



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΝΔΡΕΑΣ ΛΑΖΑΡΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ








**«Η ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ HuR
ΣΤΟ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΠΝΕΥΜΟΝΑ»**

Παρασκευή Θ. ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥ

Ιατρός Παθολογοανατόμος

Αθήνα 2020

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ· ΗΓΗΣΑΣΘ
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΡΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
ΕΕΙΝ ΑΡΡΗΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟ
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΨΕΙΝ.  ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ· ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ.  ΑΓΝΩΣ Δ
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ.  ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
ΙΛΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
ΗΨΙΟΣ ΤΗΣΔΕ.  ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΔΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.  Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ,
Η ΙΔΩ, Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
ΙΑΥΤΑ.  ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ· ΠΑΡΑΒΑΙ
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

*Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, δεν υποδηλώνει ότι αποδέχεται τις γνώμες του συγγραφέα.
(Νόμος 5343/1932, άρθρο 202, παράγραφος 2).*

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΕΤΡΟΣ ΣΦΗΚΑΚΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Αγαπητός Εμμανουήλ (Επιβλέπων)** Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
2. **Καβαντζάς Νικόλαος** Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
3. **Λάζαρης Ανδρέας** Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Αγαπητός Εμμανουήλ (Επιβλέπων)** Ομότιμος Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
2. **Καβαντζάς Νικόλαος** Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
3. **Λάζαρης Ανδρέας** Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
4. **Γακιοπούλου Χαρίκλεια** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
5. **Καραμούζης Μιχαήλ** Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
6. **Αγρογιάννης Γεώργιος** Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
7. **Θυμαρά Ειρήνη** Επίκουρη Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 4 Ιουλίου 2014

Ημερομηνία καταθέσεως 1^{ης} προόδου: 19 Οκτωβρίου 2018

Ημερομηνία καταθέσεως 2^{ης} προόδου: 17 Ιανουαρίου 2020

Ημερομηνία καταθέσεως 3^{ης} περιόδου: 1 Απριλίου 2020

Ημερομηνία καταθέσεως διδακτορικής διατριβής:

Επιθυμώ να αφιερώσω αυτή τη διατριβή στον πατέρα μου
θέλοντας να αποδώσω τιμή στη μνήμη του,
εκφράζοντας σιωπηλά την ευγνωμοσύνη μου
για όλα όσα εκείνος με δίδαξε και με ενέπνευσε στην πορεία....

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	13
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	15
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	29
Παράγοντες κινδύνου	34
Ιστολογική ταξινόμηση	36
Μοριακή ταξινόμηση	50
2. ΠΡΩΤΕΪΝΗ HuR	55
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	63
Ασθενείς	63
Ανοσοϊστοχημεία	63
Ανοσοϊστοχημική εκτίμηση	64
Στατιστική ανάλυση	65
2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	67
Συσχέτιση της έκφρασης της πρωτεΐνης HuR με τις κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και την επιβίωση των ασθενών	67
Συσχετίσεις της κυτταροπλασματικής και πυρηνικής εντόπισης της πρωτεΐνης HuR με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και επιβίωση των ασθενών	72
Συσχετίσεις της έκφρασης της πρωτεΐνης COX-2 με τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και την επιβίωση των ασθενών	74
Συσχετίσεις ταυτόχρονης έκφρασης HuR / COX-2 με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και την επιβίωση ασθενών	77
Σύνδεση της έκφρασης της πρωτεΐνης HuR και της ενδοκυττάριας κατανομής της με την έκφραση της COX-2 πρωτεΐνης	79
3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	81
4. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	89
5. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	91
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	93
	10

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο καρκίνος του πνεύμονα, αποτελεί το πρώτο σε συχνότητα κακόηθες νεόπλασμα και για τα δύο φύλα και ευθύνεται για τους περισσότερους θανάτους από καρκίνο παγκοσμίως. Μεγάλος αριθμός ασθενών εμφανίζει μεταστατική νόσο ήδη τη στιγμή της διάγνωσης. Η πρόγνωση παραμένει δυσμενής ενώ η συνολική 5 ετής επιβίωση -ανεξαρτήτως σταδίου - δεν ξεπερνά το 21%. Η μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του πνεύμονα και η ανάδειξη προβλεπτικών δεικτών με δυνατότητα στοχευμένης θεραπευτικής παρέμβασης, αν και βελτίωσαν την επιβίωση των ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (ΜΜΚΠ) περιόρισαν αρκετά τις σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες της κλασσικής χημειοθεραπείας. Οι ανοσοτροποποιητικές παρεμβάσεις με χρήση αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου PD1 / PDL1 αποτελούν σήμερα νέες ελπιδοφόρες θεραπείες πρώτης γραμμής. Η αναζήτηση νέων προγνωστικών παραγόντων ή πρωτεϊνών - στόχων στο καρκίνο συνεχίζει να αποτελεί στοιχείο έρευνας στην «μετά τα σηματοδοτικά μονοπάτια» νέα εποχή. Τα τελευταία χρόνια αναζητείται η σημασία μικρών καταλυτικών μορίων / πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη βιολογία του κυττάρου και που η έκφραση τους αυξάνεται σημαντικά σε ταχέως πολλαπλασιαζόμενους ιστούς και στον καρκίνο. Οι πρωτεΐνες αυτές συμμετέχουν συνήθως σε δευτερεύουσες κυτταρικές δράσεις. Η αναζήτησή τους όμως σε κάποιους τύπους καρκινώματος θα μπορούσε να τους καθιερώσει ως προγνωστικούς παράγοντες. Επιπλέον, η ταυτόχρονη συμμετοχή τέτοιων πρωτεϊνών σε πολλές ενδοκυττάρια διεργασίες στο νεοπλασματικό κύτταρο θα μπορούσε σε περίπτωση αναστολής της έκφρασης ή λειτουργίας τους να οδηγήσει σε θεραπευτική παρέμβαση. Πρόσφατες εξελίξεις στη νανοτεχνολογία επιτρέπουν την σχετικά εύκολη αλλά αποτελεσματική πρόσδεση φαρμάκων που αδρανοποιούν τέτοιες πρωτεΐνες-στόχους. Η πρωτεΐνη Hu-antigen R (HuR) ανήκει στην οικογένεια των Hu/ELAV πρωτεϊνών και αποτελεί ένα πλούσια εκφραζόμενο, συνδεδεμένο με RNA, μετα-μεταγραφικό ρυθμιστή. Η έκφραση της πρωτεΐνης HuR έχει μελετηθεί σε πολλές κυτταρικές σειρές προερχόμενες τόσο από φυσιολογικό ιστούς, όσο και από κακοήθη νεοπλάσματα, έχει μελετηθεί εκτενέστερα δε στον καρκίνο του μαστού. Η έκφραση της πρωτεΐνης HuR σε καρκινικές κυτταρικές σειρές, επιβεβαιώνει αυξημένα επίπεδα HuR mRNA και κυτταροπλασματικής έκφρασης της πρωτεΐνης HuR σε περισσότερο επιθετικό κακοήθη φαινότυπο. Επιπλέον αναδεικνύεται η ρυθμιστική δράση της πρωτεΐνης HuR στις διαφορετικές ενδοκυττάρια διαδικασίες που σχετίζονται με τη καρκινογένεση και την εξέλιξη του καρκίνου. Τα πειραματικά δεδομένα αναφορικά με την έκφραση και τη κλινική σημασία της πρωτεΐνης HuR στον καρκίνο του πνεύμονα ήταν περιορισμένα. Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην εκτίμηση των επιπέδων

έκφρασης της πρωτεΐνης HuR στο ΜΜΚΠ, προκειμένου να συμβάλει στην περαιτέρω διερεύνηση της κλινικής και προγνωστικής σημασίας της στον ιστολογικό αυτό τύπο καρκινώματος.

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το αρχαικό ιστολογικό υλικό από το αρχείο του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, με την βοήθεια και καθοδήγηση του Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής κ. Σταμάτιου Θεοχάρη.

Οφείλω στο σημείο αυτό, να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής κ.ο Εμμανουήλ Αγαπητό, επιβλέπον μέλος της Διδακτορικής Διατριβής, τόσο για την ανάθεση, την προτροπή και την ενθάρρυνση στην εκπόνηση της Διδακτορικής Διατριβής, όσο και για την πολύτιμη καθοδήγηση και εποπτεία του κατά την διάρκεια της συγγραφής. Η παρουσία του ήταν συνεχής και ουσιαστική, διενεργώντας ο ίδιος την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και παρακολουθώντας «εκ του σύνεγγυς» την όλη πορεία συγγραφής και τεκμηρίωσης, τόσο της Διατριβής, όσο και της ξενόγλωσσης δημοσίευσης.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής και Διευθυντή του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Ανδρέα Λάζαρη και τον Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής κ. Νικόλαο Καβαντζά στο ίδιο Εργαστήριο, για την πολύτιμη αρωγή τους στο σχεδιασμό και ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

1. ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Παρασκευή Θ. ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥ

Τόπος γέννησης: Αθήνα

Υπηκοότητα: Ελληνική

Οικογενειακή Κατάσταση: Έγγαμος, Μητέρα δύο τέκνων

Τηλέφωνο εργασίας:

Διεύθυνση εργασίας:

Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής,
Ιατρική Σχολή του Ε.Κ.Π.Α.

Μικράς Ασίας 75, Γουδί, Αθήνα, GR 11527

2. ΘΕΣΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- Ειδικευόμενη στη Παθολογική Ανατομική. Παθολογοανατομικό Εργαστήριο Νοσοκομείο Μελισσίων «Αμαλία Φλέμιγκ» (2/1994-6/1995)
- Ειδικευόμενη στη Παθολογική Ανατομική. Παθολογοανατομικό Εργαστήριο Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή Ε.Κ.Π.Α. (6/1995-1/1996)
- Ειδικευόμενη στη Παθολογική Ανατομική. Παθολογοανατομικό Εργαστήριο Κοργιαλένιο Μπενάκειο Νοσοκομείο ΕΕΣ (2/1996-6/1997)
- Ειδικευόμενη στη Παθολογική Ανατομική. Παθολογοανατομικό Εργαστήριο Nuffield Orthopaedic Centre NOC-Oxford, United Kingdom. Παθολογοανατομικό Εργαστήριο John Radcliffe Hospital, Oxford, United Kingdom. (6/1997-1/1998)
- Ειδικευόμενη στη Παθολογική Ανατομική. Παθολογοανατομικό Εργαστήριο Κοργιαλένιο Μπενάκειο Νοσοκομείο ΕΕΣ (1/1998-4/1998)
- Ειδικευόμενη στη Κυτταρολογία. Κυτταρολογικό Εργαστήριο Ογκολογικού Νοσοκομείου Άγιος Σάββας (6/1998-11/1999)
- Λήψη τίτλου ειδικότητας Παθολογικής Ανατομικής, Αθήνα (1/2000)

- Έμμισθη συνεργάτης σε ερευνητικό πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ. Παθολογικό Ανατομείο, Ιατρική Σχολή Ε.Κ.Π.Α. (1/2000-7/2001)
- Επιμελήτρια Β' στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Λαϊκού Νοσοκομείου (2004-2006) Επιμελήτρια Β' στο Α Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή του Ε.Κ.Π.Α. (2007-2011)
- Επιμελήτρια Α' ΕΣΥ, Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α. (2011-2018)
- Διευθύντρια ΕΣΥ, Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α. (2018 έως σήμερα)

3. ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΥΠΑΙΘΡΟΥ:

Κέντρο Υγείας Λουτρακίου-Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Κορίνθου (12/2001-12/2002)

4. ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ –

ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ Εγκύκλιες σπουδές:

- **1984:** Αποφοίτηση από το 2^ο Λύκειο Ν. Ηρακλείου Αττικής.

Προπτυχιακή-Μεταπτυχιακή εκπαίδευση:

- **1993:** Αποφοίτηση από την Ιατρική Σχολή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης
- **1993:** Άδεια άσκησης Ιατρικού Επαγγέλματος
- **2000:** Λήψη τίτλου ειδικότητας Παθολογικής Ανατομικής και Άδεια άσκησης ιατρικής ειδικότητας (1/2000)

Ξένες γλώσσες: Αγγλικά (Πολύ Καλά)-Γαλλικά (Πολύ Καλά)

5. ΤΙΜΗΤΙΚΕΣ ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

- 24^ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΜΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ: Βραβείο καλύτερης ελεύθερης ανακοίνωσης «Η σημασία της τοποπεριοχικής έκφρασης του TIMP- 2 mRNA σε σχέση με τη βιολογική συμπεριφορά των διηθητικών καρκινωμάτων μαστού και τη πρόγνωση των ασθενών», Αθήνα 29 Νοεμβρίου-1^η Δεκεμβρίου 2002

6. ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Εκπαίδευση ειδικευομένων στην Παθολογική Ανατομική (2004-σήμερα)
- Συμμετοχή ως εκπαιδύτρια σε σεμινάρια και εκπαιδευτικές δραστηριότητες της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής (2006-σήμερα)
- Ioannina University Courses of Pathology (IUCP) “Lung Pathology-Oncology”, με τίτλο **LUNG CANCER CLASSIFICATION AND HISTOLOGICAL PATTERNS**, Ιωάννινα, 10-21 Μαΐου 2017
- Σεμινάριο της Ομάδας Πνεύμονος-Θώρακος της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής: «Διαγνωστική Προσέγγιση Προδιηθητικών Αλλοιώσεων στο Καρκίνο του Πνεύμονα», με τίτλο **DIPNEH-NETS**, Αθήνα 22 Μαρτίου 2013
- Πρόγραμμα Μαθημάτων της Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής: «Μαθήματα Παθολογικής Ανατομικής–Η Ώρα του Ειδικευόμενου», με τίτλο **ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΝΕΩΤΕΡΕΣ ΤΑΣΕΙΣ ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΣΕ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**, Αθήνα 28 Μαρτίου 2012
- Πρόγραμμα Μαθημάτων της Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής: «Μαθήματα Παθολογικής Ανατομικής–Η Ώρα του Ειδικευόμενου», με τίτλο **ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ: ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ-ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΕΠΤΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ**, Αθήνα 22 Μαρτίου 2012
- Πρόγραμμα Μαθημάτων της Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής: «Μαθήματα Παθολογικής Ανατομικής–Η Ώρα του Ειδικευόμενου», με τίτλο **ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ- ΝΕΩΤΕΡΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΤΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**, Αθήνα 8 Φεβρουαρίου 2012
- Πρόγραμμα Μαθημάτων της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής: «Μαθήματα Παθολογικής Ανατομικής–Η Ώρα του Ειδικευόμενου», με τίτλο **ΟΓΚΟΜΟΡΦΕΣ ΕΞΕΡΓΑΣΙΕΣ-ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΜΕΣΟΘΩΡΑΚΙΟΥ**, Αθήνα 30 Νοεμβρίου 2011
- «Γ’ Πανελλήνια Διημερίδα Παθολογικής Ανατομικής της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής» με τίτλο **ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗΣ ΤΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΜΕΣΟΘΩΡΑΚΙΟΥ**, Πορταριά Πηλίου 18-19 Ιουνίου 2011

- Επιστημονική Διημερίδα της Ομάδας Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Παθολογικής Ανατομικής της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής: «Διαφοροδιάγνωση

Νεοπλασιών Ουροποιητικού Συστήματος και Γεννητικού Συστήματος του Άρρενος βάσει Ιστολογικών Προτύπων και Ανοσοφαινοτυπικών Χαρακτηριστικών», με τίτλο **ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΤΟΥ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ**

ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ, Αθήνα 8-9 Απριλίου 2011

- Σεμινάριο της Ομάδας Πνεύμονος-Θώρακος της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής: «Το φάσμα των Νευροενδοκρινικών Όγκων Πνεύμονα», με τίτλο **ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΝΕΥΡΟΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΩΝ ΟΓΚΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**, Αθήνα 22 Μαρτίου 2011
- Συμμετοχή στη στρογγύλη τράπεζα του 12^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Παθολογικής Ανατομικής: «Νεοπλάσματα και Ογκόμορφες Εξεργασίες Μεσοθωρακίου», με τίτλο **ΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΜΕΣΟΘΩΡΑΚΙΟΥ-ΚΑΛΟΗΘΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΟΓΚΟΜΟΡΦΕΣ ΕΞΕΡΓΑΣΙΕΣ**, Θεσσαλονίκη 16-19 Ιουνίου 2010
- Επιστημονική Εκδήλωση της Ομάδας Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Παθολογικής Ανατομικής της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής, με παρουσίαση ενδιαφέρουσας περίπτωσης, Αθήνα 2 Ιουνίου 2009
- Επιστημονική Εκδήλωση της Ομάδας Πνεύμονος-Θώρακος της Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής, με τίτλο **ΤΙ ΝΕΩΤΕΡΟ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**, Αθήνα 20 Απριλίου 2007
- Επιστημονική Εκδήλωση της Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής, με τίτλο **ΚΟΚΚΙΩΜΑΤΩΔΕΙΣ ΝΟΣΟΙ ΗΠΑΤΟΣ**, Αθήνα 23 Φεβρουαρίου 2006
- 10^ο Επαναληπτικό Εκπαιδευτικό Σεμινάριο της Ελληνικής Εταιρείας Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας, με τίτλο **ΝΕΦΡΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ**, Αθήνα 9 Απριλίου 2006
- 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, Αθήνα 7-10 Δεκεμβρίου 2005
- Επιστημονική Εκδήλωση της Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής, με τίτλο **ΙΣΧΑΙΜΙΚΟ ΕΝΤΕΡΟ**, Αθήνα 9 Δεκεμβρίου 2005
- Διανοσοκομειακή Επιστημονική Συνάντηση των Συνεργατών της Α' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής Αθήνα 16 Δεκεμβρίου, 2004
- 4^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Δεικτών Καρκίνου Χειρουργικής Ηπατος-Χοληφόρων και Παγκρέατος: **Ηπατική Ανεπάρκεια. Πειραματικά μοντέλα και περιορισμοί**, Αθήνα 29 Νοεμβρίου-1 Δεκεμβρίου 2002
- Επιστημονική Εκδήλωση της Ομάδας Ουροποιητικού και Γεννητικού Συστήματος Άρρενος της Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής, με παρουσίαση ενδιαφέρουσας περίπτωσης, Αθήνα 18 Ιανουαρίου 2000

- **Συντονίστρια της Ομάδος Πνεύμονος Θώρακος της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής (2010-2014)**
- **Προπτυχιακή εκπαίδευση στην Ιατρική-Οδοντιατρική Σχολή:**
Παθολογική Ανατομική (παραδόσεις και φροντιστηριακές ασκήσεις) σε φοιτητές Ιατρικής και Οδοντιατρικής (2007-σήμερα)
 - Καλοήθη και Κακοήθη Νεοπλάσματα Λάρυγγα
 - Πνευμονία-Βρογχοπνευμονία
 - Ιστολογική Ταξινόμηση Καρκίνου του Πνεύμονα
 - Νεοπλασίες Τραχήλου Μήτρας-Κόλπου-Αιδοίου
- **Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Ιατρικής Σχολής:** Νεοπλασματική Νόσος στον Άνθρωπο: Διάγνωση, Σύγχρονη θεραπεία και Έρευνα (2009-σήμερα)
 - Νευροενδοκρινικά Νεοπλάσματα του Πνεύμονα
- **Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Ιατρικής Σχολής:** Ελάχιστα Επεμβατική Χειρουργική, Ρομποτική Χειρουργική και Τηλεχειρουργική (2011-σήμερα)
 - Παθολογοανατομική Προσέγγιση Χειρουργικών Παρασκευασμάτων
- **Συμμετοχή στο HIPON:** An International educational project entitled “ICT eModules on Histopathology a valuable online tool for students, researchers and professionals”.
Alexandrou P, Riccioni O, Lazaris A. Chapter 2: Lesions of the cervix.

7. ΚΛΙΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

Μετά το διορισμό μου στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Λαϊκού Νοσοκομείου σε θέση Επιμελήτριας Β' (2004), πραγματοποιώ ιστοπαθολογικές εξετάσεις για ασθενείς του Λαϊκού Νοσοκομείου. Από την ενοποίηση του ανωτέρω εργαστηρίου με το Ά Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και εντεύθεν, πραγματοποιώ ιστοπαθολογικές εξετάσεις που αφορούν και σε ασθενείς επαρχιακών νοσοκομείων (2007-σήμερα)

Συμμετέχω ως ιατρός του Εθνικού Κέντρου Επιχειρήσεων Υγείας (ΕΚΕΠΥ) με τακτικές εφημερίες σε μηνιαία βάση ενώ παρακολουθώ όλες τις σχετικές εκπαιδευτικές δραστηριότητες (αρχές 2019-σήμερα)

8. ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΕΙΩΝ

Ελληνική Παθολογοανατομική Εταιρεία

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ-ΗΜΕΡΙΑΣ-ΔΙΗΜΕΡΙΑΣ (65)

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ (15) ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΗ (9) ΣΥΝΕΔΡΙΑ

10. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ-ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ

Συμμετοχή και έμμισθη απασχόληση σε ερευνητικό πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ «**Μέλετη Μοριακών Δεικτών σε Σχέση με τη Διηθητικότητα του Καρκίνου του Μαστού: Κλινικοπαθολογοανατομική Συσχέτιση**». Επιστημονική Υπεύθυνη: Καθ. Λυδία Νακοπούλου (Ιανουάριος 2000-Ιούλιος 2001).

ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. **Αλεξάνδρου Π**, Νακοπούλου Λ. Η συμμετοχή των κασπασών στον καρκίνο. Ιατρική 2001; 80(4): 352-358.
2. Καβαντζάς Ν, **Αλεξάνδρου Π**, Παρτσαλίδου-Τζάρου Β. Διαχείριση υλικού στη διάγνωση των νοσημάτων πνεύμονα και υπεζωκότα. Κατευθυντήριες Οδηγίες για την Ιστολογική Διάγνωση Κακοήθων Νεοπλασμάτων. 305-313, Ελληνική Εταιρεία Παθολογικής Ανατομικής, Αθήνα, 2010.

10.3. ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. Porfyris O, **Alexandrou P**, Masaoutis C, Nikolakakos F. Ovarian metastasis of renal cell carcinoma: Clinical and pathological presentation of a case. Turk J Urol 2018;45:150-153

2. Schizas D, Michalinos A, **Alexandrou P**, Moris D, Baliou E, Tsilimigras D, Throupis T, Liakakos T. A unique tripartite collision tumor of the esophagus: A case report. *Medicine (Baltimore)* 2017;96:e8784.
3. Tampakis A, Tampaki EC, **Alexandrou P**, Kontzoglou K, Kouraklis G. HIV patient with pseudomyxoma peritonei of extra-appendiceal origin is disease-free and alive 9 years after complete cytoreductive surgery. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017;21: 3834-3836.
4. Giaginis C, Tsoukalas N, **Alexandrou P**, Tsourouflis G, Dana E, Delladetsima I, Patsouris E, Theocharis S. Clinical significance of farnesoid X receptor expression in thyroid neoplasia. *Future Oncol* 2017; 13:1785-1792.
5. Giaginis C, Karandrea D, **Alexandrou P**, Giannopoulou I, Tsourouflis G, Troungos C, Danas E, Keramopoulos A, Patsouris E, Nakopoulou L, Theocharis S. High Farnesoid X Receptor (FXR) expression is a strong and independent prognosticator in invasive breast carcinoma. *Neoplasma* 2017;64:633-639.
6. Theocharis S, Kotta-Loizou I, Giaginis C, **Alexandrou P**, Danas E, Tsourouflis G, Tsoukalas N, Coutts RH, Tasoulas J, Klijanienko J. Expression and Clinical Significance of Concomitant FAK/SRC and p-Paxillin in Mobile Tongue Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res* 2017;37:1313-1319.
7. Michalinos A, **Alexandrou P**, Papalambros A, Oikonomou D, Sakellariou S, Baliou E, Alexandrou A, Schizas D, Felekouras E. Intracholecystic papillary-tubular neoplasm in a patient with choledochal cyst: a link between choledochal cyst and gallbladder cancer? *World J Surg Oncol* 2016;14:202.
8. Lakiotaki E, Giaginis C, Tolia M, **Alexandrou P**, Delladetsima I, Giannopoulou I, Kyrgias G, Patsouris E, Theocharis S. Clinical Significance of Cannabinoid Receptors CB1 and CB2 Expression in Human Malignant and Benign Thyroid Lesions. *Biomed Res Int* 2015;2015: 839403.
9. Giaginis C, **Alexandrou P**, Delladetsima I, Karavokyros I, Danas E, Giagini A, Patsouris E, Theocharis S. Clinical Significance of Hu-Antigen Receptor (HuR) and Cyclooxygenase-2 (COX-2) Expression in Human Malignant and Benign Thyroid Lesions. *Pathol Oncol Res* 2016;22:189-96.
10. Theocharis S, Giaginis C, **Alexandrou P**, Rodriguez J, Tasoulas J, Danas E, Patsouris E, Klijanienko J. Evaluation of cannabinoid CB1 and CB2 receptors expression in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients' survival. *Tumour Biol* 2016;37:3647-56.

11. Koutsounas I, Giaginis C, **Alexandrou P**, Zizi-Serbetzoglou A, Patsouris E, Kouraklis G, Theocharis S. Pregnane X Receptor Expression in Human Pancreatic Adenocarcinoma: Associations With Clinicopathologic Parameters, Tumor Proliferative Capacity, Patients' Survival, and Retinoid X Receptor Expression. *Pancreas* 2015;44:1134-40.
12. Giaginis C, **Alexandrou P**, Poulaki E, Delladetsima I, Troungos C, Patsouris E, Theocharis S. Clinical Significance of EphB4 and EphB6 Expression in Human Malignant and Benign Thyroid Lesions. *Pathol Oncol Res* 2016;22:269-75.
13. Giaginis C, Koutsounas I, **Alexandrou P**, Zizi-Serbetzoglou A, Patsouris E, Kouraklis G, Theocharis S. Elevated Farnesoid X Receptor (FXR) and Retinoid X Receptors (RXRs) expression is associated with less tumor aggressiveness and favourable prognosis in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Neoplasma* 2015;62:332-41.
14. Moustou AE, **Alexandrou P**, Stratigos AJ, Giannopoulou I, Vergou T, Katsambas A, Antoniou C. Expression of lymphatic markers and lymphatic growth factors in psoriasis before and after anti-TNF treatment. *An Bras Dermatol* 2014;89:891-7.
15. Giaginis C, **Alexandrou P**, Tsoukalas N, Sfiniadakis I, Kavantzias N, Agapitos E, Patsouris E, Theocharis S. Hu-antigen receptor (HuR) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in human non-small-cell lung carcinoma: associations with clinicopathological parameters, tumor proliferative capacity and patients'survival. *Tumour Biol* 2015;36:315-27.
16. Theocharis S, Kotta-Loizou I, Klijanienko J, Giaginis C, **Alexandrou P**, Dana E, Rodriguez J, Patsouris E, Sastre-Garau X. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) expression and activation in mobile tongue squamous cell carcinoma:associations with clinicopathological parameters and patients survival. *Tumour Biol* 2014;35:6455-65.
17. Giaginis C, Tsoukalas N, Bournakis E, **Alexandrou P**, Kavantzias N, Patsouris E, Theocharis S. Ephrin (Eph) receptor A1, A4, A5 and A7 expression in human non-small cell lung carcinoma: associations with clinicopathological parameters, tumor proliferative capacity and patients' survival. *BMC Clin Pathol* 2014;14:8.
18. Giaginis C, Efkarpidis T, **Alexandrou P**, Patsouris E, Kouraklis G, Theocharis S. Increased RCAS1 expression is associated with advanced histopathological stage and poor prognosis in patients with gastric adenocarcinoma. *Dis Markers*. 2013;35:213-9.
19. Theocharis S, Klijanienko J, Giaginis C, **Alexandrou P**, Patsouris E, Sastre-Garau X. Ephrin receptor (Eph) -A1, -A2, -A4 and -A7 expression in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients survival. *Pathol Oncol Res* 2014;20:277-84.
20. Giaginis C, **Alexandrou P**, Delladetsima I, Giannopoulou I, Patsouris E, Theocharis S.

- Clinical significance of histone deacetylase (HDAC)-1, HDAC-2, HDAC-4, and HDAC-6 expression in human malignant and benign thyroid lesions. *Tumour Biol* 2014;35:61-71.
21. Theocharis S, Klijanienko J, Giaginis C, **Alexandrou P**, Patsouris E, Sastre-Garau X. FAK and Src expression in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients survival. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138:1369-77.
 22. Giaginis C, Demetriou N, **Alexandrou P**, Stolakis V, Delladetsima I, Klijanienko J, Griniatsos I, Theocharis S. Receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells (RCAS1) expression in human benign and malignant thyroid lesions. *Med Sci Monit* 2012;18:BR123- 9.
 23. Giaginis C, Politi E, **Alexandrou P**, Sfiniadakis J, Kouraklis G, Theocharis S. Expression of peroxisome proliferator activated receptor-gamma (PPAR- γ) in human non-small cell lung carcinoma: correlation with clinicopathological parameters, proliferation and apoptosis related molecules and patients' survival. *Pathol Oncol Res* 2012;18:875-83.
 24. Kontos M, Karles D, Petrou A, **Alexandrou PT**. Adenoid cystic carcinoma intermingled with ductal carcinoma of the breast: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep* 2011;5:437.
 25. Konsta M, Bournia VK, **Alexandrou P**, Iliopoulos A. Cryptogenic organizing pneumonia mimicking malignancy in a patient with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2011;38:2007-8.
 26. Karidis NP, Giaginis C, Tsourouflis G, **Alexandrou P**, Delladetsima I, Theocharis S. Eph-A2 and Eph-A4 expression in human benign and malignant thyroid lesions: an immunohistochemical study. *Med Sci Monit* 2011;17:BR257-65.
 27. Petrou A, **Alexandrou P**, Papalambros A, Saetta A, Fragkou P, Kontos M, Brennan N, Manzelli A, Bramis K, Felekouras E. A Malignant Gastrointestinal Stromal Tumor of the Gallbladder Immunoreactive for PDGFRA and Negative for CD 117 Antigen (c-KIT). *HPB Surg* 2011;2011:327192.
 28. Theocharis S, Klijanienko J, Giaginis C, Rodriguez J, Jouffroy T, Girod A, **Alexandrou P**, Sastre-Garau X. Histone deacetylase-1 and -2 expression in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients survival. *J Oral Pathol Med* 2011;40:706-14.
 29. Giaginis C, Michailidi C, Stolakis V, **Alexandrou P**, Tsourouflis G, Klijanienko J, Delladetsima I, Theocharis S. Expression of DNA repair proteins MSH2, MLH1 and MGMT in human benign and malignant thyroid lesions: an immunohistochemical study. *Med Sci Monit* 2011;17:BR81-90.

