

ΕΘΝΙΚΟ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ Γ.Ν.Ν.Π. «ΑΓΙΟΣ ΠΑΝΤΕΛΕΗΜΩΝ»-

Γ.Ν.Δ.Α. «ΑΓΙΑ ΒΑΡΒΑΡΑ»

Β' ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ



— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

**«Η συμβολή των μεγάλων μη-κωδικών (long non-coding) RNA
στους παγκρεατικούς καρκίνους»**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΟΣΧΟΒΗΣ

ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2019

ΕΘΝΙΚΟ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ Γ.Ν.Ν.Π. «ΑΓΙΟΣ ΠΑΝΤΕΛΕΗΜΩΝ»-

Γ.Ν.Δ.Α. «ΑΓΙΑ ΒΑΡΒΑΡΑ»

Β' ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ



— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

**«Η συμβολή των μεγάλων μη-κωδικών (long non-coding) RNA
στους παγκρεατικούς καρκίνους»**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΟΣΧΟΒΗΣ

ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2019

NATIONAL & KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS
MEDICAL SCHOOL

DEPT. OF GASTROENTEROLOGY GEN. HOSPITAL OF NIKEA & PIRAEUS
“AG. PANTELEIMON”-GEN. HOSPITAL OF WEST ATTICA “AG. VARVARA”

2nd DEPT. OF SURGERY, UNINERSITY OF ATHENS



— EST. 1837 —

“The contribution of long non-coding RNA in pancreatic cancers”

DIMITRIOS MOSCHOVIS

GASTROENTEROLOGIST

PhD

ATHENS 2019

ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. ΒΕΖΑΚΗΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ:
Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής (Επιβλέπων)
2. ΓΑΖΟΥΛΗ ΜΑΡΙΑ:
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας
3. ΚΑΡΑΜΑΝΩΛΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ:
Αναπληρωτής Καθηγητής Γαστρεντερολογίας

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. ΚΥΡΙΑΚΟΠΟΥΛΟΥ-ΛΥΜΠΕΡΗ ΜΑΡΙΑ:
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής
2. ΒΕΖΑΚΗΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ:
Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής (Επιβλέπων)
3. ΓΑΖΟΥΛΗ ΜΑΡΙΑ:
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας
4. ΚΑΡΑΜΑΝΩΛΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ:
Αναπληρωτής Καθηγητής Γαστρεντερολογίας
5. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ ΙΩΑΝΝΗΣ:
Επίκουρος καθηγητής Παθολογίας-Γαστρεντερολογίας
6. ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ ΙΩΑΝΝΗΣ:
Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής
7. ΒΛΑΧΟΓΙΑΝΝΑΚΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ:
Αναπληρωτής Καθηγητής Γαστρεντερολογίας

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει ότι αποδέχεται τη γνώμη του συγγραφέα .

(Οργανισμός Πανεπιστημίου Αθηνών, άρθρο 202, § 2, Νόμος 5343).

ΟΡΚΟΣ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ



ΘΗΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΗΙΤΡΟΝ
ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΩΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΩΝ ΚΑΙ
ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΙΝ ΚΑΤΑ
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ
ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΖΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΤΗΣ
ΑΣΘΑΙΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΧΗΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ
ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ
ΚΑΙ ΒΙΟΝ ΚΟΙΝΩΣΑΣ ΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ
ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ ΘΑΙ
ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΖ ΟΥΤΕΩΝ ΑΔΕΛΦΟΙΣ

ΙΣΩΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΗΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΧΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ
ΗΝ ΧΡΗΖΩ ΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΖΥΓΓΡΑΦΗΣ
ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΔΡΑΣΗΣ
ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ
ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΧΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕ
ΓΡΑΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΟ ΑΛΛΟ
ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ ΔΙΑΙΤΗ ΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΗ ΚΑΝΟΝΩΝ
ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙΔΗΑΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΔΟΙ
ΚΙΗ ΕΙΡΖΕΙΝ ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΝΟΗΓΗΣΟΜΑΙ ΖΥΜΒΟΥΛΙΗΝ
ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΟΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ. ΠΕΣΣΟΝ ΘΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ
ΑΓΝΟΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΗΝ ΕΜΗΝ ΟΥΤΕ ΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΑΙΘΙΟΝΤΑΣ ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ
ΕΡΓΑ ΤΗΣΙ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡΗΖΙΟΣ ΤΗΣ ΔΕ ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ
ΕΣΩ ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ
ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΗΣ ΚΑΙ ΘΘΟΡΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙ
ΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥ
ΦΕΡΩΝΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ ΔΑ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΗΗ ΚΑΙ ΙΔΩ Η Α
ΚΟΥΣΩ Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΑΜΗ
ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΖΩΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ
ΕΙΜΑΙ ΤΑ ΤΟΙΔΑΝΤΑ ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ
ΠΟΙΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΖΥΓΧΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΝ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ
ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑ ΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΚΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ
ΤΟΝΤΕΩΝ

Αφιερωμένο
στα παιδιά μου Γιάννη και Ζωή
που αποτελούν την έμπνευσή μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής αποτελούμενη από τον Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής Δρ. Αντώνιο Βεζάκη, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας Δρ. Μαρία Γαζούλη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Γαστρεντερολογίας Δρ. Γεώργιο Καραμανώλη για το χρόνο, τη βοήθεια και την συμπαράστασή τους. Η συμβολή τους ήταν καταλυτική για την ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας. Ήταν μεγάλη μου χαρά να τους γνωρίσω ως ανθρώπους και τιμή μου να συνεργαστώ μαζί τους ως επιστήμονες.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω το Παθολογοανατομικό εργαστήριο και την Ογκολογική Μονάδα του Αρεταίειου Νοσοκομείου στο πρόσωπο της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Δρ. Ελένης Σπανίδου-Καρβούνη και της Κας Βασιλικής Μιχαλάκη αντίστοιχα για τη διαθεσιμότητα και τη συνεργασία τους στην ανεύρεση του απαραίτητου υλικού συμβάλλοντας στην αρτιότητα και στην εγκυρότητα του αποτελέσματος.

Ιδιαίτερη αναφορά θα ήθελα να κάνω στη Δρ. Μαρία Τζουβαλά η οποία ως Διευθύντρια μου καθ' όλη τη διάρκεια της ειδικότητας μου, αλλά και της θητείας μου ως Επικουρικός Γαστρεντερολόγος στο ΓΝΝΠ «Αγ. Παντελεήμων» με γαλούχησε με τις αρχές της αξιοπρέπειας του σεβασμού και της εντιμότητας στην άσκηση του ιατρικού επαγγέλματος, ενώ ήταν δίπλα μου τόσο στις καλές, όσο και στις κακές στιγμές προτρέποντάς με να προχωρήσω. Πίστεψε στην διάθεση και στην ικανότητα μου να αρχίσω και να ολοκληρώσω αυτή τη διδακτορική διατριβή προσφέροντας μου απλόχερα το χρόνο, αλλά και τις συμβουλές που χρειαζόμουν για το σκοπό αυτό.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΣΠΟΥΔΕΣ

- 2016-σήμερα Υποψήφιος διδάκτορας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠ Αθηνών: «Η συμβολή των μεγάλων μη-κωδικών (long non-coding) RNA στους παγκρεατικούς καρκίνους»
- 6/2018 Απόφοιτος 11^{ου} Σχολείου Κλινικής Ηπατολογίας της Ελληνικής Εταιρίας Μελέτης Ήπατος
- 14/3/2018 Απόκτηση τίτλου ειδικότητας Γαστρεντερολογίας-Ηπατολογίας
- 1/4/15 Απόφοιτος του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠ Αθηνών με τίτλο: «νεοπλασματική νόσος στον άνθρωπο: σύγχρονη κλινικοπαθολογοανατομική προσέγγιση και έρευνα». Βαθμός πτυχίου: 8,2/10
- 8/2/11 Απόφοιτος του προγράμματος συμπληρωματικής εκπαίδευσης με τη μέθοδο εξ αποστάσεως εκπαίδευσης (e-learning), του ΕΚΠ Αθηνών: «βασικές αρχές του καρκίνου, παθογενετικοί μηχανισμοί και νεότερες θεραπευτικές προσεγγίσεις»
- 16/3/05 Απόφοιτος Ιατρικής και Χειρουργικής του Πανεπιστημίου της Brescia. Βαθμός πτυχίου: 97/110
- 1995 Απόφοιτος 5^{ου} Γενικού Λυκείου Αιγάλεω. Βαθμός απολυτηρίου: 17 ¹/₁₀

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 1/2/19-σήμερα Επικουρικός Γαστρεντερολόγος στο ΓΝΝΠ «Άγιος Παντελεήμων»-

ΓΝΔΑ «Αγία Βαρβάρα»

- 14/3/18-31/1/19 «Παρατασιακός Ειδικευόμενος» ιατρός Γαστρεντερολογίας με τίτλο ειδικότητας στη Γαστρεντερολογική Κλινική του ΓΝΝΠ «Άγιος Παντελεήμων»-ΓΝΔΑ «Αγία Βαρβάρα»
- 30/12/18-13/3/18 «Παρατασιακός Ειδικευόμενος» ιατρός Γαστρεντερολογίας στη Γαστρεντερολογική Κλινική του ΓΝΝΠ «Άγιος Παντελεήμων»-ΓΝΔΑ «Αγία Βαρβάρα»
- 12/12/16-8/6/17 Συμμετοχή στα Ε.Ι. Ηπατολογίας και Κινητικότητας Οισοφάγου του ΓΝΑ «Λαϊκό»
- 20/12/13-29/12/17 Ειδικευόμενος ιατρός Γαστρεντερολογίας στη Γαστρεντερολογική Κλινική του ΓΝΝΠ «Άγιος Παντελεήμων»-ΓΝΔΑ «Αγία Βαρβάρα»
- 2/1/13-19/12/13 Έμμισθος συνεργάτης της Β' Παθολογικής Ογκολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου «Υγεία»
- 9/8/11-31/12/12 Εξωτερικός επιστημονικός συνεργάτης της Β' Παθολογικής Ογκολογικής Κλινικής του ΕΑΝΠ «Μεταξά»
- 11/9/09-8/8/11 Ειδικευόμενος ιατρός παθολογίας στη Β' Παθολογική Ογκολογική Κλινική και στην αντίστοιχη Κλινική Μιας Ημέρας (One Day Clinic), του ΕΑΝΠ «Μεταξά»
- 6/6/07-18/8/08 Υπηρεσία υπαίθρου στο άγονο Π.Υ. Κορώνου Νάξου
- 6/3/07-5/6/07 Έμμισθος βοηθός του ΓΝ Σύρου «Βαρδάκειο και Πρώτο», για 3μηνη εκπαίδευση στο πλαίσιο της υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου στο άγονο Π.Υ. Κορώνου Νάξου
- 1/4/06-30/7/06 Οπλίτης ιατρός στην Ελληνική φρουρά του Ν.Α.Τ.Ο (Νεάπολη Ιταλίας,

JFC Naples)

1/4/05-30/6/05 3μηνη πρακτική άσκηση μαθητείας στη III^a Χειρουργική κλινική, στην II^a Παθολογική κλινική του νοσοκομείου “Spedali Civili di Brescia” και σε οικογενειακό γιατρό

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

◦ **Endoscopy:** 2019; 51(04): 248 – 248 DOI: 10.1055/s-0039-1681916 (ORIGINAL ART.)

“Ligation-assisted endoscopic mucosal resection (EBL-EMR) as a safe alternative for the resection of a flat duodenal adenoma in a cirrhotic patient with ectopic duodenal varices”

Tribonias G. Kechagias G. Moschovis D. Zacharopoulou E. Giotis I. Palatianou M. Penesis G. Internos I. Tzouvala M.

◦ **Eur J Gastroenterol Hepatol:** 2019 Apr 9. doi: 10.1097/MEG.0000000000001414 (ORIGINAL ART.)

“Prevalence of Clostridium difficile infection among hospitalized inflammatory bowel disease patients in Greece”

Viais N. Pontas C. Karmiris K. Dimas I. Fragaki M. Paspatis G. Drygiannakis I. Koutroubakis IE. Moschovis D. Tzouvala M. Theocharis G. Tsolias C. Thomopoulos K. Zampeli E. Axiaris G. Michopoulos S. Belesiotou E. Banasa M. Maraki S. Kouskoumpekou F. Apostolopoulos G. Stamouli V. Prifti H. Mantzaris GJ.

◦ **Cancer Biomarkers:** 2018 Nov 12. doi: 10.3233/CBM-181959 (RESEARCH ART.)

“Association between genetic polymorphisms in long non-coding RNAs and pancreatic cancer risk”

Moschovis D. Vasilaki E. Tzouvala M. Karamanolis G. Katifelis H. Legaki E. Vezakis A. Aravantinos G. Gazouli M.

◦ **Annals of Gastroenterology:** 2017;30(6):622-628. doi: 10.20524/aog.2017.0185. Epub 2017 Aug 4 (REVIEW)

“Long non-coding RNA in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic neuroendocrine tumors”.

Moschovis D. Gazouli M. Tzouvala M. Vezakis A. Karamanolis G.

◦ **World J Gastrointest Oncol:** 8(10):725-734.Oct 15, 2016. doi: 10.4251/wjgo.v8.i10.725 (REVIEW)

“Mucins in neoplasms of pancreas, ampulla of Vater and biliary system”.

Moschovis D. Bamias G. Delladetsima I.

◦ **Ευεξία & Διατροφή:** τεύχος 74 Απρίλιος-Μάιος-Ιούνιος 2016 (REVIEW)

«Κοιλιοκάκη»

Μόσχοβης Δ.

◦ **Br J Cancer:** 2011 Sep 27; 105(7):897-902. doi: 10.1038/bjc.2011.316. Epub 2011 Aug 16 (ORIGINAL ART.)

“*Paclitaxel-ifosfamide-carboplatin combination chemotherapy regimen in advanced uterine and adnexal malignant mixed Mullerian tumours*”

Kosmas C. Vorgias G. Tsakonas G. Politis P. Daladimos T. Panagiotidi E. Papachrysanthou T. Moschovis D. Kalinoglou N. Tsavaris N. Karabelis A. Mylonakis N.

ΕΡΓΑΣΙΕΣ

◦ **Μεταπτυχιακή εργασία (2015):** «*διαγνωστική και προβλεπτική σημασία των τύπων των βλεννινών στις νεοπλασίες του παγκρέατος, του φύματος Vater και των μεγάλων χολαγγείων*»

◦ **Πτυχιακή εργασία (2004):** “*dialisi peritoneale nei pazienti diabetici di tipo II*” (περιτοναϊκή κάθαρση σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II)

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ-ABSTRACTS-POSTERS

Αρκετές ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια του εξωτερικού και του εσωτερικού όπως στο DDW, ECCO, EUG, ESGE, ASCO, International Congress of Internal Medicine και Annual Meeting in Digestive Cancer καθώς και σε συνέδρια του εσωτερικού όπως Πανελλήνια συνέδρια Γαστρεντερολογίας και ΙΦΝΕ, Πανελλήνια Ιατρικά Συνέδρια και Πανελλήνιο συνέδριο λοιμώξεων. Σημαντικότερες:

➤ **2nd Annual Meeting in Digestive Cancer (6-7 September 2019), Athens, Greece:**

- “Genetic polymorphisms in long non-coding RNA and pancreatic cancer risk”
- “Advanced endoluminal resection of malignant lesions of gastrointestinal tract in a tertiary referral center”

➤ **Digestive Disease Week/DDW 2019** (18-21 May 2019), San Diego, USA:

- “Fertility, conception and delivery in patients with IBD, a retrospective study in two centres in Greece”
- “A retrospective study to examine the impact of Crohn’s disease duration on Adalimumab’s effectiveness to achieve remission in patients bearing poor prognostic factors: the ‘MODIFY’ study”

➤ **ESGE Days 2019** (4-6 April 2019), Prague, Czech Republic:

- “Ligation-assisted endoscopic mucosal resection (EBL-EMR) as a safe alternative for the resection of a flat duodenal adenoma in a cirrhotic patient with ectopic duodenal varices”

➤ **ECCO 2019, 14th congress in IBD** (6-9 March 2019), Copenhagen, Denmark:

- “A real-world assessment of Golimumab effect on quality of life, healthcare resource utilisation and work productivity in patients with ulcerative colitis in Greece: interim results from the GO-LIFE study”
- “Fertility, conception and delivery in patients with IBD, a retrospective study in two centres in Greece”

➤ **10th International Congress of Internal Medicine** (22-24 March 2018), Athens, Greece:

- “Recurrent non-variceal upper gastrointestinal bleeding (NVUGIB) caused by simultaneous extravasation of two different vessels treated with embolism

➤ **ECCO 2018, 13th congress in IBD** (14-17 February 2018), Vienna, Austria:

- “Prevalence of Clostridium Difficile infection among hospitalised inflammatory bowel disease patients in Greece”
- “Immunisation practices for hepatitis B and response to vaccination in Greek patients with inflammatory bowel disease”

➤ **9th International Congress of Internal Medicine** (9-11 March 2017), Athens, Greece:

- “An unexpected shortcut: case report of a gastrocolic fistula (GCF) post-total pancreatectomy”

- “Mini case series: successful treatment of gastric Dieulafoy lesions with endoscopic band ligation (EBL)”

- **UEG Week 2015** (24-28 October 2015), Barcelona, Spain:

- “Overview of hepatitis B immunization practice and vaccination response in Greek inflammatory bowel disease patients”

- **ECCO 2015, 10th congress in IBD** (18-21 February 2015), Barcelona, Spain:

- “Sierological monitoring for HBV infection and response to vaccination in Greek patients with IBD: a multi-central study”

- **ASCO 2011, annual meeting** (4-8 June 2011), Chicago, USA:

- “Successful autologous hemopoietic stem cell (AHSC) mobilization with Salvage etoposide (VP16)-ifosfamide-platinum (VIP) followed by hi-dose chemotherapy (HDC) and AHSC transplantation (AHSCT) in relapsed malignancies: preliminary single center experience”

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ-ΠΡΩΤΟΚΟΛΑ

Συμμετοχή σε 23 Διεθνείς και Ελληνικές κλινικές μελέτες φάσης IIB-III-IV Γαστρεντερολογικού και Ογκολογικού ενδιαφέροντος. Κάτοχος ICH GOOD CLINICAL PRACTICE, THE GLOBAL HEALTH NETWORK, 31/7/2016

ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Συμμετοχή σε πολλά συνέδρια στην Ελλάδα και το Εξωτερικό εκ των οποίων τα σημαντικότερα:

2019 14th congress of ECCO-European Crohn’s and Colitis Organisation Inflammatory Bowel Diseases 2015, Copenhagen, Denmark

2018 4th Athens International Symposium on Digestive Diseases and Hands On courses (ESD),

Athens, Greece

- 2018 Evolution in Capsule Endoscopy Hands-on Training, Athens, Greece
- 2017 35th GEEW, Brussels, Belgium
- 2016 3rd Athens Symposium on Gastrointestinal Cancer, Prevention, Recognition & Management and Hands On courses (ESD), Athens, Greece
- 2015 10th congress of ECCO-European Crohn's and Colitis Organisation Inflammatory Bowel Diseases 2015, Barcelona, Spain
- 2015 8th Y-ECCO Workshop/10th Congress of ECCO, Inflammatory Bowel Disease 2015, Barcelona, Spain
- 2014 European Endoscopy Training Centre: Advanced Training Course on "Poem, Colonoscopy, GI Bleeding, Biliary and Enteral stenting", Rome, Italy
- 2013 prIME Oncology: Expert Practice in Gastrointestinal Malignancies, Frankfurt, Germany
- 2010 18th European Gastroenterology Week, Barcelona, Spain
- 2008 Σεμινάριο "P.L.S. Paediatric Life Support, βασική υποστήριξη της ζωής στα παιδιά", Νάξος, Ελλάδα

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ-ΒΡΑΒΕΙΑ

- 1998-01 Υποτροφία από το ίδρυμα υποτροφιών του πανεπιστημίου της Brescia για άριστη επίδοση

Πίνακας περιεχομένων

ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....	4
ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....	4
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	7
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	8
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	19
ABSTRACT.....	21
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	22
1 ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ.....	23
1.1 Εισαγωγή.....	23
2 ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΕΞΩΚΡΙΝΟΥΣ ΜΟΙΡΑΣ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ.....	26
2.1 Ταξινόμηση.....	26
2.2 TNM σταδιοποίηση.....	26
2.3 Καλοήθη νεοπλάσματα.....	27
2.4 Προκαρκινικές βλάβες.....	28
2.5 Κακοήθη νεοπλάσματα.....	31
2.5.1 Πορογενές αδενοκαρκίνωμα.....	32
2.5.1.1 Επιδημιολογία.....	32
2.5.1.2 Παράγοντες κινδύνου.....	32
2.5.1.3 Γενετικό μοντέλο καρκινογένεσης.....	33
2.5.1.4 Διάγνωση.....	33
2.5.1.5 Θεραπεία.....	34
2.5.1.6 Μακροσκοπική εικόνα.....	34
2.5.1.7 Ιστολογική εικόνα.....	35
2.5.1.8 Τοπική επέκταση.....	36
2.5.1.9 Πρόγνωση.....	37
3 ΝΕΥΡΟΕΝΔΟΚΡΙΝΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ.....	38
3.1 Ταξινόμηση.....	38
3.2 Επιδημιολογία.....	39
3.3 Παράγοντες κινδύνου.....	40
3.4 Συμπτώματα.....	40

3.5 Γενετικό μοντέλο καρκινογένεσης.....	40
3.6 Θεραπεία	40
3.7 Μακροσκοπική εικόνα	41
3.8 Ιστολογική εικόνα	41
3.9 Πρόγνωση	42
4 Η ΡΟΗ ΤΗΣ ΓΕΝΝΕΤΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ.....	43
4.1 Δομή του γενετικού υλικού	43
4.2 Μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας.....	45
5 ΜΗ-ΚΩΔΙΚΑ RNA	47
6 ΜΕΓΑΛΑ ΜΗ-ΚΩΔΙΚΑ RNA	49
6.1 Σενάρια προέλευσης	49
6.2 Μηχανισμός δράσης	52
7 ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΚΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΙ ΚΑΙ lncRNA-SNP.....	53
7.1 H19.....	56
7.2 HOTTIP.....	57
7.3 MALAT-1.....	57
7.4 HOTAIR, AF339813, HULK.....	57
7.5 Gas5, ENST00000480739	58
7.6 Meg3.....	58
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	59
8 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	60
9 ΤΗΡΗΣΗ ΚΑΝΟΝΩΝ	60
10 ΜΕΘΟΔΟΣ-ΥΛΙΚΑ	61
10.1 Ασθενείς.....	61
10.2 Πολυμορφισμοί που μελετήθηκαν.....	62
10.3 Απομόνωση γενωμικού υλικού	63
10.4 PCR-Εκκινητές.....	65
10.4.1 Πολυμορφισμός rs1561927 PVT1 (G/A)	69
10.4.2 Πολυμορφισμός rs4759314 HOTAIR (G/A)	71
11 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	74
11.1 Δοκιμασία χ^2	74

11.2 Ισορροπία Hardy-Weinberg	76
12 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	78
12.1 Κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού.....	78
12.2 Αποτελέσματα για τον rs1561927 PVT1	80
12.3 Αποτελέσματα για τον rs4759314 HOTAIR.....	83
13 ΣΥΖΗΤΗΣΗ	83
14 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	87
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	101
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	102

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια, τα μεγάλα μη-κωδικά RNA (long non-coding RNA, lncRNA), λόγω του ρυθμιστικού τους ρόλου στα μονοπάτια τόσο της καρκινογένεσης όσο και της ογκοκαταστολής, μελετώνται όλο και συχνότερα για το ρόλο τους ως πιθανοί βιοδείκτες διαφόρων νεοπλασιών. Όσον αφορά τον καρκίνο του παγκρέατος η απορύθμιση ορισμένων lncRNA φαίνεται να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην καρκινογένεση, στην διηθητική ικανότητα και στο μεταστατικό δυναμικό των καρκινικών κυττάρων. Παρόλα αυτά, υπάρχουν περιορισμένα βιβλιογραφικά δεδομένα που να εξηγούν τη ρυθμιστική αυτή δράση της έκφρασης των lncRNA.

Σκοπός της μελέτης μας είναι η αποσαφήνιση της συμβολής των πολυμορφισμών δύο lncRNA και συγκεκριμένα των rs1561927 και rs4759314 των PVT1 και HOTAIR, στην επίπτωση του παγκρεατικού καρκίνου.

Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων (case control study), στην οποία έγινε ανάλυση των rs1561927 και rs4759314 πολυμορφισμών βασισόμενη σε δείγμα DNA 111 ασθενών με πορογενές αδενοκαρκίνωμα (ΠΑ), 56 ασθενών με νευροενδοκρινή νεοπλάσματα του παγκρέατος (ΝΝΠ) και 125 υγιών μαρτύρων.

Όσον αφορά τον πολυμορφισμό rs1561927 του PVT1 το αλληλόμορφο G βρέθηκε να υπερεκφράζεται σημαντικά τόσο στο ΠΑ όσο και στα ΝΝΠ σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, ενώ το αλληλόμορφο G του πολυμορφισμού rs4759314 του HOTAIR φαίνεται να υπερεκφράζεται μόνο στα ΝΝΠ σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Επιπλέον, οι γονότυποι AG και GG του PVT1 rs1561927 φαίνεται να σχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση στους ασθενείς με ΠΑ.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας υποδεικνύουν πως οι πολυμορφισμοί των lncRNA που εξεταστήκαν φαίνεται να εμπλέκονται στην καρκινογένεση των

νεοπλασιών του παγκρέατος, ωστόσο μελέτες μεγαλύτερων πληθυσμών θα χρειαστούν για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων αυτών.

ABSTRACT

Long non-coding RNA (lncRNA) are emerging as candidate biomarkers of cancer, having regulatory functions in both oncogenic and tumor-suppressive pathways. Concerning pancreatic cancer (PC), deregulation of lncRNA involved in tumor initiation, invasion, and metastasis seem to play a key role. However, data is scarce about regulatory mechanism of lncRNA expression.

