγοντες, όπως π.χ. η σχετική έλλειψη της ανοσοσφαιρίνης IgA.

Οι γενετικοί παράγοντες επηρεάζουν με διαφορετικούς τρόπους την καρκινογένεση του παχέος εντέρου. Υψηλή προδιάθεση για την εμφάνιση αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου έχουν οι ασθενείς με οικογενή πολυποδίαση (περίπου 100% στην ηλικία των 50 ετών), με κληρονομικό μη πολυποδοειδές καρκίνωμα παχέος εντέρου ή σύνδρομο Lynch (50% ποσοστό κινδύνου για την ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος σε ασθενείς που φέρουν την άμεση γενετική αλλαγή). Ασθενείς με το παραπάνω σύνδρομο έχουν επίσης αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθων νεοπλασμάτων και σε άλλες θέσεις εκτός από αυτήν του παχέος εντέρου, όπως για παράδειγμα το χολαγγειοκαρκίνωμα στο ήπαρ. Μία μορφή του συνδρόμου Lynch έχει την τάση εμφάνισης οικογενούς αδενοκαρκινώματος, το οποίο συνυπάρχει στο δεξιό κόλο με επίπεδους αδενωματώδεις πολύποδες. Ο αριθμός των ανευρισκομένων πολυπόδων είναι ενδιάμεσος, μεταξύ αυτών που υπάρχουν στην οικογενή πολυποδίαση και εκείνων του κλασικού συνδρόμου Lynch. Πολλά από τα αδενοκαρκινώματα τα οποία εντοπίζονται στο δεξιό κόλο, εμφανίζονται σε μεγαλύτερη ηλικία απ'αυτά των δύο άλλων περιπτώσεων.

Στο σύνδρομο Torre-Muir το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου είναι συχνά πολλαπλό, και συνυπάρχει με πολλαπλά νεοπλάσματα των σμηγματογόνων αδένων και κερατοακανθώματα στο δέρμα. Επίσης έχει βρεθεί ότι μεταλλάξεις στα μικρο-δορυφορικά DNA των αλληλίων του H-ras-1 ογκογονιδίου, προδιαθέτουν στην εμφάνιση του οικογενούς αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου.

Ασθενείς με ειδική φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και ιδιαίτερα με ελκώδη κολίτιδα, έχουν προδιάθεση για την εμφάνιση αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου. Αυτοί αποτελούν όμως ένα μικρό ποσοστό των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου συγκρινόμενο με αυτό του γενικού



πληθυσμού. Μερικές περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου φαίνεται να έχουν κύρια αιτία την ακτινοβολία της πυέλου που γίνεται συνήθως για την θεραπεία του καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας.

Ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα έχουν υψηλότερη πιθανότητα να εμφανίσουν περισσότερα από ένα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου. Τα αδενοκαρκινώματα μπορεί να είναι **σύγχρονα** ή **μετάχρονα**. Για να είναι κάποια αδενοκαρκινώματα σύγχρονα, θα πρέπει να αποκλεισθεί η πιθανότητα μετάστασης του ενός στο άλλο. Κάθε αδενοκαρκίνωμα δεν είναι απαραίτητο να ανακαλυφθεί την ίδια χρονική στιγμή. Ο Moertel και οι συνεργάτες του θεωρούν αρκετό το μεσοδιάστημα των 6 μηνών μεταξύ της ανεύρεσης των δύο αδενοκαρκινωμάτων. Τα σύγχρονα φαίνεται να συμβαίνουν δύο φορές συχνότερα από τα μετάχρονα. Το ποσοστό των σύγχρονων αδενοκαρκινωμάτων ανέρχεται από 1,5% έως 7,6% και μπορεί να εντοπίζονται στο ίδιο ή γειτονικό τμήμα του παχέος εντέρου.

1.6.2 Κλινικές εκδηλώσεις του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου

Τα συμπτώματα του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου είναι συνήθως ήπια, ακαθόριστα και μη ειδικά κατά την έναρξη. Η απώλεια βάρους και η αδιαθεσία είναι συχνές και πολλές φορές παραβλέπονται από τον άρρωστο. Τα αδενοκαρκινώματα του τυφλού και του ανιόντος κόλου που συνήθως είναι επίπεδα ελκωτικά ή πολυποδοειδή είναι συχνά κλινικά σιωπηλά, επειδή δεν αποφράσσουν τον εντερικό αυλό και δεν προκαλούν μέλαινες κενώσεις.

Αντίθετα

το αδενοκαρκίνωμα του ορθοσιγμοειδούς μπορεί να αποφράσσει τον αυλό ή να αιμορραγεί και αυτές είναι και οι κύριες αιτίες που οδηγούν τον άρρωστο στον γιατρό. Τα ακόλουθα συμπτώματα αποτελούν σημαντικά στοιχεία για την κλινική υποψία αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου.

1). Μεταβολές στις συνήθειες του εντέρου. Είναι συχνότερες όταν το αδενοκαρκίνωμα εντοπίζεται στο αριστερό κόλο. Οι μεταβολές αυτές είναι πениχρές στην αρχή αλλά προοδευτικά γίνονται επιδεινούμενες. Αυτές είναι η διάρροια, η δυσκοιλιότητα και το αίσθημα ατελούς κένωσης του εντέρου.

2). Αιμορραγία απ'το ορθό, εμφανίζεται όταν το νεόπλασμα εντοπίζεται στο αριστερό κόλο και ανέρχεται στο 70% περίπου των περιπτώσεων. Όταν αυτό



εντοπίζεται στο τυφλό ή στο ανιόν, λιγότερο από 25% των ασθενών παρατηρεί το αίμα στα κόπρανα, επειδή αυτό είναι πλήρως αναμεμιγμένο μ'αυτά.

3). Πόνος στο κάτω τμήμα της κοιλιακής χώρας είναι μερικές φορές το σύμπτωμα της ύπαρξης καρκινώματος στο τυφλό ή στο ανιόν κόλο .

4). Τα συμπτώματα αναιμίας είναι τα συνήθη ευρήματα στο καρκίνωμα του δεξιού κόλου και μπορεί να εμφανιστούν με την μορφή καρδιακής ανεπάρκειας και στηθάγχης .

5). Ανορεξία, απώλεια βάρους και καταβολή δυνάμεων εμφανίζονται σε κάθε φάση της νόσου.

Διάγνωση.

Εάν η διάγνωση είναι πρώιμη, το καρκίνωμα του παχέος εντέρου είναι ιάσιμο ενώ η αργοπορημένη διάγνωση είναι ο σημαντικότερος παράγοντας για την κακή πρόγνωση. Η σημαντικότερη και οικονομικότερη εξέταση είναι η Mayer κοπράνων. Τα περισσότερα καρκινώματα του παχέος εντέρου αιμορραγούν βραδέως μέσα στον αυλό πριν φθάσουν σε τέτοιο μέγεθος που να προκαλεί συμπτώματα. Η δακτυλική εξέταση του ορθού είναι το σημαντικότερο στοιχείο της φυσικής εξέτασης, επειδή περίπου τα μισά καρκινώματα του ορθού βρίσκονται σε ύψος που φθάνει το δάκτυλο. Ασκίτης, ίκτερος ή ψηλαφητές κοιλιακές μάζες υποδηλώνουν μεταστατική νόσο. Σιδηροπενική αναιμία υπάρχει στους μισούς ασθενείς με καρκίνωμα του δεξιού κόλου. Ο ενδοσκοπικός έλεγχος και η λήψη βιοψιών είναι η χρησιμότερη διαγνωστική προσπέλαση στο καρκίνωμα του παχέος εντέρου, όπως επίσης η αξονική τομογραφία και ο βαριούχος υποκλυσμός μετά απο προσεκτική προετοιμασία. Σημαντικά στοιχεία της εξέτασης αυτής είναι τα ακόλουθα:

1) Οι όγκοι μπορεί να προβάλλουν στον αυλό σχηματίζοντας σκιαγραφικό έλλειμμα.

2) Μπορεί να υπάρχει μερική ή πλήρης στένωση, κεντρικά της οποίας το έντερο είναι διατεταμένο.

3) Λόγω της διήθησης μπορεί να υπάρχει δυσκαμψία ή περιορισμός του εντέρου, ώστε το βάριο να μην ακολουθεί ελεύθερα την βαρύτητα κατά την διάρκεια της εξέτασης.

4) Οι ακτινογραφίες μετά από την κένωση του βαρίου, μπορεί να αποδείξουν ανωμαλίες του επαλειφομένου βλεννογόνου που οφείλονται σε όγκο που δεν έχει διαπεράσει το μυϊκό τοίχωμα ακόμη.



Η κλινική διαφορική διάγνωση του καρκινώματος του παχέος εντέρου συμπεριλαμβάνει όλες σχεδόν τις οντότητες που προσβάλλουν το όργανο αυτό. Έτσι η κολίτιδα, η εκκολπωμάτωση, οι πολύποδες καθώς και η ισχαιμική εντερική νόσος μπορούν εύκολα να συγχυθούν κλινικά με το καρκίνωμα του παχέος εντέρου (11).

1.6.3 Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά

Αυτά μπορούν να διαχωριστούν στα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά των μικρών και των μεγάλων αδενοκαρκινωμάτων.

Τα μικρά αδενοκαρκινώματα έχουν μεγαλύτερη διάμετρο 1-2 εκ., ροδόχρουν χροιά, κομβιοειδή εμφάνιση, είναι ποικίλως υπερυψωμένα από την βλεννογονική επιφάνεια, με σαφή όρια, όμοια μ' αυτά του αδενωματώδους πολύποδα. Η σύστασή τους σ' αυτό το στάδιο εξαρτάται από την σχετική αναλογία του αδενοκαρκινώματος και αδενωματώδους πολύποδα και από το ποσοστό της δεσμοπλασίας του στρώματος.

Τα μεγαλύτερα αδενοκαρκινώματα εμφανίζουν συχνά τρεις κύριους μακροσκοπικούς τύπους:

1) Ο ογκόμορφος - εξωφυτικός τύπος απαντάται συχνότερα στο τυφλό και στο ανιόν κόλο. Αυτός, μπορεί να καταλάβει μεγάλο τμήμα του εντερικού αυλού, αλλά σπάνια αποτελεί αιτία απόφραξης ενώ αυξάνεται χωρίς θορυβώδη συμπτώματα με μόνη την απώλεια αίματος που έχει ως αποτέλεσμα την αναιμία.

2) Ο διηθητικός- ελκωτικός τύπος απαντάται συχνότερα στο εγκάρσιο και στο κατιόν κόλο. Αυτά τα αδενοκαρκινώματα είναι στρογγυλά, με ανώμαλα και υπερυψωμένα χείλη και κεντρική εξέγκωση. Η τελευταία μαζί με τη διάβρωση του μυϊκού χιτώνα λόγω της ενδομυϊκής ανάπτυξης αυτού είναι και οι αιτίες διάτρησης του εντερικού τοιχώματος και της συνοδού περιτονίτιδας.

3) Ο δακτυλιοειδής - στενωτικός τύπος απαντάται συχνότερα στο εγκάρσιο και στο κατιόν απ' ό,τι στο ανιόν κόλο. Πιθανά ο τύπος αυτός ξεκινά ως εστιακό διηθητικό αδενοκαρκίνωμα που επεκτείνεται περιμετρικά στο εντερικό τοίχωμα λόγω της διήθησης του μυϊκού χιτώνα και της ικανής δεσμοπλασίας του στρώματος αυτού, χαρακτηριστικό το οποίο φαίνεται στην επιφάνεια διατομής του νεοπλάσματος.

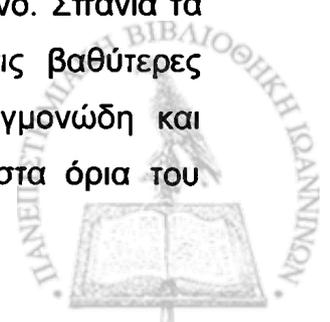


Συνδυασμοί των παραπάνω μακροσκοπικών τύπων ή και άτυπων μορφών αυτών μπορούν να παρατηρηθούν. Έτσι τμήμα του όγκου μπορεί να είναι εξωφυτικό και εν μέρει σχετικά επίπεδο. Πολυλοβωτοί όγκοι πιστεύεται ότι είναι πλησίον κείμενα σύγχρονα αδενοκαρκινώματα τα οποία συνενώθηκαν. Σε λίγες περιπτώσεις το αδενοκαρκίνωμα εμφανίζεται σαν επίπεδη πλάκα πάνω στην βλεννογονική επιφάνεια με εκτεταμένη ενδομυϊκή ανάπτυξη. Αυτό θεωρείται ότι προέρχεται απ'ευθείας από κακοήγη εξαλλαγή του εντερικού βλεννογόνου και όχι από προϋπάρχοντα αδενωματούδη πολύποδα.

Στη διατομή του αδενοκαρκινώματος βλέπουμε λευκόφαιης χροιάς ιστό να αντικαθιστά το εντερικό τοίχωμα. Τα όρια της επεξεργασίας μπορεί να είναι καλά οριοθετημένα ή να έχουν ακτινωτές προσεκβολές. Οι βλεννώδεις όγκοι έχουν ζελατινώδη σύσταση και η βλέννα διαχωρίζει της μυικές δεσμίδες του εντερικού τοιχώματος. Μεγάλη σημασία στην μακροσκοπική εξέταση είναι να εκτιμηθεί η επέκταση του αδενοκαρκινώματος στο εντερικό τοίχωμα και στους περικολικούς ιστούς, η μακροσκοπική διήθηση φλεβών και η μακροσκοπική εμφάνιση του υπόλοιπου εντερικού βλεννογόνου για την ύπαρξη άλλου αδενοκαρκινώματος ή πολύποδα (4).

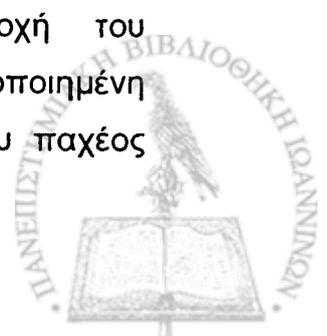
1.6.4 Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά

Άσχετα με τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά, τα πρωτοπαθή αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου συνήθως είναι καλής προς μέτριας διαφοροποίησης και εκκρίνουν ποικίλλο ποσό βλέννας. Αυτό αποτελείται από μεγάλα, ανώμαλα αδένια τα οποία επενδύονται από κακοήγη ψηλά, κυλινδρικά κύτταρα με υψηλή μιτωτική δραστηριότητα. Τα καρκινικά κύτταρα αποτελούν συνδιασμό κυλινδρικών και καλυκοειδών κυττάρων, με συμμετοχή περιστασιακά και ολιγάριθμων ενδοκρινών κυττάρων και σπάνια κυττάρων Paneth. Σε πολλές περιπτώσεις, δεν υπάρχει ιστολογική διαφορά μεταξύ των επιφανειακών θέσεων του αδενοκαρκινώματος και της βαθύτερης διήθησης ή της μεταστατικής εστίας. Σε πολλά αδενοκαρκινώματα παρατηρείται θηλώδης διαμόρφωση στην παρυφή αυτών με τον φυσιολογικό βλεννογόνο. Σπάνια τα αδενοκαρκινώματα έχουν εξέχουσα θηλώδη διαμόρφωση στις βαθύτερες διηθητικές θέσεις. Το αδενοκαρκίνωμα συνοδεύεται από φλεγμονώδη και δεσμοπλαστική αντίδραση, η οποία είναι ιδιαίτερα εξέχουσα στα όρια του



όγκου και κυμαίνεται από μικρή έως σκιρρώδη. Τα περισσότερα από τα φλεγμονώδη κύτταρα είναι T- αλλά και B- λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, ιστοκύτταρα, αλλά και δενδριτικά κύτταρα θετικά στην πρωτεΐνη S-100. Το αδενοκαρκίνωμα μπορεί να διηθεί όλους τους χιτώνες του εντέρου να εκτείνεται εντός του περικολικού λίπους και να διηθεί νεύρα και φλεβίδια. Το τελευταίο χαρακτηριστικό έχει αξιοσημείωτη προγνωστική σημασία. Μερικές φορές για να εκτιμηθεί αυτό καλύτερα, χρειάζεται να γίνουν χρώσεις ελαστικών ινών, λείων μυϊκών ίνών, όπως η ακτίνη ή το αντιγόνο CD-31. Σπάνια, το στρώμα του όγκου μπορεί να έχει υποστεί οστική μετάπλαση. Στα όρια του αδενοκαρκινώματος μπορεί να υπάρχουν υπολείμματα προϋπάρχοντος αδενωματούδους πολύποδα τα οποία ανευρίσκονται σε ποσοστό 10%. Επίσης συχνότερα σ' αυτές τις θέσεις παρατηρούνται υπερπλαστικές αλλοιώσεις των φυσιολογικών αδενίων, τα οποία εμφανίζονται υψηλότερα, περισσότερο ελικοειδή και με περισσότερα καλυκοειδή κύτταρα από το φυσιολογικό βλεννογόνο. Αυτή η αλλαγή, η οποία συνοδεύεται και με αλλοιώσεις στην έκκριση της βλέννας, αναφέρεται ως **μεταβατικός βλεννογόνος**. Αυτό πιθανά είναι μία αντιδραστική αλλαγή, αφού μπορεί να συμβεί και σε άλλους τύπους νεοπλασμάτων, όπως είναι το κακόηθες λέμφωμα και το μεταστατικό καρκίνωμα (4,7).

Τα αδενοκαρκινώματα ιστολογικά χωρίζονται στα καλής, μέσης και χαμηλής διαφοροποίησης. Καλής διαφοροποίησης θεωρούνται τα αδενοκαρκινώματα τα οποία συνίστανται ολοκληρωτικά από καλά σχηματισμένα αδένια. Μέσης διαφοροποίησης θεωρούνται τα αδενοκαρκινώματα τα οποία συνίστανται από συμπαγείς εστίες κακοήθων νεοπλασματικών κυττάρων, αναμεμιγμένων με νεοπλασματικά αδένια. Οι συμπαγείς εστίες αποτελούν το 25% της έκτασης του αδενοκαρκινώματος. Χαμηλής διαφοροποίησης θεωρούνται τα αδενοκαρκινώματα στα οποία τα νεοπλασματικά αδένια αποτελούν λιγότερο το 25% της έκτασης του αδενοκαρκινώματος. Μερικές φορές μπορούμε να παρατηρήσουμε γιγαντοκυτταρικές μορφές νεοπλασματικών κυττάρων ενώ αυτά στις συμπαγών εστίες μπορεί να είναι αναπλαστικά ή να πάρουν την μορφολογία "σφραγιστήρα δακτύλιου". Συνήθως, μία περιοχή του αδενοκαρκινώματος μπορεί να είναι καλά ενώ άλλη πτωχά διαφοροποιημένη (4). Ιστοχημικά, στην πλειοψηφία τους τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου είναι θετικά στις χρώσεις για βλέννες.



Ανοσοϊστοχημικά, τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου είναι θετικά στην κερατίνη 8/18 και 20 και συνήθως αρνητικά στην κερατίνη 7 (το αντίστροφο είναι εξαιρετικά σπάνιο). Αυτό το γεγονός είναι αξιοσημείωτο στην διαφορική διάγνωση μεταξύ των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου και των πρωτοπαθών αδενοκαρκινωμάτων του πνεύμονα. Υπερέκφραση του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου (CEA) είναι ο κανόνας. Υπάρχει καλή συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου στις ιστολογικές τομές και στο επίπεδο αυτού στον ορό του αίματος, αλλά όχι με το στάδιο και τον βαθμό διαφοροποίησης του αδενοκαρκινώματος.

1.6.5 Άλλοι μικροσκοπικοί τύποι του αδενοκαρκινώματος

Το βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα. Είναι ένας ειδικός τύπος αδενοκαρκινώματος στο οποίο παρατηρούνται μεγάλες λίμνες εξωκυττάριας βλέννης ανανεμιγμένης με αθροίσεις καρκινικών κυττάρων. Εξ ορισμού, αυτές πρέπει να αποτελούν το 25% της έκτασης του αδενοκαρκινώματος. Σε μερικές περιπτώσεις υπάρχει μίγμα από ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια βλέννη, από την οποία προκύπτει το αδενοκαρκίνωμα από κύτταρα με μορφολογία "σφραγιστήρα δακτύλιου" (αδενοκαρκίνωμα signet ring). Τα βλεννώδη αδενοκαρκινώματα αποτελούν το 15% των αδενοκαρκινωμάτων και εντοπίζονται συχνότερα στο ορθό. Τα βλεννώδη αδενοκαρκινώματα σχετίζονται πιο συχνά με τους αδενωματώδεις πολύποδες. Η πρόγνυσή τους είναι χειρότερη από τον συνήθη τύπο του αδενοκαρκινώματος, τουλάχιστον όταν αυτά εντοπίζονται στο ορθό και είναι σταδίου B κατά Duke's.

Το αδενοκαρκίνωμα Signet ring. Είναι πολύ σπάνια μορφή αδενοκαρκινώματος και συνήθως απαντάται σε νέους ασθενείς.

Μακροσκοπικά, εμφανίζεται ως διάχυτη διήθηση του τοιχώματος του παχέος εντέρου αν και έχει περιγραφεί ότι προέρχεται από προϋπάρχοντα αδενωματώδη πολύποδα.

Μικροσκοπικά, παρατηρούμε διάχυτη διήθηση από κύτταρα με την μορφολογία «σφραγιστήρος δακτυλίου» και με συμμετοχή ολιγάριθμων ή και καθόλου αδενικών σχηματισμών. Μεταστάσεις εμφανίζονται γρήγορα σε λεμφαδένες, στην περιτοναϊκή κοιλότητα, στις ωοθήκες και στο ήπαρ.



Άλλα μικροσκοπικά ευρήματα που μπορούν να παρατηρηθούν στα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου είναι: α) Πλακώδης διαφοροποίηση, που είναι συχνότερη στα αδενοκαρκινώματα του ορθού. Τις περισσότερες φορές το πλακώδες συνυπάρχει με το αδενικό στοιχείο (αδενοπλακώδες καρκίνωμα), αλλά περιστασιακά αυτό παρατηρείται και ως αμιγής μορφή (πλακώδες καρκίνωμα).

Συσχέτιση έχει παρατηρηθεί μεταξύ της πλακώδους διαφοροποίησης στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου και της προϋπάρχουσας ελκώδους κολίτιδας. Έχει επίσης τεκμηριωθεί ότι μερικά από τα παραπάνω αδενοπλακώδη και πλακώδη καρκινώματα μπορεί να προέρχονται από περιοχές πλακώδους διαφοροποίησης σε προϋπάρχοντες αδενωματώδεις πολύποδες. Για τα πλακώδη καρκινώματα η εντόπιση είναι συχνότερη στο κατώτερο ορθό και πρέπει να διαφοροδιαγνωσθούν από τα πλακώδη καρκινώματα του πρωκτικού σωλήνα με επέκταση στο ορθό.

β) Διαυγοκυτταρικές αλλαγές. Αυτές μπορεί να συμβούν στα νεοπλασματικά κύτταρα και είναι το αποτέλεσμα της συσσώρευσης γλυκογόνου.

γ) Ραβδοειδή χαρακτηριστικά, που έχουν περιγραφεί σε μία περίπτωση αδενοκαρκινώματος του τυφλού.

δ) Βασικοκυτταρικό καρκίνωμα όμοιο μ'αυτό του πρωκτικού δακτυλίου έχει παρατηρηθεί σε λίγες περιπτώσεις στο παχύ έντερο, πιθανά εμφανιζόμενο πάνω σε μεταπλαστική βάση.

ε) Χοριοκαρκινωμάτωσης διαφοροποίηση, η οποία μπορεί να συμβεί εστιακά στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου. Η έκκριση της χοριακής γοναδοτροπίνης (HCG) μπορεί να αποδειχθεί ανοσοϊστοχημικά στα καρκινικά κύτταρα. Περιστασιακά ολόκληρο το νεόπλασμα μπορεί να έχει την εμφάνιση του χοριοκαρκινώματος. Αυτό το φαινόμενο πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί από το περισσότερο συχνό εύρημα των θετικών κυττάρων στην HCG από ένα μορφολογικά μετατρεπόμενο αδενοκαρκίνωμα.

στ) Ενδοκρινής διαφοροποίηση, μπορεί να εμφανισθεί με διάφορους τρόπους, οπουδήποτε στον γαστρεντερικό σωλήνα και πιο συγκεκριμένα: 1) Ως διάσπαρτα ενδοκρινή κύτταρα σε ένα τυπικό αδενοκαρκίνωμα (ιδιαίτερα βλενωδούς τύπου) αυτό όμως δεν επηρεάζει την πρόγνωση ή την φυσική πορεία του νεοπλασματος. Αυτό συμβαίνει στο 15% έως 50% όλων των αδενοκαρκινωμάτων και αποδεικνύεται ανοσοϊστοχημικά με την μέθοδο του



υβριδισμού ή ανοσοϊστοχημικά για νευροενδοκρινικούς δείκτες όπως η χρωμογρανίνη. 2) Με τη μορφή νεοπλάσματος με μικτή σύσταση, στην οποία το τυπικό αδενοκαρκίνωμα αναμιγνύεται με κύτταρα ενδοκρινούς διαφοροποίησης. Η προέλευση των νεοπλασμάτων αυτών εξηγείται με την παραδοχή ότι προέρχονται από ενδοδερμικά πολυδύναμα κύτταρα τα οποία εντοπίζονται στην βάση των κρυπτών και κατά την πορεία της νεοπλασματικής εξαλλαγής υπόκεινται σε διαφοροποίηση με διαφορετικούς παθογενετικούς δρόμους. 3) Με τη μορφή νεοπλάσματος που έχει την πιο οργανωμένη μορφή ενός νευροενδοκρινούς καρκινώματος, το οποίο συνίσταται περισσότερο από μεγάλα παρά από μικρά κύτταρα. Σε αυτά τα νεοπλάσματα έχουν δοθεί διάφορες ονομασίες, όπως ενδιαμέσου τύπου μικροκυτταρικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα, άτυπο καρκινοειδές (ένας όρος ο οποίος δεν πρέπει να χρησιμοποιείται) και υψηλού βαθμού κακοήθειας νευροενδοκρινές καρκίνωμα.

Μια άλλη μορφή είναι το **μικροκυτταρικό καρκίνωμα**. Το νεόπλασμα αυτό έχει την ίδια μικροσκοπική εμφάνιση με το αντίστοιχο του πνεύμονα. Ανοσοϊστοχημικά, τα νεοπλασματικά κύτταρα δείχνουν θετικότητα στην ειδική νευρωνική ενολάση (neuron specific enolase, NSE) και σε άλλους ενδοκρινείς δείκτες, όπως η συναπτοφυσίνη. Ολόκληρη η έκταση του νεοπλάσματος μπορεί να έχει ομοιόμορφη εμφάνιση ή να υπάρχουν και εστίες με αδενική διαφοροποίηση με ή χωρίς παραγωγή βλέννας. Πλακώδης διαφοροποίηση μπορεί επίσης να παρατηρηθεί. Τα περισσότερα μικροκυτταρικά καρκινώματα του παχέος εντέρου εντοπίζονται στο δεξιό κόλο. Μερικά απ'αυτά προέρχονται συνήθως από λαχνωτούς αδενωματώδεις πολύποδες. Η πρόγνυσή τους είναι πτωχή και δίνουν πρώιμες μεταστάσεις στους λεμφαδένες και στο ήπαρ.