30. Chatzizacharias NA, Giaginis C, Gatzidou E, Tsourouflis G, Sfiniadakis I, **Alexandrou P**, Theocharis SE. Expression and clinical significance of FAK and Src proteins in human endometrial adenocarcinoma. *Pathol Oncol Res* 2011;17:277-85.
31. Delladetsima J, **Alexandrou P**, Giaslakitiotis K, Psychogiou M, Hatzis G, Sypsa V, Tiniakos D. Hepatic progenitor cells in chronic hepatitis C: a phenomenon of older age and advanced liver disease. *Virchows Arch* 2010;457:457-66.
32. Kykalos S, Mantas D, Dimitroulis D, **Alexandrou P**, Kostakis A. A rare case of breast cancer metastasis. *Breast Dis* 2010;31:53-5.
33. Michailidi C, Giaginis C, Stolakis V, **Alexandrou P**, Klijanienko J, Delladetsima I, Chatzizacharias N, Tsourouflis G, Theocharis S. Evaluation of FAK and Src expression in human benign and malignant thyroid lesions. *Pathol Oncol Res* 2010;16:497-507.
34. Giaginis C, Zarros A, **Alexandrou P**, Klijanienko J, Delladetsima I, Theocharis S. Evaluation of coxsackievirus and adenovirus receptor expression in human benign and malignant thyroid lesions. *APMIS* 2010;118:210-21.
35. Triantafyllidou O, Giannakopoulos K, Pergialiotis V, Simou M, Lagkadas A, **Alexandrou P**. Pure vulvar Langerhans cell histiocytosis: a case report and literature review. *Eur J Gynaecol Oncol* 2009;30:691-4. 20099508.
36. Griniatsos J, Sougioultzis S, Dimitriou N, Vamvakopoulou V, **Alexandrou P**, Kyriakou V, Tzioufas A, Papalambros E, Tzivras M. Diffuse malignant peritoneal mesothelioma presenting as intestinal obstruction. *South Med J* 2009;102(10):1061-4.
37. Markopoulos MC, Lagadas AA, **Alexandrou P**, Giannakopoulos KC, Polyzos A. Prolonged disease free survival with aggressive adjuvant chemotherapy in a case of large cell neuroendocrine carcinoma of the uterine cervix. *J BUON* 2009;14:322-3.
38. Tyritzis SI, **Alexandrou PT**, Migdalis V, Koritsiadis G, Anastasiou I. Synchronous chromophobe and papillary renal cell carcinoma. First report and review of the pathogenesis theories. *Pathol Int* 2009;59:193-6.
39. Delladetsima I, Psychogiou M, **Alexandrou P**, Nikolopoulos G, Revenas K, Hatzakis A, Boletis J. Apoptosis and hepatitis C virus infection in renal transplant recipients. *Am J Clin Pathol* 2008;129: 744-8.
40. Giannopoulos A, Papaconstantinou I, **Alexandrou P**, Petrou A, Papalambros A, Felekouras E, Papalambros E. Poorly differentiated carcinoma of the rectum with aberrant immunophenotype: a case report. *World J Gastroenterol* 2007;13:5951-3.
41. Nakopoulou L, Panayotopoulou EG, Giannopoulou I, Tsirmpa I, Katsarou S, Mylona E, **Alexandrou P**, Keramopoulos A. Extra copies of chromosomes 16 and X in invasive breast

- carcinomas are related to aggressive phenotype and poor prognosis. *J Clin Pathol* 2007;60:808-15.
42. Constantinidis C, Koutalellis G, Liapis G, Stravodimos C, **Alexandrou P**, Adamakis I. A solitary fibrous tumor of the kidney in a 26-year-old man. *Can J Urol* 2007;14: 3583-7.
 43. Mylona E, Nomikos A, **Alexandrou P**, Giannopoulou I, Keramopoulos A, Nakopoulou L. Lymphatic and blood vessel morphometry in invasive breast carcinomas: relation with proliferation and VEGF-C and -D proteins expression. *Histol Histopathol* 2007;22:825-35.
 44. Liapis G, Mylona E, **Alexandrou P**, Giannopoulou I, Nikolaou I, Markaki S, Keramopoulos A, Nakopoulou L. Effect of the different phosphorylated Smad2 protein localizations on the invasive breast carcinoma phenotype. *APMIS* 2007;115: 104-14.
 45. Androulaki A, Papathomas TG, **Alexandrou P**, Lazaris AC. Metastatic low-grade endometrial stromal sarcoma of clitoris: report of a case. *Int J Gynecol Cancer* 2007;17:290-3.
 46. Mylona E, **Alexandrou P**, Giannopoulou I, Liapis G, Sofia M, Keramopoulos A, Nakopoulou L. The prognostic value of vascular endothelial growth factors (VEGFs)-A and -B and their receptor, VEGFR-1, in invasive breast carcinoma. *Gynecol Oncol* 2007; 104:557-63.
 47. Mylona E, **Alexandrou P**, Mpakali A, Giannopoulou I, Liapis G, Markaki S, Keramopoulos A, Nakopoulou L. Clinicopathological and prognostic significance of vascular endothelial growth factors (VEGF)-C and -D and VEGF receptor 3 in invasive breast carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33:294-300.
 48. Androulaki A, Liapis G, **Alexandrou P**, Lazaris AC. Retroperitoneal follicular dendritic cell sarcoma. *Int J Hematol* 2006;84:2.
 49. Mylona EE, **Alexandrou PT**, Giannopoulou IA, Rafailidis PI, Markaki S, Keramopoulos A, Nakopoulou LL. Study of the topographic distribution of ets-1 protein expression in invasive breast carcinomas in relation to tumor phenotype. *Cancer Detect Prev* 2006;30:111-7.
 50. Nakopoulou L, Mylona E, Rafailidis P, **Alexandrou P**, Giannopoulou I, Keramopoulos A. Effect of different ERK2 protein localizations on prognosis of patients with invasive breast carcinoma. *APMIS* 2005; 113:693-701.
 51. Nakopoulou L, Giannopoulou I, Lazaris ACh, **Alexandrou P**, Tsirmpa I, Markaki S, Panayotopoulou E, Keramopoulos A. The favorable prognostic impact of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 protein overexpression in breast cancer cells. *APMIS* 2003;111:1027-36.
 52. Nakopoulou L, Tsirmpa I, **Alexandrou P**, Louvrou A, Ampela C, Markaki S, Davaris PS. MMP-2 protein in invasive breast cancer and the impact of MMP-2/TIMP-2 phenotype on

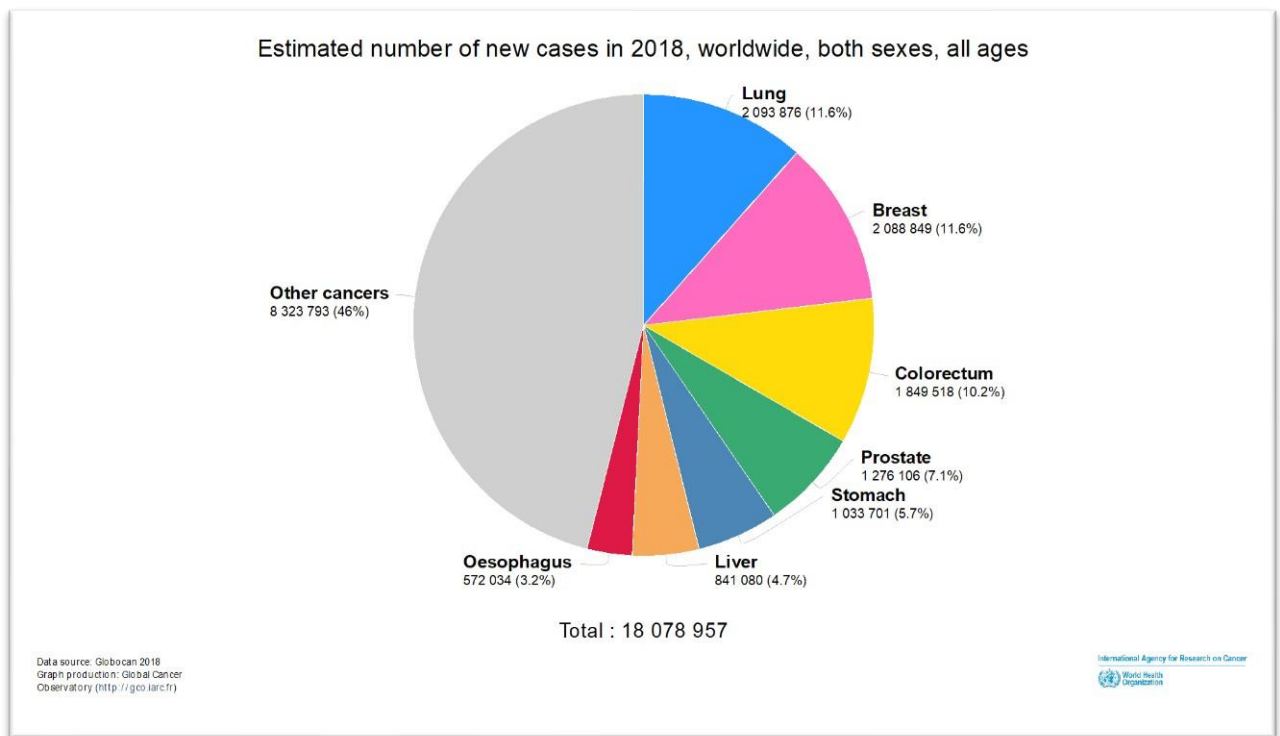
- overall survival. *Breast Cancer Res Treat* 2003;77:145-55.
53. Nakopoulou L, Panayotopoulou EG, Giannopoulou I, **Alexandrou P**, Katsarou S, Athanassiadou P, Keramopoulos A. Stromelysin-3 protein expression in invasive breast cancer: relation to proliferation, cell survival and patients' outcome. *Mod Pathol* 2002;15:1154-6.
 54. Nakopoulou L, Giannopoulou I, Stefanaki K, Panayotopoulou E, Tsirmpa I, **Alexandrou P**, Mavrommatis J, Katsarou S, Davaris P. Enhanced mRNA expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in breast carcinomas is correlated with adverse prognosis. *J Pathol* 2002;197:307-13.
 55. Nakopoulou L, **Alexandrou P**, Stefanaki K, Panayotopoulou E, Lazaris AC, Davaris PS. Immunohistochemical expression of caspase-3 as an adverse indicator of the clinical outcome in human breast cancer. *Pathobiology* 2001;69:266-73.
 56. Nakopoulou L, Katsarou S, Giannopoulou I, **Alexandrou P**, Tsirmpa I, Panayotopoulou E, Mavrommatis J, Keramopoulos A. Correlation of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 with proliferative activity and patients' survival in breast cancer. *Mod Pathol* 2002;15:26-34.
 57. Nakopoulou L, Lazaris AC, Kavantzias N, **Alexandrou P**, Athanassiadou P, Keramopoulos A, Davaris P. DNA topoisomerase II-alpha immunoreactivity as a marker of tumor aggressiveness in invasive breast cancer. *Pathobiology* 2000;68:137-43.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

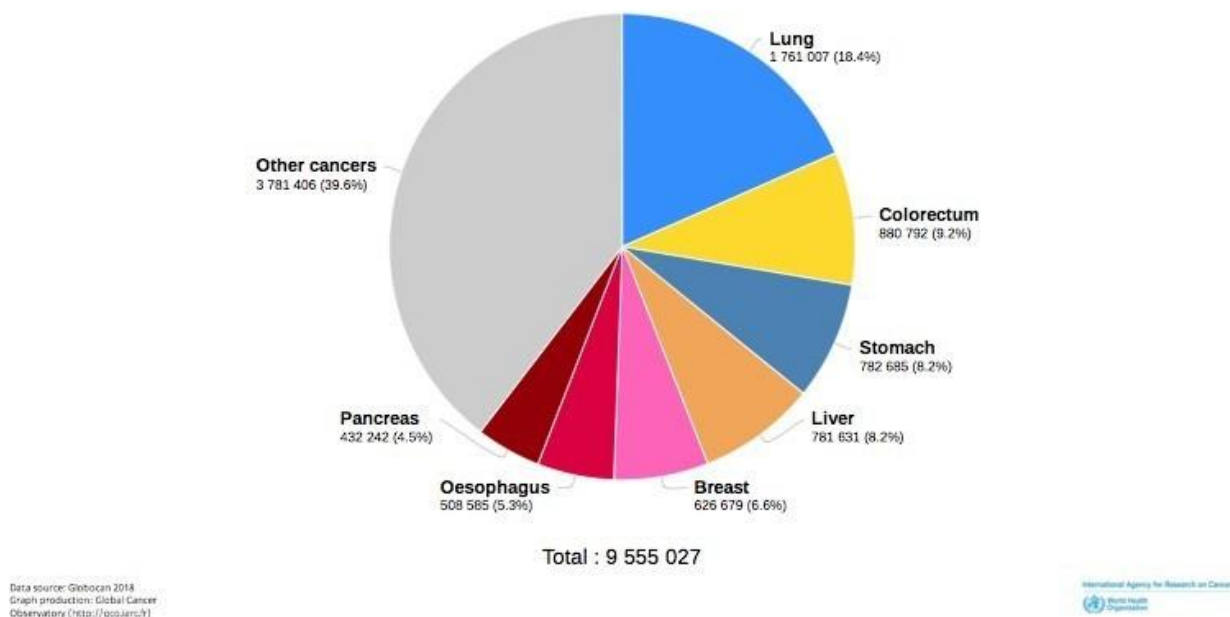
Ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί τη συχνότερη κακοήθεια όσον αφορά την επίπτωση και τη θνησιμότητα και επομένως ένα μείζον πρόβλημα για την παγκόσμια υγεία (ΕΙΚΟΝΕΣ 1Α, 1Β). Το 2018 περισσότερες από 1,5 εκατομύριο νέες περιπτώσεις καρκίνου πνεύμονα διαγνώστηκαν παγκοσμίως ενώ η συνολική θνητότητα από τη νόσο αναφέρεται σε 18,4% σύμφωνα με στοιχεία του International Agency for Research on Cancer (World Health Organization).

Οι περισσότερες περιπτώσεις καρκίνου του πνεύμονα παρατηρήθηκαν σε αναπτυσσόμενα κράτη (Κίνα, χώρες της Αφρικής) λόγω της συνεχιζόμενης αύξησης της κατανάλωσης προϊόντων καπνού. Σε ανεπτυγμένα κράτη (ΗΠΑ, Ηνωμένο Βασίλειο) η επίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα παρουσιάζει τα τελευταία χρόνια σταθεροποίηση ή και πτωτική τάση αν και ακόμη παραμένει σε υψηλά επίπεδα (ΕΙΚΟΝΑ 2).



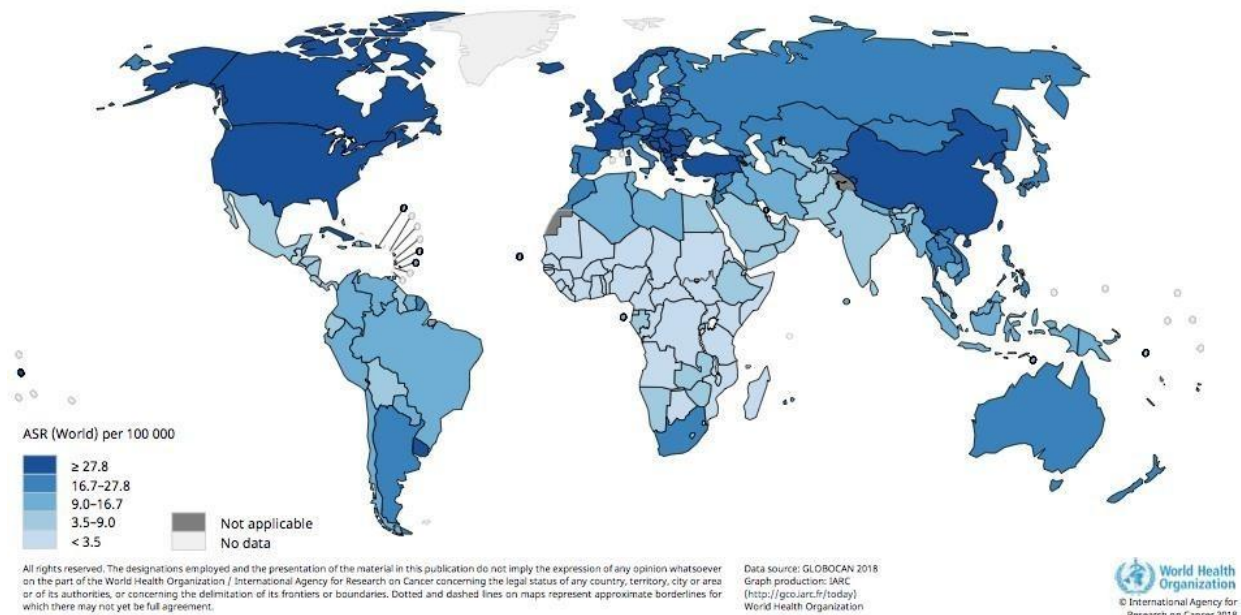
ΕΙΚΟΝΑ 1Α: Εκτιμώμενος αριθμός νέων περιπτώσεων καρκίνου όλων των τύπων παγκοσμίως, για τα δύο φύλα και για κάθε ηλικία, το 2018

Estimated number of deaths in 2018, worldwide, both sexes, all ages



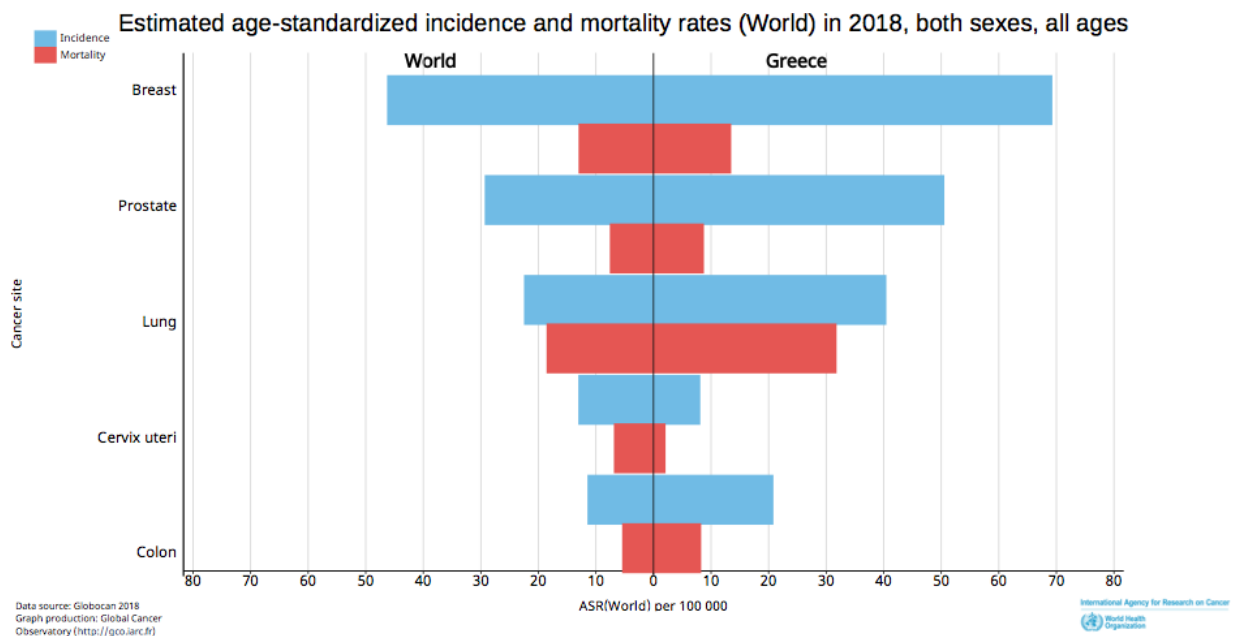
Εικόνα 1B: Εκτιμώμενος αριθμός θανάτων από καρκίνο όλων των τύπων παγκοσμίως, για τα δύο φύλα και για κάθε ηλικία, το 2018

Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2018, lung, both sexes, all ages



ΕΙΚΟΝΑ 2: Εκτιμώμενος ρυθμός επίπτωσης καρκίνου πνεύμονα παγκοσμίως, με βάση την ηλικία, για τα δύο φύλα και για ηλικίες 0-74 ετών, το 2018

Στον Ελληνικό πληθυσμό τα υπάρχοντα δεδομένα είναι μάλλον αποκαρδιωτικά καθώς η επίπτωση της νόσου κατά το έτος 2018 αναφέρεται σε 11,2% ενώ οι θάνατοι από καρκίνο του πνεύμονα ξεπέρασαν το αναφερόμενο σε παγκόσμια κλίμακα ποσοστό αγγίζοντας το 20% του συνόλου των θανάτων από καρκίνο. (ΕΙΚΟΝΑ 3).



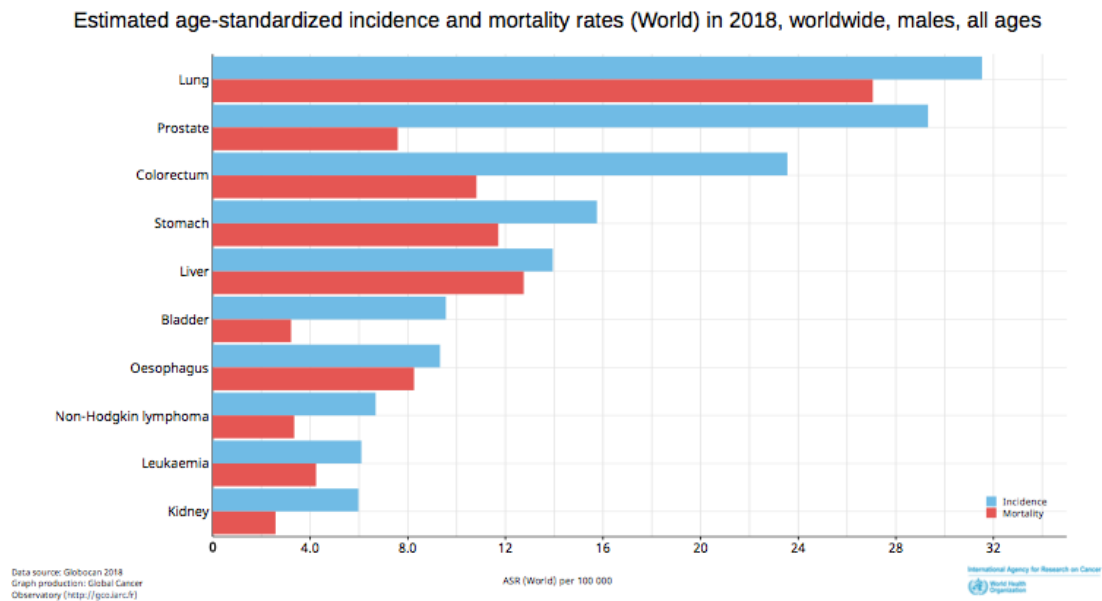
ΕΙΚΟΝΑ 3: Συγκριτικά στοιχεία επίπτωσης και θνησιμότητας για 5 τύπους καρκίνου (συμπεριλαμβανομένου του πνεύμονα) στην Ελλάδα και παγκοσμίως για τα δύο φύλα και όλες τις ηλικίες, το 2018

Ο ρυθμός επίπτωσης της νόσου παραμένει για την Ελλάδα ένας από τους υψηλότερους σε παγκόσμιο επίπεδο που αποδίδεται στην πρώιμη έναρξη του καπνίσματος σε ηλικίες μικρότερες των 18 ετών. Η Ελλάδα κατατάσσεται δυστυχώς στις πρώτες θέσεις μεταξύ των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης στην κατανάλωση προϊόντων καπνού αλλά και στο ποσοστό του παθητικού καπνίσματος (Rachiotis G, et al., 2017). Τα επιδημιολογικά δεδομένα που αφορούν τη καταγραφή του καρκίνου του πνεύμονα στον Ελληνικό πληθυσμό είναι περιορισμένα (Kontakiotis T, et al., 2009; Sifaki-Pistola D, et al., 2017), αναφέρονται σε προηγούμενες δεκαετίες και δεν αντανακλούν τη τρέχουσα κατάσταση ιδιαίτερα όταν γίνεται σύγκριση και με άλλους τύπους καρκίνου.

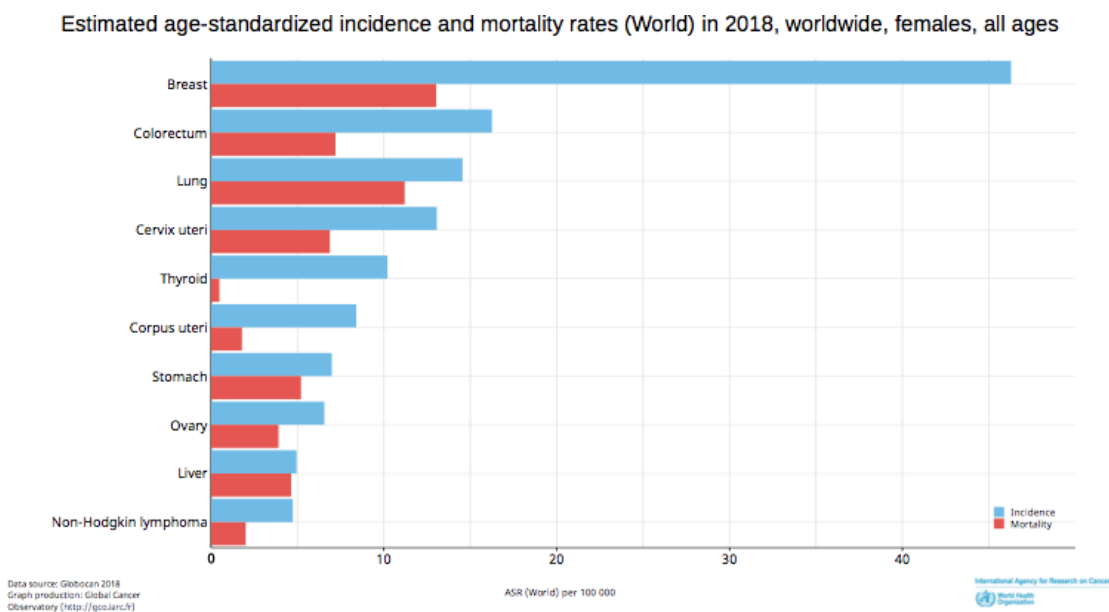
Σύμφωνα με στοιχεία της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (World Health Organisation, WHO) International Agency for Research on Cancer, ο καρκίνος του πνεύμονα αναφέρεται ως η συχνότερη κακοήθεια στους άνδρες με καταγραφή 1.368.524 νέων περιπτώσεων το 2018 με επόμενο συχνότερο τον καρκίνο του προστάτη και τον καρκίνο του παχέος εντέρου με 1.276.106

και 1.026.215 νέες περιπτώσεις, αντίστοιχα. Ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί επίσης την κακοήθεια με τη μεγαλύτερη θνησιμότητα στους άνδρες με 1.184.947 θανάτους το 2018, με δεύτερο το καρκίνο του ήπατος και τρίτο τον καρκίνο του στομάχου (ΕΙΚΟΝΑ 4Α).

Στις γυναίκες αντιπροσωπεύει τη τρίτη μορφή καρκίνου μετά τον καρκίνο του μαστού και του παχέος εντέρου, με 725.352 νέες περιπτώσεις και τη δεύτερη σε θνησιμότητα μετά το καρκίνο του μαστού με 576.060 θανάτους το 2018 (ΕΙΚΟΝΑ 4B).



ΕΙΚΟΝΑ 4Α: Εκτιμώμενος ρυθμός επίπτωσης και θνησιμότητας για τον καρκίνο του πνεύμονα παγκοσμίως στους άνδρες για όλες τις ηλικίες, το 2018



ΕΙΚΟΝΑ 4B: Εκτιμώμενος ρυθμός επίπτωσης και θνησιμότητας για τον καρκίνο του πνεύμονα παγκοσμίως στις γυναίκες για όλες τις ηλικίες, το 2018.

Η ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα φαίνεται να σχετίζεται με φυλετικούς παράγοντες. Αν και η επίπτωση της νόσου μειώθηκε τα τελευταία χρόνια στους άνδρες, ανεξάρτητα από φυλή, παραμένει κατά 20% υψηλότερη σε άνδρες Αφρικανικής φυλής ενώ αντίθετα η μικρότερη επίπτωση παρατηρείται σε Ασιάτες και κατοίκους των νησιών του Ειρηνικού. Οι διαφορές αυτές στην επίπτωση είναι αποτέλεσμα συνδυασμού και αλληλεπίδρασης γενετικών παραγόντων, διαφοροποίησης στον βαθμό έκθεσης σε καρκινογόνους παράγοντες αλλά και του κοινωνικο-οικονομικού status καθώς του τρόπου ζωής των κατοίκων των περιοχών αυτών.

Η επίπτωση της νόσου αυξάνεται παράλληλα με την ηλικία ενώ παραμένει ιδιαίτερα χαμηλή σε άτομα κάτω των 40 ετών και παρουσιάζει σταδιακή αύξηση με μέγιστη επίπτωση στις ηλικίες των 65-85 ετών. Στις ΗΠΑ ως μέση ηλικία τη στιγμή της διάγνωσης έχει αναφερθεί το 71 έτος ενώ το 90% των διεγνωσθέντων καρκίνων ή των θανάτων από καρκίνο πνεύμονα παρουσιάζονται σε ασθενείς ηλικίας μεγαλύτερης των 55 ετών. Παρά τη σημαντική πρόοδο τόσο στη διάγνωση όσο και στην εφαρμογή νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων, η πρόγνωση του καρκίνου του πνεύμονα δεν παρουσιάζει αξιόλογη βελτίωση και παραμένει πτωχή. Η επιβίωση κατά 1 έτος αυξήθηκε σε 47% από 34% σε ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα που διαγνώστηκαν στο χρονικό διάστημα 2011-2014 συγκριτικά με εκείνους που διαγνώστηκαν στο χρονικό διάστημα 1975-1977. Η μεταβολή αυτή αποδίδεται κυρίως στη βελτίωση των θεραπευτικών προσεγγίσεων (χειρουργικών και φαρμακευτικών). Οι περισσότεροι ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα έχουν κατά τη διάγνωση στάδιο III ή IV, με μόνο το 21% των περιπτώσεων να διαγιγνώσκονται στο στάδιο I. Η πενταετής επιβίωση για ασθενείς σταδίου IB δεν υπερβαίνει το 68% ενώ για ασθενείς σταδίου IV (Miller KD, et al. 2016) μειώνεται δραματικά σε <10%. (Miller KD, et al. 2016; Goldstraw P, et al., 2016). Στον ΠΙΝΑΚΑ 1 παρουσιάζονται στοιχεία από τις βάσεις δεδομένων της WHO που αφορούν το ρυθμό θνησιμότητας ανά 100.000 άτομα όλων των ηλικιών σε επιλεγμένες χώρες, στις χρονικές περιόδους 2000-2004, 2005-2009 και 2009-2012, και τις αντίστοιχες ποσοστιαίες αλλαγές που εμφανίζονται στα δύο φύλα (Malhotra J, et al., 2016). Αναγνωρίζεται με βάση τον ΠΙΝΑΚΑ 1, 17% αύξηση της συνολικής θνησιμότητας από καρκίνο του πνεύμονα στις γυναίκες στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Αύξηση παρατηρήθηκε για τις περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες συμπεριλαμβανομένης της Ελλάδας. Παρόμοιες αυξήσεις παρατηρήθηκαν σε παγκόσμιο επίπεδο εκτός από τις χώρες της Κεντρικής Αμερικής (Μεξικό-Παναμά) και τις ΗΠΑ. Αντιθέτως η συνολική θνησιμότητα από καρκίνο του πνεύμονα μειώθηκε κατά 13.5% στους άνδρες στην Ευρωπαϊκή Ένωση καθώς και σε αρκετές χώρες παγκοσμίως.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Ρυθμός θνησιμότητας ανά 100.000 άνδρες και γυναίκες όλων των ηλικιών για διαφορετικές χρονικές περιόδους και οι αντίστοιχες ποσοστιαίες μεταβολές (Malhotra J, et al., 2016)

	Men					Women				
	2000-2004	2005-2009	2012	% change 2007 versus 2012	% change 2002 versus 2012	2000-2004	2005-2009	2012	% change 2007 versus 2012	% change 2002 versus 2012
Argentina	32.28	29.84	27.18	-8.92	-15.81	7.14	8.09	8.97	10.81	25.60
Brazil	16.23	16.00	15.32	-4.24	-5.56	6.24	7.18	8.04	12.08	28.98
Canada	41.99	37.23	33.40	-10.28	-20.46	24.98	25.39	24.35	-4.11	-2.52
Chile	18.60	17.35	16.16	-6.89	-13.15	7.20	7.84	8.64	10.26	19.97
Colombia	13.80	14.38	12.98	-9.70	-5.92	7.04	7.36	6.78	-7.81	-3.57
Cuba	37.53	37.93	34.24	-9.74	-8.77	16.40	18.33	17.51	-4.46	6.74
Guatemala	5.85	5.68	4.63	-18.57	-20.91	3.98	3.83	2.56	-33.29	-35.78
Mexico	12.99	10.75	8.22	-23.52	-36.70	5.07	4.30	3.50	-18.64	-31.10
Panama	11.80	11.18	9.69	-13.34	-17.87	4.95	4.40	3.48	-20.86	-29.64
Puerto Rico	14.60	13.70	14.11	3.05	-3.34	5.63	5.83	5.38	-7.69	-4.40
USA	44.55	38.72	35.19	-9.12	-21.01	25.93	24.37	23.01	-5.61	-11.27
Uruguay	46.20	43.61	42.75	-1.97	-7.47	6.26	7.45	8.95	20.17	42.90
Venezuela	16.85	17.04	17.16	0.73	1.85	9.06	9.53	9.40	-1.34	3.82
Israel	26.51	25.19	23.73	-5.82	-10.50	8.88	8.99	9.44	4.92	6.21
Japan	29.91	28.87	27.40	-5.10	-8.39	8.03	7.95	7.76	-2.35	-3.30
Republic of Korea	43.44	39.44	35.06	-11.11	-19.30	10.08	9.46	8.89	-5.94	-11.78
Austria	35.84	32.43	29.27	-9.75	-18.33	11.53	12.60	14.42	14.47	25.02
Belgium	54.26	48.93	41.35	-15.48	-23.78	11.00	13.42	14.73	9.73	33.85
Bulgaria	39.41	43.93	41.40	-5.76	5.06	6.39	7.46	7.94	6.43	24.35
Croatia	62.11	57.06	52.40	-8.17	-15.64	10.72	11.74	13.07	11.26	21.92
Czech Republic	57.41	48.10	40.23	-16.35	-29.93	12.66	13.00	14.31	10.10	13.11
Denmark	41.60	37.32	33.11	-11.27	-20.41	28.01	28.56	26.77	-5.26	-4.42
Estonia	59.55	54.21	47.86	-11.71	-19.63	7.79	8.09	8.91	10.09	14.38
Finland	31.57	28.24	25.06	-11.26	-20.63	8.05	8.86	10.17	14.76	26.37
France	44.07	41.90	39.21	-6.43	-11.02	8.24	10.36	11.36	9.71	37.82
Georgia	24.87	17.72	23.77	34.12	-4.41	4.78	3.01	3.21	6.35	-32.94
Germany	39.17	34.99	32.08	-8.33	-18.11	11.12	12.76	14.50	13.65	30.40
Greece	47.73	46.45	46.33	-0.25	-2.94	7.34	7.72	9.24	19.71	25.85
Hungary	79.46	72.57	70.63	-2.67	-11.11	22.27	24.41	28.17	15.42	26.51
Iceland	26.14	29.18	24.32	-16.66	-6.98	25.14	25.86	23.59	-8.79	-6.17
Ireland	36.24	32.95	29.16	-11.50	-19.55	17.79	18.58	17.99	-3.19	1.13
Italy	45.44	38.39	34.43	-10.30	-24.22	8.61	9.44	10.30	9.11	19.69
Latvia	57.31	54.82	48.32	-11.86	-15.68	6.12	6.58	7.20	9.42	17.59
Lithuania	53.74	51.12	46.45	-9.14	-13.58	5.38	5.65	6.36	12.47	18.25
Luxembourg	43.90	37.12	32.90	-11.36	-25.05	10.80	12.90	15.95	23.67	47.65
Malta	37.49	32.54	32.90	1.11	-12.26	5.57	5.37	7.90	47.02	41.83
Netherlands	48.76	43.03	36.87	-14.32	-24.39	18.11	21.38	22.88	6.97	26.30
Norway	30.59	28.66	25.73	-10.22	-15.89	16.42	17.66	17.50	-0.91	6.58
Poland	67.64	61.95	53.58	-13.50	-20.78	13.28	15.21	16.44	8.11	23.82
Portugal	28.71	28.54	28.69	0.52	-0.09	4.97	5.68	6.13	7.79	23.36
Romania	46.76	47.93	47.85	-0.15	2.34	7.93	8.66	9.78	12.92	23.32
Russian Federation	57.11	51.21	46.77	-8.65	-18.09	5.80	5.55	5.50	-0.98	-5.15
Serbia	52.13	57.88	55.36	-4.35	6.20	12.35	15.11	17.65	16.80	42.96
Slovakia	53.63	46.69	43.14	-7.61	-19.57	7.67	8.43	10.01	18.74	30.54
Slovenia	50.61	46.93	43.84	-6.58	-13.38	11.39	12.76	13.10	2.66	15.05
Spain	45.71	42.89	39.72	-7.39	-13.10	5.14	6.31	8.02	27.00	56.01
Sweden	20.51	19.27	17.25	-10.48	-15.91	14.19	15.59	14.33	-8.03	1.04
Switzerland	32.06	28.72	24.33	-15.30	-24.13	10.96	12.24	13.06	6.73	19.18
UK	37.05	33.12	29.43	-11.13	-20.56	19.69	20.53	20.62	0.46	4.75
Australia	29.99	26.37	24.31	-7.79	-18.94	13.78	14.16	14.11	-0.36	2.33
New Zealand	30.15	25.79	23.74	-7.95	-21.26	18.59	18.48	18.68	1.08	0.46
European Union	44.85	41.07	38.78	-5.59	-13.54	11.30	12.62	13.27	5.10	17.46

1. 1. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Η χρήση προϊόντων καπνού παγκοσμίως σχετίζεται άμεσα με την εμφάνιση μη μικροκυτταρικού καρκινώματος πνεύμονα (ΜΜΚΠ) τόσο σε άνδρες (80%) όσο και σε γυναίκες (50%) (Sano H and Marugame T, 2006). Η νικοτίνη επάγει την έκφραση του υποδοχέα IGF-I και ενεργοποιεί το AKT σηματοδοτικό μονοπάτι σε κύτταρα του αναπνευστικού επιθηλίου (Zhang J, et al., 2016) με ταυτόχρονη ενεργοποίηση του KRAS ογκογονιδίου και προκαλεί ανοδική ρύθμιση της ενεργότητας της μεθυλοτρανσφεράσης σε πνευμονοκύτταρα *in vitro* και *in vivo* (Carlson ES, et al., 2018). Οι πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες που περιέχονται στον καπνό του τσιγάρου προκαλούν μεταλλάξεις σε ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως *p53*, *RASSF1A* και *FHIT* διακόπτοντας τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA

καθώς και αποπτωτικούς μηχανισμούς. Ανόργανα μέταλλα που περιέχονται στο καπνό όπως Κάδμιο (Cd), Αρσενικό (As), Χρώμιο (Cr), Νικέλιο (Ni) ασκούν αποδεδειγμένα καρκινογόνο δράση στο πνεύμονα (Shahadin MS, et al., 2018). Το Ni και το As παρεμβαίνουν σε επιγενετικές κυρίως διαδικασίες ενώ η νικοτίνη ενεργοποιεί σηματοδοτικά μονοπάτια που AKT, RIK και PKC, επιταχύνοντας τον κυτταρικό κύκλο και επάγοντας τελικά την καρκινογένεση (Ward RC, et al., 2019). Το παθητικό κάπνισμα ενοχοποιείται ομοίως για την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα (Boffetta P. 2006; Hackshaw AK, et al., 1997; Whitrow MJ, et al., 2003) με σχετικό κίνδυνο που κυμαίνεται από 1,14-5,2 (Hackshaw AK, et al., 1997; Whitrow MJ, et al., 2003) ανάλογα με τη μελέτη. Το παθητικό κάπνισμα κατά τη παιδική ηλικία επιπλέον φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου πνεύμονα στην ενήλικη ζωή κατά 3,6 φορές (Vineis P, et al., 2005).

