



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Α.Χ. ΛΑΖΑΡΗΣ

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ
ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ (MSI) ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ
ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΚΑΤΑΦΥΓΙΩΤΗΣ ΠΑΤΡΟΚΛΟΣ

Ιατρός Παθολογοανατόμος

ΑΘΗΝΑ 2020

Ημερομηνία αίτησης για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής: 05/11/08

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής: 10/04/09

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή:

Π. Κορκολοπούλου, Καθηγήτρια

Α. Α. Σαέττα, Αν. Καθηγήτρια

Ε. Πατσούρης, Ομ. Καθηγητής

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Π. Κορκολοπούλου, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 11/05/09

Ημερομηνία κατάθεσης διατριβής: 18/09/19

Μέλη επταμελούς Επιτροπής:

Π. Κορκολοπούλου Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Α.Α. Σαέττα Αν. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ε. Πατσούρης Ομ. Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ν. Καβαντζάς Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Α. Νόννη Αν. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ε. Θυμαρά Επ. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Σ. Σακελλαρίου Επ. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Π. Σφηκάκης Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Βαθμός με τον οποίο έγινε αποδεκτή η διατριβή:

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὁμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἱστορας ποιέμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃω κατὰ δύναμιν καὶ κρίσῃω ἐμῇν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε, ἠγγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησῃω ἐμοίσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηζῖοντι μετάδοσῃω ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ αὐτέου ἀδελφοῖσι ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξῃω τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηζῖωσι μαιθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελῆς τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσῃω ποιήσασθαι υἱοῖσι τε ἐμοίσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμῆ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισι τε καὶ ὠρκισμένοισι νόμῃω ἰητρικῃω, ἄλλω δὲ οὐδενί. Διαιτήμασι τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσῃω ἐμῇν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικῇ εἴρξῃω. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθῆῃς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηγήσομαι ξυμβουλήν τοιήνδε, ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὰ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνώως δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμῇν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μῆν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησῃω ἀνδράσι πρήξιω τήσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ἀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὰν πάσης ἀδικῆς ἐκουσίης καὶ φθορής, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σαμμάτων καὶ ἀνδράων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἦ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγγέμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὁρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγχεόντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῃω παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποισι ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον, παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιορκοῦντι, τὰ ναντία τουτέων

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: Πάτροκλος Καταφυγιώτης

ΓΕΝΝΗΣΗ: 25-08-1976 Αθήνα

E-MAIL: patlamkat@yahoo.gr

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ: ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ άδεια άσκησης 14/5/2010

ΑΝΩΤΑΤΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ: Πανεπιστήμιο Ιατρικής και Χειρουργικής Πάντοβας (Ιταλία)

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ: Αγγλικά, Ιταλικά, Γαλλικά

Εμπειρία προς απόκτηση ειδικότητας

1. Από 22/10/2004 έως 6/7/2006 ειδικότητα Παθολογικής Ανατομικής στο γενικό Νοσοκομείο ΚΑΤ.
2. Από 7/7/2006 έως 30/11/2008 ειδικότητα Παθολογικής Ανατομικής στο Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο ΝΙΜΙΤΣ.
3. Από 11/03/2009 έως 14/05/2010 ειδικότητα Κυτταρολογίας στο Γενικό Νοσοκομείο Θώρακος «Η Σωτηρία»

Επιπλέον εμπειρία, σχετική με την ειδικότητα, κατά τη διάρκεια και πριν την κτήση του τίτλου αυτής.

1. Τρίμηνη παρακολούθηση κατά τη διάρκεια της ειδικότητας στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Γενικού Νοσοκομείου «Ερυθρός Σταυρός»
2. Εξάμηνη παρακολούθηση κατά τη διάρκεια της ειδικότητας στο Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.
3. Τρίμηνη παρακολούθηση (25/8/2009-25/11/2009) κατά τη διάρκεια της ειδικότητας στο κυτταρολογικό εργαστήριο του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Γ.Γεννηματάς».
4. Κατά τα έτη 2005, 2006, 2007 παρακολούθηση περιστατικών ασθενών με δερματολογικά νοσήματα στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «Ανδρέας Συγγρός».

Εμπειρία μετά την απόκτηση ειδικότητας

1. Από 15/07/2010 έως 15/10/2010 Ιατρός Παθολογοανατόμος με βαθμό επιμελητού Β' στο Δ.Θ.Κ.Α. «ΥΓΕΙΑ» Αθηνών με σύμβαση ορισμένου χρόνου.

2. Από 27/01/2011 έως 26/01/12 Επικουρικός Ιατρός στο ΓΝΑ ΑΣΚΛΗΠΕΙΟ ΒΟΥΛΑΣ.
3. Από 01/08/2012 έως 21/01/14 Επ. Συνεργάτης Ιατρός στο Πανεπιστημιακό ΓΝΑ ΑΤΤΙΚΟ.
4. Ιανουάριος 2014 έως Μάιος 2015 Επικουρικός Ιατρός στο ΓΝΑ “ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ”
5. Ιανουάριος 2017 Επ. Συνεργάτης Ιατρός Α’ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής ΙΣ ΕΚΠΑ.

Επιπλέον Εμπειρία Σχετική με την Ειδικότητα Σε Συναφείς Ιατρικούς

Τομείς:

1. Συμμετοχή στις καθημερινές εργασίες στο Αιμοπαθολογοανατομικό Τμήμα του Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός.» από 08/06/2010 έως 08/08/2010 [Σύνολο 2 μήνες]
2. Συμμετοχή στο Α’ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Αθηνών ως άμισθος συνεργάτης από τον Απρίλιο του 2010 έως 2012. Συμμετοχή στη διάγνωση κυρίως παθήσεων του δέρματος.
3. Medical Neuroscience 20/12/2016 Τρίμηνο online course Duke University (USA)

Teaching/Lecturing

1. Ioannina University Courses in Pathology (IUCP), Gastrointestinal Pathology-Oncology 9-11 Mart;ioy 2018 Palladion Hotel Ioannina, Greece.
2. Targeted therapies and predictive markers in epithelial malignancies of the Gastrointestinal tract (Attikon University – Athens)
3. Techniques of Immunohistochemistry: Principles, Pitfalls, and Standardization (Sotiria Hospital – Athens)
4. Metastatic tumors to the spinal cord (Athens University)
5. Immunohistochemical and molecular algorithms in the diagnosis of tumors of the Corpus Uteri (Pathology Congress Portaria-Pilio Greece)
6. Participation in the urogenital pathology seminar presenting a rare case of bladder cancer (Athens University)
7. Epithelioid Hemangioma of the humerus bone, Clear cell chondrosarcoma of the spinal cord (Voula Hospital)
8. Presentation of the connection between Prolactinomas and Galactocele Gynecological (Elena Hospital – Athens)

9. Clinical and pathologic approach of distinctive features of Crohn disease and Ulcerative Colitis (General Hospital NIMTS (Athens).
10. Dysgerminoma (case presentation) Gynecological Hospital “Elena” Athens Greece.
11. 2004-2005: General Hospital KAT(Athens) [Presentations:(Clinical and pathologic approach of rhabdomyosarcoma, Clinical and pathologic approach of neurofibromatosis type 1 and 2, Salivary gland histology, Mechanisms of brain ischemia, Clinical and pathologic approach of osteochondroma and osteosarcoma, Clinical and pathologic approach of glioblastoma and oligodendroglioma, Bone, tendon and muscle histology)]
12. In the seminar “Neuronal cell damage and metabolic alterations” I discussed the ischemic alterations in the neuronal cells, University of Athens.

Publications

- Katafygiotis P. Contemporary destabilization of vascular endothelial factor (VEGF) and estrogen receptor one (ER1) in hepatocellular cancer compared to the numerical destabilization of chromosome 6. First Prize in the International Meeting of Hepatitis B and C.
- Minaidou E., Plymeris A., Vassiliou J., Kondi-Paphiti A., Karoutsou E., Katafygiotis P., Papaspyrou E. Primary umbilical endometriosis: Case report and literature review. Clin Exp Obstet Gynecol.
- Katafygiotis P., Nomikos A., Chranioti S. Plasmocytoid urothelial carcinoma. Case report and short review of the literature. Greek Archives of Pathology Journal.
- Paidakakos NA, Rovlias A, Rokas E, Theodoropoulos S, Katafygiotis P. Primary clear cell chondrosarcoma of the spine: a case report of a rare entity and a review of the literature. Case Rep OncolMed.
- Katafygiotis P., Giaginis C, Patsouris E, Theocharis S. Histone deacetylase inhibitors as potential therapeutic agents for the treatment of malignant mesothelioma. Anticancer Agents Med Chem.
- Rocas D., Asvesti C., Tsega A., Katafygiotis P., Kanitakis J. Primary adenoid cystic carcinoma of the skin metastatic to the lymph nodes: Immunohistochemical study of a new case and literature review. Am J Dermatopathol.

- Zaravinos A., Lambrou GI, Mourmouras N., Katafygiotis P., Papagregoriou G., Giannikou K., Delakas D., Deltas C., New miRNA Profiles Accurately Distinguish Renal Cell Carcinomas and Upper Tract Urothelial Carcinomas from the Normal Kidney PloS one.
- Emmanouil P , Loukides S, Kostikas K, Papatheodorou G, Papaporfyriou A, Hilla Vamvakaris I, Triggidou R, Katafygiotis P, Kokkini A, Papiris S, Koulouris N, Bakakos P. Sputum and BAL Clara cell secretory protein and surfactant protein D levels in asthma. Allergy.
- Katafygiotis P, Sakellariou S, Chatziandreu I, Giannopoulou I, Thymara I, Saetta AA, Korkolopoulou P. Microsatellite Instability in Greek Colorectal Carcinoma Patients: Clinicopathological and Molecular Correlations. Anticancer Res. 2019 Nov;39(11):6379-6387. doi: 10.21873/anticancerres.13851. PMID:31704871

ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ-ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Παγκόσμια Διεθνή Συνέδρια

- 1.«XXVIIth International Congress of the International Academy of Pathology» 12-17/10/08 Athens Greece
2. 17th International Congress of Cytology, Edinburgh UK 16-20 Μαΐου 2010.
3. 1st International Conference on Molecular Cancer Research. 27-29 November 2009 Athens Greece
4. “21st International Meeting on Clinical Cardiology” European Board For Accreditation in Cardiology, Hellenic Heart Foundation 27-29 Απριλίου 2006 Athens Greece (18 CME credit Hours)
5. 4th International Workshop Highlights in Basic and Clinical Neuroendocrinology 2005 Growth Hormone and Growth Factors in Acromegaly and Beyond 4-5/11/2005 Athens Greece
6. “Thyroid carcinoma” Controversie In Tema Di Cancro Della Tiroide 19/10/2001 Aula Morgagni Policlinico di Padova [University of Padova] Italy
7. Διεθνές Συνέδριο Καρδιαγγειακής Ιατρικής “International Meeting on Cardiovascular Medicine in collaboration with American College of Cardiology”, Αθήνα 8-9 Απριλίου 2011 (12 Μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης (CME/CPD))

8. 23^ο Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 27-1 Σεπτεμβρίου 2011 Ελσίνκι Φινλανδία.
9. Παγκόσμιο Συνέδριο Καρδιάς-αγγείων 7-8 Οκτωβρίου 2011 Αθήνα (12CME-EBAC).
10. XXXIV Symposium of the International society of Dermatopathology 26/28 September 2013- Florence, Italy.
11. United States and Canadian Academy of Pathology (USCAP) 2019 Ουάσινγκτον ΗΠΑ

Ευχαριστίες

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί μία από τις συχνότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας στο δυτικό κόσμο. Η πρόληψη, η έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπισή του, καθώς και η εισαγωγή νέων στοχευμένων θεραπειών συνιστά επιτακτική ανάγκη για την αποτελεσματική και εξατομικευμένη καταπολέμησή του. Η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών καρκινογένεσης μπορεί να συμβάλλει ουσιαστικά στην κατεύθυνση αυτή.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Ά Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη της κ. Π. Κορκολοπούλου, Καθηγήτριας Παθολογικής Ανατομικής, η συμβολή της οποίας υπήρξε σημαντική στην υλοποίηση και δημοσίευσή της. Την ευχαριστώ για τη δυνατότητα που μου έδωσε να ασχοληθώ με αυτό το θέμα.

Ευχαριστώ επίσης την κ. Σαέττα Αν. Καθηγήτρια για την καθοδήγησή της σε όλη τη διάρκεια της μελέτης. Ευχαριστίες οφείλω στον κ. Πατσούρη Καθηγητή ο οποίος ως Διευθυντής του Εργαστηρίου κατά τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας μας στήριξε με τον εξοπλισμό του εργαστηρίου στην ολοκλήρωση της εργασίας.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στη Σ. Σακελλαρίου, Επ. Καθηγήτρια, την Η. Χατζηανδρέου Μοριακή Βιολόγο PhD και την Ι. Γιαννοπούλου Βιολόγο Ε.ΔΙ.Π για τις συμβουλές, τη διαρκή βοήθειά τους, την πραγματοποίηση των πειραμάτων, τη συμβολή στη στατιστική ανάλυση και τέλος τις παρατηρήσεις κατά τη συγγραφή της διδακτορικής διατριβής.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω όλους όσους εργάζονται στο Ά Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ για τη συνεργασία, τη στήριξη και τη φιλική συμπαράστασή τους στις προσπάθειές μου.

Συντομογραφίες

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ: ΚΠΕ

MICROSATELLITE INSTABILITY: MSI

MISMATCH REPAIR GENE SYSTEM: MMR.

5-FLUOROURACIL: 5-FU

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	13
ABSTRACT	14
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ	16
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ	18
ΑΓΓΕΙΑ ΚΑΙ ΝΕΥΡΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ	19
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ	23
ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΚΠΕ	23
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	23
ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ	29
ΠΩΣ ΞΕΚΙΝΑΕΙ Ο ΚΠΕ	31
ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΚΠΕ	32
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΠΕ	37
1.ΔΙΑΤΡΟΦΗ	37
2.ΚΑΠΝΙΣΜΑ	40
3.ΑΛΚΟΟΛ	41
4.ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΜΑΖΑ - ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ - ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ	41
5.ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ	43
6.ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ	43
7.ΑΤΟΜΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ	44
8 .ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΠΕ	52
1.ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΗΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΗΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ	54
2.ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΩΝ CpG ΝΗΣΙΔΙΩΝ	54
3.ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΗΣ MSI	55
4.ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΟΥ ΟΔΟΝΤΩΤΟΥ ΚΠΕ	55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ (MSI)	57
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	57
ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΕΛΑΤΤΩΜΑΤΙΚΟΥ ΖΕΥΓΑΡΩΜΑΤΟΣ ΒΑΣΕΩΝ (MMR)	58

ΟΙ ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ MSI ΚΑΙ MSS ΣΤΟΝ ΚΠΕ	59
Ο ΚΠΕ ΚΑΙ Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ MMR	59
ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΠΕ ΜΕ MSI	64
ΣΥΝΔΡΟΜΟ LYNCH	64
ΤΟ “ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΤΥΠΟΥ LYNCH” ΚΑΙ ΟΙ ΝΕΟΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΚΠΕ ΜΕ MSI	71
Ο ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟΣ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ Χ ΤΟΥ ΚΠΕ	72
ΘΕΜΕΛΙΩΔΕΣ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ MMR [CONSTITUTIONAL MMR DEFICIENCY SYNDROME-(CMMRD)]	73
Ο ΣΠΟΡΑΔΙΚΟΣ ΚΠΕ ΠΟΥ ΣΥΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ MSI	73
ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ MSI	76
ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ (IHC) ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ DMMR ΩΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΟ ΤΗΣ PCR	76
ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ PCR ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ IHC ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ MMR	78
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗΣ ΝΕΑΣ ΓΕΝΙΑΣ (NGS) ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥ MMR STATUS	79
ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ MMR ΣΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ LYNCH	80
Η ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΤΑ ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ	80
Η ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΤΟΥ BRAF ΜΕ Η ΧΩΡΙΣ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΥΠΕΡΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ MLH1 ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ	81
Ο ΚΑΘΟΛΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	82
ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΣΤΟΝ ΚΠΕ	84
Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ MSI ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΣΤΟΝ ΚΠΕ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΝΕΟ-ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ 5-FU	84
Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ MSI ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ 5-FU ΚΑΙ ΙΡΙΝΟΤΕΚΑΝΗ (FOLFIRI)	85
MSI ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ 5-FU ΜΑΖΙ ΜΕ ΟΞΑΛΙΠΛΑΤΙΝΗ (FOLFOX)	86
Ο ΔΕΙΚΤΗΣ MSI ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ CETUXIMAB	87
ΤΟ MSI ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ BEVACIZUMAB	87
ΠΑΡΟΥΣΙΑ KRAS ΚΑΙ BRAF ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ	88
ΝΕΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ MSI ΚΠΕ	88
Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΣΤΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΕΤΑΙ ΣΤΗΝ 5-FU	89

Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΓΙΑ ΤΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ II / III ΤΟΥ ΚΠΕ	89
ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΟΥ ΑΦΟΡΑ ΤΟΝ ΚΠΕ	91
Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΤΕΣ	91
ΟΙ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΕΜΒΟΛΙΟΥ MSI ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΠΕ	93
MSI ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΟΡΘΟΥ	94
MSI ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΠΕ	96
ΤΑ ΑΔΕΝΩΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΜΕ MSI	97
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	98
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	99
ΣΚΟΠΟΣ	100
ΥΛΙΚΟ	101
ΜΕΘΟΔΟΙ	102
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	106
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	107
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	119
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	126

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή

Στην εποχή μας η ιατρική επιστήμη έχει αρχίσει να υιοθετεί την εξατομικευμένη ιατρική θεραπεία σε διάφορες παθήσεις. Καθοριστικής σημασίας στην πρόγνωση και στη θεραπεία του καρκίνου αποτελεί το μοριακό προφίλ του όγκου. Στην παρούσα αναδρομική μελέτη μελετήσαμε τα μοριακά χαρακτηριστικά και τις κλινικοπαθολογοανατομικές συσχετίσεις του ΚΠΕ σε Έλληνες ασθενείς.

Υλικά και Μέθοδοι/ Ασθενείς και Μέθοδοι

Συλλέξαμε πληροφορίες και παθολογοανατομικά δεδομένα από 157 ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου. Μετά από απομόνωση του DNA από τους κύβους παραφίνης των ασθενών, ακολούθησε PCR πραγματικού χρόνου και High Resolution Melting Analysis (HRM) για την ανίχνευση μεταλλαγών στα γονίδια KRAS, BRAF, NRAS και στους υπό διερεύνηση δείκτες μικροδορυφορικής αστάθειας (BAT26, BAT25, NR24, NR21). Οι στατιστικές συσχετίσεις πραγματοποιήθηκαν με το πακέτο SPSSv 21.0.

Αποτελέσματα

Μεταλλάξεις του KRAS ανιχνεύτηκαν στο 39,3% των περιπτώσεων, του BRAF στο 10,9% και του NRAS στο 4,9%. Μικροδορυφορική αστάθεια παρατηρήθηκε στο 11,5% των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου και συσχετίστηκε με καρκινώματα του δεξιού παχέος εντέρου. Ο MSI φαινότυπος είχε αρνητική συσχέτιση με το στάδιο, την παρουσία μεταστάσεων σε λεμφαδένες καθώς και τις μεταλλάξεις του KRAS, ενώ είχε θετική συσχέτιση με μεταλλάξεις του BRAF.

Συμπέρασμα

MSI θετικά καρκινώματα του παχέος εντέρου στον ελληνικό πληθυσμό είναι συχνότερα στο δεξιό παχύ έντερο, KRAS μη μεταλλαγμένα και BRAF μεταλλαγμένα. Η συλλογή περαιτέρω κλινικοπαθολογοανατομικών και μοριακών δεδομένων για κάθε πληθυσμό θα επιτρέψει στο μέλλον την καλύτερη κλινική προσέγγιση των ασθενών καθώς και την στοχευμένη θεραπεία αυτών.

ABSTRACT

Background/Aim:

In the present retrospective study, we assessed the molecular profile and clinicopathological correlations of Greek colorectal carcinoma (CRC) patients.

Patients and Methods:

Data from 157 CRC patients were collected. High Resolution Melting Analysis and Pyrosequencing/Sanger sequencing were applied to identify *KRAS*, *BRAF*, *NRAS* mutations and Microsatellite instability (MSI) status. Immunohistochemistry was used to characterize the associated Mismatch Repair Protein loss. Statistical calculations were performed using the statistical package SPSS v21.0.

Results:

KRAS mutations were detected in 39.3% of cases, *BRAF* in 10.9% and *NRAS* in 4.9%. MSI status was recognized in 11.5% of CRC patients and was associated with right colon tumors. MSI phenotype was inversely correlated with stage, N status and *KRAS* mutations and positively correlated with *BRAF* mutations.

Conclusion:

MSI positive CRCs in the Greek population are more often right-sided, free of metastasis, *KRAS* wild type and *BRAF* mutated. Providing more detailed clinicopathological and molecular data for specific populations enables better clinical management and individualized therapy in the future.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Το παχύ έντερο αποτελεί το κατώτερο τμήμα του πεπτικού συστήματος. Έχει μήκος ενάμισι μέτρο περίπου και πλάτος τρία με οκτώ εκατοστά και αποτελεί τη συνέχεια του λεπτού εντέρου.

Το παχύ έντερο ξεκινάει από την ειλεοτυφλική βαλβίδα και τελειώνει στον πρωκτό. Αποτελείται από τέσσερις χιτώνες οι οποίοι από έξω προς τα μέσα είναι ο ορογόνο, ο μυϊκός, ο υποβλεννογόνο και ο βλεννογόνο. Κατά την πορεία του σχηματίζει μια ατελή στεφάνη, που περιβάλλει τις έλικες του λεπτού εντέρου. Η διάμετρος του αυλού του είναι μεγαλύτερη από αυτή του λεπτού εντέρου, εμφανίζοντας μεγαλύτερη έκταση στην περιοχή του τυφλού και στη συνέχεια στενεύει σταδιακά έως το ορθό, όπου μετά διογκώνεται πάλι για να σχηματίσει αμέσως πιο πάνω από τον πρωκτικό σωλήνα την κοπροδόχο λήκυθο (Moore et al., 2012).

Το παχύ έντερο αποτελείται από τρεις μικρότερες μοίρες: το τυφλό με τη σκωληκοειδή απόφυση, το κόλον που αποτελείται από το ανιόν, το εγκάρσιο, το κατιόν και το σιγμοειδές, το ορθό και τον πρωκτικό σωλήνα. Με την εξαίρεση του πρωκτικού σωλήνα ο οποίος προέρχεται από το εξώδερμα, ολόκληρο το παχύ έντερο προέρχεται από το ενδόδερμα (Fritsch and Kuhnel, 2009).

Το τυφλό, το αρχικό τμήμα του παχέος εντέρου, έχει μήκος 6-8 cm και χωρητικότητα 100-150 κυβικά εκατοστά. Έχει σακοειδή εμφάνιση, βρίσκεται μέσα στο δεξιό λαγόνιο βόθρο και περιέχει την ειλεοτυφλική βαλβίδα στο έσω τοίχωμά του. Η μεσοκολική ταινία βλέπει προς τα πίσω και έσω, η επιπλοϊκή ταινία βλέπει προς τα πίσω και έξω και η ελεύθερη κολική ταινία βρίσκεται μεταξύ των δύο παραπάνω και είναι ορατή από μπροστά (Fritsch and Kuhnel, 2009).

Η σκωληκοειδής απόφυση ενώνεται με το πρόσθιο και έσω άκρο του τυφλού. Η θέση της ποικίλει αν και συνηθέστερα βρίσκεται πίσω από το τυφλό στην ανιούσα οπισθοτυφλική θέση. Έχει κατά μέσο όρο μήκος 10 cm και διάμετρο 6 mm. Οι τρεις ταινίες του τυφλού συναντώνται στο στόμιο της σκωληκοειδούς

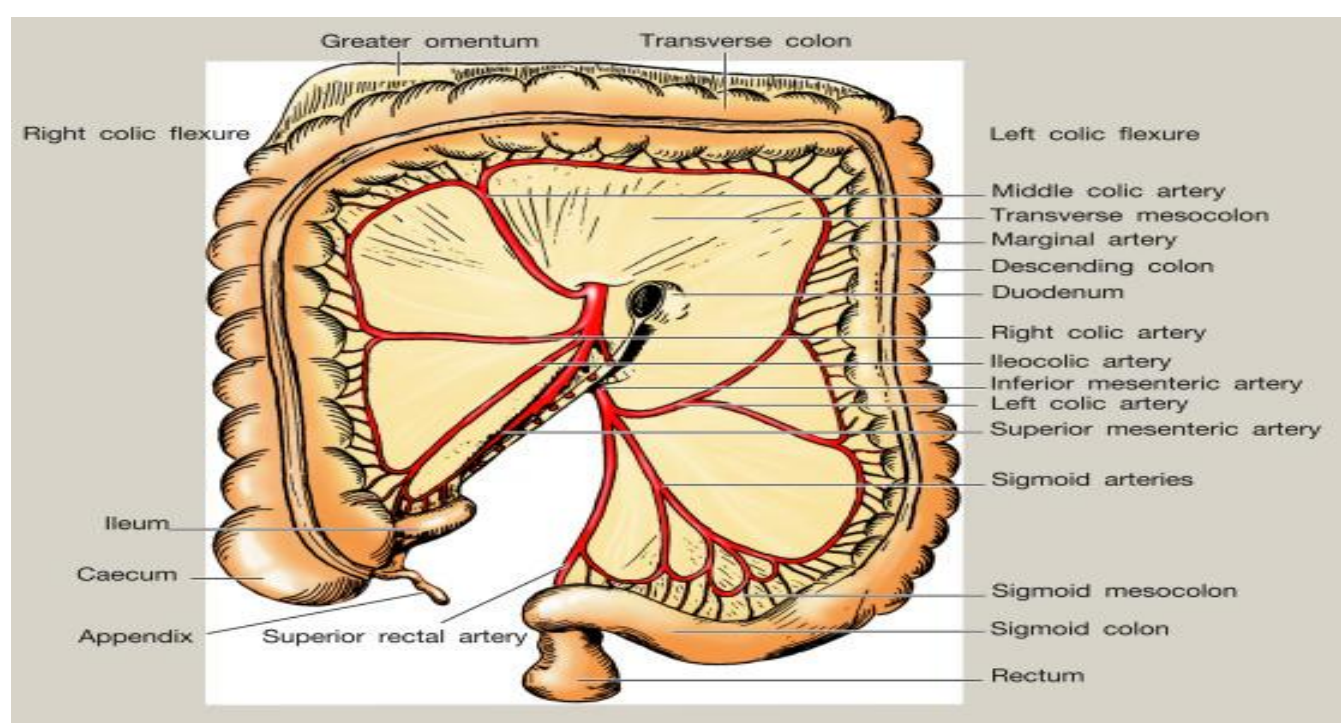
απόφυσης και δεν σχηματίζουν ταινίες κατά μήκος της σκωληκοειδούς απόφυσης η οποία δεν έχει καμία ταινία (Fritsch and Kuhnel, 2009).

Το ανιόν κόλον έχει μήκος περίπου 15cm και αποτελεί τη συνέχεια του τυφλού προς τα πάνω και ο αυλός του έχει μικρότερη διάμετρο. Καλύπτεται από περιτόναιο κατά την πρόσθια και τις πλάγιες επιφάνειες, ενώ η οπίσθια επιφάνειά του βρίσκεται σε ανατομική συσχέτιση με τον ουρητήρα. Η δεξιά κολική καμπή επικαλύπτει συνήθως τον κάτω πόλο του δεξιού νεφρού.

Το εγκάρσιο κόλον αποτελεί το μεγαλύτερο τμήμα του παχέος εντέρου με μήκος περίπου 45 cm. Περιβάλλεται από περιτόναιο σε όλες του τις επιφάνειες και εκτείνεται από τη δεξιά κολική καμπή ως το αριστερό υποχόνδριο, όπου στρέφεται απότομα προς τα κάτω και πίσω μεταπίπτοντας έτσι στο κατιόν κόλον. Προσφύεται σε τρεις πτυχές του περιτοναίου, το εγκάρσιο, το μεσόκολο και το γαστροκολικό σύνδεσμο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να είναι εξαιρετικά ευκίνητο και επομένως η θέση και το σχήμα του να εξαρτώνται από τη διάπλαση, την ηλικία και την θέση στην οποία βρίσκεται το σώμα του ατόμου.

Το κατιόν κόλον έχει τρεις κολικές ταινίες και δυο στίχους επιπλοϊκών αποφύσεων και εκτείνεται από τη σπληνική καμπή μέχρι την είσοδο της αληθούς πυέλου, έχοντας μήκος περίπου 25 cm. Όπως και το ανιόν κόλον, καλύπτεται από περιτόναιο κατά την πρόσθια και τις δύο πλάγιες επιφάνειές του.

Το σιγμοειδές κόλον είναι η συνέχεια του κατιόντος και βρίσκεται μεταξύ της ουροδόχου κύστης και της μήτρας στις γυναίκες και μεταξύ της ουροδόχου κύστης και του απευθυσμένου στους άνδρες και κρέμεται από πτυχή του περιτοναίου που λέγεται μεσοσιγμοειδές.



Εικόνα 1.1: ανατομία παχέος εντέρου

Το ορθό είναι το τελευταίο τμήμα του παχέος εντέρου, όπου μαζί με τον πρωκτό αποθηκεύουν τα κόπρανα έως ότου αποβληθούν, φθάνει μέχρι τον αιμορροϊδικό δακτύλιο και εμφανίζει δυο μοίρες την ενδοπυελική και την περινεϊκή έχοντας μήκος 15cm. Στηρίζεται στο περίνεο, στο περιτόναιο και την περιτονία του απευθυσμένου. (Moore et al., 2012).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Υπάρχουν τέσσερα μορφολογικά γνωρίσματα – τρία ορατά στην έξω επιφάνεια και ένα στο εσωτερικό – τα οποία διαχωρίζουν το παχύ από το λεπτό έντερο. Θα πρέπει να σημειωθεί, ότι τα γνωρίσματα αυτά δεν παρατηρούνται σε όλα τα τμήματα του παχέος εντέρου και λείπουν στο τυφλό, τη σκωληκοειδή απόφυση και το ορθό (Schunke et al., 2011).

Τα εξωτερικά γνωρίσματα είναι τα εξής:

Οι κολικές ταινίες: Τρεις διακριτές επιμήκεις ταινίες οι οποίες συγκλίνουν και σχηματίζουν το μυϊκό χιτώνα της σκωληκοειδούς απόφυσης και είναι: η μεσοκολική ταινία όπου εκεί προσφύονται το εγκάρσιο και σιγμοειδές μεσόκολο, η επιπλοϊκή ταινία και η ελεύθερη ταινία.

Οι επιπλοϊκές αποφύσεις είναι μικρές προεξοχές γεμάτες με λίπος διάσπαρτες σε ολόκληρη την επιφάνεια του παχέος εντέρου εκτός από το τυφλό και το ορθό.

Οι κολικές κυψέλες αποτελούν προβολές του τοιχώματος μεταξύ των εγκάρσιων αυλάκων του παχέος εντέρου.

Ορατές μόνο στο εσωτερικό, σε αντίθεση με τα παραπάνω εξωτερικά γνωρίσματα, είναι οι μηνοειδείς πτυχές. Λειτουργικές δομές που δημιουργούνται από τη σύσπαση του μυϊκού χιτώνα. Οι εσωτερικές πτυχές αντιστοιχούν σε εξωτερικές περισφίξεις που χαρακτηρίζουν τις κολικές κυψέλες (Schunke et al., 2011).

Το παχύ έντερο αποτελείται από τέσσερις χιτώνες οι οποίοι είναι οι ακόλουθοι: Ο ορογόνοσ ο οποίος αποτελείται από το περισπλάχνιο πέταλο του περιτοναίου. Ο μυϊκός που αποτελείται από λείες μυϊκές ίνες που βρίσκονται τοποθετημένες σε δυο στοιβάδες, την έξω επιμήκη και την έσω κυκλωτερή στοιβάδα. Με την

ενέργεια αυτού του χιτώνα διεκπεραιώνονται οι περισταλτικές και οι αντιπερισταλτικές κινήσεις του παχέος εντέρου. Ο υποβλεννογόنيος παρεμβάλλεται μεταξύ του μυϊκού και του βλεννογόνου χιτώνα. Ο βλεννογόνος περιέχει ευθείες κρύπτες που επενδύονται από απορροφητικά και βλεννο-παραγωγά καλυκοειδή κύτταρα, λίγα ενδοκρινή κύτταρα και μικρό αριθμό κυττάρων Paneth με τα τελευταία να βρίσκονται φυσιολογικά μόνο στη δεξιά πλευρά του παχέος εντέρου. Το χόριο περιέχει λίγα λεμφαγγεία και φλεγμονώδη κύτταρα (Muir's, 2014).

ΑΓΓΕΙΑ ΚΑΙ ΝΕΥΡΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Αρτηρίες: Το τυφλό και η σκωληκοειδής απόφυση αιματώνονται από την ειλεοκολική αρτηρία, η οποία εκφύεται ως ένας τελικός κλάδος από την άνω μεσεντέρια αρτηρία. Το ανιόν και περίπου τα 2/3 του εγκάρσιου παχέος εντέρου αιματώνονται από την δεξιά κολική αρτηρία και την μέση κολική αρτηρία. Το αριστερό τριτημόριο του εγκάρσιου αρδεύεται, όπως και το κατιόν, από την αριστερή κολική αρτηρία, που εκφύεται από την κάτω μεσεντέρια αρτηρία. Το μεγαλύτερο μέρος του ορθού αιματώνεται από την άνω αιμορροϊδική αρτηρία, η οποία εκφύεται από την κάτω μεσεντέρια αρτηρία.

Φλέβες: Η φλεβική αποχέτευση του τυφλού και ολόκληρου του παχέος εντέρου γίνεται μέσω των φλεβών που έχουν τα ίδια ονόματα με τις αρτηρίες και εκβάλλουν μέσω της άνω μεσεντέριας φλέβας ή της κάτω μεσεντέριας φλέβας στην ηπατική πυλαία φλέβα .

Νεύρα:

Συμπαθητική νεύρωση: Το τυφλό, το ανιόν και τα δυο κεντρικά τριτημόρια του εγκάρσιου παχέος εντέρου νευρώνονται από μετασυναπτικούς κλάδους του άνω μεσεντέριου γαγγλίου μέσω του άνω μεσεντέριου πλέγματος, το οποίο δίνει κλάδους στα διάφορα τμήματα του εντέρου κατά μήκος των κλάδων της άνω μεσεντέριας αρτηρίας.

Κατά τον ίδιο τρόπο, το περιφερικό τμήμα του εγκάρσιου, το κατιόν και το ανώτερο τμήμα του ορθού νευρώνονται από μετασυναπτικές ίνες του κάτω μεσεντέριου γαγγλίου και του αντίστοιχου πλέγματος, το οποίο διανέμεται κατά μήκος των κλάδων της κάτω μεσεντέριας αρτηρίας.

Το μέσο και το κατώτερο τμήμα του ορθού νευρώνονται από τα οσφυϊκά και τα ιερά σπλαχνικά νεύρα μέσω του κάτω υπογάστριου πλέγματος.

Παρασυμπαθητική νεύρωση: Το τυφλό, το ανιόν και τα κεντρικά δύο τρίτα του εγκάρσιου παχέος εντέρου νευρώνονται από το πνευμονογαστρικό στέλεχος και τους κλάδους του. Το υπόλοιπο κόλον και το ορθό νευρώνονται από τα πυελικά σπλαχνικά νεύρα από τα 12-14 νευροτόμια του νωτιαίου μυελού (Schunke et al., 2011).

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Στον πεπτικό σωλήνα εισέρχονται καθημερινά περίπου εννέα λίτρα υγρών. Από αυτά, τα δύο αποτελούν μέρος της διατροφής και τα υπόλοιπα προέρχονται από τη σίελο και τις εκκρίσεις στομάχου, χολής, παγκρέατος και λεπτού εντέρου που παρέχουν έτσι το κατάλληλο περιβάλλον για τη λειτουργία της πέψης. Από τα υγρά αυτά το μεγαλύτερο ποσοστό απορροφάται από το λεπτό έντερο ενώ περίπου ένα λίτρο, που αποτελείται από άπεπτα υπολείμματα τροφών και διασπασμένα κύτταρα, περνούν την ειλεοτυφλική βαλβίδα και εισέρχονται στο παχύ έντερο. Αντίθετα από ότι συμβαίνει στο λεπτό έντερο, το παχύ έντερο σπάνια παραμένει αδρανές στο οποίο διακρίνουμε έναν χαρακτηριστικό τύπο κινητικότητας, το γαστροκολικό αντανακλαστικό (μαζικός περισταλτισμός μετά το γεύμα) με κυριότερο εκκριτικό προϊόν την βλέννα (σύμπλεγμα γλυκοπρωτεϊνών) καθώς και την παραγωγή και απορρόφηση βιταμίνης K (Χανιώτης και Χανιώτης, 2015).

Το παχύ έντερο απορροφά ενεργητικά νάτριο και παθητικά νερό, ιδιαίτερα στο δεξιό τμήμα του, ενώ το αριστερό τμήμα του και το ορθό λειτουργούν ως αποθήκη μέχρι την κένωση του. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, από το επιθήλιο του παχέος εντέρου απορροφώνται έως 5 λίτρα νερού την ημέρα και επίσης με την βοήθεια της αλδοστερόνης αυξάνεται η απορρόφηση του νατρίου. Το παχύ έντερο δεν λαμβάνει μέρος στην πέψη ή απορρόφηση των τροφών. Όταν το περιεχόμενο του λεπτού εντέρου φθάσει στο τυφλό όλα τα θρεπτικά στοιχεία έχουν ήδη απορροφηθεί, και το περιεχόμενο είναι υγρό. Κατά τη διαδρομή στο κόλον, το νερό απορροφάται και το περιεχόμενο, τα κόπρανα, έχουν μια ημιστερεά σύνθεση. Η περίσταλη είναι πολύ ήπια στο κόλον. Χρειάζονται περίπου 16 με 24 ώρες για το περιεχόμενο να φθάσει στη σιγμοειδική καμπή (Αθανάτου, 2007).

Οι βασικές λειτουργίες που εκτελεί το παχύ έντερο είναι οι εξής:

A) Απορρόφηση: Η μεγαλύτερη ποσότητα των υγρών και των ηλεκτρολυτών στον γαστρεντερικό σωλήνα απορροφάται στο λεπτό έντερο. Ενώ η μέση ημερήσια πρόσληψη υγρών είναι μόνο 1,5 λίτρο, στο λεπτό έντερο διοχετεύονται 7-9 λίτρα λόγω των εκκρίσεων των σιελογόνων αδένων, του στομάχου, του παγκρέατος, του ήπατος και της χοληδόχου κύστης. Το λεπτό έντερο απορροφά το μεγαλύτερο τμήμα των υγρών αυτών, ενώ το παχύ έντερο μπορεί να απορροφήσει έως και 5 λίτρα νερό ημερησίως. Η απορρόφηση του νερού στο έντερο γίνεται παθητικά λόγω της ωσμωτικής κλίσης που δημιουργεί η ενεργητική μεταφορά διαφόρων ιόντων. Στο παχύ έντερο αποθηκεύεται προσωρινά το άπεπτο υλικό μέχρι να αποβληθεί. Στο διάστημα αυτό γίνεται απορρόφηση νερού, αλάτων και ορισμένων βιταμινών. Η απορρόφηση του νερού δημιουργεί τα κόπρανα τα οποία περιέχουν άπεπτα υπολείμματα των τροφών, χρωστικές της χολής και βακτήρια. Τα βακτήρια μεταβολίζουν τις άπεπτες ουσίες και παράγουν οξέα και άλλες ενώσεις και σε αυτά οφείλεται η χαρακτηριστική οσμή των κοπράνων.

Το παχύ έντερο εκκρίνει βλέννα που το προστατεύει από τα οξέα αυτά. Ορισμένα από τα βακτήρια που υπάρχουν στο παχύ έντερο, παράγουν και βιταμίνες χρήσιμες στον άνθρωπο, όπως η δημιουργία της βιταμίνης K, η οποία συμμετέχει στη διαδικασία πήξης του αίματος (Fox 2013).

B) Αποθήκευση: Η κύρια λειτουργία του παχέος εντέρου είναι η αποθήκευση των κοπράνων και μετέπειτα η αφόδευση τους. Τα κόπρανα προωθούνται αργά μέχρι το σιγμοειδές όπου και παραμένουν μέχρι την αφόδευση. Με τις τμηματικές και δακτυλιοειδείς συσπάσεις, το περιεχόμενο φθάνει στο ορθό και τότε το άτομο αισθάνεται την επιθυμία για αφόδευση. Οι νευρικοί υποδοχείς στο τοίχωμα του ορθού φυσιολογικών ατόμων είναι σε θέση να διακρίνουν εάν το προς αποβολή υλικό είναι στερεό, υγρό ή αέριο.

Η κυτταρίνη και άλλα άπεπτα υλικά δίνουν όγκο στο περιεχόμενο του εντέρου και διευκολύνουν την διατήρηση των κινήσεων του εντέρου, έτσι στο πρώτο μισό του εντέρου γίνεται η απορρόφηση και στο δεύτερο μισό η αποθήκευση (Πλέσσας, 2010).

Προωθητικές Κινήσεις Ανάμιξης: οι κινήσεις των κολικών κυψελών συντελούν στην ανάμιξη του περιεχομένου του παχέος εντέρου όπου τις περισσότερες φορές είναι αργές και μη προωθητικές αλλά συμβάλλουν στις λειτουργίες αποθήκευσης. Για την μετακίνηση του χυμού από την ειλεοτυφλική βαλβίδα μέχρι το τέλος του εγκάρσιου απαιτούνται 8-15 ώρες και ο χυμός από ημίρρευστος μεταβάλλεται σε κοπρανώδες και ημιστέρεο υλικό (Πλέσσας, 2010).

Μαζικές Κινήσεις: Η μαζική κίνηση αποτελεί ένα πολύ ισχυρό περισταλτικό κύμα, το οποίο εμπλέκει την δράση των κολικών ταινιών και μεταφέρει το περιεχόμενο του παχέος εντέρου προς το ορθό. Πρόκειται για τροποποιημένη περισταλτική κίνηση.

Κατά την διάρκεια της ημέρας, 3-4 φορές συνήθως μετά τα γεύματα αυξάνεται η κινητικότητα του εντέρου με ταυτόχρονες συστολές του ανιόντος και του εγκάρσιου κόλου με αποτέλεσμα την μετακίνηση των κοπράνων από 1/3 προς 3/4 του μήκους του παχέος εντέρου σε ελάχιστα δευτερόλεπτα, οδηγώντας τα κόπρανα στο τελευταίο τμήμα του εντέρου προς αφόδευση.

Η αλληλουχία των μαζικών κινήσεων διαρκεί περίπου μισή ώρα και επαναλαμβάνεται μετά από 12-24 ώρες. Η προώθηση με τις κινήσεις αυτές των κοπράνων προς το ορθό διεγείρει το αντανακλαστικό της αφόδευσης και με αυτό τον τρόπο αποβάλλονται (Πλέσσας, 2010).

Γ) Αφόδευση: Καθώς το ορθό γεμίζει από κόπρανα οι λείες μυϊκές ίνες του ορθού συσπώνται και ο έσω πρωκτικός σφιγκτήρας παρουσιάζει χαλάρωση (ορθοσφυκτηριακό αντανακλαστικό). Όταν και ο εξωτερικός σφιγκτήρας του πρωκτού υποστεί χαλάρωση τότε, αρχίζει η αφόδευση υπό κατάλληλες προϋποθέσεις καθώς οι λείες μυϊκές ίνες του ορθού συσπώνται αυξάνοντας την ενδοαυλιακή πίεση(20-25 cm H₂O) και τα κόπρανα αποβάλλονται μέσω του πρωκτικού σωλήνα από τον οργανισμό (Constanzo, 2006; Fox, 2013).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΚΠΕ

Ο καρκίνος είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από την ανεξέλεγκτη διαίρεση, πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Όταν ο καρκίνος αναπτύσσεται πρωτοπαθώς στο παχύ έντερο ή το ορθό, ονομάζεται καρκίνος του παχέος εντέρου (ΚΠΕ). Το παχύ έντερο όπως προαναφέρθηκε έχει 4 περιοχές:

- Το ανιόν παχύ έντερο το οποίο αρχίζει με το τυφλό και εκτείνεται προς τα πάνω στη δεξιά κοιλιακή χώρα.
- Το εγκάρσιο παχύ έντερο το οποίο λέγεται έτσι επειδή διασχίζει το σώμα από τη δεξιά προς την αριστερή πλευρά. Το ανιόν και το εγκάρσιο αναφέρεται ως το εγγύς παχύ έντερο.
- Το κατιόν παχύ έντερο κατεβαίνει στην αριστερή πλευρά της κοιλιακής χώρας.
- Το σιγμοειδές, το οποίο ονομάζεται έτσι λόγω του σχήματος "S", είναι το τελευταίο τμήμα του παχέος εντέρου και ενώνεται με το ορθό. Το κατιόν και το σιγμοειδές παχύ έντερο αναφέρονται συλλογικά ως το περιφερικό παχύ έντερο.

Παρά την ανατομική συνέχεια του πρωκτού με το παχύ έντερο, ο καρκίνος στον πρωκτό ταξινομείται ξεχωριστά επειδή προέρχεται από διαφορετικούς τύπους κυττάρων και, ως εκ τούτου, έχει διαφορετικά χαρακτηριστικά. Στον ΚΠΕ υπάρχουν επίσης διακριτές διαφορές στη βιολογία με βάση την ανατομική θέση, οι οποίες αντανακλώνται στους όγκους που αναπτύσσονται. Για παράδειγμα, οι όγκοι στο δεξιό (τυφλό-ανιόν) παχύ έντερο είναι πολύ πιο συνηθισμένοι σε ηλικιωμένους από ό,τι σε νεότερους ασθενείς και στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες. Οι ασθενείς αυτοί έχουν χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης από τους ασθενείς με όγκους στο αριστερό (κατιόν) παχύ έντερο ή το ορθό.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Ο καρκίνος είναι μια ασθένεια που παραμένει ανίατη, παρά τις προσπάθειες που γίνονται από την ιατρική και γενικότερα από την επιστημονική κοινότητα

σε παγκόσμιο επίπεδο. Έχουν γίνει μεγάλα άλματα για την αντιμετώπιση του καρκίνου τις τελευταίες δεκαετίες, όμως η θνησιμότητα σε παγκόσμιο επίπεδο όπως αναφέρεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας και την Παγκόσμια Υπηρεσία για την Έρευνα στον Καρκίνο (International Agency for Research on Cancer) μια βάση δεδομένων που παρουσιάζει την επιδημιολογία διάφορων ειδών καρκίνου συμπεριλαμβανομένου και του ΚΠΕ αναφέρουν ότι παραμένει αυξημένη (Θερμόπουλος, 2016).

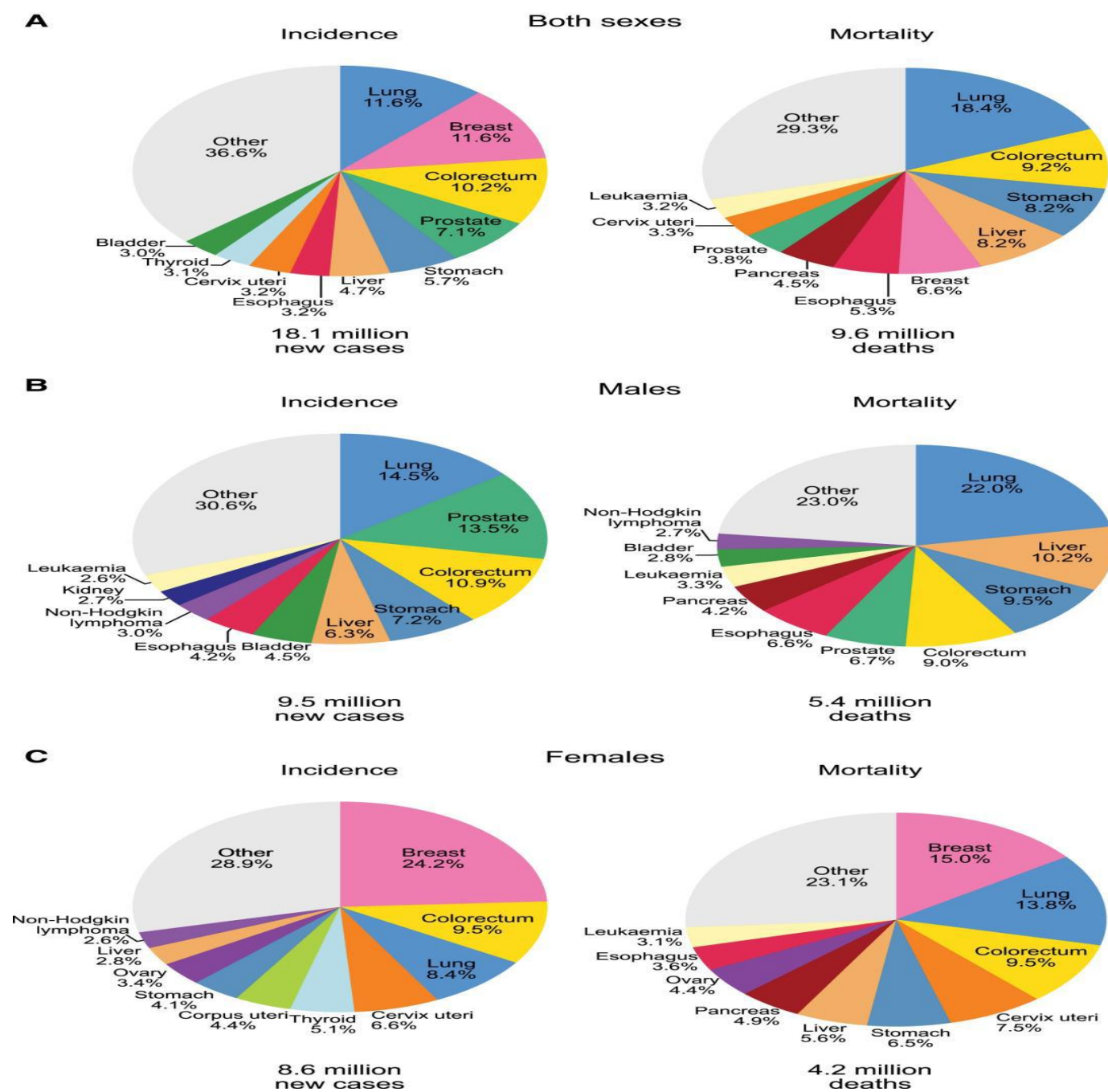
Ο ΚΠΕ είναι μια από τις συχνότερες νεοπλασίες σε παγκόσμιο επίπεδο τόσο στον ανδρικό όσο και στο γυναικείο πληθυσμό. Η επίπτωση της νόσου παρουσιάζει σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα, αλλά και μεταξύ των χωρών, σε παγκόσμιο και ευρωπαϊκό επίπεδο, οι οποίες αξίζει να μελετηθούν προσεκτικά καθώς είναι πιθανό να δώσουν απάντηση στο ερώτημα της αιτιοπαθογένεσης και της εμφάνισης της νόσου.