The aim of our study was to investigate the contribution of two lncRNA polymorphisms (rs1561927 and rs4759313 of PVT1 and HOTAIR, respectively) in PC susceptibility.

A case-control study was conducted analysing rs1561927 and rs4759313 polymorphisms using DNA collected in a population-based case-control study of pancreatic cancer [111 Pancreatic Ductal Adenocarcinoma cases (PDAC), 56 Pancreatic Neuroendocrine Tumor (PNET), and 125 healthy controls].

Regarding the PVT1 rs1561927 polymorphism the G allele was significantly overrepresented in both PDAC and PNET patients compared to the controls, while the presence of the HOTAIR rs4759314 G allele was found to be overrepresented in the PNET patients only compared to the controls. The PVT1 rs1561927 AG/GG genotypes were associated with poor overall survival in PDAC patients.

Our results suggested that polymorphisms of these two lncRNA polymorphisms implicated in pancreatic carcinogenesis. Further large-scale and functional studies are needed to confirm our results.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1 ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

1.1 Εισαγωγή

Ο καρκίνος του παγκρέατος είναι ένας από τους πιο θανατηφόρους καρκίνους στον οποίο οφείλονται περίπου 331.000 θάνατοι ανά έτος παγκοσμίως με βάση δεδομένα της GLOBOCAN¹. Η επίπτωσή του διαφέρει ανά χώρα εξαιτίας διαφορετικών καθημερινών συνηθειών καθώς και γενετικών και περιβαλλοντικών συνθηκών². Σύμφωνα με την ταξινόμηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization-WHO) του 2010³ από το πάγκρεας προέρχονται αρκετά καλοήθη και κακοήθη νεοπλασμάτα (Πίνακας 1).

Πίνακας 1

ταξινόμηση των νεοπλασιών του παγκρέατος κατά WHO (2010)

➤ Επιθηλιακοί όγκοι
<u>Καλοήθεις</u>
Λοβιακό κρυσταδένωμα
Ορώδες κρυσταδένωμα
<u>Προνεοπλασματικές βλάβες</u>
Παγκρεατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία βαθμού 3 (PanIN-3)
Ενδοπορικό θηλώδες βλεννώδες νεόπλασμα (IPMN) με χαμηλόβαθμη δυσπλασία
Ενδοπορικό θηλώδες βλεννώδες νεόπλασμα (IPMN) με μέτρια δυσπλασία
Ενδοπορικό θηλώδες βλεννώδες νεόπλασμα (IPMN) με υψηλόβαθμη δυσπλασία
Ενδοπορικό σωληνοθηλώδες νεόπλασμα (ITPN)
Βλεννώδες κυστικό νεόπλασμα (MCN) με χαμηλόβαθμη-μέτρια δυσπλασία
Βλεννώδες κυστικό νεόπλασμα (MCN) με υψηλόβαθμη δυσπλασία

Κακοήθειες

Πορογενές αδενοκαρκίνωμα

Αδενοπλακώδες καρκίνωμα

Κολλοειδές καρκίνωμα (βλενώδες μη κυστικό καρκίνωμα)

Μυλλεριανό καρκίνωμα

Καρκίνωμα από κύτταρα δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου (*signet ring cell carcinoma*)

Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα

Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα με γιγαντοκύτταρα

Λοβιακό καρκίνωμα

Λοβιακό κυσταδενοκαρκίνωμα

Ενδοπορικό θηλώδες βλενώδες νεοπλασμα (IPMN) με διθητικό στοιχείο

Μεικτό λοβιακό-πορογενές καρκίνωμα

Μεικτό λοβιακό-νευροενδοκρινές-πορογενές καρκίνωμα

Βλενώδες κυστικό νεόπλασμα (MCN) με διθητικό στοιχείο

Παγκρεατοβλάστωμα

Ορώδες κυσταδενικαρκίνωμα

Συμπαγές ψευδοθηλώδες καρκίνωμα

➤ **Νευροενδοκρινή νεοπλασμάτα**

Παγκρεατικό νευροενδοκρινές μικροαδένωμα

Νευροενδοκρινής όγκος (NET)

Μη λειτουργικός νευροενδοκρινικός όγκος

Νευροενδοκρινής όγκος (NET) G1 (καρκινοειδές)

Νευροενδοκρινής όγκος (NET) G2

Νευροενδοκρινές καρκινώμα (NEC)

Νευροενδοκρινές καρκινώμα (NEC) από μεγάλα κύτταρα

Νευροενδοκρινές καρκινώμα (NEC) από μικρά κύτταρα

Μεικτό αδено-νευροενδοκρινές καρκίνωμα

Νευροενδοκρινής όγκος (NET) που παράγει Σεροτονίνη (καρκινοειδές)

Νευροενδοκρινής όγκος (NET) που παράγει Σωματοστατίνη

Νευροενδοκρινής όγκος (NET) που παράγει Γαστρίνη

Νευροενδοκρινής όγκος (NET) που παράγει Γλυκογόνο

Νευροενδοκρινής όγκος (NET) που παράγει VIP

Νευροενδοκρινής όγκος (NET) που παράγει Ινσουλίνη

Γαγγλιοκυτταρικό παραγαγγλίωμα

➤ **Μεσεγχυματικοί όγκοι**

Λειομύωμα

Λειομυοσάρκωμα

Λίπωμα

Αγγειοσάρκωμα

Στρωματικός όγκος του γαστρεντερικού συστήματος (GIST)

➤ **Λέμφωματα**

➤ **Μεταστατικοί όγκοι**

Περισσότερο από το 95% των κακοήθων νεοπλασμάτων του παγκρέατος προέρχονται από την εξωκρινή μοίρα ενώ οι νεοπλασίες προερχόμενες από την ενδοκρινή μοίρα του είναι μόλις το 2-5% αυτών^{4,5}.

Στα εξωκρινή παγκρεατικά νεοπλάσματα συμπεριλαμβάνονται όλοι οι όγκοι που προέρχονται από τα κύτταρα της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος, τα ενδοπορικά, τα κυψελιδικά και τα βλαστικά κύτταρα (συμπεριλαμβανομένου

του παγκρεατοβλαστώματος). Το πορογενές αδενοκαρκίνωμα (ΠΑ) είναι η συχνότερη νεοπλασία της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος, αποτελώντας περίπου 85% των παγκρεατικών καρκίνων συνολικά^{5,6}.

2 ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΕΞΩΚΡΙΝΟΥΣ ΜΟΙΡΑΣ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

2.1 Ταξινόμηση

Η ταξινόμηση των εξωκρινών νεοπλασμάτων του παγκρέατος που χρησιμοποιείται σήμερα διεθνώς είναι αυτή του WHO³. Η τελευταία αυτή ταξινόμηση όπως και αυτές που προηγήθηκαν από τη δεκαετία του 1990 συμπεριλαμβανομένης της ταξινόμησης του Armed Forces Institute of Pathology (AFIP)⁷, βασίζονται σε μακροσκοπικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά⁸.

2.2 TNM σταδιοποίηση

Η αναθεωρημένη σταδιοποίηση (2010) των όγκων του παγκρέατος⁹ αναγράφεται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2

σταδιοποίηση TNM των όγκων του παγκρέατος

Μέγεθος όγκου (primary tumor-T)	
T_x	Οι διαστάσεις του όγκου δεν μπορούν να αξιολογηθούν
T_0	Δεν υπάρχει επιβεβαίωση του όγκου
T_{is}	<i>In situ</i> όγκος
T_1	Όγκος περιορισμένος στο πάγκρεας, διαμέτρου ≤ 2 εκ
T_2	Όγκος περιορισμένος στο πάγκρεας, διαμέτρου ≥ 2 εκ

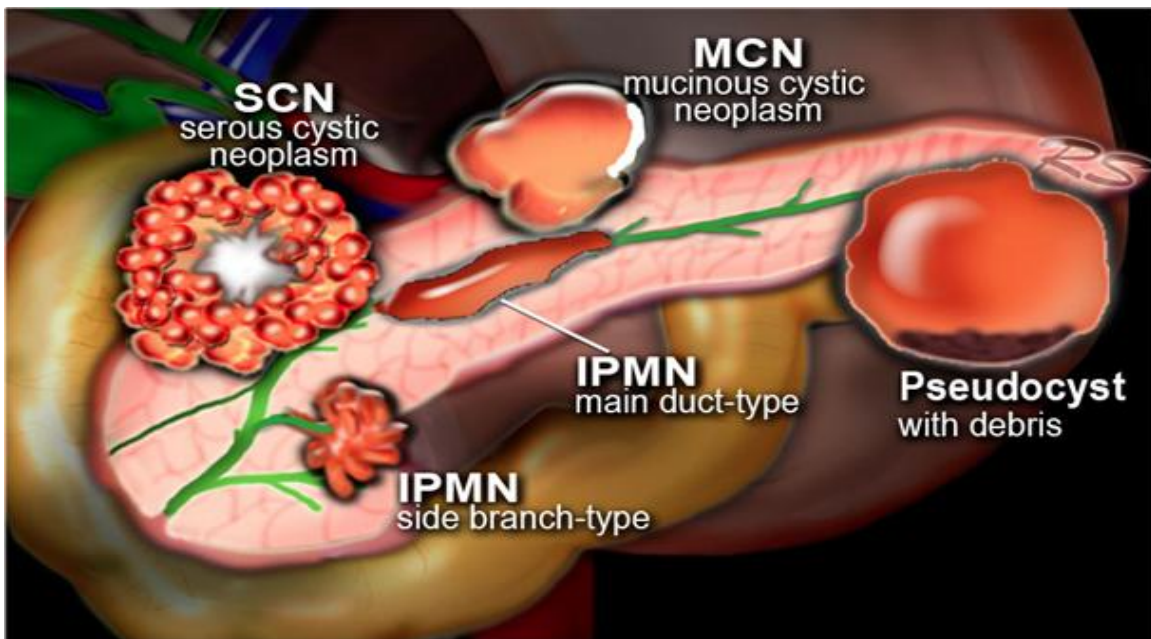
T_3	Όγκος εκτείνεται πέρα από το πάγκρεας χωρίς διήθηση της τρόπιδας ή της άνω μεσεντέριας αρτηρίας		
T_4	Όγκος που διηθεί την τρόπιδα ή την άνω μεσεντέρια αρτηρία (μη εξαιρέσιμος)		
Τοπικοί λεμφαδένες (regional lymph nodes-N)			
N_x	Η διήθηση των λεμφαδένων δεν μπορεί να αξιολογηθεί		
N_0	Χωρίς λεμφαδενική διήθηση		
N_1	Με λεμφαδενική διήθηση		
Μεταστάσεις (distant metastasis-M)			
M_0	Χωρίς απομακρυσμένες μεταστάσεις		
M_1	Με απομακρυσμένες μεταστάσεις		
Στάδιο			
<i>Στάδιο 0</i>	T_{is}	N_0	M_0
<i>Στάδιο IA</i>	T_1	N_0	M_0
<i>Στάδιο IB</i>	T_2	N_0	M_0
<i>Στάδιο IIA</i>	T_3	N_0	M_0
<i>Στάδιο IIB</i>	T_{1-3}	N_1	M_0
<i>Στάδιο III</i>	T_4	Οποιοδήποτε N	M_0
<i>Στάδιο IV</i>	Οποιοδήποτε T	Οποιοδήποτε N	M_1

2.3 Καλοήθη νεοπλάσματα

Στην κατηγορία αυτή ανήκει το κυσταδένωμα από κυψελιδικά κύτταρα και το ορώδες κυσταδένωμα, το οποίο είναι και το συχνότερο.

2.4 Προκαρκινικές βλάβες

Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει νεοπλασίες που αναφέρονται ως όγκοι με αβέβαιο κακόηθες δυναμικό ή «οριακής κακοήθειας». Ειδικότερα περιλαμβάνει τα βλεννώδη κυστικά νεοπλάσματα (Mucinous Cystic Neoplasms, MCN), που συχνότερα εντοπίζονται στο σώμα και στην ουρά του οργάνου (90%), με χαμηλού, ενδιάμεσου και υψηλού βαθμού δυσπλασία^{3,10}, τα σπάνια (<1% των νεοπλασμάτων της εξωκρινούς μοίρας)¹¹, ενδοπορικά σωληνοθηλώδη νεοπλάσματα (Intraductal Tubulopapillary Neoplasm, ITPN) και τα ενδοπορικά θηλώδη βλεννώδη νεοπλάσματα (Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms, IPMN) με χαμηλού, ενδιάμεσου ή υψηλού βαθμού δυσπλασία¹² (Εικόνα 1). Οι ασθενείς με αυτές τις νεοπλασίες παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης διηθητικού καρκινώματος που αυξάνεται με τον βαθμό της δυσπλασίας.



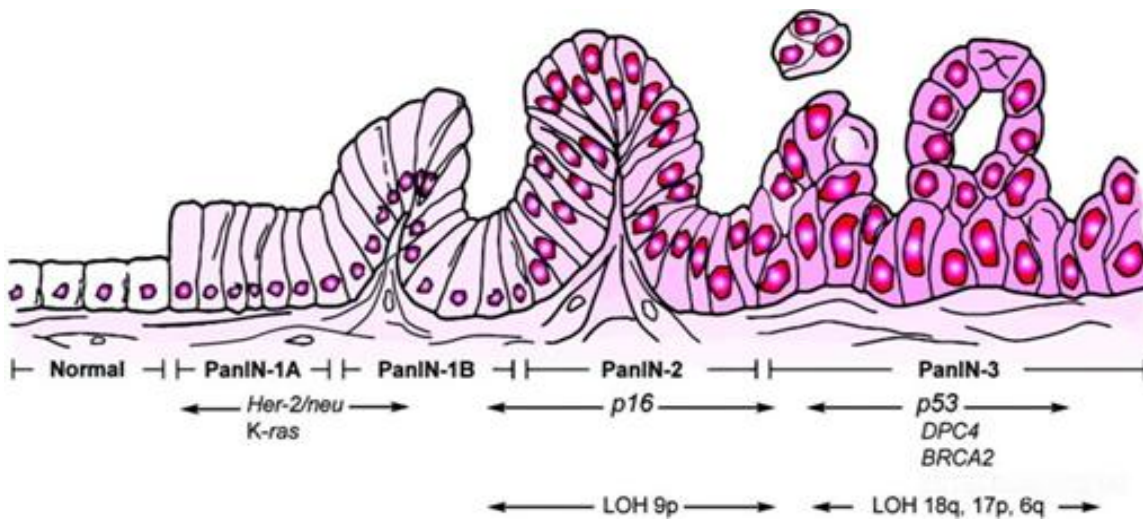
Εικόνα 1

προκαρκινικές βλάβες του παγκρέατος

Στις προκαρκινικές βλάβες ανήκει επίσης και η παγκρεατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (Pancreatic Intraepithelial Neoplasia, PanIN). Η PanIN εμφανίζει ποικίλους βαθμούς δυσπλασίας, η οποία χαρακτηρίζεται ως ήπια, μέτρια ή σοβαρή που περιγράφεται ως PanIN-1, PanIN-2, και PanIN-3, αντίστοιχα (Εικόνα 2). Αυτή η ονοματολογία έχει αντικαταστήσει παλαιότερους όρους όπως βλεννώδης υπερπλασία, άτυπη υπερπλασία και καρκίνωμα *in situ*.

Υποστηρίζεται ότι τα περισσότερα ΠΑ αναπτύσσονται σε έδαφος PanIN ως αποτέλεσμα μιας σειράς γενετικών συμβάντων, ωστόσο φαίνεται ότι μόνο ένα μικρό ποσοστό των PanIN τελικά θα εξελιχθεί σε διηθητικό καρκίνωμα¹³.

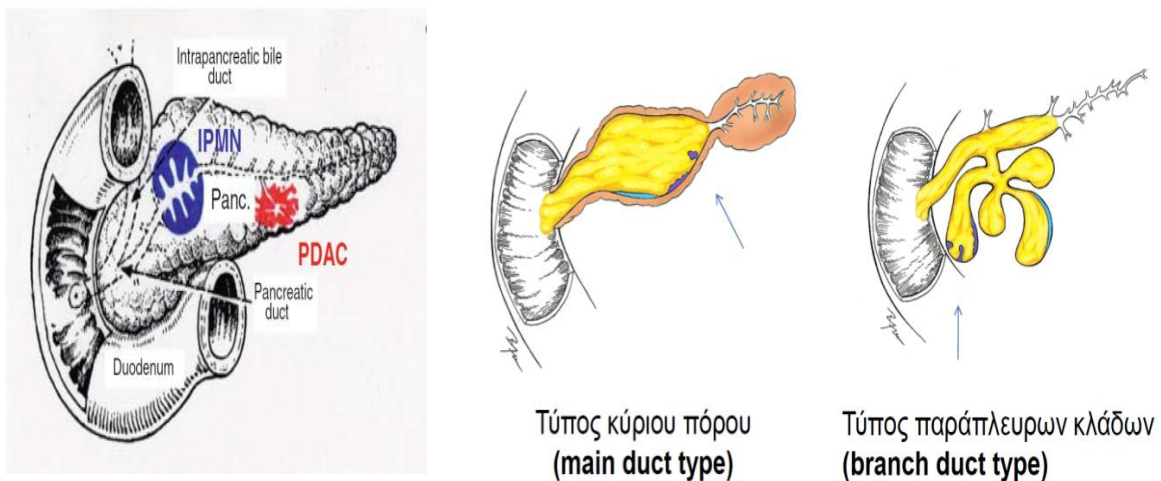
Η συχνότητα και ο αριθμός των PanIN αυξάνονται με την ηλικία, η δε χαμηλόβαθμη PanIN (PanIN-1) είναι πολύ συχνή σε ασθενείς ηλικίας άνω των 50 ετών (>50%). Επίσης οι PanIN είναι συχνότερες και υψηλότερου βαθμού σε ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του παγκρέατος¹⁴.



Εικόνα 2

παγκρεατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία PanIN και βαθμοί δυσπλασίας PanIN-1, PanIN-2, και PanIN-3

Οι συχνότερες προκαρκινικές βλάβες είναι τα IPMN που παρουσιάζονται σε ενήλικες μεγαλύτερης ηλικίας (μέση ηλικία περίπου 65 έτη) και των δύο φύλων. Προέρχονται τόσο από τον μείζονα παγκρεατικό πόρο όσο και από μικρότερους πόρους. Μερικές φορές μπορεί να είναι και πολυεστιακά ή να καταλαμβάνουν ολόκληρο τον μείζονα παγκρεατικό πόρο. Τα IPMN μπορούν να αναπτυχθούν σε όλες τις μοίρες του παγκρέατος, αλλά εμφανίζονται συχνότερα στην κεφαλή. Με βάση την ανατομική συμμετοχή των παγκρεατικών πόρων διακρίνονται σε νεοπλάσματα του μείζονος παγκρεατικού πόρου (Main Duct Type-Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms, MDT-IPMN), νεοπλάσματα τύπου παράπλευρων κλάδων (Branch Duct Type-Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms, BDT-IPMN) ή σε συνδυασμένου τύπου. Τα MDT-IPMN συνδυάζονται συχνότερα με μέτρια ή υψηλού βαθμού δυσπλασία συγκριτικά με τα BDT-IPMN ενώ η πιθανότητα να υποκρύπτουν κακοήθεια είναι σημαντικά μεγαλύτερη¹² (Εικόνα 3).



Εικόνα 3

IPMN και υπότυποι MDT-IPMN/BDT-IPMN

2.5 Κακοήθη νεοπλάσματα

Με βάση την κατάταξη της WHO αναγνωρίζεται ένας σημαντικός αριθμός κακοήθων νεοπλασμάτων της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος με διαφορετική συχνότητα εμφάνισης (Πίνακας 3).

Πίνακας 3

κακοήθη νεοπλάσματα της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος και συχνότητα εμφάνισης τους

▪ Πορογενές αδenoκαρκίνωμα (85%)
▪ Καρκίνωμα από κύτταρα δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου (signet ring cell carcinoma)
▪ Αδενοπλακώδες καρκίνωμα (4%)
▪ Αδιαφοροποίητο αναπλαστικό καρκίνωμα
▪ Κολλοειδές καρκίνωμα (βλεννώδες μη κυστικό καρκίνωμα) (2%)
▪ Ενδοπορικό θηλώδες βλεννώδες νεόπλασμα (IPMN) σχετιζόμενο με διηθητικό στοιχείο (1%)
▪ Συμπαγής ψευδοθηλώδης όγκος (<1%)
▪ Κυψελιδικό καρκίνωμα (<1%)
▪ Παγκρεατοβλάστωμα (<1%)
▪ Ορώδες κυσταδενοκαρκίνωμα (<1%)
▪ Βλεννώδες κυστικό νεόπλασμα (MCN) με διηθητικό στοιχείο (1%)

2.5.1 Πορογενές αδενοκαρκίνωμα

2.5.1.1 Επιδημιολογία

Το ΠΑ παρουσιάζει τα τελευταία χρόνια αυξανόμενη επίπτωση στις αναπτυγμένες χώρες² αποτελώντας σήμερα παγκοσμίως τον 13^{ος} συχνότερο καρκίνο¹⁵. Κατέχει την 4^η θέση μεταξύ των καρκίνων ως αιτία θανάτου και στα δύο φύλα στις Ηνωμένες Πολιτείες και τον ξεπερνά μόνο ο καρκίνος του πνεύμονα, του παχέος εντέρου και του μαστού¹⁶, ενώ στην Κίνα αποτελεί τον 6^ο σε συχνότητα εμφάνισης καρκίνο με συνεχώς αυξανόμενη επίπτωση την τελευταία 10ετία¹⁷. Ο συνήθης όρος που χρησιμοποιείται «καρκίνωμα του παγκρέατος» ή «παγκρεατικός καρκίνος» αναφέρεται συνήθως στο ΠΑ (συμπεριλαμβανομένων των υποτύπων του). Οι περισσότερες υποκατηγορίες του ΠΑ παρουσιάζουν παρόμοια δυσμενή πρόγνωση.

2.5.1.2 Παράγοντες κινδύνου

Πολλοί περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί για τον καρκίνο του παγκρέατος, όμως μόνο το κάπνισμα έχει αποδειχθεί ότι έχει αιτιοπαθογενετική σχέση¹⁸. Περιορισμένα στοιχεία υπάρχουν όσον αφορά τον πιθανό ρόλο της υπερκατανάλωσης αλκοόλ και καφέ καθώς και της παρατεταμένης χρήσης ασπιρίνης. Αυξημένη επίπτωση έχει επίσης παρατηρηθεί σε ασθενείς με ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη, χρόνιας παγκρεατίτιδας, μακροχρόνιας κίρρωσης του ήπατος και χολοκυστεκτομής^{15,19,20,21}. Περίπου 5-10% των ασθενών με παγκρεατικό καρκίνωμα έχουν θετικό οικογενειακό ιστορικό²². Η ύπαρξη ενός, δύο ή τριών συγγενών πρώτου βαθμού με ιστορικό καρκίνου του παγκρέατος αυξάνει τον κίνδυνο 2, 6 και 32 φορές αντίστοιχα. Σε ορισμένους ασθενείς ο παγκρεατικός καρκίνος αναπτύσσεται στα πλαίσια ενός προδιαθεσικού

γενετικού συνδρόμου όπως το σύνδρομο οικογενούς μελανώματος σχετιζόμενο με πολλαπλούς άτυπους σπίλους (Familial Atypical Multiple Mole Melanoma), μεταλλάξεις του BRCA2 και άλλα γονίδια της αναιμίας Fanconi, σύνδρομο Peutz-Jeghers και κληρονομούμενη παγκρεατίτιδα¹⁹.

2.5.1.3 Γενετικό μοντέλο καρκινογένεσης

Ο παγκρεατικός καρκίνος εξορμάται από το επιθήλιο των πόρων και ακολουθεί εξελικτική πορεία. Η πορεία από την χαμηλόβαθμη δυσπλασία του επιθηλίου σε υψηλόβαθμη δυσπλασία και τελικά σε διηθητικό καρκίνωμα σχετίζεται με παράλληλη συσσώρευση μεταλλάξεων που συμπεριλαμβάνουν την ενεργοποίηση του KRAS ογκογονιδίου, την απενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου CDKN2A και τέλος την απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων TP53 και DPC4. Το 90% των όγκων εμφανίζει μεταλλάξεις του KRAS γονιδίου, το 95% του CDKN2A, το 50-75% του TP53 και το 50% του DPC4. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς με παγκρεατικό καρκίνωμα φέρουν τουλάχιστον μία από τις τέσσερις παραπάνω γενετικές βλάβες^{19,23,24}.

2.5.1.4 Διάγνωση

Ακριβής ιστοπαθολογική διάγνωση απαιτεί βιοψία ή χειρουργική εκτομή του νεοπλασματος. Η αναγκαιότητα βιοψίας προκύπτει λόγω της μεγάλης ποικιλίας των νεοπλασμάτων που αναπτύσσονται στο πάγκρεας και επειδή μερικές μορφές παγκρεατίτιδας δημιουργούν ογκόμορφες μάζες που μπορεί να διαγνωσθούν εσφαλμένα ως καρκινώματα σε απεικονιστικό έλεγχο²⁵.

2.5.1.5 Θεραπεία

Η χειρουργική εκτομή αποτελεί την αποτελεσματικότερη λύση για ριζική θεραπεία. Λόγω απουσίας ειδικών, πρώιμων συμπτωμάτων και δυσκολία πρώιμης ανίχνευσης η διάγνωση του ΠΑ συνήθως γίνεται σε προχωρημένο στάδιο και σε μεγαλύτερη ηλικία. Για το λόγο αυτό μόνο το 10-20% των πασχόντων παρουσιάζει εξαιρεσιμό καρκίνο παγκρέατος και από αυτούς μόνο το 20% έχει 5ετη επιβίωση 3-5%^{26,27}.

Μετεγχειρητικά συστήνεται συμπληρωματική (adjuvant) χημειοθεραπεία με Gemcitabine ή 5FU^{27,28}. Το FOLFIRINOX και η nab-paclitaxel αποδεικνύονται πιο αποτελεσματικά από την Gemcitabine , αλλά με σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες²⁹.