Η χρήση ηλεκτρονικού τσιγάρου αν και αρχικά θεωρήθηκε ασφαλής για την παροχή νικοτίνης σε καπνιστές με απώτερο στόχο τη διακοπή του καπνίσματος φαίνεται ότι θα μπορούσε να μεταβάλλει την επίπτωση καρκίνου του πνεύμονα στο μέλλον. Νεώτερης ηλικίας άτομα κάνουν χρήση ηλεκτρονικού τσιγάρου και εθίζονται πρώιμα στη νικοτίνη με προφανείς καρκινογόνες αλλά και ποικίλες τοξικές δράσεις σε άλλα όργανα (νευρικό σύστημα). Επιπλέον η χρήση ηλεκτρονικού τσιγάρου εκθέτει το πνευμονικό παρέγχυμα σε αρωματικούς υδρογονάνθρακες – διαλύτες με άγνωστη καρκινογόνο δράση (Gotts JE, et al., 2019; Ratajczak A, et al., 2018).

Το θετικό οικογενειακό ιστορικό του καρκίνου του πνεύμονα έχει αναφερθεί ως σημαντικός παράγοντας κινδύνου (Bailey-Wilson JE, et al., 1993). Ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα παρέμενε σημαντικά υψηλός ακόμη και όταν έγινε προσαρμογή σύμφωνα με το ιστορικό καπνίσματος των ασθενών αυτών (Lorenzo Bermejo et al., 2005).

Ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα αυξάνεται σε περιπτώσεις συνδρόμου Li Fraumeni, που χαρακτηρίζεται από παρουσία μεταλλάξεων του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 (Malkin D, et al., 1990).

Πολυμορφισμοί πολλών γονιδίων έχουν συσχετισθεί με το κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα (Seo J-S, et al., 2012; Marshall AL and Christiani DC. 2013; Li W, et al., 2019).

Μελέτες ασθενών- μαρτύρων υποστηρίζουν ότι η διατροφή πλούσια σε λαχανικά και φρούτα αποτελεί προστατευτικό παράγοντα για τον καρκίνο του πνεύμονα (Lam TK, et al., 2009) αν και προοπτικές μελέτες δεν επιβεβαίωσαν αυτά τα αποτελέσματα (Vieira AR, et al., 2016; Barta JA, et al., 2019). Η αυξημένη πρόσληψη προϊόντων επεξεργασμένου κρέατος έχει αναφερθεί ότι αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα (Sinha R, et al., 1998),

γεγονός που πιθανόν σχετίζεται με την αυξημένη πρόσληψη νιτροζαμινών στη διαδικασία της παρασκευής

τους. (Sinha R, et al., 2000). Ομως μία τέτοια συσχέτιση δεν επιβεβαιώθηκε καθώς η μετα-ανάλυση 8 κλινικών μελετών δεν έδειξε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα σε άτομα με ιστορικό υψηλής πρόσληψης ολικού ή κορεσμένου λίπους στη διατροφή τους. (Smith- Wagner SA, et al., 2002). Διαφορετικές μελέτες έχουν συσχετίσει τον κίνδυνο καρκίνου του πνεύμονα με την εκτιμώμενη πρόσληψη β-καροτίνης ή ολικών καροτενοειδών (Albanes D. 1999). Μελέτες παρατήρησης υποστηρίζουν ότι χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα (Herr C, et al., 2011). Η αυξημένη κατανάλωση καφέ έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα αν και μετά την απομάκρυνση του συγχυτικού παράγοντα “κάπνισμα σε άτομα με αυξημένη πρόσληψη καφέ” ο κίνδυνος μειώθηκε σημαντικά (Guertin KA, et al., 2016). Με τον ίδιο τρόπο είναι δύσκολο να διερευνηθεί η συσχέτιση αυξημένης πρόσληψης αλκοόλ και καρκίνου του πνεύμονα καθώς αναγνωρίζεται ισχυρότατη σχέση μεταξύ καπνίσματος και πρόσληψης αλκοόλ (Bandera EV, et al., 2001; Bagnardi V, et al., 2011). Ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα ανεξάρτητα από τον παράγοντα κάπνισμα λόγω του συνεχούς ερεθισμού και των ιστικών μεταβολών στο πνευμονικό παρέγχυμα (Denholm R, et al., 2014) όπως κάτι ανάλογο συμβαίνει με την πνευμονική ίνωση (Hubbard R, et al., 2000). Σύμφωνα με πρόσφατη μετα-ανάλυση, ασθενείς με άσθμα που ποτέ δεν υπήρξαν καπνιστές παρουσίασαν σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα 1,8 (90% CI1,3-2,3) (Santillan AA, et al., 2003). Αυξημένος σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα έχει αναφερθεί σε ασθενείς με πνευμονική φυματίωση (Lin HH, et al., 2008; Hong S, et al., 2016) καθώς και σε άλλα λοιμώδη νοσήματα όπως η Chlamydia pneumonia (Littman AJ, et al., 2005), ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Paraschiv B, et al., 2015; Kirk GD, et al., 2007) ενώ δεν φαίνεται να τεκμηριώνεται παρόμοια συσχέτιση με τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (Anantharaman D, et al., 2014). Η έκθεση στην ιονίζουσα ακτινοβολία σχετίζεται άμεσα με την εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα καθώς αυξημένος κίνδυνος έχει αναφερθεί στους επιζώντες της ατομικής βόμβας καθώς και σε ασθενείς που έχουν λάβει ακτινοθεραπεία με αθροιστική έκθεση > 100cGy (Cho JH, et al., 2016).

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Τα περισσότερα κακοήθη νεοπλάσματα του πνεύμονα είναι επιθηλιακής προέλευσης. Στον ΠΙΝΑΚΑ 2 εμφανίζεται η ιστολογική ταξινόμηση των κακοήθων νεοπλασμάτων του πνεύμονα σύμφωνα με τις οδηγίες της WHO και της Διεθνούς Ένωσης για τη μελέτη του

καρκίνου του πνεύμονα.(Goldstraw P, et al., 2016; Travis WD, et al., 2015). Τα καρκινώματα του πνεύμονα

διαίρονται σε δύο κύριες ομάδες: στο μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα (ΜΜΚΠ, Non Small Cell Carcinoma, NSCLC) που αντιστοιχεί στο ~80% των περιπτώσεων και στο μικροκυτταρικό καρκίνωμα (ΜΚΠ, Small Cell Carcinoma, SCLC) που αντιστοιχεί σε ~20% αυτών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Ταξινόμηση Νεοπλασμάτων του πνεύμονα κατά WHO 2015

WHO classification of tumours of the lung^{a,b}

Epithelial tumours		Papillomas	
Adenocarcinoma	8140/3	Squamous cell papilloma	8052/0
Lepidic adenocarcinoma	8250/3*	Exophytic	8052/0
Acinar adenocarcinoma	8551/3*	Inverted	8053/0
Papillary adenocarcinoma	8260/3	Glandular papilloma	8260/0
Micropapillary adenocarcinoma	8265/3	Mixed squamous cell and glandular papilloma	8560/0
Solid adenocarcinoma	8230/3	Adenomas	
Invasive mucinous adenocarcinoma	8253/3*	Sclerosing pneumocytoma	8832/0
Mixed invasive mucinous and non-mucinous adenocarcinoma	8254/3*	Alveolar adenoma	8251/0
Colloid adenocarcinoma	8480/3	Papillary adenoma	8260/0
Fetal adenocarcinoma	8333/3	Mucinous cystadenoma	8470/0
Enteric adenocarcinoma	8144/3	Mucous gland adenoma	8480/0
Minimally invasive adenocarcinoma		Mesenchymal tumours	
Non-mucinous	8250/2*	Pulmonary hamartoma	8092/0
Mucinous	8257/3*	Chondroma	9230/0
Preinvasive lesions		PEComatous tumours	
Atypical adenomatous hyperplasia	8250/0*	Lymphangiomyomatosis	9174/1
Adenocarcinoma in situ	8140/2	PEComa, benign	8714/0
Non-mucinous	8410/2	Clear cell tumour	8005/0
Mucinous	8253/2	PEComa, malignant	8714/3
Squamous cell carcinoma	8070/3	Congenital peribronchial myofibroblastic tumour	8827/1
Keratizing squamous cell carcinoma	8071/3	Diffuse pulmonary lymphangiomatosis	
Non-keratinizing squamous cell carcinoma	8072/3	Inflammatory myofibroblastic tumour	8825/1
Basaloid squamous cell carcinoma	8083/3	Epithelioid haemangioendothelioma	9133/3
Preinvasive lesion		Pleuropulmonary blastoma	8973/3
Squamous cell carcinoma in situ	8070/2	Synovial sarcoma	9040/3
Neuroendocrine tumours		Pulmonary artery intimal sarcoma	9137/3
Small cell carcinoma	8041/3	Pulmonary myxoid sarcoma with EWSR1-CREB1 translocation	8842/3*
Combined small cell carcinoma	8045/3	Myoepithelial tumours	
Large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Myoepithelioma	8982/0
Combined large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Myoepithelial carcinoma	8982/3
Carcinoid tumours		Lymphohistiocytic tumours	
Typical carcinoid	8240/3	Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	9099/3
Atypical carcinoid	8243/3	Diffuse large B-cell lymphoma	9680/3
Preinvasive lesion		Lymphomatoid granulomatosis	9786/1
Diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia	8040/0*	Intravascular large B-cell lymphoma	9712/3
Large cell carcinoma	8012/3	Pulmonary Langerhans cell histiocytosis	9751/1
Adenosquamous carcinoma	8560/3	Erdheim-Chester disease	9750/1
Pleomorphic carcinoma	8022/3	Tumours of ectopic origin	
Spindle cell carcinoma	8032/3	Germ cell tumours	
Giant cell carcinoma	8031/3	Teratoma, mature	9080/0
Carcinosarcoma	8980/3	Teratoma, immature	9080/1
Pulmonary blastoma	8972/3	Intrapulmonary thymoma	8580/3
Other and unclassified carcinomas		Melanoma	8720/3
Lymphoepithelioma-like carcinoma	8082/3	Meningioma, NOS	9530/0
NUT carcinoma	8023/3*	Metastatic tumours	
Salivary gland-type tumours			
Mucoepidermoid carcinoma	8430/3		
Adenoid cystic carcinoma	8200/3		
Epithelial-myoepithelial carcinoma	8562/3		
Pleomorphic adenoma	8940/0		

Το ΜΜΚΠ περιλαμβάνει τρεις κύριους υπότυπους: το αδenoκαρκίνωμα, το πλακώδες καρκίνωμα και το καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα. Το ΜΚΠ συμπεριλαμβάνεται μαζί με άλλους ιστολογικούς τύπους στα νευροενδοκρινικά νεοπλάσματα του πνεύμονα.

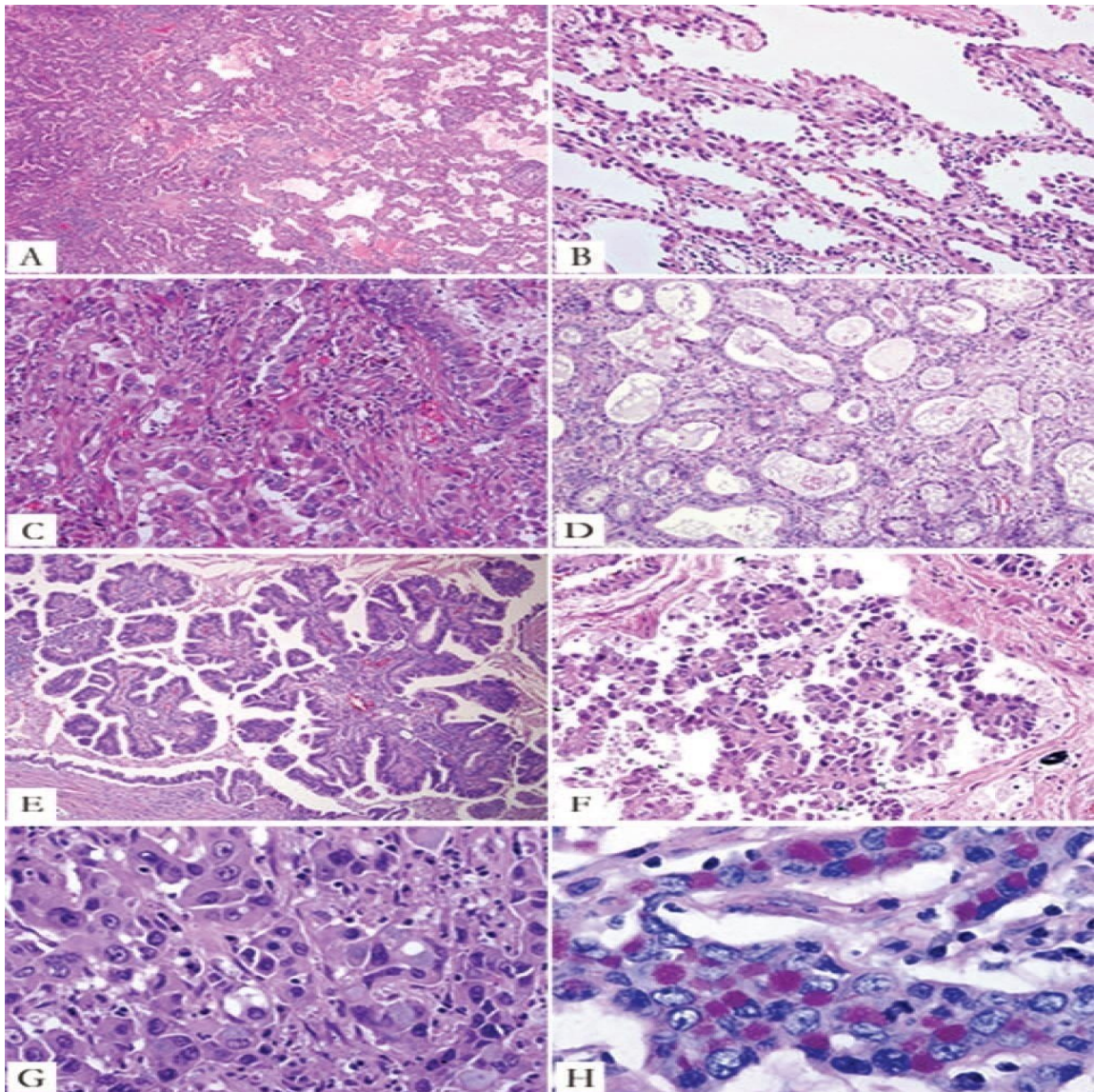
Μή Μικροκυτταρικό Καρκίνωμα Πνεύμονα (ΜΜΚΠ)

Το ΜΜΚΠ αποτελεί τη συχνότερη μορφή πρωτοπαθούς όγκου του πνεύμονα (80%) και περιλαμβάνει τους παρακάτω υπότυπους: το αδenoκαρκίνωμα (40-50%), το πλακώδες καρκίνωμα (20-30%) και το καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα (Selvaggi G and Scagliotti GV. 2009; Travis WD. 2011; Travis WD, et al., 2013). Οι παραπάνω υπότυποι διαφέρουν ως προς την εντόπιση, την ηλικία εμφάνισης, το φύλο, τη κλινική εικόνα αλλά και ως προς τη πρόγνωση και τη θεραπευτική αντιμετώπιση.

ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Το αδenoκαρκίνωμα του πνεύμονα συνιστά μια ομάδα ιστολογικών υποτύπων που περιλαμβάνει το αδenoκαρκίνωμα *in situ*, την άτυπη αδenoματώδη υπερπλσία, το λεπιδικό, το κυψελιδικό, το θηλώδες και μικροθηλώδες, το συμπαγές, το διηθητικό βλεννώδες, το κολλοειδές, το εμβρυϊκό, το εντερικό και το ελάχιστο διηθητικό αδenoκαρκίνωμα (Travis WD, et al., 2015). Αν και πάντοτε αναγνωρίζεται αιτιολογική σχέση μεταξύ του καρκινώματος του πνεύμονα και του καπνίσματος, ο τύπος αυτός εμφανίζεται συχνότερα από οποιονδήποτε άλλο σε ασθενείς μη καπνιστές. Στον απεικονιστικό έλεγχο συνήθως εμφανίζεται ως μια περιφερική αλλοίωση με κεντρική ίνωση ενώ σπανιότερα εμφανίζεται ως κεντρική βλάβη, ως διάχυτη αμφοτερόπλευρη ή ως σκληρυντική αλλοίωση στον υπεζοκότα. Μακροσκοπικά αναγνωρίζεται συνήθως ως πολυποειδής βλάβη και σπανιότερα ως επίπεδη βλάβη και ορίζεται ως ένα κακόηθες επιθηλιακό νεόπλασμα με αδενική διαφοροποίηση με παραγωγή βλέννης ή με έκφραση των δεικτών πνευμονοκυτταρικής διαφοροποίησης. Αυτοί οι μορφολογικοί χαρακτήρες θέτουν τη διάγνωση αδenoκαρκινώματος ακόμη και σε βιοπτικό υλικό (Zheng M, 2016). Τα κύτταρα του αδenoκαρκινώματος ανοσοϊστοχημικά εκφράζουν στο 80% των περιπτώσεων δείκτες πνευμονοκυτταρικής διαφοροποίησης όπως ο TTF-1 και η Napsin A, που αποτελούν χρήσιμους δείκτες στη διαφορική διάγνωση (Zheng M, 2016). Τα κύτταρα του αδenoκαρκινώματος εκφράζουν δείκτες επιθηλιακής διαφοροποίησης όπως η AE1/AE2, CAM5.2, ειδικό μεμβρανικό αντιγόνο (EMA) και το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA). Επίσης συχνότερα

εκφράζουν την κερατίνη 7 (CK7) σε σχέση με την κερατίνη 20 (CK20). Κύρια ιστολογικά πρότυπα διηθητικού αδενοκαρκινώματος πνεύμονα απεικονίζονται στην ΕΙΚΟΝΑ 5.

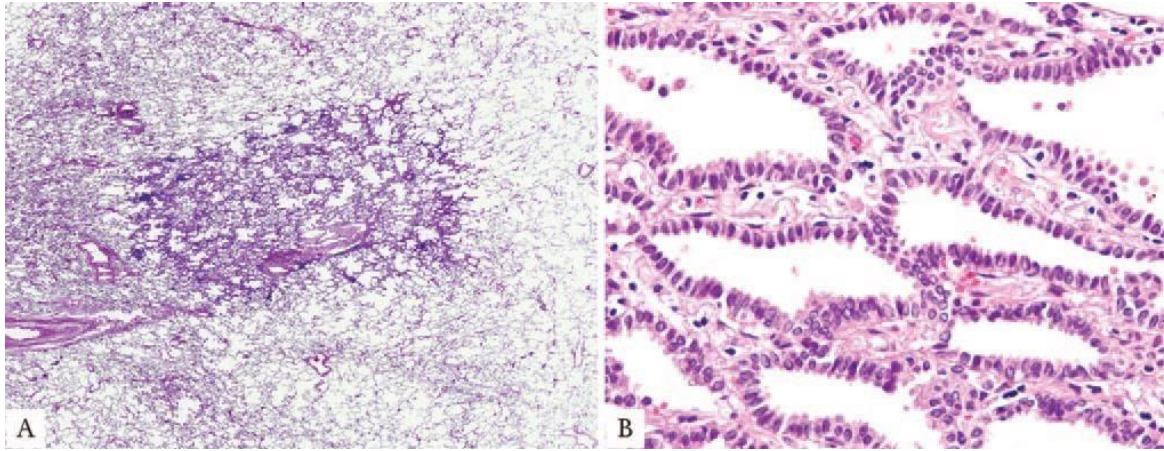


ΕΙΚΟΝΑ 5: Κύρια ιστολογικά πρότυπα διηθητικού αδενοκαρκινώματος πνεύμονα (WHO 2015)

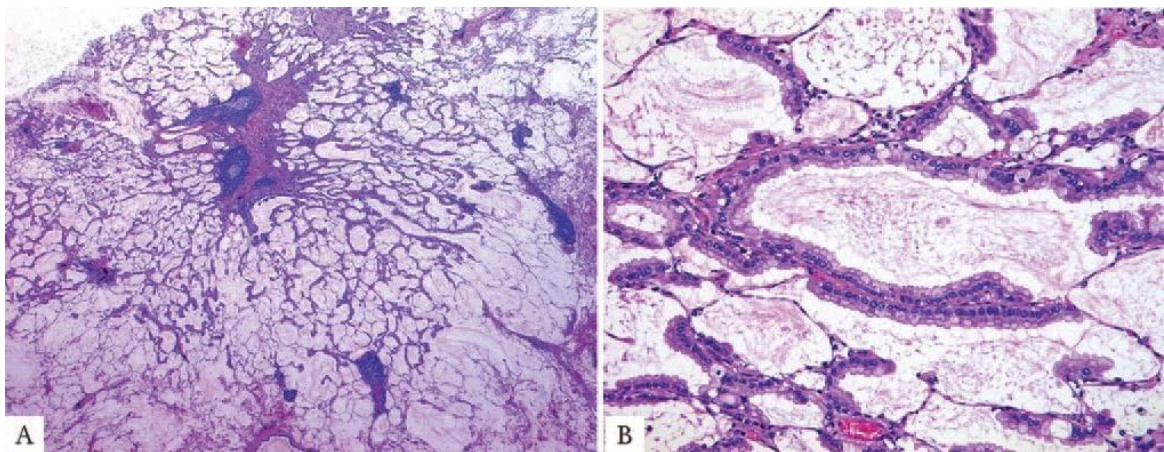
ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑ IN SITU / ΕΛΑΧΙΣΤΑ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Αντιπροσωπεύει μικρού μεγέθους όγκους (≤ 3 cm) και χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη των νεοπλασματικών κυττάρων κατά μήκος του κυψελιδικού τοιχώματος (λεπιδικό πρότυπο ανάπτυξης) χωρίς την παρουσία διήθησης στρώματος, αγγειακών διηθήσεων ή διηθήσεις του υπεζοκότα (ΕΙΚΟΝΑ 6Α). Η πλειοψηφία των νεοπλασμάτων αυτών αντιστοιχεί σε μη βλενωδείς όγκους που χαρακτηρίζονται από κυβοειδή ή κυλινδρικά κύτταρα με μέτριο πυρηνικό πλειομορφισμό και αναπτύσσονται κατά μήκος του κυψελιδικού τοιχώματος ενώ δεν αναγνωρίζεται δευτερεύον θηλώδες ή μικροθηλώδες πρότυπο ανάπτυξης (Zheng M, 2016).

Μικρό ποσοστό των νεοπλασμάτων αυτών χαρακτηρίζονται ως βλεννώδη ή μικτού τύπου (ΕΙΚΟΝΑ 6B).



ΕΙΚΟΝΑ 6A: Μη Βλεννώδες Αδενοκαρκίνωμα in situ (WHO 2015)



ΕΙΚΟΝΑ 6B: Βλεννώδες Αδενοκαρκίνωμα in situ (WHO 2015)

Εάν ο όγκος περιέχει μικροσκοπική διηθητική εστία ($\leq 5\text{mm}$) χαρακτηρίζεται ως μικροδιηθητικό και όχι ως in situ καρκίνωμα. Η διήθηση συνήθως συνοδεύεται από δεσμοπλαστική αντίδραση στο στρώμα ενώ μπορεί να εκδηλωθεί με μη λεπιδικό πρότυπο ανάπτυξης (θηλώδες, μικροθηλώδες, συμπαγές). Στη μικροδιήθηση δεν αναγνωρίζονται νεκρώσεις, διήθηση αγγειακών και λεμφαγγειακών κλάδων ή διήθηση του υπεζοκότα. Το in situ και το ελάχιστο διηθητικό αδενοκαρκίνωμα θεωρούνται χαμηλού βαθμού κακοηθείας νεοπλάσματα με πενταετή συνολική επιβίωση να φθάνει το 100% (Travis WD, et al., 2015).

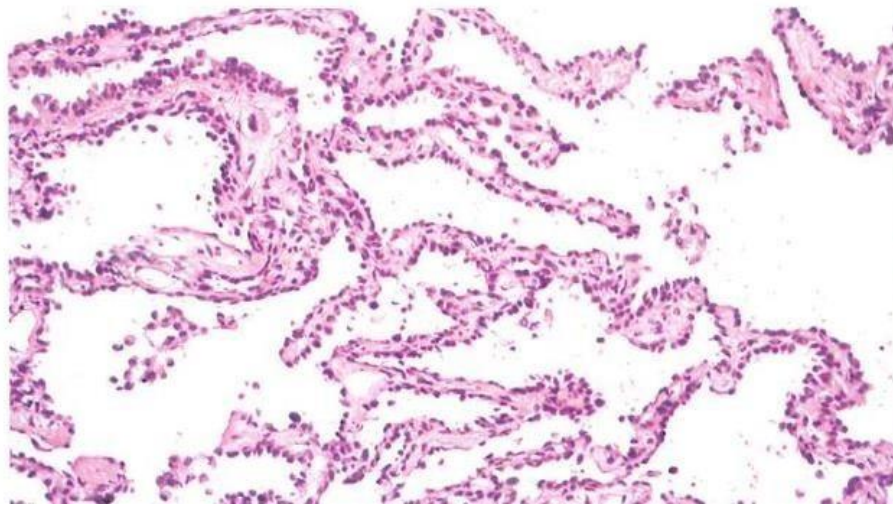
ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Στα περισσότερα διηθητικά αδενοκαρκινώματα του πνεύμονα αναγνωρίζονται μικτοί μορφολογικοί χαρακτήρες (υπότυποι) και ταξινομούνται ιστολογικά σύμφωνα με τη κυρίαρχη

αρχιτεκτονική μορφολογία (πρότυπο). Το καρκίνωμα επομένως χαρακτηρίζεται ως λεπιδικό, θηλώδες, μικροθηλώδες, συμπαγές ή κυψελιδικό αδενοκαρκίνωμα. Η μορφολογική-αρχιτεκτονική ταξινόμηση του καρκινώματος εμφανίζει σημαντική προγνωστική αξία με ευνοϊκότερη πρόγνωση να φέρει το λεπιδικό πρότυπο, μέτρια πρόγνωση το θηλώδες και κυψελιδικό και πτωχή πρόγνωση το μικροθηλώδες και συμπαγές αδενοκαρκίνωμα. (Osmani L, et al., 2018; Yanagawa N, et al., 2013; Yoshizawa A, et al., 2011).

Λεπιδικό αδενοκαρκίνωμα

Στο λεπιδικό πρότυπο ανάπτυξης τα νεοπλασματικά κύτταρα επεκτείνονται κατά μήκος του κυψελιδικού τοιχώματος ενώ μπορεί να παρατηρείται σκλήρυνση των κυψελιδικών διαφραγματιών . Όταν αυτό το αρχιτεκτονικό πρότυπο ανάπτυξης είναι το κυρίαρχο με πρόσθετα μορφολογικά χαρακτηριστικά που απομακρύνουν από τη διάγνωση του *in situ* και του ελάχιστα διηθητικού καρκινώματος, τότε το καρκίνωμα χαρακτηρίζεται ως λεπιδικό (ΕΙΚΟΝΑ 7).



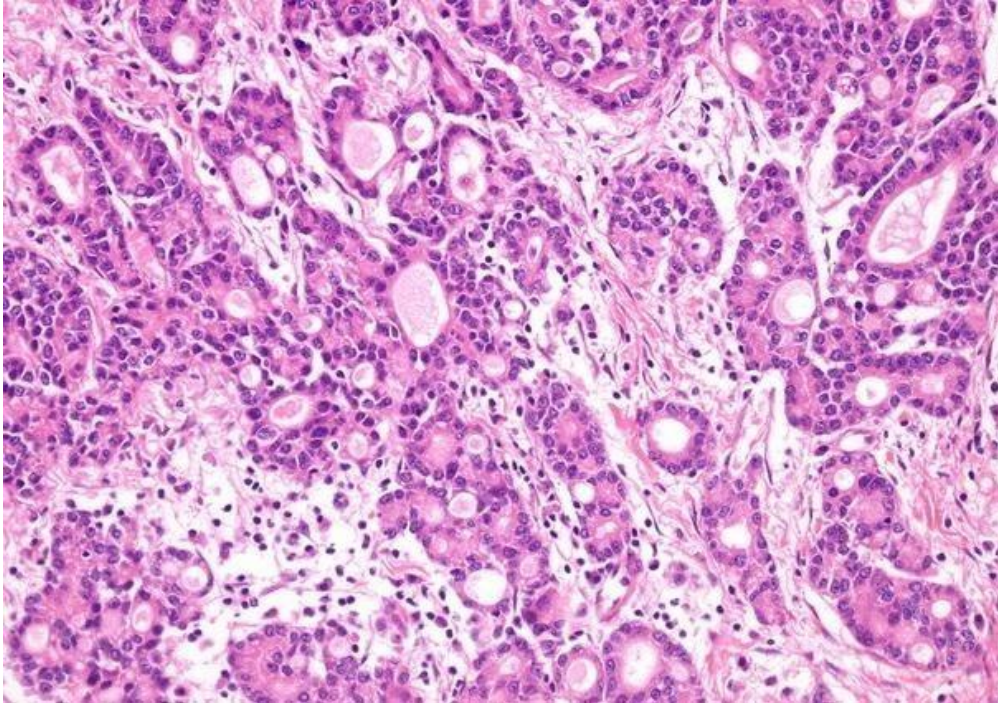
ΕΙΚΟΝΑ 7: Λεπιδικό πρότυπο αδενοκαρκινώματος πνεύμονα (WHO 2015)

Τα επιπλέον χαρακτηριστικά που συνηγορούν υπέρ της διάγνωσης του λεπιδικού καρκινώματος είναι η διήθηση >5mm με συνοδό δεσμοπλαστική ή μυοϊνοβλαστική αντίδραση του στρώματος, ή/ και η επέκταση κατά μήκος των κυψελιδικών χώρων ή / και η παρουσία λεμφαγγειακής / αγγειακής / υπεζωκοτικής διήθησης ή /και νέκρωσης. Ο τύπος αυτός του καρκινώματος του πνεύμονα παρουσιάζει καλύτερη πρόγνωση σε σχέση με τους άλλους υπότυπους του αδενοκαρκινώματος (Travis WD. 2013).

Κυψελιδικό αδενοκαρκίνωμα

Αποτελεί συχνό υπότυπο αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα όπου τα νεοπλασματικά

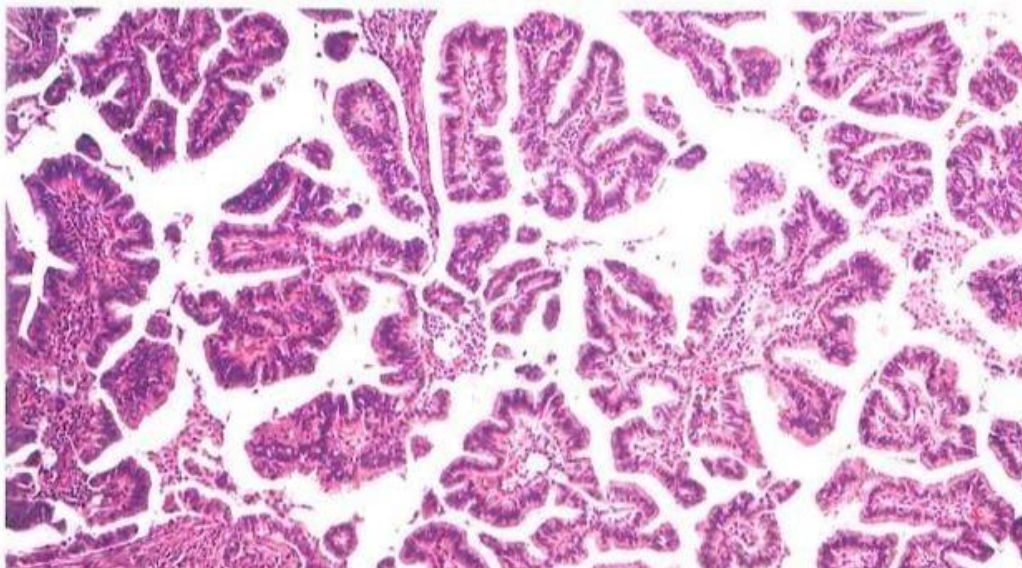
κύτταρα διατάσσονται σε αδενικούς σχηματισμούς εντός ινοελαστικού στρώματος. Τα κύτταρα του αδενοκαρκινώματος είναι δυνατόν να εμφανίζουν περισσότερο σύνθετα πρότυπα ανάπτυξης, όπως το ηθμοειδές, που συνιστά στοιχείο πτωχής πρόγνωσης (Zheng M, 2016) (EIKONA 8).