Η πρόσφατη ενημέρωση της συγκεκριμένης βάσης δεδομένων ονομάζεται Globocan 2012 (IARC) και αναφέρει τα τελευταία ποσοστά θνησιμότητας και επίπτωσης του ΚΠΕ σε παγκόσμιο επίπεδο. Το 2012 σύμφωνα με τις εκτιμήσεις του «Globocan 2012» υπήρξαν 1.360.602 περιπτώσεις ασθενών με ΚΠΕ παγκοσμίως με το 614.304 να αφορά γυναίκες ενώ 746.298 να αφορά άνδρες. Ο καρκίνος παχέος εντέρου αποτελεί τον τρίτο πιο συχνά εμφανιζόμενο καρκίνο. Από τις 614.304 περιπτώσεις στις γυναίκες οι 320.294 είναι θάνατοι ενώ από τις 746.298 περιπτώσεις ανδρών οι 373.639 αφορά θανάτους (WHO – IARC, 2012).

Οι υπολογισμοί αναφέρονται στο 2012, που είναι και η τελευταία διαθέσιμη χρονιά παγκόσμιας στατιστικής αποτύπωσης του καρκίνου. Από εκεί και πέρα, με μαθηματικά μοντέλα και εξειδικευμένους αλγόριθμους, αυτοί οι αριθμοί εφαρμόζονται στον πληθυσμό κάθε χώρας και παρουσιάζονται εκτιμήσεις και προβλέψεις για τα επόμενα χρόνια.

Για το 2018, υπολογίζονται 1.849.518 νέες περιπτώσεις με ΚΠΕ παγκοσμίως με το 1.026.215 (10,9%) να αφορά άνδρες και το 823.303 (9,5%) να αφορά γυναίκες. Συνολικά, ο καρκίνος του παχέος εντέρου κατατάσσεται στην τρίτη θέση όσον αφορά την επίπτωση, αλλά δεύτερος σε σχέση με τη θνησιμότητα. Στους άνδρες αποτελεί τον τρίτο σε συχνότητα καρκίνο μετά τον καρκίνο του πνεύμονα και τον καρκίνο του προστάτη. Μεταξύ των γυναικών, ο καρκίνος του μαστού είναι ο πιο συχνά διαγνωσμένος καρκίνος και η κύρια αιτία θανάτου

από καρκίνο, ακολουθούμενος από τον καρκίνο του παχέος εντέρου και του πνεύμονα όσον αφορά την συχνότητα εμφάνισης και αντίστροφα όσον αφορά τη θνησιμότητα (Bray & Siegel, 2018). Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζεται η κατανομή των περιπτώσεων και των θανάτων για τους 10 πιο συνηθείς καρκίνους το 2018 για τα δύο φύλα, τους άνδρες και τις γυναίκες.



Εικόνα 2.1: Διαγράμματα κατανομής των περιπτώσεων και των θανάτων για τους 10 πιο συνηθείς καρκίνους το 2018 για (A) και τα δύο φύλα, (B) άνδρες και (C) γυναίκες (Bray & Siegel, 2018) [15]

Στην Ευρώπη, ο ΚΠΕ καταλαμβάνει την δεύτερη θέση με τα νέα κρούσματα να φτάνουν στις 499.667 από τις οποίες οι 271.570 να αφορά άνδρες και οι 228.067 γυναίκες. Στις 271.570 νέες περιπτώσεις ανδρών οι 129.706 καταλήγουν σε θάνατο, ενώ οι 112.777 αφορά τους θανάτους σε γυναίκες από την εμφάνιση των 228.067 νέων περιπτώσεων (WHO – IARC, 2018).

Το 2015, 154.000 άνθρωποι απεβίωσαν από τον ΚΠΕ στην ΕΕ των 28, που ισοδυναμούσε με 11,7% όλων των θανάτων από καρκίνο και 3,0% του συνολικού αριθμού θανάτων από οποιαδήποτε αιτία. Αυτό αντιστοιχεί σε 3,3% για τους άνδρες και 2,6% για τις γυναίκες. Μεταξύ των μελών της ΕΕ η

συχνότητα των θανάτων εμφανίζεται στο μέγιστο για τη Σλοβενία σε ποσοστό 4% κι ακολουθούν με ποσοστό 3,8% η Κροατία και η Σλοβακία, η Ελλάδα βρίσκεται χαμηλά με ποσοστό 2,3% ενώ χώρες με χαμηλά ποσοστά κάτω του 2,5% είναι η Βουλγαρία, η Λιθουανία, η Ρουμανία και η Φιλανδία. Μεταξύ των κρατών μελών της ΕΕ, η Κύπρος κατέγραψε το χαμηλότερο ποσοστό θανάτων που αποδίδονται στον ΚΠΕ τόσο για άνδρες (2,0%) όσο και για γυναίκες (1,9%). Η Σλοβενία το 2015 κατέγραψε το υψηλότερο ποσοστό θανάτων για τους άνδρες (4.7%) που αποδόθηκαν στον καρκίνο του παχέος εντέρου, έναντι της Κροατίας, της Ουγγαρίας, της Σλοβακίας, της Ισπανίας και της Πορτογαλίας, όπου το ποσοστό των θανάτων για τους άνδρες ήταν μεταξύ 4,2% και 4,5%. Η Δανία, η Σλοβενία και η Σλοβακία κατέγραψαν το μεγαλύτερο ποσοστό θανάτων στις γυναίκες από ΚΠΕ (3,3%), ακολουθούμενη από τη Μάλτα και την Ουγγαρία (3,2%), την Ολλανδία, την Εσθονία και την Κροατία (3,1%). Για σχεδόν όλα τα κράτη μέλη το ποσοστό των θανάτων του ΚΠΕ ήταν υψηλότερο για τους άνδρες παρά για τις γυναίκες ενώ για το Λουξεμβούργο δεν υπήρχε σχεδόν καμμία διαφορά μεταξύ των φύλων.

Το 2015, το ποσοστό θνησιμότητας για τον ΚΠΕ ήταν το 30,4 ανά 100.000 κατοίκους, ποσοστό που ήταν λίγο πάνω από το ήμισυ του ποσοστού του καρκίνου του πνεύμονα. Μια ανάλυση ανά φύλο δείχνει σημαντική διαφορά μεταξύ των φύλων στα ποσοστά θνησιμότητας για τον ΚΠΕ σε ολόκληρη την ΕΕ: για τους άνδρες το ποσοστό ήταν 75% υψηλότερο από ό,τι για τις γυναίκες. Όπως είναι χαρακτηριστικό για τους καρκίνους στο σύνολό τους, το ποσοστό θνησιμότητας για τον καρκίνο του παχέος εντέρου για άτομα ηλικίας 65 ετών και άνω ήταν πολλές φορές υψηλότερο από ό,τι για τα νεότερα άτομα. Όταν εκφράστηκε ως αναλογία, ο αριθμός θανάτων για άτομα ηλικίας 65 ετών και άνω ήταν 18 φορές υψηλότερος από ό,τι για τους νεότερους. Όπως και με τον καρκίνο του πνεύμονα, το υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας για τον ΚΠΕ μεταξύ των κρατών μελών της ΕΕ το 2015 καταγράφηκε στην Ουγγαρία (54,1 ανά 100 000 κατοίκους), ακολουθούμενη από την Κροατία και τη Σλοβακία με ποσοστό περίπου 50 ανά 100.000 κατοίκους. Η Αυστρία, η Ελλάδα, η Φινλανδία και η Κύπρος ήταν τα μόνα κράτη μέλη που κατέγραψαν ποσοστά θνησιμότητας για τον ΚΠΕ τα οποία ήταν κάτω από 25,0 ανά 100.000 κατοίκους (Eurostat, 2016). Στον παρακάτω πίνακα (πιν. 2.1) παρουσιάζεται η θνητότητα από ΚΠΕ στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

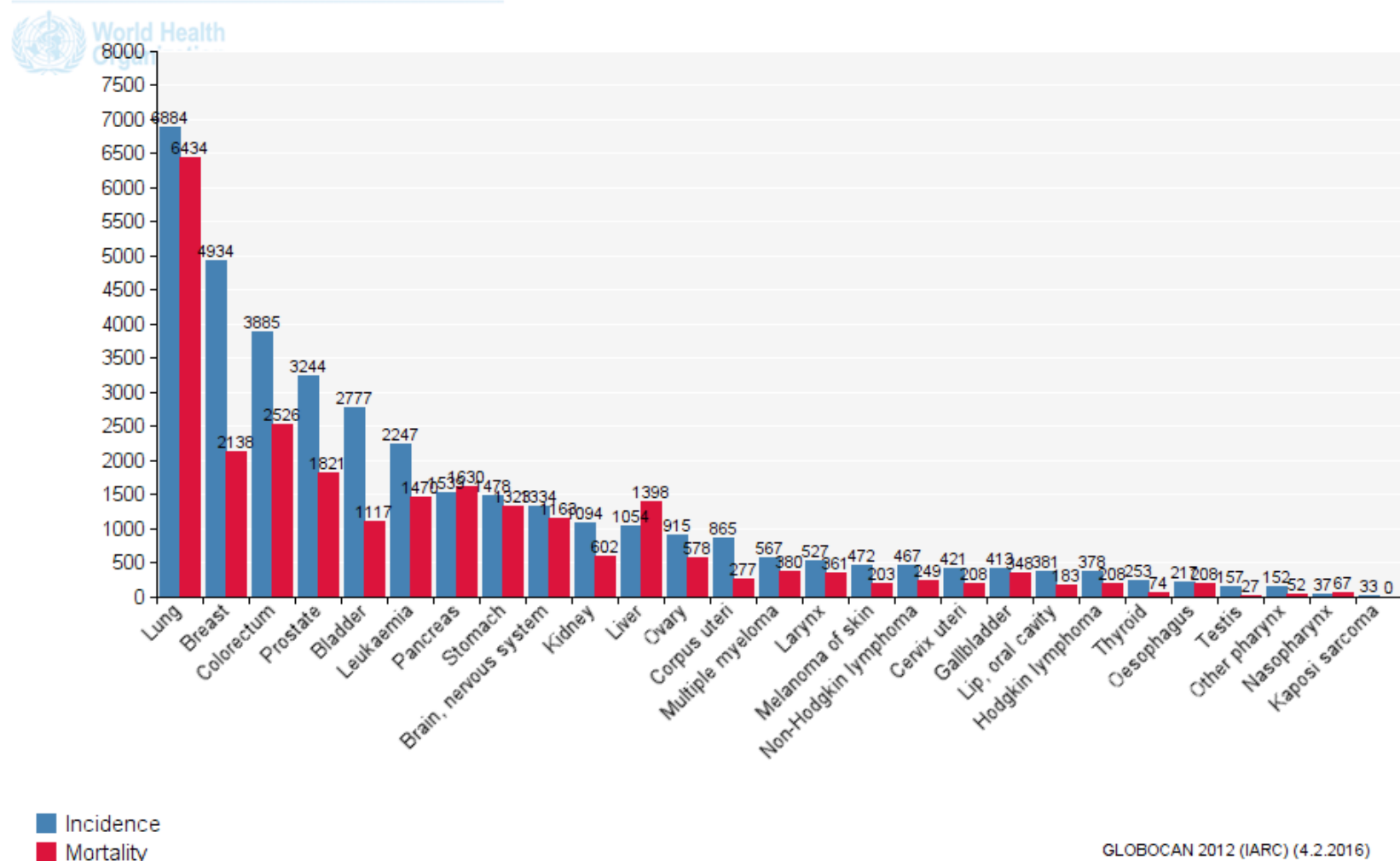
	Number of deaths (number)	Share of all deaths			Standardised death rates (per 100 000 inhabitants)				
		Total	Males	Females	Total	Males	Females	Persons aged < 65 years	Persons aged 65 and over
EU-28	154 208	3.0	3.3	2.6	30.4	40.5	23.2	7.2	126.2
Belgium	2 855	2.6	2.9	2.3	26.2	34.3	20.2	5.6	111.2
Bulgaria	2 504	2.3	2.5	2.0	34.1	47.6	25.0	9.2	137.2
Czech Republic	3 584	3.2	3.7	2.7	37.8	54.1	26.9	8.5	158.8
Denmark	1 836	3.5	3.7	3.3	35.3	42.4	29.9	7.8	148.7
Germany	25 450	2.7	3.0	2.5	28.3	36.6	22.2	6.3	119.3
Estonia	473	3.1	3.1	3.1	36.5	53.5	28.7	8.9	150.3
Ireland	1 009	3.4	4.0	2.7	32.0	44.0	22.5	7.1	134.7
Greece	2 808	2.3	2.6	2.1	23.2	30.2	17.7	4.8	99.2
Spain	15 373	3.7	4.3	3.0	32.7	46.7	22.6	7.6	136.6
France	17 697	3.0	3.2	2.8	26.3	34.8	20.3	6.1	109.6
Croatia	2 058	3.8	4.5	3.1	50.0	75.7	34.4	12.1	206.0
Italy	18 943	2.9	3.3	2.6	26.9	35.0	21.2	6.0	113.1
Cyprus	117	2.0	2.0	1.9	19.3	24.6	15.6	2.8	87.3
Latvia	703	2.5	2.4	2.6	35.1	47.3	29.3	8.1	146.4
Lithuania	979	2.4	2.5	2.2	33.8	51.2	25.0	8.3	139.3
Luxembourg	116	2.9	2.9	3.0	26.8	26.8	24.5	6.8	109.4
Hungary	5 003	3.8	4.4	3.2	54.1	78.8	38.7	15.6	213.1
Malta	122	3.5	3.9	3.2	31.5	40.1	24.9	5.5	138.6
Netherlands	5 174	3.5	4.0	3.1	33.5	41.8	27.3	7.5	140.6
Austria	2 047	2.5	2.9	2.1	24.5	33.6	18.0	5.0	105.2
Poland	12 165	3.1	3.3	2.8	37.8	55.1	27.3	9.1	156.4
Portugal	3 845	3.5	4.2	2.8	34.9	51.6	23.6	8.4	144.5
Romania	6 126	2.4	2.7	2.0	33.7	48.0	23.8	9.6	132.8
Slovenia	786	4.0	4.7	3.3	39.6	57.8	27.8	9.6	163.0
Slovakia	2 038	3.8	4.3	3.3	49.5	74.6	34.4	11.6	205.9
Finland	1 212	2.3	2.5	2.1	21.8	28.6	17.1	4.7	92.6
Sweden	2 778	3.1	3.3	2.8	28.7	35.0	23.9	6.0	122.7
United Kingdom	16 407	2.7	3.0	2.5	27.4	34.1	22.2	6.5	113.7
Iceland	69	3.2	3.7	2.7	29.0	35.8	23.0	4.1	132.1
Liechtenstein	5	2.0	2.6	1.6	15.8	22.3	10.7	0.0	81.0
Norway	1 588	4.0	4.2	3.8	36.2	42.3	31.2	7.6	154.7
Switzerland	1 775	2.6	3.0	2.3	22.6	29.7	17.5	4.8	96.3
Serbia	2 595	2.5	3.1	1.9	37.1	52.9	25.5	11.1	144.5
Turkey	6 915	1.8	1.9	1.6	19.0	25.4	14.3	5.1	76.7

Source: Eurostat (online data codes: hlth_cd_aro and hlth_cd_asdr2)

Πίνακας 2.1: Θνητότητα από καρκίνο του παχέος εντέρου στις χώρες της ΕΕ

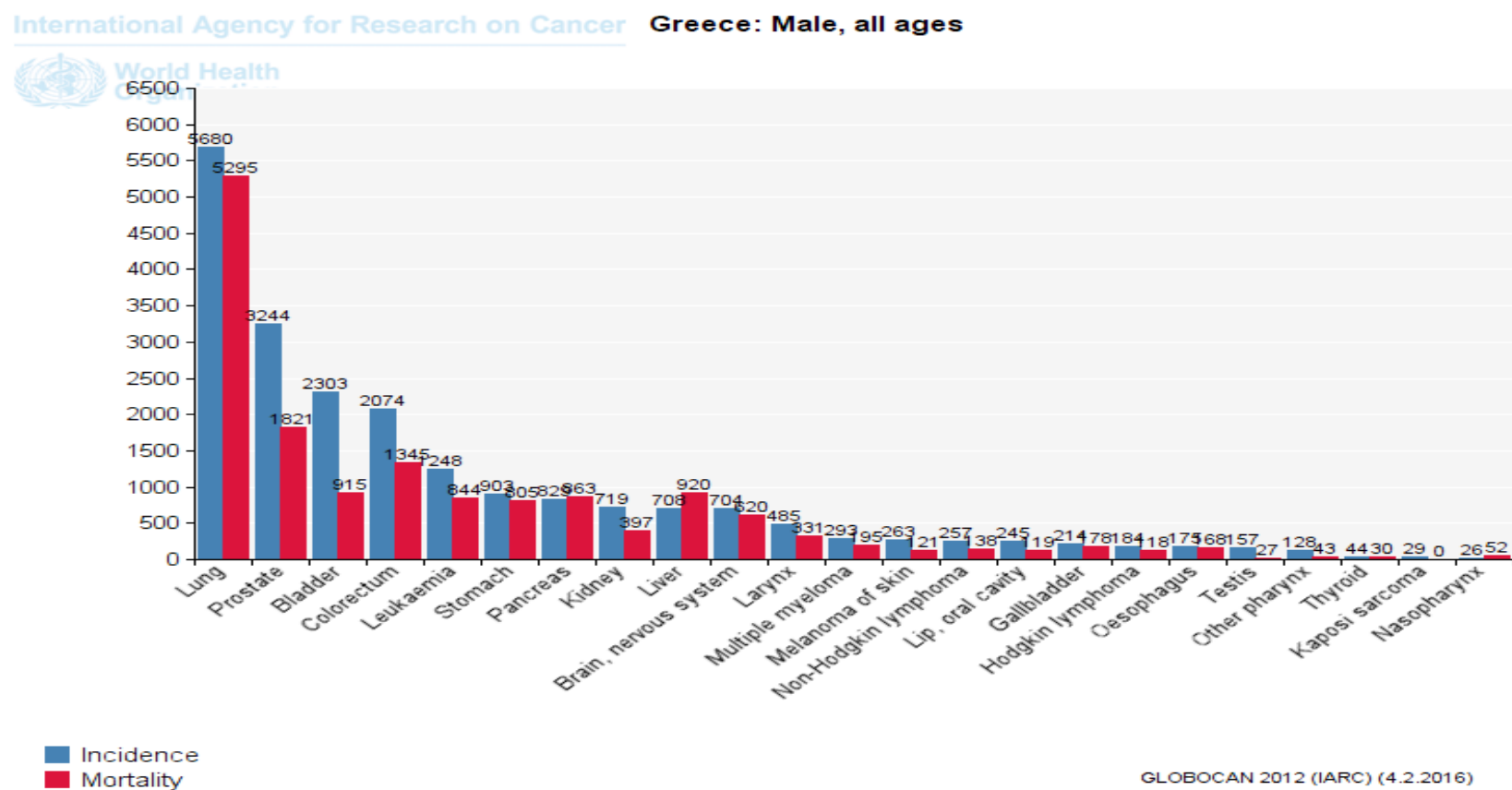
Πηγή: Eurostat, 2016

Στην Ελλάδα ο πιο συχνός καρκίνος είναι ο καρκίνος του πνεύμονα, ακολουθούν οι καρκίνοι του μαστού, του παχέος εντέρου, ο καρκίνος του προστάτη και ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης. Για τον ΚΠΕ ο αριθμός των νέων περιπτώσεων για το 2012 ήταν 3.885 και οι θάνατοι 2.526 (WHO – IARC, 2012). (εικ. 2.2)



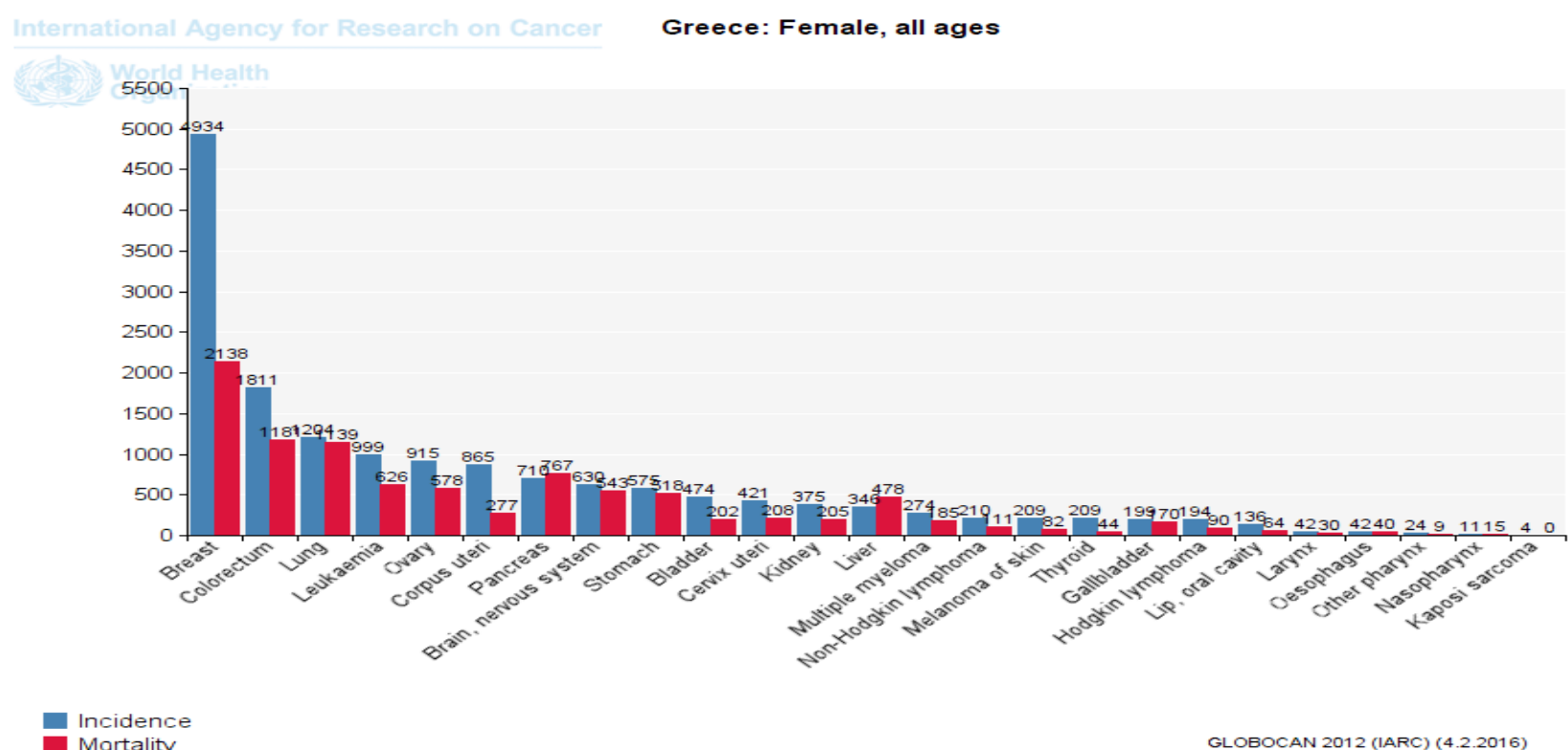
Εικόνα 2.2: αριθμός νέων περιπτώσεων και θανάτων στην Ελλάδα για τα δυο φύλα

Στους άνδρες ο πιο συχνά εμφανιζόμενος καρκίνος είναι ο καρκίνος του πνεύμονα, ενώ ο καρκίνος του παχέος εντέρου καταλαμβάνει την τέταρτη θέση με τα νέα κρούσματα να είναι 2.074, ενώ οι θάνατοι ανέρχονται στις 1.345 (WHO – IARC, 2012). (εικ. 2.3)



Εικόνα 2.3: αριθμός νέων περιπτώσεων και θανάτων στην Ελλάδα για τους άνδρες [18]

Σε αντίθεση με τους άνδρες ο ΚΠΕ στις γυναίκες καταλαμβάνει την δεύτερη θέση μετά τον καρκίνο του μαστού. Οι νέες περιπτώσεις γυναικών με ΚΠΕ είναι 1.811 και οι θάνατοι 1181 σε σχέση με τους θανάτους από καρκίνο του μαστού που ο αριθμός φτάνει τις 2.138 ένας αριθμός άκρως ανησυχητικός για την επιστημονική κοινότητα (WHO – IARC, 2012) (εικ. 2.4).



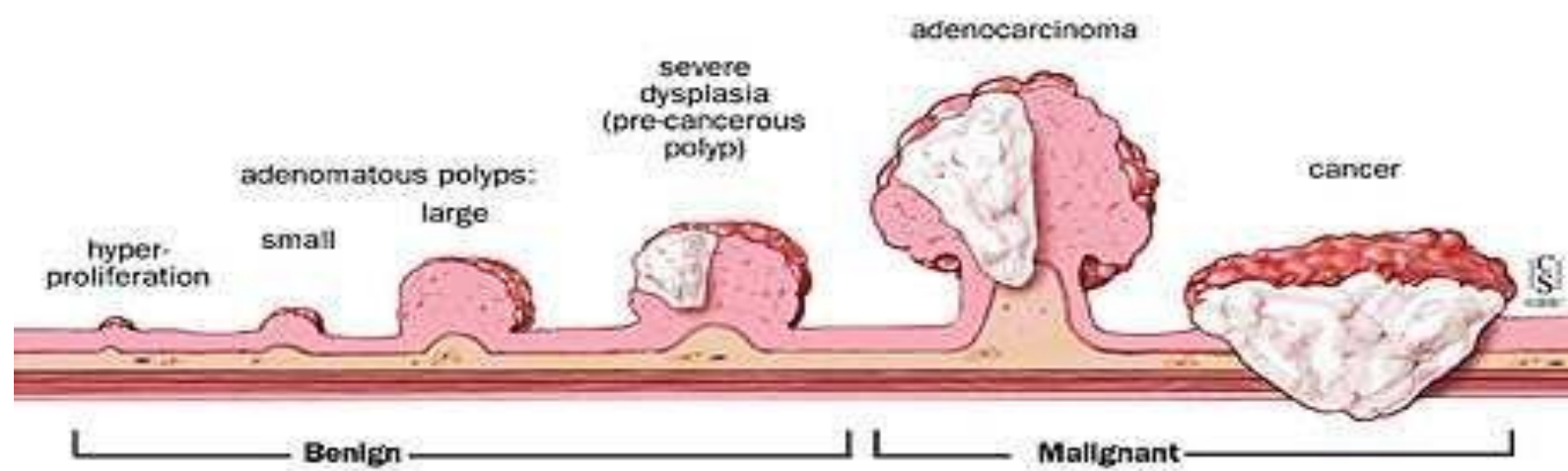
Εικόνα 2.4: αριθμός νέων περιπτώσεων και θανάτων στην Ελλάδα για τις γυναίκες

ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Τα φυσιολογικά κύτταρα στο σώμα μας αυξάνονται, διαιρούνται και πεθαίνουν με έναν αυστηρά ελεγχόμενο τρόπο (απόπτωση), αντιθέτως τα καρκινικά κύτταρα διαφέρουν διότι συνεχίζουν να διαιρούνται ανεξέλεγκτα, δεν υπόκεινται στις διαδικασίες της απόπτωσης ή άλλης μορφής προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και τα κύρια χαρακτηριστικά τους είναι η αγγειογένεση για την αιμάτωση τους και η μετάσταση τους με την διήθηση ιστών και οργάνων.

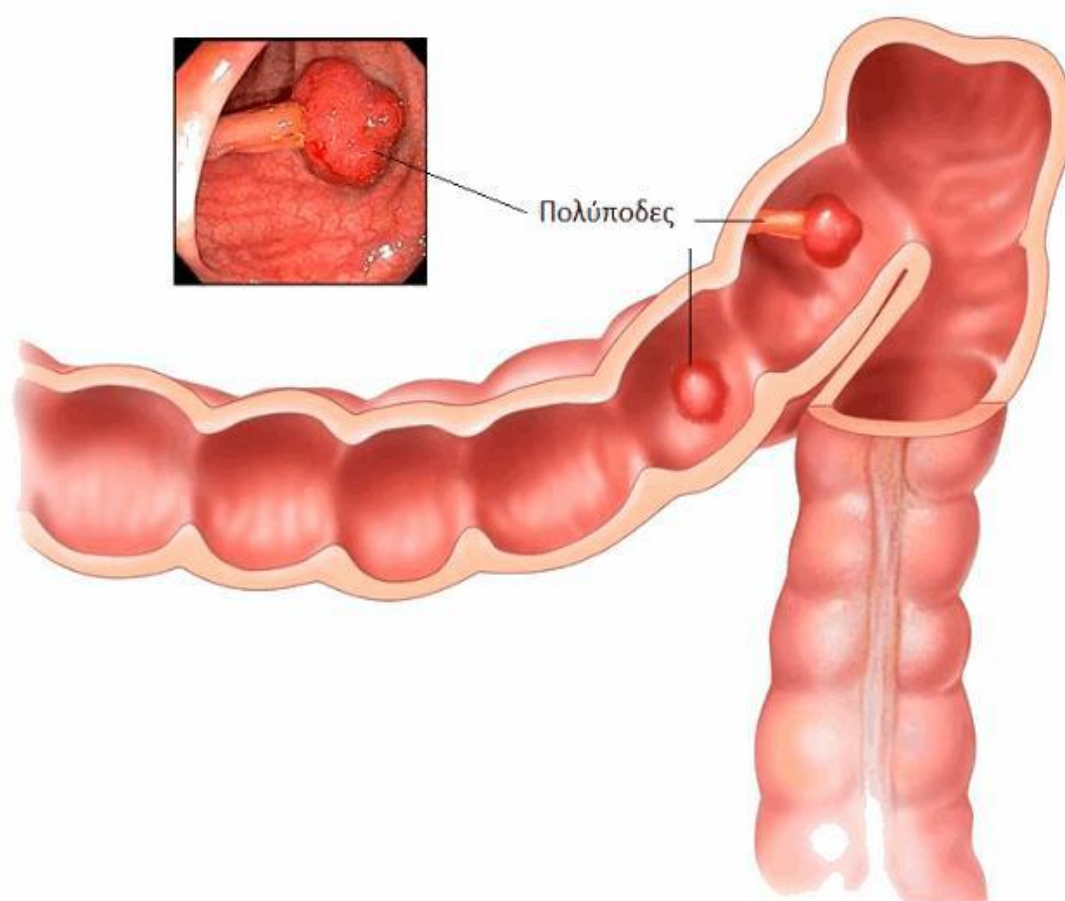
Τα νεοπλάσματα του παχέος εντέρου μπορεί να είναι είτε καλοήθη είτε κακοήθη. Οι καλοήθεις όγκοι αποτελούν μια μη νεοπλασματική οντότητα η οποία συνήθως δεν είναι απειλητική για τη ζωή του ασθενούς. Στην περίπτωση όμως που δεν αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά και εγκαίρως μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα. Τα κακοήθη νεοπλάσματα αναφέρονται στην ανώμαλη και ανεξέλεγκτη ανάπτυξη κυττάρων που έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία μιας μάζας κυττάρων που ονομάζεται όγκος. Τα κύτταρα αυτά μπορεί να μεταναστεύσουν μέσω αίματος ή λέμφου και σε άλλα όργανα, και η ασθένεια να επεκταθεί και σε άλλα σημεία του σώματος (μετάσταση). Οι όγκοι μπορεί να είναι καλοήθεις δίχως δυνατότητα μετάστασης ή κακοήθεις με δυνατότητα μετάστασης.

Οι πιο συχνοί καλοήθεις όγκοι είναι οι πολύποδες. Ο συνηθέστερος κακοήθης όγκος είναι το αδενοκαρκίνωμα. Η πλειοψηφία των κακοήθων όγκων του παχέος εντέρου σε ποσοστό άνω του 90% είναι επιθηλιακής προέλευσης και σχεδόν πάντα πρόκειται για αδενοκαρκίνωμα. Προκαρκινικά στάδια των αδενοκαρκινωμάτων είναι οι αδενωματώδεις πολύποδες του παχέος εντέρου (Coleman and Tsongalis, 2017). Στην εικόνα που ακολουθεί παρουσιάζεται η εξέλιξη μιας καλοήθους αλλοίωσης, σε αδενοκαρκίνωμα μετά από διαφορετικά στάδια (εικ. 2.5).



Εικόνα 2.5: στάδια ανάπτυξης και εξέλιξης του ΚΠΕ (hopkinscoloncancercenter.org)

Με τον όρο πολύποδες περιγράφονται μάζες που προέρχονται από το τοίχωμα του εντέρου (συνήθως το επιθήλιο) και μπορεί να προπίπτουν ή να προβάλλουν στον αυλό του εντέρου. Οι πολύποδες είναι συχνό εύρημα και ανευρίσκονται στο 30% περίπου των ατόμων ηλικίας έως 50 ετών. Το μέγεθός τους μπορεί να κυμαίνεται από λίγα χιλιοστά έως αρκετά εκατοστά, και η μορφολογία τους ποικίλλει (μισχωτοί, επίπεδοι). Ιστολογικά διακρίνονται σε νεοπλασματικούς και μη νεοπλασματικούς.



Εικόνα 2.6: πολύποδες παχέος εντέρου

Οι μη νεοπλασματικοί πολύποδες (30%) είναι οι φλεγμονώδεις, οι υπερπλαστικοί και οι αμαρτωματώδεις (οι οποίοι θεωρούνται και καλοήθεις πολύποδες). Νεοπλασματικοί πολύποδες (70%) θεωρούνται κατά κύριο λόγο οι

αδενωματώδεις, τα σωληνώδη αδενώματα (80%), τα σωληνολαχνωτά (15%), και οι λαχνωτοί αδενωματώδεις πολύποδες (5%) (Polyak et al., 1996).

Όλα τα αδενώματα είναι δυσπλαστικά. Ιστολογικά η δυσπλασία αυτή διακρίνεται σε ήπια, μέτρια και σοβαρή. Το αδένωμα αποτελεί δυσπλασία των επιθηλιακών κυττάρων των λαχνών και εντοπίζεται στο βλεννογόνο. Τα αδενώματα προοδευτικά μεγαλώνουν σε μέγεθος και επεκτείνονται προς τις βαθύτερες στιβάδες του τοιχώματος του εντέρου. Η διήθηση του υποβλεννογόνιου χιτώνα αποτελεί το κριτήριο που χαρακτηρίζει τη μετάβαση του αδενώματος σε αδενοκαρκίνωμα (Polyak et al., 1996).

Οι πολύποδες του παχέος εντέρου χωρίζονται με βάση μορφολογικά χαρακτηριστικά (έμμισχοι-άμισχοι), με την τοποθεσία τους και τα ιστολογικά χαρακτηριστικά τους.

Τα αδενοκαρκινώματα αποτελούν περίπου το 96% των καρκίνων του παχέος εντέρου. Στην κατηγορία των αδενοκαρκινωμάτων συμπεριλαμβάνονται τα βλεννώδη, με συχνότητα εμφάνισης 10-15% και τα “ δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου” (signet ring cell) καρκινώματα με συχνότητα εμφάνισης 0,1-2,4% αντίστοιχα (Akkoma et al., 2014). Τα τελευταία έχουν κακή πρόγνωση, ενώ σε σύγκριση με άλλους τύπους αδενοκαρκινωμάτων παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα περιτοναϊκών εμφυτεύσεων και λεμφαδενικών μεταστάσεων. Τα βλεννώδη αδενοκαρκινώματα παρουσιάζονται συνήθως σε πιο προχωρημένο στάδιο, εμφανίζουν συχνότερα λεμφαδενικές μεταστάσεις από τους μη βλεννώδεις όγκους, αλλά έχουν παρόμοια πρόγνωση όταν εξετάζονται κατά στάδιο (Fleming et al., 2012).

ΠΩΣ ΞΕΚΙΝΑΕΙ Ο ΚΠΕ

Ο ΚΠΕ ξεκινά συνήθως ως μια προκαρκινωματώδης αλλοίωση που ονομάζεται πολύποδας ο οποίος αναπτύσσεται στον βλεννογόνο του παχέος εντέρου ή του ορθού και μεγαλώνει αργά, σε μια περίοδο 10 έως 20 ετών. Ένας αδενωματώδης πολύποδας, ή αδένωμα, είναι ο πιο κοινός τύπος. Τα αδενώματα προκύπτουν από αδενικά κύτταρα, τα οποία παράγουν βλέννη απαραίτητη για την επάλειψη του βλεννογόνου του παχέος εντέρου. Περίπου το ένα τρίτο έως και το ήμισυ από όλα τα άτομα θα αναπτύξουν τελικά ένα ή περισσότερα αδενώματα. Αν και όλα τα αδενώματα έχουν τη δυνατότητα να γίνουν καρκινικά, λιγότερο από το 10% εξελίσσονται σε καρκίνο. Η πιθανότητα να γίνει καρκίνωμα ένα αδένωμα αυξάνεται καθώς γίνεται μεγαλύτερο. Ο καρκίνος

αναπτύσσεται από το βλεννογόνο του παχέος εντέρου και ονομάζεται αδενοκαρκίνωμα. Ο καρκίνος του παχέος εντέρου που αναπτύσσεται από το βλεννογόνο, μπορεί να διηθήσει το μυϊκό τοίχωμα του παχέος εντέρου ή του ορθού. Ο καρκίνος που έχει διηθήσει τον μυϊκό χιτώνα μπορεί επίσης να διεισδύσει στο αίμα μέσω των αγγειακών κλάδων και των λεμφαγγείων. Τα καρκινικά κύτταρα συνήθως εξαπλώνονται πρώτα σε κοντινούς λεμφαδένες, οι οποίοι είναι δομές σε σχήμα φασολιών που βοηθούν στην καταπολέμηση των λοιμώξεων. Τα καρκινικά κύτταρα μπορούν επίσης να μεταφερθούν μέσω των αιμοφόρων αγγείων σε άλλα όργανα και ιστούς, όπως το ήπαρ, τους πνεύμονες ή το περιτόναιο (μεμβράνη που περιβάλλει την κοιλιακή χώρα). Η εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων σε μέρη του σώματος μακριά από την πρωτοπαθή εστία του όγκου ονομάζεται μετάσταση.

ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΚΠΕ

Η σταδιοποίηση του ΚΠΕ μπορεί να εφαρμοστεί με διαφορετικά συστήματα χωρίς να υπάρχει διάκριση ποιο είναι το καλύτερο. Τα βασικότερα συστήματα σταδιοποίησης είναι τρία, το σύστημα κατά Duke, το σύστημα Aster-Coller και το σύστημα TNM.

Η σταδιοποίηση κατά Dukes χρησιμοποιήθηκε για καρκινώματα του ορθού όμως βρίσκει εφαρμογή για όλο το παχύ έντερο. Στο στάδιο A περιλαμβάνονται οι όγκοι που διηθούν έως και τμήμα του μυϊκού χιτώνα, στο στάδιο B οι όγκοι που διηθούν όλο το μυϊκό χιτώνα και επεκτείνονται πέραν αυτού στο περικολικό λίπος και τον ορογόνο και στο στάδιο C οι όγκοι που έχουν διηθήσει λεμφαδένες του μεσεντερίου.

Η κατάταξη Dukes έχει τροποποιηθεί αρκετές φορές, στην προσπάθεια να αυξηθεί η προγνωστική της αξία όσον αφορά τον καρκίνο του παχέος εντέρου και ορθού. Μία από τις συχνότερα χρησιμοποιούμενες τροποποιήσεις της σταδιοποίησης κατά Dukes είναι αυτή που προτάθηκε το 1954 από τους Astler και Coller (Παπασταματίου και Νικολόπουλος, 2010).

Αυτή η κατάταξη περιγράφει τα εξής στάδια:

- A για όγκους που περιορίζονται στο βλεννογόνο

- B1, για όγκους που εκτείνονται μέσα στη μυϊκή στιβάδα αλλά δεν την ξεπερνούν
- B2, για όγκους που ξεπερνούν το τοίχωμα του εντέρου με διάσπαση του ορογόνου αλλά χωρίς συμμετοχή λεμφαδένων
- B3, για όγκους που διηθούν γειτονικά όργανα.
- C, για όγκους με διηθημένους τοπικούς λεμφαδένες. Το στάδιο C χωρίζεται επιπλέον στο C1, για όγκους που περιορίζονται στο τοίχωμα του εντέρου και στο C2, για όγκους που το διαπερνούν.

Κατά την τροποποίηση της σταδιοποίησης του Dukes από τον Turnbull και τους συνεργάτες του προτείνεται ακόμα το στάδιο D, που αφορά απομακρυσμένες μεταστάσεις (Παπασταματίου και Νικολόπουλος, 2010).

Ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο σύστημα είναι η ταξινόμηση κακοήθων όγκων κατά το σύστημα TNM το οποίο αναπτύχθηκε από τον Pierre Denoix (Γαλλία) μεταξύ των ετών 1943 και 1952.

Το σύστημα TNM (8η Έκδοση) που προτείνεται από την American Joint Comitee on Cancer (AJCC) και την International Union Against Cancer (IUCC) ταξινομεί τους όγκους βάσει τριών παραμέτρων:

A. τον πρωτοπαθή όγκο T (tumor),

B. τον αριθμό των διηθημένων λεμφαδένων από καρκινικά κύτταρα N (nodes) και

Γ. την παρουσία ή μη απομακρυσμένων μεταστάσεων M (metastases) (Brierley et al., 2017).

Η παράμετρος T σταδιοποιείται ως εξής:

- Tx: αδυναμία προσδιορισμού ύπαρξης πρωτοπαθούς όγκου
- T0: απουσία απόδειξης πρωτοπαθούς όγκου
- Tis: καρκίνωμα in situ (αποκλειστικά στον βλεννογόνο)
- T1: επέκταση της διήθησης στον υποβλεννογόνο χιτώνα
- T2: επέκταση της διήθησης στον μυϊκό χιτώνα

·T3: επέκταση της διήθησης πέραν του μυϊκού χιτώνα χωρίς να διασπά τον ορογόνο ή όπου δεν υπάρχει ορογόνος επέκταση στους περικολικούς ή περιορθικούς ιστούς

· T4: ο όγκος διηθεί κατ' επέκταση άλλα όργανα (T4β) ή διαπιτρώνει το σπλαχνικό περιτόναιο (ορογόνο) (T4α)

Η ταξινόμηση με βάση τους λεμφαδένες N έχει ως εξής:

· Nx: δεν μπορούν να προσδιορισθούν επιχώριοι λεμφαδένες

· N0: δεν υπάρχει μετάσταση σε επιχώριους λεμφαδένες

· N1a: μετάσταση σε 1 επιχώριο λεμφαδένα

· N1b: μετάσταση σε 2-3 επιχώριους λεμφαδένες

· N1c:υπάρχουν οζίδια σε ιστούς γύρω από το παχύ έντερο ή το ορθό που δεν φαίνεται να είναι λεμφαδένες.

· N2a: μετάσταση σε 4-6 επιχώριους λεμφαδένες

· N2b: μετάσταση σε 7 ή περισσότερους επιχώριους λεμφαδένες

Η ταξινόμηση σύμφωνα με το αν εντοπίζονται ή όχι μεταστάσεις M έχει ως εξής:

· Mx: δεν μπορούν να προσδιορισθούν απομακρυσμένες μεταστάσεις

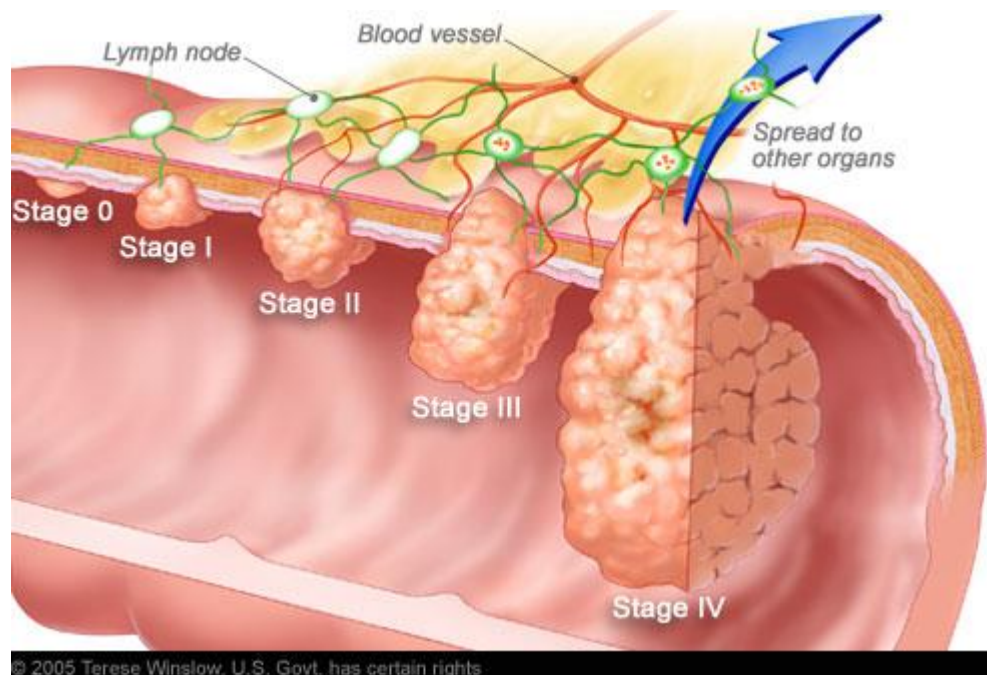
· M0: δεν υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις

· M1a: υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις σε μια άλλη περιοχή του σώματος πέραν του παχέος εντέρου ή του ορθού.

· M1b: υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις σε περισσότερες από μια περιοχές του σώματος πέραν του παχέος εντέρου ή του ορθού.

· M1c: ο καρκίνος έχει επεκταθεί στο σπλαχνικό περιτόναιο.

Η σταδιοποίηση του ΚΠΕ κατά το σύστημα TNM οδηγεί σε τέσσερα στάδια
Εικ2.7.



Εικόνα 2.7: στάδια ανάπτυξης ΚΠΕ (Nichita, 2013)

Στάδιο 0:

Tis, N0, M0: Ο καρκίνος είναι πρώιμος. Δεν έχει επεκταθεί πέραν του βλεννογόνου του παχέος εντέρου ή του ορθού. Αυτό το στάδιο είναι γνωστό επίσης ως καρκίνος in situ ή ενδοβλεννογόνο καρκίνωμα.

Στάδιο I:

A) T1, T2, N0, M0: Ο καρκίνος έχει επεκταθεί δια του βλεννογόνου στον υποβλεννογόνο ή και στο μυϊκό χιτώνα, αλλά δεν έχει επεκταθεί σε επιχώριους λεμφαδένες ή σε απομακρυσμένες περιοχές.

Στάδιο II :

A) T3, N0, M0: ο καρκίνος έχει διηθήσει έως τον ορογόνο χιτώνα χωρίς να τον διηθεί και να τον διασπά ή όπου δεν υπάρχει ορογόνο επέκταση προς τους περικολικούς ή περιορθικούς ιστούς. Δεν έχει επεκταθεί σε γειτονικά όργανα, επιχώριους λεμφαδένες ή σε απομακρυσμένες περιοχές.

B) T4a, N0, M0: Ο καρκίνος έχει διηθήσει το μυϊκό χιτώνα και διηθεί τον ορογόνο της κοιλιακής χώρας, που ονομάζεται σπλαχνικό περιτόναιο. Δεν έχει επεκταθεί σε γειτονικά όργανα, επιχώριους λεμφαδένες ή σε απομακρυσμένες περιοχές.

C)T4b, N0, M0: Ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί μέσω του τοιχώματος του παχέος εντέρου ή του ορθού και έχει αναπτυχθεί σε κοντινές δομές. Δεν έχει επεκταθεί σε επιχώριους λεμφαδένες ή σε απομακρυσμένες περιοχές.

Στάδιο III:

A) T1 ή T2, N1 ή N1c, M0; ή T1, N2a, M0: Ο καρκίνος έχει επεκταθεί μέσω του βλεννογόνου στον υποβλεννογόνο ή και στο μυϊκό χιτώνα. Έχει διηθήσει 1-3 επιχώριους λεμφαδένες ή υπό τη μορφή οζιδίου σε ιστούς γύρω από το παχύ έντερο ή το ορθό που δεν φαίνεται να είναι λεμφαδένες. Δεν έχει εξαπλωθεί σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος.

ή Ο καρκίνος έχει επεκταθεί έως τον υποβλεννογόνο χιτώνα και έχει διηθήσει 4-6 επιχώριους λεμφαδένες. Δεν έχει εξαπλωθεί σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος.

B) T3 ή T4a, N1 ή N1c, M0; T2 ή T3, N2a, M0; ή T1 ή T2, N2b, M0: Ο καρκίνος διηθεί τον υπορογόνο ή και τον ορογόνο αλλά δεν επεκτείνεται σε γειτονικά όργανα. Έχει διηθήσει 1-3 επιχώριους λεμφαδένες ή υπό τη μορφή οζιδίου σε ιστούς γύρω από το παχύ έντερο ή το ορθό που δεν φαίνεται να είναι λεμφαδένες αλλά δεν έχει εξαπλωθεί σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος.