Σύμφωνα με πρόσφατη ανασκόπηση για στοχευμένες θεραπείες για το ΠΑ στο <https://clinicaltrials.gov> βρέθηκαν συνολικά 14 ολοκληρωμένες, δημοσιευμένες κλινικές μελέτες φάσης II/III³⁰ και 17 εν εξελίξει μελέτες³¹. Σε αυτές εξετάζονται θεραπευτικές επιλογές όπως αναστολείς EGFR, PDGFR, VEGFR, IGF-1R, tyrosine kinase, MEK1/2, mTOR, PI3K και HER2 μονοπατιών. Μόνο σε μία από αυτές φαίνεται πως το Erlotinib (EGFR αναστολέας) αυξάνει τη επιβίωση σε προχωρημένα στάδια της νόσου. Παραμένει πάντως αδιευκρίνιστο αν συνδυασμοί χημειοθεραπείας, ανοσοθεραπείας και στοχευμένων θεραπειών μπορούν να βελτιώσουν την επιβίωση του ΠΑ.

2.5.1.6 Μακροσκοπική εικόνα

Η πλειοψηφία των ΠΑ είναι σκληρής σύστασης, λευκόφαιοι όγκοι με ασαφή όρια λόγω διήθησης του παρακείμενου παγκρεατικού ιστού ή των γύρω ιστών.

Οι όγκοι αυτοί συνήθως αναπτύσσονται στην κεφαλή του παγκρέατος. Ο χαρακτηρισμός «πορογενές» βασίζεται σε ιστολογικά χαρακτηριστικά και δεν συνεπάγεται κατ'ανάγκην την προέλευση μόνο από τον μείζονα παγκρεατικό πόρο ή άλλους μεγάλους πόρους. Στην πραγματικότητα, πολλά ΠΑ φαίνεται να προέρχονται από μικρότερους πόρους ακόμα και ενδολοβιακούς. Η ενδοπορική ανάπτυξη μπορεί να προκαλέσει απόφραξη και κατά συνέπεια χρόνια παγκρεατίτιδα στα αντίστοιχα τμήματα του παγκρέατος³².

2.5.1.7 Ιστολογική εικόνα

Τα περισσότερα αδενοκαρκινώματα είναι μέτριας έως χαμηλής διαφοροποίησης με ποικίλη συμμετοχή δομών τύπου πόρων και παραγωγή βλέννης. Η ιστολογική διαβάθμιση ως προς τη διαφοροποίηση βασίζεται στο αρχιτεκτονικό πρότυπο, στην κυτταρική ατυπία και στον δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού και καθορίζεται από 4 βαθμούς³² (Πίνακας 4).

Πίνακας 4

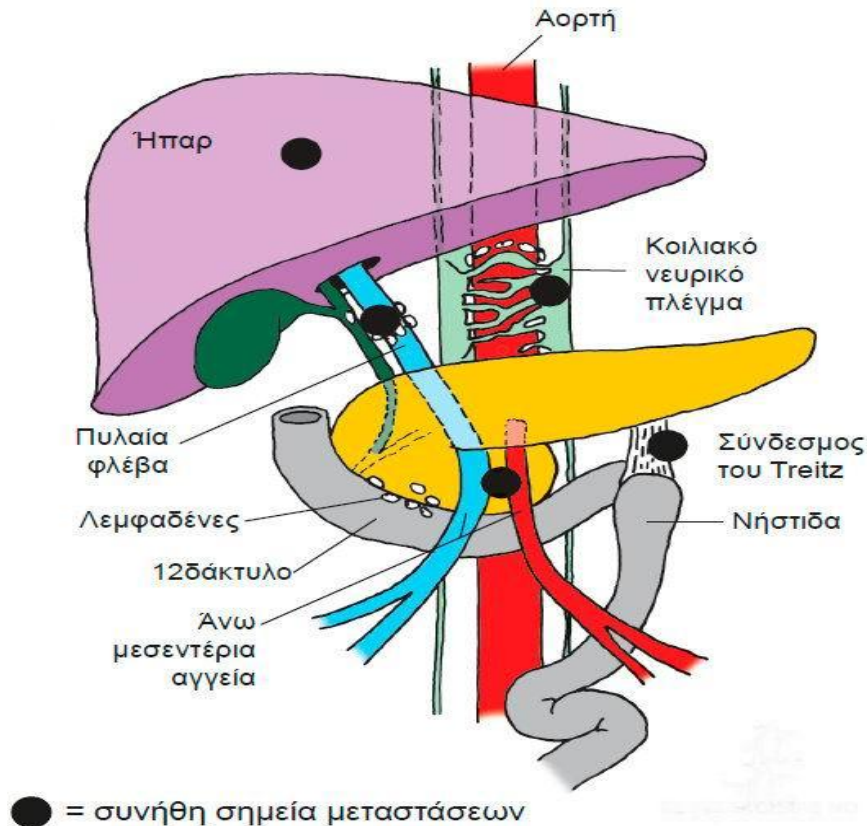
βαθμοί διαφοροποίησης πορογενούς αδενοκαρκινώματος

Βαθμός 1	καλής διαφοροποίησης
Βαθμός 2	μέτριας διαφοροποίησης
Βαθμός 3	χαμηλής διαφοροποίησης
Βαθμός 4	αναπλαστικό

Η πυκνή στρωματική ίνωση είναι χαρακτηριστική του ΠΑ και είναι ο λόγος που αυτά αναφέρονται ως «σκιρώδη» ή «δεσμοπλαστικά» καρκινώματα. Η διάμεση ίνωση αποδίδεται εν μέρει σε μεταβολές σηματοδότησης και ενεργοποίησης του TGF-β.

2.5.1.8 Τοπική επέκταση

Η τοπική επέκταση τυπικά περιλαμβάνει παρακείμενα όργανα, όπως το δωδεκαδάκτυλο και αγγεία όπως την πυλαία φλέβα και την άνω μεσεντέρια αρτηρία. Τα ΠΑ του παγκρέατος δείχνουν επίσης μια εντυπωσιακή τάση για περινευρική διήθηση³³ τόσο εντός όσο και εκτός του παγκρέατος. Ενίοτε μπορεί να παρατηρηθεί τοπική διήθηση του σπλήνα, των επινεφριδίων, της σπονδυλικής στήλης, του εγκάρσιου κόλου και του στομάχου. Περιπαγκρεατικοί λεμφαδένες συχνά αποτελούν μεταστατικές εντοπίσεις. Σχηματικά οι συχνότερες μεταστάσεις απεικονίζονται σχηματικά στην Εικόνα 4.



Εικόνα 4
συχνότερες μεταστάσεις του ΠΑ του παγκρέατος

2.5.1.9 Πρόγνωση

Η εξατομικευμένη πρόγνωση του πορογενούς καρκινώματος εξαρτάται σε κάποιο βαθμό από την ιστολογική ταξινόμηση, αλλά καθορίζεται κυρίως από την επέκτασή (TNM στάδιο). Δυστυχώς, στις περισσότερες περιπτώσεις λόγω της ασυμπτωματικής πορείας της νόσου η διάγνωση γίνεται σε προχωρημένα στάδια με φτωχή πρόγνωση επιβίωσης³⁴. Ωστόσο, ακόμη και σε περιπτώσεις ολικής παγκρεατεκτομής με αρνητικούς λεμφαδένες, η πλειοψηφία των ασθενών με ΠΑ καταλήγουν από τη νόσο. Για ασθενείς με ανεγχείρητο παγκρεατικό αδενοκαρκίνωμα, η πρόγνωση είναι ιδιαίτερα δυσμενής, ανεξάρτητα από το στάδιο^{35,36}.

3 ΝΕΥΡΟΕΝΔΟΚΡΙΝΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

3.1 Ταξινόμηση

Η ταξινόμηση των ενδοκρινών νεοπλασμάτων του παγκρέατος (NNΠ) που χρησιμοποιείται σήμερα διεθνώς είναι αυτή του WHO³² (Πίνακας 5).

Διακρίνονται σε καλής διαφοροποίησης NNΠ σταδίου G1-2, που ταξινομούνται ως νευροενδοκρινείς όγκοι (neuroendocrine tumors, NET) και σε φτωχής διαφοροποίησης σταδίου G3 που ταξινομούνται ως νευροενδοκρινή καρκινώματα (neuroendocrine carcinomas, NEC). Τα NEC ορίζονται από την παρουσία >20 μητώσεων/10οπτικά πεδία (hpf) και διακρίνονται σε NEC μικρών και μεγάλων κυττάρων αποτελώντας περίπου το 2-3% των NNΠ και <1% όλων των παγκρεατικών νεοπλασιών. Αναφέρονται επίσης τα μεικτά αδενονευροενδοκρινή καρκινώματα (mixed adeno-neuroendocrine carcinomas, MANEC) όταν στο ίδιο νεόπλασμα συνοπάρχουν εξωκρινή και νευροενδοκρινή στοιχεία σε ποσοστό τουλάχιστον 30% το καθένα (Πίνακας 5).

Πίνακας 5
κριτήρια ταξινόμησης NNΠ

Στάδιο G (Grade-G)	Μιτώσεις (/10οπτικά πεδία)	Δείκτης πολλαπλασιασμού Ki67 (%)
G1	<2	<3
G2	2-20	3-20
G3	>20	>20

Ταξινόμηση	
<i>Νευροενδοκρινείς όγκοι (NET)</i>	Σταδίου G1-2, καλά-μέτρια διαφοροποιημένα νεοπλάσματα
<i>Νευροενδοκρινή καρκινώματα (NEC)</i>	Σταδίου G3, φτωχά διαφοροποιημένα καρκινώματα (μικρών ή μεγάλων κυττάρων)
<i>Αδενο-νευροενδοκρινή καρκινώματα (MANEC)</i>	Μικτά νεοπλάσματα με τουλάχιστον 30% των καρκινικών κυττάρων με νευροενδοκρινή και αδενικό χαρακτήρα αντίστοιχα

3.2 Επιδημιολογία

Τα νεοπλάσματα την νευροενδοκρινούς μοίρας του παγκρέατος διακρίνονται σε δυο υποκατηγορίες, στα σποραδικά ΝΝΠ που αναπτύσσονται σε άτομα χωρίς ατομικό ή οικογενειακό ιστορικό και είναι τα συχνότερα και στα ΝΝΠ που προσβάλλουν συγγενείς ατόμων με Multiple Endocrine Neoplasia type1 syndrome (MEN1) και κληρονομούνται ως αυτοσωμικός επικρατής χαρακτήρας³⁷. Περίπου το 80% των ατόμων με σύνδρομο MEN1 παρουσιάζουν τουλάχιστον ένα ή περισσότερα ΝΝΠ κατά τη διάρκεια της ζωής τους αποτελώντας το 20-30% των ισουλινωμάτων και <5% των γαστρινωμάτων.

Όσον αφορά τη βιολογική τους συμπεριφορά διακρίνονται στα λειτουργικά και στα μη λειτουργικά το οποία είναι τα συχνότερα (60-90%)³⁸. Η διαφοροδιάγνωση μεταξύ των δυο τύπων ΝΝΠ είναι συχνά δύσκολη και απαιτητική³⁹. Από τα λειτουργικά ΝΝΠ Το γαστρίνωμα και το ισουλίνωμα είναι τα δυο συχνότερα ΝΝΠ με παρόμοια επίπτωση⁴⁰. Οι ασθενείς με ΝΝΠ στα πλαίσια συνδρόμου MEN1 τείνουν να νοσήσουν σε νεαρότερη ηλικία³⁷.

3.3 Παράγοντες κινδύνου

Σε αντίθεση με το ΠΑ για τα ΝΝΠ δεν έχουν προσδιορισθεί συγκεκριμένοι παράγοντες κινδύνου⁴¹.

3.4 Συμπτώματα

Τα συμπτώματα των ασθενών με ΝΝΠ συνήθως σχετίζονται με την υπερπαραγόμενη από το νεόπλασμα ορμόνη (Πίνακας 6), προκαλώντας υπογλυκαιμία, γαστρικά έλκη, διαρροϊκό σύνδρομο, στοματίτιδα, δερματίτιδα καθώς και διάφορα μη ειδικά συμπτώματα όπως κεφαλαλγία, αίσθημα παλμών, απώλεια βάρους, flushing προσώπου και αναιμία. Στους ασθενείς με σύνδρομο MEN1 μπορεί να συνυπάρχει και υπερπαραθυροειδισμός^{42,43,44}.

3.5 Γενετικό μοντέλο καρκινογένεσης

Πέρα από τα γνωστά γονίδια που εμπλέκονται στην καρκινογένεση του παγκρέατος στα συγκεκριμένα νεοπλάσματα έχουν ανιχνευτεί μεταλλάξεις στα DAXX, mTOR και ATRX⁴⁵, γονίδια τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν και σαν θεραπευτικοί στόχοι στο μέλλον.

3.6 Θεραπεία

Εκτός της χειρουργικής ριζικής αντιμετώπισης^{46,47,48}, για τα λειτουργικά ΝΝΠ, τα ανάλογα σωματοστατίνης, όπως η οκτρεοτίδη, μπορούν να ελέγξουν την υπερπαραγωγή ορμονών⁴⁹. Στοχευμένες θεραπείες με Everolimus ή Sunitinib μπορεί να ελέγξουν την πρόοδο των νεοπλασιών αυτών^{45,50}. Η κλασσική χημειοθεραπεία δεν αποδεικνύεται αποτελεσματική για αυτούς τους όγκους,

όμως μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία διάσωσης ή σε φτωχά διαφοροποιημένα ΝΝΠ^{45,51}.

3.7 Μακροσκοπική εικόνα

Μπορεί να εντοπιστούν σε όλες τις ανατομικές θέσεις του παγκρέατος, ενώ κάποια εντοπίζονται συχνότερα σε ορισμένες περιοχές όπως πχ το γαστρίνωμα στην κεφαλή και το VIPωμα στην ουρά του αδένου. Τα 2/3 των μη λειτουργικών ΝΝΠ καθώς και τα φτωχά διαφοροποιημένα NEC εντοπίζονται στην κεφαλή του παγκρέατος. Τα NET είναι συνήθως καλά περιχαρακωμένοι, ινώδεις, συμπαγείς, σπανίως κυστικοί, μονήρεις όγκοι με αιμορραγικά ή νεκρωτικά στοιχεία συνηθέστερα στους μεγαλύτερους από αυτούς. Μεταξύ των λειτουργικών NET τα ινσουλινώματα είναι συνήθως μικρότερα (<2cm) από τα υπόλοιπα, ενώ τα μη λειτουργικά είναι συνήθως >2cm. Τα NEC έχουν μέση διάμετρο περίπου 4cm συχνά με αιμορραγικά και νεκρωτικά στοιχεία³².

3.8 Ιστολογική εικόνα

Τα NEC μπορεί να εμφανιστούν με διάφορα οργανωτικά μοτίβα όπως φωλιδώδη, δοκιδώδη, κοκκιώδη ή και σωληνώδη. Τα κύτταρα είναι σχετικά ομοιόμορφα με ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα. Τα NEC αντίθετα αποτελούνται από συμπαγείς αθροίσεις κυττάρων συχνά με εκτεταμένες νεκρώσεις, ενώ μπορεί να αποτελούνται από μικρά ή μεγάλα κύτταρα. Εξ' ορισμού τα NET εμφανίζουν <20μιτώσεις/10hpf, συνηθέστερα <10, ενώ τα NEC >20μιτώσεις/10hpf, συνηθέστερα >40-50³².

3.9 Πρόγνωση

Διάφοροι προγνωστικοί παράγοντες έχουν προταθεί για την αξιολόγηση του κακοήθους δυναμικού των NET⁵². Από αυτούς οι σημαντικότεροι φαίνεται να είναι το στάδιο, δηλαδή η έκταση της νόσου, ο βαθμός διαφοροποίησης (grade), καθώς και ο βαθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού που βασίζεται στον αριθμό των μιτώσεων και στον δείκτη Ki67. >20 μιτώσεις/10hrf και Ki67>20% αποτελούν κακούς προγνωστικούς δείκτες. Επίσης κάποια νεοπλάσματα φαίνεται να έχουν μικρότερο δυναμικό κακοήθους εξαλλαγής όπως το ινσουλίνωμα με ποσοστό έως 17% (Πίνακας 6). Όσον αφορά τα NEC φαίνεται πως κατά τη διάγνωση τους, σε μεγάλο ποσοστό, είναι ήδη μεταστατικά με συχνότερη θέση εντόπισης τους περιοχικούς λεμφαδένες καθώς και απομακρυσμένα όργανα όπως το ήπαρ και οι πνεύμονες. Η επιβίωση κυμαίνεται από ένα μήνα έως ένα χρόνο παρά την αρχική καλή ανταπόκριση στην θεραπεία.

Πίνακας 6

Λειτουργικά και μη-λειτουργικά ΝΝΠ, συχνότητα, συμπτώματα και κακόηθες δυναμικό

Είδος καρκίνου	Συχνότητα pNET (%)	Σημεία/συμπτώματα	Μεταστατική νόσος στη διάγνωση (%)
<i>Ινσουλίνωμα</i>	17	Υπεργλυκαιμία, υπερπαραγωγή κατεχολαμινών	10
<i>Γαστρίνωμα</i>	15	Σ. Zollinger-Ellison (διάρροια, στεατόρροια, ΓΟΠΝ, υποτροπιάζοντα πεπτικά έλκη	60-90
<i>VIPωμα</i>	2	Υποκαλιαιμία, αχλωριδρία, υδαρείς διάρροιες, μεταβολική οξέωση, υπεργλυκαιμία, υπερασβαστιαμία, flushing	80
<i>Γλοκαγόνωμα</i>	1	ΣΔ, θρομβοεμβολικά επεισόδια, καχεξία	80-90
<i>Σωματοστατίνωμα</i>	1	ΣΔ, διάρροια, στεατόρροια, χολολυθίαση, υποχλωριδρία,	60-70

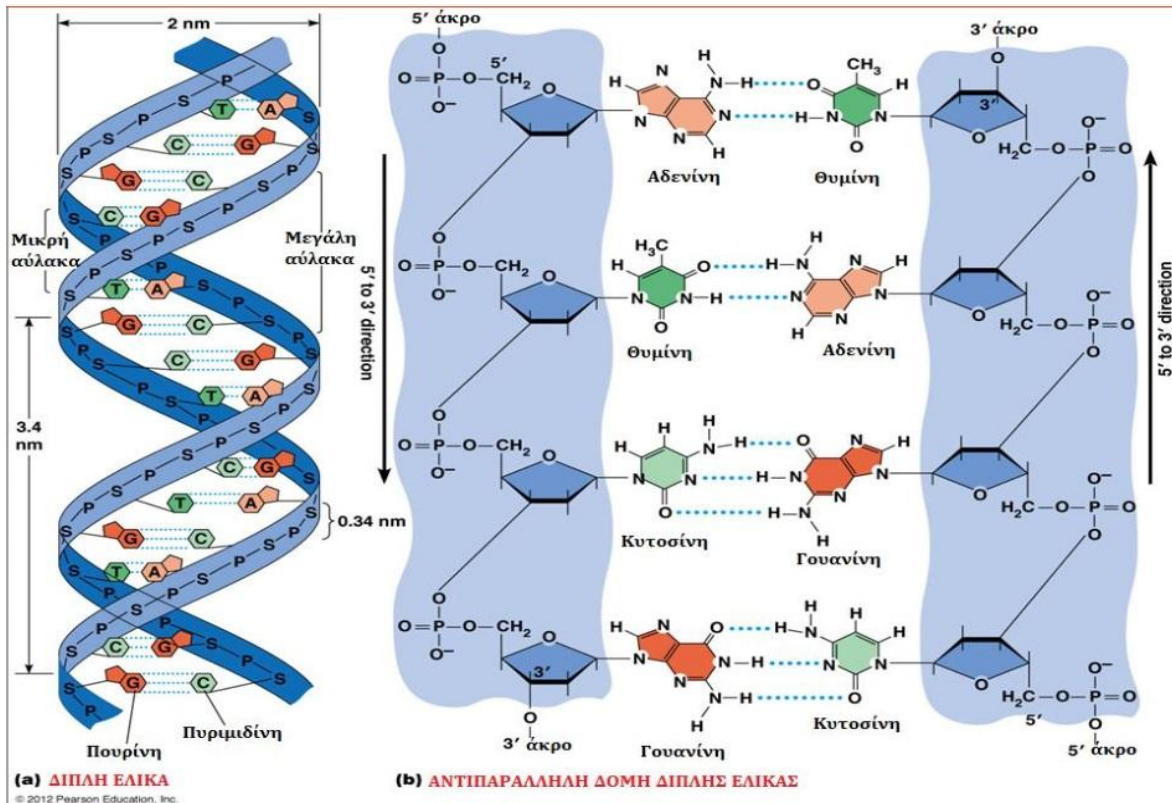
	απώλεια βάρους		
<i>Μη λειτουργικό</i>	60	Συμπτώματα λόγω όγκου	60

4 Η ΡΟΗ ΤΗΣ ΓΕΝΝΕΤΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ

4.1 Δομή του γενετικού υλικού

Σύμφωνα με το κεντρικό δόγμα της έκφρασης του γενετικού υλικού το DNA μεταγράφεται σε αγγελιοφόρο/messenger RNA (mRNA), το οποίο με τη σειρά του μεταφράζεται σε πρωτεΐνες. Ο ρόλος του RNA στη μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας είχε αρχικά περιγραφεί από τους Jacob και Monod το 1961⁵³, ορίζοντας έτσι το ρόλο του mRNA. Έχοντας περάσει πολλά χρόνια από τότε έχουν περιγραφεί πολλά mRNA τα οποία δεν κωδικοποιούν κάποια πρωτεΐνη.

Μια πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα σχηματίζεται από την ένωση πολλών νουκλεοτιδίων με ομοιοπολικό δεσμό ο οποίος δημιουργείται μεταξύ του υδροξιλίου του άνθρακα-3' της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον άνθρακα-5' της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου και ονομάζεται 3'-5' φωσφοδιεστερικός δεσμός. Με τον τρόπο αυτό η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα αποτελείται από επανάληψη μορίων πεντόζης-φωσφορικής ομάδας στην οποία το πρώτο νουκλεοτίδιο έχει πάντα ελεύθερη μια φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στον άνθρακα-5' της πεντόζης του και το τελευταίο νουκλεοτίδιο έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του άνθρακα-3' της πεντόζης του. Για το λόγο αυτό αναφέρεται ότι ο προσανατολισμός της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας είναι 5'→3' (Εικόνα 5).

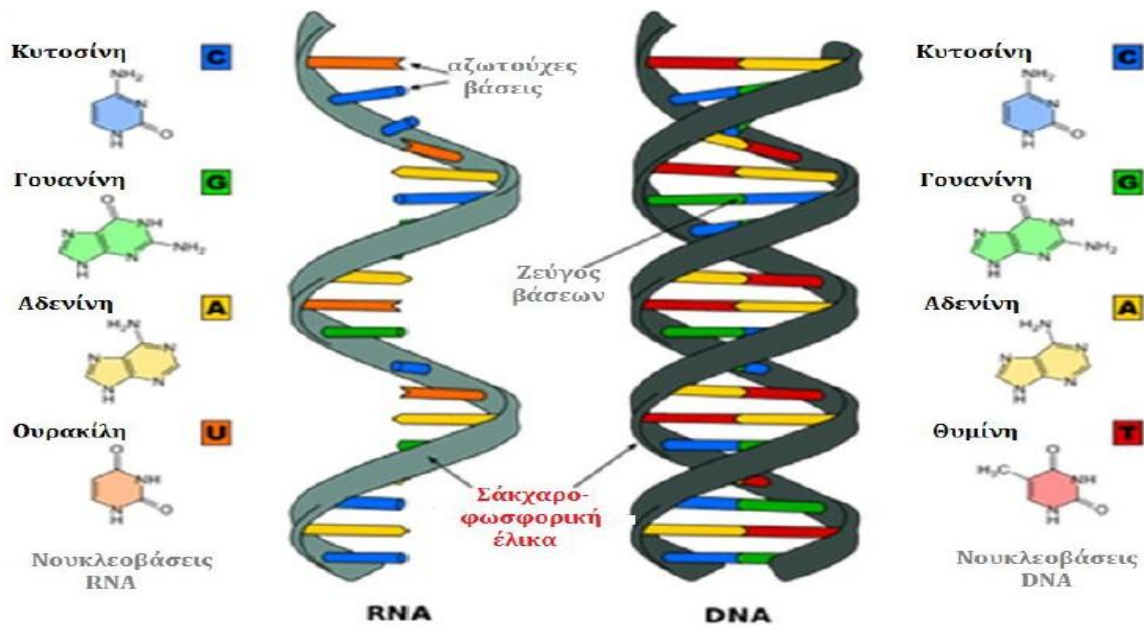


Εικόνα 5

2πλη έλικα του DNA, πρωτοταγής και δευτεροταγής δομή

Η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων ορίζουν την πρωτοταγή δομή του DNA η οποία παραμένει αναλλοίωτη καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής κάθε οργανισμού. Το 1953 οι James Watson και Francis Crick⁵⁴ περιέγραψαν τη δευτεροταγή δομή του γεννητικού υλικού, δηλαδή τη διάταξη του στο χώρο, ως μια δεξιόστροφη διπλή έλικα που αποτελείται από δυο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες. Ο σκελετός αυτός είναι υδρόφιλος και βρίσκεται προς το εξωτερικό του μορίου, ενώ οι αζωτούχες βάσεις που είναι υδρόφοβές προς το εσωτερικό του και συνδέονται με τις συμπληρωματικές βάσεις της απέναντι αλυσίδας με δεσμούς υδρογόνου με κάθε στροφή της έλικας να περιλαμβάνει δέκα ζεύγη νουκλεοτιδίων. Επιπλέον οι δύο αλυσίδες είναι συμπληρωματικές και αντιπαράλληλες, δηλαδή το άκρο 3' της μιας είναι απέναντι από το άκρο 5' της άλλης^{54,55,56,57,58} (Εικόνα 5).

Το RNA, αντίθετα, αποτελείται από μια πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα ορισμένα τμήματα της οποίας παρουσιάζουν αναδιπλώσεις λόγω δεσμών υδρογόνου^{59,60} (Εικόνα 6).