Μια άλλη μορφή είναι το άτυπο καρκινοειδές(7).

1.6.6 Σταδιοποίηση των αδενοκαρκινωμάτων

Το 1937 ο Dukes πρότεινε ένα σύστημα σταδιοποίησης για τα αδενοκαρκινώματα του ορθού, το οποίο εφαρμόστηκε και στα αδενοκαρκινώματα του υπόλοιπου τμήματος του παχέος εντέρου. Αυτό χρησιμοποιείται ακόμη ευρέως γιατί έχει άμεση σχέση με την πρόγνωση. Σύμφωνα με αυτό διακρίνονται τα εξής στάδια:



1. Στάδιο Α. Το αδενοκαρκίνωμα διηθεί τον υποβλεννογόνο χιτώνα, δεν διηθεί τον μυϊκό και δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις.

2. Στάδιο Β. Το αδενοκαρκίνωμα διηθεί όλο το πάχος του εντερικού τοιχώματος, μέχρι και τους περικολικούς ιστούς αλλά δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις.

3. Στάδιο C. Υπάρχουν και λεμφαδενικές μεταστάσεις.

Τροποποίηση της σταδιοποίησης του Duke έγινε από τους Astler -Coller και είναι η εξής:

Dukes' A. Το αδενοκαρκίνωμα διηθεί βλεννογόνο και υποβλεννογόνο χιτώνα χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις.

Dukes' B1. Υπάρχει διήθηση του μυϊκού χιτώνα χωρίς όμως να τον διατιτραίνει και δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις.

Dukes' B2. Υπάρχει διήθηση του περικολικού λίπους χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις.

Dukes' C1. Υπάρχει διήθηση υποβλεννογονίου ή και του μυϊκού χιτώνα καθώς και διήθηση των επιχώριων λεμφαδένων.

Dukes' C2. Υπάρχει διήθηση του περικολικού λίπους και των επιχώριων λεμφαδένων.

Dukes' D. Το νεόπλασμα έχει δώσει απομακρυσμένες μεταστάσεις.

1.6.7 Η σταδιοποίηση των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου κατά το σύστημα TNM (T=tumor, N=lymph nodes, M=metastasis)

Αυτό σύμφωνα με την WHO έχει ως εξής:

T: συμβολίζεται ο πρωτοπαθής όγκος, **N:** οι λεμφαδένες και **M:** οι απομακρυσμένες μεταστάσεις.

To: Δεν είναι εμφανές το πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα.

Tis: Αδενοκαρκίνωμα in situ.

T1: Το αδενοκαρκίνωμα περιορίζεται στο βλεννογόνο ή και υποβλεννογόνο χιτώνα.

T2: Το αδενοκαρκίνωμα οριοθετείται στο εντερικό τοίχωμα, αλλά όχι πέραν του ορογόνου.



T3: Το αδενοκαρκίνωμα διηθεί όλες τις στιβάδες του εντερικού τοιχώματος με ή χωρίς άμεση επέκταση στους παρακείμενους ιστούς ή όργανα. Συρίγγιο μπορεί να υπάρχει με τους παρακείμενους ιστούς ή όργανα.

T4: Το αδενοκαρκίνωμα επεκτείνεται πέραν των άμεσων γειτονικών ιστών ή οργάνων.

No: Δεν υπάρχει διήθηση λεμφαδένων.

N1: Διήθηση ενός έως τριών διηθημένων επιχώριων λεμφαδένων οι οποίοι είναι γειτονικοί του αδενοκαρκινώματος.

N2: Υπάρχουν διηθημένοι λεμφαδένες πέραν του ορίου εκτομής ή της απολίνωσης των αγγείων.

N3: Διήθηση λεμφαδένων μη ειδικής εντόπισης.

Mo: Δεν υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις.

M1: Υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις (4).

1.6.8 Διασπορά και μεταστάσεις

Τα επίπεδα αδενοκαρκινώματα έχουν μεγαλύτερη τάση για βαθύτερη στρωματική και λεμφαγγειακή διήθηση απ'ό,τι τα συνήθη πολυποδοειδή αδενοκαρκινώματα. Οι συχνότερες μεταστάσεις είναι στους επιχώριους λεμφαδένες και στο ήπαρ. Οι λεμφαδενικές μεταστάσεις είναι περισσότερο συχνές στα νεοπλάσματα που εμφανίζουν θέσεις χαμηλής διαφοροποίησης και υψηλό διηθητικό πρότυπο ανάπτυξης. Οι ηπατικές μεταστάσεις είναι περισσότερο συχνές όταν συνυπάρχει διήθηση αιμοφόρων αγγείων. Άλλες θέσεις μεταστάσεων είναι το περιτόναιο, οι πνεύμονες, οι ωοθήκες, το ΚΝΣ, τα οστά, οι όρχεις, η μήτρα και η στοματική κοιλότητα. Μερικές φορές οι μεταστάσεις στις ωοθήκες μπορεί να μιμούνται το πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα των ωοθηκών. Η δευτεροπαθής διήθηση της ουροδόχου κύστης μπορεί να μιμείται πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα του οργάνου αυτού.



1.6.9 Θεραπεία

Η θεραπεία των αδενοκαρκινώματων του παχέος εντέρου είναι αποκλειστικά χειρουργική εφ' όσον αυτή είναι εφικτή. Η μέθοδος και η έκταση αυτής εξαρτάται από την εντόπιση του νεοπλάσματος και υπαγορεύεται από την αγγείωση του εντέρου και των λεμφικών μεταστάσεων. Το αδενοκαρκίνωμα πρέπει να αφαιρείται με όλο το τμήμα του παχέος εντέρου που αρδεύεται από τα αγγεία κατά μήκος των οποίων πορεύονται τα λεμφαγγεία τα προερχόμενα από την περιοχή του όγκου όπως και τα αντίστοιχα λεμφογάγγλια. Για τα αδενοκαρκινώματα του τυφλού και του ανιόντος κόλου η ειλεοκολεκτομή (δεξιά ημικολεκτομή) είναι η θεραπεία εκλογής. Όταν τα αδενοκαρκινώματα εντοπίζονται κάτω από την ανάσπαση του περιτοναίου αντιμετωπίζονται με κοιλιοπερινεϊκή εκτομή και γίνεται προσπάθεια διατήρησης του πρωκτού. Στα άλλα τμήματα του παχέος εντέρου τα αδενοκαρκινώματα αντιμετωπίζονται με εκτομή του αντίστοιχου τμήματος αυτού και τελικοτελική αναστόμωση. Η τοπική υποτροπή του αδενοκαρκινώματος στη θέση της αναστόμωσης φαίνεται να γίνεται από την εμφύτευση καρκινικών κυττάρων στην επιφάνεια διατομής κατά την διάρκεια της επέμβασης. Για την αποφυγή της υποτροπής έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια χειρουργικές τεχνικές με καλά αποτελέσματα. Η ενδοσκοπική τοπική αφαίρεση ενδείκνυται μόνο για τα αδενοκαρκινώματα του ορθού όταν αυτά είναι πολύ μικρά, επιφανειακά και καλά διαφοροποιημένα ή όταν η φυσική κατάσταση του ασθενούς είναι βεβαρημένη και δεν επιτρέπει την κοιλιοπερινεϊκή εκτομή. Ο ρόλος της ακτινοβολίας ή και χημειοθεραπείας πριν ή μετά την χειρουργική αφαίρεση έχει αμφιλεγόμενα αποτελέσματα αν και συνδυασμός αυτών φαίνεται να μειώνει το ποσοστό της τοπικής υποτροπής και να αυξάνει το χρόνο επιβίωσης των ασθενών. Η τοπική αφαίρεση των απομακρυσμένων μεταστάσεων στο ήπαρ και στον πνεύμονα φαίνεται σε μερικές περιπτώσεις να αυξάνει τον χρόνο επιβίωσης των ασθενών (7,12).

1.6.10 Πρόγνωση

Η πενταετής επιβίωση μετά την χειρουργική αφαίρεση του αδενοκαρκινώματος, ανέρχεται σε ποσοστό 40% έως 60%. Τοπική υποτροπή



με ή χωρίς μετάσταση σε επιχώριους λεμφαδένες συμβαίνει πάνω από το 90% των περιπτώσεων. Το 71% των υποτροπών γίνεται εμφανές στα δύο πρώτα χρόνια και το 91% στα πέντε χρόνια μετά την χειρουργική αφαίρεση.

Η πρόγνωση του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου σχετίζεται με ένα μεγάλο αριθμό κλινικών και ιστοπαθολογικών παραμέτρων, οι οποίοι είναι οι ακόλουθοι:

1. Η ηλικία. Το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου έχει χειρότερη πρόγνωση όταν εμφανίζεται σε νεαρά και σε ηλικιωμένα άτομα. Στην πρώτη ομάδα προκύπτει από έναν συνδυασμό παραγόντων, όπως είναι η μεγαλύτερη καθυστέρηση στην διάγνωση που οδηγεί και σε περισσότερο προχωρημένα στάδια και στο ό,τι η μεγαλύτερη αναλογία των περιπτώσεων αυτών προέρχονται από προϋπάρχουσα ελκώδη κολίτιδα και το μεγαλύτερο ποσοστό τους είναι αδενοκαρκινώματα του τύπου του «σφραγιστήρα δακτυλίου» και του βλεννώδους.
2. Το φύλο. Η πρόγνωση είναι καλύτερη στις γυναίκες απ'ό,τι στους άνδρες.
3. Εντόπιση. Ο παράγοντας αυτός είναι αμφιλεγόμενος. Τα αδενοκαρκινώματα του αριστερού κόλου φαίνεται να έχουν καλύτερη πρόγνωση απ' αυτά του σιγμοειδούς και του ορθού (13). Επίσης η διαγνωστική σημασία της εντόπισης του νεοπλασματος αποδείχθηκε πολύ μικρή(14). Η παρακολούθηση έδειξε μεγαλύτερη τάση για καθυστερημένες υποτροπές στο αδενοκαρκίνωμα του αριστερού κόλου(15).
4. Πολλαπλή εντόπιση. Η επιβίωση των ασθενών με σύγχρονο ή μετάχρονο αδενοκαρκίνωμα είναι ίδια με αυτούς τους ασθενείς οι οποίοι έχουν μονήρες αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου.
5. Τοπική επέκταση. Η πρόγνωση είναι εξαιρετικά καλή για το εστιακό μικροσκοπικό αδενοκαρκίνωμα το οποίο ανευρίσκεται σε έναν αδενωματώδη πολύποδα. Όπως επίσης είναι καλύτερη εάν το αδενοκαρκίνωμα περιορίζεται στον βλεννογόνο. Από τα αδενοκαρκινώματα που έχουν δώσει μεταστάσεις στους επιχώριους λεμφαδένες, η πρόγνωση είναι χειρότερη για εκείνα που έχουν επεκταθεί μέσα στο τοίχωμα του παχέος εντέρου.
6. Μέγεθος. Αν και υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους του νεοπλασματος και της πρόγνωσης, υπάρχουν πολλές εξαιρέσεις για να είναι αυτό ένας αληθινός προγνωστικός δείκτης. Επίσης έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει



μικρή συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους του αδενοκαρκινώματος και των λεμφαδενικών μεταστάσεων.

7. Απόφραξη. Αυτό το χαρακτηριστικό είναι αμφιλεγόμενο και άλλοτε εικάζεται ότι είναι δείκτης κακής πρόγνωσης ανεξάρτητος από το στάδιο κατά Dukes και άλλοτε όχι.

8. Διάτρηση. Η διάτρηση του εντερικού τοιχώματος είναι το αποτέλεσμα της επέκτασης του αδενοκαρκινώματος σ' αυτό και είναι δείκτης κακής πρόγνωσης γιατί έχει επέλθει διασπορά των καρκινικών κυττάρων στην περιτοναϊκή κοιλότητα.

9. Ιστολογικός τύπος και βαθμός κακοήθειας. Υπάρχει ξεκάθαρη σχέση μεταξύ του ιστολογικού βαθμού κακοήθειας του αδενοκαρκινώματος και της πρόγνωσης. Μεταξύ των ιστολογικών υποτύπων, τα βλεννώδη, τα μικροκυτταρικά και τα αδενοκαρκινώματα από κύτταρα με μορφολογία «σφραγιστήρος δακτυλίου» έχουν χειρότερη πρόγνωση από τα συνήθη αδενοκαρκινώματα.

10. Ενδοκρινή κύτταρα. Τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου που περιέχουν ενδοκρινή κύτταρα (θετικά στην χρωμογραννίνη Α) έχουν περισσότερο επιθετική συμπεριφορά από εκείνα τα οποία δεν έχουν.

11. Αντιγόνα σχετιζόμενα με την παραγωγή βλέννας. Αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου τα οποία υπερεκκρίνουν τη σιαλοσυλομάδα-Τη αντισιαλικό Lewis αντιγόνο (sialosyl-Tn antisialyl Lewis antigen), έχουν περισσότερο επιθετική κλινική συμπεριφορά.

12. HLA-DR υπερέκφραση. Τα αδενοκαρκινώματα που υπερεκφράζουν έντονα το αντιγόνο HLA-DR έχουν μεγαλύτερη επιβίωση απ' αυτά που δεν το υπερεκφράζουν και είναι του ίδιου σταδίου.

13. Υπερέκφραση της χοριακής γοναδοτροπίνης. Η ανοσοϋπερέκφραση αυτής δεν βρέθηκε να είναι δυσμενής προγνωστικός δείκτης στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου.

14. Οι παρυφές του όγκου. Τα αδενοκαρκινώματα, στις παρυφές των οποίων καθώς και στο ενδιάμεσο υπόστρωμά τους παρατηρούνται φλεγμονώδεις διηθήσεις αποτελούμενες από πλασματοκύτταρα και λεμφοκύτταρα που σχετίζονται με εκφυλιστικές αλλοιώσεις μέσα στο νεόπλασμα, έχουν καλύτερη πρόγνωση απ' αυτά που στερούνται αυτών των χαρακτηριστικών. Μερικές



φορές η φλεγμονώδης διήθηση μοιάζει με αυτή της νόσου του Crohn και έχει παρατηρηθεί να έχει ευνοϊκή προγνωστική σημασία.

15. Φλεγμονώδης αντίδραση. Η φλεγμονώδης διήθηση του στρώματος που αποτελείται από ηωσινόφιλα και δενδριτικά κύτταρα θετικά S-100 πρωτεΐνη έχει ευνοϊκή πρόγνωση. Η φλεγμονώδης διήθηση αποτελούμενη από λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και φλεγμονή με χαρακτηριστικά της νόσου του Crohn φαίνεται να έχει καλύτερη πρόγνωση στα αδενοκαρκινώματα του ίδιου σταδίου. Αντίθετα η παρουσία τεσσάρων ή περισσότερων μαστοκυττάρων σε 30 οπτικά πεδία μεγάλης μεγέθυνσης βρέθηκε να σχετίζεται με χαμηλότερο συνολικό χρόνο επιβίωσης.

16. Αγγειακή και περινευρική διήθηση. Όταν υπάρχει διήθηση φλεβιδίων η πενταετής επιβίωση μειώνεται αξιοσημείωτα. Αυτό το χαρακτηριστικό είναι περισσότερο αξιοσημείωτο όταν εμπλέκονται φλεβίδια εκτός του μυϊκού τοιχώματος απ'ό,τι όταν αυτά εντοπίζονται μέσα στο εντερικό τοίχωμα. Η περινευρική διήθηση είναι επίσης ένα άλλο σημείο της προχωρημένης κακοήθειας και συνήθως αυτή συνοδεύεται από άλλα δυσοίωνα ιστοπαθολογικά ευρήματα. Η διήθηση των λεμφαγγείων είναι λιγότερο σπουδαία, αλλά φανερώνει έναν διαφορετικό προγνωστικό δείκτη όταν είναι εκτεταμένη σε ασθενείς σταδίου C κατά Dukes.

17. Λεμφαδενικές μεταστάσεις. Όταν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις η πενταετής επιβίωση είναι αβέβαιη. Η εντόπιση και η έκταση των λεμφαδένων που εμπλέκονται είναι επίσης σημαντική. Η θεραπεία είναι πολύ δύσκολη όταν εμπλέκονται απομακρυσμένοι λεμφαδένες. Η εμπλοκή του κορυφαίου λεμφαδένα είναι ένα ιδιαίτερα δυσοίωνα χαρακτηριστικό. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των εμπλεκόμενων λεμφαδένων, τόσο χειρότερη είναι η πρόγνωση. Εάν υπάρχουν μικρομεταστάσεις σε λεμφαδένες που ανακαλύπτονται μόνο ανοσοϊστοχημικά, παρατηρείται επίσης ελάττωση της επιβίωσης.

18. Στάδιο κατά Dukes.

Αυτό το σύστημα, το οποίο παριστά συνδιασμό των κριτηρίων της τοπικής επέκτασης του αδενοκαρκινώματος και των λεμφαδενικών μεταστάσεων, έχει αποδειχθεί ότι είναι το πιο αξιόπιστο προγνωστικό στοιχείο για τους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου.



19. Λεμφαδενική αντίδραση. Έχει αποδειχθεί ότι οι ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου, των οποίων οι λεμφαδένες εμφάνιζαν αλλοιώσεις ανοσοβλαστικής αντίδρασης (αύξηση του αριθμού των ανοσοβλαστών και /ή ιστοκυττάρωση των λεμφοκόλπων), είχαν μεγαλύτερο χρόνο επιβίωσης από εκείνους των οποίων οι λεμφαδένες δεν έδειχναν τέτοιες αλλοιώσεις.

20. Ανευπλοειδικό DNA. Με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής (flow cytometric) βρέθηκε σχέση μεταξύ του σταδίου Dukes και του ιστολογικού βαθμού διαφοροποίησης. Τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου έχουν ομοιογενές DNA και υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της ανευπλοϊδικότητας, του κινδύνου υποτροπών και της επιβίωσης, ιδιαίτερα στα αδενοκαρκινώματα του ορθού.

21. Κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Ο Προσδιορισμός του τμήματος της S-φάσης του κυτταρικού κύκλου έχει αμφιλεγόμενη συσχέτιση με την επιβίωση.

22. Απώλεια του χρωμοσώματος 18q. Αυτή η καρυοτυπική αλλαγή είναι ισχυρός αρνητικός προγνωστικός δείκτης στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου.

23. Υπερέκφραση ογκογονιδίων. Οι μεταλλάξεις του K-ras ογκογονιδίου σε ορισμένες θέσεις κωδικονίων έχουν βρεθεί να είναι πολύ συχνές σε ασθενείς με υποτροπή της νόσου. Έχει παρατηρηθεί ανοσοϊστοχημικά υπερέκφραση της πρωτεΐνης p21. Οι ασθενείς των οποίων τα αδενοκαρκινώματα υπερεκφράζουν την πρωτεΐνη p53 έχουν αυξημένο κίνδυνο θανάτου από τους άλλους, παρά το γεγονός ότι δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της πρωτεΐνης p53 πρωτεΐνης, του βαθμού κακοηθείας και του σταδίου. Κατ' άλλους, η υπερέκφραση της p53 βρέθηκε να είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης επιβίωσης. Υπερέκφραση του ογκογονιδίου c-myc βρέθηκε να συσχετίζεται με τον βαθμό διαφοροποίησης του αδενοκαρκινώματος.



1.7 ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ

Ο φυσιολογικός αριθμός χρωμοσωμάτων του ανθρώπου είναι 46 και βρίσκονται σε ζευγάρια, δηλαδή 23 ζευγάρια. Από αυτά, τα 22 ζευγάρια είναι κοινά στους άνδρες και στις γυναίκες και τα χρωμοσώματα αυτά ονομάζονται αυτοσωματικά (ή σωματικά) χρωμοσώματα. Το 23^ο ζευγάρι, όμως, αποτελείται από τα χρωμοσώματα του φύλου και οι μεν φυσιολογικές γυναίκες έχουν 2 χρωμοσώματα Χ ενώ οι άνδρες έχουν ένα χρωμόσωμα Χ και ένα χρωμόσωμα Υ. Τα χρωμοσώματα αποτελούνται από δύο χρωματίδες που συνδέονται στο κεντρομερίδιο. Κάθε χρωματίδα αποτελείται από μιά διπλή έλικα DNA που συνδέεται πολύ ισχυρά με βασικές πρωτεΐνες, τις ιστόνες (H1, H2A, H2B, H3, H4). Με βάση τη θέση του κεντρομεριδίου διακρίνονται στα χρωμοσώματα με βραχεία (p) και μακρά (q) σκέλη.

Κυτταρικός κύκλος.

Το χρονικό διάστημα το οποίο απαιτείται για να διαιρεθεί ένα κύτταρο καλείται κύκλος ζωής ή κυτταρικός κύκλος. Αυτός διακρίνεται στις ακόλουθες φάσεις:

α) G1, είναι το χρονικό διάστημα κατά το οποίο το κύτταρο, μετά τη διαίρεσή του, προετοιμάζεται για τον επικείμενο διπλασιασμό του DNA. Ακόμη, παρατηρείται έντονη σύνθεση πρωτεϊνών και RNA.

β) S, είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο γίνεται ο διπλασιασμός του DNA και δημιουργούνται δύο χρωματίδες, οι οποίες είναι ενωμένες σε κάθε χρωμόσωμα.

γ) G2, είναι το χρονικό διάστημα κατά το οποίο το κύτταρο αναπτύσσεται μετά το διπλασιασμό του DNA και ετοιμάζεται για την ισοκατανομή του γενετικού υλικού στα δύο νέα θυγατρικά κύτταρα που πρόκειται να προκύψουν.

δ) M, είναι η φάση όπου το γενετικό υλικό κατανέμεται σε δύο νέους πυρήνες. Το διάστημα αυτό καλείται μίτωση.

ε) D, είναι το χρονικό διάστημα που διαρκεί η διαίρεση του κυττάρου.

Οι φάσεις G1-S-G2 καλούνται και μεσόφαση (16,17).

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες διακρίνονται σε αριθμητικές και δομικές.

Οι αριθμητικές είναι αυτές στις οποίες υπάρχει διαταραχή του αριθμού των χρωμοσωμάτων. Οι ανωμαλίες αυτές είναι δυνατό να αφορούν τα αυτοσωματικά ή τα φυλετικά χρωμοσώματα και προκαλούνται από



μεταλλάξεις των γενετικών κυττάρων στους γονείς ή σε κάποιον από τους προγόνους ή από μεταλλάξεις σε σωματικά κύτταρα. Στην δεύτερη περίπτωση μόνο ένα ποσοστό των κυττάρων φέρει το παθολογικό χρωμόσωμα (μωσαϊκισμός).

Οι δομικές ανωμαλίες είναι αυτές στις οποίες υπάρχουν ένα ή περισσότερα δομικά ανώμαλα χρωμοσώματα. Όπως συμβαίνει και στις αριθμητικές και στις δομικές ανωμαλίες το ανώμαλο χρωμόσωμα είναι δυνατόν να βρίσκεται σε όλα τα κύτταρα του ατόμου ή σε μωσαϊκή μορφή.

Οι συχνότερα απαντώμενες δομικές ανωμαλίες είναι:

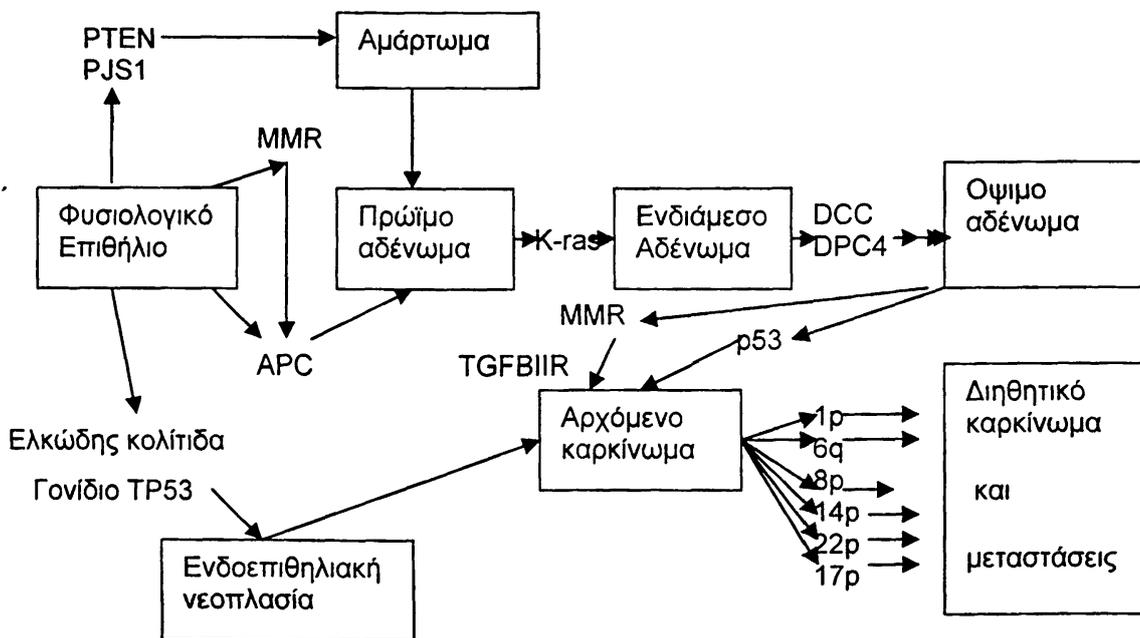
1. Μετάθεση (translocation): είναι η μεταφορά χρωμοσωμικού υλικού μεταξύ των χρωμοσωμάτων.
2. Αναστροφή (inversion): είναι το αποτέλεσμα δυο χρωμοσωμικών θραύσεων και περιστροφής (αναστροφής) 180 μοιρών του τμήματος που βρίσκεται ανάμεσα στα δυο σημεία θραύσης.
3. Έλλειμμα (deletion): είναι η απώλεια ενός χρωμοσωμικού τμήματος. Οι φορείς ελλειμμάτων είναι ημιζυγώτες για την γενετική πληροφορία που αντιστοιχεί στο χρωμοσωμικό τμήμα που λείπει και οι κλινικές συνέπειες εξαρτώνται από το μέγεθος του ελλείμματος, τον αριθμό και την λειτουργία των γονιδίων που λείπουν.
- 4) Δακτυλιοειδές χρωμόσωμα (ring chromosome): σχηματίζεται μετά από θραύση και των δυο άκρων ενός χρωμοσώματος και επανένωση των σπασμένων άκρων σε δακτυλιοειδή σχηματισμό.
- 5) Ισοχρωμόσωμα (isochromosome): είναι ένα ανώμαλο χρωμόσωμα, το οποίο εμφανίζει έλλειμμα του ενός βραχίονα και διπλασιασμό του άλλου (18). Τα α-δορυφορικά DNA (a-sattelite DNA) έχουν απλές αλληλουχίες βάσεων που επαναλαμβάνονται χιλιάδες φορές και βρίσκονται στην περιοχή του κεντρομέρους. Αυτές φαίνεται ότι έχουν σχέση με τη μετακίνηση, ζευγάρωμα και αποχωρισμό των ομολόγων χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση και μίτωση (19).