ή Ο καρκίνος έχει διηθήσει έως τον μυϊκό χιτώνα ή διηθεί έως τον ορογόνο χιτώνα χωρίς να τον διηθεί και να τον διασπά ή όπου δεν υπάρχει ορογόνος επέκταση προς τους περικολικούς ή περιορθικούς ιστούς και έχει διηθήσει 4-6 επιχώριους λεμφαδένες. Δεν έχει εξαπλωθεί σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος.

ή Ο καρκίνος έχει επεκταθεί μέσω του βλεννογόνου στον υποβλεννογόνο ή και στο μυϊκό χιτώνα και έχει διηθήσει 7 ή περισσότερους επιχώριους λεμφαδένες. Δεν έχει εξαπλωθεί σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος.

C) T4a, N2a, M0; T3 ή T4a, N2b, M0; ή T4b, N1 ή N2, M0: Ο καρκίνος ανεξάρτητα από το πόσο βαθιά έχει αναπτυχθεί, έχει εξαπλωθεί σε 4 ή περισσότερους λεμφαδένες αλλά δεν έχει εξαπλωθεί σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος.

Στάδιο IV:

A) οποιοδήποτε T, οποιοδήποτε N, M1a: Ο καρκίνος μπορεί να είναι οποιοδήποτε T και οποιοδήποτε N αλλά έχει δώσει απομακρυσμένες

μεταστάσεις όπως στο ήπαρ ή στους πνεύμονες ή σε απομακρυσμένους λεμφαδένες.

B) οποιοδήποτε T, οποιοδήποτε N, M1b: Ο καρκίνος έχει δώσει απομακρυσμένες μεταστάσεις σε περισσότερες από μια περιοχές του σώματος ή σε απομακρυσμένους λεμφαδένες.

C) οποιοδήποτε T, οποιοδήποτε N, M1c: Ο καρκίνος έχει επεκταθεί στο σπλαχνικό περιτόναιο και έχει δώσει απομακρυσμένες μεταστάσεις σε όργανα, σε απομακρυσμένους λεμφαδένες και σε άλλες περιοχές του σώματος.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΠΕ

Τα αίτια του ΚΠΕ παραμένουν άγνωστα όπως αναφέρει η Αμερικανική Αντικαρκινική Εταιρεία. Περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες (κληρονομικότητα) αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης ΚΠΕ. Επισημαίνεται, ότι ποσοστό 50-80% των περιστατικών ΚΠΕ θεωρείται ότι οφείλονται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, στους οποίους σημαντικό ρόλο έχουν οι διατροφικές συνήθειες (American Cancer Society, 2011). Στη συνέχεια του κεφαλαίου θα παρουσιαστούν αναλυτικά οι συγκεκριμένοι παράγοντες.

1.ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Η συσχέτιση μεταξύ διατροφικών αιτιών και καρκίνου ΚΠΕ έχει γίνει κατανοητή εδώ και μία δεκαετία. Έχει υπολογιστεί ότι το 1/3 έως και το 1/2 των περιπτώσεων καρκίνου του ΚΠΕ και το 1/4 έως και το 1/3 των περιπτώσεων αδενώματος θα μπορούσαν να αποφευχθούν με την αλλαγή των διατροφικών συνηθειών και του τρόπου ζωής. Ο καρκίνος του παχέος εντέρου εμφανίζει τη μεγαλύτερη επίπτωση στις αναπτυγμένες χώρες όπου η κατανάλωση κρεάτων, λιπών ή επεξεργασμένων υδατανθράκων είναι υψηλή (Papapolychroniadis, 2004).

Για πολλά χρόνια, δίαιτα πλούσια σε φρούτα και λαχανικά συνδεόταν με ελαττωμένο κίνδυνο ΚΠΕ. Το συμπέρασμα αυτό προέκυψε από επιδημιολογικά δεδομένα που έδειχναν χαμηλότερη επίπτωση ορθοκολικού καρκίνου σε υπανάπτυκτες χώρες, όπου οι φυτικές ίνες αποτελούν σημαντικό τμήμα της διατροφής, αλλά και από θεωρίες παθογένεσης οι οποίες τόνιζαν την επιταχυνόμενη κένωση του εντέρου ως μέσο πρόληψης της καρκινογένεσης,

που προκύπτει από την παρατεταμένη επαφή των καρκινογενετικών προϊόντων με τον εντερικό βλεννογόνο (Τσακίριδου και συν., 2010).

Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι οι δίαιτες που περιέχουν σε μεγάλο ποσοστό κόκκινο κρέας, ζωικό λίπος, πιθανόν να συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΚΠΕ, και ιδιαίτερα με εντόπιση στο αριστερό κόλο. Συγκεκριμένα, μια συστηματική ανασκόπηση μελετών έχει δείξει ότι η κατανάλωση κόκκινου κρέατος αυξάνει τον κίνδυνο για ορθοκολικό καρκίνο - αν και δεν είναι απόλυτα σαφές αν αυτό καθαυτό το κρέας ή ο τρόπος παρασκευής του συνδέονται με αυτή την αύξηση (American Cancer Society, 2011). Επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν ότι, σε γενετικά προδιατεθειμένα άτομα, η μεγάλη κατανάλωση κρέατος, ψημένου σε υψηλές θερμοκρασίες, για παρατεταμένο χρονικό διάστημα και κυρίως σε άμεση επαφή με τη φωτιά, επηρεάζει την παραγωγή ετεροκυκλικών αμινών από κρεατινίνη ή πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων, αυξάνει την παρουσία πρόδρομων νιτροζαμινών και προδιαθέτει σε καρκίνο (Kushi and Giovannucci, 2002; Ryan-Harshmann and Aldoori, 2007).

Τα καλύτερα επιδημιολογικά δεδομένα μέχρι σήμερα παρέχονται στη μελέτη των Willett et al. (1990) αποδεικνύοντας ότι η αυξημένη κατανάλωση κρέατος αποτελεί έναν από τους παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του παχέος εντέρου, ανεξάρτητα μάλιστα από τη συμμετοχή της κατανάλωσης αυτής στην ημερήσια πρόσληψη λίπους και το συνολικό ποσό προσλαμβανομένων θερμίδων (Willett et al., 1990).

Επίσης, από μια πρόσφατη δημοσιευμένη μετα-ανάλυση 13 αναδρομικών μελετών σχετικά με την κατανάλωση κρέατος και τον κίνδυνο ΚΠΕ, φαίνεται να υπάρχει μια σαφής συσχέτιση της πρόσληψης επεξεργασμένου κρέατος και της αύξησης κατά 12–17% του κινδύνου με την πρόσληψη 100 g κρέατος καθημερινά. Ο κίνδυνος αυξανόταν επιπλέον έως 49% με την αύξηση κατά 25 g της κατανάλωσής του, ενώ το αυξημένο ποσοστό κινδύνου πιθανολογείται ότι προκύπτει από την παρουσία νιτροζαμινών λόγω της επεξεργασίας (Sandhu et al., 2001).

Το κόκκινο κρέας περιέχει σίδηρο προσδεμένο σε αίμη από μυοσφαιρίνη, κυτοχρώματα και αιμοσφαιρίνη. Το περιεχόμενο και η αναλογία αυτών των πρωτεϊνών που περιέχουν αίμη ποικίλλουν σημαντικά ανάλογα με το είδος προέλευσης, την ηλικία του ζώου και την ανατομική θέση της πηγής. Σε πολλά

κόκκινα κρέατα, όπως το βόειο κρέας, η μυοσφαιρίνη συμβάλλει έως και στο 50% στη διαθεσιμότητα του σιδήρου, καθιστώντας τη μυοσφαιρίνη ιδιαίτερα σημαντική για μελέτες που προορίζονται για να αντιπροσωπεύσουν την τυπική πρόσληψη κρέατος.

Ένα χαρακτηριστικό του κόκκινου κρέατος που έχει μελετηθεί εκτεταμένα για να καθορίσει τη δυνητική συμβολή του στην ανάπτυξη του ΚΠΕ είναι ο σίδηρος, που περιλαμβάνεται στη αίμη. Οι περισσότερες μελέτες αξιολογούν τις επιπτώσεις του σιδήρου χρησιμοποιώντας αιμοσφαιρίνη ή άλλες αιματικές ενώσεις ως υποκατάστατο για τις πρωτεΐνες που περιέχουν αίμη στο κρέας, όπως η μυογλοβίνη και τα κυτοχρώματα. Η συγκέντρωση της αίμης που χρησιμοποιείται σε αυτές τις μελέτες είναι ένας σημαντικός παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη για να αξιολογηθούν τα συμπεράσματα σχετικά με την επίδραση της δίαιτας στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

Τα νιτρικά και τα νιτρώδη που συναντάμε κυρίως στα επεξεργασμένα τρόφιμα και αλλαντικά όπου προστίθενται για λόγους συντήρησης θεωρούνται καρκινογόνες και μεταλλαξιογόνες ουσίες. Τα νιτρικά, αλλά και τα νιτρώδη που μετατρέπονται σε νιτρικά από βακτήρια, αντιδρούν με τις αμίνες ή τα αμίδια που προέρχονται από τις πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα το σχηματισμό NOCs, που είναι ισχυρά οργανο-ειδικά ζωικά καρκινογόνα (Miller et.al 2013). Οι περισσότερες από τις 14 προοπτικές συγκριτικές έρευνες που εξέτασαν τη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης βιομηχανικά επεξεργασμένου κρέατος και του κινδύνου ανάπτυξης ΚΠΕ κατέδειξαν αυξημένο κίνδυνο με αυξημένη πρόσληψη. Η μεταανάλυση τους οδήγησε σε κατά 21% αυξημένο κίνδυνο για κάθε πρόσληψη 50γρ. βιομηχανικά επεξεργασμένου κρέατος ημερησίως.

Όσον αφορά την κατανάλωση λίπους, είναι γνωστό ότι δίαιτες πλούσιες σε λιπαρά προκαλούν μεγαλύτερη έκκριση χολικών οξέων γεγονός που συνδέεται με μεγαλύτερη επίπτωση ορθοκολικού καρκίνου. Σε πειραματόζωα, τα χολικά οξέα φαίνεται ότι λειτουργούν ως παράγοντες “προαγωγοί” της καρκινογένεσης στο παχύ έντερο, ιδιαιτέρως κατόπιν της μετατροπής τους από τους εντερικούς μικροοργανισμούς. Άλλος πιθανός μηχανισμός είναι η διέγερση της έκκρισης ενδογενούς ινσουλίνης που προκαλείται από τη βρώση κόκκινου κρέατος, η οποία έχει γνωστές μιτογόνες ιδιότητες (Papapolychroniadis, 2004; Chan and Giovannucci, 2010).

Στον άνθρωπο, πολλές μελέτες δείχνουν ότι υπάρχουν εξαιρετικά λίγα στοιχεία που να συσχετίζουν την πρόσληψη κεκορεσμένου λίπους με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο στο παχύ έντερο και κάθε συσχέτιση τέτοιου τύπου θα πρέπει να αποδοθεί στην αυξημένη κατανάλωση κόκκινου κρέατος. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να προτείνεται περιορισμός πρόσληψης επεξεργασμένου ή κόκκινου κρέατος – ιδίως μετά από μαγείρεμα σε υψηλή θερμοκρασία – και αντικατάσταση αυτού από ψάρι ή πουλερικά, με στόχο τη μείωση του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου στο παχύ έντερο (Chan and Giovannucci, 2010).

Όσον αφορά τους υδατάνθρακες, προέκυψε αυξημένος κίνδυνος με αυξημένη πρόσληψη, με τα ευρήματα να είναι περισσότερο ενδεικτικά για τη φρουκτόζη. Πρόσφατες αναδρομικές μελέτες τεκμηρίωσαν το συσχετισμό της μειωμένης πρόσληψης φυλλικού οξέος (λέγεται και φολικό οξύ, βιταμίνη B9) με τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΚΠΕ, ενώ το ασβέστιο μπορεί να αποτελέσει ασπίδα κατά του ΚΠΕ για δύο λόγους: 1) Δεσμεύει τα δευτερογενή χολικά οξέα στον εντερικό σωλήνα και 2) Εμποδίζει την κυτταροτοξική δράση της διαιτητικής αίμης. Πιθανώς, η πρόσληψη βιταμίνης D να ασκεί ευεργετική επίδραση στην πιθανότητα ανάπτυξης ΚΠΕ (Μεκράς, 2012).

2. ΚΑΠΝΙΣΜΑ

Η επίδραση του καπνίσματος στο αναπνευστικό και ουροποιητικό σύστημα είναι ήδη γνωστή. Σχετικά με τον καρκίνο του παχέος εντέρου αναδρομικές μελέτες έδειξαν ότι το κάπνισμα δεν σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο. Ωστόσο, η ανάλυση 21 μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε διάφορες χώρες τις προηγούμενες δύο δεκαετίες έδειξε μια σταθερή συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και του ορθοκολικού καρκίνου. Το κάπνισμα θεωρήθηκε ως ένας πιθανός ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου που μπορεί να σχετίζεται επιδημιολογικά με τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης του ορθοκολικού καρκίνου (Τσακιρίδου και συν., 2010).

Ειδικότερα, ο κίνδυνος εμφάνισης ΚΠΕ σε μακροχρόνιους καπνιστές είναι 2–3 φορές μεγαλύτερος. Παρόμοια είναι τα αποτελέσματα σε 15 από τις 16 μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στις ΗΠΑ μετά το 1970 σε μέσης και μεγαλύτερης ηλικίας άνδρες και μετά το 1990 και σε γυναίκες. Το Νοέμβριο του 2009, ο Διεθνής Οργανισμός Έρευνας για το καρκίνο ανέφερε ότι υπάρχουν τώρα

επαρκή στοιχεία για να συμπεράνουμε ότι το κάπνισμα προκαλεί ΚΠΕ (Τσακιρίδου και συν., 2010; American Cancer Society, 2011).

Ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ της έκθεσης στο κάπνισμα και της εμφάνισης κλινικά υπολογίζεται στις 2–3 δεκαετίες. Για τη βλάβη ενοχοποιούνται τα καρκινογόνα προϊόντα του καπνού, τα οποία φθάνουν στον ορθοκολικό βλεννογόνο είτε μέσω του πεπτικού σωλήνα, είτε μέσω του κυκλοφορικού συστήματος, προκαλώντας καταστροφή ή μετάλλαξη γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο (Τσακιρίδου και συν., 2010).

3. ΑΛΚΟΟΛ

Άλλος ένας παράγοντας κινδύνου που έχει επιβεβαιωθεί, τόσο για τους άνδρες όσο και για τις γυναίκες, είναι η αυξημένη κατανάλωση οινοπνεύματος. Επίσης, σημειώνεται ότι το αλκοόλ μπορεί να λειτουργεί ως διαλύτης, αυξάνοντας τη διείσδυση άλλων καρκινογόνων μορίων στα κύτταρα του βλεννογόνου. Τέλος, επισημαίνεται ότι όσοι καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες αλκοόλ μπορεί να ακολουθούν δίαιτες χαμηλές σε απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, στοιχείο το οποίο καθιστά τους ιστούς τους επιρρεπείς στην καρκινογένεση (Καραγιάννη, 2008).

Μετά από την μετανάλυση οκτώ πληθυσμιακών μελετών που περιελάμβαναν μισό εκατομμύριο άτομα από πέντε διαφορετικές χώρες προέκυψε ότι η αύξηση του κινδύνου σχετίζεται με την κατανάλωση περισσότερο από 30g οινοπνεύματος ημερησίως, ανεξάρτητα από το είδος του ποτού (Τσακιρίδου και συν., 2010). Επειδή οι περισσότερες μελέτες συσχετίζουν τον κίνδυνο ανάπτυξης ΚΠΕ με την υψηλότερη πρόσληψη αιθανόλης, δεν είναι γνωστό εάν η κατανάλωση λιγότερων από 30g/ημέρα έχει επίδραση στον κίνδυνο αυτό. Η μειωμένη πρόσληψη και απορρόφηση φυλλικού οξέος στους αλκοολικούς ασθενείς είναι επιπλέον ένας παράγοντας κινδύνου όσον αφορά την καρκινογένεση (Chan and Giovannucci, 2010).

4. ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΜΑΖΑ - ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ - ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Η παχυσαρκία είναι άλλος ένας παράγοντας που αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης ΚΠΕ. Από 60 προοπτικές και 86 αναδρομικές συγκριτικές έρευνες

εξετάστηκε η συσχέτιση της παχυσαρκίας, όπως αυτή προσδιορίζεται με το δείκτη μάζας σώματος BMI (Kg/m²) με τον ορθοκολικό καρκίνο. Οι περισσότερες από τις προοπτικές συγκριτικές έρευνες κατέδειξαν αυξημένο κίνδυνο με αυξημένο σωματικό βάρος. Μελέτη έδειξε ότι γυναίκες με BMI >29 kg/m² εμφανίζουν 1,5 φορά περίπου μεγαλύτερο κίνδυνο κολικού καρκίνου σε σχέση με εκείνες που είχαν BMI < 21 kg/m², τάση που φαίνεται να αυξάνεται με την αύξηση του λόγου μέσης-ισχίων (Martinez et al., 1997).

Άλλες επιδημιολογικές μελέτες σε άνδρες έδειξαν μια σαφή συσχέτιση μεταξύ παχυσαρκίας (BMI >29 kg/m²) και κολικού, αλλά όχι ορθικού καρκίνου, συσχέτιση που είναι περισσότερο έντονη σε εκείνους με μικρή φυσική δραστηριότητα. Εξήγηση της συσχέτισης αυτής μπορεί να δοθεί μερικώς με βάση το φαινόμενο της αντίστασης στην ινσουλίνη που παρουσιάζουν οι εν λόγω ασθενείς, αφού η έκθεση των κυττάρων του κόλου σε υψηλές συγκεντρώσεις ινσουλίνης προάγει το φαινόμενο της μιτογένεσης στα κύτταρα αυτά, ενώ η έκθεση σε γλυκόζη και λιπαρά οξέα συνδέεται με μεταβολικές αλλαγές και οξειδωτικό stress (Τσακιρίδου και συν., 2010).

Επιδημιολογικές μελέτες διαπιστώνουν ότι τα υψηλά επίπεδα φυσικής δραστηριότητας μειώνουν τον κίνδυνο ΚΠΕ μεταξύ ανδρών και γυναικών κατά 50% περίπου (American Cancer Society, 2011). Επιπλέον, η φυσική δραστηριότητα αυξάνει την κινητικότητα του εντέρου με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου διέλευσης των κοπράνων επομένως και τη μείωση του χρόνου έκθεσης του εντερικού επιθηλίου σε καρκινογόνα ή μεταλλαξιογόνα (Μεκράς, 2012). Μια επίσης σχετική υπόθεση είναι ότι η άσκηση οδηγεί σε αύξηση της πρόσληψης νερού, η οποία έχει συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο ορθοκολικών αδενωμάτων και καρκίνου.

Ακόμη, έχει προταθεί ότι η φυσική δραστηριότητα μειώνει τον κίνδυνο ΚΠΕ μειώνοντας το σωματικό βάρος ή και με μηχανισμούς οι οποίοι είναι ανεξάρτητοι της σύστασης του σώματος. Τέλος, είναι πιθανό η φυσική δραστηριότητα να διαδραματίζει έναν αντιφλεγμονώδη ρόλο, δρώντας είτε άμεσα στο ανοσοποιητικό σύστημα, είτε μέσω των επιδράσεων της στην παχυσαρκία, η οποία φαίνεται να προκαλεί μια χαμηλού βαθμού συστηματική φλεγμονή και να συσχετίζεται με αύξηση των επιπέδων ορού πολυάριθμων δεικτών φλεγμονής (Καραγιάννη, 2008).

5. ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Ακτινοβολία που έχει πραγματοποιηθεί στην πύελο για θεραπεία καρκίνου αυξάνει τον κίνδυνο για ΚΠΕ μετά από πάροδο 5 - 10 ετών. Μελέτη των Baxter et al. (2005) αναφέρει αυξημένο κίνδυνο ορθοκολικού καρκίνου σε ασθενείς με ιστορικό ακτινοθεραπείας για καρκίνο του προστάτη, και μάλιστα με μέγεθος κινδύνου ανάλογο με αυτό ασθενών με οικογενειακό ιστορικό ΚΠΕ, γεγονός που δημιουργεί την ανάγκη στενότερης επιτήρησης χωρίς να είναι σαφές αν αυτή με τη σειρά της εξασφαλίζει βελτιωμένη έκβαση ή πρόγνωση.

6. ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ

Άλλος ένας παράγοντας που έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη ΚΠΕ είναι συγκεκριμένες χειρουργικές επεμβάσεις που έχουν προηγηθεί. Στις χειρουργικές επεμβάσεις συγκαταλέγονται η χολοκυστεκτομή, η σκωληκοειδεκτομή και η ουρητηροσιγμοειδική αναστόμωση.

Η χολοκυστεκτομή έχει ενοχοποιηθεί στην εμφάνιση του ΚΠΕ, πιθανόν λόγω αύξησης των δευτερογενών χολικών οξέων (κυρίως του δεσοξυλικού), αυξημένης εντεροηπατικής κυκλοφορίας αυτών και μείωσης στη σύνθεση των πρωτογενών χολικών οξέων από το ήπαρ (feedback). Φαίνεται να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του δεξιού κυρίως κόλου μετά την παρέλευση δέκα ετών σε ηλικιωμένες γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε χολοκυστεκτομή (Shao and Yang, 2005; Vinikoor et al., 2007; Levin and Dozois, 1991).

Η σκωληκοειδεκτομή έχει υποστηριχθεί ότι αυξάνει την πιθανότητα ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου, ενώ έχει καταδειχθεί η ύπαρξη σχέσης μεταξύ της γαστρικής χειρουργικής, ειδικά της στελεχιαίας βαγοτομής, και του κινδύνου εμφάνισης ΚΠΕ, που αποδίδεται σε ανωμαλίες στον μεταβολισμό των χολικών οξέων ως αποτέλεσμα της βαγοτομής (Μεκράς, 2012).

Σύμφωνα με μελέτες υπάρχει συσχέτιση μεταξύ ουρητηροσιγμοειδοστομίας και ανάπτυξης ΚΠΕ στο σημείο εμφύτευσης των ουρητήρων. Ασθενείς με ουρητηροσιγμοειδική αναστόμωση παρουσιάζουν 100 έως 550 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου – συνήθως αδενοκαρκινώματος – από το γενικό πληθυσμό, πολλά χρόνια μετά την επέμβαση. Συστήνεται η υποβολή του ασθενούς σε περιοδικό ενδοσκοπικό έλεγχο, ο οποίος πρέπει να αρχίζει

πέντε έτη μετά τη διενέργεια της αναστόμωσης (Levin and Dozois, 1991; Konda and Duffy, 2008).

7. ΑΤΟΜΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Άτομα ηλικίας άνω των 50 ετών και στα δύο φύλα: το ποσοστό εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου αυξάνεται μετά την ηλικία των 40 ετών και ιδιαίτερα μεταξύ των ηλικιών 50-55 ετών και παρουσιάζεται διπλασιασμένο ανά δεκαετία (εκθετική αύξηση). Αποτελεί ένδειξη ότι το 90% των νέων περιπτώσεων ΚΠΕ εμφανίζονται μετά την ηλικία των 50 ετών (American Cancer Society, 2011; Boyle and Langman, 2000).

Άτομα με αδενωματώδεις πολύποδες: υπάρχει συσχέτιση μεταξύ καρκίνου και αδενώματος. Παράγοντες που καταδεικνύουν αυτή τη συσχέτιση είναι η ίδια καμπύλη κατανομής ηλικιών, η ομοιάζουσα τοπογραφική εντόπιση στο παχύ έντερο και η καθολική ανάπτυξη καρκίνου στην οικογενή αδενωματώδη πολυποδίαση. Αν θα παρουσιάσει εξαλλαγή ένα αδένωμα είναι άμεσα αλληλοεξαρτώμενο από το μέγεθος του, το είδος του και το βαθμό δυσπλασίας που το χαρακτηρίζει. Τη μεγαλύτερη πιθανότητα εξαλλαγής έχουν τα λαχνωτά αδενώματα καθώς και τα πολλαπλά αδενώματα (American Cancer Society, 2018; Sameer et al., 2006).

Άτομα με σακχαρώδη διαβήτη: πολλές μελέτες αναφέρουν ύπαρξη σχέσης μεταξύ του διαβήτη και του ΚΠΕ. Τα άτομα με διαβήτη τύπου 2 (συνήθως μη εξαρτώμενα από την ινσουλίνη) έχουν αυξημένο κίνδυνο ΚΠΕ. Υπογραμμίζεται ότι οι ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 παρουσιάζουν περιφερική αντίσταση στην ινσουλίνη και αναπτύσσουν, αντισταθμιστικά, υπερινσουλιαιμία. Αυτή η υπερινσουλιαιμική κατάσταση θεωρείται ότι είναι ο υποκείμενος μηχανισμός στη συσχέτιση μεταξύ διαβήτη και ΚΠΕ. Μια πρόσφατη μελέτη δείχνει ότι η σχέση μπορεί να είναι ισχυρότερη στους άνδρες με σακχαρώδη διαβήτη έναντι των γυναικών με σακχαρώδη διαβήτη (Larsson et al., 2005; Campbell et al., 2010).

Άτομα με ατομικό ιστορικό ορθοκολικού καρκίνου ή άλλου είδους καρκίνου: ασθενείς με παρουσία ΚΠΕ διατρέχουν κίνδυνο εμφάνισης ενός δεύτερου σύγχρονου καρκίνου (πιθανότητα 3-6%), καθώς και αυξημένες πιθανότητες εμφάνισης ενός δεύτερου μετάχρονου καρκίνου (πιθανότητα 2-5%). Ο

μετάχρονος καρκίνος μπορεί να εμφανιστεί μέχρι και πολλά χρόνια αργότερα, αλλά στο 50% των περιπτώσεων μετάχρονου ορθοκολικού καρκίνου αυτός εμφανίζεται εντός 5-7 ετών από τη διάγνωση της αρχικής εστίας (Papadopoulos et al., 2004; Heald, 1990).

Άτομα με οικογενειακό ιστορικό ορθοκολικού καρκίνου ή αδενωματώδους πολύποδα: Σε αυτή την ομάδα ατόμων αναπτύσσεται το 15-20% των περιπτώσεων του ορθοκολικού καρκίνου. Παρουσιάζεται μεγαλύτερος κίνδυνος σε αυτούς των οποίων οι συγγενείς είχαν αναπτύξει ΚΠΕ σε νεότερη ηλικία, κάτω των 50 ετών. Τα άτομα με συγγενή πρώτου βαθμού που είχαν ΚΠΕ έχουν 2 έως 3 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου σε σύγκριση με άτομα με κανένα οικογενειακό ιστορικό (Χριστοδούλου και Τσιάνος, 2000; American Cancer Society, 2011).

Άτομα με φλεγμονώδη πάθηση του εντέρου: άτομα που πάσχουν από χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν ΚΠΕ, γεγονός που σχετίζεται με την έκταση και τη διάρκεια της νόσου. Οι φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου περιλαμβάνουν καταστάσεις όπως η ελκώδης κολίτιδα και η νόσος Crohn, στην οποία το κόλον έχει φλεγμονή για μεγάλο χρονικό διάστημα. Εκτιμάται ότι το 18% των ασθενών με ιστορικό ελκώδους κολίτιδας 30 ετών θα αναπτύξει ορθοκολικό καρκίνο. Έχει παρατηρηθεί αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης ΚΠΕ 10 χρόνια μετά την αρχική διάγνωση της νόσου σε περιπτώσεις πανκολίτιδας και 15-20 χρόνια μετά την αρχική διάγνωση της νόσου σε περιπτώσεις τμηματικής προσβολής (συνήθως στο αριστερό κόλον) του παχέος εντέρου. Η επίπτωση του ορθοκολικού καρκίνου για ασθενείς με διάρκεια νόσου μεταξύ 10 και 20 ετών ανέρχεται περίπου στο 0.5% ανά έτος και στο 1% για κάθε έτος μετά την εικοσαετία (American Cancer Society, 2011; Χριστοδούλου και Τσιάνος, 2000).

Άτομα με κληρονομική επιβάρυνση

Στην κατηγορία αυτή κατατάσσονται:

A) τα άτομα με σύνδρομα πολυποδίασης, τα οποία κληρονομούνται με τον αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα. Τα σύνδρομα αυτά διαγιγνώσκονται στην ηλικία των 20-25 ετών και ο καρκίνος του παχέος εντέρου αναπτύσσεται

στην ηλικία των 40 ετών. Τα συχνότερα κληρονομικά σύνδρομα πολυποδίασης είναι τα εξής:

i) Οικογενής Αδενωματώδης Πολυποδίαση του παχέος εντέρου (FAP): ενοχοποιείται για το 1% των νεοδιαγνωσθέντων περιπτώσεων ορθοκολικού καρκίνου. Οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου της αδενωματώδους πολυποδίασης (APC- gene) το οποίο εδράζεται στο χρωμόσωμα 5q21-q22. Χωρίς επέμβαση η πιθανότητα ανάπτυξης ΚΠΕ είναι σχεδόν 100% κατά τη διάρκεια της ζωής.

ii) Σύνδρομο Gardner: είναι υποτύπος της οικογενούς αδενωματώδους πολυποδίασης (FAP). Το σύνδρομο Gardner είναι μια αυτοσωματική κυρίαρχη μορφή πολυποδίασης η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία πολλαπλών πολυπόδων στο κόλον μαζί με όγκους έξω από το κόλον. Οι εξωεντερικοί όγκοι μπορεί να περιλαμβάνουν οστεώματα, καρκίνο του θυρεοειδούς, επιδερμοειδείς κύστες, ινομύματα καθώς και εμφάνιση δεσμοειδών όγκων σε περίπου 15% των προσβεβλημένων ατόμων.

iii) Σύνδρομο Turcot: είναι μια πολύ σπάνια ασθένεια στην οποία παρατηρούνται όγκοι του κεντρικού νευρικού συστήματος και πολύποδες του εντέρου.

iv) Σύνδρομο Peutz-Jeghers: κληρονομείται κατά τον επικρατούντα σωματικό χαρακτήρα και μεταξύ άλλων χαρακτηρίζεται από αμαρτωματώδεις πολύποδες λεπτού και παχέος εντέρου. Ο κίνδυνος εμφάνισης ΚΠΕ είναι περίπου 2% - 13%.

B) τα άτομα με Κληρονομικό μη Πολυποδιασιακό Καρκίνο Παχέος Εντέρου (HNPCC ή σύνδρομο Lynch I και II). Στην κατηγορία αυτή ανήκει το 2-5% του συνόλου των περιπτώσεων ΚΠΕ. Οφείλεται σε μεταλλάξεις σε ένα από τα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA (MMR) που οδηγούν σε MSI. Οι ασθενείς με τη συγκεκριμένη γονιδιακή ανωμαλία έχουν 70-80% πιθανότητα ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Τόσο στους ασθενείς αυτούς όσο και στους συγγενείς τους αναπτύσσονται πλήθος εξω-κολονικών νεοπλασμάτων (καρκίνος ενδομητρίου, ωοθηκών, γαστρικού, ήπατος-χοληφόρων, λεπτού εντέρου, ουροποιητικού) (American Cancer Society, 2011; Levin et al., 2008). [36]

8. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ

Η γενετική αστάθεια προκύπτει από τη μειωμένη ικανότητα των μηχανισμών επιδιόρθωσης του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) να αποκαταστήσουν επιτυχώς τις βλάβες που προκαλούνται στο μόριο του DNA κατά τη διάρκεια της αντιγραφής (Θώδη και συν., 2008).

Συγκεκριμένα, έχουν παρατηρηθεί δύο βασικοί τύποι γενετικής αστάθειας κατά τη μελέτη του ΚΠΕ:

·Η χρωμοσωμική αστάθεια και η αστάθεια των μικροδορυφορικών αλληλουχιών (επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες ενός έως έξι νουκλεοτιδίων).

Το 70% των περιπτώσεων ΚΠΕ χαρακτηρίζονται από χρωμοσωμική αστάθεια, ενώ το 15% από αστάθεια των μικροδορυφορικών αλληλουχιών. Το 15% των περιπτώσεων είναι αρνητικές και για τους δύο τύπους γενετικής αστάθειας (Θώδη και συν., 2008).

Η χρωμοσωμική αστάθεια απορυθμίζει τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης μεταβάλλοντας την ισορροπία των χρωμοσωμάτων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης ογκογονιδίων (θετική δράση όσον αφορά στην αύξηση και στην επιβίωση των κυττάρων), η οποία πραγματοποιείται μέσω του πολλαπλασιασμού των αντίστοιχων αλληλουχιών και της απενεργοποίησης ογκοκατασταλτικών γονιδίων μέσω απαλοιφής τους. Οι όγκοι οι οποίοι φέρουν υψηλά επίπεδα χρωμοσωμικής αστάθειας χαρακτηρίζονται ως ανευπλοειδείς και φέρουν σωματικές μεταλλάξεις, κυρίως στο ογκογονίδιο Kras, αλλά και στα ογκοκατασταλτικά γονίδια APC και p53, γεγονός που υποδεικνύει ότι ακολουθούν το «κλασσικό» μονοπάτι της σταδιακής μετάβασης από αδένωμα σε καρκίνωμα. Τέλος θεωρούνται σταθεροί ως προς τις μικροδορυφορικές αλληλουχίες (Trautmann et al., 2006; Imai and Yamamoto, 2008).

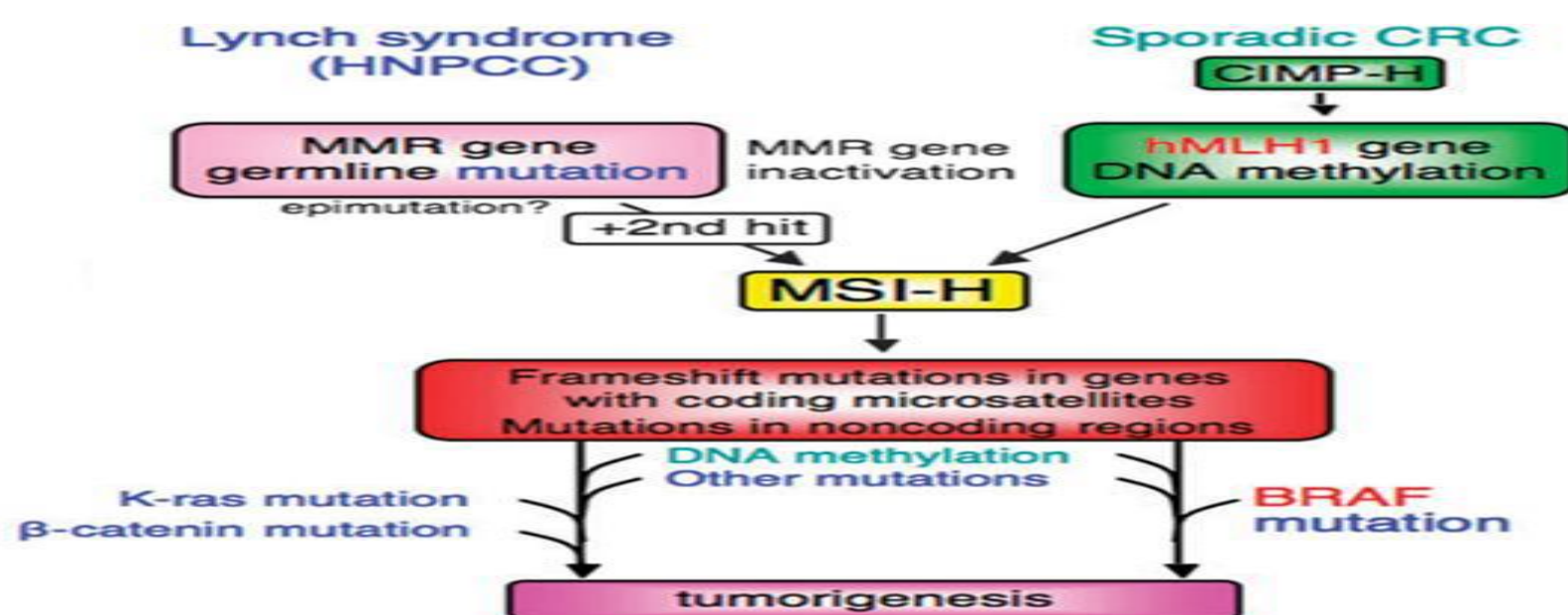
Όσον αφορά στον καρκίνο του παχέος εντέρου, η απενεργοποίηση του γονιδίου APC αποτελεί το πρωταρχικό βήμα της ογκογενετικής διαδικασίας. Έχουν προταθεί δύο βασικοί μηχανισμοί μέσω των οποίων το APC θα μπορούσε να προάγει τη χρωμοσωμική αστάθεια.

Σύμφωνα με τον πρώτο, το γονίδιο APC προκαλεί μείωση της παρατηρούμενης απόστασης των κινητοχώρων με αποτέλεσμα λανθασμένη πρόσδεση των μικροσωληνίσκων και διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά τη μίτωση. Η παραπάνω ενέργεια ενδέχεται να διαμεσολαβείται από την απορρύθμιση της

μειωτικής κινεσίνης MCAK, η δράση της οποίας ρυθμίζεται έμμεσα από την APC πρωτεΐνη, η οποία παρεμποδίζει τη φωσφορυλίωσή της από την κινάση Aurora-B που την απενεργοποιεί.

Σύμφωνα με τον δεύτερο μηχανισμό, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο APC επάγουν τη συνεχή ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt και κατ' επέκταση, τη συσσώρευση της πρωτεΐνης β-κατενίνης στο κυτταρόπλασμα η οποία δεν αποικοδομείται λόγω μη λειτουργικότητας της πρωτεΐνης APC. Με αυτόν τον τρόπο προάγεται η ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt, μέσω του οποίου προκαλείται η μεταγραφή διαφόρων γονιδίων, συμπεριλαμβανομένων και ρυθμιστών του κυτταρικού κύκλου (Θώδη και συν, 2008).

Το μονοπάτι της αστάθειας των μικροδορυφορικών αλληλουχιών επάγεται από σωματικές μεταλλάξεις (κυρίως αλλαγές πλαισίου ανάγνωσης σε επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες μικρού μήκους, οι οποίες εντοπίζονται τόσο σε κωδικοποιούσες περιοχές γονιδίων ικανών να προάγουν την ανάπτυξη του καρκίνου όσο και σε μη κωδικοποιούσες περιοχές ή ρυθμιστικές περιοχές διάφορων γονιδίων που επηρεάζουν τη βιολογική συμπεριφορά των συγκεκριμένων όγκων. Οι όγκοι οι οποίοι χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα αστάθειας των μικροδορυφορικών αλληλουχιών α) είναι διπλοειδείς και β) ενδέχεται να φέρουν κάποιες καρυοτυπικές ανωμαλίες (Θώδη και συν, 2008; Imai and Yamamoto, 2008). Στην εικόνα που ακολουθεί συνοψίζονται τα μονοπάτια μικροδορυφορικής αστάθειας που διέπουν τον καρκίνο του παχέος εντέρου (εικ 2.8).



Εικόνα 2.8: Μονοπάτια τα οποία διέπουν τη μετάβαση από τον φυσιολογικό επιθηλιακό ιστό προς το καρκίνωμα (Imai and Yamamoto, 2008)

Αν και ο παραπάνω τρόπος κατηγοριοποίησης των όγκων του παχέος εντέρου είναι ο απλούστερος και ο πιο εύχρηστος, τα μονοπάτια της χρωμοσωμικής και της μικροδορυφορικής αστάθειας, αν και διακριτά, ενδέχεται και να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία, αναγνωρίζεται η ύπαρξη σχεδόν διπλοειδών όγκων οι οποίοι χαρακτηρίζονται είτε ως αρνητικοί είτε ως θετικοί σε σχέση με την παρουσία των δύο τύπων γενετικής αστάθειας (Imai and Yamamoto, 2008). Πρόσφατες μελέτες, παρουσιάζουν επίπεδα χρωμοσωμικής αστάθειας στους μικροδορυφορικά ασταθείς όγκους. Η διεξαγωγή της μελέτης επιτεύχθηκε με τη βοήθεια μικροσυστοιχιών συγκριτικού γονιδιωματικού υβριδισμού (array Comparative Genomic Hybridization) που επιτρέπουν την ανίχνευση μεταβολών στον αριθμό των αντιγράφων χρωμοσωμικών τμημάτων. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν 23 όγκοι, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα αστάθειας των μικροδορυφορικών αλληλουχιών. Από αυτούς, πέντε όγκοι φέρουν εκτεταμένες χρωμοσωμικές μεταβολές (απώλεια/πολλαπλασιασμός πολλαπλών χρωμοσωμάτων), επτά παρουσιάζουν αλλαγές σε ένα μόνο χρωμόσωμα ή χρωμοσωμικό τμήμα ενώ έντεκα δεν φαίνεται να φέρουν κάποια χρωμοσωμική μεταβολή (Trautmann et al., 2006).

Η ομάδα των μικροδορυφορικά ασταθών όγκων περιλαμβάνει τις περιπτώσεις ΚΠΕ του κληρονομούμενου συνδρόμου του Lynch, οι οποίες και αντιπροσωπεύουν το 3%, αλλά και τις σποραδικές περιπτώσεις οι οποίες αντιστοιχούν στο 13% (15% του συνόλου των κρουσμάτων ΚΠΕ).

Αν και οι σποραδικοί όσο και οι κληρονομούμενοι όγκοι παρουσιάζουν παρόμοια μορφολογία και εντοπίζονται κυρίως στο δεξιό κόλον, ορισμένα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά εκδηλώνονται σε μεγαλύτερο βαθμό στους σποραδικούς από ό,τι στους κληρονομούμενους όγκους, ή και αντίστροφα. Συγκεκριμένα, η αυξημένη έκκριση βλέννης, ο χαμηλός βαθμός διαφοροποίησης και η ετερογένεια των προκαρκινικών αλλοιώσεων με προεξάρχουσα την παρουσία «οδοντωτής» (serrated) διαμόρφωσης χαρακτηρίζουν κυρίως τους σποραδικούς όγκους, ενώ ο αυξημένος αριθμός διηθητικών κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων, η αποδιαφοροποίηση του όγκου και η παρουσία αδενωμάτων χαρακτηρίζουν τους όγκους του συνδρόμου του Lynch (Imai and Yamamoto, 2008).

Εν γένει, οι μικροδορυφορικά ασταθείς όγκοι σχετίζονται με ευνοϊκότερη πρόγνωση, όσον αφορά στην εξέλιξη της ασθένειας, και χαρακτηρίζονται από υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης. Οι παραπάνω ιδιότητες ενδεχομένως ερμηνεύονται εν μέρει από την έντονη παρουσία T κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων στην περιοχή του όγκου, η οποία συνοδεύεται από αυξημένο ρυθμό απόπτωσης σε σύγκριση με τον ρυθμό πολλαπλασιασμού, γεγονός που υποδεικνύει ενεργοποίηση της ανοσοαπόκρισης έναντι του όγκου.

Όσον αφορά στον μοριακό φαινότυπο των μικροδορυφορικά ασταθών όγκων, οι σποραδικοί και οι κληρονομούμενοι όγκοι παρουσιάζουν διαφορές ικανές να προάγουν τη διάκριση τους. Στην περίπτωση των όγκων του συνδρόμου του Lynch, [39] το «πρώτο χτύπημα» αφορά σε γαμετική μετάλλαξη των γονιδίων επιδιόρθωσης του DNA (~ 90% των περιπτώσεων στα γονίδια MLH1 και MSH2). Οι δε σποραδικοί όγκοι χαρακτηρίζονται από αυξημένα ποσοστά μεθυλίωσης, καθώς και από την παρουσία μιας σωματικής μεταλλαγής (αμινοξική αλλαγή, p.V600E) στο γονίδιο BRAF που κωδικοποιεί μια κινάση σερίνης/θρεονίνης του MAPK μονοπατιού, το οποίο ελέγχει την ανάπτυξη του κυττάρου μέσω των πολλαπλών αλληλεπιδράσεων του με διάφορες πρωτεΐνες. Η συγκεκριμένη σωματική μεταλλαγή δεν απαντάται στους όγκους του συνδρόμου του Lynch. Επομένως, η ανίχνευση της μετάλλαξης p.V600E στο γονίδιο BRAF, σε συνδυασμό με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του αντίστοιχου όγκου, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την αρχική διάκριση των μικροδορυφορικά ασταθών όγκων σε σποραδικούς και κληρονομούμενους (Imai and Yamamoto, 2008). [40]

Η MSI αφορά την υψηλή μεταλλαξιμότητα μικρών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών στο γονιδίωμα που οφείλονται σε ανεπάρκεια της επιδιόρθωσης του DNA. Η ομάδα των μικροδορυφορικά ασταθών όγκων έχει μελετηθεί για δεκαετίες και οι πληροφορίες που είναι διαθέσιμες στις μέρες μας αφορούν μεγάλη ποσότητα δεδομένων αλληλούχισης που μας επιτρέπουν να εξετάσουμε μοριακά τη γενετική ταυτότητα της MSI με λεπτομέρεια. Η ανάλυση 8.000 εξωνίων και 1000 γονιδιωμάτων από νεοπλασματικούς ασθενείς όσον αφορά 23 διαφορετικά είδη καρκίνου αποκάλυψε ότι η συχνότητα της MSI είναι μεταβλητή σε διάφορους τύπους νεοπλασίας. Έχουν αναγνωριστεί γονίδια στην επιδιόρθωση του DNA και ογκογενετικά μονοπάτια τα οποία υπόκεινται σε ταυτόχρονη μικροδορυφορική αστάθεια και ξεσκεπάζουν μη κωδικοποιούσες περιοχές του γονιδιώματος οι οποίες συχνά εμφανίζουν MSI. Τελικά

προτείνεται ένα υψηλής ακρίβειας εξώνιο που αποτελεί το βασικό μοντέλο πρόβλεψης για το φαινότυπο της MSI. Με το τρόπο αυτό μπορούμε να κατανοήσουμε τους γονιδιακούς υποκινητές, τις συνέπειες της MSI και τον μακρύ κατάλογο των ειδικών ογκογόνων τοποθεσιών της MSI, ώστε να αναγνωρίσουμε ποιός από τους ασθενείς θα επωφεληθεί από την θεραπεία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΠΕ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι μία από τις σημαντικότερες κακοήθειες νόσους στον δυτικό κόσμο και το τρίτο πιο θανατηφόρο είδος καρκίνου (Harrison S et. Al. 2011). Εκτιμάται ότι 9.7% των νέων διαγνώσεων καρκίνου αφορούν τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Ιστολογικά ο πλέον κοινός τύπος καρκινώματος παχέος εντέρου είναι το Αδενοκαρκίνωμα.

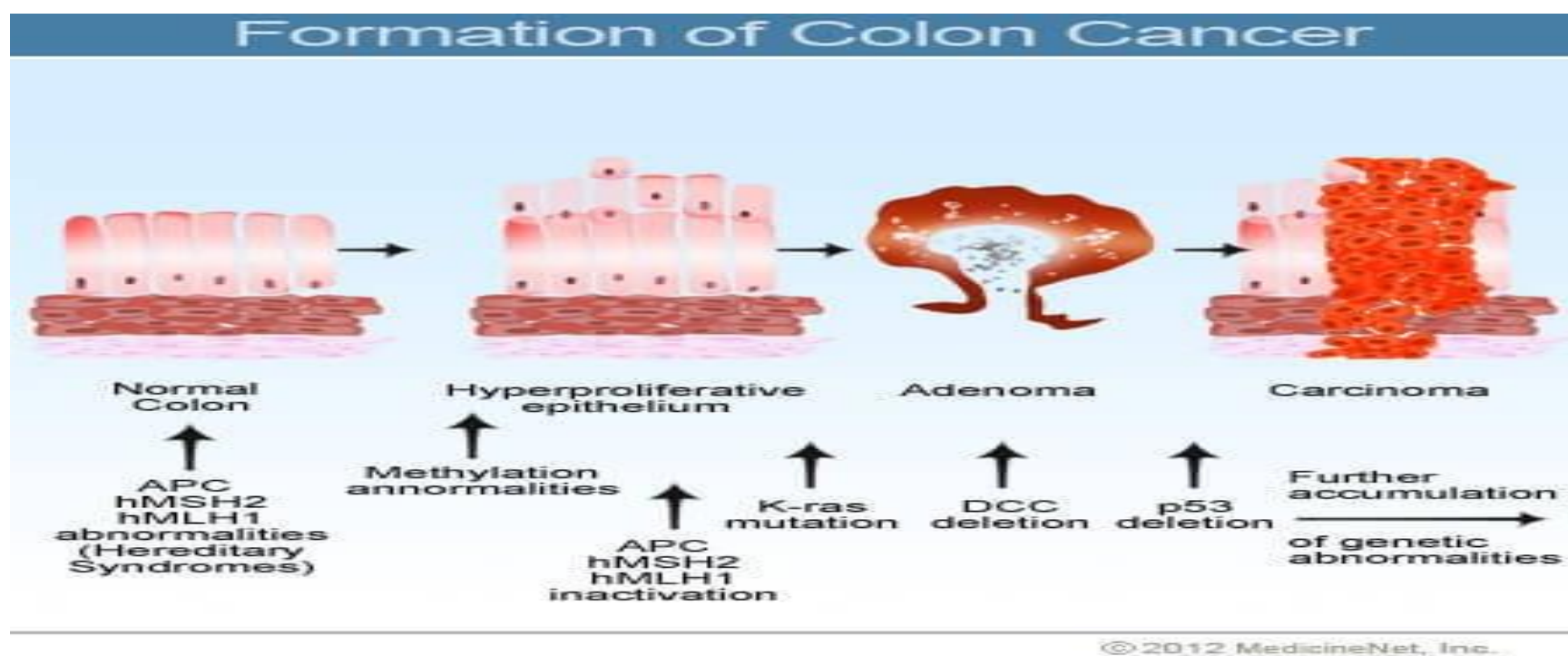
Χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες σε σχέση με το βαθμό επίδρασης της κληρονομικότητας στην πιθανότητα εμφάνισης ΚΠΕ.