Εικόνα 6
δομή του RNA

4.2 Μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας

Η μετάβαση της γενετικής πληροφορίας γίνεται μέσω των διαδικασιών της αντιγραφής, της μεταγραφής και της μετάφρασης με τις οποίες προκύπτουν η δημιουργία ενός νέου δίκλωνου ελικοειδούς DNA, η σύνθεση μορίων RNA και η δημιουργία πρωτεϊνών αντίστοιχα⁵⁴.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα η αντιγραφή του DNA πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της φάσης S του κυτταρικού κύκλου με ημισυντηρητικό τρόπο δηλαδή κάθε μητρική έλικα χρησιμοποιείται ως εκμαγείο (καλούπι) για τις νέο-

συντιθέμενες έλικες. Υπάρχουν ειδικές νουκλεοτιδικές αλληλουχίες, κατά μήκος του DNA, στις οποίες αρχίζει η αντιγραφή που ονομάζονται αφετηρίες ή σημεία έναρξης της αντιγραφής. Σε αυτές τις περιοχές, ένα ένζυμο που ονομάζεται ελικάση ξετυλίγει και ανοίγει τις δύο έλικες του DNA. Καθώς το DNA ανοίγει, σχηματίζονται δομές που ονομάζονται διχάλες αντιγραφής ή διπλασιασμού. Δύο διχάλες αντιγραφής σχηματίζονται στο σημείο έναρξης της αντιγραφής και επεκτείνονται και προς τις δύο κατευθύνσεις καθώς προχωρεί η αντιγραφή. Το κύριο συνθετικό ένζυμο ονομάζεται DNA-πολυμεράση III η οποία θα «διαβάσει» τον κλώνο-εκμαγείο (μητρικό καλούπι) από την κατεύθυνση 3 'προς 5'^{58,61}.

Κατά την μεταγραφή δεν μεταγράφονται και οι δυο αλυσίδες του DNA, αλλά τμήματά τους τα οποία περιέχουν συγκεκριμένες πληροφορίες για τη σύνθεση ενός μορίου RNA ή πρωτεΐνης και χαρακτηρίζονται ως γονίδια. Η μεταγραφή καταλύεται από ειδικά ένζυμα τις RNA-πολυμεράσες, πολυενζυμικά σύμπλοκα που αποτελούνται από 4 υπομονάδες (2α, β, β') και πρωτεϊνικούς παράγοντες (σ, ρ) που είτε συμμετέχουν στην έναρξη της μεταγραφής, αναγνωρίζοντας τον υποκινητή, είτε συμμετέχουν στη λήξη της. Η έναρξη της μεταγραφής ξεκινάει από ένα ειδικό εναρκτήριο τμήμα του DNA που ονομάζεται υποκινητής (promoter). Περιοχές DNA στο τέλος των γονιδίων σηματοδοτούν τη λήξη της μεταγραφής⁶².

Μετά τη λήξη της μεταγραφής ακολουθεί μια διαδικασία γνωστή ως μετά-μεταγραφική ωρίμανση, όπου το RNA υφίσταται διάφορες τροποποιήσεις πριν αποκτήσει τη λειτουργική του μορφή. Στο ευκαρυωτικό κύτταρο, όλα τα είδη RNA είναι αρχικά μεγαλύτερα απ' ό,τι εμφανίζονται στην τελική τους μορφή. Τα άχρηστα κομμάτια του RNA αποκόβονται και τα χρήσιμα ενώνονται μεταξύ τους⁶³. Οι μετά-μεταγραφικές τροποποιήσεις που υφίστανται όλα τα είδη του RNA έχουν σκοπό να τα καταστήσουν πιο ανθεκτικά στη δράση νουκλεασών και

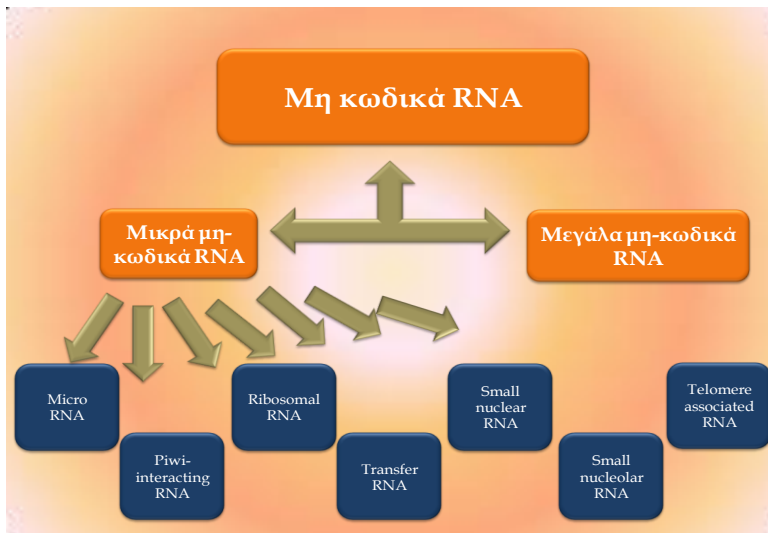
να αυξήσουν την εξειδίκευσή τους, ώστε να εξασφαλίζεται με τον πιο άριστο τρόπο η πιστότητα της μετάφρασης .

5 ΜΗ-ΚΩΔΙΚΑ RNA

Παρόλο που περίπου το 85-90% του ανθρώπινου γονιδιώματος μεταγράφεται σε mRNA^{64,65}, ωστόσο μόνο ένα εντυπωσιακά μικρό ποσοστό αυτών των RNA μπορεί να συνθέσει κάποια πρωτεΐνη⁶⁶. Η πλειοψηφία των mRNA είναι μη-κωδικά μόρια. Ήδη από την δεκαετία του '70 ένα μεγάλο κομμάτι του γονιδιώματος είχε χαρακτηριστεί ως «άχρηστο» (junk DNA) εξαιτίας τη παρουσίας των λεγόμενων «ψευδογονιδίων» ή απλών επαναλαμβανόμενων νουκλεοτιδίων χωρίς ουσιαστικό ρόλο⁶⁷. Παρόλα' αυτά ήδη από εκείνα τα χρόνια οι επιστήμονες είχαν τη διορατικότητα να υποθέσουν ότι το να είσαι «άχρηστος» δεν σημαίνει απαραίτητα πως είσαι μη λειτουργικός και πως ο οργανισμός σίγουρα θα χρησιμοποιούσε με κάποιο τρόπο αυτές τις αλληλουχίες βάσεων^{68,69}. Η ύπαρξη τέτοιας πληθώρας μη κωδικών RNA (non-coding RNA, ncRNA) προϊδεάζει πως αυτά τα RNA έχουν ένα διαφορετικό ρόλο από αυτό που πίστευαν αρχικά. Το 1975 οι Paul και Duerksen υπέθεσαν πως το RNA μπορεί να επηρεάζει την δομή της χρωματίνης και τη γονιδιακή έκφραση⁷⁰. Χρόνια αργότερα αποδείχτηκε πως τα ncRNA διαθέτουν πληθώρα λειτουργιών ενώ μεταξύ άλλων συμμετέχουν στη ρύθμιση της μεταγραφής, την αντιγραφή των χρωμοσωμάτων, την τροποποίηση του RNA, τη σταθερότητα και μετάφραση του mRNA, καθώς και στην δευτεροταγή δομή αλλά και στη αποδόμηση των πρωτεϊνών⁷¹.

Τα ncRNA ταξινομούνται σε δυο μεγάλες κατηγορίες βάση μεγέθους. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει τα μικρά ncRNA με λιγότερα από 200 νουκλεοτίδια όπως τα micro RNA (miRNA), piwi-interacting RNA (piRNA), ribosomal RNA

(rRNA), transfer RNA (tRNA), small nuclear RNA (snRNA), small nucleolar RNA (snoRNA), και τα telomere-associated RNA⁷². Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει τα μεγάλα ncRNA (lncRNA) με 200 ή περισσότερα νουκλεοτίδια⁷³ (Εικόνα 7).



Εικόνα 7

είδη μη κωδικών RNA, lncRNA, small RNA και οι υποκατηγορίες τους

Τα miRNA είναι γνωστό πως συμμετέχουν στη βιολογική συμπεριφορά πολλών νεοπλασιών μεταξύ των οποίων και του παγκρεατικού καρκίνου. Η απορύθμιση κάποιων miRNA όπως τα miR-21,126, 34, 483-3p, 148b και miR-204,155, 21 έχει παρατηρηθεί στο ΠΑ και στα ΝΝΠ αντίστοιχα συμμετέχοντας στον πολλαπλασιασμό, στην απόπτωση, στη διήθηση, στη μεταστατική ικανότητα καθώς και στην πρόγνωση των νεοπλασιών αυτών^{74,75,76,77,78,79}. Παρόμοιες λειτουργίες φαίνεται να έχουν και τα lncRNA στην πρόοδο των παγκρεατικών κακοηθειών, όμως ο ρόλος τους έχει μελετηθεί λιγότερο.

6 ΜΕΓΑΛΑ ΜΗ-ΚΩΔΙΚΑ RNA

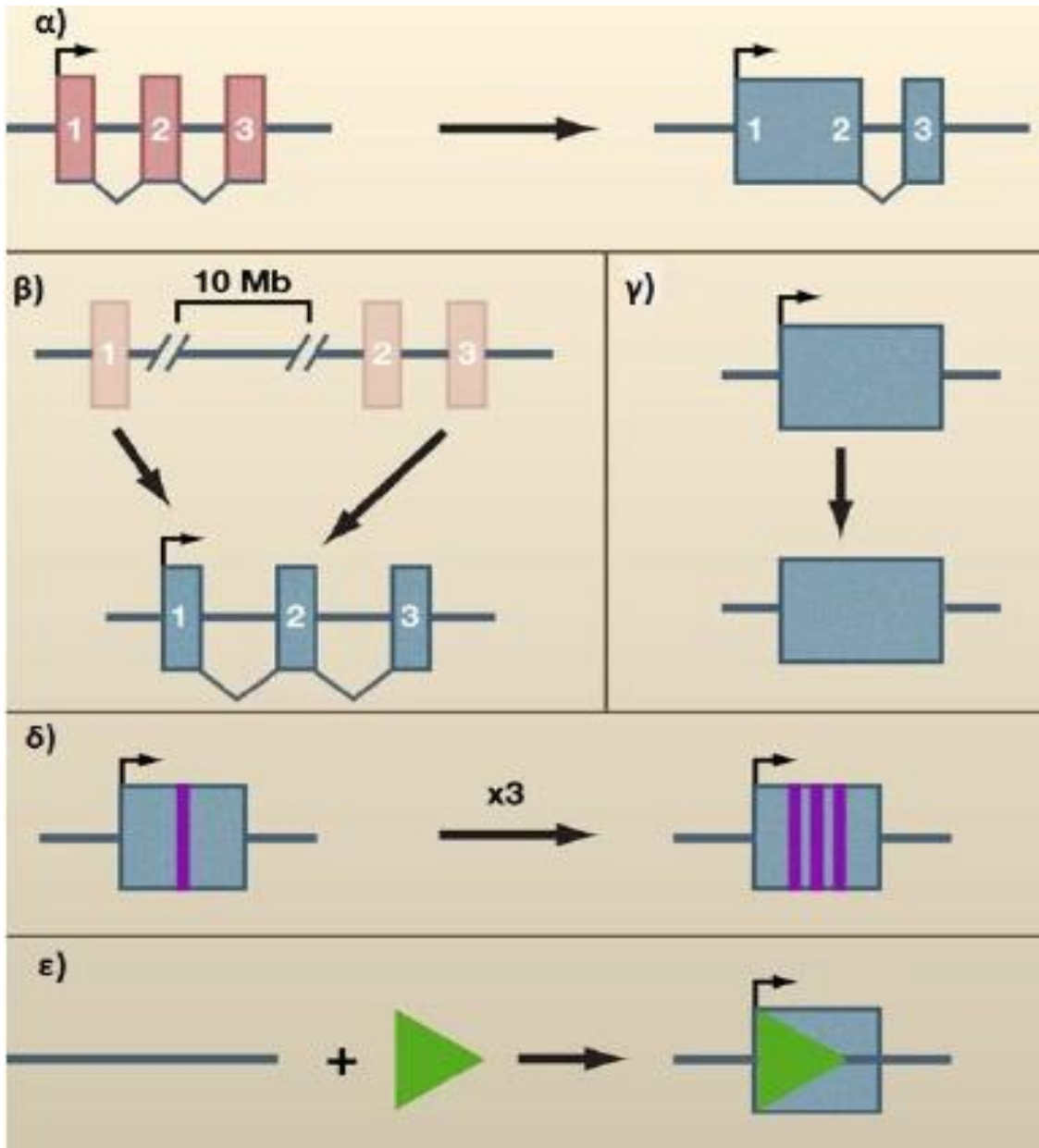
Σήμερα τα lncRNA ορίζονται ως λειτουργικά RNA τα οποία δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες και μπορεί να βρίσκονται είτε στον πυρήνα είτε στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου. Γενικά, έχουν την ίδια δομή με τα mRNA, μεταγράφονται από την RNA-πολυμεράση II, πολυαδενυλιώνονται και υφίστανται εναλλακτικό μάτισμα μέσα από μία σειρά διαδικασιών παρόμοια με εκείνη που συναντάμε στη βιογένεση του mRNA⁸⁰. Πολλές μελέτες αναφέρουν πως τα lncRNA διατηρούν ελάχιστα την πρωτοταγή τους δομή⁸¹, όμως η δευτεροταγής και τριτοταγής δομή τους παραμένει σταθερή αναδεικνύοντας τη σημασία τους για τη βιολογική τους λειτουργία^{82,83,84}.

Αρχικά τα lncRNA θεωρούνταν άνευ βιολογικής λειτουργίας. Όμως τα τελευταία χρόνια πολλές μελέτες σημειώνουν πως τα συγκεκριμένα μόρια αλληλεπιδρούν με το DNA, το RNA καθώς και με μεταγραφικούς παράγοντες επηρεάζοντας πολλές βιολογικές διαδικασίες όπως η μεθυλίωση του DNA, η τροποποίηση των ιστονών και ο ανασχηματισμός της χρωματίνης ρυθμίζοντας έτσι την γονιδιακή έκφραση και τον κυτταρικό κύκλο γενικότερα^{85,86,87,88,89,90}. Επιπλέον είναι υπεύθυνα για τη διαδικασία της αγγειογένεσης, της μετάστασης και της απόπτωσης^{91,92} αποτελώντας μόρια στόχους για τη διάγνωση και θεραπεία ορισμένων νεοπλασιών^{93,94,95}.

6.1 Σενάρια προέλευσης

Η προέλευση των lncRNA περιγράφεται από ορισμένα πιθανά σενάρια (Εικόνα 14). Το πρώτο σενάριο (Εικόνα 8α) περιλαμβάνει διαταραχές μεταγραφής ενός γονιδίου οι οποίες έχουν σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός λειτουργικού lncRNA από συνένωση κάποιων χωριστών περιοχών της πρώην κωδικής

αλληλουχίας. Το δεύτερο σενάριο (Εικόνα 8β) περιγράφει την αναδιάταξη μη μεταγραφόμενων και καλά διαχωρισμένων αλληλουχιών, που οδήγησε στον σχηματισμό ενός lncRNA με πολλαπλά εξόνια. Επίσης, ο διπλασιασμός και η ρετρομετάθεση ενός γονιδίου (Εικόνα 8γ) παράγει είτε ένα λειτουργικό, μη-κωδικό ρετρογονίδιο ή ένα μη λειτουργικό, μη-κωδικό ψευδογονίδιο. Επιπλέον, ένα λειτουργικό lncRNA πιθανώς σχηματίζεται από γειτονικές επαναλήψεις εντός ενός μη-κωδικού RNA οι οποίες προέρχονται από δύο διαδοχικά γεγονότα διπλασιασμού (Εικόνα 8δ). Τέλος, λειτουργικό lncRNA μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα εισχώρησης ενός μεταθετού στοιχείου σε ένα εξόνιο⁹⁶ (Εικόνα 8ε).



Εικόνα 8
 σενάρια προέλευσης lncRNA

Τα γονίδια των lncRNA ομοιάζουν με αυτά που κωδικοποιούν πρωτεΐνες ενώ μεταγράφονται ολικώς ή μερικώς με αντίθετη φορά⁹⁷.

Ανάλογα με τη «συγγένεια» τους με τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες τα lncRNA διακρίνονται σε: (1) lncRNA τα οποία προκύπτουν από αντίθετης κατεύθυνσης μεταγραφή (antisense), και επικαλύπτονται με τα μετάγραφα του απέναντι κλώνου (sense) τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνη, (2) lncRNA ενισχυτές τα οποία βρίσκονται σε θέσεις ενισχυτών, (3) αμφίδρομο lncRNA (bidirectional), όταν ένα lncRNA και ένα γειτονικό κωδικό μετάγραφο του αντίθετου κλώνου βρίσκονται σε κοντινή γενωμική απόσταση στα σημεία έναρξης, (4) ιντρονικό (intronic), όταν προέρχεται ολοκληρωτικά από ιντρόνιοενός γονιδίου που κωδικοποιεί πρωτεΐνη, ή (5) διαγονιδιακό (intergenic), όταν βρίσκεται εντός του διαστήματος μεταξύ δύο γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες^{80,96}.

6.2 Μηχανισμός δράσης

Τα lncRNA μπορούν να δράσουν ως «σήματα» (signals), «ικριώματα» (scaffolds), «οδηγοί» (guides), «ενισχυτές» (enhancers) και «δολώματα» (decoys) ρυθμίζοντας την γονιδιακή έκφραση και την κυτταρική ομοιόσταση.

Scaffolds or guides: ορισμένα lncRNA χρησιμεύουν ως ικριώματα επί των οποίων αλληλεπιδρούν πολλαπλά σύμπλοκα πρωτεϊνών που ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση όπως οι ριβονουκλεοπρωτεΐνες κατευθύνοντάς τις και τοποθετώντας τις σε συγκεκριμένα γονίδια στόχους⁹⁸. Ως παράδειγμα αναφέρονται τα HOTAIR και ANRIL. Το HOTAIR είναι ένα lncRNA μεγέθους 1kb που βρίσκεται στον τόπο HOXC. Δεσμεύει ταυτόχρονα τις PRC2 και το σύμπλοκο LSD1 CoREST εξασφαλίζοντας την μεθυλίωση και απομεθυλίωση των H3K27 και H3K4me2 αντίστοιχα προκαλώντας την απενεργοποίηση τους⁹⁹. Το ANRIL είναι ένα αντίθετης κατεύθυνσης μεταγραφής lncRNA μήκους 3834 νουκλεοτιδίων που δεσμεύει και αλληλεπιδρά τα PRC2 και PRC1^{100,101}.

Signals: άλλα lncRNA ενεργοποιούνται ως απάντηση βλάβης του γεννητικού υλικού¹⁰⁰. Ως παράδειγμα αναφέρονται τα lincRNA-p21^{102,103} και PANDA^{104,105}. Αμφότερα ενεργοποιούνται μέσω του p53 σε περιπτώσεις βλάβης του DNA.

Decoys: αυτά τα lncRNA λειτουργούν ως ρυθμιστές θέσεων ελέγχου στο DNA εμποδίζοντας ή ευνοώντας την αλληλεπίδραση των θέσεων αυτών με πρωτεΐνες που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο. Ελέγχοντας τη διαθεσιμότητα αυτών των ρυθμιστικών θέσεων ελέγχουν τη δράση παραγόντων της μεταγραφής και πρωτεΐνες καταλύτες¹⁰⁶. Ως παράδειγμα αναφέρονται τα lncRNA-p21 και MALAT1. Το MALAT1 εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου μέσω ελέγχου του εναλλακτικού ματίσματος το pre-mRNA^{107,108}. Το lincRNA-p21 δεσμεύει το RBP HuR που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην απόπτωση και στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό^{109,110}.

Enhancer: Ως παράδειγμα αναφέρεται το HOTTIP το οποίο αλληλεπιδρώντας με την πρωτεΐνη WDR5, τμήμα του συμπλέγματος MLL/Trx που καταλύει την ενεργοποίηση του H3K4me3, ρυθμίζει την λειτουργία πολλών πρωτεϊνών του κυτταρικού κύκλου¹¹¹ κυρίως καθορίζοντας την δευτεροταγή δομή του DNA¹¹².

7 ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΚΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΙ ΚΑΙ lncRNA-SNP

Σήμερα τα διαθέσιμα διαγνωστικά μέσα ανίχνευσης των παγκρεατικών καρκίνων πέρα από την κλινική υποψία είναι οι διάφορες τεχνικές απεικόνισης, οι καρκινικοί δείκτες και η βιοψία που θεωρείται το gold standard. Κανένα όμως από τα παραπάνω δεν είναι μέσο πρώιμης ανίχνευσης και κατά συνέπεια έγκαιρης αντιμετώπισης του παγκρεατικού καρκίνου.

Για το λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει μελέτες Genome-wide association study (GWAS) που σκοπό έχουν να συσχετίσουν πολυμορφισμούς του γεννητικού υλικού, ως αποτέλεσμα γενετικών μεταλλάξεων¹¹³, με συγκεκριμένες παθήσεις όπως ο καρκίνος του παγκρέατος. Έως σήμερα έχουν απομονωθεί πολυμορφισμοί 23 διαφορετικών γονιδίων που σχετίζονται με την ανάπτυξη των καρκίνων του παγκρέατος¹¹⁴.

Η πλειοψηφία των πολυμορφισμών του ανθρώπινου γονιδιώματος, περιέχει πολυμορφισμούς μονού νουκλεοτιδίου (Single Nucleotide Polymorphisms-SNP). Συναντώνται στο γονιδίωμα σε συχνότητα $\sim 1/1.000$ νουκλεοτίδια και περιλαμβάνουν μία σημειακή μεταλλαγή σε μία θέση του γονιδιώματος. Στη συντριπτική τους πλειοψηφία οι SNP συναντώνται σε μη-κωδικές περιοχές του γονιδιώματος και ονομάζονται μη-κωδικοί πολυμορφισμοί μονού νουκλεοτιδίου (Non-coding Single Nucleotide Polymorphisms-ncSNP). Σε αντίθεση με τους SNP των κωδικών περιοχών οι οποίοι μεταβάλλουν τα αμινοξέα, οι ncSNP είναι ικανοί να επηρεάσουν άμεσα τη μεταγραφή γειτονικών γονιδίων. Οι μηχανισμοί τους οποίους χρησιμοποιούν, περιλαμβάνουν τη μεταβολή της συνάφειας σύνδεσης για τη μεταγραφή, τη μεθυλίωση του προαγωγέα καθώς και τις λειτουργίες άλλων ρυθμιστικών στοιχείων. Επιπλέον, οι ncSNP είναι ιδιαίτερα σημαντικοί για τη δομή της χρωματίνης και γενικότερα τη γονιδιακή ρύθμιση προκαλώντας αύξηση ή μείωση των επιπέδων έκφρασης των lncRNA μέσω εναλλακτικού ματίσματος ή επηρεάζοντας τη δευτεροταγή δομή τους^{115,116}.

Τέλος, οι επιγενετικές μεταλλάξεις φαίνεται να διαδραματίζουν ρόλο στην παθογένεση διαφόρων μορφών καρκίνου συμπεριλαμβανομένου και του παγκρεατικού καρκίνου. Ο όρος «επιγενετική» αναφέρεται σε κληρονομήσιμες τροποποιήσεις του γενετικού υλικού οι οποίες επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση αλλά όχι την ίδια την αλληλουχία του γονιδιωματικού DNA. Οι τροποποιήσεις αυτές συνήθως κληρονομούνται κατά τη μίτωση και συχνά κατά τη μείωση και

είναι δυνατό να αντιστραφούν. Τα lncRNA αποτελούν γνωστούς φορείς τέτοιων επιγενετικών μεταλλάξεων ελέγχοντας λειτουργίες όπως η ομοιόσταση και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός.

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που πραγματεύονται την απορύθμιση lncRNA είτε λόγω SNP είτε ως προϊόντα επιγενετικών μεταλλάξεων και την επίδραση τους στη γένεση του παγκρεατικού καρκίνου. Έως σήμερα τα σημαντικότερα από αυτά συνοψίζονται στον Πίνακα 7.

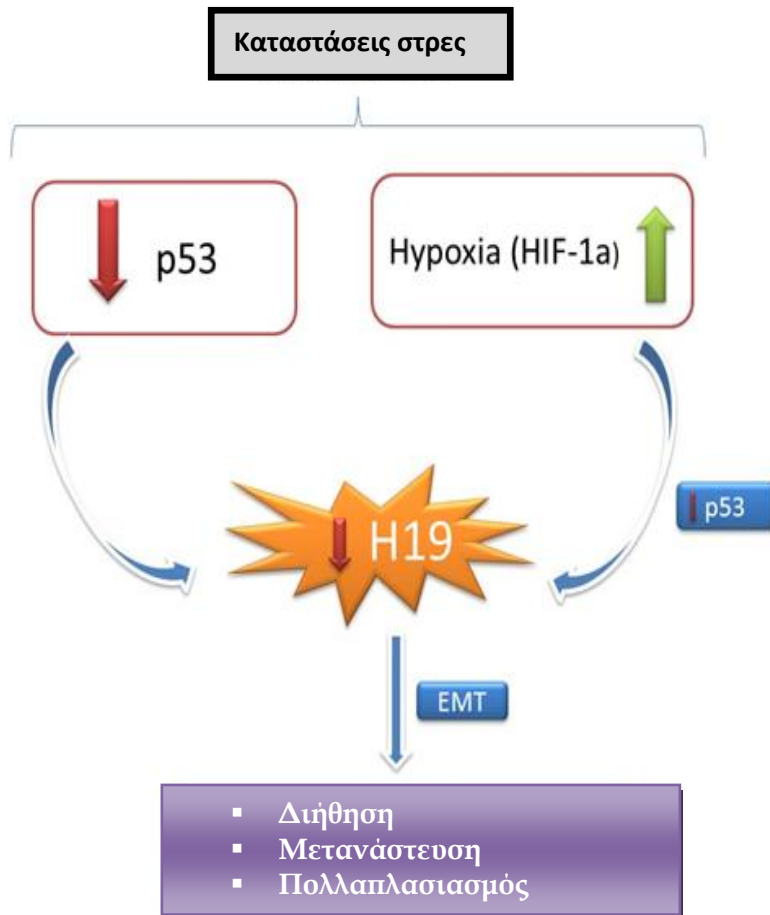
Πίνακας 7

απορύθμιση διαφόρων lncRNA στο ΠΑ και στα ΝΝ του παγκρέατος¹¹⁷

lncRNA	Απορύθμιση	Νεόπλασμα	Δείγμα ιστού
H19	↑	ΠΑ	Παγκρεατικός ιστός
HOTTIP	↑	ΠΑ	Παγκρεατικός ιστός
MALAT1	↑	ΠΑ	Παγκρεατικός ιστός
HOTAIR	↑	ΠΑ	Παγκρεατικός ιστός
AF339813	↑	ΠΑ	Παγκρεατικός ιστός
Gas5	↓	ΠΑ	Παγκρεατικός ιστός
ENST00000480739	↓	ΠΑ	Παγκρεατικός ιστός
Hulc	↑	ΠΑ	Παγκρεατικός ιστός
Meg3	↑	ΝΝΠ	Παγκρεατικός ιστός

7.1 H19

Πρόκειται για ένα γονίδιο μεγέθους 2.3kb στο χρωμόσωμα 11p15.5 και βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα¹¹⁸. Ενεργοποιείται σε καταστάσεις κυτταρικού stress, όπως η μειωμένη έκφραση του p53^{119,120} ή η υποξία¹¹⁷, προκαλώντας επιθηλιομεσεγχυματική μετατροπή (EMM)¹²¹, αύξηση της διηθητικής ικανότητας και μείωση της αποπτωτικής λειτουργίας των κυττάρων συμβάλλοντας στην καρκινογένεση¹¹⁸ (Εικόνα 9).