EIKONA 8: Κυψελιδικό αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα (webpathology)

Θηλώδες αδενοκαρκίνωμα

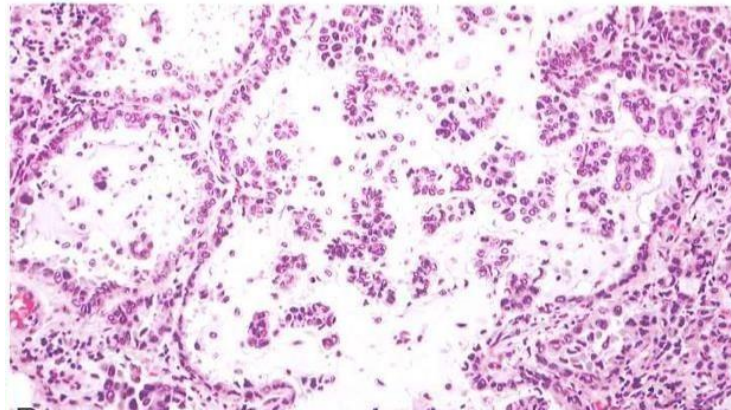
Σε αυτό το πρότυπο τα νεοπλασματικά κύτταρα αναπτύσσονται σε διακλαδιζόμενους αγγειοσυνδετικούς άξονες σχηματίζοντας θηλές (EIKONA 9). Η παρουσία των αγγειοσυνδετικών αξόνων διαχωρίζει τον τύπο αυτό από το μικροθηλώδες αδενοκαρκίνωμα (Zheng M, 2016)



ΕΙΚΟΝΑ 9: Θηλώδες αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα (WHO 2015)

Μικροθηλώδες αδеноκαρκίνωμα

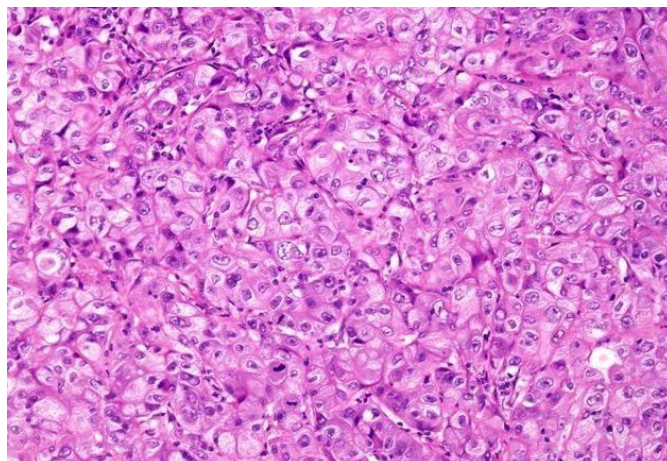
Σε αυτό το πρότυπο τα νεοπλασματικά κύτταρα σχηματίζουν ψευδοθηλές χωρίς την παρουσία αγγειοσυνδετικών αξόνων και διατάσσονται σε μεμονωμένες συμπαγείς αθροίσεις μικρού μεγέθους κυττάρων (ΕΙΚΟΝΑ 10). Στο πρότυπο αυτό είναι δυνατό να αναγνωρισθούν ψαμμώδη σωμάτια. Το μικροθηλώδες αδеноκαρκίνωμα πνεύμονα, ακόμη και σε αρχικά στάδια, παρουσιάζει τη χειρότερη πρόγνωση από όλους τους τύπους του αδеноκαρκινώματος του πνεύμονα (Nitadori J, et al., 2013; Tsumida H., et al., 2007).



ΕΙΚΟΝΑ 10: Μικροθηλώδες αδеноκαρκίνωμα πνεύμονα (WHO 2015)

Συμπαγές αδеноκαρκίνωμα

Στον τύπο αυτό του αδеноκαρκινώματος τα νεοπλασματικά κύτταρα δεν παρουσιάζουν συγκεκριμένο πρότυπο ανάπτυξης και περιλαμβάνει τα χαμηλής διαφοροποίησης καρκινώματα καθώς και αδιαφοροποίητα καρκινώματα που εκφράζουν ανοσοϊστοχημικούς δείκτες πνευμονοκυτταρικής διαφοροποίησης, TTF-1 και Napsin A. Τα καρκινώματα αυτά μπορεί να εκφράζουν και ανοσοϊστοχημικούς δείκτες που σχετίζονται με πλακώδη διαφοροποίηση όπως p63 και σπανιότερα p40 (Zheng M, 2016, Nonaka D, 2012) (ΕΙΚΟΝΑ 11).

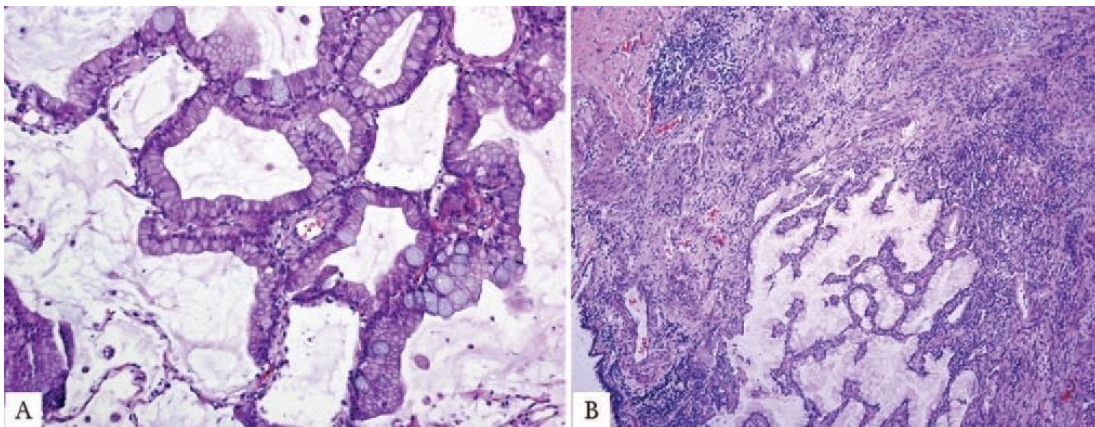


ΕΙΚΟΝΑ 11: Συμπαγές αδеноκαρκίνωμα πνεύμονα (webpathology)

Σπάνιοι υπότυποι διηθητικού αδενοκαρκινώματος

Στους σπάνιους υπότυπους του διηθητικού αδενοκαρκινώματος πνεύμονα περιλαμβάνονται το διηθητικό βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα, το κολλοειδές, το εντερικού τύπου και το εμβρυϊκό αδενοκαρκίνωμα. Το διηθητικό βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα εμφανίζει συνήθως πολυεστιακή εντόπιση και δεν εκφράζει TTF1 όπως οι άλλοι υπότυποι της ίδιας κατηγορίας (ΕΙΚΟΝΑ 12).

Το εντερικού τύπου αδενοκαρκίνωμα είναι απαραίτητο να διαχωρίζεται από το μεταστατικό αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου .

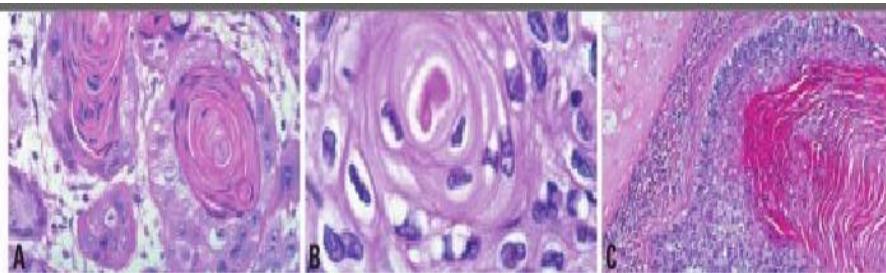


ΕΙΚΟΝΑ 12: Διηθητικό Βλεννώδες Αδενοκαρκίνωμα (WHO 2015)

ΠΛΑΚΩΔΕΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Το πλακώδες καρκίνωμα αποτελεί το 20% των κακοήθων νεοπλασμάτων του πνεύμονα. Η επίπτωσή του παρουσιάζει πτωτική τάση τις τελευταίες δεκαετίες λόγω περιορισμού του καπνίσματος με το οποίο συνδέεται αιτιολογικά.

Το καρκίνωμα αυτό εντοπίζεται σε μεγάλους αεραγωγούς και εμφανίζει συνήθως κεντρική νέκρωση με σπηλαιοποίηση. Η ιστολογική εικόνα χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεσοκυττάρων γεφυρών και από παραγωγή κερατίνης (κερατινοποίηση), σε άλλοτε άλλο βαθμό, που μπορεί να αφορά σε μεμονωμένα κύτταρα ή σε ομάδες κυττάρων, σχηματίζοντας πέρλες κερατίνης στο κέντρο των φωλεών (ΕΙΚΟΝΑ 13).

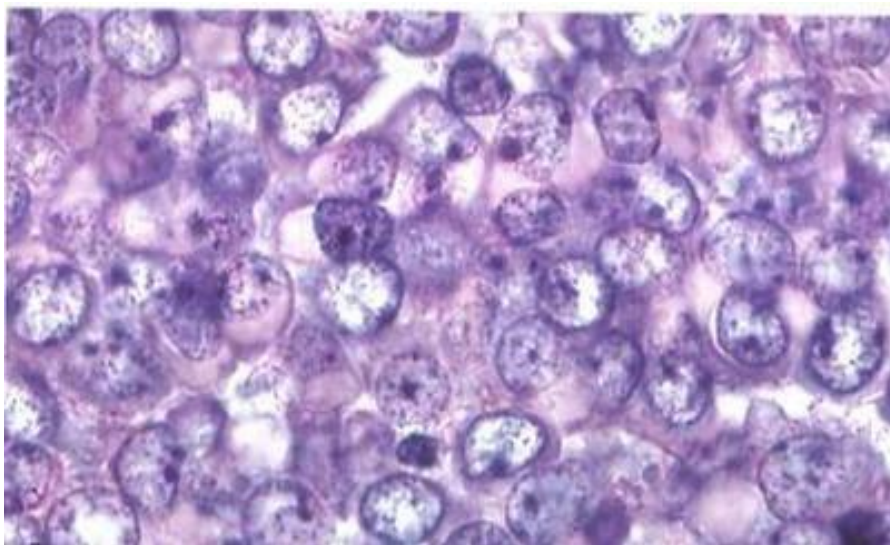


ΕΙΚΟΝΑ 13: Πλακώδες αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα (WHO 2015)

Η έκταση της κερατινοποίησης χαρακτηρίζει τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης των πλακωδών καρκινωμάτων και τα διαχωρίζει περαιτέρω σε κερατινοποιούμενα, μη κερατινοποιούμενα και στα βασικοκυτταροειδή. Τα τελευταία εμφανίζουν χαρακτηριστικό μοριακό προφίλ και είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά στη χημειοθεραπεία. Τα νεοπλασματικά κύτταρα του πλακώδους καρκινώματος του πνεύμονα παρουσιάζουν υπερχρωματικούς πυρήνες με διακριτά πυρήνια και άφθονο ηωσινόφιλο κτταρόπλασμα. Η διάγνωση βασίζεται στα παραπάνω μορφολογικά χαρακτηριστικά και επιβεβαιώνεται ιδιαίτερα σε περιπτώσεις καρκινωμάτων χαμηλής διαφοροποίησης με τη χρήση ανοσοϊστοχημικών δεικτών όπως p63, p40, CK5/6, CK5 (Conde E, et al., 2013). Τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι γενικά αρνητικά στο TTF-1 αν και έχει αναφερθεί η παρουσία ασθενούς θετικότητας σε σπάνιες περιπτώσεις (Hayashi T, et al., 2013). Η παρουσία πλακώδους διαφοροποίησης είναι ιδιαίτερα σημαντική για την επιλογή της κατάλληλης θεραπείας.

ΜΕΓΑΛΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Το μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα συνιστά μικρό ποσοστό αδιαφοροποίητων ΜΜΚΠ που δεν παρουσιάζουν μορφολογικά ή ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά αδenoκαρκινώματος, πλακώδους καρκινώματος, ή νευροενδοκρινικού καρκινώματος (Battafarano RJ, et al., 2005). Εμφανίζεται συνήθως σε περιφερική θέση του πνεύμονα ως μονήρης βλάβη με νέκρωση. Τα καρκινικά κύτταρα είναι πολυγωνικά μεγάλου μεγέθους, με ικανό πλειομορφισμό, κενοτοπιώδεις πυρήνες και αναπτύσσονται χωρίς συγκεκριμένο αρχιτεκτονικό πρότυπο ή σχηματίζουν φωλεές (ΕΙΚΟΝΑ 14).

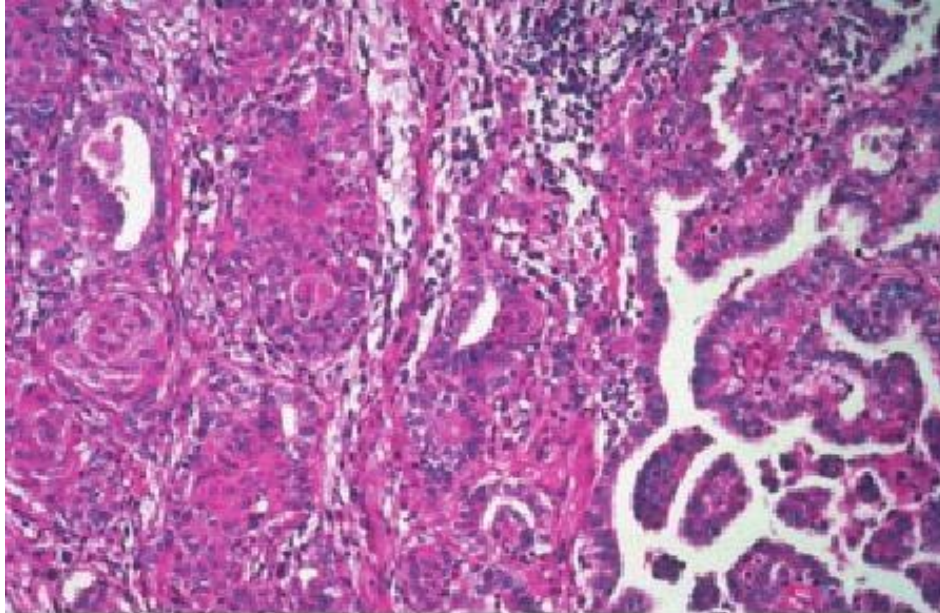


ΕΙΚΟΝΑ 14: Μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (WHO 2015)

Η αναγνώριση μορφολογικών χαρακτήρων μεγαλοκυτταρικού καρκινώματος σε βιοπτικό ή κυτταρολογικό υλικό χαρακτηρίζει το καρκίνωμα ως «ΜΜΚΠ μη περαιτέρω ταυτοποιούμενο» και όχι ως μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα καθώς η ιστολογική ταυτοποίησή τους μπορεί να γίνει μόνο σε χειρουργικό παρασκεύασμα. Ο κατάλληλος ανοσοϊστοχημικός έλεγχος βοηθά στη διαφορική διάγνωση των καρκινωμάτων αυτών από συμπαγή αδenoκαρκινώματα καθώς και από τα μη κερατινοποιούμενα πλακώδη καρκινώματα. Η πρόγνωση του μεγαλοκυτταρικού καρκινώματος είναι ιδιαίτερα πτωχή.

Λιγότερο συχνοί ιστολογικοί τύποι ΜΜΚΠ

Το αδenoπλακώδες καρκίνωμα αποτελεί σπάνιο τύπο ΜΜΚΠ (<5% του συνόλου των καρκινωμάτων) (Fitzgibbons PL and Kern WH. 1985). Αντιπροσωπεύει ένα υβριδικό τύπο καρκινώματος με το κάθε στοιχείο (πλακώδες ή αδενικό) να αποτελεί τουλάχιστον 10% του όγκου (Travis WD, et al., 2015) (ΕΙΚΟΝΑ 15). Το αδenoπλακώδες καρκίνωμα πνεύμονα χαρακτηρίζεται από χειρότερη πρόγνωση τόσο από το αδenoκαρκίνωμα όσο και από το πλακώδες καρκίνωμα αν και θεραπευτικά αντιμετωπίζεται ως αδenoκαρκίνωμα (Tochigi N, et al., 2011; Mondant I, et al., 2013).



ΕΙΚΟΝΑ 15: Αδenoπλακώδες καρκίνωμα πνεύμονα (WHO 2015)

Το πλειόμορφο, το γιγαντοκυτταρικό και το ατρακτοκυτταρικό καρκίνωμα αποτελούν επίσης σπάνιους υπότυπους ΜΜΚΠ με συχνότητα εμφάνισης <3% (Travis WD, et al., 2015). Η ακριβής διάγνωση είναι απαραίτητο να γίνεται στο χειρουργικό παρασκεύασμα και η πρόγνωσή

αυτών των καρκινωμάτων είναι πτωχή, χειρότερη των συμβατικών ΜΜΚΠ και παρόμοια με αυτή

των σαρκωμάτων. Ανοσοϊστοχημικά εκφράζουν θετικούς δείκτες επιθηλιακής διαφοροποίησης όπως η Pankeratin, AE1/AE3, CK7, EMA καθώς και δείκτες σαρκωματοειδούς διαφοροποίησης κατά περίπτωση όπως S-100, Desmin, Myogenin (Martin LW, et al., 2007). Το καρκινοσάρκωμα παρουσιάζει κοινούς μορφολογικούς χαρακτήρες ΜΜΚΠ και σαρκώματος (ραβδομυοσάρκωμα, οστεοσάρκωμα, χονδροσάρκωμα). Περισσότερο σπάνιοι τύποι ΜΜΚΠ αποτελούν το πνευμονικό βλάστωμα, τα βλεννοεπιδερμικά καρκινώματα, τα αδενοκυστικά και τα μυοεπιθηλιακά καρκινώματα (Travis WD, et al., 2015; Zheng M, 2016).

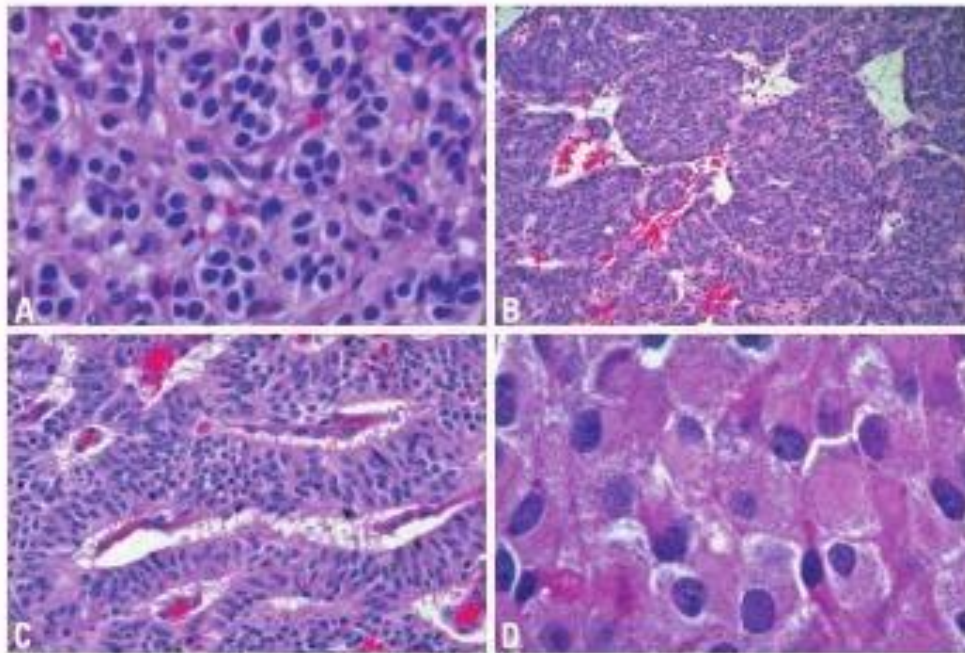
ΝΕΥΡΟΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Οι νευροενδοκρινείς όγκοι του πνεύμονα αποτελούν συνήθη νεοπλάσματα καθώς αντιπροσωπεύουν το 20-25% των πνευμονικών καρκίνων (Litzky LA, 2010). Τα κοινά μορφολογικά και ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά τους, τους διαχωρίζουν από τις άλλες κατηγορίες νεοπλασμάτων του πνεύμονα. Τα χαρακτηριστικά αυτά περιλαμβάνουν το οργανοειδές πρότυπο ανάπτυξης, τη λεπτοκοκκιώδη εμφάνιση της χρωματίνης ή την εικόνα «αλατοπίπερου» και επιπρόσθετα την ανοσοϊστοχημική έκφραση δεικτών νευροενδοκρινικής διαφοροποίησης (χρωμογρανίνη Α, συναπτοφυσίνη, CD56). Τα νεοπλάσματα αυτά παρουσιάζουν ποικίλη διαφοροποίηση και μπορεί να είναι καλά διαφοροποιημένα καρκινώματα μέχρι χαμηλής διαφοροποίησης καρκινώματα με απουσία οργανοειδούς προτύπου. Ο ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού αντανάκλα την επιθετικότητα του νεοπλάσματος και την πρόγνωση. Σύμφωνα με τη ταξινόμηση της WHO 2015 οι νευροενδοκρινείς όγκοι κατατάσσονται σε 4 κατηγορίες: το τυπικό καρκινοειδές, το άτυπο καρκινοειδές, το μικροκυτταρικό καρκίνωμα και το νευροενδοκρινές καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα. Ο ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, και η παρουσία ή όχι νέκρωσης χρησιμοποιήθηκαν για την προγνωστική κατηγοριοποίηση των όγκων αυτών σε 3 κατηγορίες: χαμηλού βαθμού κακοήθειας (τυπικό καρκινοειδές), ενδιάμεσου βαθμού (άτυπο καρκινοειδές) και υψηλού βαθμού κακοήθειας (μικροκυτταρικό καρκίνωμα και νευροενδοκρινές καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα). Ο ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού που εκφράζεται ως αριθμός μιτώσεων σε 2 μμ² όγκου ή σε 10 οπτικά πεδία υψηλής ευκρίνειας καθώς και η ανοσοϊστοχημική έκφραση του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67, χρησιμοποιούνται για την προγνωστική κατηγοριοποίηση των όγκων αυτών (Zheng M, 2016, Rekhtman N. 201).

Τυπικό καρκινοειδές

Οι καρκινοειδείς όγκοι αποτελούν σπάνια νεοπλάσματα καθώς αφορούν 1-2% όλων των όγκων του πνεύμονα (Pelosi G, et al., 2005). Το τυπικό καρκινοειδές εμφανίζεται συνήθως στη

μέση ηλικία (45-55 έτη), ως νόσος χαμηλού σταδίου (I στη πλειονότητα των ασθενών) και εμφανίζει καλή πρόγνωση καθώς το ποσοστό 5 ετούς επιβίωσης αναφέρεται >90% (89). Δεν αναφέρεται συσχέτιση με το κάπνισμα (Fink G, et al., 2001). Οι περισσότερες είναι σποραδικές και μόνο 5% ανφέρονται στο πλαίσιο του συνδρόμου πολλαπλής ενδοκρινικής νεοπλασίας 1 (multiple endocrine neoplasia 1, MEN 1) (Zheng M, 2016). Τα τυπικά καρκινοειδή εμφανίζουν χαρακτηριστική μορφολογία συμβατή με νευροενδοκρινική διαφοροποίηση. Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν μικρό μέγεθος, ομοιόμορφο σχήμα, με λεπτοκοκκιώδη κατανομή χρωματίνης χωρίς εμφανές πυρήνιο και ευκρινές ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα. Τα νεοπλασματικά κύτταρα διατάσσονται σε φωλεές με ποικίλα πρότυπα οργάνωσης. Τα τυπικά καρκινοειδή εμφανίζουν < 2 μιτώσεις /10 HPF και χαμηλό ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Ki67 LI 4-5%) χωρίς παρουσία νέκρωσης (Rekhtman N. 2010). Ανοσοϊστοχημικά εκφράζουν δείκτες νευροενδοκρινικής διαφοροποίησης (χρωμογρανίνη Α, συναπροφυσίνη, CD56) (ΕΙΚΟΝΑ 16).



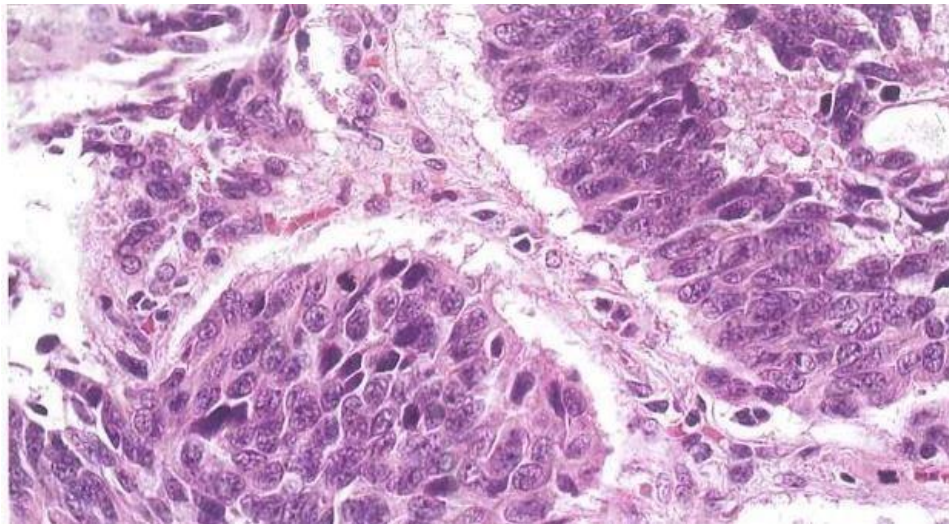
ΕΙΚΟΝΑ 16: Τυπικό καρκινοειδές πνεύμονα (WHO 2015)

Άτυπο καρκινοειδές

Το άτυπο καρκινοειδές όπως και το τυπικό εμφανίζεται συχνότερα σε νεότερες ηλικίες σε σχέση με τα υπόλοιπα νεοπλάσματα του πνεύμονα και διαγιγνώσκεται σε πρώιμο στάδιο (Pelosi G, et al., 2005). Φαίνεται να έχει ισχυρότερη συσχέτιση με το κάπνισμα και φτωχότερη πρόγνωση (5 ετής επιβίωση < 80%) σε σχέση με το τυπικό καρκινοειδές (Filosso PI, et al.,

2015). Αν και εμφανίζει παρόμοια κυτταρικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, τα νεοπλασματικά κύτταρα

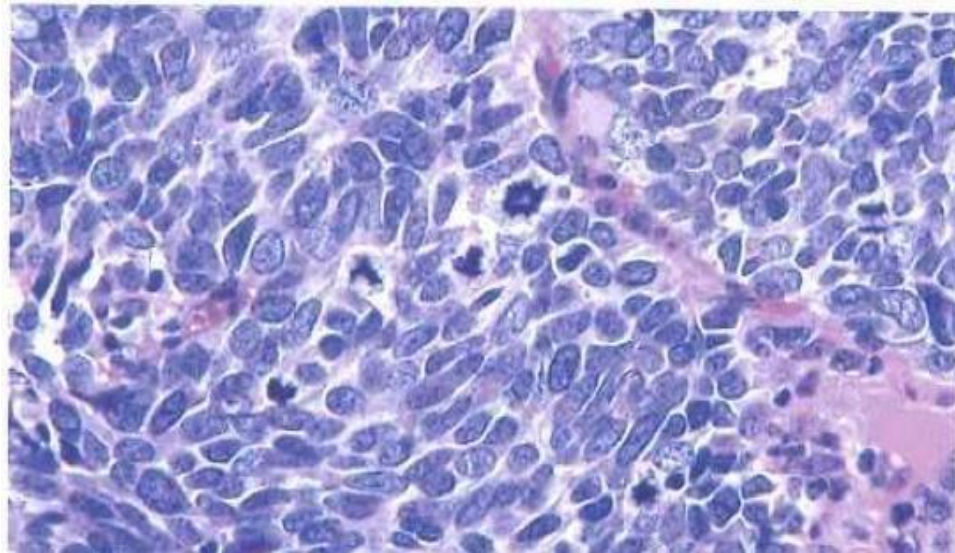
εμφανίζουν μεγαλύτερο βαθμό ατυπίας, ενδιάμεσο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού και συνοδεύονται από νεκρώσεις του όγκου που αφορούν όμως <10% της επιφάνειας του νεοπλάσματος (Rekhtman N. 2010). Ο αριθμός των μιτώσεων είναι 2-10/2mm² και ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 κυμαίνεται στο 20-25% (Pelosi G, et al., 2005) (ΕΙΚΟΝΑ 17).



ΕΙΚΟΝΑ 17: Άτυπο καρκινοειδές πνεύμονα (WHO 2015)

Μικροκυτταρικό καρκίνωμα

Το μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα αντιστοιχεί στο 10% του συνόλου των καρκινωμάτων του πνεύμονα (Zheng M, 2016) και εμφανίζει έντονη συσχέτιση με το ιστορικό καπνίσματος (Zheng M, 2016). Αφορά ένα πολύ επιθετικό καρκίνωμα καθώς οι ασθενείς έχουν μεταστατική νόσο τη στιγμή της διάγνωσης και το ποσοστό 2 ετούς επιβίωσης αναφέρεται <10% (Planchard D and Le Pechoux C. 2011). Ο όγκος εντοπίζεται συνήθως κεντρικά κοντά σε μεγάλο αεραγωγό και συνοδεύεται από εκτεταμένη νέκρωση. Τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι ωοειδή ή ατρακτόμορφα, με ελάχιστο κυτταρόπλασμα, μικρού μεγέθους συγκρινόμενα με τα κύτταρα άλλων νεοπλασμάτων πνεύμονα καθώς η διάμετρός τους είναι μικρότερη αυτής τριών ώριμων λεμφοκυττάρων. Εμφανίζουν λεπτοκοκκιώδη χρωματίνη χωρίς την παρουσία πυρηνίων, υψηλή μικτωτική δραστηριότητα (>10 μιτώσεις / 2mm²) και σημαντικά υψηλό δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 70-100%) (Zheng M., et al., 2016) (ΕΙΚΟΝΑ 18).



ΕΙΚΟΝΑ 18: Μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (WHO 2015)

ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Η αναζήτηση και ανίχνευση υποκείμενων μοριακών αλλαγών στη καρκινογένεση συμβάλλει εκτός από την κατανόηση παθογενετικών μηχανισμών στην όσο το δυνατόν πληρέστερη ταυτοποίηση τους, στην ανάδειξη προγνωστικών παραγόντων και κυρίως στην ανεύρεση θεραπευτικών στόχων. Το ΜΜΚΠ αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα καρκίνου όπου η ανίχνευση ειδικών μεταλλάξεων σε σηματοδοτικά μονοπάτια συνέβαλε στην αλλαγή της θεραπευτικής αντιμετώπισης και στην στοχευμένη θεραπεία. (Suda K, et al., 2010; Pao W and Girard N, 2011; Shaw AT, et al., 2013; Hensing T, et al., 2014; Drilon A, et al., 2017; Wang DC, et al., 2018; Miranda O, et., al, 2018).

Ο EGFR (υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα) αποτελεί ένα από τα πιο κοινά μεταλλαγμένα πρωτοογκογονίδια στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα (Pao W and Girard N, 2011; Tu HY, et al., 2017). Ο EGFR είναι ένας υποδοχέας τυροσινικής κινάσης ο οποίος όταν ενεργοποιηθεί, μετά την πρόσδεση με έναν προσδέτη του, διεγείρει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η μετάλλαξη του EGFR έχει σαν αποτέλεσμα τη συνεχή ενεργοποίησή του που οδηγεί σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό, διήθηση και μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Η συνέκφραση του EGFR και των προσδετών του οδηγεί σε ένα αυτοκρινές μονοπάτι πολλαπλασιασμού. Ενεργείς μεταλλάξεις του EGFR παρατηρούνται στο 10% των πληθυσμών της Βόρειας Αμερικής και της Ευρώπης και στο 30- 50% του πληθυσμού της Ασίας. Οι μεταλλάξεις αυτές παρατηρούνται σε σημαντικό βαθμό συχνότερα σε άτομα που δεν κάπνισαν ποτέ (100 ή λιγότερα τσιγάρα στη διάρκεια της ζωής τους) ή σε ελαφρείς και περιστασιακούς

καπνιστές (λιγότερα από 10 πακέτα/έτος) αλλά και στο γυναικείο φύλο. Οι πιο συχνές μεταλλάξεις του

EGFR που παρατηρούνται στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα αφορούν την αντικατάσταση της λευκίνης από αργινίνη στη θέση 858 (L858R) στο εξόνιο 21 καθώς και τις διαγραφές στο εξόνιο

19. Το αποτέλεσμα είναι η συνεχής ενεργοποίηση του υποδοχέα παρά την απουσία προσδέτη. (Tu HY, et al., 2017). Σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του ΜΜΚΠ, έχει βρεθεί ένας μεταλλαγμένος τύπος του EGFR, το EGFRvIII, το οποίο σχηματίζεται από μία διαγραφή πλαισίου των εξονίων 2-7 του γονιδίου *EGFR*. Η επίπτωση της αυξημένης έκφρασης του EGFRvIII έχει παρατηρηθεί στο ΜΜΚΠ αλλά και στο φυσιολογικό βρογχικό επιθήλιο, ενώ στο μικροκυτταρικό καρκίνωμα το EGFRvIII φαίνεται να προάγει τον κακοήθη φαινότυπο των καρκινικών κυττάρων. Οι μεταλλάξεις του EGFR έχουν προγνωστική αξία τόσο για την επιβίωση των ασθενών όσο και για την απάντηση στη χορηγούμενη χημειοθεραπεία και ειδικά για στη χορήγηση των αναστολέων του υποδοχέα gefitinib και erlotinib. Όσον αφορά στην επιβίωση των ασθενών τα αποτελέσματα των ερευνών είναι αντικρουόμενα. Συγκεκριμένα ενώ η αυξημένη έκφραση του EGFR φαίνεται να αποτελεί πτωχό προγνωστικό παράγοντα για την επιβίωση των ασθενών με ΜΜΚΠ (Lindeman NI, et al., 2013; Munfus-McCray D, et al., 2011), η ύπαρξη συγκεκριμένων μεταλλάξεων ή ενισχύσεων του γονιδίου του EGFR αποτελεί καλό μοριακό προβλεπτικό παράγοντα απάντησης στη μοριακή θεραπεία (Santos GC, et al., 2011) και μπορεί να προσδώσει καλύτερη ποιότητα ζωής και αυξημένη επιβίωση (Liu X, et al., 2017). Ο ErbB2 (υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 Her2/neu) είναι μέλος της οικογένειας των υποδοχέων ERBB, όπως και ο EGFR. Ο υποδοχέας ErbB2 δεν αλληλεπιδρά με τους προσδέτες του EGFR. Η ενεργοποίησή του γίνεται μέσω ετεροδιμερισμού με άλλους υποδοχείς ErbB με αποτέλεσμα τη διέγερση ποικίλων σηματοδοτικών μονοπατιών όπως της φωσφατυδυλοϊνοσιτόλης-3-κινάσης (PI3K)/Akt, JAK-STAT και το μονοπάτι Ras/Raf/MAPK. Μεταλλάξεις του ErbB2 ανιχνεύονται σε χαμηλή συχνότητα στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα. Τέλος σύμφωνα με τα αποτελέσματα αρκετών μετα αναλύσεων, η υπερέκφραση του ErbB2 αποτελεί φτωχό προγνωστικό παράγοντα για την επιβίωση των ασθενών με ΜΜΚΠ.