- Οι σποραδικοί τύποι ΚΠΕ (60% των περιπτώσεων) προκαλούνται από την ανάπτυξη γενετικών τροποποιήσεων σε ογκοκατασταλτικά γονίδια και ογκογονίδια που δίνουν στα καρκινικά κύτταρα πλεονέκτημα επιβίωσης σε σχέση με τα γειτονικά φυσιολογικά κύτταρα.
- Οι κληρονομικοί οικογενείς τύποι ΚΠΕ (30% των περιπτώσεων) αναφέρονται σε ασθενείς που έχουν έναν τουλάχιστον συγγενή εξ αίματος που έχει εμφανίσει καρκίνωμα παχέος εντέρου ή αδένωμα, χωρίς όμως την παρουσία σαφούς μετάλλαξης των γενετικών κυττάρων και χωρίς ξεκάθαρο μοτίβο κληρονόμησης. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκει η οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση.
- Τα κληρονομικά σύνδρομα ΚΠΕ (10% των περιπτώσεων) που προκύπτουν από κληρονόμηση μεταλλαγών σε συγκεκριμένα γονίδια. Παραδείγματα αποτελούν το σύνδρομο Lynch και το σύνδρομο Peutz-Jeghers.

Μηχανισμοί καρκινογένεσης

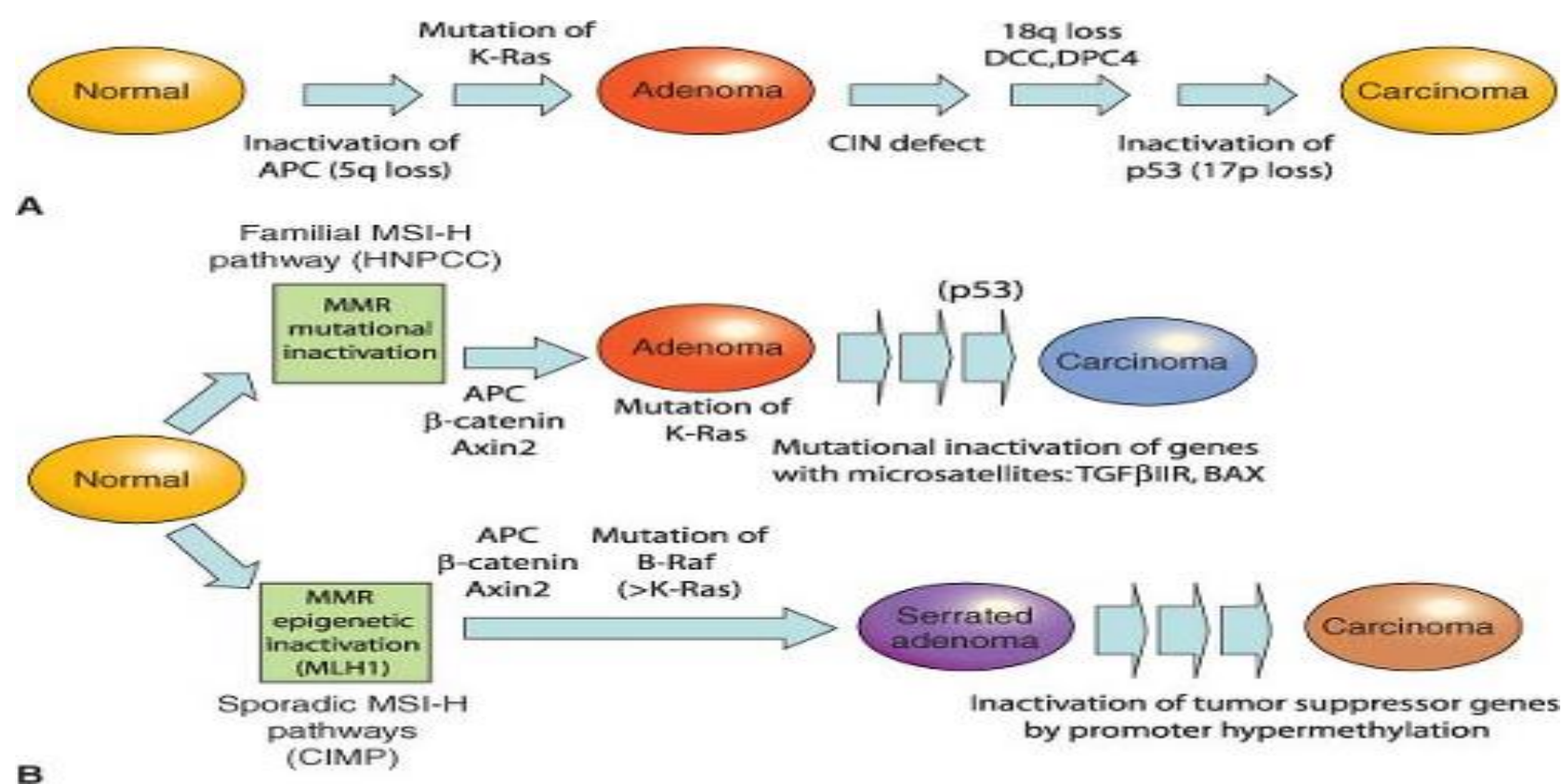
Αρχικά είχε προσδιοριστεί από τους Fearon και Vogelstein ότι υπάρχει μια αλληλουχία μοριακών γεγονότων που οδηγούν σταδιακά από την εμφάνιση του καρκινώματος στο μεταστατικό καρκίνωμα του παχέος εντέρου (Εικόνα 3.1) (Aspinall RJ, et al. 2001).

Με αυτόν τον τρόπο, από αυξανόμενα αρχικά επίπεδα δυσπλασίας ο ιστός οδηγείται από το αδένωμα στο καρκίνωμα (Harrison S et. al.) 2011



Εικόνα 3.1 Ο Σχηματισμός του καρκίνου στο παχύ έντερο.

Προστέθηκαν σταδιακά και άλλα στοιχεία που υποστηρίζουν αυτή την σταδιακή μετάβαση αλλά επίσης δίνουν φώς στους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν το φαινόμενο. Πρόκειται για την ανίχνευση επιπρόσθετων αλλαγών σε μοριακό επίπεδο. Εικόνα 3.2



Εικόνα 3.2 Μονοπάτια καρκινογένεσης.

Η ανίχνευση αυτών των αλλαγών βοήθησε στην κατηγοριοποίηση των καρκινωμάτων παχέος εντέρου σε τέσσερις διακριτούς τύπους (Harrison S et. al. 2011).

1. ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΗΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΗΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ.

Όπως έχει προαναφερθεί είναι η πλέον σημαντική οδός που συναντάται στο 85% των ασθενών (Harrison S et. Al. 2011). Σχετίζεται με αρχική μεταλλαγή στο γονίδιο της αδενωματώδους πολύπωσης, APC με ή χωρίς την παρουσία έλλειψης. Το γονίδιο αυτό αλληλεπιδρά με ποικιλία πρωτεϊνών μεταξύ των οποίων με το γονίδιο της β-κατενίνης, το οποίο είναι γονίδιο καθοριστικής σημασίας στην έναρξη της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου. Μεταλλαγές στο γονίδιο APC παρατηρήθηκαν αρχικά σε περιστατικά της οικογενούς αδενωματώδους πολύπωσης αλλά συναντώνται επίσης στην πλειοψηφία των σποραδικών καρκίνων παχέος εντέρου. Επίσης σε αυτήν την οδό εμπλέκεται το γονίδιο KRAS το οποίο ενεργοποιείται από μεταλλαγές. Πρωτεΐνη στόχος του KRAS είναι η πρωτεΐνη BRAF η οποία στη συνέχεια ενεργοποιεί με τη σειρά της το MAPK/ERK μονοπάτι με τελικό αποτέλεσμα την ενίσχυση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στον όγκο (Harrison S et. Al. 2011, Rowan et al. 2005, Phelps et al. 2009, Sillars-Hardebol et al 2010., Hatzivassiliou et al. 2010).

2. ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΩΝ CpG ΝΗΣΙΔΙΩΝ

Είναι το δεύτερο πιο κοινό μονοπάτι επαγωγής του ΚΠΕ, ως αποτέλεσμα της αποσιώπησης των ογκοκατασταλτικών γονιδίων και της ενεργοποίησης των ογκογονιδίων (Boland et al. 2009). Συγκεκριμένα η μεθυλίωση σε θέσεις CpG νησίδων μακριά από τον υποκινητή μπορεί να προκαλέσει ενεργοποίηση της μεταγραφής του γονιδίου ενώ η μεθυλίωση σε θέσεις εντός του υποκινητή προκαλεί μεταγραφική αποσιώπηση σε ορισμένα γονίδια που σχετίζονται με τον ΚΠΕ (de Vogel et al. 2009, Van Rijnsoever et al. 2002). Γονίδια που συμμετέχουν στο συγκεκριμένο σηματοδοτικό μονοπάτι με την ενεργοποίησή τους από μεθυλίωση του υποκινητή είναι το γονίδιο του επιδιορθωτικού ενζύμου της DNA μεθυλτρανσφεράσης MGMT, το γονίδιο του επιδιορθωτικού ενζύμου λανθασμένου ταιριάσματος βάσεων MLH1, το ογκοκατασταλτικό

γονίδιο RASSF1, το γονίδιο της κινάσης DAPK1 και το ογκοκατασταλτικό γονίδιο APC (de Vogel et al. 2009).

3. ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΗΣ MSI

Πρόκειται για το είδος της μικροδορυφορικής αστάθειας το οποίο εμφανίζεται όταν συμβαίνουν μεταλλαγές πλαισίου ανάγνωσης (frameshift mutations) στις επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες που υπάρχουν στο γονιδίωμα, τους μικροδορυφόρους. Οι μικροδορυφόροι είναι παράλληλες επαναλήψεις μικρών τμημάτων DNA που βρίσκονται σε μεγάλη ποσότητα σε όλη την έκταση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Σχετίζονται άμεσα με το σύστημα επιδιόρθωσης των λαθών που συμβαίνουν λόγω λάθους αντιστοίχισης μη συμπληρωματικών αλληλουχιών στο γονιδίωμα, κάτι που συμβαίνει εξαιτίας μεταλλαγών στα αντίστοιχα επιδιορθωτικά ένζυμα (Mismatch Repair system MMR). Για την εκτίμηση του βαθμού της μικροδορυφορικής αστάθειας χρησιμοποιούνται ως μοριακοί δείκτες αλλαγές μονονουκλεοτιδικών (BAT26 BAT25 NR21 NR24), δινουκλεοτιδικών (D2S123 D5S346 D17S250) και πεντανουκλεοτιδικών (penta-C, penta-D) αλληλουχιών, των οποίων το μήκος αυξάνεται εξαιτίας γλιστρήματος της αλυσίδας DNA και επακόλουθου λάθους ταιριάσματος βάσεων. Όταν ένας όγκος παρουσιάζει αλλαγή μήκους αλληλουχιών σε δύο ή περισσότερους δείκτες, θεωρείται MSI (MSI-High), ενώ όταν αυτό συμβαίνει σε έναν ή σε κανένα δείκτη θεωρείται MSS (MSI-low) (Losso et al. 2012). Παρατηρείται τόσο σε κληρονομικές όσο και σε σποραδικές μορφές ΚΠΕ (Harrison S et. Al. 2011, Boland et al. 2010). Λόγω του υψηλού ρυθμού μεταλλάξεων, οι μικροδορυφόροι χρησιμοποιήθηκαν ευρέως ως παράγοντες πληροφορίας σε γονιδιακές και ιατροδικαστικές έρευνες στον πληθυσμό. Το μονοπάτι της μικροδορυφορικής αστάθειας περιγράφεται λεπτομερώς στο Κεφάλαιο 4.

4. ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΟΥ ΟΔΟΝΤΩΤΟΥ ΚΠΕ

Έχει πρόσφατα αναγνωριστεί ως ένα ξεχωριστό μονοπάτι που προωθεί την καρκινογένεση στο παχύ έντερο. Εμφανίζεται στο έδαφος οδοντωτού τύπου πολυπόδων. Σε αντίθεση με τις άλλες οδούς οι μεταλλαγές στο γονίδιο BRAF αποτελούν εναρκτήριο γεγονός, το οποίο στη συνέχεια ενεργοποιεί τις MAP κινάσες, οδηγώντας το κύτταρο σε πολλαπλασιασμό και εμποδίζοντας την απόπτωση. Για την επαγωγή της καρκινογένεσης στο μονοπάτι οδοντωτού

καρκινώματος συμμετέχουν τόσο η μικροδορυφορική αστάθεια, η μεθυλίωση σε CpG νησίδες, μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS (Harrison S et. al. 2011, Young et al. 2007). Επιπρόσθετα, έχει αναφερθεί ότι χρόνια φλεγμονή ωθεί σταδιακά τα κύτταρα προς καρκινική εξαλλαγή. Σε μοριακό επίπεδο σημαντικό ρόλο στην συμβολή της φλεγμονής στην καρκινογένεση παίζουν οι κυκλοξυγενάση 2 (COX2), το μονοπάτι NFκB, το μονοπάτι του παράγοντα TNF-α και οι υποδοχείς τύπου toll(TLR). Ειδικότερα το μονοπάτι NFκB παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης και σχετίζεται με αντιαποπτωτικούς παράγοντες όπως κυτταροκίνες της φλεγμονής, αγγειογενετικούς παράγοντες καθώς και την COX2. Υπάρχουν ακόμα και άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια τα οποία ωθούν προς την δημιουργία νεοπλάσματος του παχέος εντέρου εξαιτίας μεταλλαγών μορίων που συμμετέχουν σε αυτά. Επιγραμματικά αναφέρονται το σηματοδοτικό μονοπάτι TGF-β, η κυτταρογενετική ανωμαλία της απώλειας του μεγάλου βραχίονα του χρωμοσώματος 18 που επηρεάζει το μονοπάτι TGF-β και οι μεταλλάξεις στο γονίδιο p53 (Harrison S et. al. 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ (MSI)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η MSI είναι η γονιδιακή κατάσταση προδιάθεσης για μεταλλάξεις που προκύπτουν από την ελαττωματική επιδιόρθωση του DNA λόγω της ανεπάρκειας των μηχανισμών επιδιόρθωσής του (Mismatch repair system/MMR). Η παρουσία MSI υποδηλώνει ότι το σύστημα MMR δεν λειτουργεί κανονικά. Το σύστημα MMR διορθώνει τα σφάλματα που εμφανίζονται κατά την αντιγραφή του DNA, όπως λανθασμένες βάσεις, εισαγωγές και διαγραφές βάσεων. Οι πρωτεΐνες που εμπλέκονται στο MMR διορθώνουν τα σφάλματα της πολυμεράσης σχηματίζοντας ένα σύμπλεγμα που συνδέεται με το λανθασμένο τμήμα του DNA, κόβουν το λάθος τμήμα και εισάγουν τη σωστή αλληλουχία στη θέση του (Ehrlich M, ed. 2000). Τα κύτταρα με ελαττωματικό MMR (dMMR) δεν είναι σε θέση να διορθώσουν τα λάθη που εμφανίζονται κατά την αντιγραφή του DNA και συνεπώς τα συσσωρεύουν. Αυτό προκαλεί τη δημιουργία νέων μικροδορυφόρων. Η ανάλυση με βάση την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) μπορεί να εμφανίσει αυτούς τους νέους μικροδορυφόρους και να αποδείξει την παρουσία MSI. Οι μικροδορυφόροι είναι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA. Αυτές οι αλληλουχίες είναι φτιαγμένες από επαναλαμβανόμενα ζεύγη βάσεων μήκους ενός έως έξι βάσεων. Αν και το μήκος αυτών των μικροδορυφόρων είναι πολύ μεταβλητό από άτομο σε άτομο και συμβάλλει στο ξεχωριστό "δακτυλικό αποτύπωμα" του DNA, κάθε άτομο έχει μικροδορυφόρους καθορισμένου μήκους. Ο πιο συνηθισμένος μικροδορυφόρος στους ανθρώπους είναι μια δινουκλεοτιδική επανάληψη των νουκλεοτιδίων C και A, η οποία εμφανίζεται δεκάδες χιλιάδες φορές στο γονιδίωμα. Οι μικροδορυφόροι είναι επίσης γνωστοί ως απλές επαναλήψεις αλληλουχιών (SSRs). Τέτοιες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες διανέμονται στο γονιδίωμα και αποτελούνται από επαναλήψεις νουκλεοτιδίων οι οποίες έχουν συχνά αντιγραφεί λανθασμένα, με συνέπεια οι DNA πολυμεράσες να μην μπορούν να συνδεθούν αποτελεσματικά στο DNA για την επιδιόρθωσή του. Η MSI χαρακτηρίζεται από μεταβολές στο μήκος των απλών επαναλαμβανόμενων νουκλεοτιδικών αλληλουχιών του DNA που απομονώνεται από τον όγκο του ασθενούς (Ogino and Goel, 2008, Yamamoto και Imai, 2015). Το σύστημα MMR αφορά αρκετές

πρωτεΐνες, που είναι τα προϊόντα γονιδίων όπως MLH1, MSH2, MSH6 και PMS2 και θεωρείται υπεύθυνο για την επιτήρηση και διόρθωση τέτοιων σφαλμάτων. Αυτή η αποτυχία να διορθωθούν τα λάθη στην αντιγραφή του DNA έχει σαν αποτέλεσμα τον ισχυρό "φαινότυπο μετάλλαξης" με πολυάριθμες μεταλλάξεις αναγνωστικού πλαισίου (frameshift) σε κωδικοποιήσιμους και μη κωδικοποιήσιμους μικροδορυφόρους. Η βλάβη του DNA μέσα σε κωδικοποιούσες αλληλουχίες μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις αναγνωστικού πλαισίου, που οδηγούν στην παραγωγή ανενεργών πρωτεϊνών (Jung et al., 2004, Markowitz et al., 1995, Rampino et al., 1997). Η συσσώρευση μεταλλάξεων σε αυτά τα γονίδια τελικά προκαλεί την ανάπτυξη του φαινότυπου MSI, βάσει του οποίου ενεργοποιείται το ανοσοποιητικό σύστημα και οδηγεί στην υψηλή αντιγονικότητα των όγκων με φαινότυπο MSI (Boland and Goel, 2010, Pouligiannis et al., 2010, Sinicrope 2010, Vilar and Gruber, 2010, Yamamoto και Imai, 2015).

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΕΛΑΤΤΩΜΑΤΙΚΟΥ ΖΕΥΓΑΡΩΜΑΤΟΣ ΒΑΣΕΩΝ (MMR).

Όπως περιγράφηκε παραπάνω, το σύστημα MMR διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην πιστή διατήρηση του γονιδιώματος (Kunkel and Erie, 2005, Tuttlewskaet al., 2013). Οι πρωτεΐνες MMR είναι πυρηνικές πρωτεΐνες που διορθώνουν αναντιστοιχίες μιας βάσης και βρόχους εισαγωγής-διαγραφής σύντομων επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών βάσεων που εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της σύνθεσης του DNA. Ιν νίνο, τα MLH1 / PMS2 και MSH2 / MSH6 σχηματίζουν δύο λειτουργικά ζεύγη. Εάν υπάρξει απώλεια της MLH1 ή της MSH2, το έτερο συστατικό του γίνεται ασταθές και δεν λειτουργεί. Ωστόσο, το αντίστροφο δεν είναι αληθές, καθώς η απουσία PMS2 ή MSH6 δεν επηρεάζει τη σταθερότητα των MLH1 και MSH2, καθώς μπορούν να σταθεροποιηθούν σε σύνδεση με άλλα μόρια. Αρχικά, μετά από την ανίχνευση των σφαλμάτων αντιγραφής από τα ετεροδιμερή MSH2 / MSH6 (MutSα) και MSH2 / MSH3 (MutSβ), ακολουθεί η προσέγγιση του συμπλέγματος MLH1 / PMS2 η οποία αποικοδομεί το μεταλλαγμένο τμήμα και αρχίζει την επανασύνθεση του DNA (Li, 2008). Η έκφραση του MSH6 είναι συνήθως 10 φορές υψηλότερη εκείνης του MSH3, οδηγώντας σε μια αναλογία MutSα:

MutSβ περίπου 10: 1. Παρά τον μεγάλο αριθμό βημάτων στην αναγνώριση αναντιστοιχίας βάσεων για να είναι σε άψογη λειτουργία το MMR (pMMR-proficient MMR) απαιτούνται και τα δύο σύμπλοκα, MutSα και MutSβ (Peltomaki, 2003). Το σύστημα MMR απαιτείται επίσης τόσο για τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου όσο και για τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο απαντώντας σε ορισμένους τύπους βλάβης του DNA (Stojic et al., 2004). Έτσι, όταν το σύστημα MMR δεν λειτουργεί κανονικά (dMMR- deficient MMR), έχει ως αποτέλεσμα την αποτυχία εξάλειψης των ελαττωματικών κυττάρων οδηγώντας σε μεταλλάξεις και προοδευτικά στον καρκίνο (Kim et al.,2013).

ΟΙ ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ MSI ΚΑΙ MSS ΣΤΟΝ ΚΠΕ.

Ο ΚΠΕ με MSI παρουσιάζει κλινικά, παθολογοανατομικά και μοριακά χαρακτηριστικά που τον διακρίνουν από τον MSS ΚΠΕ. Ο MSI ΚΠΕ βρίσκεται συχνότερα στο δεξιό κόλον, συνδέεται με χαμηλής διαφοροποίησης όγκους, αυξημένη παραγωγή βλέννης, πολυάριθμα λεμφοκύτταρα που διεισδύουν στον όγκο (TILs) και με την παρουσία ανοσολογικής απάντησης όπως στην ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του τύπου της νόσου Crohn (Jenkins et al., 2007, Wright and Stewart, 2003). Παρά τη συσχέτιση της MSI με υψηλό βαθμό κακοήθειας, φαίνεται ότι ο τελευταίος δεν συνδέεται με την πρόγνωση στους όγκους με έλλειψη MMR (Mohan et al., 2016, Rosty et al., 2014, Ward et al.,2001). Οι όγκοι του παχέος εντέρου με αστάθεια σε ποσοστό >40% των δεικτών Bethesda θεωρούνται MSI-High (MSI-H) και είναι γνωστό ότι έχουν καλύτερη πρόγνωση και είναι λιγότερο επιρρεπείς σε μετάσταση από τους όγκους που δεν εμφανίζουν αστάθεια MSS.

Ο ΚΠΕ ΚΑΙ Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ MMR.

Η MSI παρατηρείται στο 15% του σποραδικού ΚΠΕ που έχουν διαγνωστεί στις Ηνωμένες Πολιτείες. Έχει επίσης αναφερθεί σε γλοιοβλαστώματα, λεμφώματα, καρκινώματα στομάχου, ουροποιητικού συστήματος, ωοθηκών και ενδομητρίου. Ο ΚΠΕ είναι ο τρίτος πιο συχνός καρκίνος σε άνδρες και γυναίκες

(Siegel et al., 2012). Στον ΚΠΕ, η MSI αντανακλά τον μηχανισμό ελαττωματικής επιδιόρθωσης (MMR) και προκαλείται πιο συχνά από υπερμεθυλίωση του υποκινητή MLH1 γονιδίου. Εντούτοις, μπορεί επίσης να οφείλεται σε επικρατούσες αυτοσωματικές μεταλλάξεις στα MMR γονίδια, γεγονός που χαρακτηρίζει το σύνδρομο Lynch. Η MSI μπορεί να διαγνωστεί μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) ή εναλλακτικά, με ανοσοϊστοχημεία (IHC), η οποία μπορεί να αναγνωρίσει απώλεια των MMR πρωτεϊνών (dMMR). Πολλοί υποστηρίζουν την καθολική εξέταση των όγκων του ΚΠΕ μέσω PCR για MSI είτε με IHC για dMMR για την ανίχνευση του συνδρόμου Lynch. Η συσχέτιση του σποραδικού MSI με τη μεθυλίωση του υποκινητή MLH1 και την παρουσία μετάλλαξης BRAF μπορεί να προσφέρει περαιτέρω αποκλειστικά κριτήρια για τη γενετική εξακρίβωση του συνδρόμου. Εκτός από τον έλεγχο για το σύνδρομο Lynch, ο έλεγχος MMR είναι σημαντικός λόγω των προγνωστικών και θεραπευτικών επιπτώσεων του. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα MSI ΚΠΕ παρουσιάζουν διαφορετικά κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά όπως προαναφέρθηκαν και διαφορετική πρόγνωση σε σύγκριση με τον MSS ΚΠΕ. Για παράδειγμα, η ανταπόκριση σε συμβατική χημειοθεραπεία έχει αναφερθεί ότι είναι μικρότερη στους όγκους με MSI. Πρόσφατα, έχει αναφερθεί ότι οι MSI όγκοι ανταποκρίνονται στην αναστολή των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος, παρέχοντας έτσι μια νέα θεραπευτική στρατηγική. Αυτό επιβεβαιώνει το λόγο για την εξέταση ρουτίνας MSI ή dMMR στον ΚΠΕ.

Το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου παραμένει μια από τις κύριες αιτίες θανάτου παγκοσμίως. Στα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ), το ποσοστό αντιστοιχεί στο 11,3% όλων των θανάτων από καρκίνο. Οι πληροφορίες αυτές ανακοινώθηκαν το Σεπτέμβριο του 2017 από την Eurostat. Το ποσοστό του ΚΠΕ στο συνολικό αριθμό των θανάτων ήταν 3,1% σε αυτές τις στατιστικές. Μεταξύ των 28 κρατών μελών το ποσοστό των θανάτων κυμάνθηκε από το υψηλότερο 4,1% στην Κροατία, στο χαμηλότερο 2,5% στην Ελλάδα και σε άλλες χώρες. Περίπου 50.000 θάνατοι κάθε χρόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες οφείλονται σε αυτόν τον καρκίνο (Siegel et al., 2012, Winawer et al., 2003). Η μείωση των ποσοστών θανάτου για το ΚΠΕ αντικατοπτρίζει τις βελτιώσεις στην έγκαιρη ανίχνευση και θεραπεία του καρκίνου, συνδυάζοντας την αυξημένη κατανόηση της μοριακής και γενετικής βάσης της νόσου (Hagan et al., 2013). Περισσότερο από δύο δεκαετίες πριν υποθέσαμε ότι η λιγότερο

επιθετική φύση των όγκων με MSI μπορεί να οφείλεται στην υψηλή συχνότητα εμφάνισης σωματικών μεταλλάξεων, η οποία οδηγεί σε μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν μεταλλαγμένα γονίδια, τα προϊόντα των οποίων προκαλούν αντινεοπλασματικές ανοσολογικές απαντήσεις. Πράγματι, στο μελάνωμα και σε όγκους πνεύμονα, αυξημένο φορτίο μεταλλάξεων έχει συσχετισθεί με αυξημένο ρυθμό απόκρισης σε αντι-CTLA-4 και αντι-PD-1 θεραπείες, αντιστοίχως, πιθανώς ως αποτέλεσμα ενός υψηλότερου ποσοστού νέων αντιγόνων, γεγονός που οδηγεί σε πιο αποτελεσματική αντινεοπλασματική ανοσολογική απόκριση. Άλλες αναφορές έδειξαν ότι οι ασθενείς, με ΚΠΕ και ανεπάρκεια dMMR έχουν καλύτερη απάντηση στην ανοσοθεραπεία με αναστολή του PD-1 ενώ παρουσιάζουν βελτιωμένο προσδόκιμο επιβίωσης σε σχέση με τους pMMR όγκους. Αν και η ακριβής σχέση μεταξύ του φαινότυπου MSI και η ανταπόκριση του ασθενούς στην ανοσοθεραπεία δεν έχει διασαφηνιστεί, είναι σαφές ότι η ακριβής ταυτοποίηση του φαινότυπου των μεταλλάξεων και του γονιδιώματος του ασθενούς έχει μεγάλη σημασία για την θεραπευτική προσέγγιση. Ο ΚΠΕ αντιπροσωπεύει μοριακά μια ασθένεια που οφείλεται σε ετερογενείς μηχανισμούς οι οποίοι χαρακτηρίζονται από γονιδιακές και επιγενετικές αλλαγές. Η κατανόηση των διαφόρων μοριακών, παθολογοανατομικών και επιδημιολογικών τέτοιων αλλαγών μας επιτρέπει να καθορίσουμε την κατηγοριοποίησή τους. Η εποχή που η εξέλιξη της νόσου μπορεί να συσχετιστεί με τους μοριακούς υποτύπους είναι πλέον εδώ. Ο συγκεκριμένος τρόπος προσέγγισης θα επιτρέψει στοχευμένες θεραπείες να εφαρμοστούν και να βελτιώσουν το τρόπο θεραπείας των ασθενών με ΚΠΕ.

Είναι πλέον εμφανές ότι ο ΚΠΕ είναι μια ετερογενής ασθένεια που χαρακτηρίζεται από ορισμένους μοριακούς υποτύπους (Guinney et al., 2015). Παραδοσιακά, δύο κύριες παθογενετικές οδοί έχουν εμπλακεί στην ανάπτυξη του ΚΠΕ: μονοπάτια χρωμοσωμικής αστάθειας (CIN) και μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI) (Cunningham κ.ά., 2010 · Ogino et al., 2011 · Shi and Washington, 2012). Τα CIN έχουν υποδιαιρεθεί πρόσφατα σε τρεις περαιτέρω μοριακούς υποτύπους (CMS), με διακριτά χαρακτηριστικά: α) CMS2 ("κανονικός υπότυπος"), επιθηλιακός, WNT και MYC σηματοδοτική ενεργοποίηση, β) CMS3 ("μεταβολικός υπότυπος"), επιθηλιακός με προφανή μεταβολική δυσλειτουργία και γ) CMS4 ("μεσεγχυματικός υπότυπος"), εξέχουσα ενεργοποίηση μετασχηματιστικού αυξητικού-β παράγοντα (TGF-β), διήθηση του στρώματος και αγγειογένεση (Guinney κ.ά., 2015). Ο CMS1

υπότυπος εμφανίζεται όταν υπάρχει έλλειψη σε πρωτεΐνες MMR, λόγω σποραδικής επιγενετικής σίγασης (π.χ. με υπερμεθυλίωση) ή σε κληρονομούμενες μεταλλάξεις (π.χ. σύνδρομο Lynch). Ο σποραδικός MSI εμφανίζεται τόσο σε ΚΠΕ όσο και σε άλλες κακοήθειες, ιδιαίτερα στον καρκίνο του ενδομητρίου (Bruegl et al., 2014, Haraldsdottir et al., 2014). Το σύνδρομο Lynch (που στο παρελθόν ονομάζονταν κληρονομικός καρκίνος του παχέος εντέρου που δεν οφείλεται σε πολύποδες HNPCC) είναι το συνηθέστερο σύνδρομο προδιάθεσης για καρκίνο και χαρακτηρίζεται από αυξημένη προδιάθεση σε ορισμένους καρκίνους και κυρίως στον ΚΠΕ (Vasen et al., 2007). Οι όγκοι του συνδρόμου Lynch προκαλούνται από αυτοσωματικές επικρατούσες μεταλλάξεις στο σύστημα MMR (Jass, 2007, Kovacs et al., 2009, Lagerstedt Robinson et al., 2007; Ligtenberg et al., 2009; Lynch et al., 2009; van der Klift et al., 2005). Μια παραδοσιακή τρίτη ή εναλλακτική μοριακή οδός για τον ΚΠΕ, η «οδοντωτή οδός», χαρακτηρίζεται από υπερμεθυλίωση του DNA σε συγκεκριμένες ρυθμιστικές θέσεις, εμπλουτισμένες σε επαναλήψεις CpG (νησίδες CpG) στις περιοχές των υποκινητών ογκοκατασταλτικών γονιδίων (Toyota et al., 1999). Υπάρχει κάποια αλληλεπικάλυψη μεταξύ αυτού του φαινότυπου των νησίδων μεθυλίωσης CpG (CIMP) και των σποραδικών καρκίνων MSI λόγω της συσχέτισης τους με μεθυλίωση του υποκινητή MLH1 και με την ενεργοποίηση της μετάλλαξης BRAF (Kane κ.ά., 1997). Ωστόσο, η μετάλλαξη BRAF είναι σπάνια σε όγκους σε σύνδρομο Lynch (Lagerstedt Robinson et al., 2007). Έτσι, η εξέταση BRAF ή η ανάλυση μεθυλίωσης του υποκινητή MLH1 μπορεί να αποδειχθούν κριτήρια εξ αποκλεισμού για τον γενετικό έλεγχο του συνδρόμου Lynch (EGAPP, 2009).

Σήμερα υπάρχουν τέσσερις βασικοί λόγοι για τους οποίους οι κλινικοί γιατροί μπορεί να ενδιαφέρονται για τον προσδιορισμό MSI / MMR σε ασθενείς με ΚΠΕ.

1. Η ανίχνευση του συνδρόμου Lynch - ο ρόλος του MMR ως γενετικού σήματος του συνδρόμου Lynch έχει καθιερωθεί. Τόσο η ανίχνευση MSI όσο και η IHC είναι εξαιρετικά ευαίσθητες μέθοδοι για την ταυτοποίηση ενός ελαττωματικού συστήματος MMR και την καθοδήγηση των κλινικών για την παροχή πληροφοριών και οικονομικά σχετιζόμενων γενετικών εξετάσεων. Αυτοί οι ασθενείς επωφελούνται από την αυξημένη παρακολούθηση (Jarvinen et al., 2000, Jarvinen et al., 1995), την προφυλακτική χρήση ασπιρίνης (Burn et al., 2011) την προεγχειρητική ακτινοθεραπεία (Heneghan et al., 2015, Vasen et

αϊ., 2013) ενώ απαιτούν διαφορετικές προσεγγίσεις στην παρηγορητική θεραπεία (Le et al., 2015, Sinicrope and Yang, 2011).

2. Πρόγνωση - Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι το dMMR ΚΠΕ έχει καλύτερη πρόγνωση από το pMMR ΚΠΕ (Gavin et al., 2013 · Guastadisegni et al., 2010 · Klingbiel et al., 2015 · Popat et al., 2005 · Roth κ.ά. ., 2010, Sinicrope et αϊ., 2015). Οι όγκοι με MSI είναι λιγότερο πιθανό να μεθίστανται σε λεμφαδένες (Mohan et al., 2016) και στο ήπαρ (Nordholm-Carstensen et al., 2015). Ωστόσο, στη μεταστατική νόσο, το MSI φαίνεται να προσδίδει αρνητική πρόγνωση. (Goldstein et al., 2014, Mohan et al., 2016, Tran et al., 2011) Ο βαθμός κακοηθείας δεν σχετίζεται με την πρόγνωση σε dMMR (Mohan et αϊ, 2016, Rosty et αϊ, 2014, Ward et αϊ. 2001).

3. Απάντηση στη χημειοθεραπεία - Αν και τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα, πολλά προκλινικά και κλινικά στοιχεία υποδεικνύουν μειωμένη πιθανώς ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία με 5-FU στους dMMR όγκους (Benatti et al., 2005, Hutchins et al., 2011, Hutchins et al., 2011; Ribic et al., 2003; Σύμφωνα με το National Comprehensive Cancer Network (NCCN), η ανάλυση του MMR θα πρέπει να γίνεται σε όλους τους ασθενείς που βρίσκονται στο στάδιο II της νόσου, καθώς αυτοί οι όγκοι παρουσιάζουν καλή πρόγνωση ενώ παράλληλα δεν εμφανίζουν θετικά αποτελέσματα από τη χημειοθεραπεία (NCCN , 2015).

4. Παρηγορητική ανοσοτροποποιητική θεραπεία - Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι οι καρκίνοι με MSI που σχετίζονται με προχωρημένο στάδιο εμφανίζουν καλύτερη ανταπόκριση και καλύτερη επιβίωση ελεύθερης νόσου [progression-free survival (PFS)] στο ανοσορρυθμιστικό φάρμακο pembrolizumab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα (MAb) έναντι του συνδέτη PD-1 (Programmed Death 1) σε σύγκριση με τους καρκίνους MSS (Le et al., 2015). Άλλες μελέτες με anti-PD-1 ((ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02460198) και αντι-κυτταροτοξική T-λεμφοκυττάρου σχετιζόμενη πρωτεΐνη 4 [anti-cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4)] θεραπείες (Checkmate 142 [ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02060188]) βρίσκονται σε εξέλιξη. Για αυτούς τους λόγους, δόθηκε μεγαλύτερη έμφαση στον προσδιορισμό του MMR για όλα τα άτομα που διαγιγνώσκονται με ΚΠΕ για πρώτη φορά. Παρόλα αυτά, λιγότερο από το ήμισυ των ογκολογικών νοσοκομείων στη Βόρεια Αμερική εκτελούν

συστηματικά IHC / PCR για τον προσδιορισμό του MMR στον ΚΠΕ (Beamer et al., 2012).

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΠΕ ΜΕ MSI.

ΣΥΝΔΡΟΜΟ LYNCH

Το σύνδρομο Lynch είναι το συχνότερο κληρονομικό σύνδρομο του ΚΠΕ και αντιπροσωπεύει περίπου το 1-3% όλων των ΚΠΕ (Vasen et al., 2007). Χαρακτηρίζεται από αυξημένη συχνότητα εμφάνισης όγκων κυρίως στο παχύ έντερο και ενδομήτριο, αλλά και του στόμαχου, των ωοθηκών, του ήπατος και των χοληφόρων, του ουροποιητικού συστήματος, του εγκεφάλου και στον καρκίνο του δέρματος κυρίως δε σε καρκίνους που εμφανίζονται σε μικρότερη ηλικία (Aarnio et al., 1999 · Abdel-Rahman et al., 2006 · Grover et al., 2009 · Hampel et al., 2005 · Vasen et al., 2007 · Vasen et al., 2001b) (Πίνακας 4.1).

Πίνακας 4.1 Καρκίνος και Σύνδρομο Lynch

Τύπος Καρκίνου	Ποσοστό κινδύνου στον πληθυσμό	Lynch Syndrome (MLH1& MSH2)	
		Κίνδυνος	Μέση Ηλικία Εμφάνισης
Παχέος Εντέρου	4,8%	52%-82%	44-61 χρονών
Ενδομητρίου	2,7%	25%-60%	48-62 χρονών
Ωοθηκών	1,4%	4%-12%	42 χρονών
Στομάχου	<1%	6%-13%	56 χρονών
Λεπτού Εντέρου	<1%	3%-6%	49 χρονών
Ήπατος-	<1%	1,4%-4%	Απουσία

Χοληφόρων			δεδομένων
Ουροποιητικού συστήματος	<1%	1%-4%	55 χρονών
Όγκων Κεντρικού νευρικού συστήματος	<1%	1%-3%	50 χρονών
Όγκοι Σμηγματογόνων Αδένων	<1%	1%-9%	Απουσία δεδομένων

Ο κίνδυνος ποικίλλει ανάλογα με το γονίδιο MMR που εμπλέκεται (Plaschke et al., 2004, ten Broeke et al., 2015, Vasen et al., 2001a, Wijnen et al., 2009). Για να διευκολυνθεί η γενετική συμβουλευτική και η ιατρική στην κλινική πράξη, ένας διαδραστικός ιστότοπος που παρέχει την πλήρη κατανομή όλων των τύπων καρκίνου, ανάλογα με το γονιδιακό ελάττωμα, σε οποιαδήποτε ηλικία είναι τώρα διαθέσιμος στο <http://www.claris.org/> Moller et al. Το σύνδρομο Lynch οφείλεται κυρίως σε αυτοσωμικές επικρατείς μεταλλάξεις στα γονίδια MMR MLH1 και MSH2 και λιγότερο συχνά στα MSH6 και PMS2 (Aarnio κ.ά., 1999 · Bonadona et al., 2011, Jass, 2007, Koinuma et al., 2004, Lagerstedt Robinson et al., 2007, Lynch et al., 2009, Takemoto et al., 2004). Οι μεγάλες γονιδιακές αναδιατάξεις αντιπροσωπεύουν το 5-20% όλων των μεταλλάξεων (Lynch et al., 2009). Οι μεθυλιώσεις σε ημι-αλληλόμορφα της σειράς MLH1 ή MSH2, που ονομάζονται "επιμεταλλάξεις", έχουν επίσης αναγνωριστεί ως αιτίες του συνδρόμου Lynch (Kloor et al., 2012, Ollila et al., 2006, Sheng et al., 2006). Πρόσφατα, απαλοιφές του γονιδίου προσκόλλησης επιθηλιακών κυττάρων (EPCAM), προηγουμένως γνωστό ως TACSTD1 (tumor-associated calcium signal transducer 1), που βρίσκεται άνωθεν του MSH2, έχουν εμπλακεί στο σύνδρομο Lynch (Kovacs et al., 2009, Kuiper et al., 2011, Ligtenberg κ.ά., 2009). Οι διαγραφές στο 3ο εξόνιο του γονιδίου EPCAM οδηγούν σε μεταγραφική στόχευση και διαμεσολαβούν την επιγενετική σίγαση του MSH2. Για το λόγο αυτό ο ΚΠΕ με ετερόζυγες EPCAM διαγραφές είναι MSH2-αρνητικός καρκίνος (Kovacs et al., 2009, Kuiper et al., 2011, Ligtenberg et al., 2009). Είναι σημαντικό να θυμόμαστε ότι η βλάβη στο MMR δεν εκδηλώνεται

μέχρι να αδρανοποιηθούν και τα δύο αλληλόμορφα του υπεύθυνου γονιδίου (Geiersbach and Samowitz, 2011). Ένα "δεύτερο χτύπημα" στο άλλο αλληλόμορφο απαιτείται πριν γίνει εμφανής δυσλειτουργία στο MMR. Η απενεργοποίηση του παραμένοντος αλληλόμορφου μπορεί να προκύψει από μια ποικιλία μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της διαγραφής, της γονιδιακής υποκατάστασης και της μεθυλίωσης (Boland and Shike, 2010). Όταν υπάρχει υποψία για σύνδρομο Lynch, θα πρέπει να αναζητηθεί το οικογενειακό ιστορικό, τεκμηριώνοντας τη διάγνωση σε τρεις γενιές της οικογένειας του ασθενούς (Wattendorf and Hadley, 2005). Η Αμερικανική Εταιρεία Κλινικής Ογκολογίας (ASCO) πρότεινε ένα ελάχιστο οικογενειακό ιστορικό για την εκτίμηση του κινδύνου για καρκίνο (Lu et al., 2014) (Πίνακας 4.2).

Πίνακας 4.2.

Οι συγγενείς που πρέπει να συμπεριληφθούν σε ένα επαρκές οικογενειακό ιστορικό:
Συγγενείς πρώτου βαθμού: Δίδυμα, γονείς, παιδιά
Συγγενείς δευτέρου βαθμού: παππούδες, θείες, θείοι, εγγόνια, ανιψιές, ανιψιοί, ετεροθαλή αδέρφια
Τόσο από τη μητρική όσο και από την πατρική πλευρά
Εθνικότητα
Για κάθε περίπτωση καρκίνου στην οικογένεια, καθορίστε:
Ηλικία στη οποία έγινε η πρώτη διάγνωση του καρκίνου
Ο τύπος του πρωτοπαθούς όγκου
Αποτελέσματα που προκύπτουν από εξετάσεις και αφορούν την προδιάθεση για καρκίνο σε κάθε συγγενικό πρόσωπο
Το οικογενειακό ιστορικό πρέπει να επικαιροποιείται

Στην καθημερινή κλινική πράξη υπάρχουν δυσκολίες στην αναζήτηση ενός λεπτομερούς οικογενειακού ιστορικού λόγω της αδυναμίας συλλογής των πληροφοριών, των χρονικών περιορισμών, της αδυναμίας να συζητηθούν γενετικές ασθένειες σε οικογένειες και ασθενείς και η ελλιπής γνώση του οικογενειακού ιστορικού για παράδειγμα σε περιπτώσεις υιοθεσίας (Mitchell et

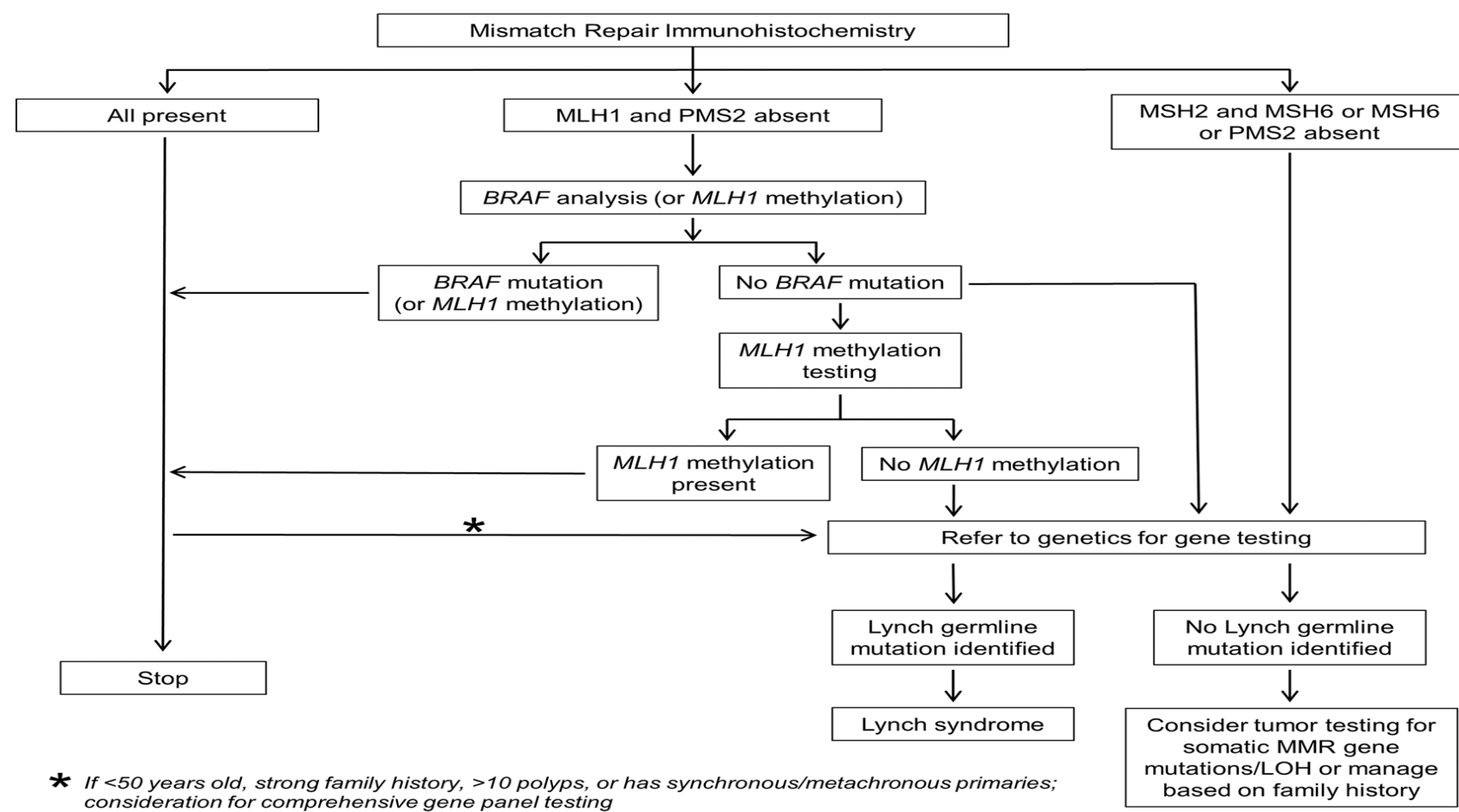
al., 2004, Wilson et al., 2009). Αυτό οδήγησε στην προώθηση άλλων μεθόδων για την επιλογή των ασθενών που ενδείκνυνται για γενετικές εξετάσεις. Τα κριτήρια του Άμστερνταμ και του αναθεωρημένου Bethesda χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση του κινδύνου του συνδρόμου Lynch εδώ και πολλά χρόνια (Gologan and Sepulveda, 2005, Jass, 2007, Peterlongo et al., 2003) (Πίνακας 4.3).

Πίνακας 4.3

Amsterdam II
Τουλάχιστον 3 συγγενείς με το σύνδρομο του κληρονομικού μη πολυποδισιακού ορθοκολικού καρκίνου (HNPCC) που έχουν εμφανίσει έναν ή περισσότερους από τους ακόλουθους καρκίνους: ΚΠΕ, ενδομητρίου, στομάχου, ωοθηκών, ουρητήρα / πυέλου, εγκεφάλου, λεπτού εντέρου, καρκίνου της ηπατοχολικής οδού και όγκους σμηγματογόνων αδένων του δέρματος
1. Ο ένας είναι πρώτου βαθμού συγγενής των άλλων δύο
2. Τουλάχιστον δύο διαδοχικές γενεές με καρκίνο
3. Τουλάχιστον ένας από τους καρκίνους του συνδρόμου θα πρέπει να διαγνωστεί σε άτομα <50 ετών
4. Η οικογενής αδενωματούδης πολυποδίαση (FAP) θα πρέπει να αποκλείεται σε περιπτώσεις ΚΠΕ
5. Οι όγκοι θα πρέπει να επιβεβαιώνονται ιστολογικά όποτε αυτό είναι δυνατό
Αναθεωρημένες κατευθυντήριες οδηγίες από την Bethesda
Τα ΚΠΕ θα πρέπει να ελέγχονται για MSI στις ακόλουθες περιπτώσεις
1. Σε ΚΠΕ που έχει διαγνωστεί σε ασθενή ηλικίας κάτω των 50 ετών
2. Παρουσία σύγχρονου ή σε μετάχρονου(ων) ΚΠΕ ή άλλων σχετικών με

HNPCC όγκων ανεξαρτήτως της ηλικίας.
3. Σε ΚΠΕ με ιστολογικούς χαρακτήρες MSI-H διαγνωσμένα σε πάσχοντα ηλικίας <60 ετών.
4. Σε ΚΠΕ που διαγνώστηκε σε έναν ή περισσότερους πρώτου βαθμού συγγενείς με HNPCC, με έναν από τους καρκίνους να διαγιγνώσκονται κάτω από την ηλικία των 50 ετών.
5. Σε ΚΠΕ που διαγνώστηκε σε δύο ή περισσότερους συγγενείς πρώτου ή δεύτερου βαθμού με HNPCC, ανεξάρτητα από την ηλικία.