Εικόνα 9

μηχανισμός δράσης του H19 στην διήθηση, μετανάστευση και τελικά στην μετάσταση των νεοπλασματικών κυττάρων¹¹⁷

7.2 HOTTIP

Βρίσκεται στο άκρο 5' του HOXA cluster ¹¹¹. Η υπερέκφραση του στο ΠΑ σχετίζεται με αυξημένη μεταστατική ικανότητα και αντοχή στην χημειοθεραπεία. Στοχευμένη «αδρανοποίηση» του αναστέλλει τις λειτουργίες της EMM και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Τα επίπεδα του HOTTIP φαίνεται να έχουν προβλεπτική αξία στην ανταπόκριση του ΠΑ στη χημειοθεραπεία με Gemcitabine¹²².

7.3 MALAT-1

Πρόκειται για γονίδιο με περισσότερα από 8000 νουκλεοτίδια στο χρωμόσωμα 11q13 και βρίσκεται στον πυρήνα¹²³. Η υπερέκφραση του σχετίζεται με πολλά είδη καρκίνων^{124,125,126} ευνοώντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διήθηση και τη μετάσταση μέσω των σηματοδοτικών μονοπατιών ERK/MAPK και Wnt^{127,128}. Επίσης τα επίπεδα έκφρασης του MALAT-1 σχετίζονται με το στάδιο TNM, με υψηλά επίπεδα του γονιδίου να σχετίζονται με κακή πρόγνωση και χειρότερη επιβίωση^{129,130}.

7.4 HOTAIR, AF339813, HULK

Πρόκειται για lncRNA τα οποία υπερεκφράζονται σε ιστούς ΠΑ και σχετίζονται με αυξημένη ικανότητα πολλαπλασιασμού, αυξημένη μεταστατική ικανότητα και χειρότερη πρόγνωση^{131,132,133,134,135,136}.

7.5 Gas5, ENST00000480739

Αντίθετα με τα μέχρι τώρα αναφερθέντα lncRNA τα συγκεκριμένα παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση στο ΠΑ. Επιπλέον τα επίπεδα έκφρασης του ENST00000480739 είναι αντιστρόφως ανάλογα με το μέγεθος του όγκου και την ικανότητα λεμφαδενικής μετάστασης^{137,138}.

7.6 Meg3

Υπάρχουν ελάχιστα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν τη σχέση ncRNA και νευροενδοκρινών όγκων. Παλαιότερα δεδομένα από την ομάδα του Roldo C¹³⁹ δείχνουν πως η υπερέκφραση των miR-103 και miR-107, καθώς και η μειωμένη έκφραση του miR-155 είναι τυπική των παγκρεατικών νευροενδοκρινών όγκων. Επιπλέον η έκφραση του miR-204 σχετίζεται με την ανάπτυξη ινσουλινώματος, ενώ η υπερέκφραση του miR-21 σχετίζεται με αυξημένο Ki67 και με παρουσία ηπατικών μεταστάσεων στους όγκους αυτούς¹⁴⁰.

Ακόμα λιγότερα δεδομένα υπάρχουν όσον αφορά τη σχέση των lncRNA με τα PNET. Σε μελέτη της ομάδας του Sita D Modali¹⁴¹ βρέθηκε πως το lncRNA Meg3 (maternally expressed gene) έχει ογκοκατασταλτική δράση στα PNET. Συγκεκριμένα η υπερέκφραση του τόσο στα σποραδικά όσο και στα ινσουλινώματα στα πλαίσια του οικογενούς συνδρόμου MEN-1 επιβραδύνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μέσω καταστολής του πρωτοογκογονιδίου c-Met με αποτέλεσμα αυτά τα κύτταρα να παρουσιάζουν μειωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού και μετάστασης. Οι παρατηρήσεις αυτές θέτουν τις βάσεις για νέους θεραπευτικούς χειρισμούς στα PNET με στόχο την ενεργοποίηση του Meg3 και την αναστολή λειτουργίας του c-MET στοχεύοντας τον έλεγχο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

8 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί η συμβολή των δύο πολυμορφισμών rs1561927 και rs4759314 των lncRNA PVT1 και HOTAIR αντίστοιχα στην ανάπτυξη και εξάπλωση του παγκρεατικού καρκίνου και πιο συγκεκριμένα του ΠΑ και των NN του παγκρέατος.

Το δείγμα μας περιλαμβάνει δυο ομάδες ασθενών με ΠΑ και NNT καθώς και μια ομάδα ελέγχου υγιών ατόμων. Η σύγκριση της συχνότητας εμφάνισης των ανωτέρω πολυμορφισμών στο πληθυσμιακό δείγμα που επιλέχθηκε είναι μια προσπάθεια διαλεύκανσης της σχέσης τους με την εμφάνιση των νεοπλασιών του παγκρέατος.

Οποιαδήποτε συσχέτιση των μεταλλάξεων αυτών με τα υπό μελέτη νεοπλάσματα του παγκρέατος πιθανά να αποτελέσει τη βάση για μελλοντικές μελέτες που θα αφορούν εντατική και επισταμένη έρευνα του ρόλου των lncRNA στη φυσιολογία της ασθένειας, με απώτερο στόχο την κατανόηση των βιολογικών μηχανισμών και τον σχεδιασμό κατάλληλων και εξατομικευμένων θεραπειών.

9 ΤΗΡΗΣΗ ΚΑΝΟΝΩΝ

Πριν την έναρξη της συλλογής των δειγμάτων η μελέτη γνωστοποιήθηκε και πήρε έγκριση από την Επιτροπή Έρευνας και την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Αρεταίειου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αθηνών (Αριθ. πρωτοκόλλου Β-174/31-05-2016).

Επιπλέον, όλοι οι υγιείς μάρτυρες ενημερώθηκαν για τη συμμετοχή τους στη μελέτη και συναίνεσαν εγγράφως πριν την ένταξη τους σε αυτήν.

10 ΜΕΘΟΔΟΣ-ΥΛΙΚΑ

10.1 Ασθενείς

Στη μελέτη εντάχθηκαν 111 ασθενείς που έπασχαν από ΠΑ, 56 που έπασχαν από ΝΝ του παγκρέατος (23 με μη-λειτουργικά και 33 με λειτουργικά νεοπλάσματα) από τους οποίους έγινε συλλογή νεοπλασματικού ιστού και/ή περιφερικού ολικού αίματος, ανάλογα με την περίπτωση, καθώς και 125 υγιείς μάρτυρες από τους οποίους έγινε συλλογή περιφερικού αίματος. Έπειτα από τη συλλογή των δειγμάτων ιστού και αίματος, ακολούθησε η απομόνωση γενωμικού DNA για κάθε άτομο.

Κανένας από τους υγιείς μάρτυρες δεν είχε ενδείξεις συστηματικής φλεγμονής ή παγκρεατίτιδας, ενώ δεν συμπεριελήφθησαν στη μελέτη άτομα με γνωστά γενετικά σύνδρομα όπως Multiple Endocrine Neoplasias 1,2 (MEN1, MEN2), Von Hippel-Lindau (VHL), Νευροϊνωμάτωση και Οζώδης σκλήρυνση λόγω συσχέτισης τους με ΝΝ του παγκρέατος.

Η διάγνωση και επιβεβαίωση της νεοπλασίας έγινε με βάση απεικονιστικές και ιστολογικές εξετάσεις όπως προβλέπονται από τις κατευθυντήριες οδηγίες, ενώ η σταδιοποίηση του ΠΑ έγινε σύμφωνα με το σύστημα TNM όπως ορίζεται από την American Joint Committee on Cancer¹⁴² και των ΝΝΠ σύμφωνα με το αναθεωρημένο σύστημα ταξινόμησης όπως ορίζεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας¹⁴³ (WHO-updated classification).

10.2 Πολυμορφισμοί που μελετήθηκαν

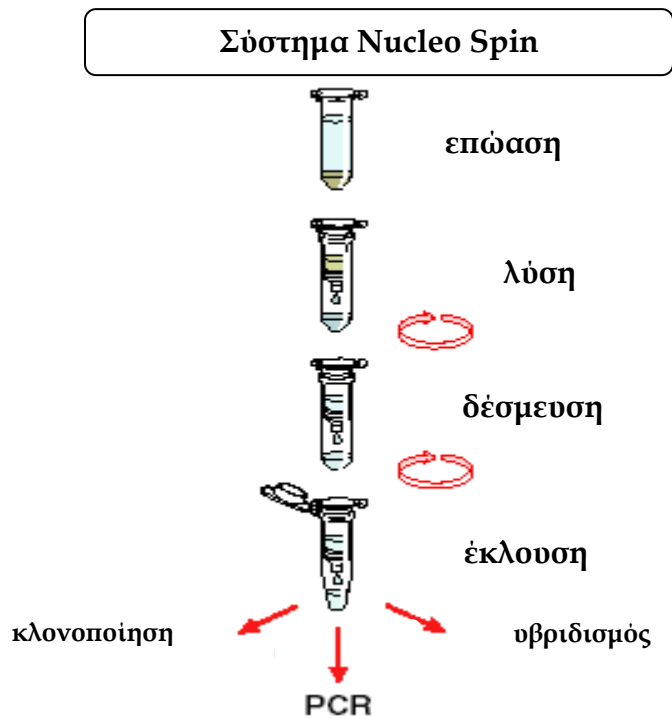
Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν δύο πολυμορφισμοί μονού νουκλεοτιδίου (SNP), rs1561927 και rs4759314, που βρίσκονται εντός της αλληλουχίας των lncRNA PVT1 και HOTAIR αντίστοιχα τα οποία όπως προαναφέρθηκε φαίνεται να σχετίζονται με την ανάπτυξη και την εξάπλωση του παγκρεατικού καρκίνου.

Τα επίπεδα του lncRNA HOTAIR, το οποίο βρίσκεται στη χρωμοσωμική περιοχή 12q.13.13 και προκύπτει από μεταγραφή αντίθετης φοράς (antisense) του HoxC γονιδίου¹³¹, φαίνεται να σχετίζονται με αυξημένο μεταστατικό δυναμικό και η υπερέκφρασή του συνδέεται με κακή πρόγνωση σε καρκίνους όπως ο καρκίνος του μαστού⁹⁰. Σε άλλες μελέτες πολυμορφισμοί του HOTAIR φαίνεται να σχετίζονται με ανάπτυξη καρκίνου¹⁴⁴, ενώ η αδρανοποίηση του έχει συνδεθεί με μείωση της διηθητικής ικανότητας και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού¹⁴⁵. Επιπλέον, ο πολυμορφισμός rs4759314, που έχει συμπεριληφθεί στη μελέτη μας, φαίνεται πως αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου¹⁴⁶.

Το lncRNA PVT1 εντοπίζεται στη χρωμοσωμική περιοχή 8q24.21 που εμπερικλείει επίσης το ογκογονίδιο MYC και φαίνεται να υπερεκφράζεται σε διάφορες νεοπλασίες στον άνθρωπο¹⁴⁷ μεταξύ των οποίων και οι νεοπλασίες του παγκρέατος^{114,148}. Αναλυτικότερα, υπερέκφραση του συγκεκριμένου lncRNA είναι υπεύθυνη για καταστολή του p21¹⁴⁹ καθώς και για την επιθηλιομεσεγχυματική μετατροπή (EMM), φαινόμενο σταθμός για το φαινόμενο της καρκινικής μετάστασης¹⁵⁰. Σε μελέτες ήδη έχει αναφερθεί η σχέση του με την ανάπτυξη γαστρικού¹⁵¹ και νεφρικού καρκίνου¹⁵².

10.3 Απομόνωση γενωμικού υλικού

Για την απομόνωση γενωμικού DNA από περιφερικό ολικό αίμα, χρησιμοποιήθηκε το προτυποποιημένο σύστημα NucleoSpin Blood Kit (Macherey-Nagel, Germany), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή¹⁵³ (Εικόνα 10).



Εικόνα 10

στάδια απομόνωσης γενωμικού υλικού με το σύστημα NucleoSpin (Macherey-Nagel, Germany)¹⁵³

Το παραπάνω kit είναι κατάλληλα σχεδιασμένο για την απομόνωση υψηλής καθαρότητας γενωμικού DNA από ανθρώπινα ή άλλης προέλευσης κύτταρα, βακτήρια, ζύμες, ορό, πλάσμα, ιστούς αλλά και από ανθρώπινο αίμα. Η λύση των κυττάρων επιτυγχάνεται με την επώαση του δείγματος με πρωτεΐνωση K. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν στήλες χαλαζία στις οποίες η πρόσδεση του DNA επιτυγχάνεται με την προσθήκη χαστροπικών αλάτων και

αιθανόλης. Η διαδικασία προσρόφησης του DNA στη στήλη είναι αντιστρεπτή και ειδική ως προς τα νουκλεϊκά οξέα. Οι επιμολύνσεις απομακρύνονται από το δείγμα έπειτα από έκλουση με δύο διαφορετικά ρυθμιστικά διαλύματα. Τελικά, προκύπτει καθαρό, γενωμικό DNA υπό συνθήκες χαμηλής ιοντικής ισχύος, σε ένα ελαφρώς αλκαλικό διάλυμα έκλουσης.

Τα ακριβή στάδια της διαδικασίας απομόνωσης γενετικού υλικού είναι τα ακόλουθα:

- Προσθήκη 25μL πρωτεΐνάσης K σε 200 μL αίματος, σε σωλήνα φυγοκέντρησης 1.5ml τύπου Eppendorf.
- Προσθήκη 200μL διαλύματος B3 σε κάθε δείγμα και ανάδευση για 10-20sec.
- Επώαση δειγμάτων σε θερμοκρασία δωματίου για 5 min.
- Επώαση δειγμάτων στους 70°C για 10- 15min.
- Προσθήκη 210μL αιθανόλης (96-100%) σε κάθε δείγμα και ανάδευση.
- Μεταφορά του μείγματος στη NucleoSpin Tissue στήλη (τοποθετημένη σε σωλήνα φυγοκέντρησης 1.5mL). Φυγοκέντρηση με ταχύτητα 11.000 xg, για 1min.
- Αφαίρεση της στήλης και απόρριψη του διηθήματος. Επανατοποθέτηση της στήλης σε νέο σωλήνα φυγοκέντρησης.
- Ακολουθεί προσθήκη 500μL διαλύματος πλύσης BW στη στήλη και φυγοκέντρηση με ταχύτητα 11.000 xg, για 1 min.
- Αφαίρεση της στήλης και απόρριψη του διηθήματος. Επανατοποθέτηση της στήλης σε νέο σωλήνα φυγοκέντρησης.
- Προσθήκη 600 μL διαλύματος B5 στη στήλη και φυγοκέντρηση με ταχύτητα 11.000 xg, για 1min.

- Αφαίρεση της στήλης και απόρριψη του διηθήματος. Επανατοποθέτηση της στήλης σε νέο σωλήνα φυγοκέντρησης.
- Φυγοκέντρηση των στηλών τους σωλήνες με ταχύτητα 11.000 xg, για 1min ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια διαλυμάτων.
- Αφαίρεση της στήλης και απόρριψη του διηθήματος. Επανατοποθέτηση της στήλης σε σωλήνα φυγοκέντρησης 1.5ml τύπου Eppendorf.
- Προσθήκη 100μL διαλύματος έκλουσης BE και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 min.
- Φυγοκέντρηση με ταχύτητα 11.000 xg, για 1min.
- Τέλος, το διήθημα που προκύπτει περιέχει το απομονωμένο DNA το οποίο αποθηκεύεται στους -20°C.

10.4 PCR-Εκκινητές

Μετά την απομόνωση του γενετικού υλικού ακολουθεί ο *in vitro* γρήγορος πολλαπλασιασμός προεπιλεγμένης μικρής ακολουθίας DNA (θραύσματα) σε πολλά αντίγραφα με τη χρήση κατάλληλων εκκινητών με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR-Polymerase Chain Reaction). Η PCR αποτελεί μια τεχνική της μοριακής βιολογίας που εφαρμόζεται εκτενώς τόσο στο χώρο της μοριακής βιολογίας όσο και της ιατρικής. Περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Kary Mullis το 1980¹⁵⁴ και τιμήθηκε γι' αυτήν με βραβείο Νόμπελ το 1993.

Για την επιτυχημένη επιλογή των κατάλληλων εκκινητών (primers) της αντίδρασης PCR, ακολουθούνται ορισμένοι κανόνες. Το μήκος τους συνήθως δεν ξεπερνά τις 18-22 βάσεις και η σύνθεσή τους σε G/C δεν πρέπει να υπερβαίνει το 50-60%. Επίσης, θα πρέπει να αποφεύγεται, η χρήση εκκινητών με συμπληρωματικότητα αλληλουχιών εντός του κλώνου τους αλλά και οι

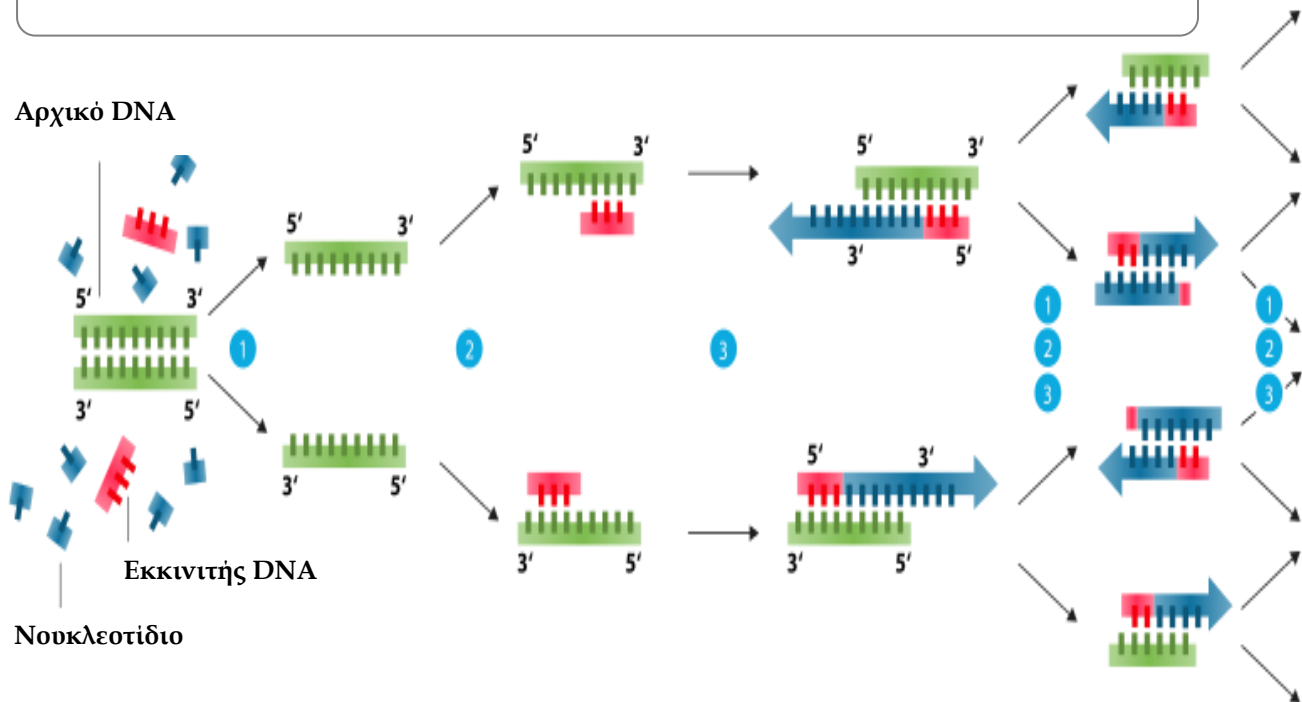
επαναλήψεις G/C, ειδικότερα στο 3' άκρο. Οι κατάλληλοι εκκινητές, δεν διαθέτουν αλληλουχίες συμπληρωματικές με μη επιθυμητές αλληλουχίες DNA, ενώ απορρίπτονται εκείνοι οι οποίοι εμφανίζουν ομολογία με ανεπιθύμητες αλληλουχίες σε ποσοστό άνω του 70%. Τέλος, οι επαναλήψεις των δινουκλεοτιδίων δεν θα πρέπει να ξεπερνούν τις τέσσερις.

Στη μέθοδο PCR χρησιμοποιούνται δύο εκκινητές, με διαφορετική κατεύθυνση (forward-reverse) οι οποίοι είναι συμπληρωματικοί προς τις αλληλουχίες του DNA στόχου πλαισιώνοντας το επιθυμητό προς ενίσχυση τμήμα DNA. Το DNA στόχος, πολλαπλασιάζεται έπειτα από πολλαπλούς κύκλους αντιγραφής, σε τέτοιο βαθμό ώστε να είναι ανιχνεύσιμο.

Ο εκθετικός πολλαπλασιασμός των μορίων DNA, επιτυγχάνεται από την DNA πολυμεράση. Πρόκειται για ένα θερμοσταθερό ένζυμο, το οποίο προέρχεται από το θερμοφίλο βακτήριο *Thermusaquaticus* (Taq). Η πολυμεράση λόγω σταθερότητας σε παρατεταμένες και συνεχείς συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών δεν αντικαθίσταται σε κάθε κύκλο.

Η διαδικασία της PCR στηρίζεται στην συνεχή επανάληψη ενός κύκλου που αποτελείται από τρία διαδοχικά στάδια παράγοντας τελικά πολλά αντίγραφα μιας ή περισσότερων μικρών αλληλουχιών του DNA (Εικόνα 11):

Τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης-PCR



- 1 Αποδιάταξη (*denaturation*). Στους 94°C - 96°C για 20-30sec
- 2 Υβριδισμός (*annealing*) για 20-40sec, εμπρόσθιοι και ανάστροφοι εκκινητές
- 3 Επιμήκυνση (*elongation*). Στους 72°C για 0.5-3min

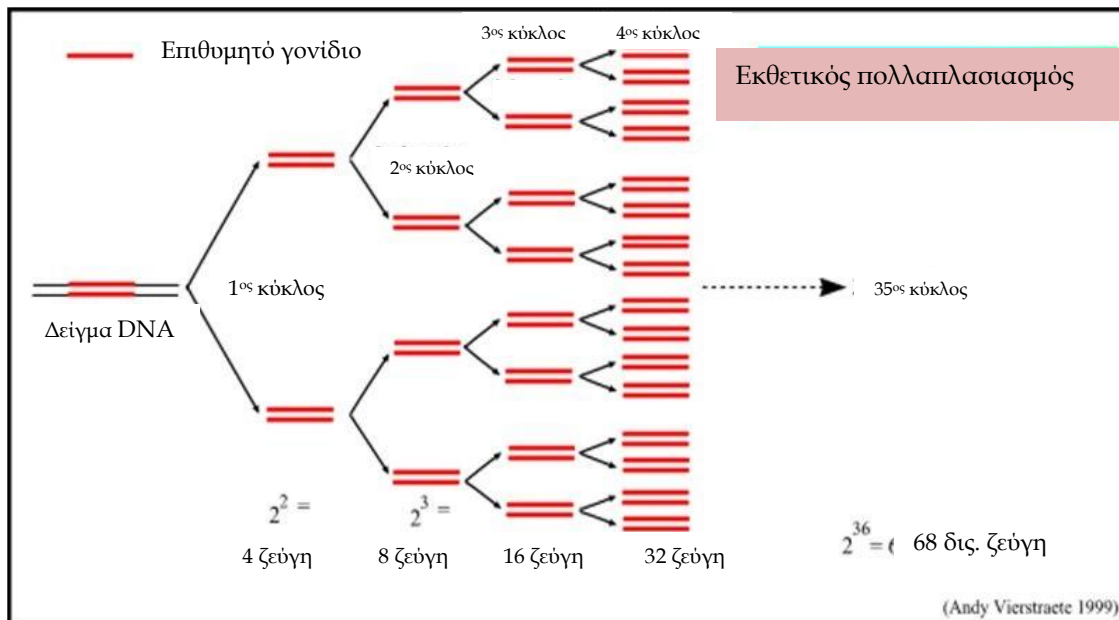
Εικόνα 11

στάδια PCR, αναδιάταξη, υβριδισμός, επιμήκυνση¹⁵⁵

1. Αποδιάταξη του DNA στόχου στους 94°C - 96°C (*denaturation*). Σε αυτό το στάδιο, σπάνε οι δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στις συμπληρωματικές αζωτούχες βάσεις (20-30sec).