Η πρωτεΐνη σύντηξης EML4-ALK είναι μία πρόσφατα ταυτοποιημένη ογκογενετική πρωτεΐνη στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα, που παρουσιάζεται σε ποσοστό < 5% όλων των μη μικροκυτταρικών καρκινωμάτων (Shaw AT, et al., 2013). Αποτελεί προϊόν σύντηξης του γονιδίου EML4 (echinoderm microtubule-associated protein like4) και του γονιδίου ALK (anaplastic lymphoma kinase). Έχουν ταυτοποιηθεί πολλές παραλλαγές της πρωτεΐνης στον καρκίνο του πνεύμονα (Sasaki T, et al., 2010).

Όπως και στις μεταλλάξεις του EGFR, η EML4-ALK εμφανίζεται σχεδόν αποκλειστικά στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα και σε μη ή ελαφρείς καπνιστές ενώ απουσιάζει σε όγκους

με ενεργείς μεταλλάξεις του EGFR ή του KRAS. Επίσης η EML4-ALK παρατηρείται σε ασθενείς

νεαρότερης ηλικίας σε σχέση με τη μετάλλαξη του EGFR. Η ανίχνευση των αναδιατάξεων πραγματοποιείται σε υλικό από κύβους παραφίνης με μέθοδο FISH και με RT-PCR μετά από απομόνωση RNA από το νεοπλασματικό ιστό. Τέλος η παρουσία της EML4-ALK αποτελεί 31 προβλεπτικό δείκτη για την χορήγηση του αναστολέα crizotinib (στοχεύει τις κινάσες ALK, ROS1, MET).

Τα τρία ανθρώπινα γονίδια *RAS* (*HRAS*, *KRAS*, *NRAS*) κωδικοποιούν πρωτεΐνες που είναι μέλη της οικογένειας RAS των GTPασών που παίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταγωγή σήματος και στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Το γονίδιο *KRAS* μπορεί να ενεργοποιηθεί μέσω σημειακής μετάλλαξης στα κωδικόνια 12 ή 13 στο εξόνιο 2 και σε ποσοστό 20-30% των ΜΜΚΠ (Herbst RS, et al., 2008; Karachaliou N, et al., 2013; Tomasini P et al., 2016). Πιο συγκεκριμένα το 90% των μεταλλάξεων *KRAS* παρατηρούνται στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα ενώ 85% των μεταλλάξεων αφορούν το κωδικόνιο 12. Οι μεταλλάξεις του *KRAS* σπάνια παρατηρούνται στο ΜΜΚΠ (Ferrer J, et al., 2018). Σε εργαστηριακές μελέτες με διαγονιδιακά ποντίκια που έφεραν ενεργοποιημένη μετάλλαξη και στα δύο αλληλία του *KRAS*, φάνηκε ότι τα ποντίκια αυτά είχαν αυξημένη προδιάθεση για εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα. Το γεγονός αυτό υποστηρίζει την υπόθεση ότι η μετάλλαξη του *KRAS* αποτελεί ένα πρώιμο ογκογενετικό συμβάν στον καρκίνο του πνεύμονα (Ferrer J, et al., 2018). Επίσης η συγκεκριμένη μετάλλαξη εμφανίζεται αρκετά συχνότερα σε ασθενείς με ιστορικό καπνίσματος. Περίπου 70% των μεταλλάξεων αφορά σε αντικαταστάσεις G T με τελική αντικατάσταση της γλυκίνης από κυστεΐνη ή βαλίνη. Παρόμοιες αντικαταστάσεις G T παρατηρούνται και στο μεταλλαγμένο γονίδιο *p53*, αντιπροσωπεύοντας παρόμοια βλάβη DNA σαν αποτέλεσμα της δράσης των κυκλικών υδρογονανθράκων και των νιτροσαμινών του καπνού. Αυτή η παρατήρηση αποτελεί ένα επιπλέον αποδεικτικό στοιχείο της υπόθεσης ότι ο καπνός είναι αιτιολογικός παράγοντας της *KRAS* μετάλλαξης (Ferrer J, et al., 2018). Σε μία μεταανάλυση 3.779 ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα, το μεταλλαγμένο *KRAS* γονίδιο σχετίστηκε με χειρότερη πρόγνωση στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα αλλά όχι στο πλακώδες καρκίνωμα. Η οικογένεια των ογκογονιδίων *MYC* (*MYC*, *MYCN*, *MYCL*) κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη ρύθμιση της μεταγραφής, στη λειτουργία του κυτταρικού κύκλου και στην απόπτωση. Οι πρωτεΐνες αυτές διαθέτουν μία περιοχή ενεργοποίησης στο N-τελικό άκρο, ένα πυρηνικό τμήμα εντόπισης μια έλικα-αγκύλη-έλικα και μία θέση λευκίνης στο C-άκρο τα οποία επιτρέπουν το σχηματισμό ομοδιμερών και ετεροδιμερών. Η *myc* όταν ετεροδιμεριστεί με την πρωτεΐνη Max, λειτουργεί σαν μεταγραφικός παράγοντας ενώ το δομικό αυτό σύμπλεγμα είναι απαραίτητο για την 30 φυσιολογική εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, τη διαφοροποίηση και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Στον καρκίνο του πνεύμονα το γονίδιο *MYC* υφίσταται ενίσχυση ή μεταγραφική απορρύθμιση. Η ενίσχυση του

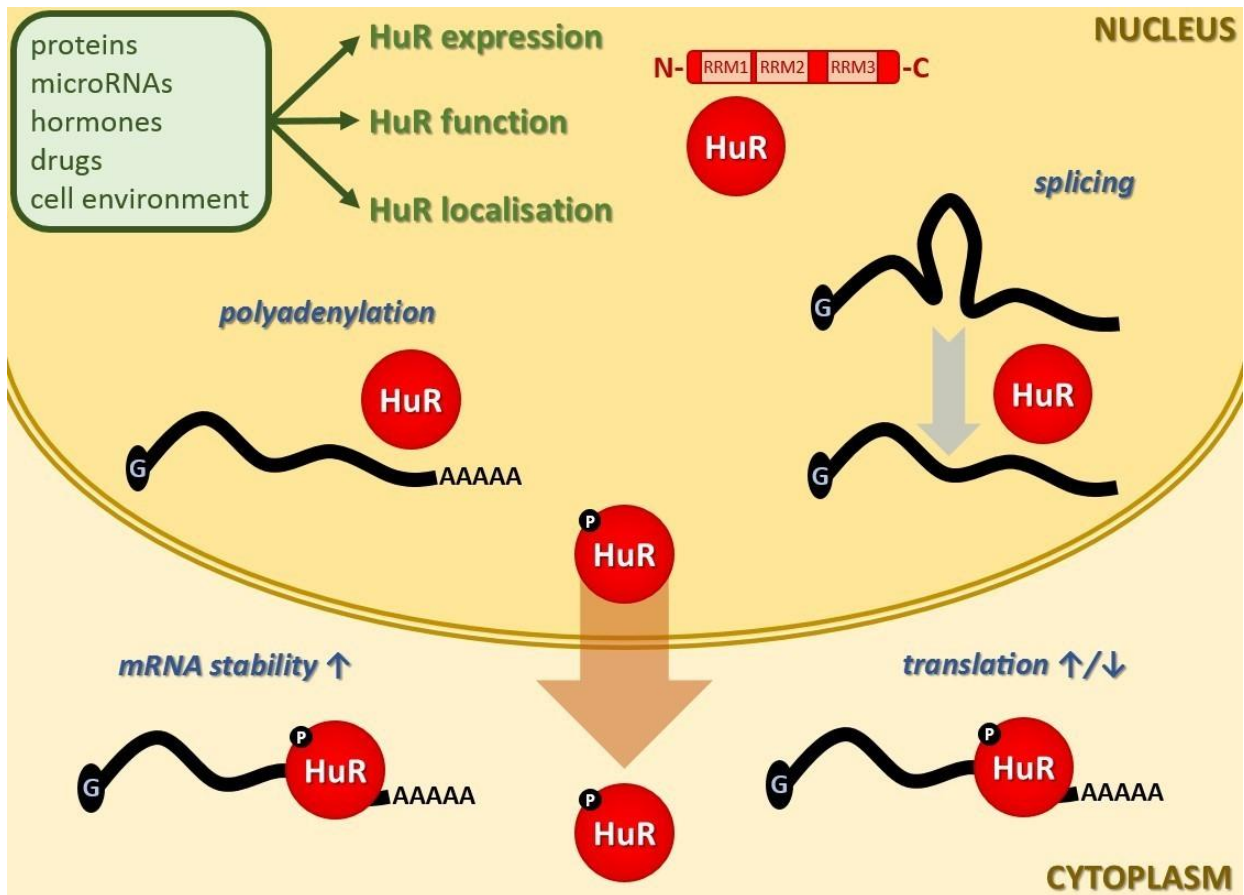
MYCL και του MYCN είναι οριακά λιγότερο συχνή από ότι η ενίσχυση του MYC. Γενικά η γονιδιακή ενίσχυση ενός μέλους της οικογένειας MYC είναι αρκετά συχνό γεγονός στο μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα (15- 30%) και λιγότερο συχνό στο ΜΜΚΠ (5-10%). Τέλος η γονιδιακή ενίσχυση MYC παρατηρείται πιο συχνά σε ασθενείς με μικροκυτταρικό καρκίνωμα που έχουν λάβει χημειοθεραπεία σε σχέση με ασθενείς με το ίδιο νόσημα που δεν έχουν λάβει θεραπεία. Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία μιας «παραλλαγής» του μικροκυτταρικού καρκινώματος με δυσμενέστερη πρόγνωση για την επιβίωση των ασθενών. Παρότι η δράση των γονιδίων MYC έχει μελετηθεί επαρκώς, ο ρόλος τους ως προγνωστικοί παράγοντες δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί πλήρως (Pao W and Girard N, 2011).

Ο C-MET είναι ένας υποδοχέας τυροσινικής κινάσης ο οποίος, μαζί με τον προσδέτη του HGF, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του εμβρυϊκού πνεύμονα. Αυξημένη έκφραση του C-MET και του HGF παρατηρείται τόσο στο μικροκυτταρικό όσο και στο ΜΜΚΠ (Drilon A, et al., 2017). Υψηλά επίπεδα του HGF έχουν σχετιστεί με πτωχή πρόγνωση σε ασθενείς με εξαιρετικό χειρουργικά ΜΜΚΠ. Επιπλέον αυξημένη έκφραση του C-MET σχετίζεται με εμφάνιση αντοχής σε EGFR στοχευμένη θεραπεία. Εκτός από τα προϊόντα των ογκογονιδίων και άλλα αυξητικά μονοπάτια εμπλέκονται στον καρκίνο του πνεύμονα. Το πλέον γνωστό είναι αυτό που σχετίζεται με ένα πεπτίδιο απελευθέρωσης γαστρίνης και με άλλα πεπτίδια όμοια της μπομπεσίνης. Τα πεπτίδια αυτά μαζί με τους υποδοχείς τους, συμμετέχουν στην ανάπτυξη του καρκίνου και προάγουν την αύξηση και εξέλιξη του μικροκυτταρικού καρκινώματος του πνεύμονα. Ανοσοϊστοχημικές μελέτες έδειξαν ότι το πεπτίδιο απελευθέρωσης γαστρίνης εκφράζεται σε ποσοστό 20-60% των μικροκυτταρικών καρκινωμάτων και λιγότερο συχνά στον ΜΜΚΠ (Pao W and Girard N, 2011; Miranda O, et., al, 2018).

2. ΠΡΩΤΕΪΝΗ HuR

Η πρωτεΐνη Hu-antigen R (HuR) ή ELAV (embryonic lethal, abnormal vision, *Drosophila*)-like protein 1 (ELAVL1) ανήκει στην οικογένεια πρωτεϊνών Hu/ELAV. Η οικογένεια Hu/ELAV περιλαμβάνει κυρίως τις ειδικές για το νευρικό ιστό πρωτεΐνες HuB, HuC, HuD, και την HuR. Η τελευταία αποτελεί ένα σε περίσσεια ευρισκόμενο, συνδεδεμένο με RNA, μετα- μεταγραφικό ρυθμιστή (Ma WJ, et al., 1996). Το γονίδιο *HUR/ELAVL1* στον άνθρωπο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19 στη θέση 19p13.2 (Ma and Furneaux H, 1997) κωδικοποιεί μία 32- kDa πρωτεΐνη που περιλαμβάνει τρεις υψηλά διατηρημένες περιοχές πρόσδεσης στο RNA, που ανήκουν στην υπεριοικογένεια RNA recognition motif (RRM) (Burd CG and Dreyfuss G, 1994); Οι RRM-1 και -2 περιοχές μπορεί να προσδένονται σε στοιχεία πλούσια σε AU (AU-rich elements, ARE), ενώ η RRM-3 στην poly(A) ουρά των ταχέως αποδομούμενων mRNAs (Levine, TD, et al., 1993). Παρομοίως, μια πλούσια σε U αλληλουχία περίπου 17-20 νουκλεοτίδια (nt) σε μήκος, συνήθως εδράζεται μέσα στην 3' μή μεταφρασμένη περιοχή (untranslated region, UTR) των mRNA στόχων, έχει αναγνωρισθεί ως το αναγνωριζόμενο RNA μοτίβο (motif) από τη HuR (Lopez de Silanes I, et al., 2004). Η πρωτεΐνη HuR προσδέεται σε αυτό το μοτίβο και ρυθμίζει τη σταθερότητα, μετάφραση και τη μετακίνηση μεταξύ πυρήνα-κυτταροπλάσματος των mRNA στόχων. Ειδικότερα η πρόσδεση με τη πρωτεΐνη HuR σταθεροποιεί το mRNA και με έμμεσο τρόπο συμμετέχει θετικά στη παραγωγή συγκεκριμένων πρωτεϊνών (Peng SS, et al., 1998), ενώ η άμεση επίδραση της πρωτεΐνης HuR στη διαδικασία μετάφρασης μπορεί να είναι είτε θετική ή αρνητική (Kullmann, M, et al., 2002; Mazan-Mamczarz, K, et al., 2003). Στόχοι της πρωτεΐνης HuR αποτελούν mRNAs που κωδικοποιούν κυτταροκίνες, χημειοκίνες και πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, και σε αποκρίσεις φλεγμονωδών και ερεθισμάτων stress (Abdelmohsen K, et al., 2007; Yiakounaki A, et al., 2012). Επιπρόσθετα, η πρωτεΐνη HuR έχει δειχθεί ότι μπορεί να επηρεάσει διαδικασία πολυαδενυλίωσης του mRNA, που λαμβάνει χώρα στο πυρήνα (Zhu H, et al, 2007). Η ρύθμιση και λειτουργία της πρωτεΐνης HuR απεικονίζεται στην ΕΙΚΟΝΑ 19 (Levidou G, et al., 2018). Σε άρθρο ανασκόπησης οι Kotta-Loizou I, et al., περιγράφουν επδράσεις της πρωτεΐνης HuR στη σταθερότητα mRNA και / ή στη μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο (ΠΙΝΑΚΑΣ 3) (Kotta-Loizou I, et al. Med Oncol 2014;31:161).

Η πρωτεΐνη HuR μετακινείται από το πυρήνα όπου υπό φυσιολογικές συνθήκες οφείλει να βρίσκεται και να δρά, στο κυτταρόπλασμα λόγω σύνδεσής της με mRNA (Fan, XC and Steitz JA, 1998) και αυτή η μεταβολή στην ενδοκυττάρια εντόπιση φαίνεται ότι σχετίζεται με τη κατάσταση λειτουργίας της (Keene JD, 1999).



ΕΙΚΟΝΑ 19. Σχηματική απεικόνιση της ρύθμισης και λειτουργίας της πρωτεΐνης HuR. Ρυθμιστές της πρωτεΐνης HuR (πρωτεΐνες, microRNAs, ορμόνες, φαρμακευτικές ουσίες, και ειδικές συνθήκες στο κυτταρικό μικροπεριβάλλον) μπορεί να επηρεάζουν την έκφραση, δραστηριότητα και ενδοκυττάρια κατανομή της πρωτεΐνης HuR. Η μετακίνηση της πρωτεΐνης HuR από το πυρήνα στο κυτταρόπλασμα ελέγχεται από μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις (π.χ. φωσφορυλίωση). Η πρωτεΐνη HuR προσδέεται στο mRNAs μέσω των 3 RNA recognition motifs (RRMs); έχει εμπλακεί στη συγκόλληση και στην πολυαδενυλίωση, και το σημαντικότερο στην θετική ρύθμιση της σταθερότητας του mRNA και της θετικής ή αρνητικής ρύθμισης της μετάφρασής του (Levidou G, et al., 2018).

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Επίδραση της πρωτεΐνης HuR στη σταθερότητα mRNA και / ή στη μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο (Kotta-Loizou I, et al. Med Oncol 2014;31:161)

Protein	Biological process	Effect	References
Cyclin-A2 (CCNA2)	Cell cycle	mRNA stabilization↑	[45]
G2/mitotic-specific cyclin-B1 (CCNB1)	Cell cycle	mRNA stabilization↑	[116]
G1/S-specific cyclin-D1 (CCNE1)	Cell cycle	mRNA stabilization↑	[117]
G1/S-specific cyclin-E1 (CCNE1)	Cell cycle	mRNA stabilization↑	[118]
p21 (CDKN1A)	Cell cycle	mRNA stabilization↑	[77]
Cyclin-dependent kinase inhibitor p27 (CDKN1B)	Cell cycle	Translation,	[9]
Cellular tumor antigen p53 (P53)	Cell cycle	Translation↑	[30]
Apoptosis regulator Bcl-2 (BCL2)	Apoptosis	mRNA stabilization↑	[18]
	Apoptosis	Translation↑	[119]
Forkhead box protein O1 (FOXO1)	Apoptosis Transcription	mRNA stabilization↑	[120]
Cytochrome c (CYCS)	Apoptosis Transport	Translation↑	[11]
Induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1 (MCL1)	Apoptosis Differentiation	mRNA stabilization↑	[18]
NAD-dependent deacetylase sirtuin-1 (SIRT1)	Apoptosis Differentiation	mRNA stabilization↑	[121]
Protein Wnt-5a (WNT5A)	Differentiation Cell signaling	Translation,	[122]
Urokinase-type plasminogen activator (PLAU)	Angiogenesis Cell signaling	mRNA stabilization↑	[123]
Urokinase plasminogen activator surface receptor (PLAUR)	Angiogenesis Cell signaling	mRNA stabilization↑	[123]
Vascular endothelial growth factor A (VEGFA)	Angiogenesis	mRNA stabilization↑	[124]
Vascular endothelial growth factor C (VEGFC)	Differentiation	Translation↑	[125]
Parathyroid hormone-related protein (PTHrP)	Growth Differentiation	mRNA stabilization↑	[126]
Insulin growth factor 1 receptor (IGF1R)	Proliferation	Translation,	[127]
S-adenosylmethionine synthase isoform type-2 (MAT2A)	Metabolism	mRNA stabilization↑	[89]
Matrix metalloproteinase-9 (MMP9)	Leukocyte migration	mRNA stabilization↑	[21]
Hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF1A)	Transcription	mRNA stabilization↑	[128]
Prothymosin alpha (PTMA)	Transcription	Translation↑	[129]
Estrogen receptor alpha (ESR1)	Transcription	mRNA stabilization↑	[130]
RNA-binding protein Musashi homolog 1 (MSI1)	Translation	mRNA stabilization↑ Translation↑	[60]
GTP-binding protein Di-Ras3 (DIRAS3)	Gene expression	mRNA stabilization↑	[131]
Cyclooxygenase-2 (COX2)	Lipid biosynthesis Inflammatory response	mRNA stabilization↑	[86]
Botaxin (CCL11)	Inflammatory response	mRNA stabilization↑	[132]
Interleukin-8 (IL8)	Inflammatory response	mRNA stabilization↑	[133]

Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην έκφραση και λειτουργία της πρωτεΐνης HuR δεν έχουν πλήρως μελετηθεί. Η έκφραση της πρωτεΐνης και του mRNA της HuR επηρεάζεται-μεταβάλλεται από τη δράση-παρουσία πολλών άλλων πρωτεϊνών και microRNAs, όπως του miR-519 (Abdelmohsen, K., et al., 2008; Simone LE and Keene JD, 2013), ορμονών, όπως η 17β-οιστραδιόλη 1 (Cabilla JP, et al., 2011), παραγόντων που μεταβάλλουν το cyclic GMP, όπως το οξείδιο του αζώτου (Akool el S, et al., 2003), και φαρακευτικών παραγόντων. Επιπλέον η πρωτεΐνη HuR διασπάται μέσω του συστήματος ουμπικιτίνης-πρωτεασώματος (Abdelmohsen K, et al., 2009) και αποδομείται με διαδικασίες που σχετίζονται με τη δράση κασπασών στην απόπτωση (Mazroui R, et al., 2008). Η δράση ποικίλων παραγόντων στά επίπεδα έκφρασης HuR mRNA και πρωτεΐνης αποικονίζονται στον ΠΙΝΑΚΑ 4 (Kotta-Loizou I, et al. Med Oncol 2014;31:161).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Επίδραση διαφόρων παραγόντων στην έκφραση mRNA και πρωτεΐνης HuR (Kotta-Loizou I, et al. Med Oncol 2014;31:161)

Regulators	Effect on HuR	References
Nitric oxide	HuR mRNA↓ HuR protein↓	[21]
3-(5'-Hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzyl indazole	HuR protein↓	[22]
Forskolin	HuR mRNA↓ HuR protein↓	[23]
17β-estradiol	HuR mRNA↓	[114]
MicroRNA-519	HuR protein↓	[24, 25]
MicroRNA-25a	HuR protein↓	[26]
MicroRNA-16	HuR protein↓	[27]
MG132 (proteasome inhibitor)	HuR protein stability↑	[28]
Heat shock	HuR protein stability↓	[29]
Lethal stress	HuR protein cleavage↑	[30]
Epigallocatechin gallate	HuR mRNA↓ HuR protein↓	[115]

Αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης HuR αλλά μεταβολές στην ενδοκυττάρια κατανομή της έχει αναφερθεί ότι σχετίζονται με κυτταρικές διαδικασίες τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές καταστάσεις όπως η φλεγμονή (Υιακουνακι A, et al., 2012), η αθηροσκλήρυνση

(Rhee, WJ, et al., 2010), η ιστική ισχαιμία (Zhang, J., et al., 2012) και κυρίως η πρόκληση και η εξέλιξη του καρκίνου (Lopez de Silanes, I., et al., 2004; Wang, J., et al., 2013; Lopez de Silanes, I., et al., 2005). Επιπλέον η πρωτεΐνη HuR συμμετέχει στη ρύθμιση της έκφρασης των mRNAs που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη μεταγραφή, την ενδοκυττάρια σηματοδότηση, στην εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, την απόπτωση, τη φλεγμονώδη αντίδραση και την απόκριση σε ερεθίσματα stress (Brennan CM and Steitz JA, 2001; Mazan-Mamczarz, K., et al., 2003; Abdelmohsen K, et al., 2007; Katsanou, V., et al., 2005; Sengupta S, et al., 2003; Wang W, et al., 2000), πολλά εκ των οποίων σχετίζονται με τη κακοήγη εξαλλαγή. Επιπλέον, κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η αυξημένη έκφραση και η κυτταροπλασματική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR σχετίζονται με κακοήγη φαινότυπο και πτωχή κλινική έκβαση σε πολλούς τύπους κακοήθους νεοπλασίας (ΠΙΝΑΚΑΣ 5) (Kotta-Loizou I, et al., 2014).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Συσχέτιση των επιπέδων της πρωτεΐνης HuR με την επιβίωση ασθενών με διαφορετικούς τύπους καρκίνου (Kotta-Loizou I, et al. Med Oncol 2014;31:161)

Type of neoplasia	Patient samples	HuR prognostic value				References	
		Total	Nuclear	Cytoplasmic	Nuclear-to-cytoplasmic ratio		
					High		Low
<i>Oral squamous cell carcinoma</i>	103		(-)	↓ Survival ^a		[62]	
<i>Esophageal squamous cell carcinoma</i>	58		(-)	↓ Survival ^a		[65]	
<i>Non-small cell lung carcinoma</i>	132			↓ Survival ^{a,b}		[67]	
<i>Early-stage lung adenocarcinoma</i>	54			↓ Survival ^{a,c}	↓ Survival ^{a,c}	[68]	
<i>Mesothelioma</i>	29			↓ Survival ^a		[70]	
<i>Renal cell carcinoma</i>	151			↓ Survival ^a		[72]	
<i>Non-mucosal invasive bladder carcinoma</i>	122		(-)	↓ Survival ^{a,b,c}		[73]	
<i>Upper urinary tract urothelial carcinoma</i>	340			↓ Survival ^{a,b,c}		[74]	
<i>Gastric adenocarcinoma</i>	216		(-)	↓ Survival ^a		[77]	
<i>Colorectal adenocarcinoma</i>	87		(-)	(-)		[83]	
	560	↓ Survival ^a			↑ Survival ^a	[85]	
<i>Gallbladder carcinoma</i>	164		(-)	↓ Survival ^{a,b}		[87]	
<i>Pancreatic ductal adenocarcinoma</i>	53			↑ Survival ^{a,d}		[90]	
	32			↑ Survival ^{a,d}		[91]	
<i>Breast carcinoma</i>	82		(-)	↓ Survival ^{a,b}		[98]	
<i>Breast ductal invasive carcinoma</i>	133			↓ Survival ^{a,b}		[97]	
	623			↓ Survival ^{a,c}		[100]	
	89	↑ Survival ^{b,c}				[93]	
	143	↑ Survival ^{b,c}				[101]	
<i>Breast invasive carcinoma + NACT</i>	139			↓ Survival ^{a,b}		[99]	
<i>Cervical carcinoma</i>	308		(-)	(-)		[103]	
<i>Prostate carcinoma</i>	104		↑ Survival ^b			[110]	
<i>Ovarian carcinoma</i>	83		(-)	↓ Survival ^{a,b}		[107]	
	445			↓ Survival ^{a,b}		[109]	
	113		↓ Survival ^b			[106]	

^a Overall survival

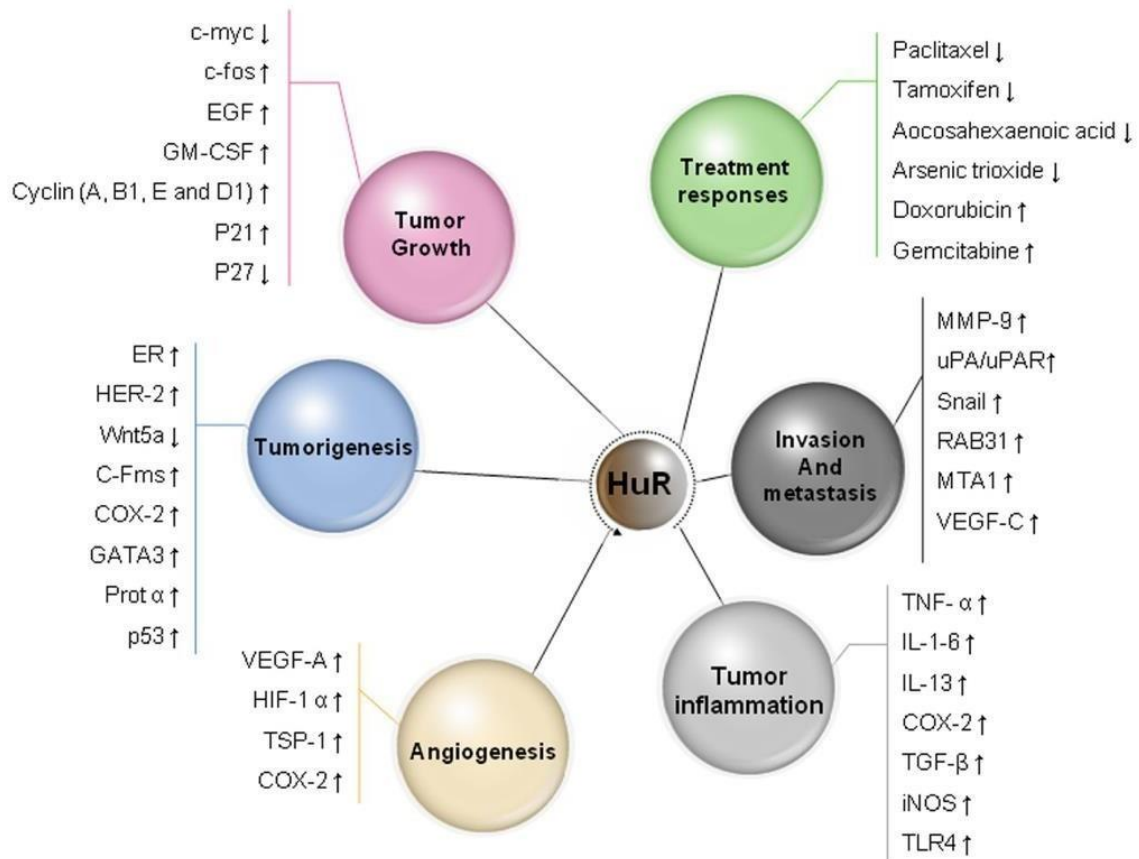
^b Disease-free survival

^c Progression-free survival

^d For GEM-treated patients

^e In familiar non-BRCA1/2 cases

Οι ποικίλες δράσεις της πρωτεΐνης HuR στις διαδικασίες που σχετίζονται με την εξέλιξη της καρκινογένεσης, την απόκριση στη θεραπεία και στη πρόγνωση συνοψίζονται στην ΕΙΚΟΝΑ 20



ΕΙΚΟΝΑ 20: Επίδραση της πρωτεΐνης HuR στην Καρκινογένεση (Wang J, et al., 2013)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Δείγματα ασθενών

Ογδόντα ένα δείγματα ΜΜΚΠ, που περιλαμβάνονται σε αυτήν τη μελέτη, ελήφθησαν από ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε χειρουργική εκτομή λόγω καρκίνου του πνεύμονα. Ελήφθηκε έγκριση από την Επιτροπή Βιοηθικής για τη χρήση αρχειοθετημένου υλικού για ερευνητικό σκοπό. Κανένας από τους ασθενείς δεν είχε λάβει χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία πριν από τη χειρουργική επέμβαση. Χρησιμοποιήθηκε το σύστημα λειτουργικής κατάστασης κατά ECOG για την αξιολόγηση της καθημερινής δραστηριότητας και της ικανότητας των ασθενών. Οι όγκοι εξετάστηκαν ιστολογικά και ταξινομήθηκαν ως αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα σε 54 (66,7%) και πλακώδες καρκίνωμα σε 27 (33,3%) από 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ.

Ο ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης αξιολογήθηκε σύμφωνα με τα κριτήρια που περιγράφεται από την WHO (Greene FLPD et al., 2002). Το παθολογοανατομικό στάδιο της νόσου αξιολογήθηκε σύμφωνα με το σύστημα TNM και τα κριτήρια της Διεθνούς Ένωσης κατά του Καρκίνου (Nair A, et al., 2011; Lababede O, et al., 2011). Άλλες ιστολογικές παράμετροι, όπως η παρουσία νέκρωσης, ίνωσης, φλεγμονώδους αντίδρασης και λεμφαγγειακής διήθησης, αξιολογήθηκαν επίσης. Οι ασθενείς παρακολούθηθηκαν για ένα χρονικό διάστημα μεταξύ 3 και 121 μηνών (διάμεσος 17 μήνες, IQR 13– 27 μήνες). Τη στιγμή της τελευταίας παρακολούθησης, 75 (92,59%) ασθενείς είχαν πεθάνει λόγω του καρκίνου του πνεύμονα, ενώ οι υπόλοιποι 6 (7,41%) ήταν ζωντανοί.

Μικροσυστοιχίες ιστών

Όλα τα δείγματα εμποτίστηκαν σε φορμαλίνη και σκηνώθηκαν σε κερι παραφίνης. Αντιπροσωπευτικές περιοχές ιστών κόπηκαν με μικροτόμο και πραγματοποιήθηκε χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης (H-E). Συγκεκριμένες οι περιοχές (πυρήνες) 2,0 mm σε διάμετρο, αντιπροσωπευτικές για κάθε περιστατικό μεταφέρθηκαν στη συνέχεια με διάτρηση έξω από το αντίστοιχο μπλοκ παραφίνης και εισήχθησαν καθ' ομάδες σε ένα εννιαίο μπλοκ παραφίνης που αφορούσε πολλαπλά περιστατικά, ως μικροσυστοιχία ιστών (Tissue Microarray, TMA).

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ

Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις πραγματοποιήθηκαν σε TMA χρησιμοποιώντας πολυκλωνικά αντι-HuR (H-280, sc-20694) και αντι-COX-2 (H-62, sc-7951) IgG αντισώματα (Santa Cruz

Biochemicals, Santa Cruz, CA) , ΗΠΑ). Εν συντομία, ιστολογικές τομές από ΤΜΑ, πάχους 4 μm αποπαραφινώθηκαν, επανυδατώθηκαν, εμβαπτίστηκαν σε 3% H_2O_2 για 30 λεπτά. Ακολούθησε αποκάλυψη αντιγονικών επιτόπων και με θέρμανση σε μικροκύματα, στα 750 W, σε 0,01 M κιτρικό ρυθμιστικό διάλυμα (pH 6,0) για 15 λεπτά και αφέθηκαν να κρυσώσουν σε TBS. Οι τομές επώαστηκαν στη συνέχεια με τα αντι-HuR και αντι-COX-2 αντισώματα για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου (25 ° C), σε αραιώση 1: 100 και 1: 200, αντίστοιχα. Η ανοσοχρώση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας την πρότυπη τεχνική πολυμερούς συζευγμένης με υπεροξειδάση δύο σταδίων (DAKO Envision kit, DAKO, Carpinteria, CA, USA) και οπτικοποιήθηκε με διάλυμα τετραϋδροχλωρικής διαμινοβενζιδίνης (DAB, Sigma, Saint Louis, MO, USA). Τα τμήματα στη συνέχεια χρωματίστηκαν με αιματοξυλίνη Harris και επικαλήφθηκαν με καλυπτρίδα χρησιμοποιώντας διάλυμα Entellan (Merck, Darmstadt, Γερμανία). Ως κατάλληλοι αρνητικοί μάρτυρες στην διαδικασία της ανοσοϊστοχημείας χρησιμοποιήθηκαν ιστολογικές τομές ΜΜΚΠ παραλείποντας το πρωτογενές αντίσωμα και / ή αντικαθιστώντας το με ένα άσχετο αντι- ορό. Ως θετικός μάρτυρας στην διαδικασία της ανοσοϊστοχημείας χρησιμοποιήθηκαν τομές ιστού καρκίνου του μαστού και θυρεοειδούς με γνωστή αυξημένη έκφραση HuR και COX-2 πρωτεϊνών (Giaginis C, et al., 2014). Ο ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού στα καρκινικά κύτταρα εκτιμήθηκε ανοσοϊστοχημικά, χρησιμοποιώντας ένα αντι-Ki-67 ποντικού, IgG1κ αντίσωμα (κλώνος MIB-1, Dakopatts, Glostrup, Δανία) όπως περιγράφηκε προηγουμένως (Theocharis S, et al., 2012; Giaginis C, et al., 2012; Giaginis C, et al., 2014).