Σε πρόσφατες μελέτες, προγράμματα υπολογιστών που βασίζονται σε δεδομένα (π.χ. MMR-pro, PREMM, MMR predict) έχουν ποσοτικοποιήσει τον κίνδυνο ασθενών για την παρουσία dMMR (Chen et al., 2006, Green et al., 2009, Kastrinos et al., 2011). Η διάγνωση με βάση τα κλινικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου Lynch, όπως τα κριτήρια του Άμστερνταμ, έχει χαμηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα από αυτήν που ενσωματώνει τη χρήση του αλγόριθμου MSI / MMR, όπως παρατίθεται στις κατευθυντήριες οδηγίες της Bethesda (Gologan and Sepulveda, 2005, Jass, 2007, Peterlongo et al., 2003) (Εικόνα 4.1). Ο έλεγχος των όγκων σε ευρεία βάση οικογενειών αυξάνει περαιτέρω την ευαισθησία σε σύγκριση με την επιλεκτική εξέταση συγγενών που βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο και που παρακολουθούνται για τον καρκίνο (EGAPP, 2009, Palomaki et al., 2009, Snowsill et al., 2014).



Εικόνα 4.1: Αλγόριθμος για τη διάγνωση του συνδρόμου Lynch (Modern Pathology 32:1–15,2019).

Εντατική παρακολούθηση του καρκίνου απαιτείται για κάθε άτομο με σύνδρομο Lynch (Goldberg et al., 2015). Η εγγραφή σε εξειδικευμένα μητρώα και η παρουσία των ασθενών σε εξειδικευμένα κέντρα για οικογένειες υψηλού κινδύνου μπορεί να διευκολύνει τη μακροχρόνια φροντίδα τέτοιων ασθενών (Stoffel et al., 2015, Vasen et al., 2014). Στην βιβλιογραφία δεν έχει καταγραφεί ο ρόλος της προληπτικής κολεκτομής, αλλά η προφυλακτική υστερεκτομή και η αμφοτερόπλευρη σαλπιδιο-ωοθηκεκτομή ενδείκνυνται σε γυναίκες που έχουν τεκνοποιήσει ή μετά την ηλικία των 40 ετών, μειώνοντας σημαντικά τον κίνδυνο τόσο του καρκίνου του ενδομητρίου όσο και του καρκίνου των ωοθηκών (Schmeler et al., 2013). Η εποπτεία των περιστατικών περιλαμβάνει: την κολonosκόπηση κάθε 1-2 χρόνια από την ηλικία των 25 ετών (ή 5 χρόνια νωρίτερα από το νεότερο μέλος της οικογένειας που πάσχει από την ασθένεια αν είναι <30 ετών), επί δύο(2) χρόνια παρακολούθηση με ενδοσκόπηση του ανώτερου πεπτικού από την ηλικία των 30 ετών σε οικογένειες όπου ο καρκίνος του στομάχου ανιχνεύεται στην ηλικία των 30 ετών ή εμφανίζουν υψηλό δείκτη κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου σε επίπεδο γεωγραφικό-εθνολογικό. Μερικές κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν ετήσια γυναικολογική εξέταση, πυελικό υπερηχογράφημα, ανάλυση του δείκτη CA-125 και ανάλυση ούρων. Ωστόσο δεν υπάρχει επιβεβαιωμένο όφελος με αυτά τα επιπλέον στοιχεία (Auranen και Joutsiniemi, 2011 Vasen et al., 2013). Η παρακολούθηση άλλων καρκίνων που σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch δεν

συνιστάται εκτός κλινικών μελετών, λόγω της χαμηλής ευαισθησίας και ειδικότητας των διαθέσιμων έως σήμερα αναλύσεων (Rubenstein et al., 2015, Stoffel και Kastrinos, 2014, Vasen et al., 2013). Η ευρωπαϊκή ομάδα για τους κληρονομικούς όγκους (EHTG / Mallorca Group) προτείνει να γίνει μια συζήτηση και να προταθεί ως επιλογή η ολική κολεκτομή (OK), ιδιαίτερα στα νεαρά άτομα με ΚΠΕ που σχετίζεται με το σύνδρομο Lynch (Vasen et al., 2013). Ο λόγος για τον οποίο προτείνεται αυτό είναι το γεγονός ότι υπάρχει ο κίνδυνος σε ποσοστό 16% για την ανάπτυξη σε δεύτερο χρόνο ΚΠΕ μετά από μερική κολεκτομή (MK) του παχέος εντέρου κατόπιν 10ετούς παρακολούθησης, ακόμα και μετά από ενδεδειγμένη παρακολούθηση με κολονοσκόπηση (Vasen et al., 2013). Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε ότι τα αδενώματα υψηλού κινδύνου που διαγιγνώσκονται σε δεύτερο χρόνο είναι συχνότερα μετά από μερική κολεκτομή (MK) από ότι στην ολική κολεκτομή (OK). Το σημαντικότερο είναι ότι οι καρκίνοι σε δεύτερο χρόνο ήταν συχνότεροι μετά από MK [23,5% έναντι 6,8%, ολικός κίνδυνος (OR) 3,679, $P < 0,005$]. Ωστόσο, δεν υπήρξε διαφορά στη συνολική επιβίωση (90,7% έναντι 89,8% για MK και OK αντίστοιχα, $P = 0,085$) (Heneghan et al., 2015). Έτσι, η πιο κατάλληλη χειρουργική θεραπεία του ΚΠΕ στο σύνδρομο Lynch φαίνεται να μην έχει αποφασιστεί. Υπάρχουν ενθαρρυντικά στοιχεία ότι η ιατρική θεραπεία με ασπιρίνη μειώνει τον κίνδυνο ΚΠΕ σε ασθενείς με σύνδρομο Lynch. Μια πρόσφατη τυχαίοποιημένη κλινική μελέτη έδειξε σημαντική μείωση σε ΚΠΕ και σε άλλους καρκίνους μεταξύ των ασθενών με σύνδρομο Lynch που έλαβαν ασπιρίνη 600 mg (Burn et al., 2008, Burn et al., 2011). Μια μεταγενέστερη μετα-ανάλυση που εξετάζει την ημερήσια ασπιρίνη και την επίδρασή της στον καρκίνο αποκάλυψε μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας από ΚΠΕ μεταξύ των ασθενών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ασπιρίνη, αν και δεν επιτεύχθηκε μεγαλύτερο όφελος με δοσολογία ασπιρίνης άνω των 75 mg ημερησίως (Chan et al., 2012). Επομένως, η επιλογή ημερήσιας θεραπείας με υψηλή ή χαμηλή δόση ασπιρίνης μπορεί να συζητηθεί σε άτομα με σύνδρομο Lynch. Ως αποτέλεσμα αυτών των προσπαθειών, έχει ξεκινήσει μια διπλά τυφλή τυχαίοποιημένη κλινική μελέτη (Πρόγραμμα Πρόληψης του Καρκίνου 3 / CaPP3, CRUK / 12/039) με στόχο την εύρεση της σωστής δόσης ασπιρίνης για την πρόληψη του καρκίνου στο σύνδρομο Lynch.

ΤΟ “ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΤΥΠΟΥ LYNCH” ΚΑΙ ΟΙ ΝΕΟΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΚΠΕ ΜΕ MSI.

Σωματικές μεταλλάξεις των γονιδίων MMR, και μεταλλάξεις μεθυλίωσης υποκινητών σχετίζονται με μη φυσιολογικό MMR (dMMR), ωστόσο έχει αναφερθεί σπανίως ότι μερικοί καρκίνοι MSI δεν φέρουν άμεσες μεταβολές στα γονίδια MMR (Hampel et al., 2005). Υπάρχει μια σημαντική ομάδα ασθενών ($\leq 35\%$), των οποίων οι όγκοι παρουσιάζουν dMMR. Αυτό αποδεικνύεται με την ανοσοϊστοχημεία ή με τη μοριακή ανάλυση του MSI και ενώ έχουν οικογενειακό ιστορικό συνδρόμου Lynch, η γενετική εξέταση δεν μπορεί να βρει κληρονομική μετάλλαξη σε γονίδιο MMR ενώ παράλληλα δεν αποδεικνύεται υπερμεθυλίωση του MLH1 υποκινητή όπως σε σποραδικά ΚΠΕ (Geurts-Giele et al., 2014). Γι’ αυτού του είδους τις περιπτώσεις ο όρος σύνδρομο τύπου Lynch (Lynch-like Syndrome -LLS) έχει καθιερωθεί και πιστεύεται ότι μπορεί να αντιπροσωπεύει έως και το 70% των όγκων στους οποίους απεικονίζεται κλινικά το σύνδρομο Lynch, αλλά ο γενετικός έλεγχος δεν κατορθώνει να εντοπίσει μετάλλαξη του γονιδίου (Rodriguez-Soler κ.ά., 2013). Υπάρχουν πολλές πιθανές αιτίες για το LLS. Ως εκ τούτου, πρέπει να τονιστεί ότι το LLS είναι υπό διερεύνηση και οι καταστάσεις κάτω από αυτόν τον όρο μπορούν να μετατραπούν σε διαφορετικές οντότητες καθώς προκύπτουν νέες γνώσεις. Η ανάλυση των υποψήφιων καρκίνων LLS καταδεικνύει ετερογένεια στον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου, με τον ΚΠΕ και άλλων κακοηθειών σε οικογένειες με LLS να είναι χαμηλότερος στις οικογένειες με σύνδρομο Lynch αλλά υψηλότερος στις οικογένειες με σποραδικό ΚΠΕ (Rodriguez-Soler et al., 2013). Αυτό συμβαδίζει με διαφορετική παθογένεια του LLS, μέχρις ότου ανακαλυφθούν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τους κινδύνους για την ανάπτυξη καρκίνου και τους ρυθμούς με τους οποίους μπορεί να εξελιχθεί. Για το λόγο αυτό συνιστάται εντατική παρακολούθηση των ασθενών με τις ίδιες κατευθυντήριες οδηγίες που έχουν καθοριστεί για το σύνδρομο Lynch (Carethers and Stoffel, 2015). Οι ασθενείς με LLS εκδηλώνουν καρκίνο σε νεότερες ηλικίες, παρόμοιες με αυτές του συνδρόμου Lynch (53,7 έτη έναντι 48,5 ετών), επιβεβαιώνοντας έτσι την υπόθεση ότι μη διαγνωσμένες θεμελιώδεις μεταλλάξεις (εκτός από τις θεμελιώδεις μεταλλάξεις στα γονίδια MMR) μπορεί επίσης να είναι υπεύθυνες για φαινότυπους όγκων που μοιάζουν πολύ με το σύνδρομο Lynch (Geurts-Giele et al., 2014, Haraldsdottir et al., 2014, Rodriguez-Soler et al., 2013).

Ωστόσο, είναι πιθανό ότι ορισμένοι ασθενείς με LLS θα μπορούσαν να έχουν σύνδρομο Lynch, καθώς ορισμένοι όγκοι μπορεί να οφείλονται σε θεμελιώδεις μεταλλάξεις γονιδίων MMR που δεν ανιχνεύονται με τις καθιερωμένες εξετάσεις. Πράγματι, η εκτεταμένη ανάλυση NGS έδειξε ότι αυτό συμβαίνει σε ορισμένες περιπτώσεις (Rodriguez-Soler et al., 2013). Μια άλλη αιτία είναι οι σωματικές μεταλλάξεις σε ένα αλληλόμορφο γονιδίου MMR σε συνδυασμό με την απώλεια της ετεροζυγωτίας (LOH) του άλλου αλληλόμορφου (Geurts-Giele et al., 2014, Mensenkamp et al., 2014). Εντούτοις, μέχρι και το 50% του LLS ΚΠΕ εμφανίζει απενεργοποίηση στα δύο αλληλόμορφα γονιδίων MMR σε σωματικά κύτταρα στην περιοχή του όγκου (Geurts-Giele et al., 2014, Haraldsdottir et al., 2014, Kang et al., 2015, Rodriguez-Soler et al., 2013, Sourrouille κ.ά., 2013). Έχει τώρα καταδειχθεί ότι πολλά από τα LLS οφείλονται σε θεμελιώδεις μεταλλάξεις και επιμεταλλάξεις σε άλλα γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των POLD1 και POLE (Haraldsdottir et al., 2014, Palles κ.ά., 2013), MUTYH (Castillejo et al., 2014, Syngal et al., 2015), FAN1 (Segui κ.ά., 2015), NTHL1 (Weren et al., 2015), PIK3CA (Cohen κ.ά., 2016), BRCA1 / 2, PTEN, STK11 (Yurgelun et al., 2015) και άλλα γονίδια σχετιζόμενα με καρκίνο (SMAD4, BMPR1A, KLLN, AKT1, AXIN2, BUB1 και BUB3) (Hansen et al., 2017) με κάποιους όγκους ορισμένες φορές να αποκτούν δύο σωματικές μεταλλάξεις στο ίδιο γονίδιο MMR και κατά συνέπεια να οδηγούν σε dMMR και MSI (Frayling and Arends, 2015 · Short κ.ά., 2015). Οι μεταλλάξεις στα δύο αλληλόμορφα του MSH3 έχουν επίσης αναγνωριστεί ως προδιαθεσικοί παράγοντες για το MSI ΚΠΕ. Ωστόσο, αυτό συμβαίνει σε μεγαλύτερες επαναλήψεις βάσεων από ό,τι αυτή τη στιγμή μπορεί να διερευνηθεί με το συμβατικό μοριακό έλεγχο του MSI. Η αυξανόμενη χρήση του NGS μπορεί τελικά να βοηθήσει προς αυτή την κατεύθυνση (Adam et al., 2016).

Ο ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟΣ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ Χ ΤΟΥ ΚΠΕ

Περιπτώσεις με οικογενειακό ιστορικό ΚΠΕ που ανταποκρίνεται στα κριτήρια του Άμστερνταμ με pMMR και MSS ταξινομούνται ως οικογενείς ΚΠΕ τύπου Χ (FCCTX). Σχεδόν οι μισές οικογένειες που πληρούν τα κριτήρια του Amsterdam ταιριάζουν με τα χαρακτηριστικά της FCCTX. Ο κίνδυνος ΚΠΕ

των ασθενών με FCCTX είναι διπλάσιος από εκείνους του γενικού πληθυσμού (το ένα τρίτο αυτών με σύνδρομο Lynch) και οι οικογένειες των FCCTX δεν εμφανίζουν άλλου τύπου καρκίνο εκτός του παχέος εντέρου (Lindor et al., 2005). Το FCCTX παραμένει άγνωστο, αν και πρόσφατες έρευνες υποδεικνύουν ότι μπορεί, όπως το LLS, να είναι μια ετερογενής κατάσταση με μεταλλάξεις σε αρκετά γονίδια που θεωρούνται υπεύθυνα (Nieminen et al., 2014, Schulz κ.ά., 2014, Spier κ.ά., 2015, Wei et al., 2015) .

ΘΕΜΕΛΙΩΔΕΣ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ MMR [CONSTITUTIONAL MMR DEFICIENCY SYNDROME-(CMMRD)]

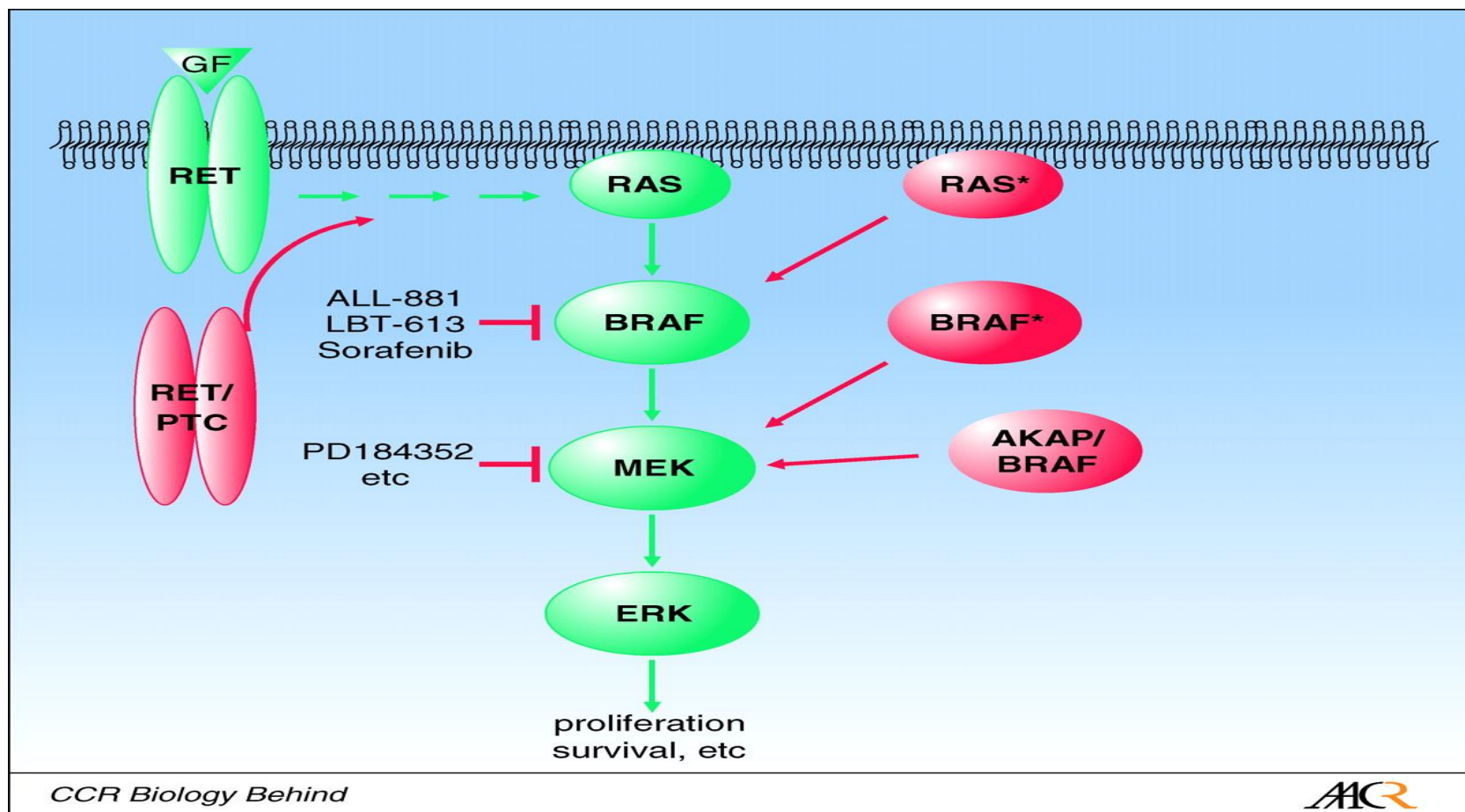
Το σύνδρομο αυτό αποτελεί μια σπάνια αιτία ΚΠΕ με MSI. Στα πλαίσια αυτού του συνδρόμου παρατηρείται ανεπάρκεια MMR σε όλους τους ιστούς του σώματος και οφείλεται σε θεμελιώδεις μεταλλάξεις και στα δύο αλληλόμορφα των MMR γονιδίων. Οι ασθενείς αυτοί έχουν διαφορετικό κλινικό φαινότυπο από το σύνδρομο Lynch με πολύ πρόωμη εκδήλωση αιματολογικών και εγκεφαλικών όγκων καθώς και όγκων του λεπτού εντέρου (Barnetson et al., 2006, Felton et al., 2007, Lindor et al., 2005). Η διεισδυτικότητα των μεταλλάξεων είναι μικρότερη και σε αντίθεση με άλλους όγκους με MSI, εμφανίζονται πιο συχνά στο αριστερό κόλον (Felton et al., 2007, Lindor et al., 2005). Όπως οι όγκοι που αναπτύσσονται στο σύνδρομο Lynch και LLS, τα CMMRD ΚΠΕ εμφανίζουν MSI και η IHC θα αναδείξει dMMR. Εντούτοις, ένα χαρακτηριστικό των ασθενών με CMMRD είναι ότι ο παρακείμενος του όγκου φυσιολογικός ιστός του παχέος εντέρου παρουσιάζει επίσης dMMR (Carethers and Stoffel, 2015).

Ο ΣΠΟΡΑΔΙΚΟΣ ΚΠΕ ΠΟΥ ΣΥΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ MSI

Η MSI όπως αναφέρθηκε είναι ένας φαινότυπος με αυξημένη μεταλλαξιμότητα, παρατηρείται σε όγκους στους οποίους η επιδιόρθωση του DNA είναι ελαττωματική και χαρακτηρίζεται από μεγάλο εύρος πολυμορφισμών των μικροδορυφορικών επαναλήψεων λόγω ανεπάρκειας της

DNA πολυμεράσης ή λόγω της αυξημένης συχνότητας με την οποία μεμονωμένα νουκλεοτίδια μεταβάλλονται. Η MSI σε σποραδικές περιπτώσεις νεοπλασιών οφείλεται σε απενεργοποίηση των MMR γονιδίων (για παράδειγμα MLH1, MSH2, MSH3, MSH6 και PMS2) λόγω σωματικών μεταλλάξεων με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου στους ασθενείς με κληρονομούμενες γονιδιακές μεταλλάξεις όπως το σύνδρομο Lynch. Η MSI επίσης οφείλεται στην υπερμεθυλίωση του MLH1 υποκινητή (για παράδειγμα σχετίζεται με τις σωματικές μεταλλάξεις στο BRAF V600E), στην επιγενετική αδρανοποίηση του MSH2, ή στην καθοδική ρύθμιση των γονιδίων MMR από microRNAs. Γεγονότα μικροδορυφορικής αστάθειας εντός των περιοχών κωδικοποίησης μπορούν να μεταβάλλουν το πλαίσιο ανάγνωσης, οδηγώντας σε κατακερματισμένες, μειωμένες λειτουργικά πρωτεΐνες. Ο MSI σποραδικός ΚΠΕ είναι το αποτέλεσμα υπερμεθυλίωσης του υποκινητή του MLH1 (Cunningham et al., 1998) που σχετίζεται με την κατάσταση γνωστή ως CIMP (Toyota et al., 1999). Το 15% των ΚΠΕ με MSI έως και το 90% (δηλαδή 12-14% του συνόλου του ΚΠΕ) υπολογίζεται ότι οφείλεται σ' αυτό το μηχανισμό (Grady and Carethers, 2008, Herman et al., 1998, Imai and Yamamoto, 2008, Kim and Kang, 2014, Veigl κ.ά., 1998). Οι σποραδικοί όγκοι MSI ΚΠΕ μοιράζονται πολλά χαρακτηριστικά με τους όγκους που σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch. Εντούτοις, οι σποραδικοί όγκοι MSI διαγιγνώσκονται σε προχωρημένη ηλικία κυρίως σε γυναίκες και προέρχονται από βλάβες που χαρακτηρίζονται μορφολογικά από οδοντωτή/υπερπλαστική αρχιτεκτονική του επιθηλίου (Polydorides et al., 2008 · Popat et al., 2005).

Το BRAF είναι ογκογονίδιο που κωδικοποιεί μία πρωτεϊνική κινάση σερίνης-θρεονίνης εμπλεκόμενη στην αλληλουχία σηματοδότησης MAPK. Το BRAF δρα επηρεάζοντας άμεσα το RAS και μέσω της ενεργοποίησης της MEK, προάγει την ογκογένεση (Εικόνα 4.2).



Εικόνα 4.2 Σηματοδοτική οδός MAPK.

Η μετάλλαξη BRAF pV600E (c.1799T> A) εμφανίζεται σε 15-20% των ΚΠΕ και έχει σημαντικές γενετικές, προγνωστικές και θεραπευτικές επιπτώσεις (Koizuma et al., 2004, Suehiro et al., 2008). Μια πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας υποδεικνύει ότι το ποσοστό της μετάλλαξης BRAF στο σποραδικό MLH1 MSI ΚΠΕ είναι 63,50% (95% CI: 46,98% - 78,53%) (Parsons et al., 2012). Ομοίως, τα περισσότερα ΚΠΕ που περιέχουν ενεργοποιημένη μετάλλαξη BRAF έχουν CIMP, ενώ η CIMP και η μετάλλαξη BRAF είναι σπάνια στους ασθενείς με το σύνδρομο Lynch ($\leq 1\%$) (Lagerstedt Robinson et al., 2007). Έτσι, η ανάλυση της μετάλλαξης BRAF μπορεί να είναι το κριτήριο αποκλεισμού για γενετικές αναλύσεις σε ΚΠΕ με MSI (Lagerstedt Robinson et al., 2007, Palomaki et al., 2009). Αντίθετα, ανεξάρτητα από το βαθμό μεθυλίωσης, η συχνότητα των BRAF μεταλλάξεων σε όγκους εκτός από τον ΚΠΕ είναι χαμηλή και ως εκ τούτου ο έλεγχος BRAF δεν είναι χρήσιμος παράγοντας για το διαχωρισμό των σποραδικών όγκων εκτός του ΚΠΕ με dMMR από εκείνους που συνδέονται με το σύνδρομο Lynch, (Kawaguchi et al., 2009). Συνεπώς, η ανάλυση BRAF μετάλλαξης για παράδειγμα δεν είναι χρήσιμη στην παρακολούθηση του καρκίνου του ενδομητρίου (Leenen et al., 2012, Peterson et al., 2012).

ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ MSI.

Η διάγνωση της MSI γίνεται μέσω PCR πολλαπλασιασμού συγκεκριμένων μικροδορυφορικών επαναλήψεων. Η MSI ανιχνεύεται συγκρίνοντας τις επαναλήψεις των νουκλεοτιδίων στα καρκινικά κύτταρα και στα φυσιολογικά. Η πρότυπη διαγνωστική μέθοδος για το MSI, που υποστηρίζεται από το Εθνικό Ίδρυμα Καρκίνου στις ΗΠΑ, περιλαμβάνει αναλύσεις PCR καρκινικού και φυσιολογικού ιστού με τη χρήση πέντε μικροδορυφορικών δεικτών, δύο για μονονουκλεοτιδικές επαναλήψεις (BAT26 και BAT25) και τριών για δινουκλεοτιδικές επαναλήψεις (D2S123, D5S346 και D17S250) et al., 1998, Schwartz et al., 1999). Στη συνέχεια, ορίζονται τρεις ομάδες: όγκοι με δείκτη $\geq 30-40\%$ (MSI-υψηλό, MSI-H) $< 30-40\%$ (MSI-low, MSI-L) και αυτοί που είναι MSS. Ωστόσο η παρουσία και ο ρόλος του MSI-L παραμένει αμφιλεγόμενος (Kim et al., 2013). Για το λόγο αυτό, όταν μιλάμε για MSI ή για dMMR ΚΠΕ αναφερόμαστε μόνο σε MSI-H ΚΠΕ με την μέθοδο PCR ή dMMR με τη μέθοδο της IHC και αυτοί οι όροι χρησιμοποιούνται εναλλακτικά.

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ (IHC) ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ DMMR ΩΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΟ ΤΗΣ PCR.

Στην κλινική πράξη, η ανίχνευση του MSI εκτελείται συνήθως με ανοσοϊστοχημική ανάλυση των πρωτεϊνών MMR ή με την αξιολόγηση των δεικτών Bethesda, οι οποίοι συχνά περιλαμβάνουν δύο μονονουκλεοτιδικές (BAT25 και BAT26) και τρεις δινουκλεοτιδικές (D5S346, D2S123 και D17S250) μικροδορυφορικές επαναλήψεις. Η IHC για MMR επιτρέπει την απεικόνιση της κατάστασης έκφρασης των τεσσάρων πρωτεϊνών εντός του πυρήνα. Γενικά, η παρουσία και των τεσσάρων πρωτεϊνών υποδηλώνει μικροδορυφορική σταθερότητα αν και υπάρχουν εξαιρέσεις (ορισμένες περιπτώσεις με μεταλλαγή μπορεί να έχουν διατηρήσει τη χρώση), ενώ η απώλεια χρώσης υποδηλώνει ανεπάρκεια MMR με το πρότυπο που υποδηλώνει το ελαττωματικό γονίδιο. Συνιστάται η εξέταση MMR με τη χρήση και των τεσσάρων πρωτεϊνών, καθώς η μέθοδος με τις δύο χρώσεις (αποτελούμενη μόνο από PMS2 και MSH6) μπορεί να παραλείψει περιπτώσεις, ανεξάρτητα από την εξοικονόμηση κόστους. Η λογική για τη μέθοδο των δύο χρώσεων βασίζεται στο ζεύγος ετεροδιμερών των πρωτεϊνών MMR το PMS2 και MSH6, η οποία θα

πρέπει να είναι αρνητική, ανεξάρτητα από το εάν υπάρχει μετάλλαξη στο γονίδιο που κωδικοποιεί αυτά ή τους ετεροδιμερείς εταίρους τους (MLH1 και MSH2). Η MMR IHC δεν θεωρείται γενετικός έλεγχος αφού εκτιμά την έκφραση της πρωτεΐνης και μπορεί να παρατηρηθεί με γενετικές ή σωματικές μεταλλάξεις ή επιγενετικά συμβάντα. Ωστόσο, τα μη φυσιολογικά πρότυπα χρώσης ενδέχεται να υποδηλώνουν πιο είναι το πιθανό ελαττωματικό γονίδιο. Η χρήση της IHC για τον έλεγχο των πρωτεϊνών MMR: hMLH1, hMSH2, hMSH6 και hPMS2 και η έκφραση ή η απώλεια αυτής μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να υποδηλώσει παρουσία ή απουσία ενός λειτουργικού συστήματος MMR, και έμμεσα του MSI (Lindor et al., 2002). Περαιτέρω, προσδιορίζοντας την συγκεκριμένη πρωτεΐνη ή πρωτεΐνες με απώλεια της έκφρασης, μπορεί να προσδιοριστεί το σχετικό αδρανοποιημένο γονίδιο. Το συνηθισμένο με IHC αποτέλεσμα ΚΠΕ είναι η φυσιολογική έκφραση και των τεσσάρων πρωτεϊνών. Αυτό υποδηλώνει ότι ο όγκος έχει φυσιολογικά MMR γονίδια. Ωστόσο, περίπου το 5% των ΚΠΕ με MSI δείχνουν πλήρη έκφραση. Επομένως, αυτή η συνθήκη δεν αποκλείει απολύτως τη πιθανότητα για dMMR. Οι πιθανές αιτίες της μη συμφωνίας των τεχνικών περιλαμβάνουν ένα γονιδιακό προϊόν MMR που δεν έχει ακόμα ανακαλυφθεί ή το γεγονός ότι ένα από τα γονίδια που έχουν δοκιμαστεί εκφράζεται αλλά δεν λειτουργεί κανονικά, ίσως λόγω παρανοηματικής (missense) μετάλλαξης. Η κατανόηση του συστήματος DNA MMR συμβάλλει στην εξήγηση πιθανών μη φυσιολογικών αποτελεσμάτων που μπορεί να προκύψουν με χρώσεις IHC. Ευκαρυωτικές πρωτεΐνες MMR σχηματίζουν λειτουργικά ετεροδιμερή. Οι πρωτεΐνες hMSH2 και hMLH1 είναι οι κοινές υποομάδες των αντίστοιχων ετεροδιμερών συμπλοκών τους (Peltomaki, 2003). Έτσι, όταν μεταλλάσσονται, συνήθως παρατηρείται απώλεια τόσο των κοινών υποομάδων όσο και των συγγενών τους πρωτεϊνών στην IHC. Η απώλεια χρώσης μόνο της hMSH6 ή της hPMS2 παρατηρείται κλασικά με θεμελιώδεις μεταλλάξεις σε καθένα από αυτά τα αντίστοιχα γονίδια αλλά με διατηρούμενη θετική χρώση hMSH2 ή hMLH1, αντίστοιχα. Κατά συνέπεια, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της IHC μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθοδηγήσει οποιαδήποτε περαιτέρω γενετική ανάλυση που μπορεί να απαιτηθεί. Όταν χρησιμοποιείται με αυτόν τον τρόπο, είναι σημαντικό να θυμόμαστε ότι η IHC είναι μόνο ένας δείκτης και ότι η ανεπάρκεια σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες MMR μπορεί να οφείλεται σε μεταλλάξεις σε διαφορετικό γονίδιο MMR (Frayling and Arends, 2015, Mensenkamp et al.,

2014) ή σε άλλα γονίδια που σχετίζονται με τον ΚΠΕ (Castillejo et al., 2014, Cohen et al., 2016, Hansen et al., 2017, Haraldsdottir et al., 2014, Palles et al., 2013, Syngal et al., 2015, Yurgelun et al., 2015). Είναι επίσης σημαντικό να θυμόμαστε ότι στα πλαίσια του συνδρόμου Lynch που οφείλεται στη διαγραφή της ErCAM σωματική με επακόλουθη υπερμεθυλίωση της MSH2 αυτό οδηγεί σε αρνητική έκφραση με IHC. Εντούτοις, η γενετική ανάλυση της μετάλλαξης του MSH2 είναι αρνητική καθώς η αιτία μετάλλαξης είναι μια διαγραφή που επηρεάζει το 3' εξόνιο του γονιδίου ErCAM που προηγείται του MSH2 και όχι το ίδιο το γονίδιο MSH2 (Kovacs et al., 2009, Kuiper et al., 2011, Ligtenberg κ.ά., 2009). Μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η έλλειψη ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του ErCAM σε MSH2 αρνητικά ΚΠΕ είναι ενδεικτική της μετάλλαξης του γονιδίου ErCAM με ειδικότητα 100% (Musulen et al., 2013). Επιπλέον, η αρνητική ανοσοϊστοχημική έκφραση της ErCAM μπορεί να ανιχνευθεί ακόμη και σε ένα προκαρκινικό στάδιο (Huth et al., 2012). Ωστόσο, αυτά τα ευρήματα δεν έχουν ακόμα επιβεβαιωθεί σε άλλες μελέτες και μέχρι στιγμής δεν έχουν εφαρμοστεί στην καθημερινή κλινική πράξη.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ PCR ENANTI ΤΗΣ IHC ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ MMR.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η IHC μπορεί να υποκαταστήσει την PCR στη διάγνωση του MSI. Η ανασκόπηση 16 μελετών σε 3,494 περιπτώσεις έδειξε ότι η ευαισθησία και η εξειδίκευση της IHC είναι σε συμφωνία με τις αναλύσεις MSI που βασίζονται στην τεχνική PCR (Rigau et al., 2003). Το κύριο πλεονέκτημα της IHC είναι η ευρεία διαθεσιμότητα αυτής της τεχνικής σε παθολογοανατομικά εργαστήρια. Η IHC δεν απαιτεί δείγματα όγκου και φυσιολογικού ιστού για εξέταση, όπως αντίθετα συμβαίνει με την PCR. Ιστός από μεταστατικές εστίες μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση συνδρόμου Lynch μέσω IHC για dMMR (Haraldsdottir et al., 2016). Επιπρόσθετα, οι ΚΠΕ με θεμελιώδεις μεταλλάξεις του MSH6 δεν μπορούν να τεκμηριώσουν το MSI με PCR επειδή το σύστημα MMR δεν είναι λειτουργικό. Οι όγκοι αυτοί, ωστόσο, θα επιδείξουν απώλεια MSH6 στη χρώση με IHC (Abdel-Rahman et al., 2006, Pino and Chung, 2011). Η αυτοματοποίηση της IHC επιτρέπει την ταχεία και αποτελεσματική σύγκριση διαφορετικών ιστών σε διάφορες

περιπτώσεις. Μελέτες επίσης δείχνουν ότι δοκιμές IHC για dMMR μπορεί να πραγματοποιηθούν αξιόπιστα σε βιοψίες από τον ΚΠΕ (Shia et al., 2011, Warriar et al., 2011). Η ενσωμάτωση του BRAF στο γενετικό έλεγχο του καρκινικού ιστού στον ΚΠΕ διευκολύνει τον διαχωρισμό των ασθενών σε υψηλού και χαμηλού κινδύνου για σύνδρομο Lynch πριν από τη χειρουργική επέμβαση. Αυτό το πλεονέκτημα είναι πιο σημαντικό όσο ποτέ σε μια εποχή που η εξατομικευμένη θεραπεία στην ιατρική γίνεται μέρος στην καθημερινή ιατρική πράξη. Ωστόσο, ένα σημαντικό μειονέκτημα της IHC είναι σπάνιες παρανοηματικές (missense) μεταλλάξεις, οι οποίες συνήθως αφορούν τα γονίδια MLH1 και MSH6, οι οποίες επηρεάζουν τη λειτουργία των πρωτεϊνών πέρα από την πρωτεϊνική μετάφραση και την αντιγονικότητα. Σε αυτή την περίπτωση, η IHC θα έχει θετική έκφραση παρά την έλλειψη MMR (dMMR) (Klarskov et al., 2011, Pino and Chung, 2011). Ο έλεγχος του MSI σε αυτές τις περιπτώσεις, με βάση το PCR μπορεί να βοηθήσει στον προσδιορισμό του κατά πόσο υπάρχουν λειτουργικές πρωτεΐνες MMR κατόπιν αυτών των μεταλλάξεων.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗΣ ΝΕΑΣ ΓΕΝΙΑΣ (NGS) ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥ MMR STATUS.

Πρόσφατη μελέτη χρησιμοποιώντας τη μέθοδο αλληλούχισης νέας γενιάς (NGS) 341- και 410-καρκινικών γονιδιακών ομάδων έδειξε εξαιρετική απόδοση της NGS έναντι της IHC και των μοριακών αναλύσεων για το MSI όσον αφορά την ανίχνευση του dMMR ΚΠΕ με βάση το φορτίο των μεταλλάξεων που ανιχνεύονται στον καρκίνο. Με φορτίο πολυγονιδιακών μεταλλάξεων ≥ 20 και < 150 για την MMR ανίχνευση, η ευαισθησία και η εξειδίκευση ήταν αμφότερα 1,0 (95% CI: 0,93-1,0). Βάσει αυτών των αποτελεσμάτων οι ερευνητές υποθέτουν ότι με το NGS μπορεί να αποφευχθεί στο μέλλον η ανάγκη για τις τεχνικές που βασίζονται στους ιστούς. Η χρήση NGS πολυγενετικών πάνελ έδειξε επίσης μια συσχέτιση μεταξύ του φορτίου μεταλλάξεων και του κλινικού αποτελέσματος όσον αφορά την θεραπεία που βασίζεται στην αναστολή του PD-1 (Campesato et al., 2015). Σε άτομα με υποψία συνδρόμου Lynch, η ανάλυση NGS εντοπίζει υψηλής διείσδυσης γονιδιακές μεταλλάξεις, πολλές από τις οποίες είναι απροσδόκητες με βάση το ιστορικό των ασθενών (Yurgelun et al., 2015). Για παράδειγμα, η τεχνική NGS έχει εντοπίσει ασθενείς με LLS που

έχουν πράγματι σύνδρομο Lynch, καθώς μερικοί όγκοι μπορεί να οφείλονται σε θεμελιώδεις μεταλλάξεις γονιδίων MMR που δεν ανιχνεύονται με τις καθιερωμένες τεχνικές (Rodriguez-Soler et al., 2013). Η τεχνική NGS έχει επίσης αναγνωρίσει σωματικές μεταλλάξεις που συνδέονται με LOH (Geurts-Giele et al., 2014, Haraldsdottir et al., 2014, Kang κ.ά., 2015, Rodriguez-Soler et al., 2013, Sourrouille et al. 2013, Adam et al., 2016, Castillejo et al., 2014, Cohen et al., 2016, Haraldsdottir et al., 2014, Palles et al., 2013, και θεμελιώδεις μεταλλάξεις σε επιπλέον γονίδια ως αιτίες του dMMR. Segui κ.ά., 2015, Syngal et al., 2015, Weren et al., 2015). Καθώς το κόστος του NGS συνεχίζει να μειώνεται, είναι κατανοητό ότι η αλληλούχιση των γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο (συμπεριλαμβανομένων και του συνόλου των τεσσάρων γονιδίων MMR) θα είναι πιο αποδοτική από τις τεχνικές που βασίζονται σε ιστικές τομές. Εντούτοις, το NGS περιορίζεται επί του παρόντος σε εξειδικευμένα εργαστήρια και μέχρι σήμερα δεν υπάρχει συναίνεση όσον αφορά τη δημιουργία γονιδιακών πάνελ NGS που αφορούν τον ΚΠΕ (Le Flahec et al., 2016). Επιπλέον, η χρήση μοριακών γενετικών μεθόδων, όπως NGS που απαιτεί απομόνωση του DNA, οδηγεί συχνά σε ασαφή ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα στις εξετάσεις δειγμάτων όγκου λόγω της αραίωσης του DNA του όγκου (Uguen et al., 2015). Η αλληλουχία NGS υποδεικνύει επίσης ένα μεγάλο αριθμό γενετικών ευρημάτων που δεν έχουν ταυτοποιηθεί, συμπεριλαμβανομένου του VUS, που μπορεί να απαιτεί περαιτέρω ανάλυση μέσω της IHC ή του PCR για τον προσδιορισμό της παθογονικότητάς τους (Yurgelun et al., 2015). Λαμβάνοντας υπόψη αυτά τα μειονεκτήματα είναι σχετικά απίθανο, επί του παρόντος ή στο άμεσο μέλλον, το NGS να αντικαταστήσει την IHC για το MMR ή τη μοριακή διάγνωση του MSI.

ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ MMR ΣΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ LYNCH.

Η ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΤΑ ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ.

Στον πρώιμο ΚΠΕ (ηλικία <50 ετών), το οικογενειακό ιστορικό που αφορά τον καρκίνο είναι ο καθοριστικός παράγοντας του συνδρόμου Lynch. Ιστορικά, ο έλεγχος έγινε με τη χρήση κλινικών κατευθυντήριων οδηγιών βασισμένων στην ηλικία και στο οικογενειακό ιστορικό, όπως τα κριτήρια του Amsterdam (Vasen

et al., 1991, Vasen et al., 1999) και της Bethesda (Rodriguez-Bigas et al. 1997, Umar κ.ά., 2004). Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι έως και το 50% των φορέων μεταλλάξεων δεν πληρούν τα κριτήρια του Άμστερνταμ ενώ το 40-45% των οικογενειών που πληρούν τα κριτήρια του Άμστερνταμ δεν έχουν MSI στον έλεγχο του καρκίνου (Pino and Chung, 2011, Syngal κ.ά., 2000). Οι κατευθυντήριες οδηγίες ενσωματώνουν παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά του όγκου και ενώ είναι πιο ευαίσθητες, μπορεί να μη διαγνωστεί το 12-28% των περιπτώσεων LS (Canard κ.ά., 2012 · Hampel et al., 2008 · Julie et al., 2008 · Moreira et al., 2012b; van Lier κ.ά., 2012). Το 2009, τα «κριτήρια της Ιερουσαλήμ» συνέστησαν τη διεξαγωγή ελέγχου IHC ή MSI σε όλα τα ΚΠΕ, όπου ο ασθενής είναι κατά τη διάγνωση σε ηλικία μικρότερη των 70 ετών (Boland and Shike, 2010). Αυτό έγινε σε μια προσπάθεια να εντοπιστούν τα πιθανά σύνδρομα Lynch με μεταλλάξεις MSH6 ή PMS2, τα οποία τείνουν να παρουσιάζονται σε μεγαλύτερες ηλικίες.

Η ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΤΟΥ BRAF ΜΕ Η ΧΩΡΙΣ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΥΠΕΡΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ MLH1 ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η μοριακή βάση για τα σποραδικά dMMR αφορά την μεθυλίωση του υποκινητή MLH1. Αυτό απενεργοποιεί το MLH1 mRNA και, κατά συνέπεια, αναστέλλει την παραγωγή της πρωτεΐνης MLH1 (Geiersbach and Samowitz, 2011). Η μετάλλαξη BRAF συσχετίζεται με CIMP και παρατηρείται στο 50-70% των σποραδικών dMMR ΚΠΕ (Parsons et al., 2012), αλλά σχεδόν ποτέ δεν παρατηρείται σε όγκους που σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch (<1%) (Lagerstedt Robinson et al., 2007). Έτσι, στον αλγόριθμο των γονιδιακών εξετάσεων ενσωματώνεται ο έλεγχος BRAF και / ή υπερμεθυλίωση για να αποκλεισθεί η σποραδική νόσος (EGAPP, 2009, Giardiello et al., 2014) (Εικόνα 4.1). Οι ασθενείς με όγκους στους οποίους παρατηρείται απουσία MLH1 και αρνητική μετάλλαξη BRAF ή αυτοί οι οποίοι εμφανίζουν υπερμεθυλίωση του υποκινητή MLH1 ή εμφανίζουν απώλεια του MSH2, MSH6 ή PMS2 θα πρέπει να τους συστήνονται γενετικές εξετάσεις. Η μοριακή ανίχνευση που βασίζεται σε μεταβολές αλληλουχιών μεταξύ μεθυλιωμένου και μη μεθυλιωμένου DNA μετά από διθειώδη μετατροπή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την άμεση ανάλυση της κατάστασης μεθυλίωσης (Pai

κ.ά., 2014, Snowsill et al., 2014). Εναλλακτικά, ένα νέο αντίσωμα για το BRAF V600E είναι τώρα εμπορικά διαθέσιμο. Οι μοριακές μέθοδοι είναι πιο αντικειμενικές και επιτρέπουν την οριστική αξιολόγηση της μετάλλαξης BRAF. Ωστόσο, ο έλεγχος του MSI με PCR, της μετάλλαξης BRAFV600E και η εξέταση της μεθυλίωσης του υποκινητή MLH1 απαιτούν τη δειγματοληψία του όγκου από το μπλοκ παραφίνης. Στις περιπτώσεις όπου υπάρχει πυκνό φλεγμονώδες διήθημα ή ο όγκος εμφανίζει διηθητική παρυφή, είναι δύσκολο ή αδύνατο πολλές φορές να απομονωθεί επαρκώς ένα υψηλό ποσοστό καρκινικών κυττάρων (Geiersbach και Samowitz, 2011). Αυτό απαιτεί σε ορισμένες περιπτώσεις τη χρήση μικροεκτομής του δείγματος με τη χρήση λέιζερ (Geiersbach and Samowitz, 2011). Ενώ η πλειοψηφία των μελετών που ενσωματώνουν το αντίσωμα BRAF ανέφεραν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα (Affolter et al., 2013, Rossle et al., 2013, Sinicrope et al., 2013b), υπάρχουν αρκετά αντιφατικά αποτελέσματα (Adackarara et al. , 2013 · Lasota et al., 2014). Εάν αποδειχθεί ότι είναι αξιόπιστες, οι σχετικά φθηνές εξετάσεις reflex IHC για dMMR και BRAF μπορεί να βελτιώσουν τον έλεγχο στην ομάδα των ασθενών στους οποίους πρέπει να γίνει γενετική ανάλυση για τον προσδιορισμό συνδρόμου Lynch (Capper et al., 2013, Toon et al., 2013). Επιπλέον, εάν γίνει σε βιοψίες, αυτό μπορεί να διευκολύνει την προεγχειρητική αναγνώριση των ασθενών με το σύνδρομο Lynch (Warrier et al., 2011), καθώς επίσης να βοηθήσει στην έγκαιρη διάγνωση επιθετικών όγκων με κακή πρόγνωση (Pai et al., 2012). Στις περιπτώσεις που ο ΚΠΕ δεν εμφανίζει τη μετάλλαξη BRAF ή ο όγκος είναι εκτός του παχέος εντέρου, τότε για τον έλεγχο αξιολογείται η μεθυλίωση του υποκινητή MLH1.

Ο ΚΑΘΟΛΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.

Η ομάδα αξιολόγησης των γονιδιακών εξετάσεων στην κλινική πράξη και στην πρόληψη με το όνομα Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) ήταν η πρώτη ομάδα που πρότεινε την καθολική εξέταση, με IHC για dMMR είτε με PCR του MSI, ενσωματώνοντας το BRAF, σε άτομα με νεο-διαγνωσθέντα ΚΠΕ, για τη μείωση της θνητότητας και της θνησιμότητας σε συγγενείς (EGAPP, 2009). Η επανεξέταση διαφόρων στοιχείων από την ίδια ομάδα συνέστησε στη συνέχεια τον νέο ορισμό του συνδρόμου Lynch ως

κληρονομική προδιάθεση σε κακοήθεια που οφείλεται σε θεμελιώδη μετάλλαξη στα γονίδια MMR. Έτσι το HNPCC αντικαταστάθηκε επειδή εφαρμόζονταν γενικά σε ετερογενείς ομάδες οικογενειών που πληρούσαν περιορισμένα κλινικά κριτήρια (Palomaki et al., 2009). Διαμορφώθηκε έτσι ένα οικονομικό μοντέλο προγραμματισμού κόστους που βασίζεται στο κόστος ανά σύνδρομο Lynch που ανιχνεύθηκε χρησιμοποιώντας τέσσερις διαφορετικές στρατηγικές σε ασθενείς με ΚΠΕ και τους συγγενείς τους. Το κόστος μειώθηκε από το υψηλό των \$ 111.825 με γενετικές εξετάσεις όλων των περιστατικών ΚΠΕ σε \$ 18.863 με τη χρήση IHC και BRAF για να προ επιλεγθούν οι γενετικές εξετάσεις. Αντίστοιχα, η Αμερικανική Εταιρεία Κλινική Παθολογικής Ανατομικής (ASCP), η Εταιρία των Αμερικανών Παθολογοανατόμων (CAP) και η ASCO έχουν συντάξει κοινές κατευθυντήριες οδηγίες για τις μοριακές εξετάσεις του ΚΠΕ που θεωρούνται καθολικές σε όλους τους ΚΠΕ για την πρόγνωση, ομαδοποίηση και ταυτοποίηση των ασθενών με σύνδρομο Lynch (ASCO, 2016). Συγχρόνως στο Ηνωμένο Βασίλειο, το NHS ανέθεσε την αξιολόγηση της τεχνολογίας για να προσδιοριστούν με ακρίβεια οι διάφορες τεχνικές που συμβάλλουν στη διάγνωση του συνδρόμου Lynch σε άτομα με ΚΠΕ και ηλικία ≤ 50 ετών. Οι 8 διαφορετικές προσεγγίσεις κυμαίνονταν από την απλή επισήμανση μέχρι τον πλήρη γενετικό έλεγχο ολόκληρου του πληθυσμού στον ΚΠΕ (Snowsill et al., 2014). Όταν το όριο ηλικίας επεκτάθηκε σε ≤ 60 έτη, οι δείκτες συνολικής σχέσης κόστους / αποτελεσματικότητας (ICER) σε σύγκριση με την απουσία ελέγχου παρέμειναν κάτω από το κατώτατο όριο των £ 20.000 ανά QALY και όταν ο έλεγχος επεκτάθηκε σε <70 χρόνια μόνο το ICER για τη στρατηγική 8 που αφορά τον έλεγχο ολόκληρου του πληθυσμού ήταν πάνω από το όριο των £ 20,000 ανά QALY. Αυτό έχει οδηγήσει τη NICE να συστήσει την καθολική εξέταση για το σύνδρομο Lynch σε όλα τα άτομα που έχουν πρόσφατα διαγνωστεί με ΚΠΕ (NICE, 2017). Και οι δύο εξετάσεις, IHC και MSI, είναι εργαλεία προσυμπτωματικού ελέγχου. Ωστόσο, παρά τις προόδους αυτές, εξακολουθούν να υπάρχουν σημαντικοί φραγμοί στην επιτυχή κλινική εφαρμογή της καθολικής εξέτασης, κυρίως στο ποιά είναι η ιδανική αρχική εξέταση, στη συνέχεια ποιά είναι η σωστή ακολουθία των εξετάσεων, η βέλτιστη μέθοδος για την παρακολούθηση και τη γνωστοποίηση των αποτελεσμάτων και στη συνέχεια ο αριθμός των ασθενών υψηλού κινδύνου που δεν αναφέρονται σε κάποιο ειδικό κέντρο ή οι οποίοι από

μόνοι τους δεν επιλέγουν να υποβληθούν σε αυτές τις εξετάσεις (Hunter et al., 2015, Ngeow and Eng, 2013, Schneider et al., 2016).

ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΣΤΟΝ ΚΠΕ.

Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ MSI ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΝΕΟ-ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ 5-FU.

Δύο συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις έχουν δείξει βελτίωση στην επιβίωση ασθενών με MSI ΚΠΕ σε σύγκριση με ασθενείς που είναι MSS (Guastadisegni et al., 2010; Popat et al., 2005). Οι Popat et al. (2005), αξιολόγησαν την επιβίωση των ασθενών με ΚΠΕ ανάλογα με το MMR και βρήκαν βελτιωμένη συνολική επιβίωση (OS-overall survival) σε MSI ΚΠΕ έναντι αυτών που είναι MSS, [Σχετικός κίνδυνος- Hazard ratio (HR)] 0.65; 95% CI: 0.59–0.71; P = 0.16. Παρομοίως, οι Guastadisegni et al. 2010 διαπίστωσαν ότι το MSI συσχετίζεται με βελτιωμένη OS (HR 0.6, 95% CI: 0.53-0.69, P <0.001), χωρίς στοιχεία ετερογένειας (ετερογένεια p = 0.13, I² = 27.3%). Το αποτέλεσμα ήταν παρόμοιο με την επιβίωση χωρίς υποτροπή (Disease Free Survival-DFS) στα MMR σε σύγκριση με το MSS (OR 0.58, 95% CI: 0.47-0.72, P <0.001). Από τις μη αλληλεπικαλυπτόμενες μελέτες (n = 54), η πλειονότητα εμφάνισε βελτιωμένη επιβίωση σε MSI ΚΠΕ σε σύγκριση με το MSS (n = 47). Ωστόσο, μεγάλος αριθμός από αυτές τις μελέτες (n = 31) δείχνει ότι η διαφορά είτε δεν είναι στατιστικά σημαντική είτε είναι μόνο οριακά σημαντική. Επιπλέον, πολλές μελέτες δείχνουν ασθενή αλληλεπίδραση ή καμία μεταξύ τους σχέση όταν συγκρίνουμε την επιβίωση. Αυτό υποδηλώνει είτε ότι η «προστατευτική επίδραση» του MSI είναι ή εξαιρετικά αδύναμη ή απόλυτα αληθοφανής. Μια μελέτη από τον Klingbiel και συνεργάτες ανέλυσε την προγνωστική σημασία της MSI σε μια ομάδα 1254 ασθενών με ΚΠΕ βαθμού II και στάδιο III ΚΠΕ που υποβλήθηκαν σε νεο-επικουρική θεραπεία με 5-φθορουρακίλη (5-FU) και ιρινοτεκάνης (FOLFIRI) (Klingbiel et al., 2015). Το MSI αναδείχθηκε ένας ισχυρός προγνωστικός παράγοντας για την ολική επιβίωση OS (HR 0,16, 95% CI: 0,04-0,64, P = 0,01) και την επιβίωση χωρίς υποτροπή (Relapse Free Survival-RFS) [HR 0,26, 95% CI: 0,10-0,65, P = 0,004) σε ασθενείς στο κλινικό στάδιο II που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με

επικουρική χημειοθεραπεία σε σύγκριση με αυτούς που είναι MSS. Στη φάση III, η RFS ήταν ελαφρώς καλύτερη για τους ασθενείς με MSI (HR 0,67 · 95% CI: 0,46-0,99 · P = 0,04), αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική για την ολική επιβίωση (OS). Σε μελέτη φάσης III αναδρομική ανάλυση οι ασθενείς με MSI εμφανίζουν σημαντικά βελτιωμένο RFS όταν εμφανίζουν όγκους στο εγγύς κόλον (HR 0,71 · 95% CI: 0,53-0,94 · P = 0,018), αλλά όχι στο άπω τμήμα του παχέος εντέρου (Sinicrope and Yang, 2011). Ενδιαφέρον δείχνει, η έρευνα ότι οι ασθενείς με MSI ΚΠΕ σταδίου III φαίνεται να επωφελούνται από την θεραπεία όταν μια θεμελιώδης μετάλλαξη αποτελεί την αιτία του MSI ΚΠΕ. Αυτό υπογραμμίζει ότι υπάρχει πιθανότητα ο μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για τον ΚΠΕ να είναι πολύ σημαντικός όσον αφορά την επιλογή της κατάλληλης θεραπείας για τον ασθενή. Παρόλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι τα κριτήρια για τη διάγνωση του συνδρόμου Lynch που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη συγκεκριμένη περίπτωση ήταν το dMMR, η ηλικία του ασθενούς που έλαβε την επικουρική θεραπεία σε τυχαιοποιημένη μελέτη και ο προσδιορισμός της μετάλλαξης του BRAF (Roth κ.ά., 2012, Saridaki et al., 2014).

Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ MSI ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ 5-FU ΚΑΙ ΙΡΙΝΟΤΕΚΑΝΗ (FOLFIRI).

Αρχικά, στην μελέτη με τη χρήση επικουρικής χημειοθεραπείας βασισμένης σε ιρινοτεκάνη (στάδιο III και στάδιο IV MSI ΚΠΕ) η ομάδα στο Cancer and Leukemia Group B (CALGB) 89803 έδειξε θετική συσχέτιση όταν έγινε η σύγκριση με MSS ΚΠΕ, (Bertagnolli et al., 2009, Fallik et al., 2003, Klingbiel et al., 2015, Ogino et al., 2012, Saltz κ.ά., 2007). Εντούτοις, αργότερα αποδείχθηκε αναποτελεσματική σε αυτή και σε αρκετές άλλες τυχαιοποιημένες μελέτες φάσης III (Dahan et al., 2009, Hagan et al., 2013, Klingbiel κ.ά., 2015, Saltz κ.ά., 2007, Taieb κ.ά., 2014). Επομένως, η ιρινοτεκάνη δεν χρησιμοποιείται ως επικουρική χημειοθεραπεία σε ασθενείς με ΚΠΕ MSI. Εντούτοις, μέχρι σήμερα δεν έχουν δημοσιευθεί οριστικά αποτελέσματα σχετικά με τη χημειοθεραπεία που βασίζεται σε ιρινοτεκάνη και αφορά αποκλειστικά τους όγκους MSI.

MSI ΩΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ 5-FU ΜΑΖΙ ΜΕ ΟΞΑΛΙΠΛΑΤΙΝΗ (FOLFOX).

Επί του παρόντος υπάρχουν μόνο περιορισμένα δεδομένα σχετικά με τα MSI ΚΠΕ όταν οι ασθενείς έλαβαν θεραπεία με FOLFOX και δεν υπάρχουν πληροφορίες που αφορούν την πρόβλεψη. Αυτό είναι ένα κεντρικό ζήτημα που προκαλεί σύγχυση, καθώς οι ασθενείς με ΚΠΕ σταδίου III αντιμετωπίζονται συμβατικά με χημειοθεραπεία, με επικουρικό φάρμακο το FOLFOX (Andre et al., 2003, Haller et al., 2011, Kuebler et al., 2007). Οι αναλύσεις των ασθενών σταδίου III ΚΠΕ που πραγματοποιήθηκαν αναδρομικά και οι οποίοι έλαβαν FOLFOX, υποδηλώνουν ότι τα MSI ΚΠΕ μπορεί να είναι ευαίσθητα στην οξαλιπλατίνη (Trouilloud et al., 2011, Zaanan et al., 2011). Εντούτοις, είναι διαθέσιμες μόνο περιορισμένες πληροφορίες από τυχεοποιημένες, κλινικές μελέτες RCTs (Des Guetz et al., 2010 · Kim et al., 2010) . Οι Gavin et al., ανέλυσαν 2299 ασθενείς σταδίου II και III ΚΠΕ από το National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) C-07 [5-FU συν λευκοβορίνη (LV) ± οξαλιπλατίνη] και C-08 (FOLFOX ± bevacizumab) και έδειξαν ότι το dMMR αποτελεί προγνωστικό δείκτη για υποτροπή σε ασθενείς με ΚΠΕ που έλαβαν FOLFOX (χρόνος υποτροπής [TTR] HR = 0.58;95% CI: 0,35-0,96; P = 0,03) σε σύγκριση με το MSS ΚΠΕ. Ωστόσο, η παρουσία ή απουσία MMR δεν προέβλεπε αποτελεσματικότητα στην οξαλιπλατίνη (Gavin et al., 2012). Οι Andre et al. σε μια πολυκεντρική διεθνή μελέτη ανέλυσαν την οξαλιπλατίνη / 5-φθοροουρακίλη / λευκοβορίνη ως επικουρική θεραπεία στον καρκίνο του παχέος εντέρου (MOSAIC) στην οποία έγινε η αξιολόγηση του MMR στους 986 από τους 2240 εγγεγραμμένους ασθενείς. Το όφελος σε σχέση με το διάστημα της επιβίωσης χωρίς υποτροπή (DFS) από το FOLFOX σε σύγκριση με 5-FU παρατηρήθηκε μόνο σε μικρό αριθμό ασθενών με dMMR ΚΠΕ (Andre et al., 2015). Επιπλέον, πρόσφατη μελέτη που περιελάμβανε 433 dMMR όγκους σταδίου-II και III, διαπίστωσε ότι το FOLFOX βελτίωσε το DFS σε σύγκριση με το 5-FU από μόνο του, με όφελος στους όγκους σταδίου III και μόνο στα σποραδικά καρκινώματα (Tougeronet al., 2016) Το ECOG 5202 (NCT00217737) είναι μια τυχαιοποιημένη μελέτη που είναι σε εξέλιξη, ασθενών με ΚΠΕ σταδίου II που λαμβάνουν 5-FU, Leucovorin και Oxaliplatin έναντι 5-FU, Leucovorin, Oxaliplatin και Bevacizumab. Η ομαδοποίηση γίνεται σε χαμηλού και υψηλού κινδύνου ασθενείς με βάση τον προσδιορισμό της MSI και την χρωμοσωμική απώλεια 18q. Ο πρωταρχικός στόχος είναι να αποδειχθεί

η βελτίωση στην DFS για τον καρκίνο του παχέος εντέρου σταδίου II υψηλού κινδύνου.

Ο ΔΕΙΚΤΗΣ MSI ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ CETUXIMAB.

Η ομάδα North Central Cancer Treatment Group (NCCTG) στην μελέτη N0147 έδειξε ότι στο στάδιο III ΚΠΕ, η προσθήκη του αντι-EGFR αντισώματος cetuximab στο FOLFOX, ως επικουρική χημειοθεραπεία, δεν βελτίωσε το αποτέλεσμα σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία FOLFOX σε ασθενείς με μη μεταλλαγμένο (wild type) KRAS (Alberts et al., 2012). Σε προοπτική μελέτη που έγινε σε μεγάλο αριθμό όγκων, το MSI ανιχνεύθηκε σε 314 από τα 2580 ΚΠΕ σταδίου III και ως δείκτης αναδείχθηκε προγνωστικός για την υποτροπή (TTR), αλλά όχι για DFS ή OS (Sinicrope et al., 2013a). Εντούτοις, η MSI συσχετίστηκε με σημαντικά βελτιωμένη DFS μεταξύ των όγκων στο εγγύς παχύ έντερο (HR = 0,71 · 95% CI: 0,53-0,94 · P = 0,018), αλλά όχι μετά την ενσωμάτωση για KRAS και BRAF μεταλλάξεις (Kawakami et al., 2015, Sinicrope κ.ά., 2013α). Τα διαθέσιμα δεδομένα σε ασθενείς με ΚΠΕ σταδίου III δεν αλλάζουν την τρέχουσα θεραπευτική προσέγγιση αυτών των ασθενών, ανεξάρτητα από την παρουσία ή απουσία MMR, με τη χρήση επικουρικής θεραπείας με FOLFOX.

ΤΟ MSI ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ BEVACIZUMAB.

Το πρωτόκολλο C-08 (NSABP C-08) του National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project απέτυχε να αποδείξει το όφελος από την προσθήκη Bevacizumab για 1 έτος στο ήδη υπάρχον πρωτόκολλο FOLFOX στη μελέτη φάσης II- III με ΚΠΕ (Allegra et al., 2011). Παρόλα αυτά, οι εκ των υστέρων αναλύσεις έδειξαν ότι οι ασθενείς με MSI ΚΠΕ αποκόμισαν σημαντικό πλεονέκτημα επιβίωσης από την προσθήκη του Bevacizumab (HR 0,52, 95% CI: 0,29-0,94, P = 0,02), σε σύγκριση με τους ασθενείς με MSS όγκους (Pogue-

Geile et al ., 2013). Αυτά τα αρχικά αποτελέσματα απαιτούν συμπληρωματική έρευνα για την επιβεβαίωσή τους.

ΠΑΡΟΥΣΙΑ KRAS ΚΑΙ BRAF ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ.

Ο φαινότυπος MSI συνδέεται με φτωχότερη επιβίωση στο μεταστατικό ΚΠΕ με παρουσία μετάλλαξης του BRAF (Tran et al., 2011). Ο Sinicrope et al., αναλύοντας ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου σταδίου III που έλαβαν FOLFOX, διαπίστωσε ότι τα MSS ΚΠΕ χωρίς μεταλλάξεις BRAF ή KRAS είχαν παρόμοια ποσοστά DFS με αυτά του MSI ΚΠΕ (Sinicrope et al., 2015). Αντιθέτως, οι ασθενείς των οποίων οι όγκοι ήταν MSS και μεταλλαγμένοι για KRAS ή BRAF εμφάνισαν πτωχή πενταετή DFS. Οι Phipps και οι συνεργάτες διερεύνησαν τη συσχέτιση μεταξύ των υποτύπων ΚΠΕ και της επιβίωσης σε μεγάλη πληθυσμιακή ομάδα ασθενών (Phipps et al., 2015). Διαπίστωσαν ότι το DFS και το OS για ασθενείς με MSI ΚΠΕ που ήταν KRAS-μεταλλαγμένοι ή BRAF-μεταλλαγμένοι αλλά όχι για διπλά μη μεταλλαγμένους ασθενείς, ήταν σημαντικά βελτιωμένα έναντι των αντίστοιχων γονοτύπων με MSS ΚΠΕ. Αυτή η ετερογένεια εντός του MSI ΚΠΕ έχει αυξήσει το ενδιαφέρον για τη χρησιμότητα των BRAF, KRAS και άλλων μοριακών δεικτών στους διάφορους υποτύπους ΚΠΕ σε σχέση με την πρόγνωση.

ΝΕΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ MSI ΚΠΕ.

Όπως περιγράφηκε παραπάνω, η κατανόηση της μοριακής ετερογένειας μεταξύ των ασθενών με MSI ΚΠΕ μπορεί να οδηγήσει σε νέους προγνωστικούς βιοδείκτες. Για παράδειγμα, σε πρόσφατη μελέτη η συσχέτιση της LINE-1 υπομεθυλίωσης με υψηλότερη θνησιμότητα ήταν ισχυρότερη σε MSI ΚΠΕ (HR 2.45, 95% CI: 1.64-3.66) έναντι των MSS ΚΠΕ (HR 1.10, 95% CI: 0.98-1.24) (Inamura κ.ά., 2014). Ως εκ τούτου το επίπεδο LINE-1 μεθυλίωσης του όγκου μπορεί να φανεί χρήσιμο στον καθορισμό μοριακών επιθετικών υποτύπων του MSI ΚΠΕ.

Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΣΤΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΕΤΑΙ ΣΤΗΝ 5-FU.

Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΓΙΑ ΤΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ II / III ΤΟΥ ΚΠΕ.

Ο υποθετικός προγνωστικός ρόλος του MMR όσον αφορά την ανταπόκριση του ασθενούς στην επικουρική χημειοθεραπεία είναι ένα δύσκολο ερώτημα. Πολυάριθμες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί συγκρίνοντας MSI ΚΠΕ με ή χωρίς χημειοθεραπεία 5-FU (Ribic et al., 2003, Tajima et al., 2004) (Benatti et al., 2005, Jover et al., 2006). Σε πολλές αρχικές μελέτες περιγράφεται αυξημένη ευαισθησία των ασθενών με MSI στη θεραπεία με 5-FU (Elsaleh et al., 2000, Hemminki et al., 2000, Jover et al., 2006, Jover et al., 2009). Ωστόσο, άλλες δεν βρήκαν καμία συσχέτιση με την παρουσία ή απουσία MMR (Kim et al., 2007). Τα συνδυασμένα δεδομένα από RCTs του Ribic et al. που έχει συλλέξει από ασθενείς που υποβάλλονται σε χειρουργική επέμβαση και έχουν λάβει επικουρική χημειοθεραπεία με 5-FU έδειξαν ότι οι ασθενείς με MSI βλάπτονται από τη χημειοθεραπεία (Ribic et al., 2003). Τα ευρήματα ότι η χημειοθεραπεία που βασίζεται σε 5-FU δεν φαίνεται να βελτιώνει την επιβίωση των ασθενών με MSI υποστηρίχθηκαν από μια μεγάλη αναδρομική ανάλυση πάνω από χίλιους ασθενείς (Benattiet al., 2005) και από μια μετα-αναλύση (Des Guetz et al., 2009). Οι Sargent και οι συνεργάτες του επιβεβαίωσαν περαιτέρω αυτά τα ευρήματα σε ασθενείς με ΚΠΕ σταδίου II και III που προηγουμένως συμμετείχαν σε πέντε συμπληρωμένες τυχαιοποιημένες μελέτες (RCT) (Sargent et al., 2010). Οι ασθενείς με όγκους dMMR που έλαβαν FU δεν είχαν βελτίωση στο DFS (HR 1.10, 95% CI : 0,42-2,91, P = 0,85) συγκριτικά με τους ασθενείς οι οποίοι επέλεξαν μόνο την χειρουργική επέμβαση. Στα συγκεντρωτικά δεδομένα 1027 ασθενών τα ευρήματα ήταν ίδια. Κανένα όφελος από τη θεραπεία δεν παρατηρήθηκε σε ασθενείς με στάδιο II (HR 2.30, 95% CI: 0.85-6.24, P = 0.09) ή στάδιο III (HR, 1.01, 95% CI: 0.41-2.51, P = 0,98) με dMMR. Η αλληλεπίδραση μεταξύ της παρουσίας ή όχι MMR και η αποτελεσματικότητα της θεραπείας για το DFS ήταν σημαντική (P = 0,04), γεγονός που έδειξε ότι η επίδραση της θεραπείας διαφέρει ανάλογα με την κατάσταση του MMR. Παρ' όλα αυτά, οι συγγραφείς του αρχικού άρθρου καθώς και εκείνοι δύο επιπλέον συμπληρωματικών μελετών ήταν ιδιαίτερα επιφυλακτικοί στη ερμηνεία των αποτελεσμάτων και δηλώνουν ότι οι ασθενείς με ΚΠΕ σταδίου III dMMR θα πρέπει να πάρουν τη βασική χημειοθεραπεία που βασίζεται σε 5-FU (Kerr and

Midgley, 2010, Kim et al., 2007). Οι Hutchins et al. εξέτασε τη σημασία των μεταλλάξεων BRAF και KRAS στην πρόβλεψη της υποτροπής και την ευαισθησίας του όγκου με dMMR στη χημειοθεραπεία (Hutchins et al., 2011). Ο κίνδυνος επανεμφάνισης (ROR) καρκίνου ήταν περίπου στο ήμισυ όσον αφορά τους όγκους με MSI, είτε συμπεριλάμβανε όλους τους ασθενείς με γνωστό MMR (σχετικός κίνδυνος [RR] 0,53, 95% CI: 0,40-0,70: P <0,001) είτε ΚΠΕ που αφορά το δεξιό παχύ έντερο σταδίου-II (RR 0.44, 95% CI: 0.29-0.67, P <0.001). Το ROR ήταν σημαντικά χαμηλότερο με την επικουρική 5-FU σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (RR 0,79 · 95% CI: 0,69-0,91 · P = 0,001) με το μεγαλύτερο όφελος να παρατηρείται στα πρώτα 2 χρόνια μετά από τυχαία χορήγηση (RR, 0,67 · 95% CI: 0,55 -0,81, P <0,001). Το ROR ήταν επίσης σημαντικά υψηλότερο για όγκους μεταλλαγμένους στο KRAS από ότι όγκους με μη μεταλλαγμένο KRAS (RR 1,40, 95% CI: 1,12-1,74, P = 0,002), αλλά δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των μεταλλαγμένων BRAF και των φυσιολογικών όγκων (P = 0,36). Κανένας δείκτης δεν προέβλεπε όφελος από χημειοθεραπεία, με αποτελεσματικότητα που δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ του MMR, KRAS ή της κατάσταση του BRAF. Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση 9312 ΚΠΕ αποδεικνύει ότι η επίδραση της θεραπείας με 5-FU δεν ήταν στατιστικά σημαντική για το DFS σε MSI ΚΠΕ (HR 0.84, 95% CI: 0.53-1.32) ή στο OS (HR 0.66, 95% CI : 0,43-1,03) (Webber et al., 2015). Υποομάδα ασθενών σταδίου II εμφάνισαν μεγαλύτερο όφελος στη θεραπεία σε ασθενείς με pMMR σε σύγκριση με ασθενείς με dMMR, αν και αυτό δεν ήταν στατιστικά σημαντικό. Το τελικό συμπέρασμα ήταν ότι η χρήση της παρουσίας MMR για την καθοδήγηση των θεραπευτικών χειρισμών σχετικά με τη χρήση 5-FU για ΚΠΕ δεν είχε σημαντικά οφέλη για τους ασθενείς. Πρόσφατες μελέτες της Dalerba περιπλέκουν ακόμα περισσότερο το θέμα. Έδειξαν ότι η απώλεια του CDX-2 σε ΚΠΕ σταδίου II αναγνωρίζουν ένα ξεχωριστό φαινότυπο με πτωχή πρόγνωση και ότι αυτός ο υπότυπος αφορά πρώιμο στάδιο της νόσου που εμφανίζουν θετική ανταπόκριση με τη χρήση επικουρικής χημειοθεραπείας (Dalerba et al., 2016). Είναι ενδιαφέρον ότι οι dMMR όγκοι έδειξαν θετικά αποτελέσματα σε δείγματα με απώλεια CDX-2 σε σύγκριση με τα pMMR. Η σχέση μεταξύ αυτών των δύο παραγόντων αξίζει περαιτέρω διερεύνηση, αλλά η συσχέτιση ενός παράγοντα που συνδέεται με καλύτερη πρόγνωση και ίσως ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία, όπως η dMMR με ένα δυσμενές προγνωστικό υπότυπο, φαίνεται αντίθετα να επωφελείται από την επικουρική

χημειοθεραπεία. Συνοψίζοντας, τα στοιχεία δείχνουν ότι ο έλεγχος MMR θα πρέπει να πραγματοποιείται σε όλους τους ασθενείς με νόσο σταδίου II, μιας και οι όγκοι MSI σταδίου II δεν φαίνεται να ωφελούνται από τη χημειοθεραπεία. Παρατηρείται από αναδρομικές μελέτες ότι η οξαλιπλατίνη μπορεί να ξεπεράσει την ανθεκτικότητα σε 5-FU στα MSI ΚΠΕ, με το μεγαλύτερο όφελος να φαίνεται σε ορισμένες υποομάδες (π.χ. εγγύς, Στάδιο III, N1 ή σποραδικός καρκίνος). Η MSI μπορεί να είναι ένας προγνωστικός δείκτης της ανθεκτικότητας σε 5-FU, αν και τα στοιχεία της βιβλιογραφίας για το συγκεκριμένο καρκίνωμα είναι αντικρουόμενα. Ανεπίλυτα ερωτήματα, όπως η ανυπαρξία διαφορών μεταξύ των ασθενών ως προς την παρουσία MSI με ΚΠΕ σταδίου II και III και οι ανεπιθύμητες παρενέργειες της θεραπείας με 5-FU στους ασθενείς με ΚΠΕ MSI σταδίου II, εξακολουθούν να υπάρχουν και παραμένουν ως επί το πλείστον αναπάντητες. Φαίνεται ότι ενώ η προγνωστική αξία του MSI είναι πιο σίγουρη από την αξία πρόβλεψης, η υποκείμενη βάση για τα δύο αυτά φαινόμενα δεν έχει ακόμη ερμηνευτεί.

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΟΥ ΑΦΟΡΑ ΤΟΝ ΚΠΕ.

Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ MSI ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΤΕΣ.

Η υποτιθέμενη καλύτερη πρόγνωση των MSI ΚΠΕ οφείλεται στην έντονη επιφανειακή διήθηση των T λεμφοκυττάρων που σχετίζονται με την αντίδραση σε αντιγόνα που προκαλούνται από dMMR (Phillips et al., 2004). Οι μεταλλάξεις που προκύπτουν από σφάλματα αντιγραφής, προκαλούν την παραγωγή κολοβωμένων, λειτουργικά ανενεργών πρωτεϊνών. Αυτά τα ανώμαλα πεπτίδια παρουσιάζονται στη συνέχεια σε κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα (CTLs). Όταν συγκρίνονται τα προφίλ γονιδιακής έκφρασης μεταξύ MSI και MSS σε ΚΠΕ, έχει αποδειχθεί ότι ανοσορρυθμιστικά γονίδια υπερεκφράζονται σε MSI καρκίνους, υποδηλώνοντας μία ενεργοποιημένη αντινεοπλασματική ανοσολογική απόκριση (Banerjea et al. 2004). Αυτές οι ειδικές ανοσολογικές απαντήσεις έχουν οριστεί περαιτέρω, αποδεικνύοντας ότι τα T βοηθητικά λεμφοκύτταρα (Th1), τα IFN-γ κυρίαρχα ανοσοπροφίλ που σχετίζονται με το MSI υποδηλώνουν καλύτερη πρόγνωση, ενώ τα ανοσοποιητικά προφίλ τύπου

Th17, IL-17, υποδηλώνουν μια λιγότερο ευνοϊκή πρόγνωση (Wilke et al., 2011, Wilke et al., 2010). Οι καρκίνοι MSI δείχνουν εκλεκτικά έντονη ανοσορυθμιστική έκφραση πολλαπλών σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού, συμπεριλαμβανομένων των πέντε: PD-1, Programmed Death-ligand 1 (PD-L1); CTLA-4; Lymphocyte-activation gene 3 (LAG-3) and indoleamine-2, 3-dioxygenase (IDO) in the tumor microenvironment (TME) (Llosa et al., 2015). Έτσι, το MSI αντιπροσωπεύει ένα κλασικό παράδειγμα προσαρμοστικότητας στο οποίο ένα ενεργό ανοσοποιητικό Th1 / CTL μικροπεριβάλλον έχει ως αποτέλεσμα τη μη αντισταθμιστική διέγερση σημείων ελέγχου που προστατεύουν την θανάτωση των καρκινικών κυττάρων με ανοσοδιαμεσολαβούμενες διεργασίες. Σε MSI ΚΠΕ, η έκφραση PD-L1 φαίνεται να μην είναι στα καρκινικά κύτταρα, αλλά σε λεμφοκύτταρα που διεισδύουν στον όγκο ή / και κύτταρα της μυελικής σειράς (Fusi et al., 2015; Llosa et al., 2015; Taube κ.ά., 2014). Πρόσφατα θεωρήθηκε ότι οι στρατηγικές που εμπλέκουν την αναστολή αυτών των ανοσορυθμιστικών μηχανισμών μπορεί να είναι αποτελεσματικές στο πιο δύσκολο υποσύνολο των ΚΠΕ. Με βάση αυτή τη θεωρία, μια μικρή μελέτη σε ΚΠΕ σταδίου II με τη χρήση anti-PD-1 MAbs Pembrolizumab (Keytruda®) σχεδιάστηκε για να ελέγξει την αναστολή PD-1 σε ασθενείς με ΚΠΕ σε σποραδικούς και κληρονομούμενους καρκίνους με MSI (Le et al., 2015). Τα δεδομένα από αυτή την μελέτη υποστηρίζουν την υπόθεση ότι οι όγκοι με MSI ανταποκρίνονται περισσότερο στην αναστολή του PD-1 από ό, τι οι όγκοι με pMMR. Οι ασθενείς με MSI ΚΠΕ ή άλλους όγκους με υψηλό δείκτη MSI είχαν υψηλά ποσοστά ανταπόκρισης με 40% (4/10) και 71% (5/7) αντιστοίχως και υψηλά ποσοστά επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) που βασίζονται στην ανοσοθεραπεία σε 20 εβδομάδες (78% και 67%). Δεν παρατηρήθηκε ανταπόκριση σε ασθενείς με pMMR και η επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) σε 20 εβδομάδες ήταν μόνο 11%. Η γονιδιωματική αλληλουχία αποκάλυψε μια μέση τιμή 1.782 σωματικών μεταλλάξεων ανά όγκο dMMR σε σύγκριση με μόλις 73 σε pMMR, και το υψηλό φορτίο μεταλλάξεων συσχετίστηκε με την επιβίωσης χωρίς εξέλιξη στη νόσο (PFS). Αυτές οι πληροφορίες στηρίζονται σε μια προσέγγιση που αφορά τη διαχείριση ενός συγκεκριμένου υποσυνόλου όγκων που βασίζονται αποκλειστικά στη μοριακή κατάσταση, χωρίς να λαμβάνεται υπόψη η θέση ανάπτυξης του όγκου. Αυτό οδήγησε την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων να εγκρίνει ταχέως το Pembrolizumab για τη θεραπεία του μεταστατικού / ανθεκτικού MSI

ΚΠΕ. Βάσει των παραπάνω αποτελεσμάτων, βρίσκεται σε εξέλιξη μια μελέτη δοκιμαστικής φάσης III που εξετάζει τη μονοθεραπεία με Pembrolizumab σε συμμετέχοντες που προηγουμένως είχαν αντιμετωπιστεί ανεπαρκώς λόγω του ότι ο ΚΠΕ ήταν προχωρημένος τοπικά ή αφορούσε μεταστατικά ΚΠΕ (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02460198) (MK-3475-177/KEYNOTE-177; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02563002). Όσον αφορά τους άλλους στόχους ανοσοκατασταλτικών σημείων ελέγχου, το Tremelimumab, ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα IgG2 που μπλοκάρει την ανασταλτική δράση του CTLA-4, δοκιμάστηκε ως μονοθεραπεία σε μια μικρή δοκιμασία φάσης II σε μη τυχαιοποιημένες μελέτες, του ανθεκτικού μεταστατικού ΚΠΕ (Chung κ.ά., 2010). Ωστόσο σε αυτή τη μελέτη, δεν παρουσιάστηκε σημαντικό όφελος ως μονοθεραπεία. Παρόλα αυτά, μια κλινική μελέτη φάσης II του Nivolumab (ενός άλλου anti-PD-1 MAb) και του Nivolumab Plus Ipilimumab (ενός anti-CTLA-4 MAb) σε MSI ΚΠΕ που έχουν υποτροπιάσει ή είναι μεταστατικά Checkmate 142 [ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02060188]) είναι επίσης σε εξέλιξη. Αν αποδειχθεί επιτυχής, η ανοσοθεραπεία θα γίνει το πρωτόκολλο θεραπείας σε προχωρημένα MSI ΚΠΕ στο εγγύς μέλλον και γι' αυτό το λόγο η ανάλυση του MMR μέσω PCR ή IHC θα γίνει αναμφίβολα ρουτίνα και απαραίτητη στην αξιολόγηση και στη διαχείριση των ασθενών με ΚΠΕ.

ΟΙ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΝΟΣ ΕΜΒΟΛΙΟΥ MSI ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΠΕ.

Τα εμβόλια ήταν οι πρώτες μέθοδοι ανοσοθεραπείας που διερευνήθηκαν στον ΚΠΕ (Gutterman κ.ά., 1976, Mavligit et al., 1977). Μέχρι σήμερα έχουν μελετηθεί εμβόλια από καρκινικά κύτταρα, εμβόλια προερχόμενα από πεπτίδια (Moulton et al., 2002) και εμβόλια από φορείς ιών (Kaufman et al., 2008). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι πολυάριθμες μεταλλάξεις μετατόπισης αναγνωστικών πλαισίων (frameshift) που προκαλούνται από MSI παράγουν πιθανότερο μια ανοσογόνο κατάσταση από ένα πεπτίδιο μετατόπισης πλαισίου (FSP) στην τελική καρβοξυλική ομάδα των αντίστοιχων γονιδιακών προϊόντων. Συνεπώς, εξειδικευμένες αντιδράσεις FSP πιστεύεται ότι αποτελούν παράδειγμα ενός σημαντικού μηχανισμού μέσω του οποίου τα προσαρμοστικά

ανοσοποιητικά συστήματα του ξενιστή μπορούν να αναγνωρίσουν και να ρυθμίσουν πιθανώς τους όγκους που σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch (von Knebel Doeberitz and Kloor, 2013). Έχει ξεκινήσει μια δοκιμαστική μελέτη φάσης II (NCT01461148, clinicaltrials.gov) ενός εμβολίου FSP για την αξιολόγηση της ασφάλειας και της καταλληλότητας της ανοσολογικής παρέμβασης βασισμένης σε FSP MSI ΚΠΕ. Συνεπώς, ο εμβολιασμός με αντιγόνα FSP μπορεί να προσφέρει στο μέλλον την κατάλληλη προσέγγιση για τη διαχείριση και / ή την πρόληψη καρκίνων που σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch.

MSI ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΟΡΘΟΥ.

Ο προσδιορισμός της MSI είναι ένας από τους πλέον καθιερωμένους μοριακούς δείκτες στον ΚΠΕ, ωστόσο οι επιπτώσεις της στον καρκίνο του ορθού έχουν παραμείνει ακόμα ασαφείς. Αυτό οφείλεται κυρίως στη σπανιότητα του dMMR σε καρκινώματα ορθού, με μια συχνότητα εμφάνισης μόλις 2-15% σε όλα τα dMMR ΚΠΕ (Ishikubo et al., 2004, Nilbert et al., 1999). Παρά ταύτα, από καιρό έχει διαπιστωθεί η παρουσία dMMR ή MSI στον καρκίνο του ορθού ενώ ο δείκτης αυτός έχει ιδιαίτερη προγνωστική αξία στο σύνδρομο Lynch ($\leq 75\%$) (de Rosa et al., 2016, Nilbert et al., 1999). Έτσι, κάθε φορά που ταυτοποιείται ένας dMMR καρκίνος στο ορθό, θα πρέπει να ακολουθείται άμεσα γενετικός έλεγχος των γονιδίων MMR (Beamer et al., 2012, Dineen κ.ά., 2015, Moreira κ.ά., 2012) είτε έλεγχος ως μέρος ενός NGS γονιδιακού πάνελ (Yurgelun et al., 2015). Ακόμη και μετά τη διάγνωση, η βέλτιστη αντιμετώπιση των ασθενών με καρκίνο στο ορθό στα πλαίσια συνδρόμου Lynch παραμένει αμφιλεγόμενη. Για παράδειγμα, αντίθετα με ότι συμβαίνει στον dMMR ΚΠΕ, η ανεπάρκεια στο σύμπλοκο MSH2 / MSH6 είναι το πιο συχνό εύρημα στον καρκίνο του ορθού με σύνδρομο Lynch (de Rosa et al., 2016). Τα γονίδια MMR έχουν συσχετιστεί με όγκους που δεν αφορούν αποκλειστικά το παχύ έντερο (Stoffel et al., 2015). Στη μεγαλύτερη μελέτη για τον καρκίνο του ορθού που σχετίζεται με dMMR μέχρι σήμερα, το 23% των ασθενών ανέπτυξαν κακοήθεια σε άλλα όργανα και το 45% των θανάτων προέκυψε από αυτούς τους καρκίνους (de Rosa et al., 2016). Έτσι, η παρακολούθηση των ασθενών σε βάθος χρόνου είναι καίριας σημασίας. Η

έκταση της χειρουργικής επέμβασης για dMMR καρκίνο στο ορθό που σχετίζεται με LS είναι επίσης αμφιλεγόμενη. Τα καλύτερα ογκολογικά αποτελέσματα εξισορροπούνται από τον κίνδυνο μεταστάσεων και την εξέλιξη της νόσου καθώς και με τη διατήρηση της λειτουργίας του σφιγκτήρα και των θεμάτων που αφορούν την ποιότητα ζωής του ογκολογικού ασθενούς (Coffey et al., 2002, Wertzberger et al., 2014). Ο κίνδυνος μετάγχρονης ανάπτυξης καρκίνου στο παχύ έντερο είναι της τάξης του 19% στα 10 χρόνια (Cirillo et al., 2013 · Kalady et al., 2012 · Lee et al., 2001 · Win et al., 2013) με αύξηση της θνησιμότητας σε περίπτωση επανεμφάνισης του καρκίνου (Cirillo et al., 2013). Έτσι, επιβάλλεται μια επιθετική προσέγγιση στην υποτροπή της νόσου και / ή στη μετάγχρονη ανάπτυξη ΚΠΕ. Εκτός από βασικά ζητήματα στη γενετική του καρκίνου του ορθού με dMMR, παραμένουν και άλλες σύνθετες καταστάσεις υπό διερεύνηση. Η έλλειψη δεδομένων μακροχρόνιας επιβίωσης για τους καρκίνους του ορθού dMMR σημαίνει ότι η πρόγνωση για τη νόσο που έτυχε θεραπείας με τον συμβατικό τρόπο δεν μπορεί να καθοριστεί πλήρως (Hong et al., 2012), παρά τα στοιχεία ότι ο ΚΠΕ και ο καρκίνος στο ορθό με dMMR έχουν διαφορετική βιολογική συμπεριφορά (Andre et al., 2015). Σε αντίθεση με τους ΚΠΕ MSI, όπου υπάρχει επικράτηση του καρκίνου στο εγγύς παχύ έντερο σε ηλικιωμένες γυναίκες, μια ιαπωνική ομάδα διαπίστωσε ότι πάνω από το ένα τρίτο του MSI ΚΠΕ σε άνδρες αναπτύχθηκε στο ορθό (Ishikubo et al., 2004). Ο καρκίνος του ορθού dMMR φαίνεται να έχει και άλλα μοναδικά χαρακτηριστικά, με κυρίαρχη τη βλεννώδη συνιστώσα (Takemoto et al., 2004), μειωμένη συχνότητα υπερμεθυλίωσης του υποκινητή MLH1 και της παρουσίας BRAF μεταλλάξεων σε σύγκριση με τον ΚΠΕ dMMR (Samowitz et al., 2009). Το τελευταίο μπορεί να εξηγηθεί από τη χαμηλότερη συχνότητα της μεθυλίωσης του υποκινητή hMLH1 σε σύνδρομο Lynch σε σχέση με σποραδικούς καρκίνους του παχέος εντέρου dMMR (Herman κ.ά., 1998. Kuismann κ.ά., 2000). Με τη μειωμένη συχνότητα των μεταλλάξεων BRAF, θα αναμενόταν ότι ο dMMR καρκίνος του ορθού θα είχε βελτιωμένη πρόγνωση, ωστόσο οι αρχικές προγνωστικές μελέτες ήταν αντιφατικές. Σε μία μελέτη η συνολική 5ετής επιβίωση (OS) ήταν 50% για 22 dMMR καρκίνους του ορθού (Samowitz et al., 2009) ενώ μία άλλη ανέφερε 3ετή επιβίωση ελεύθερη νόσου (DFS) 90% για 20 dMMR καρκίνους του ορθού (Hong et al.). Ωστόσο, στη μεγαλύτερη και πιο πρόσφατη κλινική σειρά, ο dMMR καρκίνος στο ορθό, επιβεβαιώθηκε ότι είχε εξαιρετική πρόγνωση σε σύγκριση με την pMMR νόσο,

με πενταετή συνολική επιβίωση (OS) και DFS 90,6% (de Rosa et al., 2016) και 70% (Park et al., 2012) αντίστοιχα για τον προχωρημένο καρκίνο του ορθού και 5ετή OS 50% για το μεταστατικό ΚΠΕ (Brouquet et al., 2010). Αναφορικά με τις διάφορες υπάρχουσες θεραπευτικές προσεγγίσεις, παρά τη γενική ομολογία ότι η dMMR προβλέπει την πτωχή ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία που βασίζεται σε 5-FU (Ribic et al., 2003), όταν αυτή συνδυάζεται με ακτινοβολία τα αποτελέσματα είναι αμφιλεγόμενα (Lim et al. , 2015). Πολύ μικρές σειρές ασθενών με ελάχιστες κλινικές πληροφορίες και μεγάλη ετερογένεια αναφέρουν ποσοστά ανταπόκρισης στη θεραπεία μεταξύ 0 και 60% (Bertoliniet al., 2007 · Cecchin et al., 2011 · Charara κ.ά., 2004 · Lim et al., 2015 · Shin κ.ά., 2013). Εντούτοις, στη μεγαλύτερη σειρά περιστατικών που μελετήθηκαν μέχρι σήμερα η ανταπόκριση στη θεραπεία βρέθηκε να είναι εξαιρετική, με πλήρη παθολογική ανταπόκριση (pCR) στο 27,6% σε προχωρημένη νόσο χωρίς μεταστάσεις (de Rosa et al., 2016) σε σύγκριση με το ποσοστό παθολογικής ανταπόκρισης pCR που είναι στο 18% μεταξύ των ασθενών χωρίς LS που θεραπεύονται με χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία (Park et al., 2012). Είναι σημαντικό ότι ο φαινότυπος των μεταλλάξεων του καρκίνου του ορθού dMMR, που χαρακτηρίζεται από τον σχηματισμό αντιγόνων και την ενισχυμένη ανοσολογική ανταπόκριση, μπορεί να συμβάλει ευνοϊκά, υπογραμμίζοντας το δυναμικό για νέες θεραπείες που βασίζονται στην ανοσοθεραπεία (Le et al., 2015). Ωστόσο, η πιθανότητα συνδυασμού ή διαδοχικών προσεγγίσεων, που ενσωματώνουν νέες ανοσοθεραπείες, πρέπει ακόμα να καθοριστεί (de Rosa et al., 2016).

MSI ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΠΕ.

Αποτελεί ένδειξη ότι η καλύτερη πρόγνωση στα ΚΠΕ με dMMR είναι εμφανής σε όγκους πρώιμου σταδίου (Roth et al., 2012). Οι διάφορες μελέτες υποδηλώνουν ότι η MSI σχετίζεται με κακή επιβίωση στον ΚΠΕ με απομακρυσμένες μεταστάσεις (Tran et al., 2011) και με το στάδιο III της νόσου (Mohan et al., 2016). Έτσι, η ευνοϊκή επίδραση του MSI, αν υπάρχει, εξαφανίζεται στα προχωρημένα στάδια της νόσου. Οι όγκοι MSI εμφανίζουν πιο σπάνια λεμφαδενικές (Mohan et al., 2016) και ηπατικές μεταστάσεις (Carstensen et al., 2015). Λόγω αυτών των σχετικά περιορισμένων δεδομένων ο

ρόλος της παρουσίας MMR στη μεταστατική νόσο είναι περιορισμένος. Μετανάλυση που αφορούσε 153 MSI ΚΠΕ τεσσάρων μελετών που βρίσκονται σε φάση III και αφορούν ασθενείς με μεταστατικό ΚΠΕ (CAIRO, CAIRO 2, COIN, FOCUS), το μέσο PFS (HR 1,33, 95% CI 1,12-1,57, $p = 0,001$) HR 1,35, 95% CI 1,13-1,61, $p = 0,001$) ήταν σημαντικά χειρότερο σε MSI ΚΠΕ σε σύγκριση με τα MSS ΚΠΕ (Venderbosch et al., 2014). Η φτωχότερη επιβίωση του μεταστατικού MSI ΚΠΕ φαίνεται να οφείλεται εν μέρει στην μετάλλαξη BRAF (Goldstein et al., 2014). Το MSI ΚΠΕ εμφανίζει μικρότερα ποσοστά υποτροπής από ότι το MSS ΚΠΕ. Ωστόσο, η τοπική και περιτοναϊκή υποτροπή είναι πιο συχνή σε MSI ΚΠΕ (Kim et al., 2016). MSI ΚΠΕ που έχουν υποτροπιάσει είναι λιγότερο πιθανό να θεραπευτούν και δεν ωφελούνται από την προεγχειρητική χημειοθεραπεία, ίσως λόγω της αντίστασης του MSI στη χημειοθεραπεία (Kim et al., 2016).

ΤΑ ΑΔΕΝΩΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΜΕ MSI

Αν και το σύνδρομο Lynch παραδοσιακά θεωρείται σύνδρομο χωρίς πολύποδες, το 41% των ασθενών θα έχουν τουλάχιστον ένα αδένωμα, συμπεριλαμβανομένου του 2% με έξι έως εννέα αδενώματα και του 4% με περισσότερα από 10 αδενώματα (Kalady κ.ά., 2015). Το σύνδρομο Lynch πιστεύεται ότι λαμβάνει χώρα μετά την μετάλλαξη APC ή CTNNB1 (β-κατενίνη), η οποία ξεκινά το αδένωμα (Geiersbach and Samowitz, 2011). Έτσι, ο έλεγχος MSI δείχνει ανωμαλία μόνο στους μισούς ασθενείς με σύνδρομο Lynch όταν ο έλεγχος γίνεται σε αδενώματα. Αντίθετα, το MSI σπάνια βρίσκεται σε σποραδικα αδενώματα, έτσι ένα θετικό εύρημα φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με το σύνδρομο Lynch (Stoffel and Syngal, 2005). Σε αδενώματα με MSI παρατηρείται επιταχυνόμενη εξέλιξη σε ΚΠΕ (Geiersbach και Samowitz, 2011, Jenkins et al., 2007). Αυτό εξηγεί τα συχνότερα διαστήματα παρακολούθησης με κολονοσκόπηση που αφορούν ΚΠΕ στα πλαίσια του συνδρόμου Lynch (Moller et al. 2015).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το MSI μπορεί να θεωρηθεί ως η αντανάκλαση ενός ανεπαρκούς συστήματος MMR. Το ΚΠΕ είναι ένας κοινός καρκίνος και μέχρι το 15-20% των ΚΠΕ χαρακτηρίζεται από το φαινότυπο MSI που αντικατοπτρίζει ένα ελλιπές σύστημα MMR. Το MSI είναι χαρακτηριστικό του συνδρόμου Lynch, του συνηθέστερου γενετικού συνδρόμου στον ΚΠΕ, είναι υπεύθυνο για 1 στους 35 από όλους τους ΚΠΕ. Ωστόσο, η πλειονότητα των όγκων MSI εμφανίζονται σποραδικά και ως αποτέλεσμα των μεταλλάξεων στα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες MMR. Αν και τα MSI ΚΠΕ είναι ετερογενή, εμφανίζουν κλινικά, παθολογοανατομικά και μοριακά χαρακτηριστικά που τα διακρίνουν από το MSS ΚΠΕ. Η αναγνώριση του MSI στον ΚΠΕ έχει αυξανόμενες κλινικές εφαρμογές, όπως: στην πρόγνωση, ως προβλεπτικός δείκτης ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία και νέους παράγοντες ανοσοθεραπείας καθώς και ως μέρος του αλγορίθμου (Εικόνα 4.1) που χρησιμοποιείται στη διάγνωση του συνδρόμου Lynch. Καθώς προχωράμε στην εποχή της εξατομικευμένης θεραπείας των ασθενών με καρκίνο, οι παραπάνω λόγοι δικαιολογούν το σκεπτικό για τον προσδιορισμό της MMR όλων των νεοδιαγνωσθέντων ατόμων με ΚΠΕ, απαιτώντας την ανάπτυξη μιας βελτιωμένης διαγνωστικής στρατηγικής για αυτούς τους ασθενείς.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

*Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η ανίχνευση μεταλλάξεων των γονιδίων **KRAS**, **NRAS**, **BRAF** και ο προσδιορισμός της Μικροδορυφορικής Αστάθειας σε Έλληνες ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου, καθώς και η συσχέτιση αυτών με τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους του καρκίνου.*

Τα ευρήματα που προέκυψαν σχολιάζονται σε σχέση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα με στόχο την εκτίμηση της επίπτωσης των μοριακών αλλαγών στον ελληνικό πληθυσμό.