2. Πρόσδεση των εκκινητών (υβριδισμός) στις συμπληρωματικές τους ακολουθίες σε θερμοκρασία που εξαρτάται από τις ιδιότητες των εκκινητών (*annealing*) (20-45sec).

3. Επιμήκυνση (elongation) των υβριδομένων εκκινητών στους 72°C με κατεύθυνση 5'→3', σχηματίζοντας έτσι τους νέους θυγατρικούς κλώνους DNA (0.5-3min). Τα βήματα αυτά επαναλαμβάνονται για 25-40 κύκλους, με αποτέλεσμα την εκθετική αύξηση του αριθμού των αντιγράφων. Ουσιαστικά, τα μόρια DNA που παράχθηκαν στον προηγούμενο κύκλο χρησιμεύουν ως εκμαγείο για τον επόμενο κύκλο (Εικόνα 12).



Εικόνα 12

εκθετικός πολλαπλασιασμός επιθυμητού γονιδίου με PCR¹⁵⁵

Η PCR, όπως φαίνεται στη Εικόνα 11, πραγματοποιείται σε ειδικό μηχάνημα, τον θερμικό κυκλοποιητή (Thermal cycler) ο οποίος έχει την δυνατότητα να θερμάνει και να ψύχει τα δείγματα σε σύντομο χρόνο εποάζοντας το σε διαφορετική κάθε φορά θερμοκρασία (Εικόνα 13). Κατά τον πολλαπλασιασμό του DNA, η πολυμεράση προσθέτει νουκλεοτιδία στην 3'-OH ομάδα ενός ήδη υπάρχοντος νουκλεοτιδίου. Καθένας από τους εκκινητές, υβριδοποιείται σε έναν κλώνο ενός δίκλωνου, αποδιαταγμένου μορίου DNA στόχου. Οι υβριδοποιημένοι εκκινητές λειτουργούν ως εκμαγείο ώστε η DNA πολυμεράση

να πραγματοποιήσει την επιμήκυνση της νέας αλυσίδας τοποθετώντας δεοξυνουκλεοτίδια συμπληρωματικά προς τον κλώνο στόχο με κατεύθυνση 5'→3'. Το κύριο προϊόν αυτής της εκθετικής αντίδρασης είναι ένα κομμάτι δίκλωνου DNA, που τα άκρα του καθορίζονται από το 5' άκρο του εκκινητή και το μέγεθος του από την απόσταση των δύο εκκινητών.

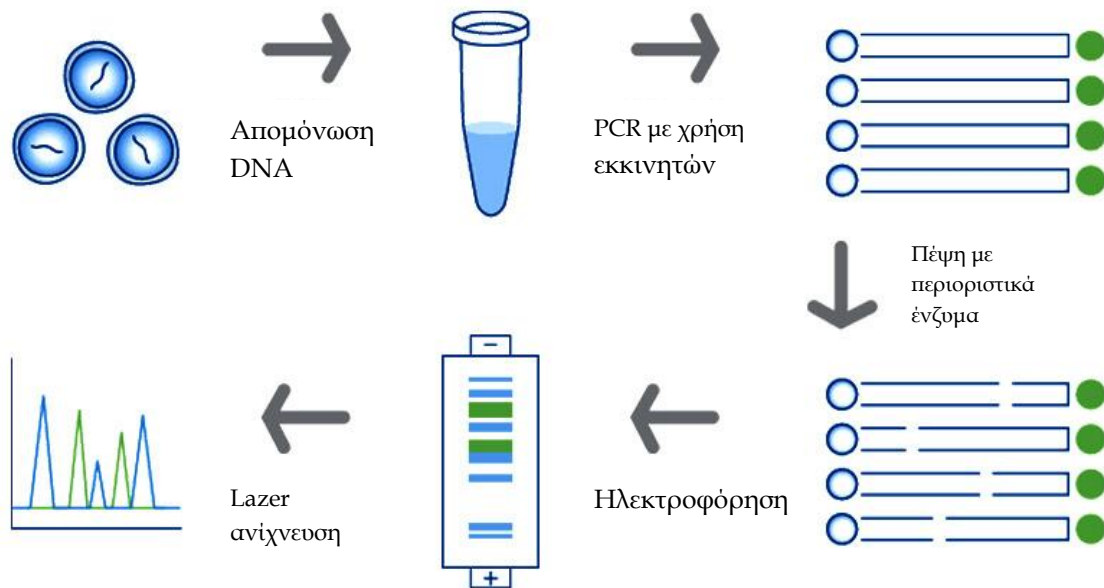


Εικόνα 13

θερμικός κυκλοποιητής (Thermal cycler), συσκευή με την οποία πραγματοποιείται η PCR

10.4.1 Πολυμορφισμός rs1561927 PVT1 (G/A)

Η γονοτύπηση του πολυμορφισμού rs1561927 έγινε με την μέθοδο PCR και ακολούθησε πέψη των δειγμάτων με περιοριστικά ένζυμα - περιοριστικές ενδονουκλεάσες (restriction enzymes) (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP). Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα των περιοριστικών ενζύμων να αναγνωρίζουν ειδικές δίκλωνες αλληλουχίες DNA (restriction sites) μήκους συνήθως 4-8 νουκλεοτιδίων, και να πέπτουν το μόριο εντός ή πλησίον της αλληλουχίας αναγνώρισης (Εικόνα 14).



Εικόνα 14

PCR και πέψη των δειγμάτων με περιοριστικά ένζυμα - περιοριστικές ενδονουκλεάσες (restriction enzymes) (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)¹⁵⁶

Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες, υδρολύουν τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς προκαλώντας περιοριστικά θραύσματα (restriction fragments). Σχεδόν όλα τα ένζυμα περιορισμού αναγνωρίζουν παλίνδρομες θέσεις, δηλαδή θέσεις στις οποίες η αλληλουχία στον κάθε κλώνο είναι η ίδια όταν διαβάζεται με κατεύθυνση 5'→3'. Οι περισσότερες ενδονουκλεάσες λειτουργούν ως διμερή και προσαρμόζονται στο DNA με τέτοιο τρόπο ώστε ο άξονας της αμφίπλευρης συμμετρίας να συμπίπτει με αυτόν της αλληλουχίας αναγνώρισης.

Στην παρούσα μελέτη η γονοτύπηση του rs1561927 G/A πολυμορφισμού έγινε με την περιγραφόμενη μέθοδο χρησιμοποιώντας ένα σετ εκκινητών (primers) 5'-AACAAAGAGGGGAAGTAAGCTAGT-3' και 5'-TGACATGAACAGGTAAAGACAG-3' (Πίνακας 8). Πραγματοποιήθηκαν 40 κύκλοι PCR στους 95°C για 5min, στους 95°C για 40sec, στους 60°C για 40sec και στους 72°C για 40sec, ενώ ο τελικός κύκλος έγινε στους 72°C για 5min. Ακλούθησε πέψη των δειγμάτων DNA με τη χρήση του περιοριστικού ενζύμου

HpyCH4III της εταιρείας NEW ENGLAND BioLabs, Beverly, USA για 2h στους 37°C και ακολούθως ηλεκτροφόρηση σε πήκτη αγαρόζης 3.5% w/v.

Τα θραύσματα των 120 και 82bp ήταν ενδεικτικά ομοζυγωτίας για το αλληλόμορφο G, ενώ τα θραύσματα 82, 71 και 50bp ομοζυγωτίας για το αλληλόμορφο A.

Πίνακας 8

είδη PCR που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη. Οι εκκινητές και η αλληλουχία τους

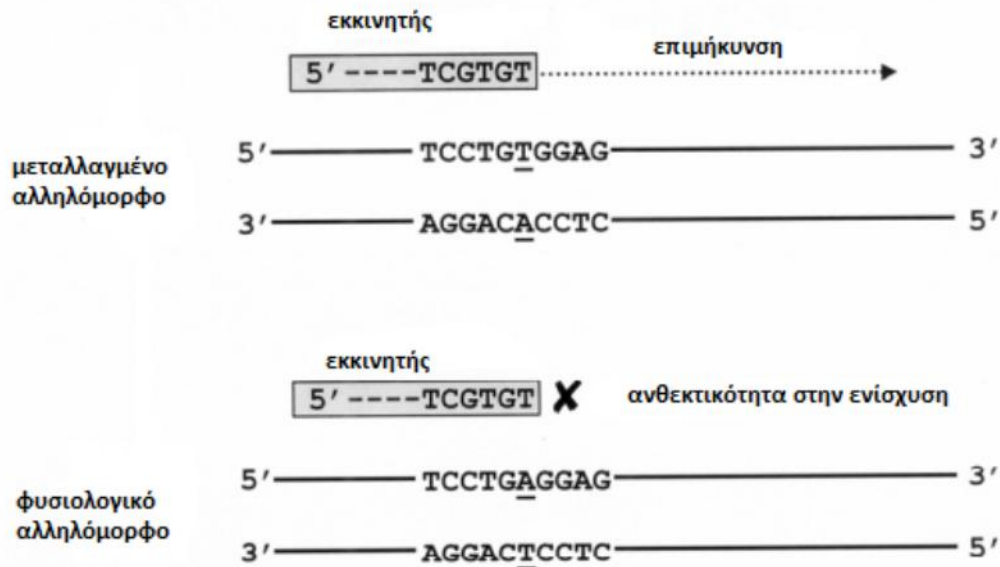
	Εκκινητές	Μέθοδος	Αλληλουχία
rs1561927		RFLP-PCR	5'-AACAAAGAGGGGAAGTAAGCTAGT-3'
			5'-TGACATGAACAGGTTAAAGACAG-3'
rs4759314	εμπρόσθιος (forward)	AS-PCR	5'-GAGAGAAGCCAAATACACACA-3'
	ανάστροφος A (reverse A)		5'-TTTATTAAC TTGCATCCGCT-3'
	ανάστροφος G (reverse G)		5'-TTTATTAAC TTGCATCCGCC-3'

10.4.2 Πολυμορφισμός rs4759314 HOTAIR (G/A)

Η ανίχνευση του SNP rs1476514 έγινε με τη μέθοδο της αλληλοειδικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Allele-Specific Polymerase Chain Reaction, AS-PCR) και χρησιμοποιήθηκαν τρεις εκκινητές (primers) ένας εμπρόσθιος (forward) 5'-GAGAGAAGCCAAATACACACA-3', ένας ανάστροφος A (reverse A) 5'-TTTATTAAC TTGCATCCGCT-3' και ένας ανάστροφος G (reverse G) 5'-TTTATTAAC TTGCATCCGCC-3', όπως φαίνεται στον πίνακα 8, παράγοντας θραύσματα 100bp (Πίνακας 8).

Η AS-PCR είναι γνωστή ως «σύστημα ανίχνευσης μεταλλάξεων ανθεκτικών στην ενίσχυση» (Amplification Refractory Mutation System, PCR-ARMS) ή PCR

πολλαπλασιασμού συγκεκριμένων αλληλόμορφων (Amplification of Specific Alleles, PASA) και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση SNP οι οποίοι σχετίζονται με διάφορους φαινότυπους. Η μέθοδος της AS-PCR περιγράφηκε πρώτη φορά από τον Newton και τους συνεργάτες του το 1989 περίπου έξι χρόνια μετά την είσοδο της PCR¹⁵⁷. Βασική αρχή της μεθόδου AS-PCR, αποτελεί ο σχεδιασμός ειδικών εκκινήτων οι οποίοι επιτρέπουν την επιλεκτική ενίσχυση τμημάτων από την DNA πολυμεράση, μόνο όταν το 3' νουκλεοτίδιο του εκκινήτη είναι απόλυτα συμπληρωματικό είτε με τη βάση της αλληλουχίας άγριου τύπου ή με την αλληλουχία που περιέχει τη σημειακή μετάλλαξη. Έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούν εκκινήτες συμπληρωματικούς με συγκεκριμένα αλληλόμορφα, ώστε να επιτυγχάνεται ο επιλεκτικός πολλαπλασιασμός και η ανίχνευσή τους. Με τον παραπάνω τρόπο, δίνεται η δυνατότητα ανάλυσης γνωστών σημειακών μεταλλάξεων στο DNA αλλά και η διάκριση μεταξύ φυσιολογικών, ετερόζυγων και ομόζυγων μεταλλαγμένων γονότυπων. Εάν δεν υπάρχει πλήρης συμπληρωματικότητα μεταξύ του 3' νουκλεοτιδίου του εκκινήτη και του αντίστοιχου DNA εκμαγείου, η κλασική PCR εμφανίζει χαμηλή απόδοση ή αδυνατεί πλήρως να πολλαπλασιάσει οποιοδήποτε τμήμα. Για τον παραπάνω λόγο, απαιτείται το πλήρες ζευγάρι στο 3' άκρο του εκκινήτη προκειμένου να επιτευχθεί αποδοτική ενίσχυση. Εάν χρησιμοποιηθεί εκκινήτης του οποίου το 3' νουκλεοτίδιο είναι συμπληρωματικό με το φυσιολογικό αλληλόμορφο αλλά μη συμπληρωματικό με το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο, θα ενισχυθεί ειδικά το φυσιολογικό αλληλόμορφο και όχι το μεταλλαγμένο. Αντιστρόφως, με τη χρήση εκκινήτη συμπληρωματικού στο 3' νουκλεοτίδιο με το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο, θα ενισχυθεί το μεταλλαγμένο και όχι το φυσιολογικό αλληλόμορφο όπως φαίνεται στην Εικόνα 15.



Εικόνα 15

απεικόνιση βασικής μεθόδους αλληλοειδικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Allele-Specific Polymerase Chain Reaction, AS-PCR)¹⁵⁸

Όπως αναφέρθηκε για τον προσδιορισμό του γονότυπου για τον μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμό rs1476514 χρησιμοποιήθηκαν τρεις εκκινητές.

Ο εμπρόσθιος εκκινητής είναι κοινός ενώ ο πρώτος ανάστροφος είναι συμπληρωματικός με το προγονικό αλληλόμορφο (A) και ο δεύτερος με το αλληλόμορφο (G) που περιέχει τον μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμό. Η αντίδραση περιλαμβάνει την αμφίδρομη ενίσχυση, με το προγονικό αλληλόμορφο να ενισχύεται χρησιμοποιώντας τον έναν κλώνο ως μήτρα και το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο να ενισχύεται με βάση τον συμπληρωματικό. Οι εκκινητές επιλέχθηκαν έτσι ώστε να είναι κατάλληλοι για την εύκολη διάκριση των τμημάτων DNA με συμβατική ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης. Με τη χρήση της μεθόδου AS-PCR δίνεται η δυνατότητα ταυτόχρονου ελέγχου της ομοζυγωτίας για το φυσιολογικό αλληλόμορφο αλλά και ομοζυγωτίας και ετεροζυγωτίας για τον παθολογικό.

11 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Στη στατιστική ανάλυση συμμετείχαν οι γονότυποι όλου του υπό μελέτη πληθυσμιακού δείγματος συμπεριλαμβανομένων υγιών και ασθενών. Οι συχνότητες των γονοτύπων συγκρίθηκαν με τη δοκιμασία χ^2 με διόρθωση κατά Yates's (Yates' correction) και χρήση S-Plus (v. 6.2, Insightful, Seattle, WA, USA). Ο σχετικός κίνδυνος (Odds ratios-OR) και το διάστημα αξιοπιστίας 95% (Confidence Intervals-CI) υπολογίστηκε με το Graph Pad (v. 3.00, Graph Pad Software, San Diego, CA). Στατιστικά σημαντικό θεωρήθηκε κάθε αποτέλεσμα για την τιμή $p < 0.05$. Η ισορροπία Hardy-Weinberg αξιολογήθηκε με τον υπολογισμό των αναμενόμενων συχνοτήτων και των απόλυτων χωριστά για του ασθενείς και τους υγιείς μάρτυρες με τη χρήση της δοκιμασίας χ^2 καλής προσαρμογής.

Οι καμπόλες επιβίωσης σχηματίστηκαν με τη χρήση της μεθόδου Kaplan-Meier και η σύγκριση τους έγινε με το log-rank test.

Η μελέτη της επίπτωσης των διαφόρων μεταβλητών στην συνολική επιβίωση των ασθενών έγινε με πολυπαραγοντική ανάλυση με τη χρήση του Cox proportional hazards model.

11.1 Δοκιμασία χ^2

Πρόκειται για ένα μη παραμετρικό κριτήριο που δεν απαιτεί καμία υπόθεση για την ακριβή μορφή της κατανομής του πληθυσμού. Το χ^2 αποτελεί το κατάλληλο κριτήριο στην περίπτωση όπου τα δεδομένα της έρευνας είναι ποιοτικά και η κλίμακα μέτρησης που χρησιμοποιήθηκε είναι κατηγορική. Συνεπώς, δεν χρειάζεται να μετρηθεί η επίδοση των συμμετεχόντων, αντίθετα, απλά

εντάσσονται σε μία κατηγορία. Επειδή οι συμμετέχοντες δεν μπορούν να ενταχθούν σε περισσότερες από μία κατηγορίες (υγιείς, ΠΑ, ΝΝΠ), το χ^2 είναι κατάλληλο μόνο για προβλέψεις σχετικά με τη διαφορετικότητα των συμμετεχόντων στην κάθε κατηγορία.

Στην παρούσα μελέτη το χ^2 , χρησιμοποιείται ως στατιστικό κριτήριο για τον έλεγχο της ανεξαρτησίας μεταξύ δύο ποιοτικών μεταβλητών (ασθενείς- υγιείς). Έτσι, έχουμε τη δυνατότητα να εξετάσουμε αν δύο μεταβλητές που διασταυρώνονται σε έναν πίνακα διπλής εισόδου ή διασταύρωσης (contingency table), είναι ανεξάρτητες ή εξαρτημένες και αν οι συχνότητες των διαφόρων κατηγοριών μπορούν να προκύψουν τυχαία ή είναι συστηματικές, αντίστοιχα.

Το στατιστικό κριτήριο χ^2 αντανακλά το μέγεθος των διαφορών μεταξύ των πραγματικών και των αναμενόμενων συχνοτήτων. Όσο μεγαλύτερη είναι αυτή η διαφορά, τόσο πιθανότερο είναι να προκύψει στατιστικώς σημαντικό αποτέλεσμα. Στην παρούσα εργασία, το συγκεκριμένο στατιστικό κριτήριο, μας επέτρεψε να εκτιμήσουμε την απόκλιση μεταξύ των θεωρητικών αναμενόμενων συχνοτήτων και των παρατηρούμενων. Για δύο ποιοτικές μεταβλητές υπολογίζεται με βάση τον εξής τύπο: $\chi^2 = \sum (P-A)^2/A$. Όπου Π, αντιπροσωπεύονται οι παρατηρούμενες τιμές και όπου Α, οι θεωρητικά αναμενόμενες.

Ο υπολογισμός γίνεται για συγκεκριμένους βαθμούς ελευθερίας οι οποίοι εκφράζουν τους παράγοντες που μπορούν να μεταβάλουν ένα σύστημα. Επίσης, υπολογίζεται η πιθανότητα (p) ταύτισης των θεωρητικά αναμενόμενων τιμών με τις τιμές που παρατηρήθηκαν. Στην παρούσα μελέτη, ως επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε το 5% δηλαδή, όρια εμπιστοσύνης 95% (Odds ratio CI 95%). Πιθανότητα μεγαλύτερη του επιπέδου σημαντικότητας σημαίνει ότι τα αποτελέσματά μας δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά άρα

γίνεται αποδεκτή η μηδενική/αρχική υπόθεση, συνεπώς για τον συγκεκριμένο γενετικό τόπο, ο πληθυσμός βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg. Αντίθετα, όταν η τιμή της πιθανότητας (p) που υπολογίστηκε, είναι μικρότερη του επιπέδου σημαντικότητας 0.05, υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των θεωρητικών και των παρατηρούμενων τιμών και κατά συνέπεια, η μηδενική υπόθεση δεν γίνεται αποδεκτή.

Ο αριθμός των βαθμών ελευθερίας δίνεται από τον τύπο: Βαθμοί ελευθερίας= [αριθμός διαφορετικών γονοτύπων-1]-[αριθμός αλληλομόρφων-1]. Το χ^2 δεν είναι πολύ ασφαλές στην περίπτωση του ενός βαθμού ελευθερίας καθώς είναι αυξημένες οι πιθανότητες σφάλματος. Επειδή στην παρούσα εργασία οι βαθμοί ελευθερίας είναι 1, έγινε τροποποίηση στον υπολογισμό του χ^2 , γνωστή και ως διόρθωση κατά Yates. Η παραπάνω τροποποίηση εμπεριέχεται στο στατιστικό εγχειρίδιο InStat και το χ^2 , σ' αυτή την περίπτωση

υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο: $\chi^2 = \sum (|P-A|-0.5)^2/A$, όπου $|P-A|$ =η απόλυτη τιμή της διαφοράς της πραγματικής συχνότητας P από την αναμενόμενη συχνότητα A για καθεμία από τις κατηγορίες της μεταβλητής.

11.2 Ισορροπία Hardy-Weinberg

Το θεώρημα της ισορροπίας Hardy-Weinberg (Hardy Weinberg Equilibrium, HWE) αποτελεί το βασικό θεώρημα της γενετικής πληθυσμών που δηλώνει ότι η γενετική ποικιλότητα σε έναν πληθυσμό παραμένει σταθερή από τη μια γενιά στην επόμενη, απουσία παρεμβαλλόμενων παραγόντων.

Υπό συγκεκριμένες συνθήκες, ο πληθυσμός αναμένεται να είναι σε ισορροπία Hardy-Weinberg και οι συχνότητες των γονοτύπων σε ένα πληθυσμό ακολουθούν ένα πρότυπο.

Οι συχνότητες των γονότυπων σε ένα πληθυσμό ο οποίος βρίσκεται σε κατάσταση ισορροπίας, δίνονται από τη σχέση: $p^2+q^2+2p=1$. Ο παραπάνω τύπος χρησιμοποιείται και για τις συχνότητες γονότυπων για έναν τόπο με δύο αλληλόμορφα. Επίσης, η συχνότητα των ετερόζυγων είναι στο μέγιστο όταν για τις συχνότητες των αλληλόμορφων ισχύει $p=q=0.5$. Στην παρούσα εργασία, η διερεύνηση της ισχύος του νόμου Hardy-Weinberg πραγματοποιήθηκε συγκρίνοντας τις παρατηρούμενες γονοτυπικές συχνότητες με τις αναμενόμενες, υπό τις συνθήκες της ισορροπίας Hardy-Weinberg.

Ωστόσο, η ισορροπία Hardy-Weinberg μπορεί να διαταραχθεί από πληθώρα γεγονότων, όπως οι μεταλλάξεις, η φυσική επιλογή, η μη τυχαία σύζευξη, η γενετική παρέκκλιση και η γονιδιακή ροή. Για παράδειγμα, οι μεταλλάξεις διαταράσσουν την ισορροπία των συχνοτήτων των αλληλόμορφων εισάγοντας νέα αλληλόμορφα σε έναν πληθυσμό.

Παρομοίως, η φυσική επιλογή και η μη τυχαία σύζευξη διαταράσσουν την ισορροπία Hardy-Weinberg καθώς προκαλούν αλλαγές στις συχνότητες των γονιδίων. Αυτό συμβαίνει επειδή ορισμένα αλληλόμορφα βοηθούν ή βλάπτουν την αναπαραγωγική επιτυχία των οργανισμών που τις μεταφέρουν. Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να διαταράξει αυτή την ισορροπία είναι η γενετική παρέκκλιση, η οποία συμβαίνει όταν οι συχνότητες των αλληλόμορφων, τυχαία αυξάνονται ή μειώνονται, και συνήθως λαμβάνουν χώρα σε μικρούς πληθυσμούς. Η γονιδιακή ροή, η οποία συμβαίνει κατά την αναπαραγωγή μεταξύ δύο πληθυσμών όταν μεταφέρονται νέα αλληλόμορφα σε έναν πληθυσμό, μπορεί επίσης να μεταβάλει την ισορροπία Hardy-Weinberg.

Όλες οι παραπάνω διαταραχές συνήθως συμβαίνουν στη φύση, επομένως η ισορροπία Hardy-Weinberg στην πραγματικότητα, σπάνια εφαρμόζεται. Ουσιαστικά, αυτή η ισορροπία περιγράφει μια εξιδανικευμένη κατάσταση και οι

γενετικές παραλλαγές που συναντώνται στη φύση αποτελούν αλλαγές αυτής της κατάστασης ισορροπίας.

12 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων για τους δύο πολυμορφισμούς, πραγματοποιήθηκε εφόσον εξακριβώθηκε ότι, τόσο η ομάδα των ασθενών όσο και των υγιών ατόμων, δεν παρεκκλίνει από το ισοζύγιο Hardy-Weinberg, βάσει της αξιολόγησης με τη δοκιμασία χ^2 . Στατιστικά σημαντικό θεωρήθηκε κάθε αποτέλεσμα για την τιμή $p < 0.05$. Η διαφορά μεταξύ των συχνοτήτων εμφάνισης των γονότυπων και των αλληλόμορφων αξιολογήθηκε μέσω της δοκιμασίας χ^2 . Η συσχέτιση των SNP με τα νεοπλάσματα του παγκρέατος πραγματοποιήθηκε με βάση την αναλογία πιθανοτήτων (Odds Ratio, OR) και το διάστημα αξιοπιστίας κατά 95% (Confidence Interval, CI).