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ

Οι ανοσοϊστοχημικές χρώσεις αξιολογήθηκαν με εκτίμηση του ποσοστού έκφρασης και της έντασης της ανοσοχρώσης των θετικών στις υπό μελέτη πρωτεΐνες κυττάρων ανά ΤΜΑ από δύο ανεξάρτητους παρατηρητές χωρίς να γνωρίζουν τα κλινικά δεδομένα. Υπήρχε πολύ καλή συμφωνία μεταξύ των παρατηρητών ($\kappa = 0,966$, SE 0,018). Η ανοσοαντιδραστικότητα των καρκινικών κυττάρων για τις πρωτεΐνες HuR και COX-2 βαθμολογήθηκε σύμφωνα με το ποσοστό των θετικών κυττάρων του όγκου για HuR και COX-2 ως 0 (αρνητική χρώση— 0–4% των καρκινικών κυττάρων θετικά), 1 (5–24% των καρκινικών κυττάρων θετικά), 2 (25–49% των καρκινικών κυττάρων θετικά) και 3 (50–100% των καρκινικών κυττάρων θετικά) και η έντασή της ανοσοχρώσης ως 0 (αρνητική χρώση), 1 (ήπια χρώση), 2 (ενδιάμεση χρώση), και 3 (έντονη χρώση). Τέλος, η έκφραση των πρωτεϊνών HuR και COX-2 ταξινομήθηκε ως αρνητική / ήπια, εάν η συνολική βαθμολογία ήταν 0-2, και μέτρια / υψηλή, εάν η συνολική βαθμολογία ήταν ≥ 3 (Giaginis C, et al., 2012; Theocharis S, et al., 2011). Ο ενδοκυτταρική εντόπιση της πρωτεΐνης

HuR αξιολογήθηκε επίσης ως μόνο πυρηνική, μόνο κυτταροπλασματική ή ταυτόχρονα πυρηνική και κυτταροπλασματική.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

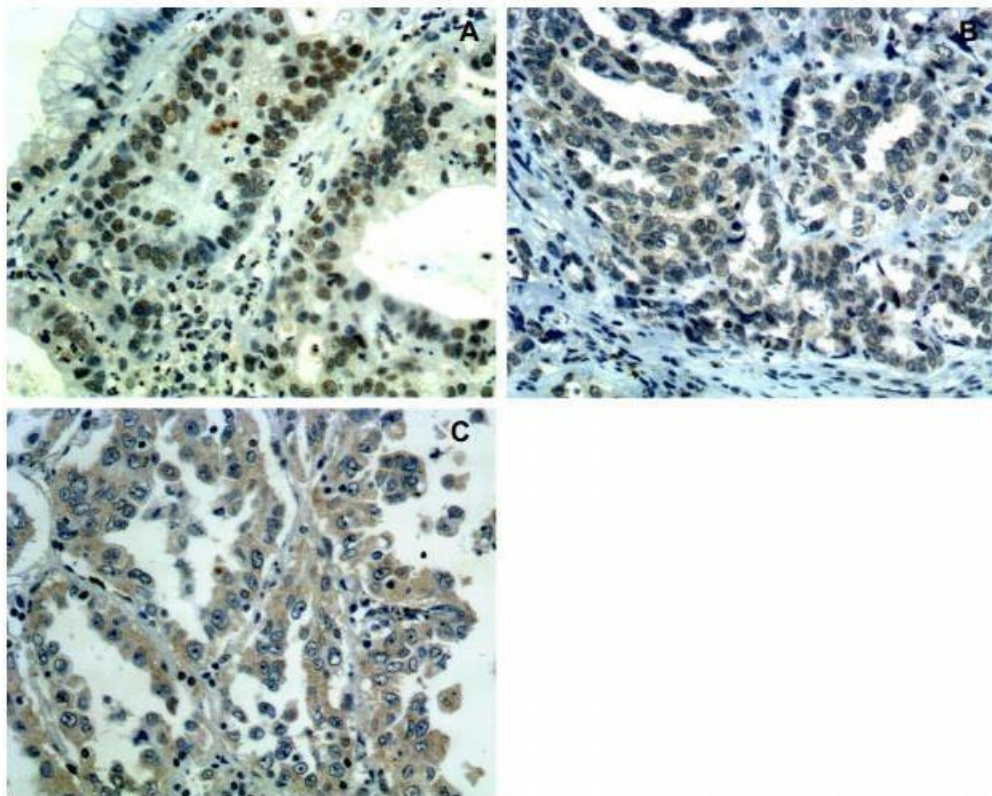
Η δοκιμή Chi-squared χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση των συσχετίσεων της έκφρασης των πρωτεϊνών HuR και COX-2 με τις κλινικοπαθολογικές παραμέτρους. Οι καμπύλες επιβίωσης κατασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Kaplan Meier και οι διαφορές μεταξύ των καμπυλών συγκρίθηκαν με τη δοκιμασία log-rank. Αναπτύχθηκε ένα μοντέλο παλινδρόμησης αναλογικών κινδύνων Cox για την αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ του δυνητικού προγνωστικού δείκτη και της επιβίωσης των ασθενών. Μια τιμή p μικρότερη από 0,05 θεωρείται το όριο της στατιστικής σημαντικότητας. Χρησιμοποιήθηκε Το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης SPSS χρησιμοποιήθηκε για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

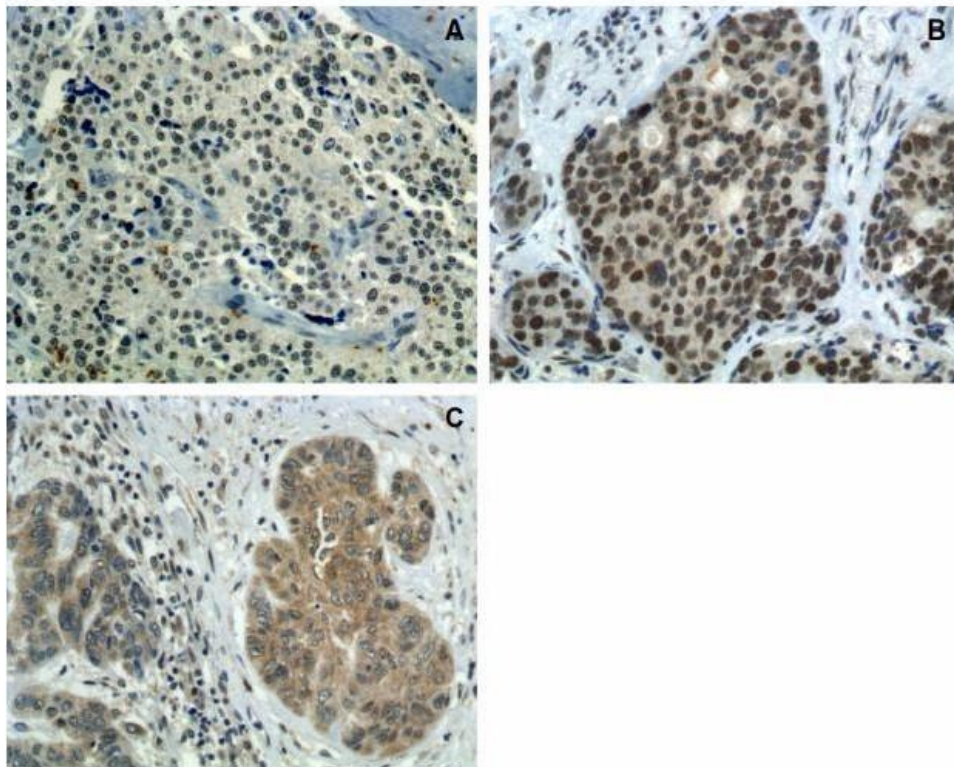
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ HuR ΜΕ ΤΙΣ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Η θετικότητα στην πρωτεΐνη HuR παρατηρήθηκε σε 51 (63,0%) από τις 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ. Σε 35 (43,2%) από τις 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ αναγνωρίστηκε μέτρια / υψηλή έκφραση HuR πρωτεΐνης. Από τις 51 θετικές στην πρωτεΐνη HuR περιπτώσεις ΜΜΚΠ, οι 25 (49,0%) παρουσίασαν πυρηνική εντόπιση, 13 (25,5%) κυτταροπλασματική εντόπιση και οι υπόλοιπες 13 (25,5%) ταυτόχρονη κυτταροπλασματική και πυρηνική εντόπιση της πρωτεΐνης. Αντιπροσωπευτικές εικόνες θετικής για την πρωτεΐνη HuR ανοσοχρώσης για αδenoκαρκίνωμα του πνεύμονα και πλακώδες καρκίνωμα πνεύμονα απεικονίζονται στις ΕΙΚΟΝΕΣ 21 και 22, αντίστοιχα.

Κατά τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα πνεύμονα, εμφάνισαν μια στατιστικά σημαντική αυξημένη συχνότητα μέτριας / υψηλής έκφρασης HuR πρωτεΐνης σε σύγκριση με αυτή του που παρατηρήθηκε σε ασθενείς με αδenoκαρκίνωμα (ΠΙΝΑΚΑΣ 6, $p = 0,039$). Η μέτρια / υψηλή έκφραση HuR πρωτεΐνης συσχετιζόταν με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και με αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινκών κυττάρων όπως αυτή αποτυπώνεται με την έκφραση του Ki67 (ΠΙΝΑΚΑΣ 6, $p = 0,017$ και $p = 0,033$, αντίστοιχα), παρουσιάζοντας επίσης μια τάση συσχέτισης με την παρουσία νέκρωσης του όγκου (ΠΙΝΑΚΑΣ 6, $p = 0,093$). Μέτρια/Υψηλή έκφραση HuR πρωτεΐνης παρατηρήθηκε συχνότερα σε ασθενείς με λειτουργική κατάσταση κατά ECOG > 0 σε σύγκριση με εκείνες με λειτουργική κατάσταση κατά ECOG = 0, σε μη στατιστικά σημαντικό επίπεδο (ΠΙΝΑΚΑΣ 6, $p = 0,244$). Η έκφραση της πρωτεΐνης HuR δεν έδειξε παρουσίασε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ή τάση συσχέτισης με τις άλλες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους που εξετάστηκαν (ΠΙΝΑΚΑΣ 6).



ΕΙΚΟΝΑ 21: Αντιπροσωπευτικές ανοσοχρώσεις για έκφραση πρωτεΐνης HuR σε κύτταρα αδenoκαρκινώματος πνεύμονα: Α) πυρηνική, Β) κυτταροπλασματική και πυρηνική, και Γ) κυτταροπλασματική (μεγέθυνση × 200)



ΕΙΚΟΝΑ 22: Αντιπροσωπευτικές ανοσοχρώσεις για έκφραση πρωτεΐνης HuR σε κύτταρα πλακώδους καρκινώματος πνεύμονα: Α) πυρηνική, Β) κυτταροπλασματική και πυρηνική, και Γ) κυτταροπλασματική (μεγέθυνση × 200)

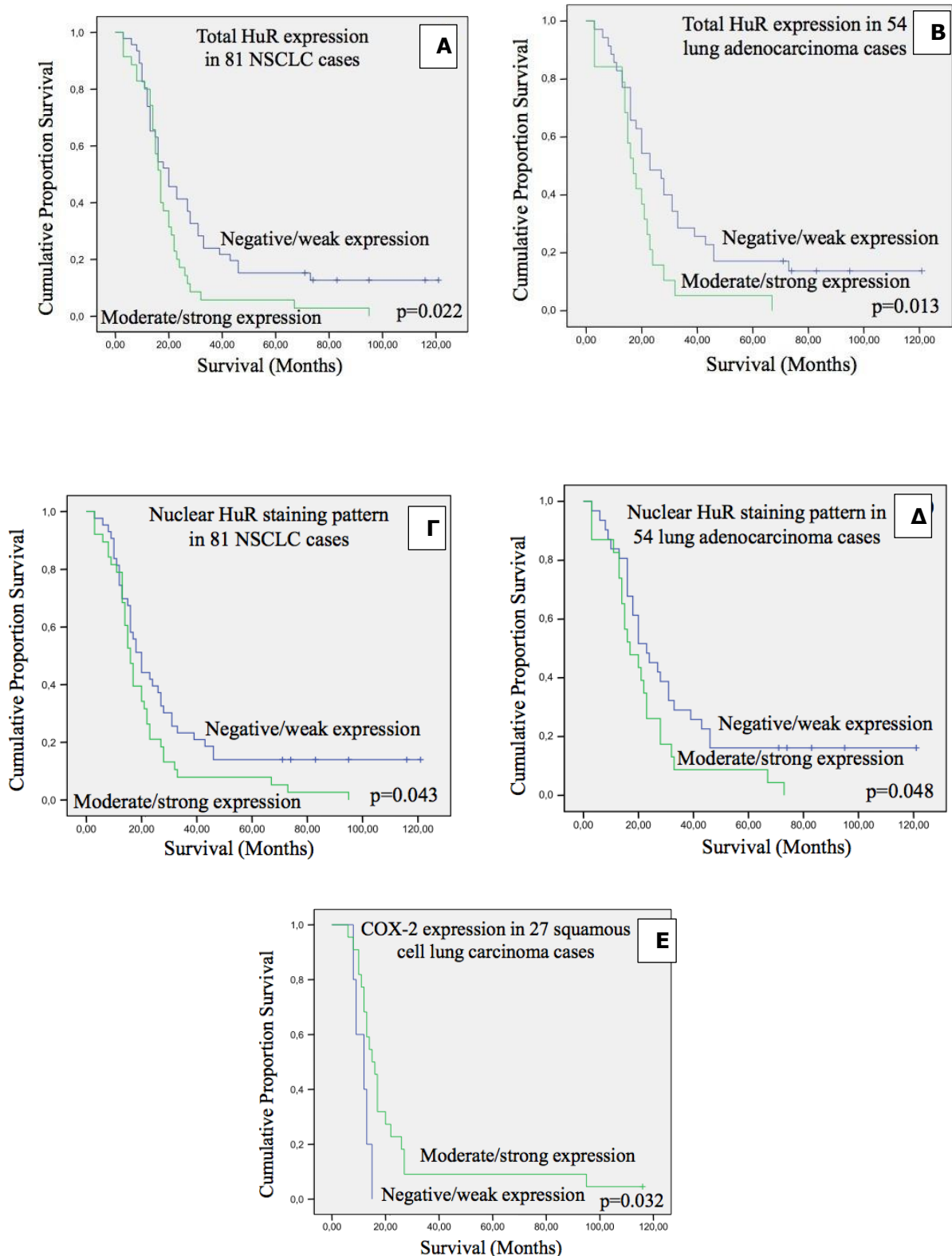
ΠΙΝΑΚΑΣ 6: Συσχετίσεις της έκφρασης της πρωτεΐνης HuR (συνολικά) με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ

Κλινικοπαθολογοανατομικές Παράμετροι	Συνολική Έκφραση HuR πρωτεΐνης		
	Αρνητική/Ήπια (%)	Μέτρια/Έντονη (%)	p-value
N=81	46(56.8)	35 (43.2)	
Ηλικία (mean±SD;ys)			0.406
≤ 64.47±9.18 yrs	24 (29.6)	15 (18.5)	
> 64.47±9.18 yrs	22 (27.2)	20 (24.7)	
Φύλο			0.540
Γυναίκες	8 (9.9)	8 (9.9)	
Ανδρες	38 (46.9)	27 (33.3)	
Ιστολογικός Τύπος			0.039
Αδενοκαρκίνωμα	33 (40.7)	25 (30.9)	
Πλακώδες Καρκίνωμα	13 (16.0)	10 (12.3)	
Ιστοπαθολογικός Βαθμός Κακοήθειας			0.976
I+II	33 (40.7)	25 (30.9)	
III	13 (16.0)	10 (12.3)	
Κάπνισμα			0.252
Ναι	42 (51.9)	29 (35.8)	
Όχι	4 (4.9)	6 (7.4)	
Λήψη αλκοόλ			0.649
Συστηματικά	26 (32.1)	18 (22.2)	
Μή συστηματικά	20 (24.7)	17 (21.0)	
Λειτουργική Κατάσταση			0.244
0	16 (19.8)	8 (9.9)	
1+2	30 (37.0)	27 (33.3)	
Φλεγμονή			0.522
Ναι	12 (14.8)	7 (8.6)	
Όχι	34 (42.0)	28 (34.6)	
Αγγειακή / Λεμφαγγειακή Διήθηση			0.451
Ναι	11 (13.6)	11 (13.6)	
Όχι	35(43.2)	24 (29.6)	
Νέκρωση			0.093
Ναι	23 (29.6)	24 (29.6)	
Όχι	23(28.4)	11 (13.6)	
Ύψωση			0.961
Ναι	9 (11.1)	7 (8.6)	
Όχι	37 (45.7)	28 (34.6)	
Μέγεθος Όγκου			0.976
T1-T2	33 (40.7)	25 (30.9)	
T3-T4	13 (16.0)	10 (12.3)	
Λεμφαδενικές Μεταστάσεις			0.017
N0	14 (17,3)	3 (3.7)	
N1-N3	32 (39.5)	32 (39.5)	
Απομακρισμένες Μεταστάσεις			0.779
M0	44 (54.3)	33 (40.7)	
M1	2 (2.5)	22 (2.5)	
Ιστοπαθολογικό Στάδιο			0.630
I+II	30 (37.0)	21 (25.9)	
III+IV	16 (19.8)	14 (17.3)	
Έκφραση Ki-67			0.033
< μέσης τιμής	24 (29.6)	10 (12.3)	
> μέσης τιμής	22 (27.2)	25 (30.9)	

Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξαν ότι οι ασθενείς με ΜΜΚΠ που παρουσίαζαν μέτρια / ισχυρή έκφραση HuR πρωτεΐνης εμφάνιζαν σημαντικά μικρότερη επιβίωση σε σύγκριση με εκείνους με αρνητική / ασθενή έκφραση πρωτεΐνης HuR (EIKONA 23A, δοκιμασία log-rank, $p = 0,022$, μέσο χρόνος επιβίωσης $20,00 \pm 2,89$ έναντι $34,13 \pm 5,27$ μήνες). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, αναλύθηκε ο ιστολογικός τύπος και το στάδιο, αλλά όχι η έκφραση πρωτεΐνης HuR, και αναγνωρίστηκαν ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες (παλινδρόμηση Cox ανάλυση, $p = 0,007$, $p = 0,0001$, και $p = 0,249$, αντίστοιχα).

Στην υποομάδα αδενοκαρκινώματος, η αυξημένη έκφραση HuR πρωτεΐνης συσχετίστηκε σημαντικά με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και με αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων όπως αυτή αποτυπώνεται με την έκφραση του Ki67 ($p = 0,006$ και $p = 0,046$, αντίστοιχα) και οριακά με προχωρημένο ιστοπαθολογικό στάδιο και την αυξημένη ηλικία των ασθενών ($p = 0,067$ και $p = 0,063$, αντίστοιχα). Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξαν ότι ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα, και αυξημένη έκφραση HuR πρωτεΐνης εμφάνιζαν σημαντικά σημαντικά μικρότερη επιβίωση σε σύγκριση με εκείνους με αρνητική / ασθενή έκφραση πρωτεΐνης HuR (EIKONA 23B, δοκιμασία log-rank, $p = 0,013$, μέσος χρόνος επιβίωσης $19,36 \pm 3,20$ έναντι $37,55 \pm 6,13$ μήνες). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας αναγνωρίστηκε το ιστοπαθολογικό στάδιο αλλά όχι η έκφραση της πρωτεΐνης HuR (ανάλυση παλινδρόμησης Cox, $p = 0,001$ και $p = 0,059$, αντίστοιχα). Στην υποομάδα ΜΜΚΠ, των πλακωδών καρκινωμάτων, η έκφραση της πρωτεΐνης HuR δεν συσχετίστηκε με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους, ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων όπως αυτή αποτυπώνεται με την έκφραση του Ki67 και με την επιβίωση των ασθενών (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται).

Στην υποομάδα αδενοκαρκινώματος, η αυξημένη έκφραση HuR πρωτεΐνης συσχετίστηκε σημαντικά με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και με αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων όπως αυτή αποτυπώνεται με την έκφραση του Ki67 ($p = 0,006$ και $p = 0,046$, αντίστοιχα) και οριακά με προχωρημένο ιστοπαθολογικό στάδιο και την αυξημένη ηλικία των ασθενών ($p = 0,067$ και $p = 0,063$, αντίστοιχα). Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξαν ότι ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα, και αυξημένη έκφραση HuR πρωτεΐνης εμφάνιζαν σημαντικά σημαντικά μικρότερη επιβίωση σε σύγκριση με εκείνους με αρνητική / ασθενή έκφραση πρωτεΐνης HuR (EIKONA 23B, δοκιμασία log-rank, $p = 0,013$, μέσος χρόνος επιβίωσης $19,36 \pm 3,20$ έναντι $37,55 \pm 6,13$ μήνες). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας αναγνωρίστηκε το ιστοπαθολογικό στάδιο αλλά όχι η έκφραση της πρωτεΐνης HuR (ανάλυση παλινδρόμησης Cox, $p = 0,001$ και $p = 0,059$, αντίστοιχα).



ΕΙΚΟΝΑ 23: Καμπύλες επιβίωσης Kaplan Meier σύμφωνα με (Α) την συνολική έκφραση της πρωτεΐνης HuR σε 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ, (Β) την συνολική έκφραση της πρωτεΐνης HuR σε 54 περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος πνεύμονα, (Γ) την πυρηνική έκφραση της πρωτεΐνης HuR σε 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ, (Δ) την πυρηνική έκφραση της πρωτεΐνης HuR σε 54 περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος πνεύμονα, (Ε) την έκφραση της πρωτεΐνης COX-2 σε 27 περιπτώσεις πλακώδους καρκινώματος πνεύμονα

Στην υποομάδα ΜΜΚΠ, των πλακωδών καρκινωμάτων, η έκφραση της πρωτεΐνης HuR δεν συσχετίστηκε με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους, ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων όπως αυτή αποτυπώνεται με την έκφραση του Ki67 και με την επιβίωση των ασθενών (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται).

ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΕΝΤΟΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ HuR ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΙ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Με βάση την υπόθεση ότι η διαφορετική ενδοκυτταρική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR μπορεί να σχετίζεται με μια διαφορετική λειτουργική δραστηριότητα, αξιολογήσαμε και τους δύο τύπους-πρότυπα ανοσοχρώσης ξεχωριστά. Το κυτταροπλασματική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων (ΠΙΝΑΚΑΣ 7, $p = 0,043$). Κυτταροπλασματική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR αναγνωρίστηκε συχνότερα σε περιπτώσεις πλακώδους καρκινώματος του πνεύμονα σε σύγκριση με αυτές του αδενοκαρκινώματος, σε μη σημαντικό στατιστικό επίπεδο (ΠΙΝΑΚΑΣ 7, $p = 0,092$). Δεν αναγνωρίστηκε συσχέτιση της κυτταροπλασματικής εντόπισης της HuR πρωτεΐνης με άλλες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και την επιβίωση των ασθενών (ΠΙΝΑΚΑΣ 7).

Η πυρηνική έκφραση της πρωτεΐνης HuR σε ασθενείς με ΜΜΚΠ συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την αυξημένη ηλικία, τον αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων όπως αυτός αποτυπώνεται με την έκφραση του Ki67 και οριακά με την παρουσία των λεμφαδενικών μεταστάσεων και νέκρωσης (ΠΙΝΑΚΑΣ 7, $p = 0,018$, $p = 0,026$, $p = 0,051$, και $p = 0,094$, αντίστοιχα). Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξαν ότι ασθενείς με ΜΜΚΠ και πυρηνική έκφραση HuR πρωτεΐνης εμφάνιζαν σημαντικά σημαντικά μικρότερη επιβίωση σε σύγκριση με εκείνους με αρνητική χρώση (ΕΙΚΟΝΑ 23Γ, δοκιμασία log-rank, $p = 0,043$, μέσος χρόνος επιβίωσης $21,24 \pm 3,05$ έναντι $34,21 \pm 5,55$ μήνες). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ο ιστολογικός τύπος και το ιστοπαθολογικό στάδιο, αλλά όχι η πυρηνική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR, αναγνωρίστηκαν ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες (ανάλυση παλινδρόμησης Cox, $p = 0,002$, $p < 0,001$, και $p = 0,088$, αντίστοιχα). Στην υποομάδα του αδενοκαρκινώματος πνεύμονα, η κυτταροπλασματική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων ($p = 0,028$) και οριακά με τον μέτριο /χαμηλό ιστολογικό

βαθμό διαφοροποίησης και την παρουσία λεμφαγγειακής διήθησης. ($p = 0,085$ και $p = 0,093$, αντίστοιχα).

ΠΙΝΑΚΑΣ 7: Συσχετίσεις της Κυτταροπλασματικής και Πυρηνικής έκφρασης της πρωτεΐνης HuR (συνολικά) με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ

Κλινικοπαθολογοανατομικές Παράμετροι	Κυτταροπλασματική Έκφραση HuR			Πυρηνική Έκφραση HuR		
	Αρνητική	Θετική	p-value	Αρνητική	Θετική	p-value
N=81	55 (67.9)	26 (32.1)		43 (53.1)	38 (46.9)	
Ηλικία (mean±SD;ys)			0.469			0.018
≤ 64.47±9.18 yrs	28 (34.6)	11 (13.6)		26 (32.1)	13 (16.0)	
> 64.47±9.18 yrs	27 (33.3)	15 (18.5)		17 (21.0)	25 (30.9)	
Φύλο			0.497			0.777
Γυναίκες	12 (14.8)	4 (4.9)		9 (11.1)	7 (8.6)	
Άνδρες	43 (53.1)	22 (27.2)		34 (42)	31 (38.3)	
Ιστολογικός Τύπος			0.092			0.270
Αδενοκαρκίνωμα	40 (49.4)	14 (17.3)		31 (38.3)	3 (3.7)	
Πλακώδες Καρκίνωμα	15 (18.5)	12 (14.8)		12 (14.8)	15 (18.5)	
Ιστοπαθολογικός Βαθμός Κακοήθειας			0.209			0.917
I+II	37 (45.7)	21 (25.9)		31 (38.3)	27 (33.3)	
III	18 (22.2)	5 (6.2)		12 (14.8)	11 (13.6)	
Κάπνισμα			0.381			0.376
Ναι	47 (58.0)	24 (29.6)		39 (48.1)	32 (39.5)	
Όχι	8 (9.9)	2 (2.5)		4 (4.9)	6 (7.4)	
Λήψη αλκοόλ			0.953			0.873
Συστηματικά	30 (37.0)	14 (17.3)		23 (28.5)	21 (25.9)	
Μή συστηματικά	25 (30.9)	12 (14.8)		20 (24.7)	17 (21.0)	
Λειτουργική Κατάσταση			0.877			0.718
0	16 (19.8)	8 (9.9)		12(14.8)	12 (14.8)	
1+2	39 (48.1)	18 (22.2)		31 (38.3)	26 (32.1)	
Φλεγμονή			0.103			0.964
Ναι	10 (12.3)	9 (11.1)		10 (12.3)	9 (11.1)	
Όχι	45 (55.6)	17 (21.0)		33 (40.7)	29 (35.8)	
Αγγειακή/Λεμφαγγειακή Διήθηση			0.116			0.872
Ναι	12 (14.8)	10 (12.3)		12 (30.6)	10 (23.1)	
Όχι	43(53.1)	16 (19.8)		31 (38.3)	28 (34.6)	
Νέκρωση			0.356			0.379
Ναι	30 (37.0)	17 (21.0)		23 (28.4)	24 (29.6)	
Όχι	25(30.9)	9 (11.1)		20 (24.7)	14 (17.3)	
Ύψωση			0.935			0.051
Ναι	11 (13.6)	5 (6.2)		5 (6.2)	11 (13.6)	
Όχι	44 (54.3)	21		38 (46.9)	27	

		(25.9)			(33.3)	
Μέγεθος Όγκου			0.209			0.696
T1-T2	37 (45.7)	21 (25.9)		30 (37.0)	28 (34.6)	
T3-T4	18 (22.2)	5 (6.2)		13 (16.0)	10 (12.3)	
Λεμφαδενικές Μεταστάσεις			0.043			0.094
N0	15 (18.5)	2 (2.5)		12 (14.8)	5 (6.2)	
N1-N3	40(49.4)	24 (29.6)		31 (38.3)	33 (40.7)	
Απομακρισμένες Μεταστάσεις			0.158			0.899
M0	51 (63.0)	26 (32.1)		41 (50.6)	36 (44.4)	
M1	4 (4.9)	0 (0.0)		2 (2.5)	2 (2.5)	
Ιστοπαθολογικό Στάδιο			0.174			0.375
I+II	31 (38.3)	20 (24.7)		29 (35.8)	22 (27.2)	
III+IV	24 (29.6)	6 (7.4)		14 (17.3)	16 (19.8)	
Έκφραση Ki-67			0.660			0.026
< μέσης τιμής	24 (29.6)	10 (12.3)		23(28.4)	11 (13.6)	
> μέσης τιμής	31 (38.3)	16 (19.8)		20 (24.7)	27 (33.3)	

Η πυρηνική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την ηλικία των ασθενών ($p = 0,003$) και τον αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων ($p = 0,047$) και οριακά με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων ($p = 0,067$) και το προχωρημένο ιστοπαθολογικό στάδιο ($p = 0,064$). Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan Meier έδειξαν ότι στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα οι ασθενείς που παρουσίασαν πυρηνικό πρότυπο έκφρασης HuR παρουσίασαν σημαντικά μικρότερους χρόνους επιβίωσης σε σύγκριση με εκείνους με αρνητική χρώση (ΕΙΚΟΝΑ 23Δ, δοκιμασία log-rank, $p = 0,048$, μέση επιβίωση φορές $22,04 \pm 3,60$ έναντι $38,22 \pm 6,80$ μήνες). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, το ιστοπαθολογικό στάδιο, αλλά όχι η πυρηνική έκφραση HuR, αναγνωρίστηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας (ανάλυση παλινδρόμησης Cox, $p < 0,001$ και $p = 0,073$, αντίστοιχα). Στην υποομάδα πλακώδους καρκινώματος, η ταυτόχρονη κυτταροπλασματική και πυρηνική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR δεν συσχετίστηκε με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και την επιβίωση ασθενών (τα δεδομένα δεν απεικονίζονται).

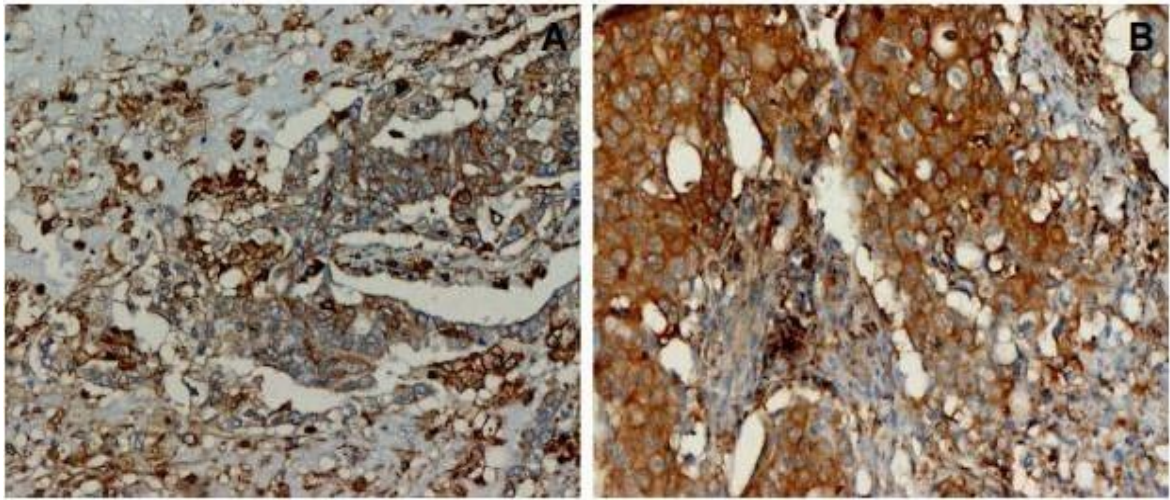
ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ COX-2 ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Η θετικότητα για την πρωτεΐνη COX-2 παρατηρήθηκε σε όλα τα εξεταζόμενα δείγματα ΜΜΚΠ, παρουσιάζοντας κυτταροπλασματικό πρότυπο έκφρασης. Σαράντα τρεις (53,1%) από τις

81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ παρουσίασαν μέτρια / υψηλή έκφραση πρωτεΐνης COX-2. Αντιπροσωπευτικές περιπτώσεις θετικής για πρωτεΐνη COX-2 ανοσοχρώσης σε περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος και πλακώδους καρκινώματος πνεύμονα, απεικονίζονται στην ΕΙΚΟΝΑ 24Α και Β, αντίστοιχα.

Στη στατιστική επεξεργασία, ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα του πνεύμονα παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική αυξημένη συχνότητα μέτριας / υψηλής έκφραση COX-2 πρωτεΐνης σε σύγκριση με αυτούς με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα (ΠΙΝΑΚΑΣ 8, $p < 0,001$). Η μέτρια / υψηλή έκφραση COX-2 πρωτεΐνης σχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την παρουσία λεμφοαγγειακών διηθήσεων και τον αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και οριακά με την απουσία ίνωσης (ΠΙΝΑΚΑΣ 8, $p = 0,031$, $p = 0,023$, και $p = 0,051$, αντίστοιχα). Μέτρια / υψηλή έκφραση COX-2 πρωτεΐνης παρατηρήθηκε συχνότερα σε ασθενείς με λειτουργική κατάσταση κατά ECOG > 0 σε σύγκριση με εκείνους με λειτουργική

κατάσταση κατά ECOG = 0, ωστόσο, σε μη στατιστικό σημαντικό επίπεδο (ΠΙΝΑΚΑΣ 8, $p = 0,068$).



ΕΙΚΟΝΑ 24 : Αντιπροσωπευτικές ανοσοχρώσεις για έκφραση πρωτεΐνης COX-2 A) σε καρκινικά κύτταρα αδενοκαρκινώματος και B) πλακώδους καρκινώματος (μεγέθυνση $\times 200$)

Η έκφραση της πρωτεΐνης COX-2 δεν συσχετίστηκε με την επιβίωση ασθενών με ΜΚΚΠ (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται). Στην υποομάδα του αδενοκαρκινώματος πνεύμονα η μέτρια / υψηλή έκφρασης πρωτεΐνης COX-2 συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την παρουσία λεμφαγγειακών διηθήσεων και απουσία ίνωσης ($p = 0,024$ και $p = 0,038$, αντίστοιχα). Μέτρια / υψηλή έκφραση πρωτεΐνης COX-2 παρατηρήθηκε συχνότερα σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας ($p = 0,067$), ασθενείς με κατάσταση απόδοσης ECOG > 0 ($p = 0,177$) και σε εκείνους που εμφανίζουν καρκινώματα χαμηλής / μέτριας διαφοροποίησης ($p = 0,180$) και αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων ($p = 0,163$), ωστόσο, σε μη σημαντικό στατιστικό επίπεδο, ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με την επιβίωση των ασθενών (δεν απεικονίζονται τα δεδομένα). Στην υποομάδα πλακώδους καρκινώματος, μέτρια / υψηλή έκφραση COX-2 πρωτεΐνης παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντικά συχνότερα σε χαμηλής / μέτριας σε σύγκριση με καλής διαφοροποίησης καρκινώματα ($p = 0,028$).

Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξαν ότι ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα του πνεύμονα και μέτρια / υψηλή έκφραση COX-2 πρωτεΐνης είχαν σημαντικά μεγαλύτερη διάρκεια επιβίωσης σε σύγκριση με εκείνους με αρνητική / ασθενή έκφραση (ΕΙΚΟΝΑ23E, δοκιμασία log-rank, $p = 0,032$, μέσος όρος χρόνων επιβίωσης $11,40 \pm 1,28$ έναντι $23,82 \pm 5,68$ μήνες). Σε πολυπαραγοντική ανάλυση, η έκφραση COX-2 και το ιστοπαθολογικό στάδιο προσδιορίστηκαν ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες (Cox ανάλυση παλινδρόμησης, $p = 0,031$ και $p = 0,028$, αντίστοιχα).

ΠΙΝΑΚΑΣ 8: Συσχετίσεις της έκφρασης της πρωτεΐνης COX-2 με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ

Κλινικοπαθολογοανατομικές Παράμετροι	Έκφραση COX-2 πρωτεΐνης		
	Αρνητική / Ήπια (%)	Μέτρια / Έντονη (%)	p-value
N=81	38(46.9)	43 (53.1)	
Ηλικία (mean±SD;ys)			0.036
≤ 64.47±9.18 yrs	23 (28.4)	16 (19.8)	
> 64.47±9.18 yrs	15 (18.5)	27 (33.3)	
Φύλο			0.404
Γυναίκες	9 (11.1)	7 (8.6)	
Άνδρες	29 (35.8)	36 (44.4)	
Ιστολογικός Τύπος			<0.001
Αδενοκαρκίνωμα	33 (40.7)	21 (25.9)	
Πλακώδες Καρκίνωμα	5 (6.2)	22 (27.2)	
Ιστοπαθολογικός Βαθμός Κακοήθειας			0.113
I+II	24 (29.6)	34 (42.0)	
III	14 (17.3)	9 (11.1)	
Κάπνισμα			0.640
Ναι	34(42)	37 (45.7)	
Όχι	4 (4.9)	6 (7.4)	
Λήψη αλκοόλ			0.873
Συστηματικά	21 (25.9)	23 (28.4)	
Μή συστηματικά	17 (21.0)	20 (24.7)	
Λειτουργική Κατάσταση			0.068
0	15 (18.5)	9 (11.1)	
1+2	23 (34.6)	34 (42.0)	
Φλεγμονή			0.568
Ναι	10 (12.3)	9 (11.1)	
Όχι	28 (34.6)	34 (42.0)	
Αγγειακή / Λεμφαγγειακή Διήθηση			0.031
Ναι	6 (7.4)	16 (19.8)	
Όχι	32(39.5)	27 (33.3)	
Νέκρωση			0.355
Ναι	20 (24.7)	27 (33.3)	
Όχι	18(22.2)	16 (19.8)	
Ύψωση			0.051
Ναι	11 (13.6)	5 (6.2)	
Όχι	27 (33.3)	38 (46.9)	
Μέγεθος Όγκου			0.917
T1-T2	27 (33.3)	31 (38.3)	
T3-T4	11 (13.6)	12 (14.8)	
Λεμφαδενικές Μεταστάσεις			0.575
N0	9 (11.1)	8 (9.9)	
N1-N3	29 (35.8)	35 (43.2)	
Απομακρισμένες Μεταστάσεις			0.248
M0	35 (43.2)	42 (51.9)	
M1	3 (3.7)	1 (1.2)	
Ιστοπαθολογικό Στάδιο			0.375
I+II	22 (27.2)	29 (35.8)	
III+IV	16 (19.8)	14 (17.3)	
Έκφραση Ki-67			0.023
< μέσης τιμής	21 (25.9)	13(16.0)	
> μέσης τιμής	17 (21.0)	30 (37.0)	

ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ HuR / COX-2 ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ

Οι περιπτώσεις ΜΜΚΠ ταξινομήθηκαν περαιτέρω σε δύο ομάδες: μια ομάδα που παρουσίασε ταυτόχρονα μέτρια / υψηλή έκφραση τόσο για τις πρωτεΐνες HuR όσο και για τις COX-2 και μια άλλη που συμπεριέλαβε τις υπόλοιπες περιπτώσεις. Ταυτόχρονη μέτρια / υψηλή έκφραση HuR / COX-2 πρωτεϊνών παρατηρήθηκε πολύ συχνότερα στους ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα πνεύμονα σε σύγκριση με αυτούς με αδενοκαρκίνωμα (ΠΙΝΑΚΑΣ 9, $p = 0,002$).

Επίσης η μέτρια / υψηλή έκφραση HuR / COX-2 πρωτεϊνών συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, παρουσιάζοντας επιπλέον μια τάση συσχέτισης με την λειτουργική κατάσταση κατά ECOG και την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων (ΠΙΝΑΚΑΣ 9, $p = 0,045$, $p = 0,097$ και $p = 0,070$, αντίστοιχα).

Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξαν πως ασθενείς με ΜΜΚΠ που εμφανίζουν ταυτόχρονα μέτρια / υψηλή έκφραση HuR / COX-2 πρωτεϊνών παρουσίαζαν μικρότερους χρόνους συνολικής επιβίωσης σε σύγκριση με ασθενείς που δεν εμφανίζουν ταυτόχρονα μέτρια / υψηλή έκφραση HuR / COX-2, ωστόσο σε μη σημαντικό στατιστικό βαθμό (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται). Στις περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος, η ταυτόχρονη μέτρια / υψηλή έκφραση HuR / COX-2 πρωτεϊνών συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την αυξημένη ηλικία των ασθενών, την κατανάλωση αλκοόλ και τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης του καρκινώματος (ΠΙΝΑΚΑΣ 9, $p = 0,018$, $p = 0,026$, και $p = 0,041$, αντίστοιχα), αλλά όχι με τις άλλες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους που εξετάστηκαν και την επιβίωση των ασθενών (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται).

Στην υποομάδα με πλακώδες καρκίνωμα δεν υπάρχουν συσχετίσεις της ταυτόχρονης έκφρασης των HuR / COX-2 πρωτεϊνών με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και την επιβίωση των ασθενών (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται).

ΠΙΝΑΚΑΣ 9: Συσχετίσεις της ταυτόχρονης έκφρασης των πρωτεϊνών HuR και COX-2 με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ

Κλινικοπαθολογοανατομικές Παράμετροι	Ταυτόχρονη Έκφραση HuR και COX-2 πρωτεϊνών		
	Αρνητική (%)	Θετική (%)	p-value
N=81	57(70.4)	24 (29.6)	
Ηλικία (mean±SD;ys)			0.213
≤ 64.47±9.18 yrs	30 (37.0)	9 (11.1)	
> 64.47±9.18 yrs	27 (33.3)	15 (18.5)	
Φύλο			0.404
Γυναίκες	12 (14.8)	4 (4.9)	
Ανδρες	45 (55.6)	20 (24.7)	
Ιστολογικός Τύπος			0.002
Αδενοκαρκίνωμα	44 (54.3)	10 (12.3)	
Πλακώδες Καρκίνωμα	13 (16.0)	14 (17.3)	
Ιστοπαθολογικός Βαθμός Κακοήθειας			0.660
I+II	40 (49.4)	18 (22.2)	
III	17 (21.0)	6 (7.4)	
Κάπνισμα			0.443
Ναι	51 (63.0)	20 (24.7)	
Όχι	6 (7.4)	4 (4.9)	
Λήψη αλκοόλ			0.320
Συστηματικά	33 (40.7)	11 (13.6)	
Μή συστηματικά	24 (29.6)	13 (16.0)	
Λειτουργική Κατάσταση			0.097
0	20 (24.7)	4 (4.9)	
I+2	37 (45.7)	20 (24.7)	
Φλεγμονή			0.718
Ναι	14 (17.3)	5 (6.2)	
Όχι	43 (53.1)	19 (23.5)	
Αγγειακή/Λεμφαγγειακή Διήθηση			0.418
Ναι	14 (17.3)	8 (9.9)	
Όχι	43(53.1)	16 (19.8)	
Νέκρωση			0.130
Ναι	30 (37.0)	17 (21.0)	
Όχι	27(33.3)	7 (8.6)	
Ίνωση			0.287
Ναι	13 (16.0)	3 (3.7)	
Όχι	44 (54.3)	21 (25.9)	
Μέγεθος Όγκου			0.522
T1-T2	42 51.9)	16 (19.8)	
T3-T4	15 (18.5)	8 (9.9)	
Λεμφαδενικές Μεταστάσεις			0.070
N0	15(18.5)	2 (2.5)	
N1-N3	42 (51.9)	22 27.2)	
Απομακρισμένες Μεταστάσεις			0.835
M0	54 66.7)	23 (28.4)	
M1	3 (3.7)	1 (1.2)	
Ιστοπαθολογικό Στάδιο			0.654
I+II	35 (43.2)	16 19.8)	
III+IV	22 (27.2)	8 (9.9)	
Έκφραση Ki-67			0.45
< μέσης τιμής	28(34.6)	6(7.4)	
> μέσης τιμής	29 (35.8)	18 (22.2)	

ΣΥΝΔΕΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ HuR ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΤΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ COX-2 ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ

Η κυτταροπλασματική έκφραση της πρωτεΐνης HuR ήταν στατιστικά σημαντικά πιο συχνή σε περιπτώσεις ΜΜΚΠ με μέτρια / υψηλή έκφραση COX-2 πρωτεΐνης (ΠΙΝΑΚΑΣ 10, $p = 0,001$). Μάλιστα, σε 21 (80,8%) από 26 περιπτώσεις ΜΜΚΠ αναγνωρίστηκε θετική κυτταροπλασματική χρώση HuR και μέτρια / υψηλή έκφραση COX-2, ενώ σε 22 (40,0%) από 55 περιπτώσεις ΜΜΚΠ με αρνητική κυτταροπλασματική χρώση HuR αναγνωρίστηκε μέτρια / υψηλή έκφραση COX-2. Κυτταροπλασματική εντόπιση της HuR πρωτεΐνης παρατηρήθηκε επίσης πολύ πιο συχνά σε περιπτώσεις πλακώδους καρκινώματος πνεύμονα και η με μέτρια / υψηλή έκφραση της COX-2 πρωτεΐνης, ενώ σημαντική στατιστική σχέση στον υπότυπο του πλακώδους καρκινώματος (ΠΙΝΑΚΑΣ 10, $\rho = 0,003$ και $p = 0,239$, αντίστοιχα). Η πυρηνική έκφραση της HuR πρωτεΐνης δεν εμφάνισε οποιασδήποτε συσχέτιση με την έκφραση COX-2 (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται).

ΠΙΝΑΚΑΣ 10: Spearman's bivariate συσχέτιση μεταξύ της κυτταροπλασματικής έκφρασης της πρωτεΐνης HuR και της έκφρασης της πρωτεΐνης COX-2 σε 81 περιπτώσεις ΜΜΚΠ (54 περιπτώσεις αδenoκαρκινώματος και 27 πλακώδους καρκινώματος)

Κυτταροπλασματική χρώ	ση HuR		rho value	p value
	Αρνητικό	Θετικό		
ΜΜΚΠ (N=81)				
Έκφραση COX-2	55 (67.9)	26 (32.1)	0.381	0.001
Αρνητική / Ασθενής	33 (40.7)	5 (6.2)		
Ήπια / Έντονη	22 (27.2)	21 (25.9)		
Αδενοκαρκίνωμα				
Έκφραση COX-2	40 (74.1)	14 (25.9)	0.395	0.003
Αρνητική / Ασθενής	29 (53.7)	4 (7.4)		
Ήπια / Έντονη	11 (20.4)	10 (18.5)		
Πλακώδες καρκίνωμα				
Έκφραση COX-2	15 (55.6)	12 (44.4)	0.235	0.239
Αρνητική / Ασθενής	4 (14.8)	1 (3.7)		
Ήπια / Έντονη	11 (40.7)	11 (40.7)		

3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ένας σταδιακά αυξανόμενος αριθμός μελετών τεκμηρίωσε ότι η υπερέκφραση πρωτεΐνης HuR και η κυτταροπλασματική εντόπιση σχετίζονται με κρίσιμες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους για τη διαχείριση και την πρόγνωση των ασθενών σε διάφορους τύπους νεοπλασίας.(Srikantan S and Gorospe M, 2012; Yuan Z, et al., 2010; Kotta-Loizou I, et al., 2014). Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η πρωτεΐνη HuR δεσμεύοντας την αδενίνη και ουριδίνη, σταθεροποιούν το COX-2 mRNA, που οδηγεί σε αυξημένη έκφραση πρωτεΐνης COX-2, η οποία έχει επίσης εμπλακεί στην κακοήγη εξαλλαγή (Khan Z, et al., 2011; Ghosh N, et al., 2010). Συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη HuR αποδείχθηκε ότι αναστέλλει το microRNA-16 (Young LE, et al., 2012).

Ωστόσο, σχετικά με τον ακριβή ρόλο αυτών των μορίων στο ΜΜΚΠ, τα δεδομένα παραμένουν περιορισμένα. Σε αυτήν τη διατριβή, εξετάσαμε συστηματικά την ανοσοϊστοχημική έκφραση των πρωτεϊνών HuR και COX-2, καθώς και την κλινική σημασία στο ΜΜΚΠ. Σύμφωνα με τη μελέτη μας:

- (α) η αυξημένη ολική έκφραση της πρωτεΐνης HuR, ανεξάρτητα από την ενδοκυτταρική εντόπιση, συσχετίστηκε με πτωχή πρόγνωση, με τον ιστολογικό τύπο του πλακώδους καρκινώματος, την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και με αυξημένο δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού στα νεοπλασματικά κύτταρα
- (β) η κυτταροπλασματική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκε με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων αλλά όχι με την επιβίωση των ασθενών
- (γ) η πυρηνική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκε με πτωχή πρόγνωση, αυξημένη ηλικία των ασθενών, και με αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού στα νεοπλασματικά κύτταρα
- (δ) η έκφραση της COX-2 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με συγκεκριμένο ιστολογικό τύπο (πλακώδες καρκίνωμα), παρουσία λεμφαγγειακών διηθήσεων και με τον αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού στα νεοπλασματικά κύτταρα αλλά όχι με την επιβίωση των ασθενών
- (ε) η ταυτόχρονη αυξημένη έκφραση των πρωτεϊνών HuR και COX-2 συσχετίστηκε με τον ιστολογικό τύπο πλακώδους καρκινώματος και τον αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού στα νεοπλασματικά κύτταρα, αλλά όχι με την επιβίωση των ασθενών και
- (στ) η κυτταροπλασματική αλλά όχι η πυρηνική εντόπιση της HuR πρωτεΐνης συσχετίστηκε με αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης COX-2.

Συνολικά, η πρωτεΐνη HuR θα μπορούσε να θεωρηθεί ως σημαντικός παράγοντας σταθεροποίησης ποικίλων mRNAs που συμμετέχουν στην κακοήγη εξαλλαγή στο MMKP, και επιπλέον σχετίζεται με χαρακτηριστικά του νεοπλάσματος που καθορίζουν την επιβίωση των ασθενών. Εξάλλου, η σχέση που αναδείχθηκε μεταξύ κυτταροπλασματικής έκφρασης της πρωτεΐνης HuR και της αυξημένης έκφρασης COX-2 πρωτεΐνης ενισχύει την άποψη ότι η κυτταροπλασματική μετατόπιση της HuR αποτελεί παράγοντα ενίσχυσης της πρωτεΐνης COX-2 στη διαδικασία κακοήθους εξαλλαγής στο MMKP. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η θετική συσχέτιση μεταξύ της κυτταροπλασματικής έκφρασης της πρωτεΐνης HuR και της πρωτεΐνης COX-2 έχει επίσης αναφερθεί σε καρκινώματα της στοματικής κοιλότητας, σιελογόνων αδένων, στομάχου, παχέος εντέρου, λάρυγγα, μαστού, ουροδόχου κύστης, προστάτη αδένα, τραχήλου της μήτρας και ωοθηκών (Srikantan S and Gorospe M, 2012; Yuan Z, et al., 2010; Kotta-Loizou I, et al., 2014). Ωστόσο, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για να καθορίσουν επακριβώς τους υποκείμενους μοριακούς μηχανισμούς που αφορούν στη σχέση των πρωτεϊνών HuR και COX-2 και στην ειδική συμμετοχή της πρωτεΐνης HuR στη σταθερότητα του COX-2 mRNA. Επιπλέον, η στενή σχέση μεταξύ της πρωτεΐνης COX-2 και πολλών άλλων κρίσιμων μορίων, όπως η θρομβοξάνη A2 στον καρκίνο του πνεύμονα (Huang RY, et al., 2014) επιτείνει την ανάγκη για περαιτέρω έρευνας για την αξιολόγηση της πιθανής αλληλεξάρτησης μεταξύ των πρωτεϊνών HuR, COX-2 και παρόμοιων κρίσιμων μορίων (π.χ. θρομβοξάνης A2). Επί του παρόντος, υπάρχει ένας μικρός αριθμός μελετών που ερευνούν το ρόλο της πρωτεΐνης HuR σε κυτταρικές σειρές πνεύμονα.

Η πρωτεΐνη Crabp2 έχει βρεθεί αυξημένη σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου και η υπερέκφρασή της έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με κακή πρόγνωση σε ασθενείς με κακοήθεια. Σε κλινικά δείγματα καρκίνου πνεύμονα υψηλά επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης CRABP2 συσχετίστηκαν με παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και πτωχή πρόγνωση. Πρόσφατα η μελέτη των Wu, et al., συνέβαλε στη διερεύνηση της συμμετοχής της πρωτεΐνης HuR στη μετάσταση στον καρκίνο του πνεύμονα. Η πρωτεΐνη Crabp2 είχε αυξημένη έκφραση στην καρκινική κυτταρική σειρά πνεύμονα C10F4 που παρουσιάζει υψηλό μεταστατικό δυναμικό σε σχέση με άλλες κυτταρικές σειρές με χαμηλό δυναμικό. Η προκλητή σίγαση του γονιδίου *Crabp2* μείωσε την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων για μετακίνηση και διείσδυση και για μετάσταση *in vivo*. Οι πρωτεΐνες Crabp2 και HuR, δρώντας από κοινού προκαλούσαν ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού integrin β 1/FAK/ERK, αυξάνοντας τη διεισδυτική και μεταναστευτική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων. (Wu J-I, et al., 2019)

Πρόσφατη μελέτη επιβεβαιώνει ότι η πρωτεΐνη HuR σχετίζεται με την ενεργοποίηση των καρκινικών αρχέγονων κυττάρων στον πνεύμονα μέσω της ρύθμισης του άξονα miR-873/CDK3

and miR-125a-3p/ CDK3. Η έκφραση των πρωτεϊνών HuR και CDK3 ήταν αυξημένη στον καρκινικό ιστό σε σχέση με το παρακείμενο υγιές πνευμονικό παρέγχυμα. Επιπλέον η αλληλεπίδραση των δύο αυτών πρωτεϊνών αποδείχθηκε ότι οδηγεί στην αύξηση και σταθερότητα του CDK3 mRNA. Επιπλέον η θετική επίδραση της HuR πρωτεΐνης στη CDK3 αναστάλη από τη δράση των miR-873 και miR-125a-3p αναστέλοντας επίσης την ενεργοποίηση των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων (Zhang Y, et al., 2018).

Τα επίπεδα έκφρασης του miR-31 και της πρωτεΐνης HuR εξετάστηκαν σε καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα με τεχνικές RT-qPCR και western blot, αντίστοιχα. Ταυτόχρονα μειωμένη έκφραση του miR-31 και της πρωτεΐνης HuR παρατηρήθηκε σε κυτταρικές σειρές και ιστικά δείγματα καρκίνου πνεύμονα. Το γονίδιο *HuR* αποτελεί στόχο του miR-31. Αναστολή της έκφρασης του miR-31 καθώς και υπερέκφραση της πρωτεΐνης HuR είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης των κυκλινών A2, B1, D1 και του VEGF. Αντίθετα η υπερέκφραση του miR-31 είχε σαν αποτέλεσμα αυξημένη απόπτωση και αναστολή της κινητικότητας και μεταστατικής ικανότητας των καρκινικών κυττάρων (Xu H, et al., 2016). Σε προηγούμενη μελέτη από τους Wang et al., που πραγματοποιήθηκε σε 132 ασθενείς με ΜΜΚΠ, η κυτταροπλασματική αλλά όχι η πυρηνική έκφραση της πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκε με προχωρημένο στάδιο όγκου, παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων όπως καθώς και με την πυκνότητα αγγειακού και λεμφαγγειακού δικτύου στον όγκο (Wang J, et al., 2011). Σε μια άλλη μελέτη από τους Kim et al., που αφορούσε 151 περιπτώσεις πλακώδους καρκινώματος και 93 περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος, η κυτταροπλασματική έκφραση πρωτεΐνης HuR παρατηρήθηκε σημαντικά αυξημένη στα πλακώδη καρκινώματα, καθώς και σε χαμηλής διαφοροποίησης καρκινώματα (Kim GY, et al., 2011). Επιπλέον, αυτή η μελέτη τεκμηρίωσε ότι το κυτταροπλασματικό πρότυπο έκφρασης HuR πρωτεΐνης συσχετίστηκε θετικά με επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης COX-2 (Kim GY, et al., 2011).

Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η χαμηλή αναλογία πυρηνικής προς κυτταροπλασματική έκφρασης της πρωτεΐνης HuR σχετίζεται με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων σε 54 περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος πνεύμονα σε ασθενείς σταδίου I και II (Lauriola L, et al., 2012).

Σε μια πρόσφατη μελέτη αναφέρεται, σε συμφωνία με τα δικά μας αποτελέσματα, στατιστικά σημαντικά αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης HuR σε περιπτώσεις ΜΜΚΠ (110 ασθενείς) σε σχέση με τον παρακείμενο υγιή ιστό ($p < 0.0001$). Η κυτταροπλασματική έκφραση της HuR πρωτεΐνης συσχετίστηκε θετικά με το στάδιο της νόσου pTNM ($p < 0.05$) (Qian L, et al., 2018).

Θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε επίσης μεταξύ κυτταροπλασματικής έκφρασης της πρωτεΐνης HuR και υψηλών επιπέδων έκφρασης COX-2 πρωτεΐνης σε 29 περιπτώσεις επιθηλιοειδών, ατρακτοκυτταρικών και μικτού τύπου μεσοθηλιωμάτων, ενώ το πρότυπο της

κυτταροπλασματικής έκφρασης της HuR πρωτεΐνης δεν συσχετίστηκε με τη συνολική επιβίωση των ασθενών αυτών (Storppoloni D, et al. 2008).

Όλες τα παραπάνω δημοσιευμένα αποτελέσματα συμφωνούν με τα αποτελέσματα της μελέτης μας που συσχετίζει την κυτταροπλασματική εντόπιση της πρωτεΐνης HuR με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και την αυξημένη έκφραση πρωτεΐνης COX-2. Επιπλέον είναι σημαντική η συσχέτιση μεταξύ πρωτεϊνών HuR και κλινικοπαθολογικών παραμέτρων που σχετίζονται με τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης και το στάδιο της νόσου σε διάφορα καρκινώματα συμπεριλαμβανομένων της στοματικής κοιλότητας, του οισοφάγου, του μαστού, του στομάχου, του παγκρέατος, της χοληδόχου κύστης, των νεφρών, του παχέος εντέρου, της ουροδόχου κύστης, του τραχήλου της μήτρας και των ωοθηκών. (Srikantan S and Gorospe M, 2012; Yuan Z, et al., 2010; Kotta-Loizou I, et al., 2014).

Ωστόσο, τα μέχρι τούδε τα δεδομένα φαίνεται να είναι αντιφατικά σχετικά με την προγνωστική αξία της πρωτεΐνης HuR στον καρκίνο του πνεύμονα. Η κυτταροπλασματική αλλαγή όχι η πυρηνική έκφραση πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκε σημαντικά με την παρουσία υποτροπής της νόσου και τη συνολική επιβίωση και αναγνωρίστηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας σε 132 ασθενείς με MMΚΠ (Wang J, et al., 2011).

Οι Lauriola et al. έχουν αναφέρει ότι η χαμηλή αναλογία πυρηνικής προς κυτταροπλασματική έκφραση πρωτεΐνης HuR σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο θανάτου και μετάστασης σε 54 περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος πνεύμονα σε ασθενείς σταδίου I και II. Η συσχέτιση αυτές αποδείχθηκαν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες στην πολυπαραγοντική ανάλυση (Lauriola L, et al., 2012). Σε αντίθεση με τις παραπάνω μελέτες, οι Kim et al. δεν τεκμηρίωσαν συσχέτιση της κυτταροπλασματικής ή πυρηνικής ή ολικής έκφρασης της πρωτεΐνης HuR με την επιβίωση των ασθενών σε 151 περιπτώσεις πλακώδους και 93 αδενοκαρκινώματος πνεύμονα (Kim GY, et al., 2011). Στην τρέχουσα μελέτη, βρέθηκε ότι η συνολική και η πυρηνική έκφραση της HuR πρωτεΐνης συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με την επιβίωση των ασθενών με MMΚΠ και της υποομάδας των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα.

Πρέπει επίσης να ληφθεί υπόψη ότι οι διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ των υφιστάμενων μελετών και τη παρούσας μελέτης μπορούν να αποδοθούν στα διαφορετικά πρωτογενή αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της πρωτεΐνης HuR, καθώς και στους διαφορετικούς τρόπους εκτίμησης των αποτελεσμάτων. Είναι σημαντικό, λόγω της αυξημένης έκφρασης της πρωτεΐνης HuR σε κακοήθη κλινικά δείγματα, καθώς και ο σταθερός ρόλος της στη καρκινογένεση να εξεταστεί ως πιθανός φαρμακευτικός στόχος για τη θεραπεία του καρκίνου. Στρατηγικές για τη μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης HuR θα μπορούσε να είναι μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική αγωγή στον έλεγχο της εξέλιξης

του όγκου, λαμβάνοντας υπόψη την επίδραση της πρωτεΐνης HuR στην ανταπόκριση στις αντικαρκινικές θεραπείες. Συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη HuR βρέθηκε πρόσφατα να εμπλέκεται στο μηχανισμό χημειοαντοχής σε θεραπευτικών φαρμάκων, όπως η tamoxifen, υποδεικνύοντας τη χρησιμότητά της ως πιθανού νέου στόχου (Filippova N, et al. 2011; Hostetter C, et al. 2008).

Επιπλέον, τα καρκινικά κύτταρα που υπερεκφράζουν τη πρωτεΐνη HuR ήταν πιο ευαίσθητα στη θεραπεία με γεμισταβίνη, το κύριο χημειοθεραπευτικό παράγοντα στο αδενοκαρκίνωμα του παγκρέατος (Costantino CL, et al. 2009; Williams TK, et al. 2010). Είναι ενδιαφέρον ότι, σε μια πρόσφατη δοκιμασία κλινικής φάσης III σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του παγκρέατος, η 5-φθοροουρακίλη αύξησε τη λειτουργία της HuR πρωτεΐνης ενισχύοντας τη μετατόπισή της HuR από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα (McAllister F, et al. 2014). Η ειδική αναστολή της έκφρασης της HuR πρωτεΐνης με siRNA θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτική παρέμβαση στη θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα. Πρόσφατες πρόοδοι στη νανοτεχνολογία, ειδικότερα με τη βελτίωση των συστημάτων πρόσληψης και μεταφοράς φαρμακευτικών παραγόντων οδήγησαν στην παρασκευή πολυλειτουργικών νανοσωματιδίων που υπόσχονται ασφαλή, ειδική και αποτελεσματική μεταφορά φαρμάκων στη θεραπευτική του καρκίνου. Πολυλειτουργικά σχετιζόμενα με νανοσωματίδια συστήματα μεταφοράς φαρμακευτικών προϊόντων επιτρέπουν τη ταυτόχρονη μεταφορά πολλαπλών συνδιαστικών θεραπευτικών παραγόντων για την αποτελεσματική θεραπεία του καρκίνου. Τέτοια συστήματα μπορούν να μεταφέρουν ταυτόχρονα κλασικούς χημειοθεραπευτικούς παράγοντες (cisplatin) και siRNA για διαφορετικούς ενδοκυττάριους στόχους όπως το HuR mRNA στα καρκινικά κύτταρα. Για την είσοδο στα κύτταρα τα προϊόντα αυτά χρησιμοποιούν κυτταρικούς υποδοχείς του φυλικού οξέος (FR) ή της τρανσφερίνης.

Η αποτελεσματικότητα νανοσωματιδίων που στοχεύουν τον transferrin receptor-targeted liposomal nanoparticle-based HuR siRNA (HuR-TfNP) σε σύγκριση με control siRNA (C)-TfNP, εκτιμήθηκε *in vitro* και *in vivo* χρησιμοποιώντας μοντέλα καρκίνου πνεύμονα. *In vitro* μελέτες έδειξαν ότι το HuR-TfNP αλλά όχι το C-TfNP, αποτελεσματικά κατέστειλαν τη δράση της πρωτεΐνης HuR και άλλων σχετιζόμενων πρωτεϊνών με τη HuR σε κυτταρικές σειρές καρκίνου πνεύμονα A549 και HCC827, προκαλώντας μειωμένη επιβίωση, αναστολή της μεταστατικής και διεισθητικής ικανότητας, αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη G₁ φάση και επαγωγή απόπτωσης. Αντίστοιχη επίδραση δεν παρατηρήθηκε στην κυτταρική σειρά φυσιολογικών ινοβλαστών πνεύμονα, MRC-9. Σε *in vivo* πειράματα επιβεβαιώθηκε η καθήλωση του συμμασμένου με φθορίζοντα ιχνηθέτη HuR-siRNA ή ICG dye-loaded TfNP σε καρκινικούς ιστούς πνεύμονα.

Επιπρόσθετα η ενδοφλέβια ή εντός του όγκου χορήγηση HuR-TfNP ανέστειλε σημαντικά την αύξηση A549 (>55% αναστολή) και HCC827 (>45% αναστολή) όγκων πνεύμονα σε σύγκριση με τη χορήγηση C-TfNP. Η χορήγηση HuR-TfNP μείωσε την έκφραση των πρωτεϊνών HuR, Ki67 και CD31 ενώ αύξησε τις caspase-9 και PARP cleavage καθώς και την TUNEL-θετική ανοσοχρώση, ενδεικτικά απόπτωσης, στους καρκινικούς ιστούς σε σύγκριση με τη χορήγηση C-TfNP. Επιπλέον η αντικαρκινική δράση του HuR-TfNP επιβεβαιώθηκε σε ένα A549-luc, πειραματικό μοντέλο μεταστατικού καρκίνου πνεύμονα, όπου παρατηρήθηκαν λιγότερα καρκινικά οζίδια (9.5 ± 3.1 ; $P < 0.001$; 88% αναστολή) στην ομάδα που έλαβε HuR-TfNP σε σύγκριση με την ομάδα που έλαβε TfNP (77.7 ± 20.1). Τα ευρήματα αυτά καθιστούν ελπιδοφόρα τη χρήση νανοσωματιδίων HuR-TfNP στη θεραπεία καρκίνου του πνεύμονα (Muralidharan R, et al., 2017).

Η αποτελεσματικότητα ενός αντίστοιχου παράγοντα που σχετίζονταν με τον υποδοχέα φυλλικού οξέος (FRA) μεταφέροντας HuR siRNA (HuR-FNP) χρησιμοποιήθηκε θεραπευτικά χρησιμοποιώντας την κυτταρική σειρά καρκίνου πνεύμονα, H1299, που υπερεκφράζει FRA σε σύγκριση με τη σειρά φυσιολογικών ινοβλαστών πνεύμονα CCD16. Σύμφωνα με τη μελέτη η χορήγηση HuR-FNP αλλά όχι C-FNP (control siRNA) προκάλεσε αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη G₁ φάση και επαγωγή απόπτωσης στα κύτταρα H1299. Το αποτέλεσμα αυτό συνδέονταν με σημαντική μείωση των επιπέδων mRNA και πρωτεΐνης HuR (Muralidharan R, et al., J Nanobiotechnology. 2016). Ένα παρόμοιο προϊόν (Den-PEI-CDDP-siRNA-FA) παρασκευάστηκε για φαρμακευτική χρήση και αποδείχθηκε αποτελεσματικό σε κυτταρικές σειρές MMKII (H1299 και A549) παρουσιάζοντας μειωμένη τοξικότητα σε κυτταρική σειρά φυσιολογικών ινοβλαστών πνεύμονα (MRC9) (Ahmed R, et al., 2019).

Σε αυτό το πλαίσιο, μελλοντικές μελέτες πρέπει να προσανατολιστούν στην ανακάλυψη, ανάπτυξη και αξιολόγηση ειδικών HuR φαρμάκων-στόχων σε διάφορα καρκινώματα, συμπεριλαμβανομένου του MMKII.

Εν κατακλείδι, η παρούσα μελέτη υποστήριξε τις πιθανές κλινικές ενδείξεις για συμμετοχή της πρωτεΐνης HuR στους βιολογικούς μηχανισμούς και την εξέλιξη του MMKII. Η έκφραση της πρωτεΐνης HuR, ανεξάρτητα από την ενδοκυτταρική εντόπιση της, συσχετίστηκε με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους ζωτικής σημασίας για τη διαχείριση των ασθενών, συνδέεται δε με την επιβίωση των ασθενών. Περαιτέρω μελέτες για την έκφραση της πρωτεΐνης HuR σε σχέση με σύγχρονες στοχευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις στο MMKII σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών καθώς και έρευνα για τους μηχανισμούς αναστολής της θα βοηθούσε στην αξιολόγηση της κλινικής χρησιμότητας της ως πιθανού θεραπευτικού στόχου σε αυτόν τον τύπο νεοπλασίας.