ΥΛΙΚΟ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ασθενείς

Το υλικό της μελέτης αυτής είναι αρχειακό και ήταν διαθέσιμο στο Ά Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομική Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ. Τα δεδομένα συλλέχθηκαν από 157 ασθενείς, 60,5% άνδρες και 39,5% γυναίκες (άνδρες = 95, γυναίκες = 62, μέση ηλικία = 67, ηλικία ετών 34-89). Το υλικό περιελάμβανε ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο του παχέος εντέρου (29,3% δεξιά, 5,7% αριστερά, 37% ορθοκολικό,) ή μεταστατικό (28%) καρκίνωμα παχέος εντέρου σε ήπαρ, πνεύμονα ή λεμφαδένες. Η κατανομή σύμφωνα με την 8η έκδοση Σταδίοποίησης του ΚΠΕ ήταν η εξής: 8,9% στάδιο I, 40,8% στάδιο II, 22,3% στάδιο III, 28% στάδιο IV.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Μοριακές Μέθοδοι:

Επιγραμματικά, οι επιμέρους τεχνικές:

- α. Απομόνωση DNA από τους μονιμοποιημένους ιστούς του παχέος εντέρου
- β. Φωτομέτρηση προς προσδιορισμό συγκέντρωσης DNA που απομονώθηκε από τους μονιμοποιημένους ιστούς.
- γ. PCR πραγματικού χρόνου και High Resolution Melting Analysis (HRM) για την ανίχνευση μεταλλαγών στους υπό διερεύνηση δείκτες μικροδορυφορικής αστάθειας (BAT26, BAT25, NR24, NR21).

ΑΝΑΛΥΤΙΚΑ

α. Απομόνωση DNA από μονιμοποιημένους ιστούς:

Πρώτη είναι η διαδικασία αποπαραφίνωσης και απομόνωσης ιστού από τους κύβους παραφίνης.

Αρχικά θερμαίνουμε ξυλόλη, 2 ml για κάθε δείγμα, στους 56 °C. Επόμενο βήμα είναι η προσθήκη 1 ml θερμής ξυλόλης στο κάθε δείγμα, το τοποθετούμε για επώαση στους 56 °C για 30 min και έπειτα φυγοκεντρούμε. Μετά την φυγοκέντρηση αφαιρούμε το υπερκείμενο. Μετά την αφαίρεση επαναλαμβάνουμε το βήμα αυτό με 15 min χρόνο επώασης. Μετά την δεύτερη αφαίρεση του υπερκειμένου προσθέτουμε στο δείγμα 1 ml αιθανόλης. Κατόπιν αφαίρεσης και εξάτμισης της αιθανόλης προσθέτουμε πρωτεϊνάση K στο δείγμα και το αφήνουμε για επώαση 12 ωρών. Όταν ολοκληρωθεί η διαδικασία παίρνουμε το γενετικό υλικό (DNA) έχοντας λύσει τα πρωτεϊνικά συστατικά του ιστού.

β. Φωτομέτρηση προς προσδιορισμό συγκέντρωσης DNA από τους μονιμοποιημένους ιστούς:

Με τη φωτομέτρηση είναι δυνατός ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του DNA των δειγμάτων. Για την φωτομέτρηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το σπεκτροφωτόμετρο NanoDrop 2000.

1. Για κάθε μέτρηση τοποθετήθηκαν 2 μl από ρυθμιστικό διάλυμα BE το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως τυφλό ώστε να επιτευχθεί βαθμονόμηση του σπεκτροφωτόμετρου και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν 2 μl δείγματος για φωτομέτρηση.

2. Η φωτομέτρηση έγινε σε δύο μήκη κύματος του φωτός, στα 260 nm και στα 280 nm. Όταν ο λόγος των μετρήσεων 260/280 κυμαίνεται από 1,8-2, η ποσότητα του DNA χαρακτηρίζεται από υψηλή καθαρότητα.

γ. PCR πραγματικού χρόνου ακολουθούμενη από HRMA:

Η τεχνική της PCR πραγματικού χρόνου ακολουθούμενη από HRMA είναι μία από τις μεθόδους η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ώστε να πολλαπλασιαστεί το υπό μελέτη τμήμα του DNA και να αναλυθεί για πιθανές μεταλλάξεις. Πρόκειται για εξαιρετικά αξιόπιστη τεχνική με υψηλή ευαισθησία ανίχνευσης μεταλλαγών.

Μέσω της PCR πραγματικού χρόνου ενισχύεται ένα συγκεκριμένο τμήμα DNA. Κατά τη διάρκειά της, πολλαπλασιάζεται το τμήμα του DNA, μεγέθους 100-600 βάσεων, ενώ ταυτόχρονα επιτυγχάνεται μέτρηση της ενισχυόμενης ποσότητας μέσω της πρόσδεσης φθορίζουσας ουσίας στα υπό πολλαπλασιασμό μόρια του DNA. Η φθορίζουσα ουσία έχει την ικανότητα να προσδένεται σε συγκεκριμένο δίκλωνο τμήμα του DNA. Κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού του γενετικού υλικού γίνεται μέτρηση του φθορισμού που εκπέμπεται από την φθορίζουσα ουσία. Είναι σημαντικό να τονιστούν η δυνατότητα παρακολούθησης του πολλαπλασιασμού του γενετικού υλικού κατά τη διάρκεια της ενίσχυσής του, καθώς και η δυνατότητα ποσοτικοποίησης του παραγόμενου προϊόντος μέσω αυτής της μεθόδου.

Όταν λήξει το στάδιο πολλαπλασιασμού του γενετικού υλικού, ακολουθεί το στάδιο ανάλυσης του σημείου τήξης των προϊόντων. Το σημείο τήξης ορίζεται ως η θερμοκρασία στην οποία το 50% των μορίων γενετικού υλικού αποκτούν δίκλωνη μορφή. Αυτό μεταβάλλεται αναλόγως της ύπαρξης μεταλλάξεων στο γενετικό υλικό, λόγω μεταβολής των χημικών δεσμών μέσω των οποίων τα μόρια αποκτούν την δίκλωνη μορφή τους. Τα αποτελέσματα συγκρίνονται με το σημείο τήξης γνωστών μορίων DNA (*Eralietal, 2008*).

Για το στάδιο αυτό χρησιμοποιήθηκε το μηχάνημα Lightcycler® 480 System (Roche Diagnostics GmbH, Germany).

Το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε ήταν το εξής:

1. Παρασκευή διαλύματος με Light Cycler Master Mix 10 μl, μαγνήσιο 3,5 mM, ζεύγος εκκινήτων 200 nmol/L έκαστος και 20 ngDNA. Ο τελικός όγκος των 20 μl επετεύχθη με πρόσθεση νερού.

2. Οι συνθήκες που ακολουθήθηκαν ήταν οι 95 °C για την αρχική αποδιάταξη του DNA για 10 min και στη συνέχεια εκτελέστηκαν 60 κύκλοι αποδιάταξης,

αναδιάταξης και επιμήκυνσης. Ο κάθε κύκλος διατηρούσε θερμοκρασία στους 95 °C για 10 sec, 57 °C για 15 sec και 72 °C για 7 sec.

3. Ακολούθησε η High Resolution Melting Analysis σε θερμοκρασίες κατάλληλες για τους υπό διερεύνηση δείκτες μικροδορυφορικής αστάθειας (BAT26, BAT25, NR24, NR21).

Ανοσοϊστοχημεία

Αυτοματοποιημένη ανοσοϊστοχημική μέθοδος εφαρμόστηκε σε τομές παραφίνης πάχους 4 μm από ιστούς που έχουν επεξεργαστεί με ουδέτερη 10% φορμόλη σε 18 ασθενείς με μοριακό φαινότυπο MSI προκειμένου να βρεθεί η απώλεια της σχετικής MMR πρωτεΐνης. Η ανίχνευση των MMR πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του KIT ανίχνευσης Leica Polymer Refine στο Leica Bond-III μηχάνημα ανοσοϊστοχημείας (Leica Microsystem). Τα εφαρμοζόμενα αντισώματα ήταν MLH1 (κλώνος ESO5, Leica), PMS2 (κλώνος MOR4G, Leica), MSH2 (κλώνος 25D12, Leica) και MSH6 (κλώνος PU29, Leica), σε αραιώσεις 1:90, 1:50 έτοιμο προς χρήση και 1: 300, αντίστοιχα.

Βασικά στάδια της ανοσοϊστοχημείας.

- 1) Αποπαραφίνωση με βάση το πρωτόκολλο της LEICA (Bond Dewax Solution)
- 2) Αντιγονική ανάκτηση, πορεία απαραίτητη για την απομάκρυνση των διασταυρούμενων δεσμών με τη φορμόλη (Bond Epitope Retrieval ER2 Solution, 20min, 100°C)
- 3) Καταστολή της ενδογενούς υπεροξειδάσης (Peroxide Block, 5min)
- 4) Επώαση με πρωτογενή αντισώματα
- 5) Επώαση με δευτερογενές αντίσωμα ποντικού (Post Primary Mouse Linker, 10min)
- 6) Επώαση με πολυμερές αντιδραστήριο συνδεδεμένο με υπεροξειδάση, ελεύθερο βιοτίνης (Polymer/HRP, 10min)
- 7) Επώαση με διάλυμα χρωμογόνου (DAB- Διαμινοβενζιδίνη)- υπεροξειδίου (Mixed DAB Refine, 10min)
- 8) Χρώση υποστρώματος με αιματοξυλίνη (Refine Hematoxylin, 5min)
- 9) Αφυδάτωση με 95% και 100% αιθανόλη
- 10) Ξυλόλη και επίστρωση με καλυπτρίδα προς παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο

Το φυσιολογικό επιθήλιο των κρυπών, τα λεμφοκύτταρα και άλλα στρωματικά κύτταρα παρακείμενα στα καρκινικά κύτταρα, χρησιμεύουν ως εσωτερικός θετικός μάρτυρας. Ο όγκος ορίστηκε ως μικροδορυφορικά ασταθής όταν τα καρκινικά κύτταρα έδειξαν πλήρη απουσία πυρηνικής χρώσης σε αντίθεση με μη νεοπλασματικά κύτταρα που διατηρούσαν την πυρηνική έκφραση της πρωτεΐνης και μικροδορυφορικά σταθερός εάν και τα καρκινικά κύτταρα εμφάνιζαν πυρηνική θετικότητα.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε προκειμένου να συσχετιστεί η MSI με μεταλλάξεις και άλλες παραμέτρους, όπως το φύλο, ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας, το στάδιο κ.λπ., χρησιμοποιώντας το X^2 τεστ του Pearson και την ακριβή δοκιμασία του Fisher, όπου ενδείκνυται. Οι ηλικιακές ομάδες χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες, πάνω και κάτω από τη μέση ηλικία. Οι στατιστικοί υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS v21.0 για Windows. Όλα τα αποτελέσματα με p-value <0,05 θεωρήθηκαν σημαντικά. Οι συσχετίσεις των μεταλλάξεων με το στάδιο TNM περιορίστηκαν σε χειρουργικά δείγματα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1.Χαρακτηριστικά ασθενών

Τα ακόλουθα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά ήταν διαθέσιμα για στατιστική ανάλυση: ηλικία, φύλο, στάδιο όγκου που ορίστηκε ως πρώιμο (στάδιο I και II) και προχωρημένο (στάδιο III και IV), ταξινόμηση pTNM με βάση την 8η έκδοση του AJCC, αγγειακή / λεμφική διήθηση, νέκρωση, παρουσία λεμφοκυττάρων που διεισδύουν στον όγκο (TILs), εξελκώσεις, δεσμοπλαστική στρωματική αντίδραση και ανάπτυξη όγκων σε προϋπάρχον αδενωματώδη πολύποδα.

Τα κλινικοπαθολογικά δεδομένα όλων των ασθενών με ΚΠΕ που μελετήθηκαν συνοψίζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας1: Κλινικοπαθολογικά δεδομένα των ασθενών με ΚΠΕ που μελετήθηκαν

Χαρακτηριστικά	Αριθμός	Ποσοστό (%)
Φύλο		
Άρρεν	95	60.5%
Θήλυ	62	39.5%
Εντόπιση		
Δεξιό κόλον	46	29.3%
Αριστερό κόλον	9	5.7%
Ορθοσιγμοειδές	58	37%
Μεταστάσεις	44	28%

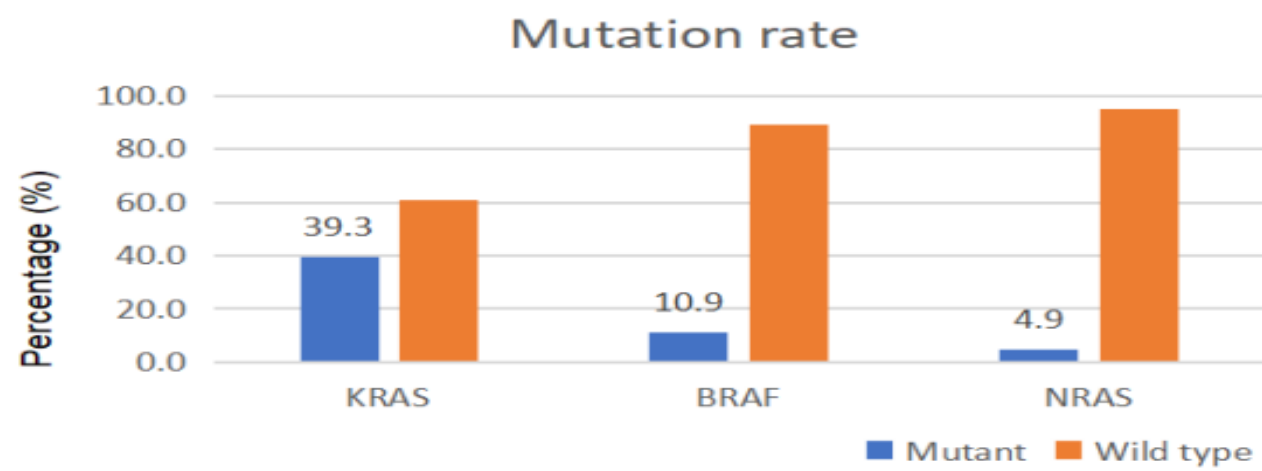
Βαθμός Κακοήθειας (Grade)		
G1	3	1.9%
G2	103	65.6%
G3	51	32.5%
Στάδιο του όγκου		
I	14	8.9%
II	64	40.8%
III	35	22.3%
IV	44	28%
Αγγειακές/Λεμφαγγειακές διηθήσεις		
Παρουσία	41	29.7%
Απουσία	97	70.3%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 19 περιστατικά		
Λεμφοκύτταρα που διηθούν τον όγκο (TILS)		
Παρουσία		
Απουσία	101	72.7%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 18 περιστατικά	38	27.3%
Εξέλκωση		
Παρουσία	82	59%
Απουσία	57	41%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 18 περιστατικά		

Δεσμοπλαστική αντίδραση του στρώματος		
Παρουσία	95	68.3%
Απουσία	44	31.7%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 18 περιστατικά		
Ανάπτυξη του καρκινώματος σε έδαφος αδενωματούδους πολύποδα		
Ναι	21	13.5%
Όχι	135	86.5%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 1 περιστατικό		
Νέκρωση		
Ναι	50	36%
Όχι	89	64%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 18 περιστατικά		

2. Ανίχνευση μεταλλάξεων των γονιδίων **KRAS**, **BRAF** και **NRAS** και προσδιορισμός της **MSI**.

Η ανάλυση μετάλλαξης του **KRAS** έγινε σε 145 δείγματα εκ των οποίων το 39,3% (57/145) ήταν μεταλλαγμένο (Πίνακας 2, Εικόνα 1). Οι μεταλλάξεις **KRAS** αφορούν κυρίως το κωδικόνιο 12 (40,4%), με τις συχνότερες μεταλλάξεις να είναι το p.Gly12Asp (21% των μεταλλαγμένων περιπτώσεων) και το p.Gly13Asp (17,5%). Συγκεκριμένα, εντοπίστηκαν εννέα διαφορετικές μεταλλάξεις, πέντε από τις οποίες στο κωδικόνιο 12: p.Gly12Asp, p.Gly12Cys, p.Gly12Val, p.Gly12Ala, p.Gly12Ser, μία στο κωδικόνιο 13 (p.Gly13Asp), δύο στο κωδικόνιο 61 του εξονίου 3 (p.Glu62Gln, p.Glu61Lys) και ένα στο κωδικόνιο 146, το εξόνιο 4 (p.Ala146Thr). Η ανάλυση του γονιδίου **BRAF** στο εξόνιο 15 (περιοχή ενεργοποίησης) αποκάλυψε μεταλλάξεις στο 10,9% των περιπτώσεων (16 από τις 147) που όλες αναγνωρίστηκαν ως μεταθέσεις T σε A στο νουκλεοτίδιο 1799 προκαλώντας αντικατάσταση της βαλίνης με γλουταμίνη στο κωδικόνιο 600 (p.Val600Glu) (Πίνακας 2, Εικόνα 1). Οι μεταλλάξεις **NRAS** παρατηρήθηκαν στο 4.9% των δειγμάτων (7 από τα 144) που

ταυτοποιήθηκαν ως p.Gly12Val στο εξόνιο 2 και p.Ala59Thr, p.Gln61Leu, p.Gln61Arg στο εξόνιο 3.(Πίνακας 2, Εικόνα 1)



Εικόνα 1. Ποσοστά μεταλλάξεων *KRAS*, *BRAF* και *NRAS*.

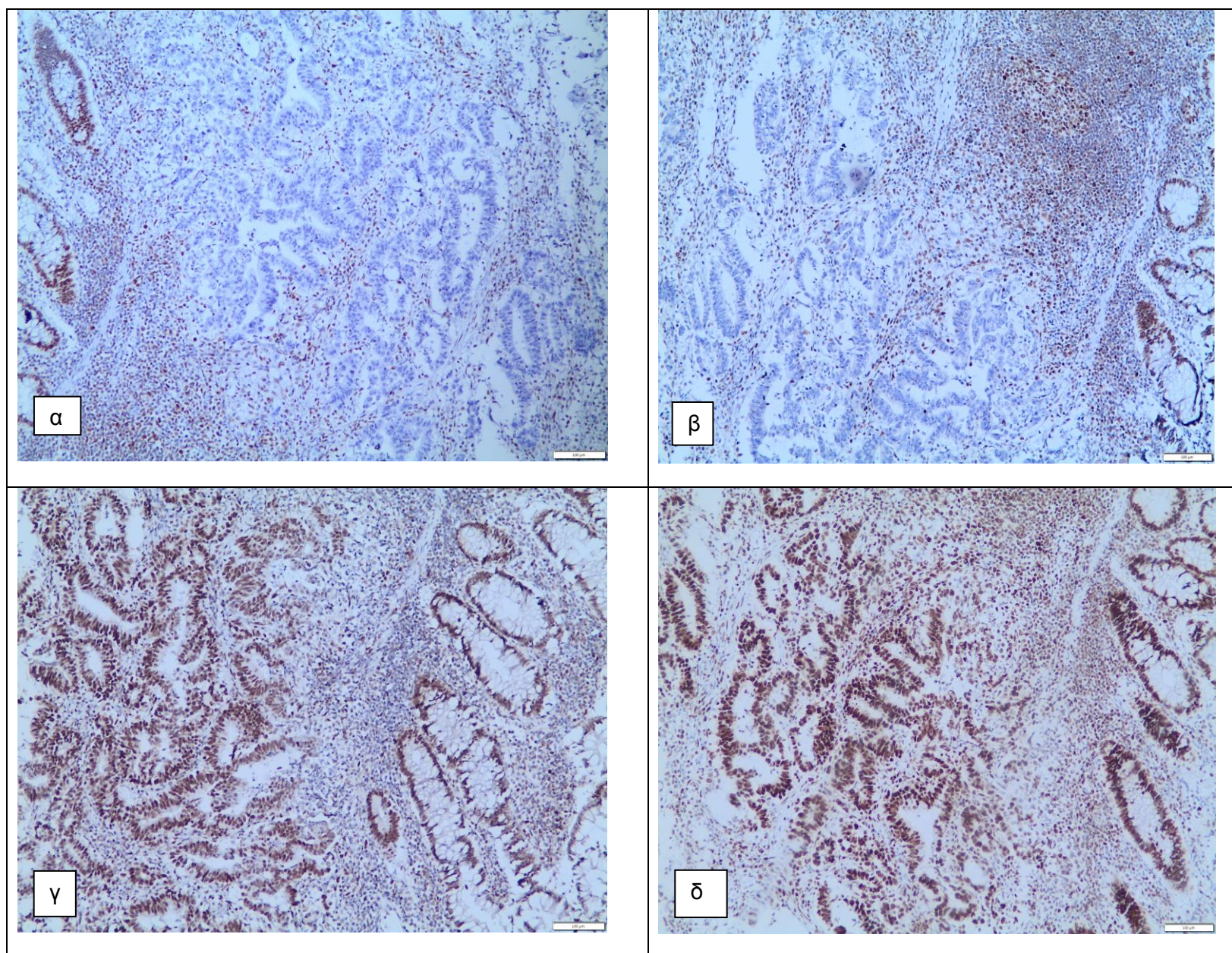
Η **MSI** ανιχνεύθηκε στο 11,5% (18 από 157 περιπτώσεις χαρακτηρίστηκαν ως μικροδορυφορικά ασταθείς) της μελέτης αυτής (Πίνακας 2).

Πίνακας 2: Μεταβολές στα γονίδια *KRAS*, *BRAF*, *NRAS* και κατάσταση **MSI**

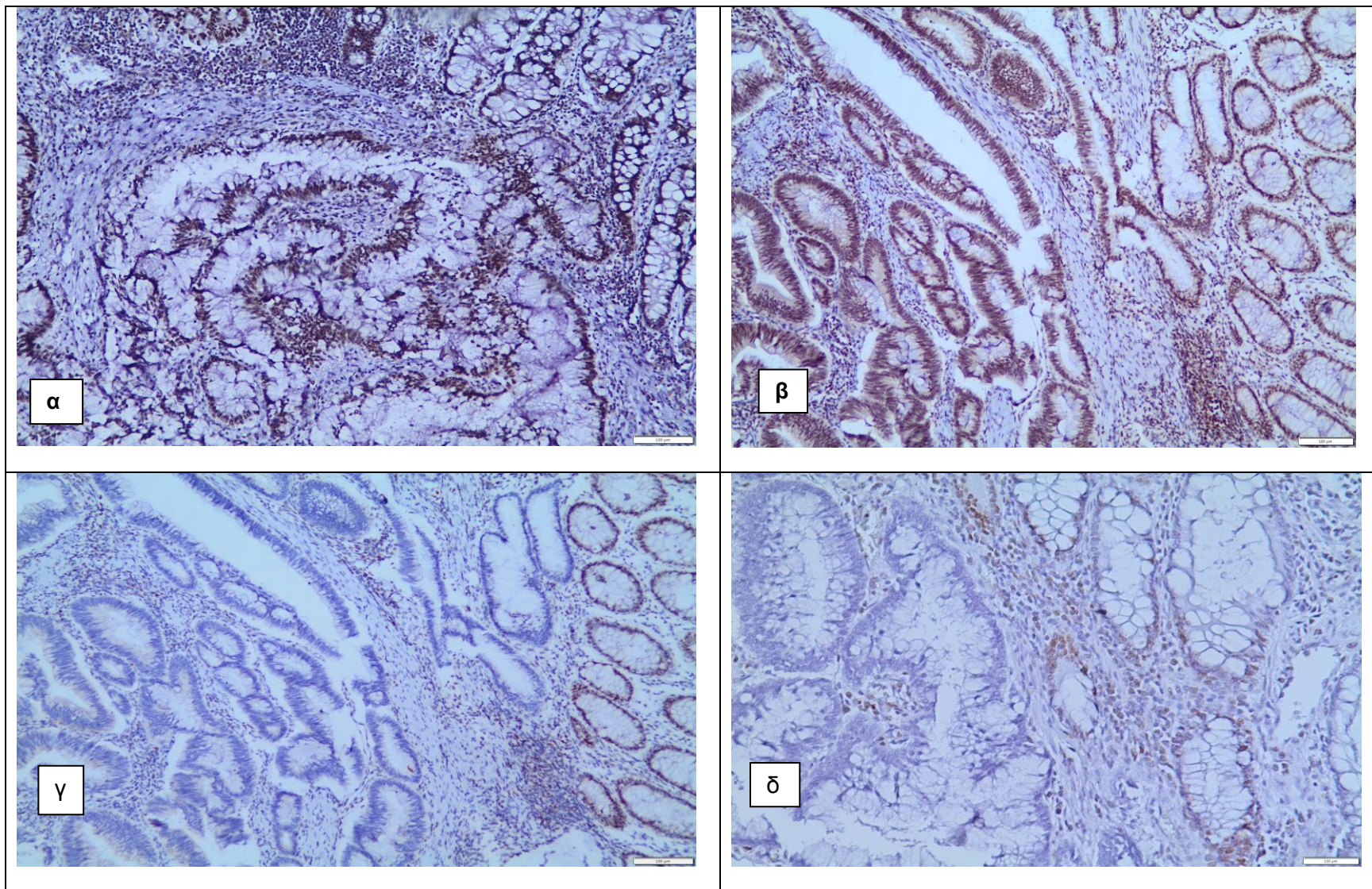
Μοριακή Ανάλυση	Αριθμός	Ποσοστό (%)
MSI Status		
MSI	18	11.5%
MSS	139	88.5%

KRAS		
Μη μεταλλαγμένο	88	60.7%
Μεταλλαγμένο	57	39.3%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 12 περιστατικά		
NRAS		
Μη μεταλλαγμένο	137	95,1%
Μεταλλαγμένο	7	4.9%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 13 περιστατικά		
BRAF		
Μη μεταλλαγμένο	131	89.1%
Μεταλλαγμένο	16	10.9%
Μη διαθέσιμες πληροφορίες για 10 περιστατικά		

Οι περιπτώσεις επιβεβαιώθηκαν περαιτέρω με ανοσοϊστοχημεία για την εντόπιση (έκφραση) των πρωτεϊνών MMR. Δεκαεπτά (17) περιπτώσεις εμφάνισαν απώλεια MLH1 / PMS2 (Εικόνα 2) και μία (1) περίπτωση εμφάνισε απώλεια MSH2 / MSH6 (Εικόνα 3).



Εικόνα 2: Απώλεια της έκφρασης των MLH1 (**α**) και των PMS2 (**β**) και διατήρηση της πυρηνικής έκφρασης των MSH2 (**γ**) και MSH6 (**δ**) πρωτεϊνών στα νεοπλασματικά κύτταρα, με θετικό μάρτυρα τα φλεγμονώδη κύτταρα και τον μη νεοπλασματικό εντερικό βλεννογόνο (x200)



Εικόνα 3: Διατήρηση της έκφρασης των MLH1 (**α**) και των PMS2 (**β**) και απώλεια της πυρηνικής έκφρασης των MSH2 (**γ**) και MSH6 (**δ**) πρωτεϊνών στα νεοπλασματικά κύτταρα, με θετικό μάρτυρα τα φλεγμονώδη κύτταρα και τον μη νεοπλασματικό εντερικό βλεννογόνο (x200).

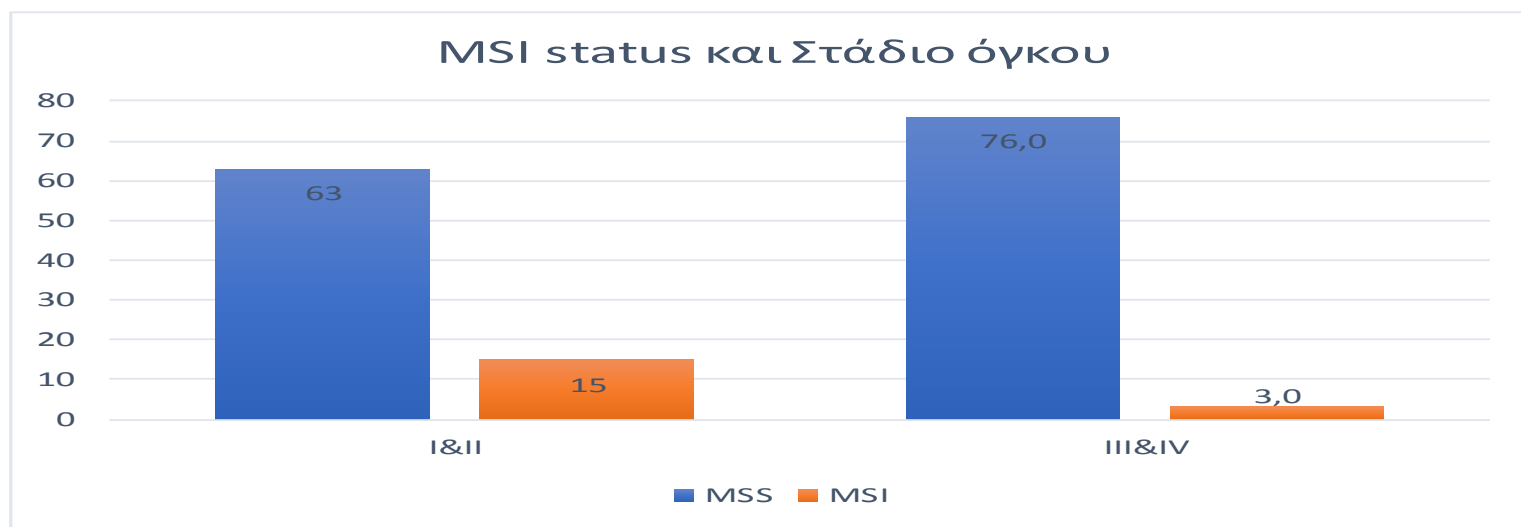
3. Συσχέτιση μεταξύ διαφόρων κλινικοπαθολογικών παραμέτρων

Οι άνδρες ασθενείς παρουσίασαν ΚΠΕ σε νεότερη ηλικία (<67 ετών) σε σύγκριση με τις γυναίκες ασθενείς ($p = 0,021$). Επιπλέον, οι όγκοι αναπτύχθηκαν σε προϋπάρχοντα αδενωματώδη πολύποδα συχνότερα σε γυναίκες από ό, τι στους άνδρες ($p = 0,001$). Δεσμοπλαστική αντίδραση του στρώματος παρατηρήθηκε σημαντικά συχνότερα στους άνδρες σε σύγκριση με τις γυναίκες ($p = 0,007$) και συσχετίστηκε με την παρουσία λεμφοκυττάρων στο καρκίνο TILS ($p < 0,0001$).

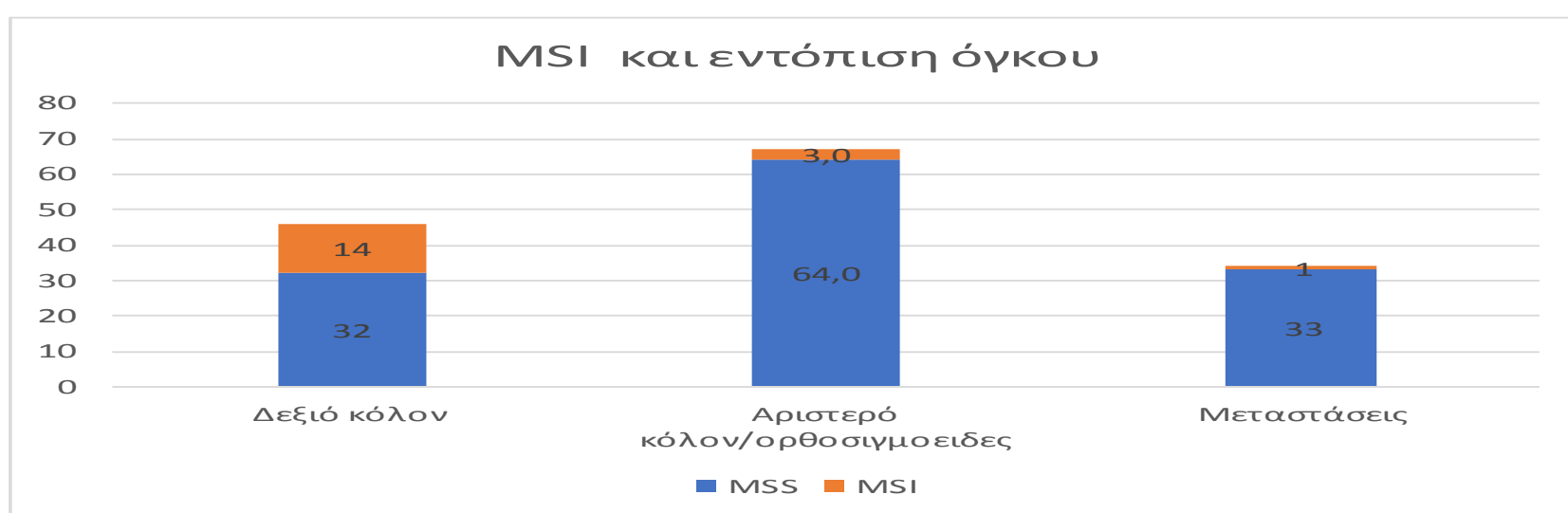
Παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της αγγειακής / λεμφαγγειακής διήθησης και του σταδίου της νόσου. Η παρουσία αγγειακής ή λεμφαγγειακής διήθησης εντοπίστηκε συχνότερα σε προχωρημένα στάδια της νόσου σε σύγκριση με αρχικά στάδια ($p = 0,001$). Η νέκρωση ήταν παρούσα σε υψηλότερο ποσοστό σε όγκους προχωρημένου σταδίου από ότι σε όγκους πρώιμου σταδίου ($p = 0,034$). Μία θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε επίσης μεταξύ νέκρωσης και παρουσίας αγγειακής / λεμφαγγειακής διήθησης ($p = 0,001$). Επιπλέον, η παρουσία αγγειακής / λεμφαγγειακής διήθησης βρέθηκε σε υψηλότερο ποσοστό σε όγκους βαθμού κακοηθείας 3 από ότι στους όγκους με βαθμό κακοηθείας 1 & 2 ($p = 0,003$). Ο βαθμός κακοηθείας σχετίζεται οριακά με το στάδιο ($p = 0,060$) και δεν σχετίζεται με την παρουσία των TILs ($p = 0,029$).

4. Συσχέτιση MSI status με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους

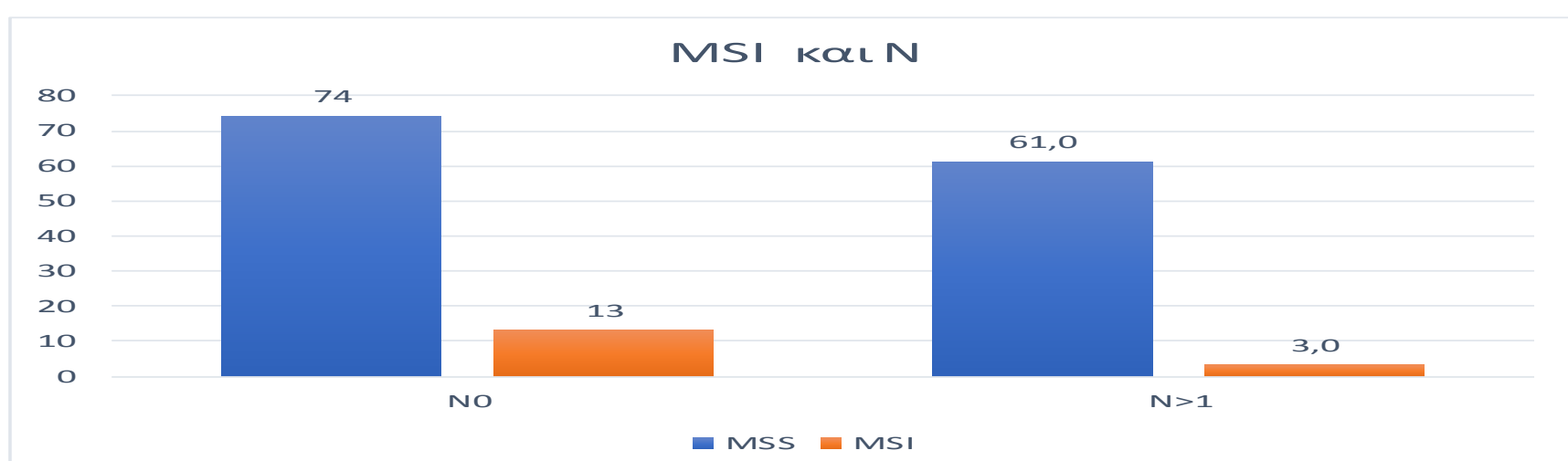
Η MSI συσχετίστηκε αντιστρόφως με το στάδιο ($p = 0,002$). Συγκεκριμένα, οι όγκοι πρώιμου σταδίου εμφάνισαν MSI με συχνότητα 19,2% (15 από τους 78 σταδίου I & II) σε σύγκριση με τους όγκους προχωρημένου σταδίου (MSI 9,1%, 3 από 79 σταδίου III & IV) (Εικόνα 4). Η MSI συσχετίστηκε με τη θέση του όγκου, έτσι ώστε οι MSI θετικοί όγκοι εμφανίζονται συνηθέστερα στο δεξιό κόλον ($p < 0,0001$) (Εικόνα 5). Επιπλέον, η MSI συσχετίστηκε αρνητικά με τη μεταστατική διήθηση σε λεμφαδένες N ($p = 0,043$) (Εικόνα 6).



Εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση της σχέσης MSI status με το στάδιο του όγκου.



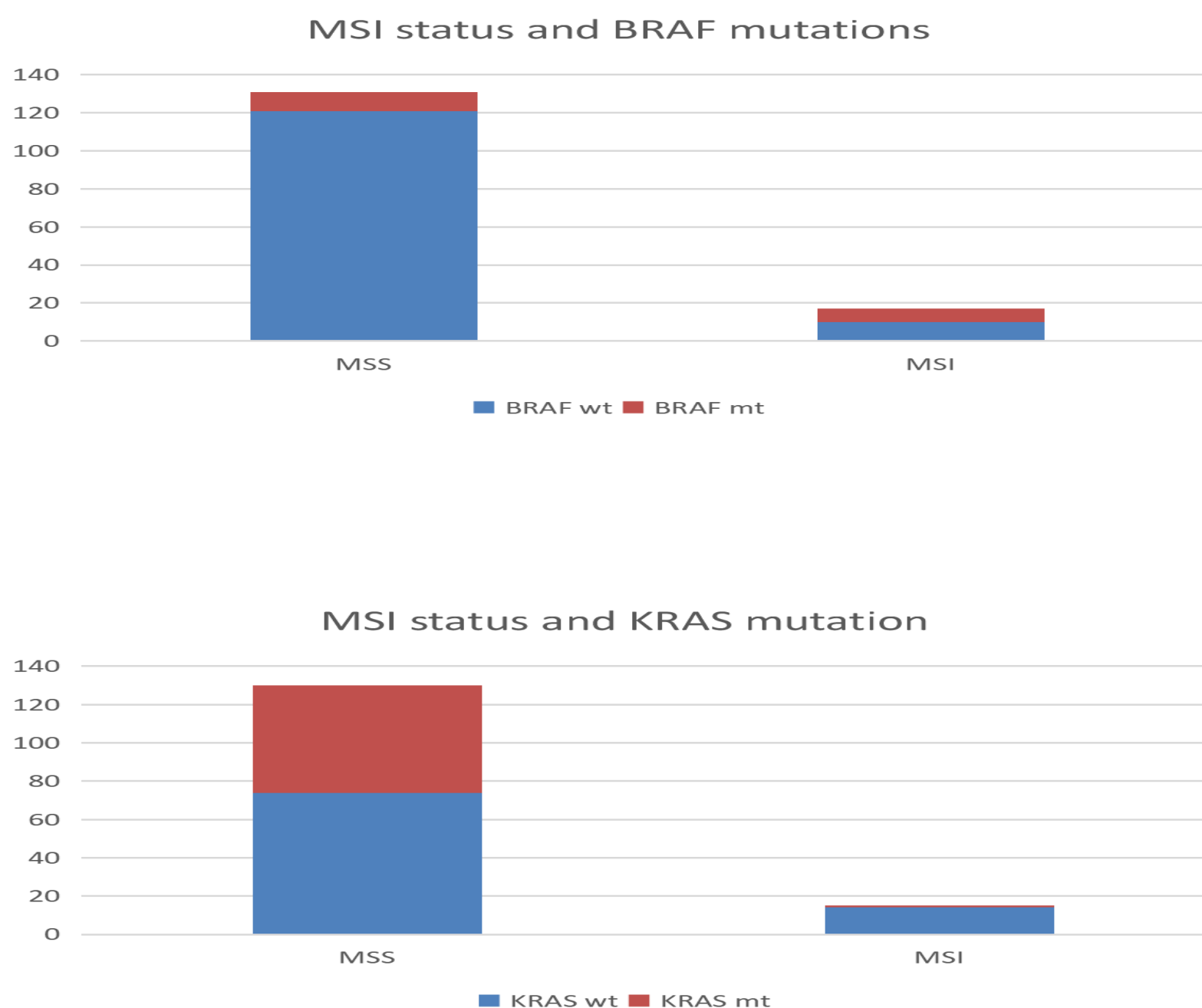
Εικόνα 5: Σχηματική απεικόνιση της σχέσης MSI status με την εντόπιση του όγκου.



Εικόνα 6: Σχηματική απεικόνιση της σχέσης MSI status με την παρουσία διηθημένων λεμφαδένων.

5. Συσχέτιση MSI status με τις μοριακές αλλαγές

Οι όγκοι με MSI συσχετίστηκαν θετικά με την παρουσία μετάλλαξης στο BRAF ($p < 0,0001$) (Εικόνα 7α), ενώ συσχετίστηκαν αρνητικά με τις μεταλλάξεις KRAS ($p < 0,006$) (Εικόνα 7β).

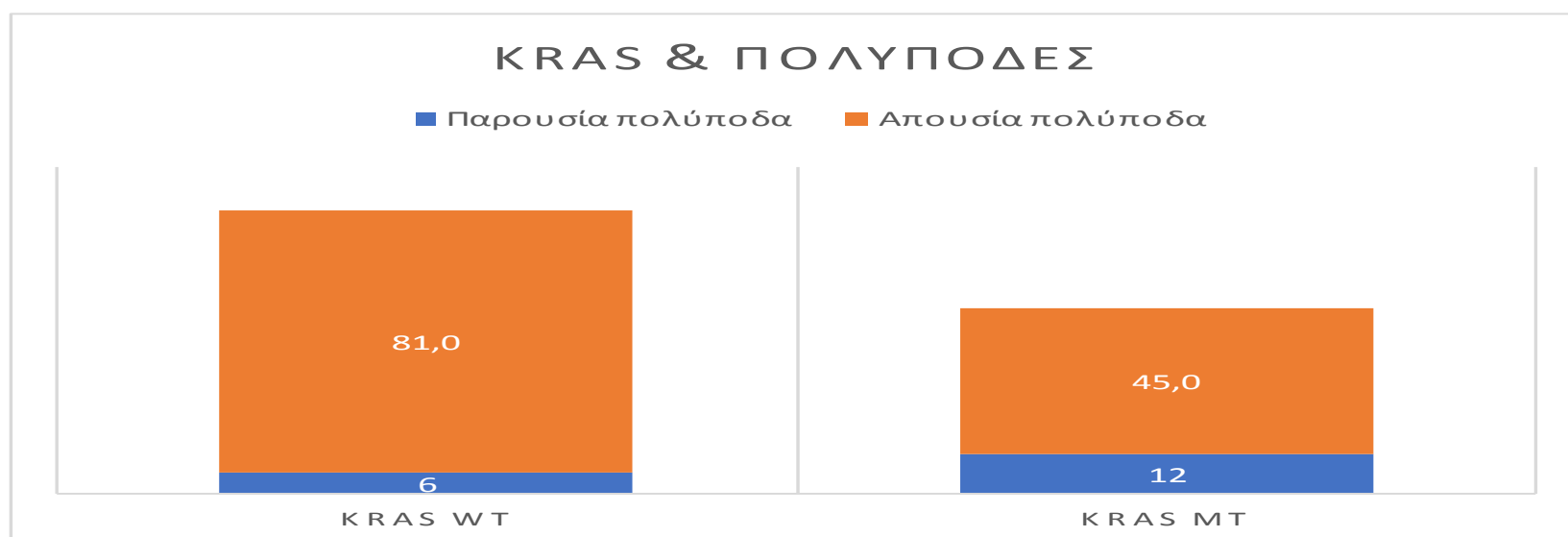


Εικόνα 7: Σχηματική απεικόνιση της σχέσης της MSI με την παρουσία μεταλλάξεων στα γονίδια BRAF(α) και KRAS (β).

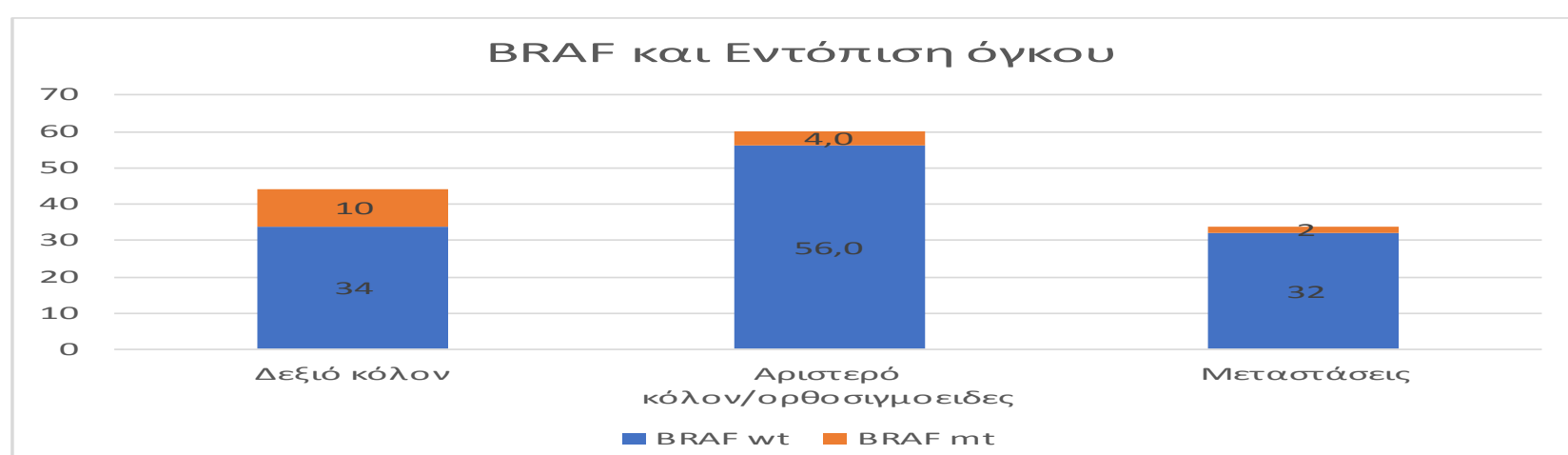
6. Συσχέτιση των μοριακών μεταβολών (KRAS / NRAS, BRAF μεταλλάξεις) με τα κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά

Οι όγκοι που αναπτύσσονται σε προϋπάρχοντα αδενωματώδη πολύποδα εμφάνισαν μεταλλάξεις KRAS σε υψηλότερη συχνότητα ($p = 0,012$) (Εικόνα 8).

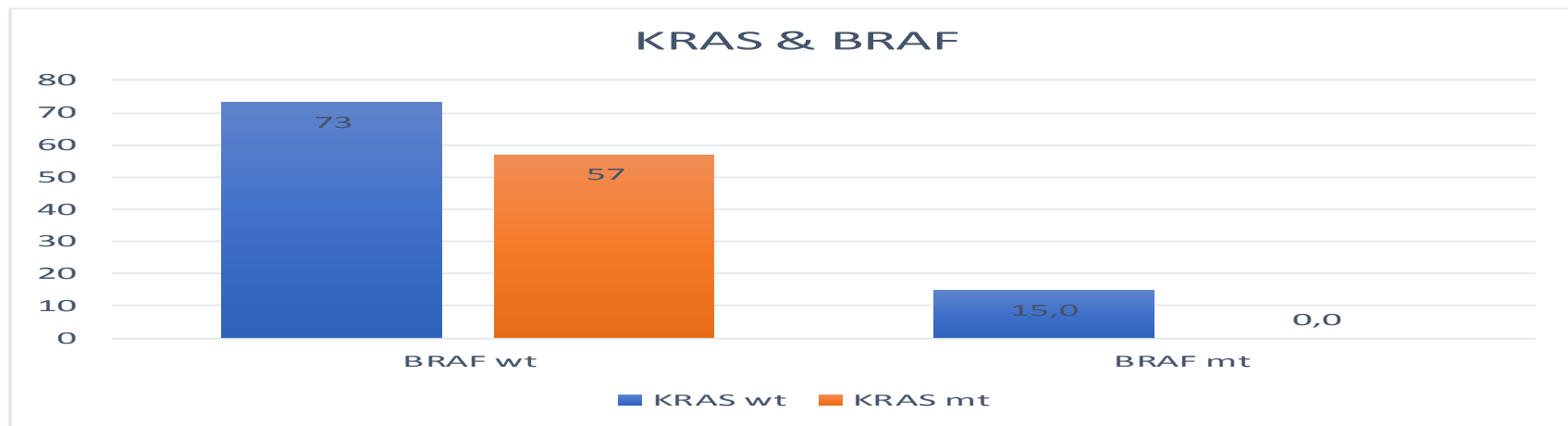
Οι μεταλλάξεις BRAF συναντήθηκαν συχνότερα σε όγκους που εμφανίζονται στο δεξιό κόλον ($p = 0,020$) (Εικόνα 9). Τέλος, οι μεταλλάξεις KRAS και οι μεταλλάξεις BRAF ήταν αμοιβαία αποκλειόμενες ($p = 0,001$) (Εικόνα 10).



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση της σχέσης KRAS με την ανάπτυξη του όγκου σε έδαφος πολύποδα



Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση της συσχέτισης των μεταλλάξεων BRAF με την εντόπιση του όγκου.



Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση της συσχέτισης των μεταλλάξεων KRAS με τις μεταλλάξεις του BRAF

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη του κλινικοπαθολογοανατομικού και μοριακού προφίλ μιας σειράς 157 ασθενών με ΚΠΕ.