12.1 Κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού

Η διερεύνηση των πολυμορφισμών έγινε σε γενωμικό DNA που απομονώθηκε από νεοπλασματικό ιστό και/ή από περιφερικό αίμα 111 ασθενών με ΠΑ, 56 ασθενών με NN του παγκρέατος (23 με μη-λειτουργικά και 33 με λειτουργικά νευροενδοκρινή νεοπλάσματα), καθώς και από περιφερικό αίμα 125 υγιών μαρτύρων όπως φαίνεται στον Πίνακα 9. Στον Πίνακα βλέπουμε επίσης πως όσον αφορά το ΠΑ ο αριθμός των ασθενών με στάδιο TNM I, II, III και IV ήταν 18, 54, 35 και 4 αντίστοιχα. Ο μεγαλύτερος αριθμός των ΠΑ εντοπιζόταν στην κεφαλή του οργάνου (κεφαλή vs σώμα/ουρά, 83 vs 28) και στην πλειοψηφία τους ήταν μέτριας/φτωχής διαφοροποίησης (μέτρια/φτωχή vs καλή, 102 vs 9). Αντίθετα, ο μεγαλύτερος αριθμός των NNΠ εντοπιζόταν στο σώμα και στην ουρά του οργάνου (κεφαλή vs σώμα/ουρά, 21 vs 35) και στην πλειοψηφία τους

ήταν σταδίου G1 (G1 vs G2 vs G3, 38 vs 15 vs 3). Η κατανομή του φύλου και της ηλικίας ήταν παρόμοια μεταξύ πασχόντων και υγιών μαρτύρων, ενώ όσον αφορά το κάπνισμα και την κατανάλωση αλκοόλ δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p>0,05$).

Πίνακας 9

κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

	ΠΑ (Αρ.)	NNΠ (Αρ.)	Μάρτυρες (Αρ.)
Αριθμός	111	56	125
Μέση ηλικία (έτη)	62	58.6	60.2
Φύλο (Α/Θ)	70/41	24/32	76/49
Στάδιο TNM			
<i>I</i>	18		
<i>II</i>	54		
<i>III</i>	35		
<i>IV</i>	4		
Στάδιο G			
<i>G1</i>		38	
<i>G2</i>		15	
<i>G3</i>		3	
Εντόπιση			
<i>Κεφαλή</i>	83	21	
<i>Σώμα/ουρά</i>	28	35	
Διαφοροποίηση			
<i>Καλή</i>	9		
<i>Μέτρια</i>	48		
<i>Φτωχή</i>	54		
Κάπνισμα			
<i>Ναι</i>	33	16	53
<i>Όχι</i>	77	40	72
Αλκοόλ			
<i>Ναι</i>	48	24	50
<i>Όχι</i>	63	32	75

12.2 Αποτελέσματα για τον rs1561927 PVT1

Το G αλληλόμορφο του rs1561927 PVT1 πολυμορφισμού εκφραζόταν στατιστικά περισσότερο τόσο στους ασθενείς με ΠΑ (10.81% vs 4.8%, $p=0.009$), όσο και στους ασθενείς με ΝΝΠ του παγκρέατος (16.07% vs 4.8%, $p=0.01$) συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες (πίνακας 10).

Πίνακας 10

συχνότητες γονότυπων και αλληλόμορφων του PVT1 rs1561927 πολυμορφισμού στα ΠΑ, στα ΝΝΠ και στους υγιείς μάρτυρες

PVT1	Μάρτυρες (Αρ=125)	ΠΑ (Αρ=111)	p ; OR (95% CI)	ΝΝΠ (Αρ =56)	p ; OR (95% CI)
rs1561927					
AA	79	39	1.00	25	1.00
AG	40	60	<0.0001 ; 3.04 (1.74-65.29)	22	0.15; 1.74 (0.87-3.46)
GG	6	12	0.009 ; 4.05 (1.41-11.61)	9	0.01 ; 4.74 (1.54-14.63)

Επιπλέον, οι γονότυποι AG και GG είχαν στατιστικά μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν ΠΑ 3.04 ($p<0.0001$) και 4.05 ($p=0.009$) φορές αντίστοιχα συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες. Όσον αφορά τους ΝΝΠ μόνο ο GG γονότυπος είχε στατιστικά μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξει το νεόπλασμα συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες [OR 4.74 ($p=0.01$)], ενώ ο γονότυπος AG όχι [OR 1.74 ($p=0.15$)].

Δεδομένα που αφορούν την επιβίωση υπήρξαν μόνο για τους ασθενείς με ΠΑ (Πίνακα 11). Ο μέσος όρος παρακολούθηση ήταν 25 μήνες (range 1-221 μήνες)

και σ' αυτό το διάστημα απεβίωσαν συνολικά, λόγω νεοπλασίας, 49 ασθενείς με ΠΑ. Όπως φαίνεται στον πίνακα 11 οι γονότυποι PVT1 rs1561927 AG και GG συνδέθηκαν στατιστικά περισσότερο με χειρότερη πρόγνωση (Hazard ratio 2.44, $p=0.005$ και 4.09, $p=0.02$ αντίστοιχα) συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες με γονότυπο AA.

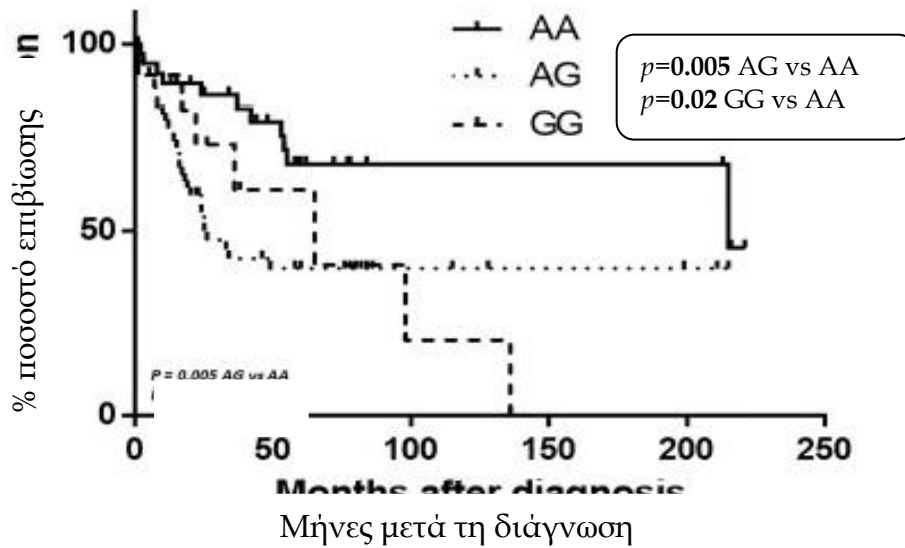
Πίνακας 11

γονότυποι του PVT1 rs1561927 πολυμορφισμού και επιβίωση στους ασθενείς με ΠΑ

PVT1 rs1561927		ΠΑ - Συνολική επιβίωση		<i>p</i>
Γονότυπος	Αριθμός	8ετής επιβίωση (%)*	Λόγος επιπτώσεων- Hazard ratio (95% CI)	
AA	11	7.96	1.00	
AG	31	56.66	2.44 (1.31-4.53)	0.005
GG	7	44.16	4.09 (1.22-13.74)	0.02

*ανάλυση Kaplan-Meier

Η σύγκριση των 3 γονότυπων AA, AG, GG του PVT1 rs1561927 αναφορικά με την επιβίωση στο ΠΑ φαίνεται στην Εικόνα 16.



Εικόνα 16

σύγκριση επιβίωσης των AA, AG και GG πολυμορφισμών του PVT1 rs1561927

Από πολυπαραγοντική ανάλυση προκύπτει πως τόσο οι γονότυποι AG/GG όσο και το στάδιο TNM αποτελούν ανεξάρτητες μεταβλητές κακής πρόγνωσης για το ΠΑ ($p=0.0001$ και 0.008 αντίστοιχα), (πίνακας 12).

Πίνακας 12

πολυπαραγοντική ανάλυση συνολικής επιβίωσης**

Covariant	Συντελεστής B	SE	p	Correlation coefficient (r)	95% CI σχετικού κινδύνου
Συνολική επιβίωση					
TNM	0.34	0.08	0.0001	0.353	0.18-0.51
AG/GG γονότυποι rs1561927	0.24	0.09	0.008	0.252	0.07-0.42

**Μοντέλο αναλογικού κινδύνου Cox. Οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν σε 2 ομάδες TNM (I+II και III+IV)

12.3 Αποτελέσματα για τον rs4759314 HOTAIR

Το G αλληλόμορφο του rs4759314 HOTAIR πολυμορφισμού εκφραζόταν στατιστικά περισσότερο μόνο στους ασθενείς με ΝΝΠ σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες (7.14% vs 0.8%, $p=0.02$). Επιπλέον, οι γονότυποι AG και GG είχαν στατιστικά μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν ΝΝΠ 2.6 ($p<0.01$) και 12.5 ($p=0.02$) φορές αντίστοιχα συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες. Αντίθετα, δεν υπήρχε διαφορά έκφρασης του G αλληλόμορφου καθώς και των AG/GG γονότυπων μεταξύ των ασθενών με ΠΑ και των υγιών μαρτύρων (πίνακας 13).

Πίνακας 13

συχρότητες γονότυπων και αλληλόμορφων του HOTAIR rs4759314 πολυμορφισμού στα ΠΑ, στα ΝΝΠ και στους υγιείς μάρτυρες

HOTAIR	Μάρτυρες (Αρ=125)	ΠΑ (Αρ=111)	<i>p</i> ; OR (95% CI)	ΝΝΠ (Αρ =56)	<i>p</i> ; OR (95% CI)
rs4759314					
AA	100	81	1.00	32	1.00
AG	24	25	0.52; 1.28 (0.68-2.42)	20	0.01 ; 2.6 (1.27-55.32)
GG	1	5	0.09; 6.17 (0.71-53.93)	4	0.02 ; (1.35-115.98)

13 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια αποδεικνύετε πως τα lncRNA διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση διαφόρων νεοπλασιών συμπεριλαμβανομένου και του παγκρεατικού καρκίνου¹⁵⁹. Πολλές μελέτες αναδεικνύουν υψηλά επίπεδα έκφρασης διαφόρων lncRNA όπως τα H19, HOTAIR, HOTTIP και MALAT-1 σε δείγματα καρκινικού παγκρεατικού ιστού¹⁶⁰, αν και τα περισσότερα από αυτά δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς στο πορογενές αδενοκαρκίνωμα και στα νευροενδοκρινή νεοπλάσματα του παγκρέατος.

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι η ανεύρεση πιθανής συσχέτισης δυο SNP σε δυο lncRNA κλειδιά (PVT1 και HOTAIR) με τον κίνδυνο εμφάνισης ΠΑ και NN του παγκρέατος.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν σημαντική συσχέτιση του PVT1 rs1561927 G αλληλόμορφου με τον κίνδυνο ανάπτυξης τόσο ΠΑ όσο και NN του παγκρέατος στον υπό μελέτη πληθυσμό. Πρόσφατες αναλύσεις συνδέουν την υπερέκφραση του lncRNA PVT1 στα ΠΑ με αυξημένο κίνδυνο εξάπλωσης της νεοπλασίας υποθέτοντας πως το PVT1 θα μπορούσε να αποτελέσει πιθανό βιοδείκτη για τη συγκεκριμένη νεοπλασία¹³⁶. Όσον αφορά το ΠΑ τα αποτελέσματα μας είναι σε συμφωνία με τις μελέτες των Wolpin¹⁶¹, Zhang¹⁶² και συνεργατών που ανέδειξαν συσχέτιση της χρωμοσωμικής περιοχής 8q24.21 μεταξύ PVT1 και LINC00977 με τον κίνδυνο ανάπτυξης παγκρεατικού καρκίνου. Συγκεκριμένα στη μελέτη μας βρέθηκε πως το PVT1 rs1561927 G αλληλόμορφο είναι αυτό που σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΠΑ στον υπό μελέτη πληθυσμό κάτι το οποίο είχε παρατηρηθεί και στη μελέτη του Wolpin και συνεργατών για πληθυσμό της Νότιας Ευρώπης¹⁶¹. Το γεγονός πως συσχετίσαμε την υπερέκφραση του PVT1 rs1561927 G αλληλόμορφου με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης NN του παγκρέατος φαίνεται πως ενισχύει την υπόθεση των Canzian¹⁶³ και Obazee¹⁶⁴ πως τα δυο αυτά νεοπλάσματα μπορεί να έχουν κοινό γενετικό υπόβαθρο και πως η διαδικασία της καρκινογένεσης είναι παρόμοια για τα εξωκρινή και νευροενδοκρινή κύτταρα του παγκρέατος. Επιπλέον, ο Haugvik και συνεργάτες ανέφεραν πως παρά το γεγονός πως δεν υπάρχει εμφανή συσχέτιση περιβαλλοντικών παραγόντων με την εμφάνιση NN του παγκρέατος, ωστόσο θεωρούν πιθανή ύπαρξη κοινών παραγόντων κινδύνου για την ανάπτυξη ΠΑ και NNΠ¹⁶⁵. Ο You και οι συνεργάτες υπέδειξαν το PVT1 ως ρυθμιστή της ανταπόκρισης του παγκρεατικού καρκίνου στη θεραπεία με Gemcitabine¹⁶⁶.

Αξιίζει να σημειωθεί επιπλέον πως στη μελέτη μας αποδεικνύεται συσχέτιση του PVT1 rs1561927 πολυμορφισμού με την συνολική επιβίωση των ασθενών, ενώ αντίθετα δεν φαίνεται να σχετίζεται με το στάδιο του καρκίνου το οποίο είναι γνωστός προγνωστικός δείκτης επιβίωσης. Για την ενίσχυση της υπόθεσης συσχέτισης των rs1561927 AG/GG γονοτύπων με φτωχή επιβίωση χρειάζονται επιπλέον μελέτες σε μεγαλύτερα πληθυσμιακά δείγματα έτσι ώστε αυτοί να μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν για προγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς στο μέλλον. Επιπλέον μελέτες της έκφρασης του PVT1 και του έλεγχου σηματοδοτικών μονοπατιών μπορεί να μας βοηθήσουν να κατανοήσουμε τη εμπλοκή του στην καρκινογένεση των παγκρεατικών νεοπλασμάτων.

Όσον αφορά το HOTAIR, νεότερα δεδομένα δείχνουν πως πολυμορφισμοί στη HOX περιοχή και συγκεκριμένα στο HOTAIR σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης διαφόρων νεοπλασιών¹⁴⁶. Πιο συγκεκριμένα το HOTAIR φαίνεται να συνδέεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων, τη διήθηση και την εξάπλωση του καρκίνου καθώς και με κακή πρόγνωση επιβίωσης⁹⁰.

Παρά το γεγονός πως το rs4759314 αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου ιδιαίτερα στην Κίνα¹⁶⁷ στην παρούσα μελέτη δεν αποδείχτηκε συσχέτιση μεταξύ του συγκεκριμένου πολυμορφισμού και τον κίνδυνο ανάπτυξης ΠΑ. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας είναι σύμφωνα με αυτά μελέτης του Hu και συνεργατών¹⁶⁸ στην οποία δεν επιβεβαιώνεται συσχέτιση του rs4759314 με την ανάπτυξη παγκρεατικού καρκίνου καθώς και με εκείνα της μετα-ανάλυσης του Zhang και συνεργατών¹⁴⁴ στην οποία δεν βρέθηκε συσχέτιση του πολυμορφισμού rs4759314 (A>G), με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου.

Παρόλα αυτά, στη μελέτη μας, βρέθηκε σημαντική συσχέτιση της υπερέκφρασης του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με G>A στα NN του παγκρέατος υποδηλώνοντας τη σχέση του με την ανάπτυξη του νεοπλασματος αυτού. Αξίζει να σημειωθεί πως το HOTAIR έχει συσχετιστεί στην εμφάνιση μικροκυτταρικού καρκίνου στον πνεύμονα ο οποίος έχει επίσης νευροενδοκρινική προέλευση¹⁶⁹.

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν την σχέση των lncRNA στην ανάπτυξη νεοπλασιών του παγκρέατος είναι περιορισμένα, ωστόσο με τη μελέτη αυτή επιβεβαιώθηκαν πρόσφατα δεδομένα που συνδέουν τον PVT1 rs1561927 πολυμορφισμό με τον κίνδυνο ανάπτυξης ΠΑ και ΝΝΠ. Όσον αφορά τον HOTAIR rs4759314 πολυμορφισμό, αυτός δεν φαίνεται να συνδέεται με τον κίνδυνο ανάπτυξης ΠΑ όμως αντίθετα φαίνεται να σχετίζεται με την ανάπτυξη ΝΝΠ.

Οι SNP και πιο συγκεκριμένα η απορύθμιση lncRNA όπως το HOTAIR και το PVT1 φαίνεται ότι συχνά σχετίζονται με κακοήθειες μεταξύ των άλλων και με τον παγκρεατικό καρκίνο.

Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενος σήμερα βιοδείκτης για την ανίχνευση του ΠΑ είναι το Ca 19-9¹⁷⁰ ο οποίος όμως δεν εκφράζεται στο 10% των Καυκάσιων¹⁷¹. Παρομοίως για τα ΝΝΠ, η χρωμογρανίνη-A (CgA) χρησιμοποιείται ως σημαντικότερος ορολογικός δείκτης ανίχνευσης με αμφοβητούμενη όμως ευαισθησία^{172,173}. Για το λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια μελετάται η αξία των υπό μελέτη lncRNA-SNP ως βιοδείκτες πρώιμης ανίχνευσης αυτών των νεοπλασιών και πιθανά η χρήση τους θεραπευτικούς στόχους. Ωστόσο επιπλέον μελέτες με μεγαλύτερες πληθυσμιακές ομάδες είναι απαραίτητες για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων αυτών.

14 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ferlay, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer* (2015). doi:10.1002/ijc.29210
2. Ilic, M. & Ilic, I. Epidemiology of pancreatic cancer. *World Journal of Gastroenterology* (2016). doi:10.3748/wjg.v22.i44.9694
3. Bosman, F., Carneiro, F., Hruban, R. & Theise, N. WHO classification of tumors of digestive system. *WHO Press* (2010).
4. Hackeng, W. M., Hruban, R. H., Offerhaus, G. J. A. & Brosens, L. A. A. Surgical and molecular pathology of pancreatic neoplasms. *Diagnostic Pathology* (2016). doi:10.1186/s13000-016-0497-z
5. Klimstra, D. S. Nonductal neoplasms of the pancreas. *Mod. Pathol.* (2007). doi:10.1038/modpathol.3800686
6. Becker, A. E., Hernandez, Y. G., Frucht, H. & Lucas, A. L. Pancreatic ductal adenocarcinoma: Risk factors, screening, and early detection. *World Journal of Gastroenterology* (2014). doi:10.3748/wjg.v20.i32.11182
7. Go, V. L. W. Tumors of the Pancreas (Atlas of Tumor Pathology Series 4). *Pancreas* (2007). doi:10.1097/mpa.0b013e3181591e16
8. Capella, C., Albarello, L., Capelli, P., Sessa, F. & Zamboni, G. Carcinoma of the exocrine pancreas: The histology report. *Dig. Liver Dis.* (2011). doi:10.1016/S1590-8658(11)60584-7
9. Morana, G., Cancian, L., Pozzi Mucelli, R. & Cugini, C. Staging cancer of the pancreas. *Cancer Imaging* **10 Spec no**, S137–S141 (2010).
10. Masia, R., Mino-Kenudson, M., Warshaw, A. L., Pitman, M. B. & Misdraji, J. Pancreatic mucinous cystic neoplasm of the main pancreatic duct. *Arch. Pathol. Lab. Med.* (2011).
11. Yamaguchi, H. *et al.* Intraductal tubulopapillary neoplasms of the pancreas distinct from pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms. *Am. J. Surg. Pathol.* (2009). doi:10.1097/PAS.0b013e3181a162e5
12. Tanaka, M. *et al.* International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas. in *Pancreatology* (2012). doi:10.1016/j.pan.2012.04.004
13. Terhune, P. G., Phifer, D. M., Tosteson, T. D. & Longnecker, D. S. K-ras

- mutation in focal proliferative lesions of human pancreas. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* (1998).
14. Shi, C. *et al.* Increased prevalence of precursor lesions in familial pancreatic cancer patients. *Clin. Cancer Res.* (2009). doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0004
 15. Ryan DP, Hong TS, B. N. Pancreatic adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1039–1049 (2014). doi:10.1056/NEJMra1404198
 16. Siegel, R., Ma, J., Zou, Z. & Jemal, A. Cancer Statistics USA, 2014. *CA Cancer J Clin* (2014). doi:10.3322/caac.21208
 17. Y., H., R., Z., D., L., H., Z. & S., Z. Pancreatic cancer incidence and mortality patterns in China, 2011. *Chinese Journal of Cancer Research* (2015).
 18. Yuan, C. *et al.* Cigarette smoking and pancreatic cancer survival. *J. Clin. Oncol.* (2017). doi:10.1200/JCO.2016.71.2026
 19. Wolfgang CL1, Herman JM, Laheru DA, Klein AP, Erdek MA, Fishman EK, H. R. Recent progress in pancreatic cancer. *CA Cancer J Clin* 318–48 (2013). doi:10.3322/caac.21190
 20. Bosetti, C. *et al.* Cigarette smoking and pancreatic cancer: An analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PANC4). *Ann. Oncol.* (2012). doi:10.1093/annonc/mdr541
 21. Bosetti, C. *et al.* Pancreatic cancer: Overview of descriptive epidemiology. *Mol. Carcinog.* (2012). doi:10.1002/mc.20785
 22. ML, P., JF, T. & RA, M. Genetic Testing in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Implications for Prevention and Treatment. *Clin. Ther.* (2016).
 23. Campa, D. *et al.* Common germline variants within the CDKN2A/2B region affect risk of pancreatic neuroendocrine tumors. *Sci. Rep.* (2016). doi:10.1038/srep39565
 24. Childs, E. J. *et al.* Common variation at 2p13.3, 3q29, 7p13 and 17q25.1 associated with susceptibility to pancreatic cancer. *Nat. Genet.* (2015). doi:10.1038/ng.3341
 25. Klöppel, G. Chronic pancreatitis, pseudotumors and other tumor-like lesions. *Modern Pathology* (2007). doi:10.1038/modpathol.3800690
 26. Stathis, A. & Moore, M. J. Advanced pancreatic carcinoma: Current treatment and future challenges. *Nature Reviews Clinical Oncology* (2010).

doi:10.1038/nrclinonc.2009.236

27. Seufferlein, T., Bachet, J. B., Van cutsem, E. & Rougier, P. Pancreatic adenocarcinoma: ESMO-ESDO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* (2012). doi:10.1093/annonc/mds224
28. Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, G. M. Pancreatic cancer. *Lancet* 607–620 (2011). doi:10.1016/S0140-6736(10)62307-0
29. Von Hoff, D. D. *et al.* Increased Survival in Pancreatic Cancer with nab-Paclitaxel plus Gemcitabine. *N. Engl. J. Med.* (2013). doi:10.1056/nejmoa1304369
30. <https://clinicaltrials.gov>.
https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=pancreatic+cancer+targeted+treatment&Search=Apply&recrs=h&recrs=e&age_v=&age=1&gndr=&type=&rslt=. (2019).
31. <https://clinicaltrials.gov>.
https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=pancreatic+cancer+targeted+treatment&Search=Apply&recrs=a&recrs=f&recrs=d&age_v=&gndr=&type=&rslt=. (2019).
32. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System.* (2016).
33. Gil, Z. *et al.* Paracrine regulation of pancreatic cancer cell invasion by peripheral nerves. *J. Natl. Cancer Inst.* (2010). doi:10.1093/jnci/djp456
34. Chiaravalli, M., Reni, M. & O'Reilly, E. M. Pancreatic ductal adenocarcinoma: State-of-the-art 2017 and new therapeutic strategies. *Cancer Treatment Reviews* (2017). doi:10.1016/j.ctrv.2017.08.007
35. Edge SB, C. C. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol.* **17**, 1471–4 (2010).
36. Bilimoria, K. Y. *et al.* Validation of the 6th edition AJCC pancreatic cancer staging system: Report from the National Cancer Database. *Cancer* (2007). doi:10.1002/cncr.22852
37. Thakker, R. V. *et al.* Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* (2012). doi:10.1210/jc.2012-1230
38. MA, H. *Miscellaneous endocrine disorders.* In: Berry SM, Bass RC, Heaton KM, eds. *The Mont Reid Surgical Handbook.* 4th ed. St Louis. (1997).