1.8 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

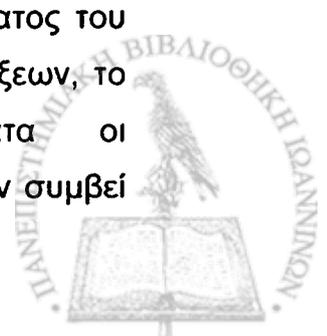
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι μέχρι τώρα ιστολογικές παρατηρήσεις οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου πιθανά προέρχεται από μία σταδιακά επιδεινούμενη αδενωματούδη δυσπλασία του επικαλυπτικού επιθηλίου του βλεννογόνου του παχέος εντέρου .

Ο Fearon και ο Vogelstein πρότειναν ένα μοντέλο του παθογενετικού δρόμου της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου το οποίο στηρίζεται στην ιδέα της κακοήθους εξαλλαγής του αδενώματος σε αδενοκαρκίνωμα (20) .



Εικόνα 1. Μορφολογικές και γενετικές αλλαγές στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου

Αν και ο κύριος παράγοντας για την εμφάνιση του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου είναι η συγκέντρωση όλων των γονιδιακών μεταλλάξεων, το μοντέλο αυτό προτείνει ότι στα περισσότερα αδενοκαρκινώματα οι μεταλλάξεις των ογκοκατασταλτικών γονιδίων και ογκογονιδίων έχουν συμβεί



με μια συγκεκριμένη σειρά (π.χ στο σύνδρομο της οικογενούς αδενωματοώδους πολυποδίασης του παχέος εντέρου (adenomatous polyposis coli, APC) οι γονιδιακές μεταλλάξεις που έχουν συμβεί εν σειρά είναι η ολική υπομεθυλίωση, μεταλλάξεις του K-ras, ελλειματικές μεταλλάξεις ογκογονιδίων στο καρκίνωμα του παχέος εντέρου (deleted in colonic cancer, DCC) και τελευταίες οι μεταλλάξεις του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53).

Φυσικά, το μοντέλο του Fearon προτάθηκε πριν δεκατέσσερα χρόνια κι από τότε έχουν επισημανθεί κι αναγνωρισθεί κι άλλες μεταλλάξεις που συμβαίνουν με μεγάλη συχνότητα. Γι'αυτό χρειάζεται να γίνουν συμπληρωματικές διορθώσεις ώστε να ληφθούν υπόψιν κι άλλοι τρόποι ανάπτυξης αδενοκαρκινώματος στο παχύ έντερο τους οποίους γνωρίζουμε σήμερα από τις τελευταίες έρευνες (εικ 1).

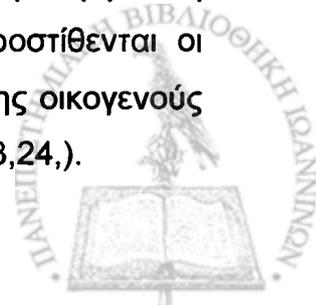
1.8.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Η πορεία της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου μπορεί να χωρισθεί στα παρακάτω στάδια :

A) Έναρξη της καρκινογένεσης.

Είναι γνωστό ότι, για να αρχίσει η διαδικασία της καρκινογένεσης απαιτούνται μόνο δύο μεταλλάξεις. Τις πιο πολλές φορές αυτές συμβαίνουν στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο 5q21q22 της οικογενούς αδενωματοώδους πολυποδίασης του παχέος εντέρου (APC).

Οι μεταλλάξεις του APC γονιδίου έχουν ως αποτέλεσμα, αφ' ενός μεν, τη μη ολοκληρωμένη σύνθεση της APC- πρωτεΐνης, αφ' ετέρου δε, μπορεί να πάρουν τη μορφή της απώλειας αλληλίων. Αυτές ανιχνεύονται στο 75% των σποραδικών αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου και εμφανίζονται νωρίς στους αδενωματοώδεις πολύποδες, οι οποίοι κατά πάσα πιθανότητα θα υποστούν κακοήγη εξαλλαγή και θα εξελιχθούν σε διηθητικό αδενοκαρκίνωμα. Στο ρόλο του γονιδίου APC, όσον αφορά στην εμπλοκή του στην εμφάνιση του σποραδικού αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου, προστίθενται οι γενετικές μεταλλάξεις του, που είναι και η αιτία της εμφάνισης της οικογενούς αδενωματοώδους πολυποδίασης του παχέος εντέρου(10,21,22,23,24,).



Η APC - πρωτεΐνη είναι πιθανά ένα διμερές , έχει ογκοκατασταλτική δράση διαμέσου ενδοκυττάρων σημείων και παρουσιάζει αλληλεπίδραση με τον κυτταροσκελετό, ρυθμίζοντας έτσι τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επηρεάζοντας πιθανά την κυτταρική διαίρεση ή την απόπτωση. Πρέπει ωστόσο να διερευνηθεί κατά πόσο οι μεταλλάξεις του γονιδίου APC είναι οι πρώτες που συμβαίνουν στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου ή κατά πόσο ένα λάθος σε ένα απ'τα γονίδια διόρθωσης των ατελειών (MMR) των γονιδίων μπορεί να αποτελέσει ένα εναλλακτικό αρχικό βήμα.

Μεταλλάξεις στα τέσσερα γονίδια MMR έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση του επικρατούντος κληρονομικού συνδρόμου του κληρονομικού μη πολυποειδούς αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (HNPCC). Αυτά είναι: το hMSH2 που εντοπίζεται πάνω στο χρωμόσωμα 2p, το hMLH1 πάνω στο χρωμόσωμα 3p, το hPMS1 πάνω στο χρωμόσωμα 2q και το hPMS2 πάνω στο χρωμόσωμα 7q (21, 25 ,26).

Τα αδενοκαρκινώματα των ασθενών με μεταλλάξεις στα γονίδια MMR έδειξαν μικροδορυφορική αστάθεια, η οποία είναι ένα είδος επαναλαμβανόμενου λάθους. Όμως, γενικά, θεωρείται ότι οι μεταλλάξεις στα γονίδια MMR στο HNPCC οδηγούν μόνο στο να αυξήσουν το λόγο των μεταλλάξεων που έχουν συμβεί (συμπεριλαμβάνοντας και τις μεταλλάξεις του γονιδίου APC) και είναι επίσης πιθανόν ότι από μόνες τους μπορούν να έχουν έναν άμεσο ρόλο στην έναρξη της καρκινογένεσης. Μεταλλάξεις των γονιδίων MMR μπορεί ακόμη να συμβούν και στα σποραδικά αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου, αν και, όταν αυτές οι μεταλλάξεις είναι σωματικές, συμβαίνουν χρονικά μετά τις μεταλλάξεις του γονιδίου APC και γ'αυτό εμπλέκονται στην εξέλιξη των αδενοκαρκινωμάτων περισσότερο απ'ό,τι στην έναρξη των.

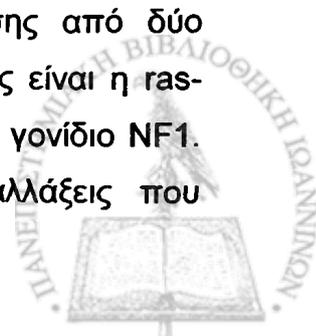
Τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου που εμφανίζονται σε έδαφος ελκώδους κολίτιδας συνήθως δεν προέρχονται από αδενωματώδεις πολύποδες, υποδηλώνοντας έτσι ένα διαφορετικό παθογενετικό δρόμο από εκείνον των σποραδικών αδενοκαρκινωμάτων. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου APC ανιχνεύονται σε μικρότερη συχνότητα στα αδενοκαρκινώματα που αναπτύσσονται σε έδαφος φλεγμονώδους νόσου του παχέος εντέρου, υποδηλώνοντας έτσι ότι οι μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού δεν είναι το αρχικό γεγονός σ'αυτούς τους τύπους των αδενοκαρκινωμάτων.



Η πιθανότητα να προκαλείται έναρξη της καρκινογένεσης από μεταλλάξεις σε άλλα γονίδια, προέρχεται από αναφορές στους οικογενείς αδενωματούδεις πολύποδες, οι οποίοι δε σχετίζονται με το γονίδιο APC. Επιπρόσθετα, είναι υπαρκτή η αλληλουχία αμάρτωμα-αδένωμα-αδενοκαρκίνωμα και τα γονίδια πολλών συνδρόμων-αμαρτωμάτων έχουν εντοπισθεί ή κλωνοποιηθεί όπως στο σύνδρομο Peutz - Jeghers πάνω στο χρωμόσωμα 19q (PJS1) και σε μερικές μορφές νεανικής πολυποδίασης και στο σύνδρομο Cowden's/ PTEN πάνω στο χρωμόσωμα 10. Επιπλέον, υπάρχουν κάποιες ενδείξεις για την αλληλουχία του υπερπλαστικού πολύποδα- αδένωματος- αδενοκαρκινώματος.

B) Εξέλιξη του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου: Από το πρώιμο αδένωμα στο αδενοκαρκίνωμα.

Αν και οι μεταλλάξεις του γονιδίου APC είναι το αρχικό εύρημα στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου είναι αμφίβολο αν αυτές από μόνες τους μπορούν να παίξουν καθοριστικό ρόλο στο στάδιο της εξέλιξης από το αδένωμα στο αδενοκαρκίνωμα χωρίς τη συμμετοχή μεταλλάξεων άλλων γονιδιακών θέσεων. Πιθανώς, διάφορα γονίδια εμπλέκονται στο στάδιο της εξέλιξης από το πρώιμο αδένωμα στο πρώιμο αδενοκαρκίνωμα. Σ'αυτά συμπεριλαμβάνονται, κατά κύριο λόγο, τα ογκογονίδια *ras* (21,27) . Το ογκογονίδιο *K ras* είναι ένα από τα τρία ανθρώπινα γονίδια (*K ras*, *H ras* και *N ras*). Αυτά κωδικοποιούν μικρούς πρωτεϊνικούς δεσμούς τοποθετημένους στην εσωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης και εμπλέκονται στη μετάδοση μηνυμάτων από τους υποδοχείς τυροσίνης-κινάσης, όπως ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR)(28,29,30) . Οι υποδοχείς συνδέονται με τις πρωτεΐνες *ras* δια μέσου ενός συμπλέγματος πρωτεϊνών (GRB και SOS2 πρωτεϊνών). Ο παθογενετικός μηχανισμός της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου συμπεριλαμβάνει τα κυτταροπλασματικά RAF- σερίνη θρεονίνη κινάση και την ενεργά μιτωγόνο δραστική πρωτεϊνική κινάση (MAP). Οι πρωτεΐνες *ras* είναι ενεργοποιημένες με δεσμούς GTP και απενεργοποιούνται με την εσωτερική δραστικότητα GTPάσης από δύο GTPασες ενεργοποιημένων πρωτεϊνών (GAP). Δύο απ' αυτές είναι η *ras*-GAP-p120 και η νευροϊνωμίνη η οποία κωδικοποιείται από το γονίδιο NF1. Τα ογκογονίδια *ras* ενεργοποιούνται από σημειακές μεταλλάξεις που



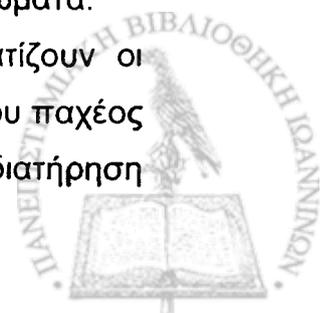
εμποδίζουν την ενεργοποίηση της GTPάσης. Περισσότερα από το 50% των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου εμφανίζουν ειδικές μεταλλάξεις στο ογκογονίδιο K-ras. Αυτές έχουν την τάση να αυξάνονται σε συχνότητα στα μεγαλύτερα σε μέγεθος και στα πιο προχωρημένα αδενοκαρκινώματα. Η συνέπεια των μεταλλάξεων του ογκογονιδίου K-ras κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του αδενοκαρκινώματος μπορεί να είναι ένα επιπλέον πλεονέκτημα για εκείνα τα κύτταρα που έχουν συγχρόνως και μεταλλάξεις των γονιδίων APC και K-ras, σε αντιδιαστολή από εκείνα τα κύτταρα που έχουν μόνο μεταλλάξεις του γονιδίου APC. Μολονότι, μεταλλάξεις του K-ras γονιδίου είναι δυνατό να παρατηρηθούν και σ' έναν ιστολογικά φυσιολογικό βλεννογόνο, εντούτοις φαίνεται να συνυπάρχουν με μεταλλάξεις του γονιδίου APC μόνο στο δυσπλαστικό εντερικό βλεννογόνο. Αυτό υποστηρίζει την αντίληψη ότι οι μεταλλάξεις του K-ras δεν παρέχουν και τόσο μεγάλο πλεονέκτημα, όταν απουσιάζουν οι μεταλλάξεις του γονιδίου APC.

Αρχικά, θεωρούσαν ότι τα ογκοκατασταλτικά γονίδια MCC (το οποίο έχει υποστεί μετάλλαξη στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου) και DCC έπαιζαν καθοριστικό ρόλο στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου.

Στο μοντέλο του Fearon και Vogelstein, η μετάλλαξη του γονιδίου DCC αντιπροσωπεύει το τρίτο στάδιο στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου.

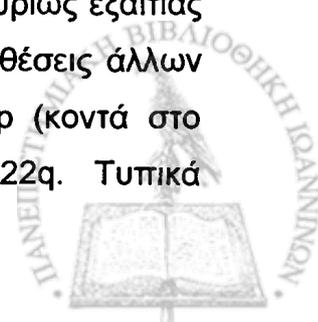
Τα γονίδια MCC και DCC αναγνωρίστηκαν εξαιτίας της συχνής απώλειας των αλληλίων κοντά στις θέσεις τους 5q21-q22 και 18q213 αντίστοιχα, στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου. Αρχικά περιγράφηκε ένας μικρός αριθμός μεταλλάξεων στο γονίδιο MCC, αλλά μεταγενέστερες μελέτες έχουν εντοπίσει πολύ λίγες μεταλλάξεις, υποθέτοντας έτσι ότι το γονίδιο APC είναι ο πρωταρχικός στόχος για την απώλεια του αλληλίου 5q21-q22. Το DCC είναι ένα μοριακό ομόλογο το οποίο παίζει ρόλο στη συνοχή των νευρικών κυττάρων και γι' αυτό η μετάλλαξη του μπορεί να έχει κάποιον ρόλο στην εξέλιξη του αδενοκαρκινώματος, στη διήθηση και τη μετάσταση (αν και, γενικά, η απώλεια του αλληλίου συμβαίνει πριν την κακοήθεια). Καινούργιες μελέτες, όμως, υπαινίσσονται ότι ένα άλλο γονίδιο, το DPC4, μπορεί να είναι ο στόχος της απώλειας αλληλίων στο χρωμόσωμα 18q σε μερικά αδενοκαρκινώματα.

Δεν υπάρχουν αμφιβολίες όσον αφορά στο ρόλο που διαδραματίζουν οι μεταλλάξεις του γονιδίου p53 στην εξέλιξη του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (31,32,33,34,35). Η p53 πρωτεΐνη είναι σημαντική για τη διατήρηση



της ακεραιότητας του DNA. Βλάβη του DNA έχει ως αποτέλεσμα την στάση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G₁, διαμεσολαβούμενη από τη p53 ακολουθούμενη από διόρθωση ή απόπτωση, εάν η βλάβη, η εξαρτώμενη από την p53, είναι εκτενής(36). Κατ'αυτόν τον τρόπο απώλεια της λειτουργίας της p53 από μετάλλαξη ή έλλειμμα, επιτρέπει στα κύτταρα τη συγκέντρωση μεταλλάξεων σ'ολόκληρο το γένωμα και προκύπτει έτσι μια καρουοτυπική αστάθεια που εμποδίζει την στάση στην G₁ φάση του κυτταρικού κύκλου περιορίζοντας έτσι και την απόπτωση. Μεταλλάξεις στο γονίδιο p53 συμβαίνουν περίπου στο 75% των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου, αλλά είναι μικρότερης συχνότητας στα βλεννώδη αδενοκαρκινώματα και σ' αυτά που εντοπίζονται στο εγγύς κόλο, όπως και στο σύνδρομο HNPCC(37) . Μεταλλάξεις του p53 είναι σπάνιες στους αδενωμάτωδεις πολύποδες, υποδηλώνοντας έτσι ότι το p53 γονίδιο παίζει βέβαια ρόλο στην εξέλιξη του αδενοκαρκινώματος, αλλά δεν είναι και απολύτως απαραίτητο για την κακοήθη εξαλλαγή του, γιατί σε μια σημαντική αναλογία περιπτώσεων δεν έχει αποδειχθεί μετάλλαξη στο γονίδιο p53 (38,39,40). Αυτές οι μεταλλάξεις τείνουν να συμβαίνουν στο τελικό στάδιο, πριν την κακοήθη εξαλλαγή του αδενώματος (αν και συμβαίνουν πολύ πρώιμα στα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου τα οποία σχετίζονται με φλεγμονώδη νόσο και στα σύγχρονα αδενοκαρκινώματα παρά σε αυτά που προέρχονται από τους αδενωμάτωδεις πολύποδες). Γενικά, αύξηση των μεταλλάξεων του γονιδίου p53 είναι κοινή στα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου και μπορεί να ανιχνευθεί ανοσοϊστοχημικά με την έκφραση της πρωτεΐνης p53 .

Απώλεια του αλληλίου που περικλείει την γονιδιακή θέση του γονιδίου p53 (17p13.1) συμβαίνει συχνά είτε εξ'αιτίας της απώλειας του άγριου τύπου του αλληλίου ή πιθανά επειδή ένα άλλο κοντινό γονίδιο έγινε ο στόχος(41-58) . Μελέτες πάνω στην απώλεια αλληλίων έχουν οδηγήσει στον εντοπισμό των γονιδιακών θέσεων άλλων ογκοκατασταλτικών γονιδίων τα οποία μπορεί να εμπλέκονται στην εξέλιξη του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου . Μεταλλάξεις του FHIT γονιδίου και της γονιδιακής θέσης p16 (MTS1) μπορεί να είναι σημαντικές στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου, κυρίως εξαιτίας της ανεπαρκούς διακοπής του κυτταρικού κύκλου. Γονιδιακές θέσεις άλλων ογκοκατασταλτικών θέσεων περιλαμβάνουν το χρωμόσωμα 1p (κοντά στο υποτιθέμενο ανθρώπινο Mom-1 ομόλογο), 6q,8p,14q και 22q. Τυπικά



απώλειες αλληλίων συμβαίνουν σε ποσοστό 30% έως 60% σ'αυτές τις θέσεις των άλλων ογκοκατασταλτικών γονιδιακών θέσεων. Οι ρόλοι των μεταλλάξεων των γονιδίων MMR στην καρκινογένεση αναφέρθηκαν προηγουμένως εν συντομία. Στα HNPCC αδενοκαρκινώματα της HNPCC, η μία μετάλλαξη είναι κληρονομική και οι άλλες σωματικές. Στο 15% περίπου των σποραδικών αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου και οι δύο μεταλλάξεις των γονιδίων MMR (ή δύο μεταλλάξεις σε συσχετιζόμενες θέσεις) είναι σωματικές. Φυσιολογικός βλεννογόνος από ασθενείς με HNPCC δεν έδειξε μικροδορυφορική αστάθεια

Μόνο το 50% των αδενωματωδών πολυπόδων των παραπάνω ασθενών (συγκρινόμενο με το 90% των αδενοκαρκινωμάτων) έδειξε μικροδορυφορική αστάθεια και η συχνότητα των πρώιμων αλλοιώσεων, όπως είναι οι μεταλλάξεις του γονιδίου APC είναι όμοια στις μεταλλάξεις με λάθος αντιγραφής και στις θετικές και τις αρνητικές περιπτώσεις. Συνεπώς, στα σποραδικά αδενοκαρκινώματα, η ελαττωματική λειτουργία των γονιδίων MMR μπορεί να είναι μία εναλλακτική οδός για την απώλεια του αλληλίου ή για την απόκτηση μεταλλάξεων. Η απώλεια των γονιδίων MMR μπορεί απλά να παίζει το ρόλο καταλύτη στην πορεία του αδενοκαρκινώματος κάτω από τον ίδιο παθογενετικό μηχανισμό όπως κι η μικροδορυφορική αστάθεια στις αρνητικές περιπτώσεις.

Οι μεταλλάξεις των γονιδίων MMR μπορούν να λειτουργούν ως εναλλακτικές των μεταλλάξεων του γονιδίου p53 στα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου, αν και αυτό θα συμβαίνει μέσω διαφορετικών μηχανισμών. Αν και η γονιδιακή αστάθεια στα αδενοκαρκινώματα με μεταλλάξεις του p53 τείνει να προσλάβει τη μορφή καρυοτυπικής ανωμαλίας, εντούτοις η αστάθεια που προκύπτει από μεταλλάξεις των γονιδίων MMR μπορεί να οδηγήσει σε μία σχεδόν διπλοειδή αλλοίωση. Έχει βρεθεί ότι μεταλλάξεις των γονιδίων MMR συσχετίζονται αρνητικά με τη μετάλλαξη του p53 και ότι όπως οι μεταλλάξεις του p53 και οι μεταλλάξεις των MMR συμβαίνουν συχνά στους αδενωματώδεις πολύποδες του παχέος εντέρου. Γονιδιακή αστάθεια μπορεί να είναι το αποτέλεσμα σωματικών ή και γενετικών μεταλλάξεων άλλων γονιδίων που εμπλέκονται στην αντιγραφή και στη διόρθωση του DNA (29-58).



Γ) Κακοήθεια

Λίγες ειδικές γενετικές αλλαγές έχουν ανακαλυφθεί στο τελικό στάδιο της καρκινογένεσης, που είναι το αδενοκαρκίνωμα. Έχουν εντοπισθεί διάφορες περιοχές με απώλειες αλληλίων, αλλά ο ρόλος τους στην εξέλιξη του αδενοκαρκινώματος είναι αβέβαιος. Οι τύποι των μεταλλάξεων που θα μπορούσαν να είναι σημαντικοί στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου, είναι εκείνοι που προκαλούν έντονη αντιγραφή, μείωση της απόπτωσης ή της αγγειογένεσης. Τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι απαραίτητο να έχουν μερικά χαρακτηριστικά και κυρίως την ικανότητα α) να διαβρώσουν την βασική μεμβράνη, β) να σπάσουν τους φυσιολογικούς δεσμούς συνοχής των κυττάρων και γ) να επιβιώσουν στο λεμφικό ή αιμοφόρο αγγειακό σύστημα, καθώς και στο νέο ιστικό περιβάλλον.

Μόρια κυτταρικής συνοχής φαίνεται να εμπλέκονται στην πορεία της διηθητικής ανάπτυξης και μετάστασης των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου. Εκτός από τις ενέργειες συνοχής, μεταλλάξεις σ'αυτές τις θέσεις μπορεί να έχουν επιρροή στην αύξηση του νεοπλασματος. Για παράδειγμα, η πρωτεΐνη E-καδερίνη (E-cadherin) σχηματίζει μέρος από το σύμπλεγμα σύνδεσης των επιθηλιακών κυττάρων. Απώλεια της πρωτεΐνης E-καδερίνης παρατηρείται σε πολλά αδενοκαρκινώματα, συμπεριλαμβανομένων κι αυτών του παχέος εντέρου και συσχετίζεται με την αυξημένη επιθετική συμπεριφορά τους. Άλλες πρωτεΐνες που πιθανώς συσχετίζονται με την διηθητική ανάπτυξη του αδενοκαρκινώματος είναι εκείνες που εμπλέκονται στην καταστροφή των ιστών, όπως η ουροκινάση οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες /κολλαγονάσες (29, 59-64).

Τα καρκινικά κύτταρα των μεταστάσεων μπορεί να έχουν γονότυπους και/ή πρότυπα έκφρασης των γόνων διαφορετικά από εκείνα του πρωτοπαθούς αδενοκαρκινώματος. Ποικιλία στον αριθμό γονιδιακών θέσεων μπορεί να διαφοροποιεί το πρότυπο συμπεριφοράς του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου. Αυτά είναι το γονίδιο NM23 το οποίο παίζει κάποιο πιθανό ρόλο στις μεταστάσεις πολλών καρκίνων, και το CD44.



1.9 Γονίδιο p53 - Πρωτεΐνη p53

Είναι γνωστό ότι το γονίδιο p53 εδράζεται στην χρωμοσωμική περιοχή 17p13.1 του ανθρώπινου χρωματοσώματος 17 και κωδικοποιεί μία πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη 53 kDa που υπεισέρχεται σε πολλές σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες και παίζει κεντρικό ρόλο στην ομαλή κυτταρική ανάπτυξη.

Ο ρόλος του γονιδίου p53 στο κύτταρο είναι ογκοκατασταλτικός. Αυτό υποστηρίζεται από το γεγονός ότι η απενεργοποίησή του, είτε λόγω μεταλλάξεων είτε έλλειψης των αλληλομόρφων του, έχει άμεση σχέση με την αιτιολογία των περισσότερων ανθρώπινων καρκίνων, όπως του πνεύμονα, του μαστού, του παχέος εντέρου, οστεοσαρκωμάτων και λευχαιμιών (65).

Ο τρόπος λειτουργίας της πρωτεΐνης p53 δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί. Είναι πιθανόν ότι μπορεί να λειτουργεί ως ένας μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει την έκφραση μιας τάξεως γονιδίων, τα οποία με τη σειρά τους ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο. Πιστεύεται ότι μία από τις βασικές αιτίες που οδηγούν στην γονιδιακή αστάθεια είναι και η λειτουργία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου. Ο κυτταρικός κύκλος χαρακτηρίζεται από δύο μεταπτωτικά σημεία G₁-S και G₂-M, που θεωρούνται ότι εξυπηρετούν σημεία καθυστέρησης για τον έλεγχο και την επιδιόρθωση βλαβών πριν το κύτταρο εισέλθει στις φάσεις S και M αντίστοιχα. Βλάβη στο DNA χωρίς επιδιόρθωση και είσοδος στη φάση S ή M θα δημιουργήσει ένα μόνιμο γενετικό χαρακτήρα (66,67), ενώ συνεχείς συσσωρεύσεις τέτοιων μεταλλάξεων μπορούν να επιφέρουν φαινόμενα νεοπλασματικού μετασχηματισμού ή να οδηγήσουν το κύτταρο σε αποπτωτικό θάνατο.