Drugs	Target	Cell line	References
CMLD-2, a small-molecule inhibitor directed against HuR	HuR	H1299, A549, HCC827, H1975 MRC-9 and CCD-16 normal human fibroblasts	Muralidharan R., et al., (2017)
Den-PEI-CDDP-siRNA-FA	HuR	H1299 A549	Ahmed R., et al. , 2019 ; Muralidharan R, et al., 2016
HuR-TfNP	HuR	A549 και HCC827	Muralidharan R, et al., 2017

ΠΙΝΑΚΑΣ 12: Επίδραση παραγόντων που τροποποιούν και καταστέλουν τη δράση της πρωτεΐνης HuR σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του πνεύμονα και αναστέλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Theocharis S, et al., unpublished data)

4. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πρωτεΐνη HuR, μία συνδεδεμένη πρωτεΐνη με το RNA, θεωρείται ότι διαδραματίζει ένα κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου, σταθεροποιώντας ή ρυθμίζοντας μία ομάδα mRNAs που σχετίζονται με γονίδια που συνδέονται με τον καρκίνο, όπως η COX-2. Η παρούσα μελέτη έχει σαν στόχο να αξιολογήσει την κλινική σημασία της έκφρασης της πρωτεΐνης HuR και του ενζύμου COX-2 στο ΜΜΚΠ.

Η έκφραση της πρωτεϊνών HuR και COX-2 εκτιμήθηκε ανοσοϊστοχημικά σε ιστολογικές τομές, μονιμοποιημένων με φορμόλη και εγκλεισμένων σε παραφίνη μικροσυστοιχιών ιστολογικών παρασκευασμάτων προερχόμενων από 81 ασθενείς με ΜΜΚΠ. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στατιστικά με τις κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και την συνολική επιβίωση των ασθενών.

Τα υψηλά επίπεδα έκφρασης της συνολικής πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκαν θετικά με τον ιστολογικό τύπο, την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων, τον αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και την πτωχή επιβίωση των ασθενών ($p=0.039$, $p=0.017$, $p=0.033$, και $p=0.022$, αντίστοιχα). Η υψηλή έκφραση της πρωτεΐνης COX-2 συσχετίστηκε θετικά με την παρουσία λεμφαγγειακής διήθησης και με τον αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων ($p=0.031$ και $p=0.023$, αντίστοιχα). Η ταυτόχρονη έκφραση των πρωτεϊνών HuR και COX-2 συσχετίστηκε θετικά με τον ιστολογικό τύπο και τον αυξημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων ($p=0.002$ και $p=0.045$, αντίστοιχα). Τα αυξημένα επίπεδα έκφρασης της συνολικής και της κυτταροπλασματικής πρωτεΐνης HuR συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά με την έκφραση της πρωτεΐνης COX-2 ($p=0.015$ και $p=0.001$, αντίστοιχα).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποστηρίζουν ότι η πρωτεΐνη HuR συμμετέχει στην εξέλιξη του ΜΜΚΠ, ενισχύοντας τον δυνητικό της ρόλο ως πολλά υποσχόμενου θεραπευτικού στόχου στη αντιμετώπιση αυτού του τύπου νεοπλασίας.

5. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Hu-antigen R (HuR) is considered to play a central role in tumor formation, growth, and metastasis by binding to messenger RNAs (mRNAs) encoding proteins such as cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducing their expression via mRNA stabilization and/or altered translation. The present study aimed to evaluate the clinical significance of HuR and COX-2 protein expression in non-small-cell lung carcinoma (NSCLC). HuR and COX-2 expression was assessed immunohistochemically on tissue microarrays of 81 surgically resected NSCLC and was analyzed in relation with clinico- pathological characteristics and patients' survival. Enhanced total HuR expression was significantly associated with tumor histological type and presence of lymph node metastases, as well as with increased tumor proliferative capacity and poor patients' outcome ($p=0.039$, $p=0.017$, $p=0.033$, and $p= 0.022$, respectively). Enhanced COX-2 expression was significantly associated with the presence of lymphovascular invasion and increased tumor proliferative capacity ($p = 0.031$ and $p = 0.023$, respectively). Concomitant elevated HuR/ COX-2 expression levels were significantly associated with tumor histological type and increased proliferative capacity ($p = 0.002$ and $p = 0.045$, respectively). Enhanced total HuR expression, as well as its cytoplasmic localization, was significantly associated with increased COX-2 expression ($p = 0.015$ and $p = 0.001$, respectively). The present study supported evidence that HuR may participate in malignant transformation of NSCLC, reinforcing its usefulness as potential therapeutic target in this type of neoplasia.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdelmohsen K, Lal A, Kim HH, Gorospe M. Posttranscriptional orchestration of an anti-apoptotic program by HuR. *Cell Cycle*. 2007; 6:1288–92
- Abdelmohsen K, Pullmann Jr R, Lal A, Kim HH, Galban S, Yang X, et al . Phosphorylation of HuR by Chk2 regulates SIRT1 expression. *Mol Cell* 2007; 25: 543–57
- Abdelmohsen K, Srikantan S, Kuweno Y, Gorospe M. miR-519 reduces cell proliferation by lowering RNA-binding protein HuR levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 20297-302
- Abdelmohsen, K., Srikantan S, Yang X, Lal A, Kim HH, Kuwano Y, et al., Ubiquitin-mediated proteolysis of HuR by heat shock. *EMBO J* 2009; 28:1271-82
- Ahmed R, Amreddy N, Babu A, Munshi A, Ramesh R. Combinatorial Nanoparticle Delivery of siRNA and Antineoplastics for Lung Cancer Treatment Methods *Mol Biol* 2019; 1974:265- 90
- Akool el, S, Kleinert H, Hamada FMA, Abdelwahab MH, Foerstermann U, Pfeilschifter J et al., Nitric oxide increases the decay of matrix metalloproteinase 9 mRNA by inhibiting the expression of mRNA-stabilizing factor HuR. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 4901-16
- Albanes D. Beta carotene and lung cancer: a case study. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1345S-50S
- Anantharaman D, Gheit T, Waterboer T, Halec G, Carreira C, Abedi-Arkendani B, et al. No casual association identified for human papillomavirus infections in lung cancer. *Cancer Res* 2014; 74:3525-34
- Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Scotti L, Jenab M, Bellocco R, et al., Alcohol consumption and lung cancer risk in never smokers: a meta-analysis. *Ann Oncol* 2011; 22:2631-9
- Bailey-Wilson JE, Sellers TA, Elston RC, Evens CC, Rothschild H. Evidence for a major gene effect in early-onset lung cancer. *J La State Med Soc* 1993; 145:157-62
- Bandera EV, Freudenheim JL, Vena JE. Alcohol consumption and lung cancer: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10:813-21
- Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. Global Epidemiology of Lung Cancer. *Ann Glob Health*. 2019; 85: 8
- Battafarano RJ, Fernandez FG, Ritter J, Meyers BF, Guthrie TJ, Cooper JD, et al., Large cell neuroendocrine carcinoma: an aggressive form of non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005; 130:166-72
- Boffetta P. Human cancer from environmental pollutants: the epidemiological evidence. *Mutat Res* 2006; 608:157-62

- Brambilla C, Laffaire J, Lantuejoul S, Moro-Sibilot D, Mignotte H, Arbib F, et al. Lung squamous cell carcinomas with basaloid histology represent a specific molecular entity. *Clin Cancer Res* 2014; 20:5777-86
- Brennan CM and Steitz JA. HuR and mRNA stability. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58:266-77
- Burd CG, Dreyfuss G. Conserved structures and diversity of functions of RNA-binding proteins. *Science*. 1994; 265:615-21
- Cabilla JP, Nudler SI, Ronchetti SA, Quinteros FA, Lasaga M, Duvilanski BH. Nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase is differentially regulated by nuclear and non-nuclear estrogen pathways in anterior pituitary gland. *PLoS One* 2011; 6:e29402
- Carlson ES, Upadhyaya P, Villalta PW, Ma B, Hecht SS. Analysis and identification of 2'-Deoxyadenosine-Derived Adducts in Lung and Liver DNA of F-344 rats treated with the tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamine)-1-(3pyridyl)-1-butanone and enantiomers of its metabolite 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol. *Chem Res Toxicol* 2018; 31:358-70
- Cho JH, Hong WG, Jung YJ, Lee J, Lee E, Hwang SG, et al., Gamma ionizing radiation-induced activation of the EGFR-p38/ERK-STAT3/CREB-1-EMT pathway promotes the migration / invasion of non small cell lung cancer cells and is inhibited by podophyllotoxin acetate. *Tumor Biol* 2016; 37:7315-25
- Conde E, Angulo B, Izquierdo E, Paz-Ares L, Belda-Iniesta C, Hidalgo M, et al., Lung adenocarcinoma in the era of targeted therapies: histological classification, sample prioritization, and predictive biomarkers. *Clin Transl Oncol* 2013; 15:503-8
- Costantino CL, Witkiewicz AK, Kuwano Y, Cozzittorto JA, Kennedy EP, Dasgupta A, et al. The role of HuR in gemcitabine efficacy in pancreatic cancer: HuR up-regulates the expression of the gemcitabine metabolizing enzyme deoxycytidine kinase. *Cancer Res* 2009; 69:4567– 72
- Denholm R, Schuz J, Straif K, Stucker I, Jockel KH, Brenner DR, et al., Is previous respiratory disease a risk factor for lung cancer? *Am J Respir Crit Care Med* 2014; 190:549-59
- Drilon A, Cappuzzo F, Ou SI, Camidge DR. Targeting MET in Lung Cancer: Will Expectations Finally Be MET? *J Thorac Oncol* 2017; 12:15-26
- Fan XC, Steitz JA. Overexpression of HuR, a nuclear-cytoplasmic shuttling protein, increases the in vivo stability of ARE-containing mRNAs. *EMBO J* 1998; 17:3448-60
- Fan XC, Steitz JA. HNS, a nuclear-cytoplasmic shuttling sequence in HuR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:15293–8
- Ferrer J, Zugazagoita J, Herberth S, John W, Paz-Ares L, Schmid-Bindert G. KRAS-Mutant non-

- small cell lung cancer: From biology to therapy. *Lung Cancer* 2018; 124:53-64
- Filippova N, Yang X, Wang Y, Gillespie Y, Langford C, King PH, et al. The RNA-binding protein HuR promotes glioma growth and treatment resistance. *Mol Cancer Res.* 2011; 9:648–59
- Filosso PI, Rena O, Guerrera F, Moreno Casado P, Sagan D, Raveglia F, et al., Clinical management of atypical carcinoid and large-cell neuroendocrine carcinoma: a multicenter study on behalf of the European Association of Thoracic Surgeons (ESTS) Neuroendocrine Tumours of the Lung Working Group. *Eur J Cardiothorac Surg* 2015; 48:55-64
- Fink G, Krelbaum T, Yellin A, Bendayan D, Saute M, Glazer M, et al., Pulmonary carcinoid: presentation, diagnosis and outcome in 142 cases in Israel and review of 640 cases from the literature. *Chest* 2001; 119:1647-51
- Fitzgibbons PL, Kern WH. Adenosquamous carcinoma of the lung: a clinical and pathologic study of seven cases. *Hum Pathol* 1985; 16:463-6
- Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Mandal SC. COX-2 as a target for cancer chemotherapy. *Pharmacol Rep* 2010; 62:233-44
- Giaginis C, Politi E, Alexandrou P, Sfiniadakis J, Kouraklis G, Theocharis S. Expression of peroxisome proliferator activated receptor-gamma (PPAR- γ) in human non-small cell lung carcinoma: correlation with clinicopathological parameters, proliferation and apoptosis related molecules and patients' survival. *Pathol Oncol Res.* 2012; 18:875-83
- Giaginis C, Alexandrou P, Delladetsima I, Giannopoulou I, Patsouris E, Theocharis S. Clinical significance of histone deacetylase (HDAC)-1, HDAC-2, HDAC-4, and HDAC-6 expression in human malignant and benign thyroid lesions. *Tumour Biol* 2014; 35:61-71
- Giaginis C, Alexandrou P, Delladetsima I, Karavokyros I, Danas E, Giagini A, et al., Clinical Significance of Hu-Antigen Receptor (HuR) and Cyclooxygenase-2 (COX-2) Expression in Human Malignant and Benign Thyroid Lesions. *Pathol Oncol Res* 2016; 22:189-96
- Denholm R, Scuez J, Straif K, Ali FM, Bones F, Gjbrea O et al., Environmental carcinogen exposure and lifestyle factors affecting cancer risk in Qatar findings from a qualitative review. *East Mediterr Health J* 2016 ; 22:219-27
- Gilles C, Polette M, Birembaut P, Brunner N, Thompson EW. Expression of c-ets-1 mRNA is associated with an invasive, EMT-derived phenotype in breast carcinoma cell lines. *Clin Exp Metastasis* 15: 519-526, 1997b.
- Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WE et al., The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage

Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2016; 11:39-51

- Gotts JE, Jordt SE, McConnell R, Tarran R. What are the respiratory effects of e-cigarettes?
BMJ 2019; 366:15275
- Greene FLPD, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, Morrow M. AJCC cancer staging manual. 6th ed. New York: Springer; 2002.
- Guertin KA, Freedman ND, Loftfield E, Graubard BI, Caporaso NE, Sinha R. Coffee consumption and incidence of lung cancer in the NIH-AARP Diet and Health study. *Int J Epidemiol* 2016; 45:929-39
- Hackshaw AK, Law MR, Wald NJ. The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. *BMJ* 1997; 315:980-8
- Hayashi T, Sano H, Egashira R, Tabata K, Tanaka T, Nakayama T, et al., Difference of morphology and immunophenotype between central and peripheral squamous cell carcinomas of the lung. *Biomed Res Int.* 2013; 2013:157838
- Hensing T, Chawla A, Batra R, Salgia R. A personalized treatment for lung cancer: molecular pathways, targeted therapies, and genomic characterization
Adv Exp Med Biol 2014; 799:85-117
- Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med* 2008; 359:1367-80
- Herr C, Greulich T, Koczulla RA, Meyer S, Zakharkina T, Branscheidt M, et al., The role of vitamin D in pulmonary disease: COPD, asthma, infection and cancer. *Respir Res* 2011; 12:31
- Hong S, Mok Y, Jeon C, Jee SH, Samet JM. Tuberculosis, smoking and risk for lung cancer incidence and mortality. *Int J Cancer* 2016; 139:2447-55
- Hostetter C, Licata LA, Witkiewicz A, Constantino CL, Yeo CL, Brody J, et al. Cytoplasmic accumulation of the RNA binding protein HuR is central to tamoxifen resistance in estrogen receptor positive breast cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2008; 7:1496-506
- Huang RY, Li SS, Guo HZ, Huang Y, Zhang X, Li M-Y, et al. Thromboxane A2 exerts promoting effects on cell proliferation through mediating cyclooxygenase-2 signal in lung adenocarcinoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014; 140:375-86
- Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis. A population-based cohort study. *Am J Resp Cri Care Med* 2000; 161:5-8
- Karachaliou N, Mayo C, Costa C, Margi I, Gimenez-Capitan A, Molina-Vila MA, et al., KRAS mutations in lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2013; 14:205-14
- Katsanou V, Papadaki O, Milatos S, Blackshear PJ, Anderson P, Kollias G, et al., HuR as a negative posttranscriptional modulator in inflammation. *Mol Cell* 2005; 19:777-89
- Keene JD. Why is Hu where? Shuttling of early-response-gene messenger RNA subsets. *Proc Natl*

Acad Sci USA 1999; 96:5-7

- Khan Z, Khan N, Tiwari RP, Sah NK, Prasad GB, Bisen PS. Biology of Cox-2: an application in cancer therapeutics. *Curr Drug Targets* 2011; 12:1082-93
- Kim GY, Lim SJ, Kim YW. Expression of HuR, COX-2 and surviving in lung cancers: cytoplasmic HuR stabilizes COX-2 in squamous cell carcinomas. *Mod Pathol* 2011; 24:1336-47
- Kirk GD, O'Driscoll P, Merlo C, Mehta SH, Galai N, Vlachov D, et al., HIV infection is associated with an increased risk for lung cancer, independent of smoking. *Clin Infect Dis* 2007; 45:103-10
- Kontakiotis T, Manolakoglou N, Zogloritis F, Iakovidis D, Sacas L, Papagiannis A, et al., Epidemiologic trends in Lung Cancer over two decades in Northern Greece: an analysis of bronchoscopic data. *Monaldi Arch Chest Dis* 2009; 71:147-52
- Kotta-Loizou I, Giaginis C, Theocharis S. Clinical significance of HuR expression in human malignancy. *Med Oncol* 2014; 31:161
- Kotta-Loizou I, Vasilopoulos SN, Coutts RH, Theocharis S. Current Evidence and Future Perspectives on HuR and Breast Cancer Development, Prognosis, and Treatment. *Neoplasia* 2016; 18:674-688
- Kullmann M, Gopfert U, Siewe B, Hengst L. ELAV/Hu proteins inhibit p27 translation via an IRES element in the p27 5'UTR. *Genes Dev* 2002; 16:3087-99
- Lababede O, Meziane M, Rice T. Seventh edition of the cancer staging manual and stage grouping of lung cancer: quick reference chart and diagrams. *Chest*. 2011; 139:183-9
- Lam TK, Gallicchio L, Lindsley K, Shiels M, Hammond E, Tao XG, et al., Cruciferous vegetable consumption and lung cancer risk: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18:184-95
- Lauriola L, Granone P, Ramella S, Lanza P, Ranelletti FO. Expression of the RNA-binding protein HuR and its clinical significance in human stage I and II lung adenocarcinoma. *Histol Histopathol*. 2012; 27:617-26
- Levidou G, Kotta-Loizou I, Tasoulas J, Papadopoulos T, Theocharis S. Clinical significance and biological Role of HuR in head and neck carcinogenesis. *Dis Markers* 2018; 2018:4020937
- Levine TD, Gao F, King PH, Andrews LG, Keene JD. *Hel-N1*: an autoimmune RNA-binding protein with specificity for 3' uridylylate-rich untranslated regions of growth factor mRNAs. *Mol Cell Biol* 1993; 13:3494-3504
- Lewis DR, Check DP, Caporaso NE, Travis WD, Devesa SS. US lung cancer trends by histologic type. *Cancer* 2014; 120:2883-92

- Li W, Zhang M, Huang C, Meng J, Yin X, Sun G. Genetic Variants of DNA repair pathway genes on lung cancer risk. *Pathol Res Pract* 2019; 215:152548
- Lin HH, Murray M, Cohen T, Colijn C, Ezzati M. Effects of smoking and solid-fuel use on COPD, lung cancer, and tuberculosis in China: a time-based, multiple risk factor, modeling study. *Lancet* 2008; 372:1473-83
- Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, et al., Molecular testing guidance for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the college of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2013; 137:828-60
- Littman AJ, Jackson LA, Vaughan TL. Chlamydia pneumoniae and lung cancer: epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14:773-8
- Litzky LA. Pulmonary Neuroendocrine Tumors. *Surg Pathol Clin* 2010; 3:27-59
- Liu X, Wang P, Zhang C, Ma Z. Epidermal growth factor receptor (EGFR): A rising star in the era of precision medicine of lung cancer. *Oncotarget.* 2017; 8:50209-20
- Lopez de Silanes I, Zhan M, Lal A, Yang X, Gorospe M. Identification of a target RNA motif for RNA-binding protein HuR. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:2987-92
- Lopez de Silanes I, Lal A, Gorospe M. HuR: post-transcriptional paths to malignancy. *RNA Biol* 2005; 2:11-13
- Lorenzo Bermejo J, Hemminki K. Familial lung cancer and aggregation of smoking habits: a simulation of the effect of shared environmental factors on the familial risks of cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14:1738-40
- Ma WJ, Cheng S, Campbell C, Wright A, Furneaux H. Cloning and characterization of HuR, a ubiquitously expressed Elav-like protein. *J Biol Chem* 1996; 271:8144-51
- Ma WJ, Furneaux H. Localization of the human HuR gene to chromosome 19p13.2. *Hum Genet* 1997; 99:32-3
- Malhotra J, Malvezzi M, Negri E, La Vecchia C, Boffetta P. Risk factors for lung cancer worldwide. *Eur Respir J* 2016; 8:889-902
- Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF Jr, Nelson CE, Kim DH, et al., Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas and other neoplasms. *Science* 1990; 250:1233-8
- Marshall AL, Christiani DC. Genetic susceptibility to lung cancer—light at the end of the tunnel? *Carcinogenesis* 2013; 34:487-502

- Martin LW, Correa AM, Ordonez NG, Roth JA, Swisher SG, Vaporciyan AA, et al. *Ann Thorac Surg* 2007; 84:973-80
- Mazan-Mamczarz K, Galban S, Lopez de Silanes I, Martindale JL, Atasoy U, Keene JD, et al., RNA-binding protein HuR enhances p53 translation in response to ultraviolet light irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:8354-9
- Mazroui R, Di Marco S, Clair E, von Roretz C, Tenenbaum S, Keene J, et al., Caspase-mediated cleavage of HuR in the cytoplasm contributes to pp32/PHAP-I regulation of apoptosis. *J Cell Biol* 2008; 180:113-27
- McAllister F, Pineda DM, Jimbo M, Lal S, Burkhart R, Moughan J, et al. dCK expression correlates with 5-fluorouracil efficacy and HuR cytoplasmic expression in pancreatic cancer: A dual-institutional follow-up with the RTOG 9704 trial. *Cancer Biol Ther* 2014; 15:688-98
- Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016; 66:271-89
- Miranda O, Farooqui M, Siegfried JM. Status of Agents Targeting the HGF/c-Met Axis in Lung Cancer *Cancers (Basel)* 2018;10:280
- Mondant P, Grand B, Cazes A, Foucault C, Dujon A, Le Pimpec Barthes F, et al., Adenosquamous carcinoma of the lung: surgical management, pathologic characteristics, and prognosis implications. *Ann Thorac Surg* 2013; 95:1189-95
- Munfus-McCray D, Harada S, Adams C, Askin F, Clark D, Gabrielson E, et al., EGFR and KRAS mutations in metastatic lung adenocarcinomas. *Human Pathol* 2011; 42:1447-53
- Muralidharam R, Babu A, Amreddy N, Basalingappa K, Mehta M, Chen A, et al., Folate receptor- targeted nanoparticle delivery of HuR-RNAi suppresses lung cancer cell proliferation and migration. *J Nanobiotechnology* 2016; 14:47
- Muralidharan R, Babu A, Amreddy N, Srivastava A, Chen A, Zhao Y-D, et al., Tumor-targeted Nanoparticle Delivery of HuR siRNA Inhibits Lung Tumor Growth In Vitro and In Vivo By Disrupting the Oncogenic Activity of the RNA-binding Protein HuR. *Mol Cancer Ther* 2017; 16 :1470-86
- Musolf AM, Simpson CL, de Andrade M, Mandal D, Gaba C, Yang P, et al., Familial lung cancer: a brief history from the earliest work to the most recent studies. *Genes (Basel)* 2017;8:36
- Myer VE, Fan XC, Steitz JA. Identification of HuR as a protein implicated in AUUUA-mediated mRNA decay. *EMBO J* 1997; 16:2130-9
- Nair A, Klusmann MJ, Jogevaran KH, Grubnic S, Green SJ, Vlahos I. Revisions to the TNM Staging of Non-Small Cell Lung Cancer: Rationale, Clinicoradiologic Implications, and

- Persistent Limitations. *Radiographics* 2011; 31:215-38
- Nitadori J, Bograd AJ, Kadota K, Sima CS, Rizk NP, Morales EA, et al. Impact of micropapillary histologic subtype in selecting limited resection vs lobectomy for lung adenocarcinoma of 2 cm or smaller. *J Natl Cancer Inst.* 2013; 105:1212-20
- Nonaka D. A study of Delta Np63 expression in lung non-small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2012; 36:895-9
- Osmani L, Askin F, Gabrielson E, Li QK. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): Moving from targeted therapy to immunotherapy. *Semin Cancer Biol.* 2018; 52:103-9
- Pao W, Girard N. New driver mutations on non small cell lung cancer. *Lancet Oncol.* 2011; 12:175-80
- Paraschiv B, Diaconu CC, Toma CL, Bogdan MA. Paraneoplastic syndromes: the way to an early diagnosis of lung cancer. *Pneumologia* 2015; 64:14-9
- Pelosi G, Rodriguez J, Viale G, Rosai J. Typical and atypical pulmonary carcinoid tumor overdiagnosed as small cell carcinoma on biopsy specimens: a major pitfall in the management of lung cancer patients. *Am J Surg Pathol* 2005; 29:179-87
- Peng SS, Chen CY, Xu N, Shyu AB. RNA stabilization by the AU-rich element binding protein HuR, an ELAV protein. *EMBO J* 1998;17:3461-70
- Planchard D, Le Pechoux C. Small cell lung cancer: new clinical recommendations and current status of biomarker assessment. *Eur J Cancer* 2011; 47Suppl 3:S272-82
- Ploenes T, Engel-Riedel W, Stoelben E, Limmroth C, et al., Schildgen V. *SchildgMolecular Pathology and Personalized Medicine: The Dawn of a New Era in Companion Diagnostics—Practical Considerations about Companion Diagnostics for Non-Small-Cell- Lung-Cancer.* *J Pers Med* 2016; 6: 3
- Qian L, Ji A-H, Zhang W-J, Zhao N. HuR, TTP, and miR-133b expression in NSCLC and their association with prognosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018; 22:430-42
- Rachiotis G, Barbouni A, Katsioulis A, Antoniadou E, Kostikas K, Merakou K, et al., Prevalence and determination of current and second hand smoking in Greece: results from Global Adult Tobacco Survey (GATS) study. *BMJ Open* 2017; 7:e013150
- Ratajczak A, Feleszko W, Smith DM, Goniewicz M. How close are we to definitively identifying the respiratory health effects of e-cigarettes? *Expert Rev Respir Med* 2018; 12:549-56
- Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134:1628-38

- Rhee WJ, Ni CW, Zheng Z, Chang K, Jo H, Bao G. HuR regulates the expression of stress-sensitive genes and mediates inflammatory response in human umbilical vein endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107:6858-63
- Sano H, Marugame T. International comparisons of cumulative risk of lung cancer, from cancer incidence in five continents Vol VIII. *Jpn J Ckin Oncol* 2006; 36:334-5
- Santillan AA, Camargo CA Jr, Golditz GA. A meta-analysis of asthma and risk of lung cancer (United States). *Cancer Causes Control* 2003; 14:327-34
- Santos GC, Shepherd FA, Tsao MS. EGFR mutations and lung cancer. *Annu Rev Pathol* 2011; 6:49-69
- Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, Jaenne PA. The biology and treatment of EMLA4 ALK non small cell lung carcinoma. *Eur J Cancer* 2010; 46:1773-80
- Selvaggi G, Scagliotti GV. Histologic subtype in NSCLC: does it matter? *Oncology (Williston Park)* 2009; 23:1133-40
- Sengupta S, Jang B-C, Wu M-T, Paik J-H, Furneaux H, Hla T. The RNA-binding protein HuR regulates the expression of cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2003; 278:25227-33
- Seo J-S, Ju Y-S, Lee W-C, Shin J-Y, Lee J-K, Bleazard T, et al. The transcriptional landscape and mutational profile of lung adenocarcinoma. *Genome Res* 2012;22:2109-2119
- Shahadin MS, Ab Mutalib NS, Latif MT, Greene CM, Hassan T. Challenges and future direction of molecular research in air pollution-related lung cancers. *Lung Cancer* 2018; 118:69-75
- Shaw AT, Engelman JA. ALK in lung cancer: past, present and future. *J Clin Oncol.* 2013; 31:1105-11
- Sifaki-Pistola D, Lionis C, Georgoulas V, Kyriakidis P, Koinis F, Affelaki S, et al. Lung Cancer and tobacco smoking in Crete, Greece: reflections from a population-based cancer registry from 1992-2013. *Tob Induc Dis* 2017;15:6
- Simone LE, Keene JD. Mechanisms coordinating ELAV/Hu mRNA regulons. *Curr Opin Genet Dev* 2013; 23:35-43
- Sinha R, Kulldorff M, Curtin J, Brown CC, Alavanja MC, Swanson CA. Fried well-done red meat and risk of lung cancer in women (United States). *Cancer Causes Control* 1998; 9:621-30
- Sinha R, Kulldorff M, Swanson CA, Curtin J, Brownson RC, Alavanja MC. Dietary heterocyclic amines and the risk of lung cancer among the Missouri women. *Cancer Res* 2000; 60:3753- 6
- Smith-Wagner SA, Ritz J, Hunter DJ, Albanes D, Beeson WL, van den Brandt PA, et al., Dietary fat and risk of lung cancer in a pooled analysis of prospective studies. *Cancer epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11:987-92

- Srikantan S, Gorospe M (2012) HuR function in disease. *Front Biosci (Landmark Ed)* 17:189-205
- Stoppoloni D, Cardillo I, Verdina A, Vincenzi B, Menegozzo S, Santini M, et al. Expression of the embryonic lethal abnormal vision-like protein HuR in human mesothelioma: association with cyclooxygenase-2 and prognosis. *Cancer* 2008; 113:2761-9
- Suda K, Tomizawa K, Mitsudomi T. Biological and clinical significance of KRAS mutations in lung cancer: an oncogenic driver that contrasts with EGFR mutation *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29:49-60
- Theocharis S, Klijanienko J, Giaginis C, Alexandrou P, Patsouris E, Sastre-Garau X. FAK and Src expression in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients survival. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138:1369-77
- Theocharis S, Klijanienko J, Giaginis C, Rodriguez J, Jouffroy T, Girod A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients survival. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011; 137: 251-9
- Tochigi N, Dacic S, Nikiforova M, Ciepły KM, Yousem SA. Adenosquamous carcinoma of the lung: a microdissection study of KRAS and EGFR mutational and amplification status in a western patient population. *Am J Clin Pathol* 2011; 135:783-9
- Tomasini P, Walia P, Labbe C, Jao K, Leighl NB. Targeting KRAS pathway in non small cell lung cancer. *Oncologist*. 2016; 21:1450-60
- Travis WD. Pathology of lung cancer. *Clin Chest Med*. 2011; 32:669-92
- Travis WD, Brambilla E, Riely GJ. New pathologic classification of lung cancer: relevance for clinical practice and clinical trials. *J Clin Oncol* 2013; 31:992-1001
- Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since 2004 Classification. *J Thorac Oncol* 2015; 10:1243-60
- Tsumida H, Nomoto M, Goto M, Kitajima S, Kubota I, Hirotsu Y, et al., A micropapillary pattern is predictive of a poor prognosis in lung adenocarcinoma, and reduced surfactant apoprotein A expression in the micropapillary pattern is an excellent indicator of a poor prognosis. *Mod Pathol* 2007; 20:638-47
- Tu HY, Ke EE, Yang JJ, Sun YL, Yan HH, Zheng MY, et al. A comprehensive review of uncommon EGFR mutations in patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2017; 114:96-102
- Xu H, Ma J, Zheng J, Wu J, Qu C, Sun F, Xu S. MiR-31 Functions as a Tumor Suppressor in Lung

- Adenocarcinoma Mainly by Targeting HuR. *Clin Lab* 2016; 62:711-8
- Yanagawa N, Shiono S, Abiko M, Ogata SY, Sato T, Tamura G. New IASLC/ATS/ERS classification and invasive tumor size are predictive of disease recurrence in stage I lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2013; 8:612-8
- Yiakouvaki A, Dimitriou M, Karakasiliotis I, Eftychi C, Theocharis S, Kontoyiannis DL. Myeloid cell expression of the RNA-binding protein HuR protects mice from pathologic inflammation and colorectal carcinogenesis. *J Clin Invest*. 2012; 122:48-61
- Yoshizawa A, Motoi N, Rielhy GJ, Sima CS, Gerald WL, Kris MG, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Modern Pathol* 2011; 24:653-64
- Young LE, Moore AE, Sokol L, Meisner-Kober N, Dixon DA. The mRNA stability factor HuR inhibits microRNA-16 targeting of COX-2. *Mol Cancer Res*. 2012; 10:167-80
- Yuan Z, Sanders AJ, Ye L, Jiang WG. HuR, a key post-transcriptional regulator, and its implication in progression of breast cancer. *Histol Histopathol*. 2010; 25:1331-40
- Vieira AR, Abar L, Vingeliene S, Chan DS, Auene D, Navarro-Rosenblatt D, et al. Fruits, vegetables and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol* 2016; 27:81-96
- Vineis P, Airoldi L, Veflia F, Olgiati L, Pastorelli R, Autrup H, et al. Environmental tobacco smoke and risk of respiratory cancer and chronic obstructive pulmonary disease in former smokers and never smokers in EPIC prospective study. *BMJ* 2005; 330(7486):277
- Wang DC, Wang W, Zhu B, Wang X. Lung Cancer Heterogeneity and New Strategies for Drug Therapy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2018; 58:531-46
- Wang J, Wang B, Bi J, Zhang C. Cytoplasmic HuR expression correlates with angiogenesis, lymphangiogenesis, and poor outcome in lung cancer. *Med Oncol* 2011; 28:S577-85
- Wang J, Guo Y, Chu H, Guan Y, Bi J, Wang B. Multiple functions of the RNA-binding protein HuR in cancer progression, treatment responses and prognosis. *Int J Mol Sci* 2013; 14:10015-41
- Wang W, Caldwell MC, Lin S, Furneaux H, Gorospe M. HuR regulates cyclin A and cyclin B1 mRNA stability during cell proliferation. *EMBO J* 2000; 19: 2340-50
- Ward RC, Tanner NT, Silvestri GA, Gebregziabher M. Impact of tobacco dependence in risk prediction models of lung cancer diagnosis and deaths. *JNCI Cancer Spectr* 2019; 3:pkz014
- Whitrow MJ, Smith BJ, Pilotto LS, Pisaniello D, Nitschke M. Environmental exposure to

- carcinogens causing lung cancer: epidemiological evidence from the medical literature. *Respirology* 2003; 8:513-21
- Williams TK, Costantino CL, Bildzukewicz NA, Richards NG, Rittenhouse DW, Einstein L, et al. pp32 (ANP32A) expression inhibits pancreatic cancer cell growth and induces gemcitabine resistance by disrupting HuR binding to mRNAs. *PLoS One* 2010; 5:e15455
- Wu J-I, Lin Y-P, Tseng C-W, Chen HJ, Wang L-H. Crabp2 Promotes Metastasis of Lung Cancer Cells via HuR and Integrin b1/FAK/ERK Signaling. *Sci Rep* 2019; 29:9:845
- Zhang J, Modi Y, Yarovinsky T, Yu J, Collinge M, Kyriakides T, et al. Macrophage beta2 integrin- mediated, HuR-dependent stabilization of angiogenic factor-encoding mRNAs in inflammatory angiogenesis. *Am J Pathol* 2012; 180:1751-60
- Zhang J, Bai R, Yi X, Yang Z, Liu X, Zhou J, et al., Fully automated analysis of four tobacco-specific N-nitrosamines in mainstream cigarette smoke using two dimensional online solid phase extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 2016; 146:216-24
- Zhang Y, Yang L, Ling C, Heng W. HuR facilitates cancer stemness of lung cancer cells via regulating miR-873/CDK3 and miR-125a-3p/CDK3 axis *Biotechnol Lett* 2018; 40:623-31
- Zheng M. Classification and Pathology of Lung Cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2016; 25:447-68
- Zhu H, Zhou HL, Hasman RA, Lou H. Hu proteins regulate polyadenylation by blocking sites containing U-rich sequences. *J Biol Chem* 2007; 282:2203-10