39. Ro, C., Chai, W., Yu, V. E. & Yu, R. Pancreatic neuroendocrine tumors: Biology, diagnosis, and treatment. *Chinese Journal of Cancer* (2013). doi:10.5732/cjc.012.10295
40. Jensen RT, N. J. *Endocrine tumors of the pancreas*. (1998).
41. Nakeeb A, Lillemoe KD, Y. C. *Neoplasms of the exocrine pancreas*. (2001).
42. CJ, Y. *Neoplasms of the endocrine pancreas*. (2001).
43. Whipple AO, F. V. Adenoma of islet cells with hyperinsulinism: a review. *Ann Surg* **101**, 1299–335 (19355).
44. Higgins, G. A., Recant, L. & Fischman, A. B. The glucagonoma syndrome: Surgically curable diabetes. *Am. J. Surg.* (1979). doi:10.1016/0002-9610(79)90025-4
45. Burns, W. R. & Edil, B. H. Neuroendocrine pancreatic tumors: Guidelines for management and update. *Current Treatment Options in Oncology* (2012). doi:10.1007/s11864-011-0172-2
46. Falconi, M. *et al.* ENETS consensus guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine neoplasms of the digestive system: Well-differentiated pancreatic non-functioning tumors. *Neuroendocrinology* (2012). doi:10.1159/000335587
47. Jensen, R. T. *et al.* ENETS consensus guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine neoplasms: Functional pancreatic endocrine tumor syndromes. *Neuroendocrinology* (2012). doi:10.1159/000335591
48. Liu, J. B. & Baker, M. S. Surgical Management of Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Surgical Clinics of North America* (2016). doi:10.1016/j.suc.2016.07.002
49. Öberg, K., Knigge, U., Kwekkeboom, D. & Perren, A. Neuroendocrine gastro-entero-pancreatic tumors: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* (2012). doi:10.1093/annonc/mds295
50. Everolimus Approved for Pancreatic Neuroendocrine Tumors The ASCO Post. in (2016).
51. Benson AB, Myerson RJ, S. A. *Pancreatic, neuroendocrine GI, and adrenal cancers. Cancer Management: A Multidisciplinary Approach.* (2010).
52. Falconi M, Eriksson B, Kaltsas G, Bartsch DK, Capdevila J, Caplin M, Kos-

- Kudla B, Kwekkeboom D, Rindi G, Klöppel G, Reed N, Kianmanesh R, J. R. V. C. C. participants. ENETS Consensus Guidelines Update for the Management of Patients with Functional Pancreatic Neuroendocrine Tumors and Non-Functional Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Neuroendocrinology* **103**, 153–71 (2016).
53. Jacob, F. & Monod, J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology* (1961). doi:10.1016/S0022-2836(61)80072-7
 54. Watson, J. D. Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. 1953. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* (1993). doi:10.1001/jama.269.15.1966
 55. Mandelkern, M., Elias, J. G., Eden, D. & Crothers, D. M. The dimensions of DNA in solution. *J. Mol. Biol.* (1981). doi:10.1016/0022-2836(81)90099-1
 56. Gregory, S. G. *et al.* The DNA sequence and biological annotation of human chromosome 1. *Nature* (2006). doi:10.1038/nature04727
 57. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). Abbreviations and Symbols for nucleic acids, polynucleotides and their constituents. *J. Mol. Biol.* (1971). doi:10.1016/0022-2836(71)90319-6
 58. Berg J, Tymoczko J, S. L. *Biochemistry.* (2002).
 59. Lee, J. C. & Gutell, R. R. Diversity of base-pair conformations and their occurrence in rRNA structure and RNA structural motifs. *J. Mol. Biol.* (2004). doi:10.1016/j.jmb.2004.09.072
 60. Barciszewski J, Frederic B, C. C. *RNA biochemistry and biotechnology.* (1999).
 61. McCulloch, S. D. & Kunkel, T. A. The fidelity of DNA synthesis by eukaryotic replicative and translesion synthesis polymerases. *Cell Research* (2008). doi:10.1038/cr.2008.4
 62. Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann AA, Levine M, L. R. *Molecular Biology of the Gene (7th ed.)*. (2013).
 63. Lykke-Andersen, S. & Jensen, T. H. Overlapping pathways dictate termination of RNA polymerase II transcription. *Biochimie* (2007). doi:10.1016/j.biochi.2007.05.007
 64. Berretta, J. & Morillon, A. Pervasive transcription constitutes a new level of eukaryotic genome regulation. *EMBO Reports* (2009). doi:10.1038/embor.2009.181

65. Djebali, S. *et al.* Landscape of transcription in human cells. *Nature* (2012). doi:10.1038/nature11233
66. Lander, E. S. *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* (2001). doi:10.1038/35057062
67. Ohno, S. So much 'junk' DNA in our genome. *Brookhaven Symp. Biol.* (1972).
68. Comings, D. E. *The genetic organization of chromosomes.* (1972).
69. Orgel, L. E., and F. H. C. C. *Selfish DNA: the ultimate parasite.* (1980).
70. Paul J, D. J. *Chromatin-associated RNA content of heterochromatin and euchromatin.* (1975).
71. Bernstein E, A. C. *RNA meets chromatin.* (2005).
72. Bushati, N. & Cohen, S. M. microRNA Functions. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* (2007). doi:10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123406
73. Esteller, M. Non-coding RNAs in human disease. *Nature Reviews Genetics* (2011). doi:10.1038/nrg3074
74. Nagao, Y. *et al.* Association of microRNA-21 expression with its targets, PDCD4 and TIMP3, in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mod. Pathol.* (2012). doi:10.1038/modpathol.2011.142
75. Hamada, S. *et al.* MiR-126 acts as a tumor suppressor in pancreatic cancer cells via the regulation of ADAM9. *Mol. Cancer Res.* (2012). doi:10.1158/1541-7786.MCR-11-0272
76. Ji, Q. *et al.* MicroRNA miR-34 inhibits human pancreatic cancer tumor-initiating cells. *PLoS One* (2009). doi:10.1371/journal.pone.0006816
77. Hao, J., Zhang, S., Zhou, Y., Hu, X. & Shao, C. MicroRNA 483-3p suppresses the expression of DPC4/Smad4 in pancreatic cancer. *FEBS Lett.* (2011). doi:10.1016/j.febslet.2010.11.039
78. Zhao, G. *et al.* MiR-148b functions as a tumor suppressor in pancreatic cancer by targeting AMPK α 1. *Mol. Cancer Ther.* (2013). doi:10.1158/1535-7163.MCT-12-0534-T
79. Yoshino, H. *et al.* Aberrant expression of microRNAs in bladder cancer. *Nature Reviews Urology* (2013). doi:10.1038/nrrol.2013.113
80. Mercer, T. R., Dinger, M. E. & Mattick, J. S. Long non-coding RNAs: Insights into functions. *Nature Reviews Genetics* (2009). doi:10.1038/nrg2521

81. Prensner, J. R. *et al.* Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies PCAT-1, an unannotated lincRNA implicated in disease progression. *Nat. Biotechnol.* (2011). doi:10.1038/nbt.1914
82. Mercer, T. R. & Mattick, J. S. Structure and function of long noncoding RNAs in epigenetic regulation. *Nature Structural and Molecular Biology* (2013). doi:10.1038/nsmb.2480
83. Johnsson, P., Lipovich, L., Grandér, D. & Morris, K. V. Evolutionary conservation of long non-coding RNAs; Sequence, structure, function. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* (2014). doi:10.1016/j.bbagen.2013.10.035
84. Novikova, I. V., Hennelly, S. P. & Sanbonmatsu, K. Y. Structural architecture of the human long non-coding RNA, steroid receptor RNA activator. *Nucleic Acids Res.* (2012). doi:10.1093/nar/gks071
85. Chen, L. L. & Carmichael, G. G. Decoding the function of nuclear long non-coding RNAs. *Current Opinion in Cell Biology* (2010). doi:10.1016/j.ceb.2010.03.003
86. Kino, T., Hurt, D. E., Ichijo, T., Nader, N. & Chrousos, G. P. Noncoding RNA Gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Sci. Signal.* (2010). doi:10.1126/scisignal.2000568
87. Gibb, E. A., Brown, C. J. & Lam, W. L. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Molecular Cancer* (2011). doi:10.1186/1476-4598-10-38
88. Prensner, J. R. & Chinnaiyan, A. M. The emergence of lncRNAs in cancer biology. *Cancer Discovery* (2011). doi:10.1158/2159-8290.CD-11-0209
89. Reis, E. M. *et al.* Antisense intronic non-coding RNA levels correlate to the degree of tumor differentiation in prostate cancer. *Oncogene* (2004). doi:10.1038/sj.onc.1207880
90. Gupta, R. A. *et al.* Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* (2010). doi:10.1038/nature08975
91. Gong, Z. *et al.* LOC401317, a p53-regulated long non-coding RNA, inhibits cell proliferation and induces apoptosis in the nasopharyngeal carcinoma cell line HNE2. *PLoS One* (2014). doi:10.1371/journal.pone.0110674
92. Gong Z, Zhang S, *et al.* Long non-coding RNAs in cancer. *Sci. China Life Sci.* 2012 **55**(12), 1120–1124 (2012).
93. Bo, H. *et al.* Upregulated long non-coding RNA AFAP1-AS1 expression is

- associated with progression and poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget* (2015). doi:10.18632/oncotarget.4057
94. Zeng, Z. *et al.* AFAP1-AS1, a long noncoding RNA upregulated in lung cancer and promotes invasion and metastasis. *Tumor Biol.* (2016). doi:10.1007/s13277-015-3860-x
 95. Zhang, W. *et al.* Expression of LINC00312, a long intergenic non-coding RNA, is negatively correlated with tumor size but positively correlated with lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *J. Mol. Histol.* (2013). doi:10.1007/s10735-013-9503-x
 96. Ponting, C. P., Oliver, P. L. & Reik, W. Evolution and Functions of Long Noncoding RNAs. *Cell* (2009). doi:10.1016/j.cell.2009.02.006
 97. Mirza, A. H., Kaur, S., Brorsson, C. A. & Pociot, F. Effects of GWAS-associated genetic variants on lncRNAs within IBD and T1D candidate loci. *PLoS One* (2014). doi:10.1371/journal.pone.0105723
 98. Yang, L., Froberg, J. E. & Lee, J. T. Long noncoding RNAs: Fresh perspectives into the RNA world. *Trends in Biochemical Sciences* (2014). doi:10.1016/j.tibs.2013.10.002
 99. Tsai, M. C. *et al.* Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* (80-.). (2010). doi:10.1126/science.1192002
 100. Pandey, R. R. *et al.* Kcnq1ot1 Antisense Noncoding RNA Mediates Lineage-Specific Transcriptional Silencing through Chromatin-Level Regulation. *Mol. Cell* (2008). doi:10.1016/j.molcel.2008.08.022
 101. Pasmant, E. *et al.* Characterization of a germ-line deletion, including the entire INK4/ARF locus, in a melanoma-neural system tumor family: Identification of ANRIL, an antisense noncoding RNA whose expression coclusters with ARF. *Cancer Res.* (2007). doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-2004
 102. Hall, J. R. *et al.* Long noncoding RNA lincRNA-p21 is the major mediator of UVB-induced and p53-dependent apoptosis in keratinocytes. *Cell Death Dis.* (2015). doi:10.1038/cddis.2015.67
 103. Huarte, M. *et al.* A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell* (2010). doi:10.1016/j.cell.2010.06.040
 104. Hung, T. *et al.* Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters. in *Nature Genetics* (2011). doi:10.1038/ng.848

105. Puvvula, P. K. *et al.* Long noncoding RNA PANDA and scaffold-attachment-factor SAFA control senescence entry and exit. *Nat. Commun.* (2014). doi:10.1038/ncomms6323
106. Kallen, A. N. *et al.* The Imprinted H19 LncRNA Antagonizes Let-7 MicroRNAs. *Mol. Cell* (2013). doi:10.1016/j.molcel.2013.08.027
107. Hutchinson, J. N. *et al.* A screen for nuclear transcripts identifies two linked noncoding RNAs associated with SC35 splicing domains. *BMC Genomics* (2007). doi:10.1186/1471-2164-8-39
108. Tripathi, V. *et al.* The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol. Cell* (2010). doi:10.1016/j.molcel.2010.08.011
109. Wilusz, C. J. & Wilusz, J. HuR and Translation-The Missing Linc(RNA). *Molecular Cell* (2012). doi:10.1016/j.molcel.2012.08.005
110. Yoon, J. H. *et al.* LincRNA-p21 Suppresses Target mRNA Translation. *Mol. Cell* (2012). doi:10.1016/j.molcel.2012.06.027
111. Wang, K. C. *et al.* A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature* (2011). doi:10.1038/nature09819
112. Li, X., Wu, Z., Fu, X. & Han, W. LncRNAs: Insights into their function and mechanics in underlying disorders. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (2014). doi:10.1016/j.mrrev.2014.04.002
113. Campa D, Pastore M, Gentiluomo M, *et al.* Functional single nucleotide polymorphisms within the cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/2B region affect pancreatic cancer risk. *Oncotarget*. 2016 Aug 30;7(35)57011-57020 (2016). doi:10.18632/oncotarget.10935
114. Amundadottir, L. T. Pancreatic cancer genetics. *International Journal of Biological Sciences* (2016). doi:10.7150/ijbs.15001
115. Jaffee, E. M., Hruban, R. H., Canto, M. & Kern, S. E. Focus on pancreas cancer. *Cancer Cell* (2002). doi:10.1016/S1535-6108(02)00093-4
116. Hezel, A. F., Kimmelman, A. C., Stanger, B. Z., Bardeesy, N. & Depinho, R. A. Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes Dev.* (2006).
117. Moschovis, D., Gazouli, M., Tzouvala, M., Vezakis, A. & Karamanolis, G. Long non-coding rna in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic neuroendocrine tumors. *Annals of Gastroenterology* (2017).

doi:10.20524/aog.2017.0185

118. Matouk, I. *et al.* The increasing complexity of the oncofetal H19 gene locus: Functional dissection and therapeutic intervention. *International Journal of Molecular Sciences* (2013). doi:10.3390/ijms14024298
119. Shoshani, O. *et al.* Polyploidization of murine mesenchymal cells is associated with suppression of the long noncoding RNA H19 and reduced tumorigenicity. *Cancer Res.* (2012). doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-1155
120. Ravid, O. *et al.* Relative genomic stability of adipose tissue derived mesenchymal stem cells: Analysis of ploidy, H19 long non-coding RNA and p53 activity. *Stem Cell Res. Ther.* (2014). doi:10.1186/scrt529
121. Vanharanta, S. & Massagué, J. Origins of Metastatic Traits. *Cancer Cell* (2013). doi:10.1016/j.ccr.2013.09.007
122. Li, Z. *et al.* The long non-coding RNA HOTTIP promotes progression and gemcitabine resistance by regulating HOXA13 in pancreatic cancer. *J. Transl. Med.* (2015). doi:10.1186/s12967-015-0442-z
123. Ji, P. *et al.* MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin β 4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* (2003). doi:10.1038/sj.onc.1206928
124. Zhang, H. min, Yang, F. qiang, Chen, S. J., Che, J. & Zheng, J. hua. Upregulation of long non-coding RNA MALAT1 correlates with tumor progression and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *Tumor Biol.* (2015). doi:10.1007/s13277-014-2925-6
125. Cho, S. F. *et al.* MALAT1 long non-coding RNA is overexpressed in multiple myeloma and may serve as a marker to predict disease progression. *BMC Cancer* (2014). doi:10.1186/1471-2407-14-809
126. Zheng, H. T. *et al.* High expression of lncRNA MALAT1 suggests a biomarker of poor prognosis in colorectal cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* (2014).
127. Yang, L. *et al.* NcRNA- and Pc2 methylation-dependent gene relocation between nuclear structures mediates gene activation programs. *Cell* (2011). doi:10.1016/j.cell.2011.08.054
128. Hirata, H. *et al.* Long noncoding RNA MALAT1 promotes aggressive renal cell carcinoma through Ezh2 and interacts with miR-205. *Cancer Res.* (2015). doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-2931
129. Liu, J. H., Chen, G., Dang, Y. W., Li, C. J. & Luo, D. Z. Expression and

- prognostic significance of lncRNA MALAT1 in pancreatic cancer tissues. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* (2014). doi:10.7314/APJCP.2014.15.7.2971
130. Wang, Y. *et al.* The long noncoding RNA MALAT-1 is a novel biomarker in various cancers: A meta-analysis based on the GEO database and literature. *J. Cancer* (2016). doi:10.7150/jca.14663
 131. Kim, K. *et al.* HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene* (2013). doi:10.1038/onc.2012.193
 132. Stratford, J. K. *et al.* A six-gene signature predicts survival of patients with localized pancreatic ductal adenocarcinoma. *PLoS Med.* (2010). doi:10.1371/journal.pmed.1000307
 133. Badea, L., Herlea, V., Dima, S. O., Dumitrascu, T. & Popescu, I. Combined gene expression analysis of whole-tissue and microdissected pancreatic ductal adenocarcinoma identifies genes specifically overexpressed in tumor epithelia. *Hepatogastroenterology.* (2008).
 134. Khalil, A. M. *et al.* Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2009). doi:10.1073/pnas.0904715106
 135. Hu, P., Shangguan, J. & Zhang, L. Downregulation of NUF2 inhibits tumor growth and induces apoptosis by regulating lncRNA AF339813. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* (2015).
 136. Huang, C. *et al.* Increased expression of the lncRNA PVT1 is associated with poor prognosis in pancreatic cancer patients. *Minerva Med.* (2015).
 137. Lu, X. *et al.* Downregulation of gas5 increases pancreatic cancer cell proliferation by regulating CDK6. *Cell Tissue Res.* (2013). doi:10.1007/s00441-013-1711-x
 138. Sun, Y. W. *et al.* A novel long non-coding RNA ENST00000480739 suppresses tumour cell invasion by regulating OS-9 and HIF-1 α in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Br. J. Cancer* (2014). doi:10.1038/bjc.2014.520
 139. Roldo, C. *et al.* MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior. *J. Clin. Oncol.* (2006). doi:10.1200/JCO.2005.05.5194
 140. Kentwell, J., Gundara, J. S. & Sidhu, S. B. Noncoding RNAs in Endocrine Malignancy. *Oncologist* (2014). doi:10.1634/theoncologist.2013-0458

141. Modali, S. D., Parekh, V. I., Kebebew, E. & Agarwal, S. K. Epigenetic regulation of the lncRNA MEG3 and its target c-MET in pancreatic neuroendocrine tumors. *Mol. Endocrinol.* (2015). doi:10.1210/me.2014-1304
142. American Joint Committee on Cancer. *AJCC Cancer Staging Handbook*. AJCC Cancer Staging Handbook (2010).
143. Öberg, K. & Castellano, D. Current knowledge on diagnosis and staging of neuroendocrine tumors. *Cancer Metastasis Rev.* (2011). doi:10.1007/s10555-011-9292-1
144. Zhang, Z.-X., Tong, X., Zhang, W.-N. & Fu, W.-N. Association between the HOTAIR polymorphisms and cancer risk: an updated meta-analysis. *Oncotarget* (2017). doi:10.18632/oncotarget.13880
145. Colombo, T., Farina, L., Macino, G. & Paci, P. PVT1: A Rising Star among Oncogenic Long Noncoding RNAs. *Biomed Res. Int.* (2015). doi:10.1155/2015/304208
146. Qi, Q. *et al.* Association of HOTAIR polymorphisms rs4759314 and rs920778 with cancer susceptibility on the basis of ethnicity and cancer type. *Oncotarget* (2016). doi:10.18632/oncotarget.9608
147. Tseng, Y. Y. *et al.* PVT1 dependence in cancer with MYC copy-number increase. *Nature* (2014). doi:10.1038/nature13311
148. Zhao, L. *et al.* LncRNA-PVT1 promotes pancreatic cancer cells proliferation and migration through acting as a molecular sponge to regulate miR-448. *J. Cell. Physiol.* (2018). doi:10.1002/jcp.26072
149. Wu, B. Q., Jiang, Y., Zhu, F., Sun, D. L. & He, X. Z. Long Noncoding RNA PVT1 Promotes EMT and Cell Proliferation and Migration Through Downregulating p21 in Pancreatic Cancer Cells. *Technol. Cancer Res. Treat.* (2017). doi:10.1177/1533034617700559
150. Zheng, X., Hu, H. & Li, S. High expression of lncRNA PVT1 promotes invasion by inducing epithelial-to-mesenchymal transition in esophageal cancer. *Oncol. Lett.* (2016). doi:10.3892/ol.2016.5026
151. Kong, R. *et al.* Long noncoding RNA PVT1 indicates a poor prognosis of gastric cancer and promotes cell proliferation through epigenetically regulating p15 and p16. *Mol. Cancer* (2015). doi:10.1186/s12943-015-0355-8
152. Grampp, S. *et al.* Genetic variation at the 8q24.21 renal cancer susceptibility locus affects HIF binding to a MYC enhancer. *Nat. Commun.* (2016). doi:10.1038/ncomms13183

153. NucleoSpin® Tissue. in *Genomic DNA from tissue* (ed. Macherey-Nagel) (2017).
154. Mullis, K. *et al.* Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. 1986. *Biotechnology* (1992).
155. Viestraete, A. PCR and its applications. in (1999).
156. Aryal, S. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). (2018). Available at: <https://microbenotes.com/restriction-fragment-length-polymorphism-rflp/>.
157. Newton, C. R. *et al.* Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res.* (1989). doi:10.1093/nar/17.7.2503
158. G, P. & W, A. *Molecular Diagnostics.* (2009).
159. S., M. *et al.* Next-generation sequencing reveals novel differentially regulated mRNAs, lncRNAs, miRNAs, sdRNAs and a piRNA in pancreatic cancer. *Mol. Cancer* (2015). doi:http://dx.doi.org/10.1186/s12943-015-0358-5
160. Previdi, M. C., Carotenuto, P., Zito, D., Pandolfo, R. & Braconi, C. Noncoding RNAs as novel biomarkers in pancreatic cancer: What do we know? *Future Oncology* (2017). doi:10.2217/fon-2016-0253
161. Wolpin, B. M. *et al.* Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for pancreatic cancer. *Nat. Genet.* (2014). doi:10.1038/ng.3052
162. Three new pancreatic cancer susceptibility signals identified on chromosomes 1q32.1, 5p15.33 and 8q24.21. *Oncotarget* (2016). doi:10.18632/oncotarget.11041
163. Canzian, F. *et al.* Do pancreatic adenocarcinomas and neuroendocrine neoplasms share genetic susceptibility a PANDoRA study. *Pancreatology* (2017). doi:10.1016/j.pan.2017.05.100
164. Obazee, O. *et al.* Common genetic variants associated with pancreatic adenocarcinoma may also modify risk of pancreatic neuroendocrine neoplasms. *Carcinogenesis* (2018). doi:10.1093/carcin/bgx150
165. Haugvik, S. P. *et al.* Diabetes, smoking, alcohol use, and family history of cancer as risk factors for pancreatic neuroendocrine tumors: A systematic review and meta-analysis. *Neuroendocrinology* (2015). doi:10.1159/000375164

166. You, L., Chang, D., Du, H. Z. & Zhao, Y. P. Genome-wide screen identifies PVT1 as a regulator of Gemcitabine sensitivity in human pancreatic cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2011). doi:10.1016/j.bbrc.2011.02.027
167. Du, M. *et al.* The association analysis of lncRNA *HOTAIR* genetic variants and gastric cancer risk in a Chinese population. *Oncotarget* (2015). doi:10.18632/oncotarget.5158
168. Hu, P. *et al.* rs1859168 A>C polymorphism regulates HOTTIP expression and reduces risk of pancreatic cancer in a Chinese population. *World J. Surg. Oncol.* (2017). doi:10.1186/s12957-017-1218-0
169. Ono, H. *et al.* Long noncoding RNA *HOTAIR* is relevant to cellular proliferation, invasiveness, and clinical relapse in small-cell lung cancer. *Cancer Med.* (2014). doi:10.1002/cam4.220
170. Duffy, M. J. *et al.* Tumor markers in pancreatic cancer: A European Group on Tumor Markers (EGTM) status report. *Annals of Oncology* (2009). doi:10.1093/annonc/mdp332
171. Ballehaninna, U. K. & Chamberlain, R. S. Serum CA 19-9 as a Biomarker for Pancreatic Cancer-A Comprehensive Review. *Indian J. Surg. Oncol.* (2011). doi:10.1007/s13193-011-0042-1
172. Paik, W. H. *et al.* Clinical usefulness of plasma chromogranin a in pancreatic neuroendocrine neoplasm. *J. Korean Med. Sci.* (2013). doi:10.3346/jkms.2013.28.5.750
173. Zatelli, M. C. *et al.* Chromogranin A as a marker of neuroendocrine neoplasia: An Italian Multicenter Study. *Endocr. Relat. Cancer* (2007). doi:10.1677/ERC-07-0001

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1 ταξινόμηση των νεοπλασιών του παγκρέατος κατά WHO (2010).....	23
Πίνακας 2 σταδιοποίηση TNM των όγκων του παγκρέατος	26
Πίνακας 3 κακοήθη νεοπλάσματα της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος και συχνότητα εμφάνισης τους.....	31
Πίνακας 4 βαθμοί διαφοροποίησης πορογενούς αδενοκαρκινώματος	35
Πίνακας 5 κριτήρια ταξινόμησης NNP	38
Πίνακας 6 λειτουργικά και μη-λειτουργικά NNP, συχνότητα, συμπτώματα και κακόηθες δυναμικό	42
Πίνακας 7 απορύθμιση διαφόρων lncRNA στο ΠΑ και στα NN του παγκρέατος.....	55
Πίνακας 8 είδη PCR που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη. Οι εκκινητές και η αλληλουχία τους.....	71
Πίνακας 9 κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης.....	79
Πίνακας 10 συχνότητες γονότυπων και αλληλόμορφων του PVT1 rs1561927 πολυμορφισμού στα ΠΑ, στα NNP και στους υγιείς μάρτυρες.....	80
Πίνακας 11 γονότυποι του PVT1 rs1561927 πολυμορφισμού και επιβίωση στους ασθενείς με ΠΑ.....	81
Πίνακας 12 πολυπαραγοντική ανάλυση συνολικής επιβίωσης.....	82
Πίνακας 13 συχνότητες γονότυπων και αλληλόμορφων του HOTAIR rs4759314 πολυμορφισμού στα ΠΑ, στα NNP και στους υγιείς μάρτυρες.....	83

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 προκαρκινικές βλάβες του παγκρέατος	28
Εικόνα 2 παγκρεατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία PanIN και βαθμοί δυσπλασίας PanIN-1, PanIN-2, και PanIN-3	29
Εικόνα 3 IPMN και υπότυποι MDT-IPMN/BDT-IPMN	30
Εικόνα 4 συχνότερες μεταστάσεις του ΠΑ του παγκρέατος.....	37
Εικόνα 5 2πλη έλικα του DNA, πρωτοταγής και δευτεροταγής δομή	44
Εικόνα 6 δομή του DNA.....	45
Εικόνα 7 είδη μη κωδικών RNA, lncRNA, small RNA και οι υποκατηγορίες τους	48
Εικόνα 8 σενάρια προέλευσης lncRNA	51
Εικόνα 9 μηχανισμός δράσης του H19 στην διήθηση, μετανάστευση και τελικά στην μετάσταση των νεοπλασματικών κυττάρων	56
Εικόνα 10 στάδια απομόνωσης γενωμικού υλικού με το σύστημα NucleoSpin (Macherey-Nagel, Germany)	63
Εικόνα 11 στάδια PCR, αναδιάταξη, υβριδισμός, επιμήκυνση	67
Εικόνα 12 εκθετικός πολλαπλασιασμός επιθυμητού γονιδίου με PCR	68
Εικόνα 13 θερμικός κυκλοποιητής (Thermal cycler), συσκευή με την οποία πραγματοποιείται η PCR.....	69
Εικόνα 14 PCR και πέψη των δειγμάτων με περιοριστικά ένζυμα - περιοριστικές ενδονουκλεάσες (restriction enzymes) (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP).....	70
Εικόνα 15 απεικόνιση βασικής μεθόδους αλληλοειδικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Allele-Specific Polymerase Chain Reaction, AS-PCR)	73
Εικόνα 16 σύγκριση επιβίωσης των AA, AG και GG πολυμορφισμών του PVT1 rs1561927.....	82