Η λειτουργία της πρωτεΐνης p53 αποτελεί ένα καθοριστικό στοιχείο στον έλεγχο του G₁-S σημείου του κυτταρικού κύκλου. Καρκινικά κύτταρα ελλειμματικά στο γονίδιο p53, δεν ρυθμίζονται στο G₁-S σημείο. Αντίθετα, η διαμόλυνση του κανονικού p53 σε κύτταρα ελλειμματικά επαναφέρει την ρύθμιση στο G₁-S σημείο (68). Επιπλέον, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι έχει απομονωθεί ένα μεταλλαγμένο γονίδιο p53, με κυριαρχικά αρνητική (Dominant negative p53 mutant) λειτουργία (69). Η εισαγωγή του σε κύτταρα, ακόμη κι αν φέρουν τον άγριο τύπο p53, μπορεί να εξαλείψει το G₁-S σημείο του κυτταρικού κύκλου(68). Ο ρόλος του γονιδίου p53 στον έλεγχο του κυτταρικού



κύκλου συνδέεται με το σημαντικό φαινόμενο της γονιδιακής ενίσχυσης (Gene amplification). Έχει αποδειχθεί ότι κύτταρα που φέρουν τον άγριο τύπο p53 ή τον μεταλλαγμένο σε ετεροζυγωτία, παρουσιάζουν κανονικά το σταδιο G₁-S του κυτταρικού κύκλου και επιζούν, όταν μεταχειρισθούν με τον αναστολέα του μεταβολισμού πουρινών PALA. Σημαντικό όμως γεγονός είναι ότι από τα κύτταρα που φέρουν το μεταλλαγμένο p53 σε ομοζυγωτία επιζούν μόνο εκείνα που παρουσιάζουν φαινόμενα γονιδιακής ενίσχυσης (70,71). Οι δύο πρωτεΐνες -άγριου τύπου και μεταλλαγμένη- είναι δύο μόρια με διαφορετική βιολογική δράση. Η σημαντικότερη διαφορά τους είναι ότι η πρωτεΐνη άγριου τύπου δρα ογκοκατασταλτικά, ενώ η αντίστοιχη μεταλλαγμένη δρα ως ογκογονίδιο με κυριαρχικό χαρακτήρα. Η έκφραση του γονιδίου p53 σε φυσιολογικά κύτταρα είναι μη ανιχνεύσιμη. Οι μεταλλάξεις όμως που οδηγούν σε γενετικές αλλαγές και απαντώνται σε ανθρώπινες κακοήθειες, συχνά προκαλούν υπερέκφραση και συσσώρευση πρωτεϊνών της p53 στον πυρήνα του καρκινικού κυττάρου. Αυτό οφείλεται στο ότι η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη χάνει την τετραμερή δομή της, με αποτέλεσμα να παρουσιάζει μικρότερο βαθμό αποικοδόμησης, ή αλλιώς, μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής σε σύγκριση με την αντίστοιχη φυσιολογική-άγριου τύπου (71,72,73,74).

Χαρακτηριστικό της πρωτεΐνης p53 είναι ότι σχηματίζει σταθερά σύμπλοκα με ογκοπρωτεΐνες των DNA ιών, όπως το μεγάλο αντιγόνο T του SV40, την E1B του αδενοϊού και την E6 του ιού θηλώματος (75), ενώ το μεγάλο T αντιγόνο είναι ικανό να καταργήσει τη μεταγραφική δραστηριότητα του γονιδίου p53 (76). Επιπρόσθετα, η αντίδραση των πρωτεϊνών του T αντιγόνου και E1B με την p53 συντελεί στην απώλεια δράσης της, γεγονός που περαιτέρω, σχετίζεται με την ικανότητα των ογκοπρωτεϊνών αυτών να μετασχηματίζουν κύτταρα (77,78).

Αρκετά πριν από την γνώση των μεταλλάξεων στο γονίδιο p53, είχε αποδειχθεί ότι ασθενείς με καρκίνο του μαστού ή του ορθού παρουσίαζαν αντισώματα στην πρωτεΐνη p53. Φαίνεται ότι οι μεταλλαγμένες πρωτεΐνες p53, που προέρχονται από σημειακές μεταλλάξεις, αποτελούν ξένα αντιγόνα για τον οργανισμό και κάτω από ορισμένες συνθήκες, αποτελούν στόχους χυμικής ανοσίας. Κατ'αυτόν τον τρόπο, μετάλλαξη στο γονίδιο p53 έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση της αντίστοιχης πρωτεΐνης στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει περαιτέρω στην παραγωγή



αντισωμάτων με μια πορεία αυτο-ανοσοποίησης και να ανιχνευθούν στον ορό του ασθενούς.

Αρκετές μελέτες απεκάλυψαν την ύπαρξη τέτοιων αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης p53 σε μια ποικιλία καρκινικών τύπων, όπως καρκίνο του μαστού, καρκίνο του παχέος εντέρου, καρκίνο του πνεύμονα, λεμφώματα Β-κυττάρων και άλλων καρκινικών τύπων. Ανάλυση με ανοσοαποτύπωση (Western blot analysis) αποκάλυψε ότι τα αυτο-αντισώματα p53 αναγνωρίζουν περιοχές τόσο στο αμινο όσο και το καρβοξυ-τελικό άκρο της πρωτεΐνης άγριου και μεταλλαγμένου τύπου και μάλιστα, έξω από περιοχές που παρουσιάζουν μεγάλη συχνότητα μεταλλάξεων (hot spots). Οι παραπάνω μελέτες εύλογα έθεσαν το ερώτημα αν και κατά πόσον οι μεταλλάξεις στο γονίδιο p53, που σχετίζονται άμεσα με την παραγωγή των αντίστοιχων αυτο-αντισωμάτων, μπορούν να αποτελέσουν ένα δείκτη διάγνωσης καρκίνου σε κλινικό επίπεδο. Αποδείχθηκε ότι η συχνότητα των αντισωμάτων αυτών στον ορό σχετίζεται με μεταλλάξεις του γονιδίου p53 σε ανθρώπινους καρκίνους. Σήμερα σε κλινικό επίπεδο, μεταξύ άλλων αναλύσεων, οι καρκινικοί δείκτες αποτελούν ένα σημαντικό στοιχείο διάγνωσης του καρκίνου. Κατ'αυτήν την έννοια το γεγονός της ανίχνευσης των αντισωμάτων p53 στον ορό, ως τελικό αποτέλεσμα μεταλλάξεων του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53, ουσιαστικά κατέστησε την ανίχνευσή τους ένα νέο, επιπρόσθετο αλλά και απαραίτητο βιοχημικό δείκτη που παρέχει τη δυνατότητα επιβεβαίωσης της καρκινικής κατάστασης του ασθενούς (74).



2. Αντικείμενο της διατριβής



2.1 Αντικείμενο της διατριβής-Σκοπός της εργασίας

Τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου αποτελούν το 90% των κακοήθων νεοπλασιών του. Μετά τα καρκινώματα του πνεύμονα και του μαστού αποτελούν την τρίτη κατά σειρά αιτία θανάτου από κακοήθεις νόσους ενώ στην Ευρώπη είναι μία από τις συνηθέστερες μορφές κακοήθειας. Κάθε χρόνο καταγράφονται περίπου 210.000 νέες περιπτώσεις και 125.000 θάνατοι. Είναι η δεύτερη κατά σειρά συχνότητας κακοήθεια στους άντρες και η τρίτη στις γυναίκες (11). Για την κατανόηση της καρκινογένεσης του προτάθηκε από τον Fearon και Vogelstein ένα μοντέλο το οποίο βασίζεται στην αλληλουχία φυσιολογικού βλεννογόνου-αδενώματος-αδενοκαρκινώματος. Στα διάφορα στάδια του συσσωρεύονται ποικίλες γενετικές αλλαγές όπως μεταλλάξεις γονιδίων και απώλειες χρωμοσωμικών περιοχών που είναι αναγκαίες στην εμφάνιση του κακοήθους φαινότυπου και συνήθως εμπλέκουν πρωτοογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά γονίδια.

Το πιο συχνό χρωμόσωμα που εμπλέκεται στα τελευταία στάδια της καρκινογένεσης είναι το χρωμόσωμα 17 που στο βραχύ σκέλος του είναι ο χρωμοσωμικός τόπος του γονιδίου p53 (17p13.3). Ο ρόλος του στο κύτταρο είναι ογκοκατασταλτικός και εκφράζεται κωδικοποιώντας μία πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη p53, την άγριου τύπου πρωτεΐνη, με βραχύ χρόνο ημιζωής που δεν μπορεί να ανιχνευθεί ανοσοϊστοχημικά. Η λειτουργία της ρυθμίζει κυρίως την μετάπτωση G1-S του κυτταρικού κύκλου. Όταν υπάρχουν αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17, έλλειμα του γονιδιακού τόπου ή γονιδιακές μεταλλάξεις του γονιδίου p53 στα νεοπλασματικά κύτταρα παράγεται η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη p53 που μεγαλώνει σε διάρκεια ημιπερίοδος ζωής της και έτσι μπορεί να ανιχνευτεί ανοσοϊστοχημικά στους νεοπλασματικούς ιστούς. Οι δύο πρωτεΐνες -άγριου τύπου και μεταλλαγμένη- είναι δύο μόρια με διαφορετική βιολογική δράση. Η σημαντικότερη διαφορά τους είναι ότι η άγριου τύπου δρά ογκοκατασταλτικά, ενώ η αντίστοιχη μεταλλαγμένη δρα ως ογκογονίδιο με κυριαρχικό χαρακτήρα. Η έκφραση του γονιδίου p53 σε φυσιολογικά κύτταρα είναι μη ανιχνεύσιμη. Οι μεταλλάξεις όμως που οδηγούν σε γενετικές αλλαγές και απαντώνται σε ανθρώπινες κακοήθειες, συχνά προκαλούν υπερέκφραση (28) με την έννοια συσσώρευσης

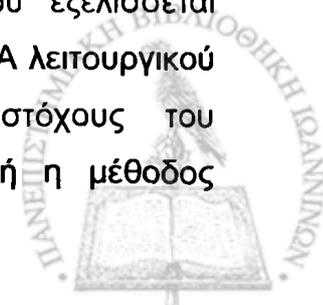


ανενεργών μορίων της p53 στον πυρήνα του καρκινικού κυττάρου (29). Αυτό οφείλεται στο ότι η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη χάνει την τετραμερή δομή της, με αποτέλεσμα να παρουσιάζει μικρότερο βαθμό αποικοδόμησης, ή αλλιώς, μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής σε σύγκριση με την αντίστοιχη φυσιολογική-άγριου τύπου (24).

Αρκετά πριν από την γνώση των μεταλλάξεων στο γονίδιο p53, είχε αποδειχθεί ότι ασθενείς με καρκίνο του μαστού ή του ορθού παρουσίαζαν αντισώματα στην πρωτεΐνη p53 (30,31). Φαίνεται ότι οι μεταλλαγμένες πρωτεΐνες p53, που προέρχονται από σημειακές μεταλλάξεις, αποτελούν ξένα αντιγόνα για τον οργανισμό και κάτω από ορισμένες συνθήκες, αποτελούν στόχους χυμικής ανοσίας. Κατ'αυτόν τον τρόπο, μετάλλαξη στο γονίδιο p53 έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση της αντίστοιχης πρωτεΐνης στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει περαιτέρω στην παραγωγή αντισωμάτων με μια πορεία αυτο-ανοσοποίησης (32,33), και να ανιχνευθούν στον ορό του ασθενούς. Προηγούμενοι ερευνητές χρησιμοποίησαν τεχνικές όπως της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με ανάλυση πολυμορφισμού περιοριστικής πέψης (polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism analysis, PCR-RFLP), αποτύπωση κατά Southern (Southern blotting) και μικροδορυφορική ανάλυση (microsatellite analysis) για να ανακαλύψουν ποικίλες γενετικές αλλαγές στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου. Αυτές καταγράφονται ως απώλειες χρωμοσωμάτων, υπεράριθμα (gains) χρωμοσώματα ή απώλεια ετεροζυγωτίας που οδηγούν σε φαινόμενα γενετικής αστάθειας με μετάλλαξη γονιδίων ή απώλεια γονιδίων.

Οι παραπάνω τεχνικές, στο υλικό που χρησιμοποιούν δεν διασώζεται η αρχιτεκτονική του νεοπλασματικού κυττάρου και στο δείγμα τους περιέχονται αξιοσημείωτα ποσά μη νεοπλασματικών κυττάρων που υπάρχουν μέσα στο νεοπλασματικό ιστό.

Μια καινούργια τεχνική η οποία έχει αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια και αντιπαρέρχεται αυτό το μειονέκτημα, είναι η τεχνική του *in situ* φθορίζοντα υβριδισμού (Fluorescence in Situ Hybridization, FISH) που εξελίσσεται συνεχώς και μας επιτρέπει να χαρτογραφίσουμε ένα τμήμα DNA λειτουργικού γονιδίου ή ανώνυμου τμήματος DNA στα κύτταρα στόχους του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου. Μέχρι τώρα αυτή η μέθοδος

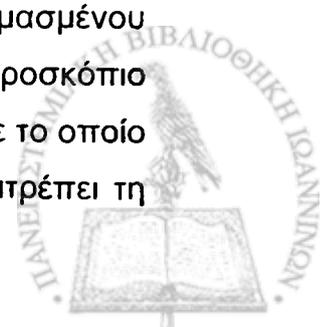


εφαρμόσθηκε σε διαιρούμενους κυτταρικούς πληθυσμούς από καλλιέργειες νεοπλασματικών κυττάρων από αδενοκαρκινώματα παχέος εντέρου χρησιμοποιώντας ειδικούς μοριακούς ανιχνευτές DNA (probes) που βοηθούν στην ανακάλυψη αριθμητικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών, επαύξηση και ελλείμματα γονιδίων σε μεσοφασικούς πυρήνες νεοπλασματικών κυττάρων. Επίσης οι σημειακές αλλαγές που ανακαλύπτονται με τη μέθοδο του φθορίζοντα *in situ* υβριδισμού σε κύτταρα από τα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου συμβαίνουν μόνο σε ένα καρκινικό κύτταρο ή σε μια μικρή ομάδα απ' αυτά.

Αν η παραπάνω μέθοδος του *in situ* φθορίζοντα υβριδισμού εφαρμοστεί σε ιστούς εγκλεισμένους σε παραφίνη (μη διαιρούμενοι κυτταρικοί νεοπλασματικοί πληθυσμοί) αντιπαρερχόμαστε τα προαναφερθέντα μειονεκτήματα και έτσι εφ' ενός μεν διατηρείται η αρχιτεκτονική του νεοπλασματικού κυττάρου και αφ' ετέρου δε έχουμε μεγαλύτερο ποσό καρκινικών κυττάρων για μελέτη και μάλιστα σε μεγάλη έκταση του αδενοκαρκινώματος(79,80).

Η μέθοδος FISH στηρίζεται στην αρχή ότι οποιαδήποτε κλωνοποιημένη αλληλουχία (ιχνηθέτης ή ανιχνευτής), που έχει μετατραπεί σε μονόκλωνη με θέρμανση μπορεί να συνδεθεί με την συμπληρωματική της αλληλουχία. Η τελευταία στην παρούσα εργασία είναι η περιοχή του α-δορυφόρου DNA του χρωμοσώματος 17 (περιοχή κεντρομεριδίου του χρωμοσώματος 17) και η γονιδιακή θέση του p53 που αποτελούν και τους στόχους μελέτης μας στα νεοπλασματικά κύτταρα του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου. Ο νεοπλασματικός ιστός τοποθετείται επάνω σε αντικειμενοφόρα πλακίδια. Με την θέρμανση στους 72⁰ C επιτυγχάνεται πρώτον ο διαχωρισμός της διπλής έλικας του DNA των κυττάρων- στόχων και δεύτερον η σύνδεσή τους με τον ιχνηθέτη ο οποίος έχει μεγαλύτερη κινητικότητα λόγω του μικρού μοριακού του βάρους.

Ο ιχνηθέτης σημαίνεται με φθορίζουσα ουσία η οποία στην προκειμένη περίπτωση είναι η φλουοροσκεΐνη. Στη συνέχεια και μετά την διαδικασία του υβριδισμού επιτυγχάνεται η αφαίρεση της περίσσειας του σημασμένου ιχνηθέτη και η ανίχνευση του ειδικού σήματος υβριδισμού σε μικροσκόπιο φθορισμού που υποδεικνύει έτσι τη θέση του ζητούμενου γονιδίου με το οποίο υβριδοποιήθηκε ο ιχνηθέτης. Η πρόοδος της τεχνικής του FISH επιτρέπει τη



σύγχρονη χρήση περισσότερων του ενός ιχνηθετών σημασμένων με διαφορετικές φθορίζουσες ουσίες και γίνεται κατορθωτή η σύγχρονη μελέτη πολλών γονιδιακών τόπων, χρωμοσωμάτων ή των αντίστοιχων γονιδιακών τόπων.

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι:

- 1) Η διερεύνηση των γενετικών αριθμητικών ανωμαλιών του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 σε ιστούς από αδenoκαρκινώματα παχέος εντέρου εγκλεισμένους σε κύβους παραφίνης.
- 2) Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 στους ίδιους ιστούς
- 3) Συσχέτιση των παραπάνω ευρημάτων με το στάδιο και την εντόπιση της νόσου, τον βαθμό κακοήθειας ή το μέγεθος του όγκου
- 4) Αξιολόγηση της προγνωστικής σημασίας των κυτταρογενετικών και ανοσοϊστοχημικών παραμέτρων και της δυνατότητας αυτών να χρησιμοποιηθούν σαν προγνωστικοί δείκτες.



3. Υλικά και μέθοδοι



3.1 Υλικά

Το υλικό αποτελείται από 54 περιπτώσεις σποραδικών αδενοκαρκινωμάτων μετά από τμηματική αφαίρεση παχέος εντέρου, 22 περιπτώσεις αδενωματοδών πολυπόδων και 15 δείγματα φυσιολογικού βλεννογόνου παχέος εντέρου. Τα δείγματα των βιοψιών και των παρασκευασμάτων μονιμοποιήθηκαν σε 10% διαλύματος φορμόλης, αφυδατώθηκαν και εγκλείστηκαν σε κύβους (blocks) παραφίνης. Πρόκειται για περιπτώσεις αρχείου του παθολογοανατομικού εργαστηρίου του ΠΠΝΙ στο χρονικό διάστημα 1989 –98.

Όλες οι περιπτώσεις επανεκτιμήθηκαν ιστολογικά και επιλέχθηκαν blocks με τις αντιπροσωπευτικότερες ιστολογικές αλλοιώσεις. Από τα επιλεγμένα blocks παρασκευάσθηκαν ιστολογικές τομές παραφίνης που χρησιμοποιήθηκαν για την εφαρμογή των μεθόδων του *in situ* υβριδισμού και της ανοσοϊστοχημείας. Οι 31 από τις 54 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων που μελετήθηκαν αφορούσαν ασθενείς οι οποίοι παρακολουθούνται στο ογκολογικό τμήμα του ΠΠΝΙ .



3.2 Μέθοδοι

3.2.1 Μέθοδος του φθορίζοντα *in Situ* υβριδισμού.

Προετοιμασία του δείγματος.

Το προς μελέτη δείγμα προετοιμάστηκε σε δύο στάδια:

α. Ιστολογικές τομές παραφίνης πάχους 4μ., απλώθηκαν σε πλακάκια επιστρωμένα με σιλικόνη μέσα στο νερό.

β. Ακολούθησε στέγνωμα των τομών στον αέρα και επώαση στους 65⁰ C για 4 -16 ώρες.

Αποπαραφίνωση των ιστολογικών τομών.

Η αποπαραφίνωση έγινε ως ακολούθως:

α. Εμβύθιση των ιστολογικών τομών δύο φορές σε 40 ml αχρησιμοποίητης ξυλόλης για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου.

β. Εμβύθιση ακολούθως των πλακιδίων δύο φορές σε 40 ml 100% αιθανόλης για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου και

γ. Στέγνωμα των τομών στον αέρα.

Προεργασία των τομών.

Η προεργασία έγινε ως ακολούθως:

α. Προετοιμάστηκε διάλυμα προεργασίας 30% με 12 γρ. δισουλφιδικού νατρίου (Oncor) που διαλύθηκαν σε 30 ml διαλύματος 2xSSC pH 7,0, προθέρμανση στους 45⁰ C για 10 λεπτά και συμπλήρωση του διαλύματος με 2xSSC σε τελικό όγκο 40 ml.

β. Σταθεροποιήθηκε η θερμοκρασία του διαλύματος στους 45⁰ C και μετά έγινε επώαση τεσσάρων πλακιδίων για 10 min.

γ. Ακολούθησε ξέπλυμα των τομών σε διάλυμα 2xSSC αναταράσσοντας για 5 έως 10 sec.

Πέψη του ιστού με πρωτεΐνάση K

α. Προετοιμασία διαλύματος πρωτεΐνάσης K με συγκέντρωση 0,25 mg/ml σε 40 ml 2xSSC, pH 7.0.

β. Προθέρμανση του διαλύματος στους 45⁰ C (μετρώντας συγχρόνως τη θερμοκρασία) και τοποθέτηση μέχρι τεσσάρων πλακιδίων που έχουν προηγουμένως υποστεί τη διαδικασία της προεργασίας για 30 min.

γ. Ξέπλυμα των τομών σε 2xSSC pH 7.0 για 5 έως 10 sec.



δ. Σταδιακή αφυδάτωση των τομών σε 70%, 80% και 95% αιθανόλη για 1 min σε θερμοκρασία δωματίου.

Εδώ θα πρέπει να αναφερθεί ότι ήταν πολύ δύσκολο να καθορισθούν οι ακριβείς χρόνοι πέψης για κάθε περιστατικό και πολλές φορές αναγκαστήκαμε να εφαρμόσουμε διαφορετικούς χρόνους για καθ'ένα.

Προπαρασκευή των ιχνηθετών.

α. Προθέρμανση του σεσημασμένου με βιοτίνη κεντρομεριδιακού DNA-ειδικού ιχνηθέτη για το χρωμόσωμα 17(D17Z1, 17a-sattelite, Oncor Inc., Gaithersburg, MD) και του σεσημασμένου με διγοξιγενίνη κοσμιδίου p53 DNA (TP 53, Oncor Inc.) στους 37° C. Ανάδευση για 2 έως 3 δευτερόλεπτα.

β. Ανάμιξη 1.5 μl από 17-a-sattelite ιχνηθέτη DNA με 30 μl υβριδιζόλη VI (hybrisol VI, Oncor). Ο ιχνηθέτης για τον τόπο του γονιδίου p53 χρησιμοποιήθηκε χωρίς αραίωση. Το ποσό του ιχνηθέτη που χρησιμοποιείται υπολογίζεται ανάλογα με τις διαστάσεις της ιστολογικής τομής.

Υβριδισμός.

α. Τοποθέτηση του ιχνηθέτη και κάλυψη της τομής με πλαστική καλυπτρίδα.

β. Αποδιάταξη του DNA του ιχνηθέτη και του στόχου μετά από τοποθέτηση πάνω σε θερμαινόμενη πλάκα για 5 min στους 67°C.

γ. Επώαση των τομών στους 37°C ολονύκτια, σε προθερμασμένο με υδρατμούς κλειστό χώρο.

Γρήγορο ξέπλυμα μετά τον υβριδισμό.

α. Προθέρμανση των διαλυμάτων 2xSSC pH 7,0 και 1xSSC pH 7,0 στους 72° C.

β. Αφαίρεση της πλαστικής καλυπτρίδας από τις τομές.

γ. Εμβάπτυση των τομών στο προθερμασμένο διάλυμα 1xSSC για 5 min και αμέσως μετά στο επίσης προθερμασμένο διάλυμα 2xSSC για άλλα 5 min.

δ. Εμβάπτυση των τομών σε 40 ml, 1xPBD για 2 min.

Ανίχνευση του φθορισμού των ιχνηθετών οι οποίοι είναι σεσημασμένοι με βιοτίνη - αντιχρώση.

1. Τοποθέτηση 60ml αντισώματος φλουοροσκεϊνης-αβιδίνης και κάλυψη με πλαστική καλυπτρίδα.

2. Επώαση των τομών για 5 min στους 37° C σε υγρό-σκοτεινό προθερμασμένο χώρο.



3. Ξέπλυμα των τομών τρεις φορές σε 40 ml 1xPBD για 2 min.
4. Τοποθέτηση 60 μl αντισώματος αντι-αβιδίνης και κάλυψη με πλαστική καλυπτρίδα.
5. Επώαση των τομών για 5 min στους 37°C σε υγρό-σκοτεινό προθερμασμένο χώρο.
6. Ξέπλυμα των τομών τρεις φορές σε 40 ml διαλύματος 1xPBD για 2 min .
7. Ενίσχυση του σήματος με επανάληψη των σταδίων 1,2 και 3.
8. Εφαρμογή 20 μl ιωδιούχου προπιδίου (0,6μg/ml) σε κάθε τομή.
12. Κάλυψη με γυάλινη καλυπτρίδα.

Ανίχνευση του φθορισμού των ιχνηθετών σεσημασμένων με φλουοροσκεΐνη-διγοξιγενίνη- αντιχρώση.

1. Εφαρμογή 60 μl αντισώματος αντιδιγοξιγενίνης-φλουοροσκεΐνης και κάλυψη με πλαστική καλυπτρίδα.
3. Επώαση των τομών στους 37⁰ C για 15 min σε υγρό-σκοτεινό προθερμασμένο χώρο.
4. Ξέπλυμα των τομών τρεις φορές σε 40 ml διαλύματος 1xPBD για 2 min .
5. Τοποθέτηση 60 μl αντισώματος I Rabbit Anti-Sheep και κάλυψη με πλαστική καλυπτρίδα.
6. Επώαση των τομών στους 37⁰ C για 15 min σε υγρό-σκοτεινό προθερμασμένο χώρο.
7. Ξέπλυμα των τομών τρεις φορές σε 40 ml διαλύματος 1xPBD για 2 min.
8. Τοποθέτηση 60 μl αντισώματος II Anti-Rabbit για φλουοροσκεΐνη και κάλυψη με πλαστική καλυπτρίδα.
9. Επώαση των τομών στους 37⁰ C για 15 min σε υγρό-σκοτεινό προθερμασμένο χώρο.
10. Ξέπλυμα των τομών τρεις φορές σε 40 ml διαλύματος 1xPBD για 2 min.
11. Εφαρμογή 20 μl ιωδιούχου προπιδίου (0,6 μg/ml)
12. Κάλυψη με γυάλινη καλυπτρίδα.



3.2. 2. Ανοσοϊστοχημική μέθοδος για μονοκλωνικά αντισώματα.

Αναλυτικά, η ανοσοϊστοχημική μέθοδος του συμπλέγματος αβιδίνης-βιοτίνης περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια.

1. Τομές παραφίνης 5μm τοποθετήθηκαν σε κλίβανο θερμοκρασίας 65°C για 24 h.
2. Αποπαραφίνωση με εμβύθιση των τομών σε ξυλόλη δύο φορές για 10 min.
3. Σταδιακή κατιούσα ενυδάτωση των τομών σε 95%, 80%, 70% αιθανόλη και απεσταγμένο νερό για 1min σε θερμοκρασία δωματίου.
4. Εμβύθιση των τομών σε διάλυμα κιτρικού οξέως (10 mM, pH 6,0) και θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων (700 w, 10 min).
5. Εμβύθιση των τομών σε απόλυτη μεθανόλη, η οποία περιέχει 3 % H₂O₂ για 10 min.
6. Εκπλυση με διάλυμα Tris-saline (TBS) pH 7,6.
7. Επικάλυψη των τομών με φυσιολογικό ορό κουνελιού (Dako) σε αραιώση 1/50 για 10 min.
8. Απομάκρυνση του ορού από τις τομές με στιγμιαίο τίναγμα του πλακιδίου..
9. Επώαση των τομών με το μονοκλωνικό αντίσωμα DO7 με αραιώση 1/200 για 1h σε θερμοκρασία δωματίου.
10. Εκπλυση των τομών με διάλυμα TBS.
11. Επικάλυψη των τομών με αντίσωμα συνδεδεμένου με βιοτίνη σε αραιώση 1/500 (rabbit anti-mouse biotinylated-Dako)για 30 min.
12. Εκπλυση των τομών με διάλυμα TBS.
13. Επικάλυψη των τομών με το σύμπλεγμα αβιδίνης-βιοτίνης (ABC complex-Dako) για 60 min.
14. Εκπλυση των τομών με διάλυμα TBS.
15. Επικάλυψη των τομών με διάλυμα χρωμογόνου(0,035% διαμινοβενζιδίνη, DAB).
16. Εκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό.
17. Χρώση των τομών με αιματοξυλίνη Harris για 4 min.
18. Εκπλυση των τομών με τρεχούμενο νερό .



19. Σταδιακή αφυδάτωση των τομών σε 70%, 80% και 95% αιθανόλη για 1min σε θερμοκρασία δωματίου.

20. Καθαρισμός των τομών σε ξυλόλη.

21. Επικάλυψη των τομών με καλυπτρίδες.

Ως αρνητικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τομές παραφίνης από τα ίδια δείγματα ιστών στις οποίες εφαρμόστηκε η ίδια μεθοδολογία με παράληψη του πρωταρχικού αντισώματος.

3.2.3 Εκτίμηση του φθορίζοντα *in situ* υβριδισμού και της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p53.

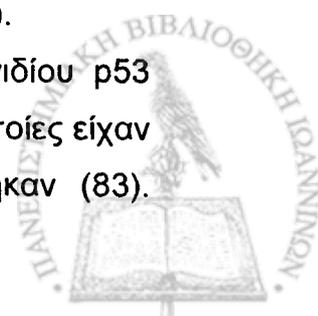
Τα σήματα του υβριδισμού αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας καταδυτικό φακό (X100) σε μικροσκόπιο φθορισμού (Axioskop 100, Zeiss). Η επεξεργασία, αξιολόγηση και αποθήκευση των εικόνων έγινε με τη χρήση λογισμικού GGH και συστήματος ψηφιακής απεικόνισης ISIS (metasystem, Heidelberg, Germany).

Επιτυχής θεωρήθηκε ο υβριδισμός όταν υπήρχαν σήματα στο 95% του συνόλου των κυττάρων.

Για την αξιολόγηση των αριθμητικών ανωμαλιών του κεντρομεριδίου 17 και του 17 p13.1 τα οποία αναγνωρίζονται ως σημεία φθορισμού μετρήθηκαν σε περισσότερα από 200 κύτταρα. Σε περίπτωση που δυο σημεία φθορισμού βρίσκονταν το ένα πολύ κοντά στο άλλο μετρήθηκαν ως ένα για να αποφευχθεί η κακή ερμηνεία η οποία οφείλεται στην ύπαρξη των σύστοιχων ομολόγων χρωματίδων των χρωμοσωμάτων στη φάση S ή G₂. Ως έλλειμμα του γονιδίου p53 χαρακτηρίστηκαν τα κύτταρα τα οποία είτε είχαν μια αντιγραφή του κεντρομεριδίου 17 (μονοσωμία) είτε είχαν λιγότερα σήματα φθορισμού του p53 απ'ό,τι τα κεντρομεριδιακά (18).

Πάντα υπήρχε ένα μικρό ποσοστό κυττάρων τα οποία είχαν λιγότερα από δύο σήματα φθορισμού για το κεντρομερίδιο του χρωμοσώματος 17 και για το γονίδιο του p53. Αυτό πιθανώς οφείλεται στον ατελή υβριδισμό του α-δορυφορικού DNA του χρωμοσώματος 17 και του κοσμιδίου p53 (82).

Ως μονοσωμίες του χρωμοσώματος 17 και ως έλλειμμα του γονιδίου p53 σύμφωνα με τους Sauter et al χαρακτηρίστηκαν οι περιπτώσεις οι οποίες είχαν μονό σημείο φθορισμού στο 45% των κυττάρων που μετρήθηκαν (83).



Σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές, έλλειμμα του γονιδίου p53 χαρακτηρίζονται οι περιπτώσεις οι οποίες είχαν λιγότερα σήματα φθορισμού απ' ό,τι του χρωμοσώματος 17. Στους παρακάτω πίνακες 1 και 2 βλέπουμε τους συνδυασμούς για να χαρακτηρίσουμε αν υπάρχει έλλειμμα του γονιδίου p53 ή όχι αντίστοιχα

Αριθμός σημάτων χρωμοσώματος 17	Αριθμός σημάτων γονιδίου p53
2	1
3	2
4	2
4	3
1	1
4	1

Πίνακας 1. Έλλειμμα γονιδίου p53

Αριθμός σημάτων χρωμοσώματος 17	Αριθμός σημάτων γονιδίου p53
2	2
3	3
4	4
5	5

Πίνακας 2. Φυσιολογικός αριθμός γονιδίου p53

Παράλληλα εκτιμήθηκαν ως θετικοί μάρτυρες τα φλεγμονώδη ή λεία μυϊκά κύτταρα τα οποία παρουσίαζαν φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων 17 και του γονιδίου p53 στο 80% του πληθυσμού τους (84).

Η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p53 έγινε χρησιμοποιώντας το απλό φωτεινό μικροσκόπιο.

Ως θετικές περιπτώσεις της έκφρασης της πρωτεΐνης p53 θεωρήσαμε εκείνες στις οποίες η χρώση ήταν πυρηνική, δεν υπήρχε μη ειδική χρώση στο διάμεσο στρώμα του αδενωματώδους πολύποδα και του αδενοκαρκινώματος και το σύνολο των θετικών κυττάρων ήταν μεγαλύτερο του 10% των νεοπλασματικών κυττάρων.



3.2.4 Στατιστική ανάλυση.

Η συσχέτιση των ελλείμματος του γονιδίου p53, της μονοσωμίας του χρωμοσώματος 17 και της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p53 με το στάδιο κατά Dukes, τον βαθμό διαφοροποίησης και με το μέγεθος του όγκου έγινε χρησιμοποιώντας το χ^2 test. Η στατιστική ανάλυση της 5ετους αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου και της 5ετους συνολικής αθροιστικής επιβίωσης των ασθενών έγινε με την μέθοδο Kaplan-Meier, ενώ η συσχέτιση με το έλλειμμα του γονιδίου p53, τη μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, την ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 καθώς και την συσχέτιση αυτών με την εντόπιση του αδενοκαρκινώματος περιφερικά της αριστερής κολικής καμπής έγινε με το

log-rank test. Και στις δύο αναλύσεις οι τιμές του P που ήταν μικρότερες του 0,05 θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές.



4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



4.1 Αποτελέσματα

Θελήσαμε να μελετήσουμε τις μονοσωμίες του χρωμοσώματος 17, το έλλειμμα του γονιδίου p53 και την ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 στα ανθρώπινα αδenoκαρκινώματα του παχέος εντέρου ταξινομημένα κατά Dukes'.

Χρησιμοποιήσαμε τις μεθόδους του φθορίζοντα in Situ Υβριδισμού και την ανοιστοϊστοχημική χρώση για μονοκλωνικά αντισώματα. Η έκφραση αυτών απεικονίζεται στις παρακάτω φωτογραφίες ενώ τα αποτελέσματά μας παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Αρχικά, υπήρχαν πάρα πολλά προβλήματα όσον αφορά το αποτέλεσμα της μεθόδου του FISH. Το πρώτο πρόβλημα που αντιμετωπίσαμε και μάλιστα σε πολύ μεγάλο ποσοστό στα αδenoκαρκινώματα του παχέος εντέρου ήταν τα υψηλά επίπεδα αυτοφθορισμού του υποστρώματος όπως αναφέρεται και στη διεθνή βιβλιογραφία (81). Πρέπει να αναφέρουμε ότι χρησιμοποιήσαμε περίπου 105 περιπτώσεις αδenoκαρκινωμάτων και 40 αδενωματοδών πολυπόδων για να έχουμε αποτελέσματα σε 54 και σε 22 περιπτώσεις, αντίστοιχα. Αυτό πιθανά να οφείλεται στην μη καλή μονιμοποίηση του ιστού ή στη μη καλή απόδοση των δυο προπαρασκευαστικών βημάτων του υβριδισμού. Το δεύτερο πρόβλημα που συναντήσαμε ήταν η επικάλυψη των ασθενών σημάτων υβριδισμού του κεντρομεριδίου 17 και του κοσμιδίου p53 από τα σήματα του διασταυρούμενου υβριδισμού. Το τρίτο πρόβλημα, ήταν η αλληλεπικάλυψη του σήματος φθορισμού του κοσμιδίου p53 από το έντονα φωτεινό σήμα του κεντρομεριδίου 17 όταν χρησιμοποιήσαμε την τεχνική του διπλού χρώματος του φθορίζοντα in situ υβριδισμού (Dual color FISH). Αυτό πιθανά οφείλεται στο ότι η γονιδιακή θέση του p53 βρίσκεται πολύ κοντά σ'αυτήν των α-δορυφορικών DNA του χρωμοσώματος 17. Το πρόβλημα αυτό λύθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του ενός χρώματος του FISH, σε χωριστές ιστολογικές τομές, μία για την εντόπιση του γονιδίου p53 και μία του κεντρομεριδίου 17.

Ανοσοϊστοχημικά επίσης διαπιστώθηκε η έκφραση του γονιδίου p53 μέσω της συσσώρευσης της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης p53 στον πυρήνα των νεοπλασματικών κυττάρων. Αυτή είναι μία έμμεση, εύκολη και μη δαπανηρή

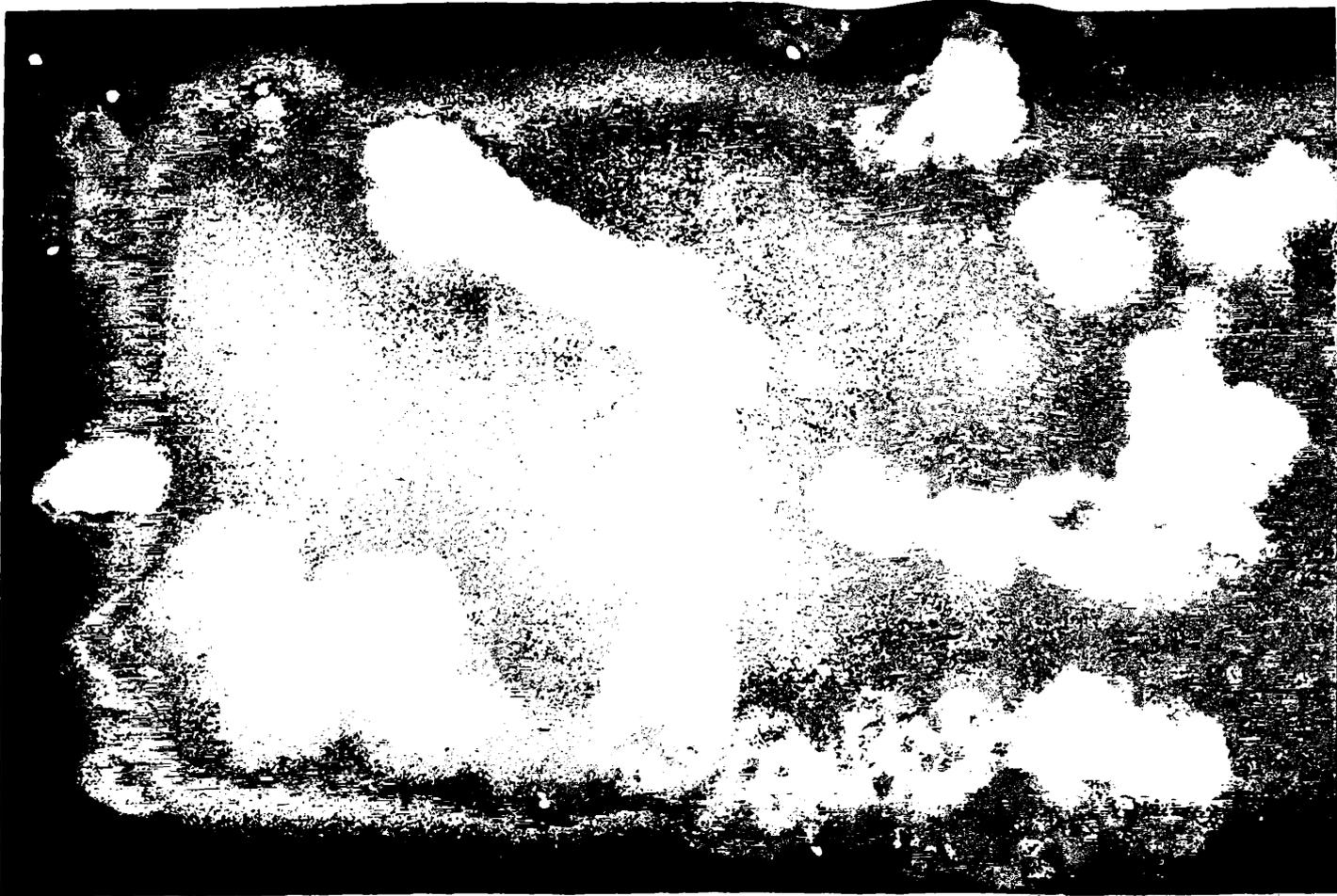


μεθόδους να διαπιστώσουμε αν υπάρχει μεταλλαγή του συγκεκριμένου γονιδίου σε κάποιο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου προκειμένου να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης της κλινικής πορείας και επιβίωσης του αρρώστου.

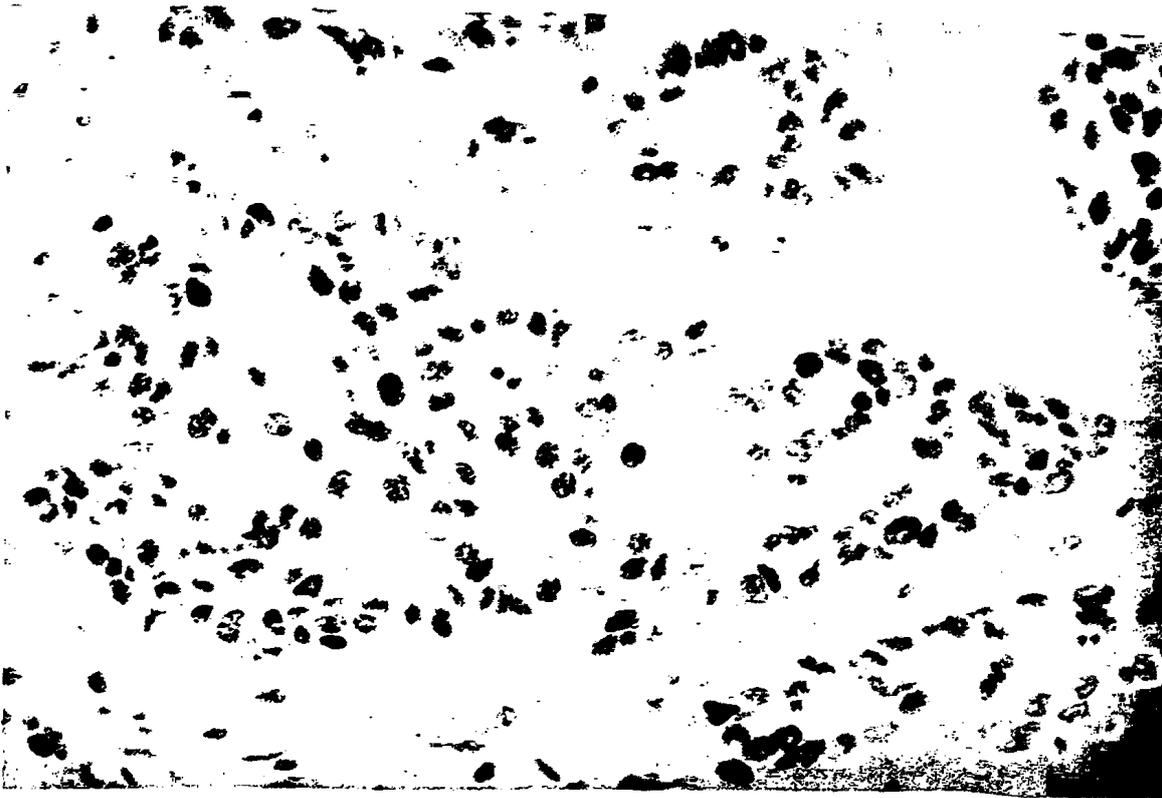


Φωτογραφία 1. Μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 σε αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου που ανιχνεύθηκε με την μέθοδο FISH (ένα φωτεινό σήμα σε κάθε πηρόνα κυττάρου). Μενέθυση 10X100.





Φωτογραφία 2. Ελλειμμα του γονιδίου p53 σε αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου που ανιχνεύθηκε με την μέθοδο FISH (ένα φωτεινό σήμα σε κάθε πυρήνα κυττάρου) Μενέθμινση 10X100



Φωτογραφία 3. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 σε αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου. Μεγέθυνση 10X20.

Αδενοκαρκινώματα Ταξινόμηση κατά Dukes'	Αριθμός περιπτώσεων	Μονοσωμία χρωμοσώματος 17	Έλλειμμα γονιδίου p53	Έκφραση πρωτεΐνης p53
A	11/54(20,4%)	5/11(27,85%)	7/11(20,6%)	7/11(21,9%)
B	21/54(38,9%)	7/21(38,9%)	16/21(47,06%)	15/21(46,9%)
C	22/54(40,7%)	6/22 (33,3%)	11/22(32,5%)	10/22(31,25%)
Σύνολο	54	18/54(33,3%)	34/54(62,9%)	32/54(59,26%)

Πίνακας 3.



Από τα 54 αδενοκαρκινώματα παχέος εντέρου τα οποία μελετήθηκαν, 11 περιπτώσεις (20,4%) ήταν σταδίου A, 21 περιπτώσεις (38,9%) ήταν σταδίου B και 22 περιπτώσεις (40,7%) ήταν σταδίου C κατά Dukes.

Στο σύνολο των 54 αδενοκαρκινωμάτων ανιχνεύθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 σε 18 περιπτώσεις (33,3%),(φωτ. 1). Αναλυτικά, όμως σε σχέση με τα επιμέρους στάδια κατά Dukes η κατανομή του ελλείμματος του ενός χρωμοσώματος 17 έχει ως εξής:

Σε πέντε (27,8%) από τις 11 περιπτώσεις του σταδίου A, σε επτά (38,9%) από τις 21 περιπτώσεις του σταδίου B και σε έξι (33,3%) από τις 22 περιπτώσεις του σταδίου C.

Στο σύνολο των 54 αδενοκαρκινωμάτων που μελετήσαμε το έλλειμμα του γονιδίου p53 ανιχνεύθηκε σε 34 περιπτώσεις (62,9%),(φωτ. 2). Αναλυτικά, η κατανομή του ελλείμματος του γονιδίου p53 σε σχέση με τα στάδια κατά Dukes έχει ως εξής:

Σε επτά (20,6%) από τις 11 περιπτώσεις του σταδίου A, σε δέκα έξι (47,06%) από τις 21 περιπτώσεις του σταδίου B και σε έντεκα (32,5%) από τις 22 περιπτώσεις του σταδίου C.

Υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 ανιχνεύθηκε σε 32 (59,26%) από τις 54 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων που μελετήθηκαν (φωτ. 3).

Αναλυτικά, η κατανομή αυτής στα στάδια κατά Dukes ήταν η εξής όπως συνοψίζεται στον πίνακα 3.

Σε επτά (21,9%) από τις 11 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων του σταδίου A, σε δέκα πέντε (46,9%) από 21 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων του σταδίου B και σε δέκα (31,25%) από τις 22 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων σταδίου C.

Επίσης μελετήσαμε την υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 σε σχέση με τις περιπτώσεις των αδενοκαρκινωμάτων στα οποία παρατηρήθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και έλλειμα του γονιδίου p53, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα 4.



Περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων με υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53	Αδενοκαρκινώματα με μονοσωμία 17	Αδενοκαρκινώματα με έλλειμα του γονιδίου p53
32	13/32(40,6%)	25/32(78,12%)

Πίνακας 4.

Αναλυτικά, από τις 32 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων οι οποίες υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53 στις 13 (40,6%) ανιχνεύθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 ενώ στις 25(78,12 %) ανιχνεύθηκε έλλειμα του γονιδίου p53.

Θελήσαμε ακόμη να συσχετίσουμε τον βαθμό διαφοροποίησης των αδενοκαρκινωμάτων που μελετήσαμε σε σχέση με την μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, το έλλειμα του γονιδίου p53 και την υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53. Από τις 54 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων οι 15 (27,7%) ήταν καλής διαφοροποίησης, οι 27 (50%) ήταν μέτριας διαφοροποίησης και οι 12 (22,3%) ήταν χαμηλής διαφοροποίησης. Τα αποτελέσματα αυτής της συσχέτισης συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα 5.

Βαθμός διαφοροποίησης	Αριθμός περιπτώσεων	Μονοσωμία χρωμοσώματος 17	Έλλειμμα του γονιδίου p53	Υπερέκφραση της πρωτεΐνης P53
Καλής	15/54(27,7%)	6/15(40%)	11/15(73,3%)	8/15(53,3%)
Μέτριας	27/54(50%)	8/27(29,63%)	16/27(59,26%)	16/27(59,26%)
Χαμηλής	12/54(22,3%)	4/12(33,3%)	7/12(58,3%)	8/25(66,6%)
Σύνολο	54	18/54(33,3%)	34/54(62,9%)	32/54(59,26%)

Πίνακας 5.



Αναλυτικά, από τα 15 αδενοκαρκινώματα καλής διαφοροποίησης τα 6 (40%) παρουσίαζαν μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, τα 11 (73,3%) εμφάνιζαν έλλειμμα του γονιδίου p53, ενώ τα 8(53,3%) υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53. Από τα 27 αδενοκαρκινώματα μέτριας διαφοροποίησης τα 8 (29,63%) παρουσίαζαν μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, τα 16 (59,26%) εμφάνιζαν έλλειμμα του γονιδίου p53 και τα 16(59,26%) υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53.

Τέλος, από τα 12 αδενοκαρκινώματα χαμηλής διαφοροποίησης τα 4 (33,3%) παρουσίαζαν μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, τα 7 (58,3%) εμφάνιζαν έλλειμμα του γονιδίου p53 και τα 8 (66,6%) υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53.

Επίσης συσχετίσαμε το μέγεθος των αδενοκαρκινωμάτων με την μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, το έλλειμμα του γονιδίου p53 και την υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53. Τα αδενοκαρκινώματα χωρίστηκαν ανάλογα με την μεγαλύτερη διάμετρο του όγκου σε δύο ομάδες. Στην ομάδα Α με μεγαλύτερη διάμετρο μικρότερη των 5 εκ. και στην ομάδα Β με μεγαλύτερη διάμετρο ίση ή μεγαλύτερη των 5 εκ. Αντίστοιχα αυτές περιελάμβαναν 28 (51,85%) και Β 26 (48,15%) αδενοκαρκινώματα. Τα αποτελέσματα αυτής της συσχέτισης συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα 6.

Μέγεθος όγκου	Αδενοκαρκινώματα.	Μονοσωμία χρωμοσώματος 17	Έλλειμμα του γονιδίου p53	Έκφραση της πρωτεΐνης P53
Α ομάδα με διαμ:<5εκ	28/54(51,85%)	12/28(42,86%)	21/28(75%)	16/28(57,14%)
Β ομάδα με διαμ:>5εκ	26/54(48,15%)	6/26(23%)	13/26(50%)	16/26(61,53%)
Σύνολο	54	18/54(33,3%)	34/54(62,2%)	32/54(59,25%)

Πίνακας 6.



αναλυτικά, από τα 28 αδενοκαρκινώματα της ομάδας A στα 12 (42,86%) ανιχνεύθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και στα 21 (75%) έλλειμμα του γονιδίου p53 ενώ στα 16 (57,14%) παρατηρήθηκε υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53. Από τα 26 αδενοκαρκινώματα της ομάδας B στα 6 (23%) ανιχνεύθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και στα 13 (50%) έλλειμμα του γονιδίου p53 ενώ στα 16 (61,53%) παρατηρήθηκε υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53.

Ακόμη θελήσαμε να μελετήσουμε τις μονοσωμίες του χρωμοσώματος 17, το έλλειμμα του γονιδίου p53 και την υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 σε 22 περιπτώσεις αδενωματώδων πολύποδων παχέος εντέρου σε συσχέτιση με το βαθμό δυσπλασίας. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 7. Θα πρέπει να αναφέρουμε ό,τι οι μελετηθέντες αδενωματώδεις πολύποδες δεν είχαν εστίες καρκινωμάτους εξαλλαγής και στο ιστορικό των ασθενών αυτών δεν υπήρχε οικογενής πολυποδίαση ή αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου.



Φωτογραφία 4. Μονοσωμία χρωμοσώματος 17 σε αδενωματώδη πολύποδα παχέος εντέρου που ανιχνεύθηκε με την μέθοδο FISH (ένα φωτεινό σήμα σε κάθε πηλοήνα κυττάρου). Μεγέθυνση 10X100.





Φωτογραφία 5. Έλλειμμα του γονιδίου p53 σε αδενωματώδη πολύποδα παχέος εντέρου που ανιχνεύθηκε με την μέθοδο FISH (πάνω αριστερά ένα σήμα φθορισμού/έλλειμμα, κάτω δύο σήματα φθορισμού/ φυσιολογικά, σε κάθε πλοήνο). Μικροσκόπος 10X100



Φωτογραφία 6. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 σε αδενωματώδη πολύποδα παχέος εντέρου. Μεγέθυνση 10X20.

Βαθμός δυσπλαστικών αλλοιώσεων	Περιπτώσεις αδενωματωδών πολυπόδων	Μονοσωμία χρωμοσώματος 17	Έλλειμμα του γονιδίου p53	Έκφραση της πρωτεΐνης p53
Ελαφρού	5/22(22,7%)	0/5(100%)	0/5(100%)	0/5(100%)
Μέτριου έως ικανού	17/22(77,3%)	3/17(17,64%)	7/17(41,2%)	2/17(11,76%)
Σύνολο	22	3/22(13,6%)	7/22(31,8%)	2/22(9,01%)

Πίνακας 7.

Αναλυτικά, στους 3(13,6%) από τους 22 αδενωματώδεις πολύποδες παρατηρήθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17(φωτ. 4). Στους 7(31,8%)



από τους 22 αδενωματώδεις πολύποδες παρατηρήθηκε έλλειμμα του γονιδίου p53 (φωτ. 5). Στους 2 (9,01%) από τους 22 αδενωματώδεις πολύποδες παρατηρήθηκε υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53(φωτ. 6). Στους αδενωματώδεις πολύποδες με ελαφρού βαθμού δυσπλαστικές αλλοιώσεις δεν ανιχνεύθηκαν μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και έλλειμα του γονιδίου p53 ενώ δεν παρατηρήθηκε υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53. Όλοι οι αδενωματώδεις πολύποδες οι οποίοι παρουσίαζαν μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, έλλειμα του γονιδίου p53 καθώς και υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 είχαν μέτριου βαθμού δυσπλαστικές αλλοιώσεις και εστιακά ικανού.

Επίσης, θελήσαμε να συσχετίσουμε στατιστικά τα παραπάνω ευρήματά μας μεταξύ των αδενωματωδών πολυπόδων και των αδενοκαρκινωμάτων χρησιμοποιώντας το χ^2 τεστ. Τα αποτελέσματα αυτής της συσχέτισης παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 8.

Αλλοίωση	Μονοσωμία χρωμοσώματος 17	Έλλειμμα γονιδίου p53	Έκφραση πρωτεΐνης p53
Αδενωματώδεις πολύποδες	3/22(13,6%)	7/22(31,8%)	2/22(9,01%)
Αδενοκαρκινώματα	18/54(33,3%)	34/54(62,9%)	32/54(59,24%)
P	P=0,01	P=0,015	P=0,0002

Πίνακας 8.

Αναλυτικότερα, στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις παρατηρήθηκαν:

Μεταξύ της μονοσωμίας 17 σε αδενωματώδεις πολύποδες και αδενοκαρκινώματα ($p=0,01$).Μεταξύ του ελλείμματος του γονιδίου p53 στα αδενοκαρκινώματα και στους αδενωματώδεις πολύποδες ($p=0,015$). Μεταξύ της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης p53 στα αδενοκαρκινώματα και στους αδενωματώδεις πολύποδες ($p=0,0002$) (πίνακας 8).

Ακόμη συσχετίσαμε στατιστικά τις υποομάδες από τις αρχικές περιπτώσεις των αδενοκαρκινωμάτων και αδενωματωδών πολυπόδων που παρουσίαζαν



συγχρόνως υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53, μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και έλλειμμα του γονιδίου p53. Τα αποτελέσματα αυτής της συσχέτισης παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 9

Αλλοίωση	Περιπτώσεις υπερέκφρασης πρωτεΐνης p53	Μονοσωμία χρωμοσώματος 17	Έλλειμμα γονιδίου p53
Αδενοκαρκινώματα	32	13/32 (40,6%)	25/32(78,12%)
Αδενωματώδεις πολύποδες	2	1/2(50%)	2/2(100%)
P		P=0,02	P=0,0004

Πίνακας 9.

Αναλυτικά, από την υποομάδα των 32 περιπτώσεων των αδενοκαρκινωμάτων που υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53 οι 13 περιπτώσεις εμφάνιζαν μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και οι 25 έλλειμμα του γονιδίου p53. Από την υποομάδα των 2 περιπτώσεων των αδενωματωδών πολυπόδων που υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53 ο ένας εμφάνιζε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και οι 2 έλλειμμα του γονιδίου p53. Στατιστικώς σημαντική διαφορά διαπιστώθηκε μεταξύ των αδενοκαρκινωμάτων και των αδενωματωδών πολυπόδων που παρουσίαζαν συγχρόνως μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 ($p=0.02$). Μεταξύ των αδενοκαρκινωμάτων και αδενωματωδών πολυπόδων που παρουσίαζαν συγχρόνως έλλειμμα του γονιδίου p53 και υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 ($p=0,0004$) (πίνακας 9).

Στατιστικώς σημαντική διαφορά διαπιστώθηκε μεταξύ των αδενοκαρκινωμάτων τα οποία υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53 και είχαν συγχρόνως και έλλειμμα του γονιδίου p53 και αυτών που υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53 και είχαν φυσιολογικό αριθμό γονιδίων ($p=0,019$).

Δεν βρέθηκε καμία σημαντική στατιστική συσχέτιση μεταξύ του ελλείμματος του γονιδίου p53, της μονοσωμίας 17 και της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης



p53, με τα στάδια κατά Dukes, τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης και το μέγεθος του όγκου.

Ο παρακείμενος φυσιολογικός βλεννογόνος όλων των αδενωματωδών πολυπόδων και των αδενοκαρκινωμάτων δεν υπερέκφραζε την πρωτεΐνη p53 και σε καμία απ' αυτές της περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκε έλλειμμα του γονιδίου p53 ή αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17.

Της μελετήθηκαν 15 περιπτώσεις φυσιολογικού βλεννογόνου παχέος εντέρου. Σε καμία απ' αυτές της περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκαν αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17, έλλειμμα του γονιδίου p53 ή υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53.

Από της 54 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων που μελετήσαμε μόνο οι 31 αντιστοιχούσαν σε ασθενείς της οποίους παρακολουθούσαν στο Ογκολογικό τμήμα του ΠΠΝΙ. Τα ευρήματά της θελήσαμε να τα συσχετίσουμε με την αθροιστική επιβίωση ελεύθερης νόσου και την συνολική αθροιστική επιβίωση αυτών των ασθενών της φαίνεται στον παρακάτω πίνακα 10.

Φύλο	A:20(65%)	Θ:11(35%)
Ηλικία	<70 :20(65%)	>70:11(35%)
Εντόπιση Δεξιό/αριστερό κόλο	Δ:3(10%)	A:28(90%)
Μεταστάσεις	Ναι :2(6%)	Όχι: 29(94%)
Λεμφαδένες	Ναι :16(51%)	Όχι :15(49%)
Θεραπεία	Ναι:15(49%)	Όχι:16(51%)
Υποτροπή	Ναι :8(26%)	Όχι:23(74%)
Κατάληξη από τη νόσο	5(16%)	
Κατάληξη από άλλα αίτια	2(6,4%)	
5ετης ελεύθερης νόσου	71%	
5ετης συνολική επιβίωση	73%	
Έλλειμμα γονιδίου p53	18/31(58,6%)	
Μονοσωμία 17	10/31(32,2%)	
Έκφραση πρωτεΐνης p53	19/31(61,3%)	
Έλλειμμα γονιδίου p53 αριστερής κολικής καμπής	16/28 (57,1%)	

Πίνακας 10.

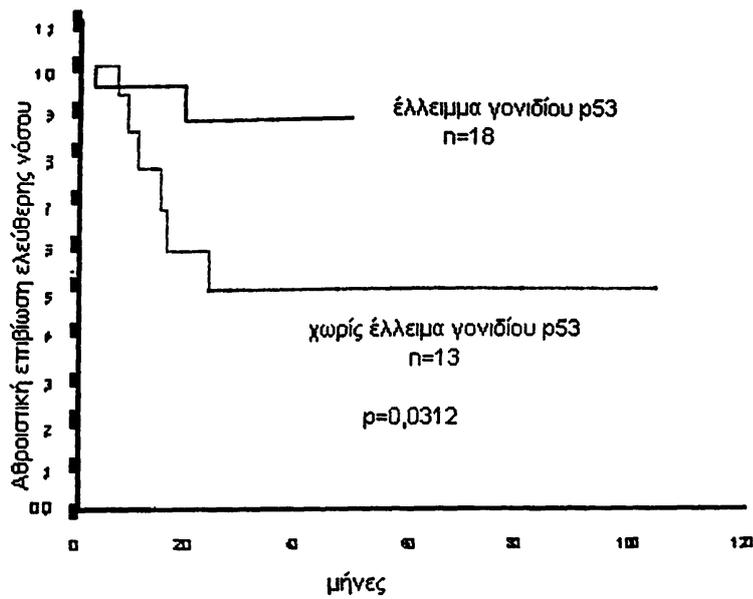


Αναλυτικά, από της 31 ασθενείς οι 20 (65%) ήταν άρρενες και οι 11 (35%) ήταν γυναίκες. Οι 20 (65%) είχαν ηλικία μικρότερη των 70 χρόνων και οι 11 (35%) είχαν μεγαλύτερη των 70 χρόνων. Της 3 (10%) το αδενοκαρκίνωμα εντοπιζόταν στο δεξιό κόλο ενώ της 28 (90%) στο αριστερό. Απομακρυσμένες μεταστάσεις είχαν μόνο 2 (6%) ασθενείς. Λεμφαδενικές μεταστάσεις είχαν οι 16 (51%) ενώ οι 15 (49%) δεν είχαν. Θεραπεία έλαβαν οι 15 (49%) ενώ οι 16 (51%) όχι. Από της 31 ασθενείς που ήταν υπό παρακολούθηση, οι 8 (25%) υποτροπίασαν, οι 5 (16%) πέθαναν της τη νόσο της ενώ οι 2 (6,4%) πέθαναν της άλλα αίτια.

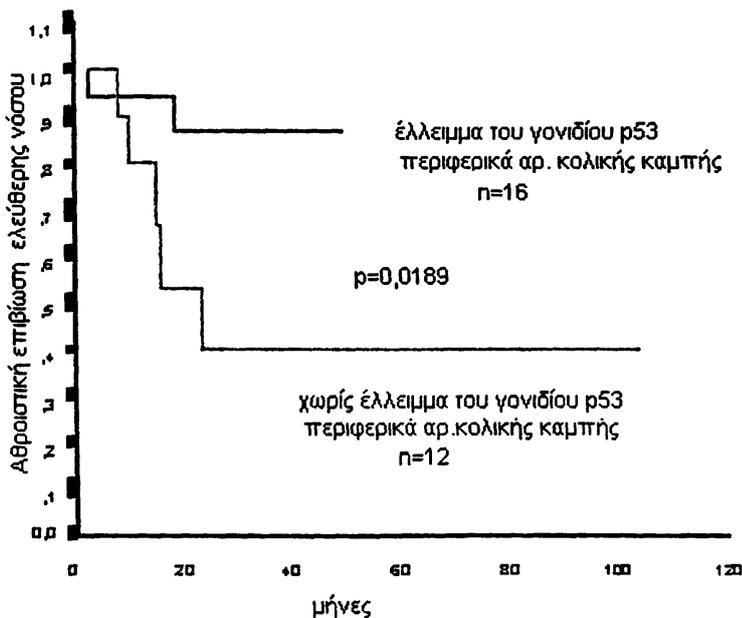
Η 5ετής ελεύθερη νόσου επιβίωση ήταν 71% ενώ η 5ετής συνολική επιβίωση ήταν 73%. Σε 18(58,6%) από της 31 ασθενείς διαπιστώθηκε έλλειμμα του γονιδίου p53. Σε 10(32,2%) από της 31 ασθενείς διαπιστώθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17. Σε 19 (61,3%) από της 31 ασθενείς διαπιστώθηκε υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53. Σε 16(57,1%) ασθενείς από της 28 που το αδενοκαρκίνωμα εντοπιζόταν στο αριστερό κόλο διαπιστώθηκε έλλειμμα του γονιδίου p53.

Τα παραπάνω ευρήματα αναλύθηκαν με τις καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier και έγινε ο υπολογισμός της πιθανότητας της 5ετους αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου και της 5ετους συνολικής αθροιστικής επιβίωσης των ασθενών. Στην εικόνα 2 απεικονίζονται οι καμπύλες αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου Kaplan-Meier συγκριτικά για το συνολικό πληθυσμό ανάλογα με το αν έχουν (κόκκινη γραμμή) ή δεν έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 (πράσινη γραμμή). Η επιβίωση είναι ευνοϊκότερη για τα άτομα που έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 και η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,03$). Λόγω του μικρού αριθμού περιστατικών και των υπό μελέτη συμβαμάτων η ισχύς του τεστ δεν είναι μεγάλη.





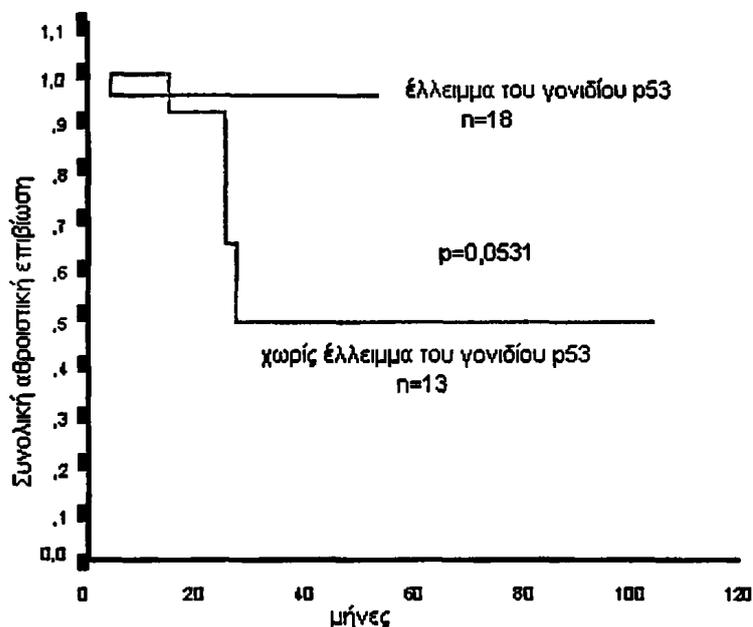
Εικόνα 2: Καμπύλες αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου Kaplan- Meier για τον συνολικό πληθυσμό με βάση την παρουσία ή όχι του ελλείματος του γονιδίου p53.



Εικόνα 3. Καμπύλες αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου Kaplan- Meier σε άτομα με αδενοκαρκινώματα περιφερικά της αριστερής κολικής καμπτής με βάση την παρουσία ή όχι ελλείμματος του γονιδίου p53.

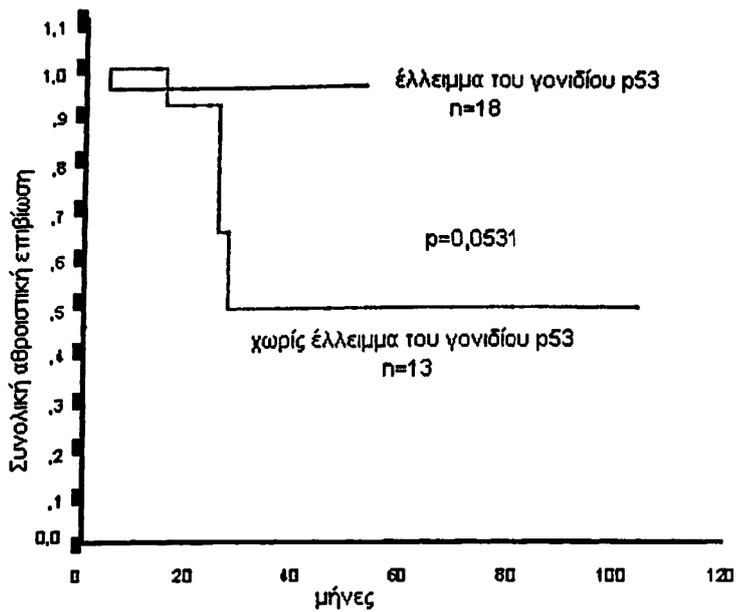
Στην παραπάνω εικόνα 3 φαίνονται συγκριτικά οι καμπύλες αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου Kaplan- Meier σε άτομα με αδενοκαρκινώματα

περιφερικά της αριστερής κολικής καμπής ανάλογα με το αν έχουν (κόκκινη γραμμή) ή δεν έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 (πράσινη γραμμή). Αυτοί που έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 έχουν υψηλότερη πιθανότητα 5ετούς επιβίωσης και η διαφορά στην επιβίωση των δύο ομάδων είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,01$).



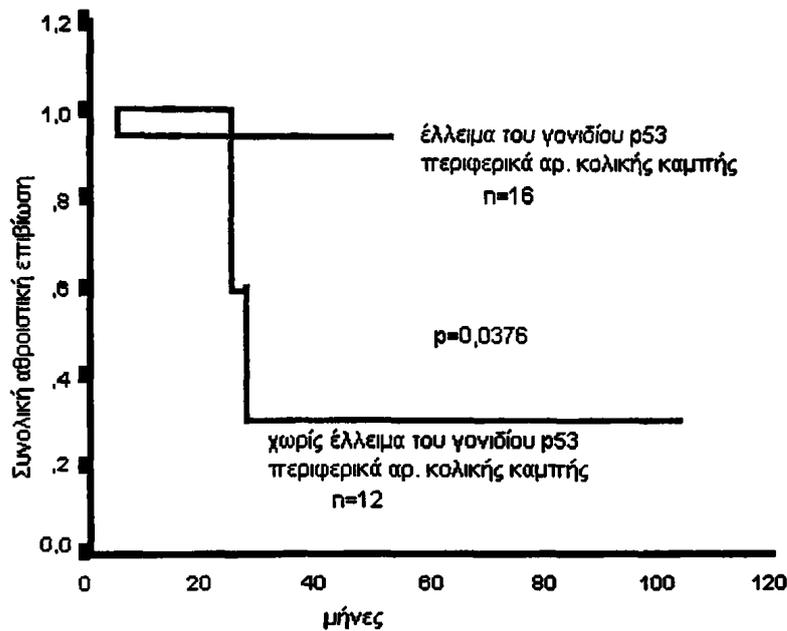
Εικόνα 4. Καμπύλες συνολικής αθροιστικής επιβίωσης Kaplan- Meier για τον συνολικό πληθυσμό με βάση την παρουσία ή όχι του ελλείματος του γονιδίου p53.

Στην παραπάνω εικόνα 4 απεικονίζονται οι καμπύλες συνολικής αθροιστικής επιβίωσης Kaplan- Meier συγκριτικά για το συνολικό πληθυσμό ανάλογα με το αν έχουν (κόκκινη γραμμή) ή δεν έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 (πράσινη γραμμή). Η επιβίωση είναι οριακά ευνοϊκότερη για τα άτομα που έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 ($p=0,0531$).



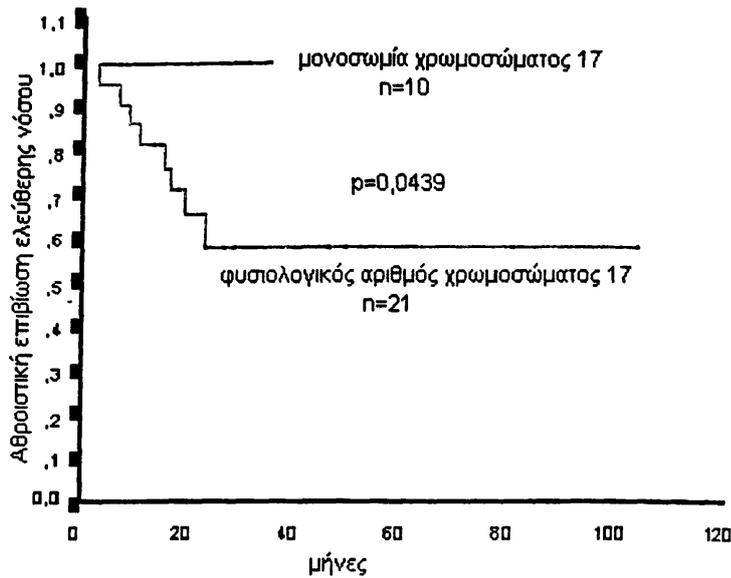
Εικόνα 4. Καμπύλες συνολικής αθροιστικής επιβίωσης Kaplan- Meier για τον συνολικό πληθυσμό με βάση την παρουσία ή όχι του ελλείματος του γονιδίου p53.

Στην παραπάνω εικόνα 4 απεικονίζονται οι καμπύλες συνολικής αθροιστικής επιβίωσης Kaplan- Meier συγκριτικά για το συνολικό πληθυσμό ανάλογα με το αν έχουν (κόκκινη γραμμή) ή δεν έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 (πράσινη γραμμή). Η επιβίωση είναι οριακά ευνοϊκότερη για τα άτομα που έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 ($p=0,0531$).



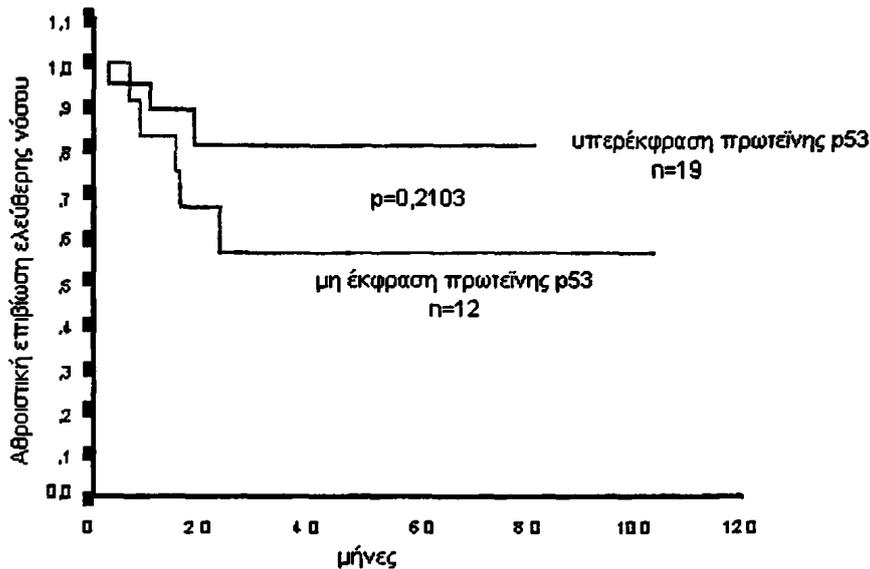
Εικόνα 5. Καμπύλες συνολικής αθροιστικής επιβίωσης Kaplan- Meier σε άτομα με αδενοκαρκινώματα περιφερικά της αριστερής κολικής καμπής με βάση την παρουσία ή όχι ελλείμματος του γονιδίου p53.

Στην παραπάνω εικόνα 5 απεικονίζονται οι καμπύλες συνολικής αθροιστικής επιβίωσης Kaplan- Meier συγκριτικά για τα άτομα με αδενοκαρκινώματα περιφερικά της αριστερής κολικής καμπής ανάλογα με το αν έχουν (κόκκινη γραμμή) ή δεν έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 (πράσινη γραμμή). Η επιβίωση είναι ευνοϊκότερη για τα άτομα που έχουν έλλειμμα του γονιδίου p53 ($p=0,0376$).



Εικόνα 6. Καμπύλες αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου Kaplan- Meier συγκριτικά για το συνολικό πληθυσμό με βάση την παρουσία μονοσωμίας ή φυσιολογικού αριθμού του χρωμοσώματος 17.

- Στην παραπάνω εικόνα 6 απεικονίζονται οι καμπύλες αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου Kaplan- Meier συγκριτικά για το συνολικό πληθυσμό ανάλογα με το αν έχουν μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 (κόκκινη γραμμή) ή έχουν φυσιολογικό αριθμό χρωμοσώματος 17 (πράσινη γραμμή). Σημειώνεται ότι στους ασθενείς που είχαν μονοσωμία 17 δεν παρατηρήθηκε κανένα συμβάν όπως υποτροπής ή θανάτου. Η διαφορά στην πιθανότητα επιβίωσης είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,0439$).



Εικόνα 7. Καμπύλες αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου Kaplan- Meier με βάση την υπερέκφραση ή όχι της πρωτεΐνης p53.

Στην παραπάνω εικόνα 7 απεικονίζονται οι καμπύλες αθροιστικής επιβίωσης ελεύθερης νόσου Kaplan- Meier σε ασθενείς τα αδενοκαρκινώματα των οποίων υπερεκφράζουν την πρωτεΐνη p53 (κόκκινη γραμμή) και αυτών που δεν υπερεκφράζουν την πρωτεΐνη p53 (πράσινη γραμμή). Η διαφορά στην πιθανότητα επιβίωσης των δύο ομάδων δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,2103$).

Στην εικόνα 2 και 3 ο τελικός στόχος (endpoint) μελέτης είναι ο θάνατος από την νόσο ή η εμφάνιση υποτροπής. Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζουμε την πιθανότητα 5ετούς επιβίωσης ελεύθερης νόσου. Στην εικόνα 4 και 5 το τελικό σημείο μελέτης είναι μόνο ο θάνατος. Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζουμε την πιθανότητα συνολικής επιβίωσης στην 5ετία. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι οι μόνοι παράγοντες οι οποίοι συσχετίστηκαν θετικά με την 5ετή ελεύθερη νόσου και συνολική επιβίωση ήταν το έλλειμμα του γονιδίου p53 και η μονοσωμία 17. Η συσχέτιση ήταν ισχυρότερη όταν η ανάλυση περιορίστηκε σε όγκους περιφερικά της αριστερής κοιλικής καμπής .

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ



5. Συζήτηση

Η απώλεια του χρωμοσώματος 17 και το έλλειμμα του γονιδίου p53 είναι συχνές μεταλλάξεις οι οποίες εμπλέκονται κυρίως στο τελικό στάδιο της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου σύμφωνα με το μοντέλο του Fearon και Vogelstein (20). Επίσης αυτές ανιχνεύονται στους αδενωματώδεις πολύποδες του παχέος εντέρου που θεωρούνται προκαρκινωμάτεις νεοπλασίες και μάλιστα πριν το στάδιο της εξαλλαγής τους σε αδenoκαρκίνωμα.

Κάτω υπό φυσιολογικές συνθήκες τα κύτταρα συνθέτουν την άγριου – τύπου πρωτεΐνη p53 που έχει βραχύ χρόνο ημιζωής και δεν μπορεί έτσι να ανιχνευθεί ανοσοϊστοχημικά. Όταν όμως στα νεοπλασματικά κύτταρα υπάρξουν μεταλλάξεις του γονιδίου p53 ή και έλλειμμα τότε συντίθεται η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη p53. Αυτή έχει αυξημένο χρόνο ημιζωής και συσσωρεύεται στον πυρήνα του καρκινικού κυττάρου. Συνέπεια αυτού είναι να μπορεί να ανιχνευθεί ανοσοϊστοχημικά. Ο τελευταίος είναι ένας έμμεσος τρόπος να πιθανολογίσουμε αν στο συγκεκριμένο αδenoκαρκίνωμα υπάρχουν μεταλλάξεις του γονιδίου p53.

Στην παρούσα μελέτη τα αποτελέσματά μας δείχνουν πρώτον την σχέση των αριθμητικών ανωμαλιών του χρωμοσώματος 17, του έλλειμματος του γονιδίου p53 και της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p53 μεταξύ των αδενωματωδών πολυπόδων του παχέος εντέρου με τα αδenoκαρκινώματα και δεύτερον την πιθανότητα επιβίωσης ομάδας ασθενών με αδenoκαρκίνωμα του παχέος εντέρου.

Οι αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 έγιναν με την μέθοδο του φθορίζοντα *in Situ* υβριδισμού σε τομές αρχείου (παραφίνης) από αδenoκαρκινώματα του παχέος εντέρου. Στις ίδιες τομές εκτιμήθηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 η οποία έγινε με την μέθοδο των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Για την σταδιοποίηση των αδenoκαρκινωμάτων χρησιμοποιήσαμε το σύστημα κατά Dukes το οποίο είναι ευρέως αποδεκτό και μας παρέχει πληροφορίες για την επέκταση του όγκου στους γειτονικούς ιστούς, στους επιχώριους λεμφαδένες και τις μεταστάσεις σε απομακρυσμένες θέσεις. Εμείς ανιχνεύσαμε τις αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 σε τομές παραφίνης σε 54 περιπτώσεις αδenoκαρκινωμάτων και 22 αδενωματωδών πολυπόδων του



παχέος εντέρου, με τη μέθοδο FISH χρησιμοποιώντας ειδικούς ανιχνευτές (probes) DNA για την περιοχή του κεντρομεριδίου 17 και του τόπου του γονιδίου p53. Στο σύνολο των 54 αδενοκαρκινωμάτων ανιχνεύσαμε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 σε 18 περιπτώσεις (33,3%). Τα ποσοστά των προηγούμενων ερευνητών κυμαίνονται από 34% έως 87% (44,48,50,85).

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως τα αδενοκαρκινώματα ταξινομήθηκαν κατά Dukes. Έτσι ανιχνεύθηκαν μονοσωμίες του χρωμοσώματος 17 σε 5/11 (27,8%), σε 7/21 (38,9%), και σε 6/22 (33,3%) περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων A, B και C σταδίων, αντίστοιχα. Μεταξύ των σταδίων B και C δεν υπάρχει διαφορά στο ποσοστό των μονοσωμιών αλλά υπάρχει μια μικρή διαφορά με το στάδιο A η οποία όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική. Επίσης δεν διπιστώθηκε σημαντική στατιστική συσχέτισή τους με το μέγεθος του όγκου, την επέκταση στους γύρω ιστούς, τις λεμφαδενικές μεταστάσεις, το βαθμό διαφοροποίησης και την μεγαλύτερη διάμετρο του αδενοκαρκινώματος (34,86,87,88,89).

Η εκτίμηση των 22 αδενωματωδών πολυπόδων χωρίς κακοήθη εξαλλαγή ή ιστορικό οικογενούς πολυποδίασης ή συνύπαρξης αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου έδειξε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 σε 3/22 (13,6%) αδενωματώδεις πολύποδες. Πρέπει να αναφερθεί ότι και οι τρεις αδενωματώδεις πολύποδες στους οποίους ανιχνεύθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 εμφάνιζαν μέτριου βαθμού δυσπλαστικές αλλοιώσεις (35). Η στατιστική ανάλυση μεταξύ των μονοσωμιών 17 στους αδενωματώδεις πολύποδες και στα αδενοκαρκινώματα έδειξε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,05$). Αυτό ενισχύει την άποψη ότι μερικοί αδενωματώδεις πολύποδες θα υποστούν κακοήθη εξαλλαγή σε αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου (35,44,50).

Θα πρέπει να αναφέρουμε ότι τόσο στα αδενοκαρκινώματα όσο και στους αδενωματώδεις πολύποδες ανευρέθηκαν ολιγάριθμα κύτταρα τα οποία εμφάνιζαν τρία σημεία φθορισμού στο χρωμόσωμα 17 αλλά το ποσοστό τους ήταν πολύ μικρό (<2%) για να μπορέσουμε να τα κατατάξουμε αυτά σαν τρισωμία 17. Στον παρακείμενο φυσιολογικό βλεννογόνο τόσο των αδενωματωδών πολυπόδων όσο και των αδενοκαρκινωμάτων δεν διαπιστώσαμε κάποια αριθμητική ανωμαλία του χρωμοσώματος 17 όσο βέβαια μπορέσαμε να εκτιμήσουμε γιατί εμφάνιζε έντονα το πρόβλημα του



διασταυρούμενου διϋβριδισμού λόγω της διαφορετικής πέψης φυσιολογικού και νεοπλασματικού βλεννογόνου.

Έλλειμμα του γονιδίου p53 παρατηρήθηκε σε 34/54 (62,9%) περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων παχέος εντέρου. Τα ποσοστά των προηγούμενων ερευνητών κυμαίνονται από 36% έως 86% (34,90,91,92).

Επίσης αναλύσαμε τα ποσοστά του ελλείμματος του γονιδίου p53 στα επιμέρους στάδια κατά Dukes και βρέθηκαν ότι 7/11 (20,6%) ήταν σταδίου A, 16/21 (47,06%) σταδίου B και 11/22 (32,5%) σταδίου C. Σε αυτά παρατηρούμε ότι υπάρχει ανοδική πορεία του ποσοστού από το A στο B και από το A στο C στάδιο. Η διαφορά των ποσοστών μεταξύ του σταδίου B και C παρουσιάζει μικρή πτώση η οποία μπορεί να είναι λανθασμένη λόγω του μικρού αριθμού των περιπτώσεων που μελετήθηκαν στο στάδιο B και C ή στο ότι τα αδενοκαρκινώματα του τελευταίου ήταν καλύτερης διαφοροποίησης από του πρώτου. Υποθέτουμε ότι αν αυτός ο αριθμός αυξηθεί και οι συγκρινόμενες ομάδες είναι ίδιας διαφοροποίησης τότε πιθανά να υπάρξει ανοδική πορεία του ποσοστού του ελλείμματος του γονιδίου p53 από το B στο C στάδιο. Παρ'όλα αυτά δεν βρέθηκε καμιά σημαντική στατιστική συσχέτιση μεταξύ του ελλείμματος του γονιδίου p53 με τα στάδια κατά Dukes, το βαθμό διαφοροποίησης, το μέγεθος του όγκου και των μονοσωμιών 17 παρ' ότι το ποσοστό των μονοσωμιών (33,3%) είναι το μισό περίπου από αυτό του ελλείμματος του γονιδίου p53 (62,9%) (44,50,86,87,88,89).

Έλλειμμα του γονιδίου p53 ανευρέθηκε σε 7/22 αδενωματώδεις πολύποδες (31,8%). Συγκρίνοντας το με αυτό των αδενοκαρκινωμάτων βλέπουμε ότι έχει ανοδική πορεία και είναι επίσης στατιστικά σημαντικό ($p=0,015$). Αυτό αποδεικνύει ότι το έλλειμμα του γονιδίου p53 εμφανίζεται κατά το στάδιο της μετάπτωσης του καλοήθους αδενωματώδους στοιχείου στο κακόηθες (35,44,50). Θα πρέπει να επισημάνουμε ότι όλοι οι αδενωματώδεις πολύποδες στους οποίους παρατηρήθηκε έλλειμμα του γονιδίου p53 ήταν μέτριας διαφοροποίησης (35).

Στον παρακείμενο φυσιολογικό βλεννογόνο τόσο των αδενοκαρκινωμάτων όσο και των αδενωματώδων πολυπόδων δεν παρατηρήσαμε καμία αριθμητική ανωμαλία του γονιδίου p53.

Στα δείγματά μας παρατηρήθηκε αυξημένη συχνότητα μονών αντιγράφων του χρωμοσώματος 17 σε κάθε πυρήνα επιβεβαιώνοντας έτσι την απώλεια

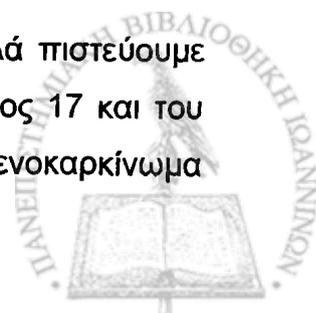


του χρωμοσώματος 17 και συνεπώς το έλλειμμα του γονιδίου p53. Ολική απώλεια και των δυο αλληλείων του χρωμοσώματος 17 καθώς και των δυο γονιδίων p53 δεν παρατηρήσαμε σε καμία από τις παραπάνω περιπτώσεις γιατί θεωρήσαμε ότι στα κύτταρα αυτά δεν επιτεύχθηκε ο υβριδισμός. Το μεγάλο εύρος στη διαφορά των ποσοστών των προηγούμενων ερευνητών τόσο για τις μονοσωμίες του χρωμοσώματος 17 όσο και του ελλείματος του γονιδίου p53 μπορεί να ερμηνευτεί από τις διαφορετικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν όπως της αποτύπωσης κατά Southern (Southern blotting), της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με ανάλυση πολυμορφισμού περιοριστικής πέψης (PCR-RFLP), της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) και της μικροδορυφορικής ανάλυσης (microsatellite analysis). Σε αυτές οι γονιδιακές ανωμαλίες ανιχνεύθηκαν σε τμήματα DNA. Εμείς πιστεύουμε μαζί με άλλους ερευνητές (44,93) ότι τα χρωμοσώματα ή τα γονίδια δεν μπορούν να αποκαλυφθούν με μεθόδους σχεδιασμένους να μετρούν το περιεχόμενο DNA. Εξ' άλλου το έλλειμμα του γονιδίου p53 είναι δύσκολο να ανιχνευθεί στο DNA που παρασκευάζεται από το αδενοκαρκίνωμα γιατί αυτό περιέχει DNA από σημαντικό αριθμό μη νεοπλασματικών στρωματικών ή φλεγμονωδών κυττάρων (44,93). Επίσης προηγούμενοι ερευνητές χρησιμοποίησαν την μέθοδο FISH, για να ανακαλύψουν αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, όπως έλλειμμα ή μεταθέσεις του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 σε καλλιέργειες κυτταρικών σειρών από επεξεργασμένα νεοπλασματικά κύτταρα που βρίσκονται στη μετάφαση (44,50).

Εμείς χρησιμοποίησαμε την μέθοδο FISH γιατί πιστεύουμε ότι είναι μία ευαίσθητη και ακριβής μέθοδος η οποία ανιχνεύει τις αριθμητικές ανωμαλίες με τη μορφή φθορίζοντων σημάτων εντός του πυρήνα των νεοπλασματικών κυττάρων.

Εξ' άλλου την εφαρμόσαμε σε ιστούς αρχείου εγκλεισμένους σε παραφίνη από αδενοκαρκινώματα παχέος εντέρου γιατί πιστεύουμε ότι έτσι έχουμε αντιπροσωπευτικότερο δείγμα απ' αυτό και ο κυτταρικός πληθυσμός είναι ακριβώς όπως έχει στο νεόπλασμα.

Εμείς δεν αμφισβητούμε τους προηγούμενους ερευνητές αλλά πιστεύουμε ότι η ανίχνευση των αριθμητικών ανωμαλιών του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 πρέπει να γίνεται απ'ευθείας σε τομή από το αδενοκαρκίνωμα



γιατί έτσι έχουμε αντιπροσωπευτικότερα αποτελέσματα. Επίσης όσον αφορά τα καρκινικά κύτταρα που αναπτύσσονται στις κυτταροκαλλιέργειες αυτά αντιπροσωπεύουν μόνο ένα μικρό ποσοστό των νεοπλασματικών κυττάρων του αδενοκαρκινώματος, τείνουν να έχουν αρκετά αλλά όχι όλα τα χαρακτηριστικά των αρχικών και μπορούν να αναπτύξουν σε υψηλό ποσοστό χαρακτηριστικά που ευνοούνται από τις ιδιαίτερες συνθήκες ανάπτυξης και να μην είναι έτσι αντιπροσωπευτικά του αρχικού νεοπλασματος. Επίσης πιστεύουμε ότι η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 είναι αντιπροσωπευτικότερη όταν αυτή εκτιμάται στην ίδια ιστολογική τομή όπου εκτιμήθηκαν οι χρωμοσωμικές και γονιδιακές αριθμητικές ανωμαλίες.

Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια καλή μέθοδος ανίχνευσης της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης p53 η οποία έχει μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής επιτρέποντας έτσι την ανίχνευσή της. Εμείς χρησιμοποιήσαμε τη μονοκλωνική πρωτεΐνη p53 DO-7 γιατί πιστεύουμε ότι είναι ένας καλός δείκτης προσδιορισμού αυτής, αν λάβουμε υπ' όψιν μας ότι προηγούμενοι ερευνητές δεν βρήκαν καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της μονοκλωνικής και πολυκλωνικής p53 πρωτεΐνης (36).

Διαπιστώσαμε υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 σε 32/54 (59,26%) περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων. Οι 7/11 (21,9%) ήταν σταδίου A, 15/21 (46,9%) ήταν σταδίου B και 10/22 (31,25%) ήταν σταδίου C κατά Dukes. Από τις 32 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων οι 25 (78,12%) είχαν συγχρόνως έλλειμμα του γονιδίου p53 ενώ οι 13 (40,6%) εμφάνιζαν απώλεια του ενός χρωμοσώματος 17.

Οι προηγούμενοι ερευνητές έχουν διαπιστώσει υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 σε ποσοστά που κυμαίνονται από 18-61% (35,85,87,88,89,90,91,92,93,94,95,96).

Επίσης στα 2/22 (9,01%) αδενώματα παρατηρήθηκε υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53. Αυτά είχαν συγχρόνως απώλεια του ενός χρωμοσώματος 17 καθώς και του γονιδίου p53 και ήταν μέτριας διαφοροποίησης. Προηγούμενοι ερευνητές έχουν διαπιστώσει υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 σε ποσοστά 3,5-14% (35,94). Συγκρίνοντας με το ποσοστό της υπερέκφρασης αυτής από τους αδενωματώδεις πολύποδες στα αδενοκαρκινώματα βλέπουμε μια ανοδική πορεία αυτού. Η στατιστική συσχέτιση μεταξύ της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης p53 στα αδενοκαρκινώματα και στους αδενωματώδεις πολύποδες



ήταν σημαντική ($p=0,0002$). Δεν βρέθηκε καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης p53, του σταδίου κατά Dukes, του βαθμού διαφοροποίησης και του μεγέθους του αδενοκαρκινώματος (86,87,88,89) .

Ο παρακείμενος φυσιολογικός βλεννογόνος τόσο των αδενωματωδών πολυπόδων όσο και των αδενοκαρκινωμάτων δεν υπερέκφραζε την πρωτεΐνη p53. Οι περισσότεροι ερευνητές παίρνουν σαν δεδομένο ότι υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 συνεπάγεται και μετάλλαξη του γονιδίου p53. Εμείς πιστεύουμε ότι αυτό ισχύει εν μέρει και πάντα θα πρέπει να γίνεται σύγκριση με μοριακές μεθόδους γιατί βρήκαμε όπως και προηγούμενοι ερευνητές ότι περιπτώσεις όπου δεν διαπιστώθηκε ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 είχαν μεταλλάξεις του γονιδίου p53 και αντίστροφα(36).

Το μεγάλο εύρος διαφοράς που υπάρχει στα ποσοστά της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p53 στα αδενοκαρκινώματα και στους αδενωματώδεις πολύποδες φαίνεται να οφείλεται στις διαφορετικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν όπως διαφορετικά αντισώματα μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά, διαφορετικός τρόπος μονιμοποίησης των ιστών και διαφορετικός τρόπος αξιολόγησης του θετικού ποσοστού της υπερέκφρασης καθώς και της χρωστικής έντασης. Αν και το μονοκλωνικό αντίσωμα DO-7 που χρησιμοποιήσαμε φαίνεται ότι είναι το πιο ευαίσθητο αντίσωμα για την ανάδειξη της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p53 στα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου (97).

Ανασκοπώντας όλα μας τα αποτελέσματα και έχοντας υπ'όψιν μας το μοντέλο της καρκινογένεσης του Fearon, μπορούμε να επιβεβαιώσουμε ότι οι αδενωματώδεις πολύποδες οι οποίοι εμφανίζουν απώλεια του ενός χρωμοσώματος 17 ή έλλειμμα του γονιδίου p53 είναι πολύ πιθανό να υποστούν κακοήγη εξαλλαγή σε αδενοκαρκίνωμα. Ακόμη τα αποτελέσματά μας αποδεικνύουν ότι ένα ποσοστό αδενοκαρκινωμάτων προέρχονται de novo από εστιακή επίπεδη επιθηλιακή δυσπλασία του βλεννογόνου του παχέος εντέρου.

Επίσης το έλλειμμα του γονιδίου p53 και η απώλεια του χρωμοσώματος 17 είναι απώτερα φαινόμενα της καρκινογένεσης και σχετίζονται με το αδένωμα-επακόλουθο αδενοκαρκίνωμα.

Η πρόγνωση των ασθενών μετά τη ριζική αφαίρεση του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου εξαρτάται κυρίως από το στάδιο κατά Dukes, την



παρουσία μη εμφανών απομακρυσμένων μεταστάσεων και την διήθηση αιμοφόρων αγγείων. Παρ'όλα αυτά έχει παρατηρηθεί ότι ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του ίδιου σταδίου είχαν εντελώς διαφορετική κλινική πορεία. Έτσι, ειδικοί προγνωστικοί δείκτες είναι απαραίτητοι για την καλύτερη θεραπευτική προσέγγιση αυτών των ασθενών. Το έλλειμμα του p53 ογκοκατασταλτικού γονιδίου ή απώλεια του ενός χρωμοσώματος 17 και η υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 φαίνεται να είναι δυνητικοί προγνωστικοί δείκτες. Προηγούμενες μελέτες σε αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου έχουν δώσει αντιφατικά αποτελέσματα όσον αφορά την επιβίωση των ασθενών.

Στη δική μας μελέτη ερευνήσαμε την ελεύθερη νόσου και συνολική επιβίωση 31 ασθενών με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου. Οι 18/31 (58,6%) είχαν έλλειμμα του γονιδίου p53, 10/31 (32,2%) μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και 19/31 (61,3%) υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53. Με τη μέθοδο Kaplan-Meier βρέθηκε ότι οι ασθενείς με έλλειμμα του γονιδίου p53 και μονοσωμία 17 είχαν καλύτερη επιβίωση η οποία γινόταν εντονότερη στους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του αριστερού κόλου (34,90,91,92,95,96). Η υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 δεν φαίνεται να παίζει σπουδαίο προγνωστικό ρόλο σε αντίθεση με αρκετούς προηγούμενους ερευνητές οι οποίοι υποστηρίζουν ότι πρέπει να θεωρείται ως δείκτης κακής πρόγνωσης (86,87,88,92,93,94,95,96). Επίσης αυτή πρέπει πάντα να εκτιμάται ως δείκτης στην επιβίωση των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου σε συνδιασμό με τις μεταλλάξεις του γονιδίου p53 που ανιχνεύονται με μοριακές μεθόδους.

Εμείς υποστηρίζουμε ότι τα αδενοκαρκινώματα του αριστερού κόλου έχουν διαφορετική βιολογική συμπεριφορά από εκείνα του δεξιού και ίσως η παρουσία ενός φυσιολογικού γονιδίου να είναι αρκετή να συνθέτει τον άγριο τύπο της πρωτεΐνης p53 η οποία παίζει πρωταρχικό ρόλο στο στάδιο G1-S της μίτωσης των κυττάρων. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την επιβράδυνση του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και κατά συνέπεια την επιβράδυνση των υποτροπών της νόσου επηρεάζοντας θετικά το ελεύθερο νόσου διάστημα και τη συνολική επιβίωση των ασθενών.

Συμπερασματικά υποστηρίζουμε ότι οι γενετικές αλλαγές όπως είναι το έλλειμμα του γονιδίου p53, η απώλεια του ενός χρωμοσώματος 17 και η υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53, που αντικατοπτρίζει εν μέρει την μετάλλαξη



του γονιδίου p53 συμβαίνουν στο προτελικό στάδιο της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου. Επίσης παίζουν καθοριστικό ρόλο στην κακοήγη εξαλλαγή του αδενωματώδους στοιχείου και στην εμφάνιση του επακόλουθου αδενοκαρκινώματος ως επίσης και στην πρόβλεψη της επιβίωση των ασθενών καθορίζοντας έτσι έμμεσα και την θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών.



6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ



6. Συμπεράσματα

1. Σε ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου ανιχνεύονται αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17 και του εδραζόμενου σ' αυτό γονιδίου p53. Οι συχνότερες είναι η μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και το έλλειμμα του γονιδίου p53.
2. Σε μικρότερο των αδενοκαρκινωμάτων ποσοστό ανιχνεύονται οι παραπάνω αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 στους αδενωματώδεις πολύποδες του παχέος εντέρου και μάλιστα όταν αυτοί εμφανίζουν μέτριου έως ικανού βαθμού δυσπλαστικές αλλοιώσεις και φαίνεται να εμπλέκονται στο στάδιο μετάπτωσης τους σε αδενοκαρκίνωμα.
3. Η μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, το έλλειμμα του γονιδίου p53 και η έκφραση της πρωτεΐνης p53 δεν φαίνεται να συσχετίζονται με τον βαθμό κακοηθείας, το στάδιο κατά Duke και την μεγαλύτερη διάμετρο του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου.
4. Η μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, το έλλειμμα του γονιδίου p53 και η έκφραση της πρωτεΐνης p53 δεν φαίνεται να συσχετίζονται με τον βαθμό κακοηθείας των αδενωματωδών πολυπόδων του παχέος εντέρου.
5. Στατιστικώς σημαντική διαφορά διαπιστώθηκε μεταξύ των αδενοκαρκινωμάτων και των αδενωματωδών πολυπόδων που παρουσίαζαν μονοσωμία του χρωμοσώματος 17, έλλειμμα του γονιδίου p53 και έκφραση της πρωτεΐνης p53 ($p=0,01$, $p=0,015$, $p=0,0002$ αντίστοιχα).
6. Στατιστικώς σημαντική διαφορά διαπιστώθηκε μεταξύ των αδενοκαρκινωμάτων και των αδενωματωδών πολυπόδων που παρουσίαζαν συγχρόνως μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 ($p=0,02$). Επίσης μεταξύ των αδενοκαρκινωμάτων και αδενωματωδών πολυπόδων που παρουσίαζαν συγχρόνως έλλειμμα του γονιδίου p53 και υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 ($p=0,0004$).
7. Στατιστικώς σημαντική διαφορά διαπιστώθηκε μεταξύ των αδενοκαρκινωμάτων τα οποία υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53 και είχαν συγχρόνως και έλλειμμα του γονιδίου p53 και αυτών που υπερέκφραζαν την πρωτεΐνη p53 και είχαν φυσιολογικό αριθμό γονιδίων ($p=0,019$).
8. Στους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου οι μόνοι παράγοντες οι οποίοι συσχετίστηκαν θετικά με την 5ετή ελεύθερη νόσου και



την συνολική επιβίωση ήταν το έλλειμμα του γονιδίου p53 και η μονοσωμία του χρωμοσώματος 17. Η συσχέτιση ήταν ισχυρότερη όταν η ανάλυση περιορίστηκε σε αδενοκαρκινώματα περιφερικά της αριστερής κοιλικής καμπής. Αντίθετα η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 δεν αποτελεί εξ' ίσου ευαίσθητο προγνωστικό δείκτη.

9. Στον παρακείμενο φυσιολογικό βλεννογόνο τόσο των αδενοκαρκινωμάτων όσο και των αδενωματωδών πολυπόδων δεν ανιχνεύθηκαν αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 ενώ δεν διαπιστώθηκε έκφραση της πρωτεΐνης p53.



7. ΠΕΡΙΛΗΨΗ



7.1. Περίληψη.

Το ογκοκατασταλατικό γονίδιο p53 εντοπίζεται στο βραχύ βραχίονα του χρωμοσώματος 17 (17p 13,1) και κωδικοποιεί τον άγριο τύπο της πρωτεΐνης p53 η οποία ρυθμίζει την G1-S φάση του κυτταρικού κύκλου.

· Η παρούσα μελέτη ερευνά τις αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 σε σποραδικά αδενοκαρκινώματα και αδενωμάτων πολύποδες του παχέος εντέρου. Τα ευρήματα συσχετίστηκαν με την 5ετη ελεύθερη-νόσου διάστημα και την συνολική αθροιστική επιβίωση των ασθενών.

Προηγούμενες μελέτες συσχέτισης μεταξύ της πρόγνωσης και των γενετικών ανωμαλιών του p53 γονιδίου ή της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης p53, των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου έχουν δώσει αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκαν από blocks παραφίνης 22 αδενωμάτων πολύποδες χωρίς κακοήθη εξαλλαγή και 54 αδενοκαρκινώματα παχέος εντέρου μετά από ολική χειρουργική αφαίρεση αυτών. Από τα blocks παραφίνης κόπηκαν τομές 4 μm και εφαρμόστηκε η μέθοδος του φθορίζοντα in Situ υβριδισμού (FISH). Χρησιμοποιήθηκαν ειδικά A- satellite DNA probe για το κεντρομερίδιο του χρωμοσώματος 17 και a- unique sequence p53 DNA probe (γονιδιακή θέση 17p13,1).

Η ανίχνευση της μεταλλαγμένης και άγριου τύπου πρωτεΐνης p53 έγινε με την μέθοδο των μονοκλωνικών αντισωμάτων βιοτίνης-αβιδίνης και ανιχνεύθηκε ανοσοϊστοχημικά η μεταλλαγμένη και ο άγριος τύπος της πρωτεΐνης p53.

Η συσχέτιση των ευρημάτων με το ελεύθερο-νόσου διάστημα και την αθροιστική συνολική επιβίωση 31 ασθενών με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου, έγινε με τις καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier.

Ανιχνεύθηκε μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 σε 3/22(13,6%) αδενωμάτων πολύποδες και σε 18/54(33,3%) αδενοκαρκινώματα ($p=0,08$) του παχέος εντέρου. Έλλειμμα του γονιδίου p53 ανιχνεύθηκε σε 7/22(31,8%) αδενωμάτων πολύποδες και σε 33/54(61%) αδενοκαρκινώματα ($p<0,01$).

Στατιστικώς σημαντική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του ελλείμματος του γονιδίου p53 και μονοσωμίας του χρωμοσώματος 17 ($p<0,001$).



Έκφραση της p53 πρωτεΐνης ανιχνεύθηκε σε 2/22(9,0%) αδενωματώδεις πολύποδες και σε 32/54(59,2%) αδενοκαρκινώματα ($p < 0,0002$).

Στον παρακείμενο φυσιολογικό βλεννογόνο δεν ανιχνεύθηκαν αριθμητικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος 17 και του γονιδίου p53 ενώ δεν διαπιστώθηκε έκφραση της πρωτεΐνης p53.

Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του ελλείμματος του γονιδίου p53 ,της απώλειας του χρωμοσώματος 17 και της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης p53 με το στάδιο κατά Duke, το βαθμό διαφοροποίησης, το μέγεθος του όγκου και το βαθμό δυσπλασίας των αδενωματωδών πολυπόδων.

Σε 31 ασθενείς έγινε ανάλυση της επιβίωσης.

Η 5ετης ελεύθερη νόσου επιβίωση ήταν 71% και η αθροιστική συνολική επιβίωση 65%. Η 5ετής ελεύθερη νόσου και η αθροιστική συνολική επιβίωση είχαν ισχυρή στατιστική συσχέτιση με το έλλειμμα του γονιδίου p53 και τη μονοσωμία του χρωμοσώματος 17. Η συσχέτιση ήταν ισχυρότερη όταν η ανάλυση περιορίστηκε σε όγκους περιφερικά της αριστερής κολικής καμπής.

Συμπεράσματα: Μονοσωμία του χρωμοσώματος 17 και έλλειμμα του γονιδίου p53 είναι σχετικά συχνές αριθμητικές ανωμαλίες στα αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου. Ανιχνεύονται επίσης και στους αδενωματώδεις πολύποδες και φαίνεται να εμπλέκονται στο στάδιο μετάπτωσης από το αδένωμα στο διηθητικό αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου.

Οι μεταβολές στο γονίδιο p53, όπως ανιχνεύονται με την μέθοδο FISH, σχετίζονται με την καλύτερη πρόγνωση των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου , ειδικά όταν εντοπίζονται στο εγγύς κόλο. Αντίθετα η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 δεν αποτελεί εξ' ίσου ευαίσθητο προγνωστικό δείκτη.



7.2. SUMMARY

The p53 suppressor gene is localized in the short arm of chromosome 17(17p 13,1) and codes for the wild-type of p53 protein, which regulates the G1-S phase of the cell-cycle.

The aim of the present study was to assess the numerical abnormalities of chromosome 17 and p53 gene in random adenocarcinomas and adenomatous polyps of large bowel. In addition, an evaluation of the relationship between our results and the disease-free interval and the overall survival, was done.

Previous studies concerning the relationship between prognosis and genetic abnormalities of p53 gene or overexpression of p53 protein, in patients with adenocarcinoma of large intestine, have given conflicting results.

In the present study archival paraffin blocks were analyzed from 22 adenomatous polyps without malignant transformation and 54 adenocarcinomas large intestine after total surgical resection. Paraffin blocks were sectioned into 4 μ m and the FISH method was performed. a-satellite DNA probe of centromere 17 and a unique sequence p53 DNA probe (locus 17p13,1) were used.

The monoclonal antibody, avidin-biotin method was used to detect the immunohistochemical expression of mutant and wild type p53 protein.

The correlation of our results with the disease free interval and the overall survival of 31 patients with large intestine adenocarcinomas was analyzed with the Kaplan-Meier survival curves.

Monosomy of chromosome 17 was found in 3/22 (13,6%) adenomatous polyps and 18/54(33,3%) adenocarcinomas ($p=0,08$). Deletion of p53 gene was found in 7/22 (31,8%) adenomatous polyps and 33/54 (61%) adenocarcinomas ($p<0,01$).

A statistically significant correlation was noted between deletion of p53 gene and monosomy of chromosome 17($p<0,001$).

Expression of p53 protein was detected in 2/22 (9,0%) adenomatous polyps and 32/54 (59,2%) adenocarcinomas ($p<0,0002$).

Numerical abnormalities of chromosome 17 and p53 gene were not detected and no p53 protein expression was found in adjacent normal mucosa.



There was not found any statistically significant correlation between p53 gene deletion, chromosome 17 loss, p53 protein expression and Duke's stage, histologic grade, tumor size and degree of dysplasia in adenomatous polyps.

A survival analysis was performed in 31 patients. The 5-years disease free interval was 71% and the overall survival was 65%. The disease free interval and the overall survival had a statistically strong relationship with the p53 gene deletion and chromosome 17 monosomy. This relationship was more intensive for tumours situated to the proximal colon.

CONCLUSIONS: The loss of chromosome 17 and the deletion of p53 gene are frequent numerical abnormalities in the adenocarcinomas of large intestine.

They are also detected in adenomas and seem to be involved in the continuum from late adenomas to invasive carcinomas.

The p53 gene deletion and the chromosome 17 loss as they are detected with the FISH method are correlated with better prognosis in patients with colorectal cancer, especially with tumors of proximal colon. In contrast the immunohistochemical overexpression of p53 protein does not seem to be a reliable prognostic marker.



8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ



8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Basic Embryology and Birth Defects .Keith L. Moore , Ph. D., F.I.A.C. 1978
p 131-136.
2. Αλέξανδρου Π. Σάββα, Επίτομη Ανατομική του Ανθρώπου 1979 Α' τόμος
σελ. 321-331.
3. Histology for Pathologists. Stephen S. Sternberg. 1992 , p.573 – 589.
4. Gastrointestinal Pathology. Cecilia M. Fenoglio –Preiser, M.D., p.383-402,
485-512 and 727-797.
5. Βασική Ιστολογία ,2^η έκδοση 1971 σελ. 307-308.
6. Ιατρική Φυσιολογία, William F. Ganong, MD. 1975 σελ.888 - 894
7. Surgical Pathology , Rosai and Ackerman's. Ninth edition 2004. p.754-778.
8. Biopsy Pathology in Colorectal Disease .Talbot I. C and Price A. B .1987
p.149-166,239-277, 291.
9. Papillary Adenoma of Large Intestinal . Robert R. Rickert, CANCER –
September 1,1998- vol. 83, number 5 page 825-829.
10. Genetic prognostic markers in colorectal cancer. R S Houlston, I P M
Tomlinson
J Clin Pathol: Mol Pathol 1997; 50: 281-288
11. Εσωτερική παθολογία Harisson, τόμος Γ' , σελ. 2334-2337, Αθήνα
1988
12. Επίτομος Χειρουργική Κ.Ι. Τούντα : τόμος 3^{ος} σελ :744-745. 1977
13. Russell AH, Tong D, Dawson LE, Wisbeck W: Adenocarcinoma of the
proximal colon. Sites of initial dissemination and patterns of recurrence
following surgery alone. Cancer 53: 360-365 , 1984.
14. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM: Prognostic indicators of
colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. Cancer 57:
1866-1870, 1986.
15. Eisenberg B, De Cosse JJ, Harford F, Michalek J: Carcinoma of the colon
and rectum. The natural history reviewed in 1704 patients. Cancer 49: 1131-
1134, 1982.
16. Εισαγωγή στη σύγχρονη βιολογία . Φ.Κ. Καφάτος . Ενότητα πρώτη : σελ.
107-151, Αθήνα 1976.
17. Γενικές αρχές Βιολογίας . Δ. Π. Μαθόπουλος .σελ. 76-78, 174-188.



- 18.Κυτταρογενετική και Μοριακή Ανίχνευση Γενετικών Συνδρόμων. Μ. Σύρρου σελ. 6-7, 22-30, 54-56. Ιωάννινα 1994.
- 19.Βιοχημεία Α. Τρακατέλη σελ. 602, 623-625. Θεσσαλονίκη 1972.
- 20.Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for colorectal tumorigenesis
Cell 1990, 61: 759- 76.
21. Molecular Genetics of Colorectal Carcinoma .
Stanley R. Hamilton, M.D.
CANCER Supplement September 1,1992- vol. 70, number 5 page 1216-
1221.
- 22.Germ line Mutations but not Somatic Changes at the MYHLocus Contribute
to the Pathogenesis of Unselected Colorectal Cancers.
Sarah E. R. Halford, Andrew J. Rowan, Lara Lipton, Oliver M. Sieber, Kevin
Pack, Huw J. W. Thomas , Shirley V. Hodgson, Walter F. Bodmer and Ian P.
M. Tomlinson.
American Journal of Pathology. 2003 ; 162: 1545-1548.
23. Common Genetic Evolutionary Pathways in Familial Adenomatous
Polyposis Tumors
Gemma Tarafa, Esther Prat, Rosa-Ana Risques, Sara Gonzalez, Jordi Camps,
Monica Grau, Elisabeth Guino, Victor Moreno, Manel Esteller, James G.
Herman, Josep-Ramon Germa, Rowa Miro, Miguel Angel Peinado and Gabriel
Capella. Cancer Research 63, 5731-5737, September 15, 2003.
24. Novel mutations of the APC gene in Greek Familial Adenomatous
Polyposis patients
M. Michalatos, I Danielides , J Beloyianni, E Harokopos, G Kalimanis, M
Tsiava, JK Triantafillidis , JK Kosmidis, G Fountzilias , NJ Agnantis and
Nasioulas.
Cancer Genetics an Cytogenetics (in press); 2002 (I.F. 1529)
25. A Cost- Effectiveness Analysis of colorectal Screening of Hereditary
Nonpolyposis Colorectal carcinoma Gene Carriers
Hans F.A.Vasen, Marjolein van Ballegooijen, Eric Buskens, Jan Kleibeuker,
Babs G. Taal, Gerrit Griffioen, Fokko M. Nagengast, Fred H. Menko, P. Meera
Khan.
American Cancer Society p.1632-1637; 1998.



26. Chromosome instability evaluated by fluorescence in situ hybridization in hereditary non-polyposis colorectal cancer.

Sawai T, Sasano O, Tsuji T, Nanashima A, Yamaguchi H, Yasutake T, Nakagoe T, Ayabe H, Tagawa Y.

J Gastroenterol. 1998 Aug; 33(4):495-9.

27. Immunohistochemical study of the ras gene family in human benign, premalignant and cancerous large bowel lesions.

SE Athanassiadou, D Stefanou, A Nonni, NJ Agnantis.

Cancer Molecular Biology :3, 745-752, 1996.

28. Glycoprotein CD44 expression in colorectal neoplasms. An immunohistochemical study including correlation with cathepsin D, extracellular matrix components, p53, Rb, bcl-2, c-erbB-2, EGFR and proliferation indices.

E Ioachim, A Gussia, NJ Agnantis. Virchows Arch, 434: 45-50, 1999. (I.F. 1.709)

29. Immunohistochemical evaluation of cathepsin D expression in colorectal tumours: A Correlation With Extracellular Matrix Components, p53, pRb, bcl-2, c-erbB-2, EGFR and Proliferation Indices.

E Ioachim, A Gussia, M Mahera, E Tsianos, A Kappas, and NJ Agnantis.

Anticancer Research, 19: 2147-2156, 1999. (I.F. 1.416)

30. Bcl-2 expression in colorectal tumors. Correlation with p53, mdm-2, Rb, proteins and proliferating indices.

AC Gussia, E Ioachim, NJ Agnantis, M Mahera, EV Tsianos.

Histology Hystopathology, 15: 667-672, 2000. (I.F. 1.859)

31. Low-Level c-myc Amplification in Human Colonic Carcinoma Cell Lines and

Tumors: A Frequent, p53-independent Mutation Associated with Improved Outcome in Randomized Multi-institutional Trial.

Leonard H. Augenlicht, Scott Wadler, Georgia Corner, Christine Richards, Louise Ryan, Asha S. Multani, Sen Pathak, Al Benson, Daniel Haller, and Barbara

G. Heerdt. Cancer research 57. 1769-1775, May 1. 1997.

32. Histopathological studies of superficial-type early colorectal carcinoma.

Wada R, Matsukuma S, Abe H, Kuwabara N, Suda K, Arakawa, Kitamura S.

Cancer, 1996 Jan, 77: 1, 44-50.



33. Ki-ras Mutation and p53 Overexpression Predict the Clinical Behavior of Colorectal Cancer: A Southwest Oncology Group Study.

Dennis J. Ahnem, Polly Feigl, Gang Quan, Cecelia Fenoglio-Preiser, Laura C. Lovato, Paul A. Bunn, Jr Grant Stemmerman, John D. Wells, John S. Macdonald

and Frank L. Meyskens, Jr.

Cancer research 58, 1149-1158. March 15. 1998.

34. Prognostic Value of p53 Genetic Changes in Colorectal Cancer

Ulf Kressner, Mats Inganas, Sara Byding, Ingrid Blikstad, Lars Pahlman, Bengt Glimelius, and Gudrum Lindmark.

Jurnal of Clinical Oncology, Vol 17, No 2 (February), 1999: pp 593-599.

35. A Frequent Alteration of p53 Gene in Carcinoma in Adenoma of Colon
Masayuki Ohue, Naohiro Tomita, Takushi Monden, Masami Fujita, Mutsumi Fukunaga, Koji Takami, Ikuo Yana, Tadashi Ohnishi, Takayuki Enomoto, Masaki Inoue, Takashi Shimano and Takesada Mori.

Cancer research 54, 4798-4804, September 1999.

36. Comparison of p53 gene mutation and protein overexpression in colorectal carcinomas.

B. Dix, P. Robbins, S. Carrello, A. House & B. Iacopetta.

Br. J. Cancer (1994). 70, 585-590.

37 Different mechanisms in the tumorigenesis of proximal and distal colon cancers.

Lindblom A.

1: Curr Opin Oncol. 2001 Jan; 13 (1): 63-9.

38 Somatic mutations of the APC, KRAS, and TP53 genes in nonpolypoid colorectal adenomas.

Van Wyk R, Slezak P, Hayes VM, Buys CH, Kotze MJ, de John G, Rubio C, Dolk A, Jaramillo E, Koizumi K, Grobbelaar JJ.

Cancer 27:202-208, Feb; 2000.

39. Detection of genetic alterations in the suppressor gene and the K-ras oncogene among different grades of dysplasia in patients with colorectal adenomas

Hosaka S, Aoki Y, Nakamura N, Hosaka N, Kiyosawa K.

Cancer 2002 Jan 1; 94 (1) : 219-27.



40. Mutations of APC , K-ras, and p53 are associated with specific chromosomal aberrations in colorectal adenocarcinomas.

Leslie A, Pratt NR, Gillespie K, Sales M, Kernohan NM, Smith g, Wolf CR, Carey FA, Steel RJ.

Cancer Res. 2003 Aug 1 ; 63(15) : 4656-61

41. Chromosomes 8, 12, and 17 copy number in Astler-Coller stage C colon cancer in relation to proliferative activity and DNA ploidy

Melissa G Steiner, Seth P. Harlow, Edoardo Colombo, and Kenneth D. Bauer.

Cancer Res 53, 681-686, February 1, 1993.

42. Allelic loss of chromosome 17p , mutation of the p53 gene , and microsatellite instability in right- and left- sided colorectal cancer.

Watatani M, Yoshida T, Kuroda K, Ieda S, Yasutomi M.

Cancer 1996 Apr. 15 ; 77(8 Suppl) : 1688-93

43. Alteration of numerical chromosomal aberrations during progression of colorectal tumors revealed by a combined fluorescence in situ hybridization and DNA ploidy analysis of intratumoral heterogeneity.

Katsura K, Sugihara H , Nakai S, Fujita S.

Cancer Genet Cytogenet 1996 Sep ; 90(2) : 146-53

44. In situ hybridization and flow cytometric analysis of colorectal tumors suggests two routes of tumourigenesis characterized by gain of chromosome 7 or loss of chromosomes 17 and 18.

Herbergs J, Hopman AH, De Bruine AP, Ramaekers FC, Arends JW.

J Pathol . 1996 Jul ; 179(3): 243-7.

45. Numerical chromosome alterations in colorectal carcinomas detected by fluorescence in situ hybridization. Relationship to 17p and 18q allelic losses.

Ooi A, Huang CD, Mai M, Nakanishi I.

Virchows Arch. 1996 Jul; 428(4-5): 243-51.

46. Comparative Genomic in situ hybridization of Colon carcinomas with replication error.

Jurgen Schlegel, Gabi Stumm, Harry Schertham, Tina Bocker, Hubert Zirngibl, Josef Ruschoff, and Ferdinand Hofstadter.

Cancer Research 55, 6002-6005, December 15, 1995.

47. Clinical and pathological significance of numerical aberrations of chromosomes 11 and 17 in colorectal neoplasms.



Tagawa Y, Yasutake T, Sawai T, Nanashima A, Jibiki M, Morinaga M, Akama F, Nakagoe T, Ayabe H.

Clin Cancer Res Sep; 3(9): 1587-92.

48. Analysis of p53 gene deletions in colorectal cancers using fluorescence in situ hybridization.

Nanashima A, Tagawa Y, Yasutake T, Taniguchi Y, Sawai T, Nakagoe T, Ayabe H.

Surg. Today 1997 ; 27(11) :999-1004

49. Genetic alterations in the region of the p53 gene on human chromosome 17 in colorectal cancer.

Kashkin KN, Fleishman EV, Chumakov PM, Perevoshchikov AG.

Genetika 1998 Aug ; 34(8): 1049-55

50. Importance of cytogenetic markers for multiple primary carcinomas in colorectal cancer: chromosome 17 and p53 locus translocation.

Tagawa Y, Nanashima A, Tsuji T, Sawai T, Yamaguchi H, Yasutake T, Nakagoe T, Ayabe H.

J Gastroenterol , 1998 Oct ; 33(5) :670-7.

51. Intratumor heterogeneity of chromosome 1,7,17 and 18 aneusomies obtained by FISH and association with cytometric DNA index in human colorectal adenocarcinomas.

Di Vinci A, Infusini E, Peveri C, Sciutto A, Orecchia R, Geido E, Monaco R, Giaretti W.

Cytometry, 1999 Apr 1 ; 35(4) :369-75

52. Detection of aberrations of 17p and p53 gene in gastrointestinal cancers by dual (two-color) fluorescence in situ hybridization and GeneChip p53 assay.

Takahashi Y, Nagata T, Asai S, Shintacu K, Eguchi T, Ishii Y, Fugii M, Ishikawa K.

Cancer Genet Cytogenet. 2000 , Aug ; 121(1) :38-43.

53. Numerical abnormalities of chromosomes 17 and 18 in sporadic colorectal cancer : Incidence and correlation with clinical and biological findings and the prognosis of the disease.

Garcia J, Duran A, Tabernero MD, Garcia Plaza A, Flores Cooral T, Najera ML, Gomez-Alonso A, Orfao A.

Cytometry . 2003 Jan ; 51b (1) : 14-20



54. Cytogenetic aberrations detected by flow cytometry and fluorescence in situ hybridization in colorectal cancer ; two cytogenetic pathways in colorectal carcinogenesis.

Sato T, Oga A, Ikeda E, Todoroki T, Furuya T, Sasaki K.

Oncology, 1999 Jul; 57(1); 63-9.

55. Correlation between DNA content and p53 deletion in colorectal cancer .

Cianchi F, Balzi M, Becciolini A, Giache V, Messerini L, Palomba A, Tisti E, Farac P, Chellini F, Puchiani F, Perigli G, Cortesini C.

Eur J Surg. 1999 Apr ; 165(4) : 363-8.

56. Instability of chromosomes 17 and p53 locus in non –familial colorectal cancer with multiple primary malignancies .

Sawai T, Nanashima A, Tsuji T, Yamaguchi H, Yasutake T, Nakagoe T, Ayabe H, Tagawa Y.

J Exp Clin Cancer Res . 2001 Sep;20(3): 401-5.

57. Distinct chromosomal imbalances in nonpolypoid and polypoid colorectal adenomas indicate different genetic pathways in the development of colorectal neoplasms.

Richter H, Slezak P , Walch A, Werner M, Braselmann H, Jaramillo E, Ost A, Hira I, Takahama K, Zitzelsberger H.

Am J Pathol. 2003 Jul; 163(1):287-94.

58. Clonal chromosomal anomalies in colorectal tumors

Rojas-Atencio A, Urdaneta K, Estrada P, Soto-Alvarez M, Borjas-Fajardo L, Boscan A, Garcia G.

Invest Clin. 2002 Dec;43(4): 263-70.

59. Prognostic evaluation of metallothionein expression in human colorectal neoplasms. E . Ioachim ,A. Goussia, NJ Agnantis, M Mahera, E Tsianos , A Kappas.

J Clin Pathol, 52; 876-879, 1999.

60. Electron immunocytochemical demonstration of vasoactive intestinal polypeptide and bombesin in colorectal adenocarcinomas and liver metastases

A Gavriil, E Sereti, NJ Agnantis, CV Golematis, IE Voloudakis-Baltatzis.

Journal of BUON 6: 295-300, 2001.



61. Expression of gelatinase-A (MMP-2) in human colon cancer and normal colon mucosa.

S .Papadopoulou, A Scorilas , N Arnogianaki, B Papapanayiotoy, A Tzimogiani, NJ Agnantis, M Talieri.

Tumor Biol 22:383-389,2001.

62. Significance of Urokinase-Type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression in human colorectal carcinomas.

S Papadopoulou, A Scorilas, J Yotis, N Amodianaki, G Plataniotis, N Agnanti, M Talieri.

Tumor Biol 22(3):170-178,2001.

63. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components tenascin, fibronectin, collagen type IV and laminin in breast cancer: the prognostic value and their role in tumor invasion and progression.

E Ioachim, A Charchanti , E Briassoylis, V Karavassilis, E Tsanou, DL Arvanitis, NJ Agnantis, N Pavlidis.

Eur J Cancer, 38(18):2362-70,2002.

64. Immunoelectron study of somatostatin , gastrin, and glucagon in human colorectal adenocarcinomas and liver metastases.

E Sereti, A Gavriil, NJ Agnantis, CV Golematis, IE Voloudakis-Baltatzis.

Anticancer Res. 22(4) : 2117-23,2002.

65. p53 mutations in human cancers.

Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B and Harris CC.

Science, 253, 49-53. 1991

66. Cell proliferation in carcinogenesis

Cohen S.M, Ellwein L.B.

Science, 249, 1007-11 . 1990

67. Increased cell division as a cause of human cancer

Preston- Martin S. , Pike M.C, Ross R.K, Jones P.A, & Henderson B.E.

Cancer Research 50, 7415-7421. 1990

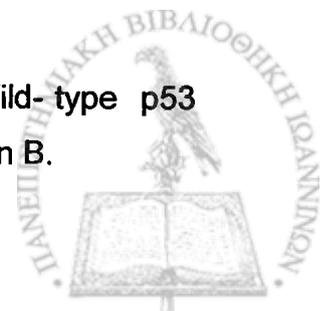
68. Wild- type p53 is a cell cycle checkpoid determinant following irradiation

Kuerbritz S.J , Plunket B.S,Walsh W.V & Kastan M.B.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 7491-95, 1992.

69. Supression of Human colorectal carcinoma cell growth by Wild- type p53

Baker S.J , Markowitz S, Fearon E.R, Willson J.K.V. & Vogelstein B.



Science, 249, 912-915 . 1990

70. Wild- type p53 restores cell cycle control and inhibits gene amplification in cells with mutant p53 alleles.

Yin Y, Tainsky M.N, Bischoff F.Z, Strong L, & Wahl G.M.

Cell , 70, 937-948, 1992

71. Altered cell cycl arrest and gene amplification - potential accompany loss of Wild- type p53.

Livingstone L.R, White A, Sprouse J, Livanos E, Jacks T, & Tisty T.D

Cell , 70, 923-936, 1992

72. The Role of p53 in cell cycle regulation

Phillip H. Shaw

Path. Res Pract . 192, 669-674, 1996.

73. The p53 Pathway

Carol Prives and Peter A. Hall.

J. Pathol 187: 112-126 ; 1999.

74. Clinical implications of the p53 tumor- suppressor gene . Review articles.

Curtis C, Harris M.D, and Monica Hollstein.

The new England Journal of medicine. Oct. 28. 1318-1325. 1993.

75. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53

Werness B.A, Levine A.J, and Howley P.M.

Science, 248, 76-79 . 1990

76. SV40 T antigen abrogates p53- mediated transcriptional activity .

Jiang D., Srinivasan A., Lozano G, & Robbins P.

Oncogene 8, 2805-2812. 1993.

77. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53.

Scheffner M., Werness B.A, Huibregtse J.M, Levine A.J, & Howley P.M.

Cell 63 , 1129 –1136. 1990.

78. The p53 tumor suppressor gene.

Levine A.J, Mohamad J.,& Finlay C.A.

Nature, 351, 453-456 . 1991.

79. FISH

J J Waters, A L Barlow, C P Gould

J Clin Pathol : 51; 62-70, 1998.



80. Thick- Section fluorescence in situ hybridization on formalin – fixed, paraffin-embedded archival tissue provides a histogenetic profile

Curtis T. Thompson, Philip E. LeBoit , Petra M. Nederlof, and Joe W. Gray.

American Journal of Pathology . 144(2) February , 237-243; 1994.

81. Amplification of fluorescent in situ hybridisation signals in formalin fixed paraffin wax embedded sections of colon tumour using biotinylated tyramide.

Judith A McKay, Graeme I Murray, W Nicol Keith, Howard L McLeod .

J Clin Pathol: Mol Pathol 1997; 50: 322-325.

82. Analysis of Chromosome 17p13 (p53 Locus).

Alterations in Gastic Carcinoma Cells by Dual-Color Fluorescence in Situ Hybridization.

Masako Kobayashi, Atsuhiro Kawashima, Masayoshi Mai, and Akishi Ooi. .

83. Physical deletion of the p53 gene in Bladder cancer.

Detection by fluorescence in situ hybridization.

Guido Sauter, Guoren Dehg, Holger Moch, Russel Kerschmann, Kouji Matsumura, Sandy De Vries, Tracy George, Jose Fuentes, Peter Carrol, Michael J. Mihatsch and Frederic M. Waldman.

American Journal of Pathology . 144; (4) April . 756-766: 1994.

84. Detection of Numeric Abnormalities of Chromosome 17 and p53 Deletions by In Situ Hybridizations in Pleomorphic Adenomas and Carcinomas in Pleomorphic Adenoma.

Xinwei Li, Tatsuo Tsuji, Shumin Wen, Yuka Mimura, Kohsuke Sasaki, Fumihiko Shinozaki.

CANCER June 15,1997, Volume 79, Number 12.

85. Prognostic significance of expression p53 , chromosome 17 copy nuber, and DNA ploidy in non – metastasized colorectal carcinomas (stages IB and II).

Baretton GB, Vogt M, Muller C, Diebold J, Schneiderbanger K, Schmidt M, Lohrs U.

Scand J Gastroenterol . May ; 31(5) : 481-9 , 1996.

86. Prognostic significance of p53 overexpression in gastric and colorectal carcinoma.

T. Starzynska, M. Bromley, A. Ghosh & P.L. Stern.

Br. J. Cancer 66, 558-562, 1992.



87. Expression of p53 protein in colorectal cancer and its relationship to short-term prognosis.

Akio Yamaguchi, M.D, Yoshiyuki Kurosaka, M.D, Sachio Fushida, M.D, Masarino Kanno, M.D, Yutaka Yonemura, M.D, Kouichi Miwa, M.D, and Itsuo Miyazaki, M.D.

Cancer December 15, vol 70 (12) 2778-2783.,1992.

88. p53 immunoreaction in endoscopic biopsy specimens of colorectal cancer , and its prognostic significance.

A.Yamaguchi, G. Nakagawara, Y. Kurosaka, G. Nishimura, Y. Yonemura and I. Miyazaki

Br. J. Cancer 68, 399-402, 1993.

89. Expression of p53 protein in invasive colorectal carcinomas of different histologic types.

Christoph Hanski, Gudrun Bornhoeft, Tadakazu Shimoda, Marie-Luise Hanski, David P. Lane, Harald Stein and Ernst-Otto Riecken.

Cancer December 15,vol 70 (12) 1992 , 2772-2778.

90. p53 Alterations are associated with improved prognosis in distal colonic carcinomas

Richie Soong, Fabienne Grieu , Peter Robbins, Brett Dix, Derek Chen, Richard Parsons, Anthony House, and Barry Iacopetta.

Clinical cancer Research 3, 1405-1411 , Aug. 1997.

91. Comparative survival analysis of p53 gene mutations and protein accumulation in colorectal cancer.

Trinidad Caldes, Pilar Iniesta, Francisco J. Vega, Carmen de Juan, Jose A. Lopez, Eduardo Diaz-Rubio, Cristina Fernandez, Javier Cerdan, Jose L. Balibrea & Manuel Benito.

Ongology 55: 249-257, 1998.

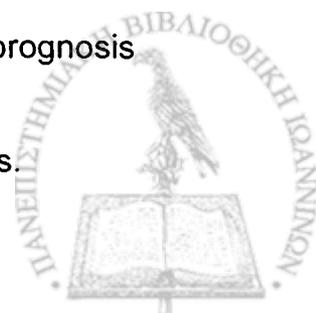
92. P53 alterations have no prognostic or predictive significance in Dukes" C rectal carcinomas.

Elsaleh H, Soontrapornchai P, Grieu F, Joseph D, Iacopetta B.

Int J Oncol Dec; 15(6): 1239-43. 1999.

93. Evaluation of p53 protein expression as a marker for long-term prognosis in colorectal carcinoma.

J-WR Mulder, IO Baas, MM Polak, SN Goodman and GJA Offerhaus.



Br. J. Cancer 71, 1257-1262 , 1995.

94. Immunohistochemical expression of p53 oncoprotein in large bowel adenomas and carcinomas.

Roa JC, Villaseca MA, Roa I, Araya JC, Okayasu I, Flores P, Flores M.

Rev Med Chil, 1997 May, 125:5, 523-9.

95. p53 in colorectal cancer: clinicopathological correlation and prognostic significance.

N. Scott , P. Sagar , J. Stewart, G.E. Blair, M.F. Dixon & P. Quirke.

Br. J. Cancer 63, 317-319, 1991.

96. Expression of high p53 levels in colorectal cancer: a favourable prognostic factor.

E. Adrover, ML Maestro , MT Sanz-Casla, V del Barco, J Cerdan, C Fernandez and JL Balibrea.

Br. J. Cancer 81(1) , 122-126, 1999.

97. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms.

Baas, I.O, Mulder, J,-W.R, Offerhaus G.J.A, Vogelstein, B., & Hamilton, S.R.

J Pathol., 172, 5-12, 1994.

98. Overexpression of p53 and long –term survival in colon carcinoma

A.Auvinen , J. Isola , T. Visakorpi, T. Visakorpi, T. Koivula, S. Virtanen & M. Hakama.

Br. J. Cancer 70, 293-296. 1994.

99. Comparison between fluorescence in situ hybridization and classical cytogenetics in human tumors.

Arvind K. Virmani, Vijay S. Tonk and Adi F. Gazdar.

Anticancer Research 18; 1351-1356: 1998.