Συγκεκριμένα, αναλύσαμε ποικιλία κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ΚΠΕ ελληνικής καταγωγής. Ειδικότερα, συγκεντρώθηκαν πληροφορίες όπως το φύλο, η ηλικία, το παθολογοανατομικό στάδιο και τον βαθμός κακοήθειας, η εντόπιση του όγκου στο παχύ έντερο, οι KRAS, NRAS, BRAF μεταλλάξεις, η παρουσία MSI και άλλα ιστολογικά ευρήματα όπως η διήθηση αγγείων, μορφολογικά χαρακτηριστικά εξέλκωσης και νέκρωσης, η αναφορά στην ιστολογική έκθεση ανάπτυξης του όγκου σε έδαφος αδενωματώδους πολύποδα καθώς και η σοβαρή, μέτρια ή ήπια λεμφοκυτταρική και δεσμοπλαστική αντίδραση του στρώματος.

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ηλικιακές ομάδες αυτούς που ήταν πάνω και κάτω από 67 ετών. Το ηλικιακό όριο 67 δόθηκε σύμφωνα με το γενικό όριο ηλικίας συνταξιοδότησης στην Ελλάδα. Οι ασθενείς με ΚΠΕ ηλικίας κάτω των 67 ετών έτειναν να είναι πιο συχνά άνδρες από ότι γυναίκες. Οι ασθενείς που ανήκαν στην ομάδα μεγαλύτερης ηλικίας (>67 έτη) δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το φύλο και την εμφάνιση ΚΠΕ (ίδιο ποσοστό μεταξύ ανδρών και γυναικών). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν παρουσιαστεί από τους Abotchie et al που διερεύνησαν 373.956 ασθενείς για πάνω από 40 χρόνια από το 1975 έως το 2006 στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και έδειξαν ότι η συχνότητα εμφάνισης ΚΠΕ ήταν υψηλότερη στους άνδρες από ότι στις γυναίκες, ιδιαίτερα σε ασθενείς ηλικίας κάτω των 60 ετών (Peter N. Abotchie et al. 2012). Στη συγκεκριμένη μελέτη, οι ασθενείς είχαν διαφορετική φυλετική ή εθνοτική καταγωγή, διαφορετική μόρφωση, κοινωνική θέση και καταναλωτικές συνήθειες σε αντίθεση με τη δική μας μελέτη όπου οι ασθενείς εμφάνιζαν δύο βασικά κοινά χαρακτηριστικά, ελληνική καταγωγή και επέμβαση η οποία είχε πραγματοποιηθεί στο Εθνικό Σύστημα Υγείας.

Τα ευρήματά μας δεν επιβεβαιώνουν διαφορές μεταξύ των δύο φύλων και της ηλικίας των Ελλήνων ασθενών με ΚΠΕ όσον αφορά στις μεταλλάξεις KRAS,

BRAF και τον φαινότυπο MSI. Αυτό συμφωνεί και με τις αναφορές που έχουν γίνει για Αμερικανούς και Ευρωπαίους (Ολλανδούς) ασθενείς οι οποίοι δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές σχέσεις μεταξύ μεταλλάξεων KRAS και φύλου ή ηλικίας (Samowitz WS et al. 2000, Brink M et al. 2003). Όπως και στη μελέτη μας, οι μεταλλάξεις του KRAS αφορούν κυρίως στο κωδικόνιο 12 με συχνότερες μεταλλάξεις να είναι G>A και G>T. Από την άλλη πλευρά, τέσσερις διαφορετικές ερευνητικές ομάδες στις οποίες μελέτησαν Κινέζους ασθενείς αναφέρουν συσχέτισμό μεταξύ μεταλλάξεων KRAS και φύλου, αλλά όχι ηλικίας (Liou JM et al. 2011, Shen H et al. 2011), ενώ οι Gao et al παρατήρησαν συσχετισμούς μεταξύ μεταλλάξεων KRAS και φύλου, ηλικίας καθώς και διαφοροποίησης του όγκου (Gao J et al. 2012). Συγκεκριμένα στην τελευταία μελέτη οι μεταλλάξεις του KRAS ήταν σημαντικά αυξημένες στις γυναίκες και σε καλής διαφοροποίησης όγκους που εντοπίζονται στο δεξιό κόλον. Επίσης, η συχνότητα μεταλλάξεων KRAS σε ασθενείς ≥ 65 ετών ήταν υψηλότερη σε σχέση με τους ασθενείς που ήταν <65 ετών. Όσον αφορά στις μεταλλάξεις BRAF και τον φαινότυπο MSI, τα αποτελέσματά μας δεν συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες (Chen D et al. 2014, Hanna MC et al. 2013, Ju-Xiang Ye et al. 2015, Seppala T T et al. 2015), που αναφέρουν συσχέτιση αυτών με το γυναικείο φύλο και ηλικιωμένους ασθενείς. Σε αυτές τις μελέτες, οι γυναίκες εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά MSI και μεταλλάξεων BRAF. Στη μελέτη των Seppala T T et al. που προαναφέρθηκε τα ευρήματα επιβεβαίωσαν ότι το γυναικείο φύλο συσχετίστηκε με την αύξηση της συχνότητας της MSI με την αύξηση της ηλικίας, ενώ στους άνδρες η συχνότητα της MSI παρέμεινε σταθερή χωρίς αυτό να συσχετίζεται με την αύξηση της ηλικίας (Seppala T T et al. 2015).

Η ανίχνευση των μεταλλάξεων στο KRAS στον ΚΠΕ είναι πολύ σημαντική πληροφορία για τη θεραπευτική προσέγγιση. Το γονίδιο του KRAS, το οποίο έχει μελετηθεί εκτενώς για περισσότερες από τρεις δεκαετίες, έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας ισχυρός αρνητικός προγνωστικός δείκτης, που δηλώνει εάν ένας ασθενής με ΚΠΕ θα ανταποκριθεί στη θεραπεία αντι-EGFR. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθενείς με ΚΠΕ και μεταλλάξεις στο KRAS αποτυγχάνουν να ανταποκριθούν επαρκώς στους παράγοντες αντι-EGFR, που αποτελούν σημαντικό θεραπευτικό στόχο για τον ΚΠΕ, παρουσιάζοντας σοβαρές παρενέργειες (Allegra CJ et al. 2009). Κατά συνέπεια, η εξέταση των μεταλλάξεων KRAS είναι επιτακτική για τη σωστή θεραπεία των ασθενών με ΚΠΕ. Δυστυχώς, οι μεταλλάξεις KRAS αντιπροσωπεύουν περίπου το 35% των

ασθενών που δεν ανταποκρίνονται και λαμβάνουν θεραπεία κατά του EGFR. Επομένως, η χρήση του KRAS ως προγνωστικού παράγοντα κλινικών αποτελεσμάτων δεν είναι πάντα χρήσιμη. Για το λόγο αυτό οι ερευνητές συνέχισαν να μελετούν τους άλλους μοριακούς μηχανισμούς της αντίστασης αντι-EGFR φαρμάκων όπως του cetuximab και του panitumumab για να βρουν άλλους ισχυρούς προγνωστικούς δείκτες. Το BRAF, το οποίο είναι ένα άλλο μέλος της σηματοδοτικής οδού MAPK το οποίο βρίσκεται στη συνέχεια του KRAS, θεωρείται από τους Cong Tan και Xiang Du, εκτός από τη μελέτη της μετάλλαξης του γονίδιο KRAS, ο πιο κατάλληλος δείκτης για την πρόβλεψη αντοχής όσον αφορά τη θεραπεία αντι-EGFR (Εικόνα 4.2) (Cong Tan and Xiang Du, 2012).

Στη μελέτη μας, το ποσοστό μετάλλαξης KRAS ήταν 39,3% παρόμοιο με εκείνο που αναφέρθηκε σε άλλα έθνη όπως στους πληθυσμούς της Ελβετίας, της Ισπανίας, της Τσεχίας, της Βρετανίας, της Κίνας, της Ρωσίας και των ΗΠΑ (Zlobec I et al. 2010, Roth AD et al. 2010, Pérez-Ruiz E et al. 2012, Vasovcak P et al. 2011, Cunningham D et al. 2010, Shen H et al. 2011, Zhu XL et al. 2012, Gao J et al. 2012, Samowitz WS et al. 2000, Yunxia Z et al. 2010, Liou JM et al. 2011, Hsieh LL et al. 2012, Shen H et al. 2011, Yanus GA et al. 2013, Xu XM et al. 2012, Li HT et al. 2011, Molinari F et al. 2011). Καμία συσχέτιση μεταξύ μεταστατικού ΚΠΕ και μετάλλαξης KRAS δεν προσδιορίστηκε στην παρούσα μελέτη. Σε αυτή την ομάδα ασθενών, οι μεταλλάξεις KRAS δεν διέφεραν μεταξύ των δειγμάτων που προέρχονται από διάφορες μεταστατικές θέσεις. Καθώς η στοχευμένη θεραπεία με αντι-EGFR μπορεί να είναι τοξική όπως προαναφέρθηκε, η ανίχνευση της μετάλλαξης KRAS έχει καταστεί απαραίτητος διαγνωστικός παράγοντας για τη θεραπεία ασθενών με μεταστατικό ΚΠΕ. Αυτό το εύρημα είναι σύμφωνο με την τρέχουσα θεραπεία, η οποία αποκλείει τους αντι-EGFR παράγοντες στους ασθενείς σταδίου IV με ΚΠΕ και μεταλλαγμένο KRAS (Cong Tan and Xiang Du, 2012).

Επιπρόσθετα, οι μεταλλαγμένοι όγκοι KRAS σε ελληνίδες ασθενείς με ΚΠΕ έδειξαν μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με προϋπάρχοντα αδενωματώδη πολύποδα. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτή η συσχέτιση δεν αναδείχθηκε στον ανδρικό πληθυσμό. Μετά την ανασκόπηση των παθολογοανατομικών εκθέσεων, δεν ήταν σαφές εάν σε αυτούς τους ασθενείς είχε προηγηθεί κολονοσκόπηση με παρουσία ή όχι πολύποδα, καθώς επίσης δεν υπήρχε αναφορά στο ιστορικό των ασθενών για την αφαίρεση πολυπόδων σε προηγούμενους ελέγχους ή στα πλαίσια

παρακολούθησης λόγω οικογενειακού ιστορικού ΚΠΕ. Όσον αφορά στην ομάδα των γυναικών, τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με ευρήματα δύο μελετών, μία από την Ισπανία και η άλλη από το Ηνωμένο Βασίλειο, όπου οι αδενωματώδεις πολύποδες με μεταλλάξεις KRAS εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης νεοπλασίας (Tsun L. Chan et al. 2003, Wójcik P et al. 2010). Η συσχέτιση του γυναικείου φύλου με προϋπάρχοντα αδενωματώδη πολύποδα μπορεί να συνδέεται με το οδοντωτό μονοπάτι καρκινογένεσης. Στην επαγωγή αυτού του μονοπατιού συμμετέχουν και οι μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS όπως προαναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3 (βλέπε κατηγοριοποίηση των ΚΠΕ, τύπος 4, Μονοπάτι του οδοντωτού ΚΠΕ).

Ένα ευρέως αποδεκτό εύρημα επιβεβαιώθηκε και στη δική μας μελέτη, με τις μεταλλάξεις KRAS και BRAF να είναι αλληλοαποκλειόμενες. Αυτό προκύπτει από αρκετές μελέτες σε διαφορετικές χώρες (Roth AD et al. 2010, Zhu XL et al. 2012, Hanna MC et al. 2013, Umeda Y et al. 2013), ενώ μια μεμονωμένη έρευνα που διεξήχθη σε κινέζους ασθενείς διαπίστωσε συνύπαρξη μεταλλάξεων KRAS και BRAF στο 24% των περιπτώσεων (Ju-Xiang Ye et al. 2015).

Το ποσοστό μεταλλάξεων BRAF στα περιστατικά ΚΠΕ που μελετήσαμε ανέρχεται στο 10,9%, και διαφέρει από αυτό που καταγράφηκε σε μελέτες από τη Ρωσία (4,1%), Ιαπωνία (3%), Ισραήλ (5%) και Κίνα (7%), παρόλο που είναι συγκρίσιμο με αυτό που προκύπτει από τις αμερικανικές και ευρωπαϊκές αναλύσεις (Naguib A et al. 2010, Zlobec I et al. 2010, Rozek LS et al. 2010, 28 Shen H et al. 2011, Liao W et al. 2010, Mao C et al. 2012, Xu XM et al. 2012, Umeda Y et al. 2013, Toon CW et al. 2014, Li HT et al. 2011). Διαφαίνεται, ότι υπάρχουν σημαντικές διακυμάνσεις μεταξύ των διαφόρων εθνοτήτων όσον αφορά τις μεταλλάξεις στο BRAF.

Οι μεταλλάξεις BRAF συσχετίστηκαν επίσης με την εντόπιση του όγκου, παρουσιάζοντας αυξημένη συχνότητα στο δεξιό κόλον, σύμφωνα και με προηγούμενες αναφορές (Chen D et al. 2014, Hanna MC et al. 2013). Από 4007 ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα στο δεξιό κόλον που μελέτησαν οι Chen D et al, 865 (21,6%) ήταν θετικοί στη μετάλλαξη BRAF, σε σύγκριση με μόλις 276 (4,8%) ασθενείς στους 5806 ασθενείς με όγκους στο αριστερό κόλου ή το ορθού.

Επιπλέον, οι όγκοι MSI εμφανίζουν θετική συσχέτιση με τις μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF. Στην πρόσφατη βιβλιογραφία, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF συνδέονται με σποραδικό MSI ΚΠΕ, ενώ σπάνια συμβαίνουν σε κληρονομικό μη πολυποειδικό καρκίνο του παχέος εντέρου (HNPCC) - σύνδρομο Lynch (Phipps

Allet al. 2012, Parsons M Tet al. 2012). Η θεωρία που ερμηνεύει αυτή τη συσχέτιση βασίζεται στο γεγονός ότι ενώ τα ΚΠΕ που σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch προκύπτουν από αδενώματα, οι σποραδικοί όγκοι dMMR προκύπτουν από άμισχους οδοντωτούς πολύποδες, στους περισσότερους από τους οποίους βρέθηκαν μετάλλαξεις στο γονίδιο BRAF.

Στην παρούσα μελέτη προκύπτει ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ MSI και μετάστασης σε λεμφαδένες καθώς η πλειονότητα των ασθενών που είχαν MSI δεν εμφάνισαν διηθημένους λεμφαδένες. Η συσχέτιση μεταξύ MSI, DFS (επιβίωση ελεύθερη νόσου), OS (συνολική επιβίωση) και συμμετοχής λεμφαδένων έχει μελετηθεί σε προηγούμενες εργασίες που αναφέρουν ότι μεγαλύτερος αριθμός αρνητικών λεμφαδένων συσχετίζεται με παρουσία MSI (San-Gang Wu et al. 2015).

Τα MSI θετικά ΚΠΕ πρώιμου σταδίου παρουσιάζουν μια ευνοϊκότερη πρόγνωση (Ribic CM et al. 2003, Guastadisegni C et al. 2010, Malesci A et al. 2007, Muller CI et al. 2008, Tikidzhieva A et al. 2012). Δεν ανιχνεύθηκε σημαντική διαφορά στο OS μεταξύ ασθενών με MSI και MSS ΚΠΕ, ανεξάρτητα από το χειμειοθεραπευτικό σχήμα που εφαρμόστηκε. Αντίθετα ο χρόνος υποτροπής των ασθενών ήταν εντελώς διαφορετικός στα MSI σε σύγκριση με τα MSS ΚΠΕ. Ο κίνδυνος υποτροπής ήταν χαμηλότερος για ασθενείς με MSI, ιδιαίτερα για την περίοδο που αφορά τους πρώτους 12 μήνες μετά τη χειρουργική επέμβαση. Τα επεισόδια υποτροπής, στην υποομάδα με MSI θετικά ΚΠΕ ήταν περιορισμένα και μόνο στους πρώτους 12 μήνες μετά από τη χειρουργική αφαίρεση του όγκου. Πιθανολογείται ότι αυτό συμβαίνει λόγω αυξημένης ανοσοανταπόκρισης σε αυτούς τους όγκους (Tikidzhieva A et al. 2012).

Τα MSI ΚΠΕ έχουν διακριτά κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά σε σύγκριση με τα MSS ΚΠΕ. Στις αναλύσεις μας η συχνότητα παρουσίας MSI κυμαίνεται στο 11,5%. Σε άλλες δυτικές χώρες αυτή η συχνότητα κυμαίνεται από το 15 έως το 20% (Naguib A et al., 2010, Zlobec I et al. 2010, Kim GP et al. 2007, Sinicrope FA et al. 2012, Vasovcak P et al. 2011, Ribic CM et al. 2003, Sargent DJ et al. 2010). Στον κινεζικό πληθυσμό οι συχνότητες των MSI θετικών ΚΠΕ, που εμφανίζουν τουλάχιστον δύο ή περισσότερους δείκτες μικροδορυφορικής αστάθειας, ήταν 11,9-13% (Naguib A et al. 2010, Zlobec I et al. 2010, Kim GP et al. 2007, Sinicrope FA et al. 2012, Sinicrope FA et al. 2011, Roth AD et al. 2010, Tie J, Gibbs P, 2011). Οι ίδιες αναφορές έδειξαν ότι οι MSI θετικοί όγκοι παρατηρήθηκαν συχνότερα στο στάδιο II και όχι σε νόσο σταδίου

III. Σε μελέτες με βάση τον πληθυσμό, η συχνότητα της MSI στους ασθενείς με ΚΠΕ είναι περίπου 15% και είναι πιο συχνή στο στάδιο II σε σύγκριση με το στάδιο III ή σε διαφορετικά στάδια ΚΠΕ στα οποία παρατηρούνται θετικοί λεμφαδένες. Ο φαινότυπος του MSI δεν αναγνωρίζεται στο στάδιο IV ή σε μεταστατικά ΚΠΕ. Στην παρούσα μελέτη βρήκαμε παρόμοια συσχέτιση μεταξύ MSI και σταδίου στον ελληνικό πληθυσμό, έτσι ώστε τα πρώιμα στάδια (I / II) ήταν συχνότερα θετικά από τα όψιμα στάδια (III / IV) (19,2% έναντι 9%). Σε ασθενείς με ΚΠΕ σταδίου II που εμφανίζουν MSI προτείνεται να μην λαμβάνουν 5-FU ως επικουρική θεραπεία, δεδομένης της ευνοϊκής πρόγνωσής τους και της έλλειψης ανταπόκρισης στο χημειοθεραπευτικό σχήμα με 5-FU.

Η παρούσα μελέτη ανέλυσε τη μεγαλύτερη σειρά Ελλήνων ασθενών με ΚΠΕ αναφορικά με τον προσδιορισμό της MSI με μοριακή εξέταση η οποία είναι η άμεση απόδειξη της παρουσίας MSI. Επίσης, πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημεία MMR σε ασθενείς θετικούς για MSI για τον προσδιορισμό του συγκεκριμένου γονιδίου που είναι υπεύθυνο για MSI μέσω της απώλειας της αντίστοιχης MMR πρωτεΐνης (Funkhouser WK et al. 2012). Η ταυτόχρονη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων MSI, της ανοσοϊστοχημικής διερεύνησης των πρωτεϊνών MMR καθώς και της BRAF μετάλλαξης θεωρείται επαρκής για την ανίχνευση σχεδόν όλων των dMMR ΚΠΕ σε ποσοστό 94%. Το υπόλοιπο ποσοστό των dMMR χρήζει περαιτέρω γενετικής ανάλυσης.

Τα MSI θετικά ΚΠΕ στα δείγματα μας είχαν ισχυρή συσχέτιση με τη εντόπιση στο παχύ έντερο και συγκεκριμένα το 77,8% των MSI θετικών ΚΠΕ εντοπίζονταν στο δεξιό κόλον σε συμφωνία με τις περισσότερες προηγούμενες έρευνες (Setaffy L and Langner C, 2015). Σε αυτές τις μελέτες, οι όγκοι με αυξημένα επίπεδα TILs εμφάνιζαν MSI υποδηλώνοντας ότι η MSI θα μπορούσε να οδηγήσει στο σχηματισμό νέων επιτόπων υπεύθυνων για την ενεργοποίηση της ανοσολογικής διέγερσης. Στην ερμηνεία αυτή βασίζεται η πρόσφατη χρήση αναστολέων PD-1 στους θετικούς ως προς το MSI ΚΠΕ (Dudley JC et al. 2016). Κυρίως, βρέθηκε ότι οι όγκοι με MSI είχαν σημαντική υπερέκφραση των πρωτεϊνών PD-1 και PD-L1. Στον ΚΠΕ με MSI, η έκφραση του υποδοχέα PD-L1 φαίνεται να μην βρίσκεται στα καρκινικά κύτταρα, αλλά σε λεμφοκύτταρα και ή σε άλλα κύτταρα της μυελικής σειράς. Οι Dudley et al. αναφέρουν μια κλινική μελέτη η οποία έδειξε τη χρησιμότητα του προσδιορισμού της MSI ως προγνωστικού δείκτη για την ανταπόκριση σε θεραπείες με τη χρήση αναστολέων PD-1 σε ασθενείς με καρκίνο σταδίου IV. Στη συγκεκριμένη μελέτη

το δείγμα αφορούσε 11 ασθενείς με dMMR ΚΠΕ, 21 με pMMR ΚΠΕ, και 9 διαφορετικά dMMR καρκινώματα (4 χολαγγειοκαρκινώματα, 2 καρκινώματα ενδομητρίου, 2 καρκινώματα του λεπτού εντέρου και 1 γαστρικό καρκίνωμα). Οι ασθενείς ήταν σταδίου IV και είχαν λάβει προηγούμενα θεραπευτικά σχήματα, που είχαν αποτύχει να ελέγξουν τη νόσο. Αντιμετωπίστηκαν με pembrolizumab, ένα αντι-PD-1 αντίσωμα. Η MSI ήταν ένας σημαντικός προγνωστικός δείκτης του ποσοστού ανταπόκρισης που σχετίζεται με το ανοσορρυθμιστικό φάρμακο (40% στον dMMR ΚΠΕ, 71% στα dMMR καρκινώματα έκτος του παχέος εντέρου, 0% στον pMMR ΚΠΕ) και επίσης το ποσοστό επιβίωσης στην συγκεκριμένη μελέτη ήταν 78 %, 67% και 11%, αντίστοιχα.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη καταδεικνύει τη συχνότητα των μοριακών δεικτών MSI, KRAS, NRAS, BRAF σε ασθενείς με ΚΠΕ. Στην Ελλάδα, όπως και σε άλλες χώρες, οι άνδρες ασθενείς εμφανίζουν νωρίτερα τη νόσο σε σύγκριση με τις γυναίκες. Οι θετικοί όγκοι MSI εμφανίζονται συχνότερα στο δεξιό κόλον, είναι ελεύθεροι λεμφαδενικών μεταστάσεων, KRAS μη μεταλλαγμένοι και φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο BRAF. Αξιολόγηση επιπρόσθετων επιδημιολογικών δεδομένων απαιτείται προκειμένου να καθοριστεί η γεωγραφική και εθνική μεταβλητότητα σε ασθενείς με ΚΠΕ. Η παροχή περισσότερων κλινικοπαθολογοανατομικών και μοριακών πληροφοριών για συγκεκριμένους πληθυσμούς καθιστά δυνατή την πιο αποτελεσματική αντιμετώπιση των ασθενών και την εξατομικευμένη θεραπεία τους στο μέλλον.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aarnio, M., Sankila, R., Pukkala, E., Salovaara, R., Aaltonen, L.A., de la Chapelle, A., Peltomaki, P., Mecklin, J.P., Jarvinen, H.J., 1999. Cancer risk in mutation carriers of DNA-mismatch-repair genes. *Int. J. Cancer* 81 (2), 214–218.

Aarnio, M., Sankila, R., Pukkala, E., Salovaara, R., Aaltonen, L.A., de la Chapelle, A., Peltomaki, P., Mecklin, J.P., Jarvinen, H.J., 1999. Cancer risk in mutation carriers of DNA-mismatch-repair genes. *Int. J. Cancer* 81 (2), 214–218.

Abdel-Rahman, W.M., Mecklin, J.P., Peltomaki, P., 2006. The genetics of HNPCC: application to diagnosis and screening. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 58 (3), 208–220.

Abdel-Rahman, W.M., Mecklin, J.P., Peltomaki, P., 2006. The genetics of HNPCC: application to diagnosis and screening. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 58 (3), 208–220.

Adackapara, C.A., Sholl, L.M., Barletta, J.A., Hornick, J.L., 2013. Immunohistochemistry using the BRAF V600E mutation-specific monoclonal antibody VE1 is not a useful surrogate for genotyping in colorectal adenocarcinoma. *Histopathology* 63 (2), 187–193.

Adam, R., Spier, I., Zhao, B., Kloth, M., Marquez, J., Hinrichsen, I., Kirfel, J., Tafazzoli, A., Horpaopan, S., Uhlhaas, S., Stienen, D., Friedrichs, N., Altmuller, J., Laner, A., Holzapfel, S., Peters, S., Kayser, K., Thiele, H., Holinski-Feder, E., Marra, G., Kristiansen, G., Nothen, M.M., Buttner, R., Moslein, G., Betz, R.C., Brieger, A., Lifton, R.P., Aretz, S., 2016. Exome sequencing identifies biallelic MSH3 germline mutations as a recessive subtype of colorectal adenomatous polyposis. *Am. J. Hum. Genet.* 99 (2), 337–351.

Adam, R., Spier, I., Zhao, B., Kloth, M., Marquez, J., Hinrichsen, I., Kirfel, J., Tafazzoli, A., Horpaopan, S., Uhlhaas, S., Stienen, D., Friedrichs, N., Altmuller,

J., Laner, A.,Holzapfel, S., Peters, S., Kayser, K., Thiele, H., Holinski-Feder, E., Marra, G.,Kristiansen, G., Nothen, M.M., Buttner, R., Moslein, G., Betz, R.C., Brieger, A.,Lifton, R.P., Aretz, S., 2016. Exome sequencing identifies biallelic MSH3germline mutations as a recessive subtype of colorectal adenomatouspolyposis. *Am. J. Hum. Genet.* 99 (2), 337–351.

Affolter, K., Samowitz, W., Tripp, S., Bronner, M.P., 2013. BRAF V600E mutationdetection by immunohistochemistry in colorectal carcinoma. *GenesChromosomes Cancer* 52 (8), 748–752.

Akkoma AN, Yanik S, Ozdemir ZT, Cihan FG, Sayar S, Cincin TG, Cam A, Ozer C. (2014) TNM and Mofified Dukes staging along with the demographic characteristics of patiens with colorectal carcinoma *Int J Clin Exp Med* 7(9):2828-2835.

Alberts, S.R., Sargent, D.J., Nair, S., Mahoney, M.R., Mooney, M., Thibodeau, S.N.,Smyrk, T.C., Sinicrope, F.A., Chan, E., Gill, S., Kahlenberg, M.S., Shields, A.F.,Quesenberry, J.T., Webb, T.A., Farr Jr., G.H., Pockaj, B.A., Grothey, A., Goldberg,R.M., 2012. Effect of oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or withoutcetuximab on survival among patients with resected stage III colon cancer: arandomized trial. *JAMA* 307 (13), 1383–1393.

Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, Hammond EH, Hayes DF, McAllister PK, Morton RF, Schilsky RL., 2009. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2091-2096

Allegra, C.J., Yothers, G., O’Connell, M.J., Sharif, S., Petrelli, N.J., Colangelo, L.H.,Atkins, J.N., Seay, T.E., Fehrenbacher, L., Goldberg, R.M., O’Reilly, S., Chu, L.,Azar, C.A., Lopa, S., Wolmark, N., 2011. Phase III trial assessing bevacizumab instages II and III carcinoma of the colon: results of NSABP protocol C-08. *J. Clin.Oncol.* 29 (1), 11–16.

American Cancer Society (2011) Colorectal Cancer Facts & Figures 2011-2013.

www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/colorectal-cancer-facts-and-figures/colorectal-cancer-facts-and-figures-2011-2013.pdf

Andre, T., Colin, P., Louvet, C., Gamelin, E., Bouche, O., Achille, E., Colbert, N., Boaziz, C., Piedbois, P., Tubiana-Mathieu, N., Boutan-Laroze, A., Flesch, M., Buyse, M., deGramont, A., 2003. Semimonthly versus monthly regimen of fluorouracil and leucovorin administered for 24 or 36 weeks as adjuvant therapy in stage II and III colon cancer: results of a randomized trial. *J. Clin. Oncol.* 21 (15), 2896–2903.

Andre, T., de Gramont, A., Vernerey, D., Chibaudel, B., Bonnetain, F., Tijeras-Raballand, A., Scriver, A., Hickish, T., Tabernero, J., Van Laethem, J.L., Banzi, M., Maartense, E., Shmueli, E., Carlsson, G.U., Scheithauer, W., Papamichael, D., Moehler, M., Landolfi, S., Demetter, P., Colote, S., Tournigand, C., Louvet, C., Duval, A., Flejou, J.F., de Gramont, A., 2015. Adjuvant fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin in stage II to III colon cancer: updated 10-Year survival and outcomes according to BRAF mutation and mismatch repair status of the MOSAIC study. *J. Clin. Oncol.* 33 (35), 4176–4187.

Aspinall RJ, Taylor-Robinson S. *Mosby's Color Atlas and Text of Gastroenterology and Liver Disease*, 1e by Richard J. Aspinall. Mosby; 2001.

Auranen, A., Joutsiniemi, T., 2011. A systematic review of gynecological cancer surveillance in women belonging to hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) families. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 90 (5), 437–444.

Banerjee, A., Ahmed, S., Hands, R.E., Huang, F., Han, X., Shaw, P.M., Feakins, R., Bustin, S.A., Dorudi, S., 2004. Colorectal cancers with microsatellite instability display mRNA expression signatures characteristic of increased immunogenicity. *Mol. Cancer* 3, 21.

Barnetson, R.A., Tenesa, A., Farrington, S.M., Nicholl, I.D., Cetnarskyj, R., Porteous, M.E., Campbell, H., Dunlop, M.G., 2006. Identification and survival of carriers of mutations in DNA mismatch-repair genes in colon cancer. *N. Engl. J. Med.* 354(26), 2751–2763.

Beamer, L.C., Grant, M.L., Espenschied, C.R., Blazer, K.R., Hampel, H.L., Weitzel, J.N., MacDonald, D.J., 2012. Reflex immunohistochemistry and microsatellite instability testing of colorectal tumors for Lynch syndrome among US cancer programs and follow-up of abnormal results. *J. Clin. Oncol.* 30 (10), 1058–1063.

Beamer, L.C., Grant, M.L., Espenschied, C.R., Blazer, K.R., Hampel, H.L., Weitzel, J.N., MacDonald, D.J., 2012. Reflex immunohistochemistry and microsatellite instability testing of colorectal tumors for Lynch syndrome among US cancer programs and follow-up of abnormal results. *J. Clin. Oncol.* 30 (10), 1058–1063.

Benatti, P., Gafa, R., Barana, D., Marino, M., Scarselli, A., Pedroni, M., Maestri, I., Guerzoni, L., Roncucci, L., Menigatti, M., Roncari, B., Maffei, S., Rossi, G., Ponti, G., Santini, A., Losi, L., Di Gregorio, C., Oliani, C., Ponz de Leon, M., Lanza, G., 2005. Microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *Clin. Cancer Res.* 11 (23), 8332–8340.

Benatti, P., Gafa, R., Barana, D., Marino, M., Scarselli, A., Pedroni, M., Maestri, I., Guerzoni, L., Roncucci, L., Menigatti, M., Roncari, B., Maffei, S., Rossi, G., Ponti, G., Santini, A., Losi, L., Di Gregorio, C., Oliani, C., Ponz de Leon, M., Lanza, G., 2005. Microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *Clin. Cancer Res.* 11 (23), 8332–8340.

Bertagnolli, M.M., Niedzwiecki, D., Compton, C.C., Hahn, H.P., Hall, M., Damas, B., Jewell, S.D., Mayer, R.J., Goldberg, R.M., Saltz, L.B., Warren, R.S., Redston, M., 2009. Microsatellite instability predicts improved response to adjuvant therapy with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in stage III colon cancer: cancer and Leukemia Group B Protocol 89803. *J. Clin. Oncol.* 27 (11), 1814–1821.

Bertolini, F., Bengala, C., Losi, L., Pagano, M., Iachetta, F., Dealis, C., Jovic, G., Depenni, R., Zironi, S., Falchi, A.M., Luppi, G., Conte, P.F., 2007. Prognostic and predictive value of baseline and posttreatment molecular marker

expression in locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant chemoradiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 68 (5), 1455–1461.

Boland, C.R., Goel, A., 2010. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 138 (6), 2073–2087 (e2073).

Boland, C.R., Shike, M., 2010. Report from the Jerusalem workshop on Lynch syndrome—hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 138(7), e2191–2197 (2197).

Boland CR, Shin SK, Goel A. Promoter methylation in the genesis of gastrointestinal cancer. *Yonsei Med J.* 2009 Jun 30;50(3):309-21. doi: 10.3349/ymj.2009.50.3.309. Epub 2009 Jun 23. Review. PMID:19568590.

Bonadona, V., Bonaiti, B., Olschwang, S., Grandjouan, S., Huiart, L., Longy, M., Guimbaud, R., Buecher, B., Bignon, Y.J., Caron, O., Colas, C., Nogues, C., Lejeune-Dumoulin, S., Olivier-Faivre, L., Polycarpe-Osaer, F., Nguyen, T.D., Desseigne, F., Saurin, J.C., Berthet, P., Leroux, D., Duffour, J., Manouvrier, S., Frebourg, T., Sobol, H., Lasset, C., Bonaiti-Pellie, C., 2011. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *JAMA* 305 (22), 2304–2310.

Boyle P. Langman JS. (2000) ABC of Colorectal Cancer Epidemiology *BMJ* 321 (7264):805-808.

Bray F. Siegel R. (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 68:394–424.

Brierley J. Gospodarowicz M. Wittekind C. (2017) *TNM Classification of Malignant Tumours 8TH Edition* Wiley Blackwell UK.

Brink M, de Goeij AF, Weijenberg MP, Roemen GM, Lentjes MH, Pachen MM, Smits KM, de Bruïne AP, Goldbohm RA, van den Brandt PA: K-ras oncogene mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Carcinogenesis* 24: 703-710, 2003. PMID: 12727799.

Brouquet, A., Mortenson, M.M., Vauthey, J.N., Rodriguez-Bigas, M.A., Overman, M.J., Chang, G.J., Kopetz, S., Garrett, C., Curley, S.A., Abdalla, E.K.,

2010. Surgical strategies for synchronous colorectal liver metastases in 156 consecutive patients: classic, combined or reverse strategy? *J. Am. Coll. Surg.* 210 (6), 934–941.

Bruegl, A.S., Djordjevic, B., Urbauer, D.L., Westin, S.N., Soliman, P.T., Lu, K.H., Luthra, R., Broaddus, R.R., 2014. Utility of MLH1 methylation analysis in the clinical evaluation of Lynch Syndrome in women with endometrial cancer. *Curr. Pharm. Des.* 20 (11), 1655–1663.

Burn, J., Bishop, D.T., Mecklin, J.P., Macrae, F., Moslein, G., Olschwang, S., Bisgaard, M.L., Ramesar, R., Eccles, D., Maher, E.R., Bertario, L., Jarvinen, H.J., Lindblom, A., Evans, D.G., Lubinski, J., Morrison, P.J., Ho, J.W., Vasen, H.F., Side, L., Thomas, H.J., Scott, R.J., Dunlop, M., Barker, G., Elliott, F., Jass, J.R., Fodde, R., Lynch, H.T., Mathers, J.C., 2008. Effect of aspirin or resistant starch on colorectal neoplasia in the Lynch syndrome. *N. Engl. J. Med.* 359 (24), 2567–2578.

Burn, J., Gerdes, A.M., Macrae, F., Mecklin, J.P., Moeslein, G., Olschwang, S., Eccles, D., Evans, D.G., Maher, E.R., Bertario, L., Bisgaard, M.L., Dunlop, M.G., Ho, J.W., Hodgson, S.V., Lindblom, A., Lubinski, J., Morrison, P.J., Murday, V., Ramesar, R., Side, L., Scott, R.J., Thomas, H.J., Vasen, H.F., Barker, G., Crawford, G., Elliott, F., Movahedi, M., Pylvanainen, K., Wijnen, J.T., Fodde, R., Lynch, H.T., Mathers, J.C., Bishop, D.T., 2011. Long-term effect of aspirin on cancer risk in carriers of hereditary colorectal cancer: an analysis from the CAPP2 randomised controlled trial. *Lancet (Lond., Engl.)* 378 (9809), 2081–2087.

Burn, J., Gerdes, A.M., Macrae, F., Mecklin, J.P., Moeslein, G., Olschwang, S., Eccles, D., Evans, D.G., Maher, E.R., Bertario, L., Bisgaard, M.L., Dunlop, M.G., Ho, J.W., Hodgson, S.V., Lindblom, A., Lubinski, J., Morrison, P.J., Murday, V., Ramesar, R., Side, L., Scott, R.J., Thomas, H.J., Vasen, H.F., Barker, G., Crawford, G., Elliott, F., Movahedi, M., Pylvanainen, K., Wijnen, J.T., Fodde, R., Lynch, H.T., Mathers, J.C., Bishop, D.T., 2011. Long-term effect of aspirin on cancer risk in carriers of hereditary colorectal cancer: an analysis

from the CAPP2 randomised controlled trial. *Lancet (Lond., Engl.)* 378 (9809), 2081–2087.

Campbell PT, Deka A, Jacobs EJ, Newton CC, Hildebrand JS, McCullough ML, Limburg PJ, Gapstur SM. (2010) Prospective Study Reveals Associations Between Colorectal Cancer and Type 2 Diabetes Mellitus or Insulin Use in Men. *Gastroenterology*. 139(4):1138-1146.

Campeato, L.F., Barroso-Sousa, R., Jimenez, L., Correa, B.R., Sabbaga, J., Hoff, P.M., Reis, L.F.L., Galante, P.A.F., Camargo, A.A., 2015. Comprehensive cancer-genepanels can be used to estimate mutational load and predict clinical benefit to PD-1 blockade in clinical practice. *Oncotarget* 6 (33), 34221–34227.

Canard, G., Lefevre, J.H., Colas, C., Coulet, F., Svrcek, M., Lascols, O., Hamelin, R., Shields, C., Duval, A., Fléjou, J.F., Soubrier, F., Tiret, E., Parc, Y., 2012. Screening for Lynch syndrome in colorectal cancer: are we doing enough? *Ann. Surg. Oncol.* 19 (3), 809–816.

Capper, D., Voigt, A., Bozukova, G., Ahadova, A., Kickingeder, P., von Deimling, A., von Knebel Doeberitz, M., Kloor, M., 2013. BRAF V600E-specific immunohistochemistry for the exclusion of Lynch syndrome in MSI-H colorectal cancer. *Int. J. Cancer* 133 (7), 1624–1630.

Carethers, J.M., Stoffel, E.M., 2015. Lynch syndrome and Lynch syndrome mimics: the growing complex landscape of hereditary colon cancer. *World J. Gastroenterol. : WJG* 21 (31), 9253–9261.

Castillejo, A., Vargas, G., Castillejo, M.I., Navarro, M., Barbera, V.M., Gonzalez, S., Hernandez-Illan, E., Brunet, J., Ramon y Cajal, T., Balmana, J., Oltra, S., Iglesias, S., Velasco, A., Solanes, A., Campos, O., Sanchez Heras, A.B., Gallego, J., Carrasco, E., Gonzalez Juan, D., Segura, A., Chirivella, I., Juan, M.J., Tena, I., Lazaro, C., Blanco, I., Pineda, M., Capella, G., Soto, J.L., 2014. Prevalence of germline MUTYH mutations among Lynch-like syndrome patients. *Eur. J. Cancer (Oxford, Engl. : 1990)* 50 (13), 2241–2250.

Castillejo, A., Vargas, G., Castillejo, M.I., Navarro, M., Barbera, V.M., Gonzalez, S., Hernandez-Illan, E., Brunet, J., Ramon y Cajal, T., Balmana, J., Oltra, S., Iglesias, S., Velasco, A., Solanes, A., Campos, O., Sanchez Heras, A.B., Gallego, J., Carrasco, E., Gonzalez Juan, D., Segura, A., Chirivella, I., Juan, M.J., Tena, I., Lazaro, C., Blanco, I., Pineda, M., Capella, G., Soto, J.L., 2014. Prevalence of germline MUTYH mutations among Lynch-like syndrome patients. *Eur. J. Cancer* (Oxford, Engl. : 1990) 50 (13), 2241–2250.

Cecchin, E., Agostini, M., Pucciarelli, S., De Paoli, A., Canzonieri, V., Sigon, R., DeMattia, E., Friso, M.L., Biason, P., Visentin, M., Nitti, D., Toffoli, G., 2011. Tumor response is predicted by patient genetic profile in rectal cancer patients treated with neo-adjuvant chemo-radiotherapy. *Pharmacogenomics J.* 11 (3), 214–226.

Chan A, Giovannucci E. (2010) Primary Prevention of Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 138 (6): 2029-2043.

Chan, A.T., Arber, N., Burn, J., Chia, W.K., Elwood, P., Hull, M.A., Logan, R.F., Rothwell, P.M., Schror, K., Baron, J.A., 2012. Aspirin in the chemoprevention of colorectal neoplasia: an overview. *Cancer Prev. Res. (Phila.)* 5 (2), 164–178.

Charara, M., Edmonston, T.B., Burkholder, S., Walters, R., Anne, P., Mitchell, E., Fry, R., Boman, B., Rose, D., Fishel, R., Curran, W., Palazzo, J., 2004. Microsatellite status and cell cycle associated markers in rectal cancer patients undergoing a combined regimen of 5-FU and CPT-11 chemotherapy and radiotherapy. *Anticancer Res.* 24 (5b), 3161–3167.

Chen D, Huang JF, Liu K, Zhang LQ, Yang Z, Chuai ZR, Wang YX, Shi DC, Huang Q, Fu WL: BRAF V600E mutation and its association with clinicopathological features of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 9: e90607, 2014. PMID: 24594804. DOI: 10.1371/journal.pone.0090607.

Chen, S., Wang, W., Lee, S., Nafa, K., Lee, J., Romans, K., Watson, P., Gruber, S.B., Euhus, D., Kinzler, K.W., Jass, J., Gallinger, S., Lindor, N.M., Casey, G.,

Ellis, N., Giardiello, F.M., Offit, K., Parmigiani, G., 2006. Prediction of germline mutations and cancer risk in the Lynch syndrome. *JAMA* 296 (12), 1479–1487.

Chung, K.Y., Gore, I., Fong, L., Venook, A., Beck, S.B., Dorazio, P., Criscitiello, P.J., Healey, D.I., Huang, B., Gomez-Navarro, J., Saltz, L.B., 2010. Phase II study of the anti-cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody, tremelimumab, in patients with refractory metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 28 (21), 3485–3490.

Cirillo, L., Urso, E.D., Parrinello, G., Pucciarelli, S., Moneghini, D., Agostini, M., Nitti, D., Nascimbeni, R., 2013. High risk of rectal cancer and of metachronous colorectal cancer in probands of families fulfilling the Amsterdam criteria. *Ann. Surg.* 257 (5), 900–904.

Coffey, J.C., Winter, D.C., Neary, P., Murphy, A., Redmond, H.P., Kirwan, W.O., 2002. Quality of life after ileal pouch-anal anastomosis: an evaluation of diet and other factors using the Cleveland Global Quality of Life instrument. *Dis. Colon Rectum* 45 (1), 30–38.

Cohen, S.A., Turner, E.H., Beightol, M.B., Jacobson, A., Gooley, T.A., Salipante, S.J., Haraldsdottir, S., Smith, C., Scroggins, S., Tait, J.F., Grady, W.M., Lin, E.H., Cohn, D.E., Goodfellow, P.J., Arnold, M.W., de la Chapelle, A., Pearlman, R., Hampel, H., Pritchard, C.C., 2016. Frequent PIK3CA mutations in colorectal and endometrial cancer with double somatic mismatch repair mutations. *Gastroenterology* 151(3), 440–447 (e441).

Cohen, S.A., Turner, E.H., Beightol, M.B., Jacobson, A., Gooley, T.A., Salipante, S.J., Haraldsdottir, S., Smith, C., Scroggins, S., Tait, J.F., Grady, W.M., Lin, E.H., Cohn, D.E., Goodfellow, P.J., Arnold, M.W., de la Chapelle, A., Pearlman, R., Hampel, H., Pritchard, C.C., 2016. Frequent PIK3CA mutations in colorectal and endometrial cancer with double somatic mismatch repair mutations. *Gastroenterology* 151(3), 440–447 (e441).

Coleman W., Tsongalis G. (2017) *The Molecular Basis of Human Cancer*. Springer New York.

Cong Tan and Xiang Du: KRAS mutation testing in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 18(37): 5171–5180, 2012. DOI: 10.3748/wjg.v18.i37.5171.

Constanzo L.S. (2006) Φυσιολογία , Επιμέλεια Ελληνικής Έκδοσης: Ανωγειανάκης Γ, Ευαγγέλου Α, 4η Έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις: Λαγός Δημήτριος

Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, Starling N: Colorectal cancer. *Lancet* 375: 1030-1047, 2010. PMID: 20304247. DOI: 10.1016/s0140-6736(10)60353-4.

Cunningham, J.M., Christensen, E.R., Tester, D.J., Kim, C.Y., Roche, P.C., Burgart, L.J., Thibodeau, S.N., 1998. Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Res.* 58 (15), 3455–3460.

Dahan, L., Bonnetain, F., Rougier, P., Raoul, J.L., Gamelin, E., Etienne, P.L., Cadiot, G., Mitry, E., Smith, D., Cvitkovic, F., Coudert, B., Ricard, F., Bedenne, L., Seitz, J.F., 2009. Phase III trial of chemotherapy using 5-fluorouracil and streptozotocin compared with interferon alpha for advanced carcinoid tumors: FNCLCC-FFCD9710. *Endocr. Relat. Cancer* 16 (4), 1351–1361.

Dalerba, P., Sahoo, D., Paik, S., Guo, X., Yothers, G., Song, N., Wilcox-Fogel, N., Forgo, E., Rajendran, P.S., Miranda, S.P., Hisamori, S., Hutchison, J., Kalisky, T., Qian, D., Wolmark, N., Fisher, G.A., van de Rijn, M., Clarke, M.F., 2016. CDX2 as a prognostic biomarker in stage II and stage III colon cancer. *N. Engl. J. Med.* 374(3), 211–222.

de Rosa, N., Rodriguez-Bigas, M.A., Chang, G.J., Veerapong, J., Borrás, E., Krishnan, S., Bednarski, B., Messick, C.A., Skibber, J.M., Feig, B.W., Lynch, P.M., Vilar, E., You, Y.N., 2016. DNA mismatch repair deficiency in rectal cancer: benchmarking its impact on prognosis, neoadjuvant response prediction, and clinical cancer genetics. *J. Clin. Oncol.* 34 (25), 3039–3046.

de Rosa, N., Rodriguez-Bigas, M.A., Chang, G.J., Veerapong, J., Borrás, E., Krishnan, S., Bednarski, B., Messick, C.A., Skibber, J.M., Feig, B.W., Lynch, P.M., Vilar, E., You, Y.N., 2016. DNA mismatch repair deficiency in rectal

cancer: benchmarking its impact on prognosis, neoadjuvant response prediction, and clinical cancer genetics. *J. Clin. Oncol.* 34 (25), 3039–3046.

de Rosa, N., Rodriguez-Bigas, M.A., Chang, G.J., Veerapong, J., Borrás, E., Krishnan, S., Bednarski, B., Messick, C.A., Skibber, J.M., Feig, B.W., Lynch, P.M., Vilar, E., You, Y.N., 2016. DNA mismatch repair deficiency in rectal cancer: benchmarking its impact on prognosis, neoadjuvant response prediction, and clinical cancer genetics. *J. Clin. Oncol.* 34 (25), 3039–3046.

de Rosa, N., Rodriguez-Bigas, M.A., Chang, G.J., Veerapong, J., Borrás, E., Krishnan, S., Bednarski, B., Messick, C.A., Skibber, J.M., Feig, B.W., Lynch, P.M., Vilar, E., You, Y.N., 2016. DNA mismatch repair deficiency in rectal cancer: benchmarking its impact on prognosis, neoadjuvant response prediction, and clinical cancer genetics. *J. Clin. Oncol.* 34 (25), 3039–3046.

Des Guetz, G., Lecaille, C., Mariani, P., Bennamoun, M., Uzzan, B., Nicolas, P., Boisseau, A., Sastre, X., Cucherousset, J., Lagorce, C., Schischmanoff, P.O., Morere, J.F., 2010. Prognostic impact of microsatellite instability in colorectal cancer patients treated with adjuvant FOLFOX. *Anticancer Res.* 30 (10), 4297–4301.

Des Guetz, G., Schischmanoff, O., Nicolas, P., Perret, G.Y., Morere, J.F., Uzzan, B., 2009. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. *Eur. J. Cancer (Oxford, Engl.: 1990)* 45 (10), 1890–1896.

de Vogel S, Weijenberg MP, Herman JG, Wouters KA, de Goeij AF, van den Brandt PA, de Bruïne AP, van Engeland M. MGMT and MLH1 promoter methylation versus APC, KRAS and BRAF gene mutations in colorectal cancer: indications for distinct pathways and sequence of events. *Ann Oncol.* 2009 Jul;20(7):1216-22. doi: 10.1093/annonc/mdn782. Epub 2009 Jan 22. PMID:19164452.

Dineen, S., Lynch, P.M., Rodriguez-Bigas, M.A., Bannon, S., Taggart, M., Reeves, C., Modaro, C., Overman, M., Chang, G.J., Skibber, J.M., You, Y.N., 2015. A prospective six sigma quality improvement trial to optimize universal screening for genetic syndrome among patients with young-Onset colorectal cancer. *J. Natl. Compr. Cancer Network: JNCCN* 13 (7), 865–872.

Dudley JC, Lin MT, Le DT, et al.: Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clin Cancer Res* 22: 813-820, 2016.

EGAPP, 2009. Recommendations from the Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group: genetic testing strategies in newly diagnosed individuals with colorectal cancer. *Genet. Med.* 11 (1), 35–41.

Ehrlich M, ed. (2000). DNA alterations in cancer: genetic and epigenetic changes. Natick, MA: Eaton Publ. p. 178. ISBN 978-1-881299-19-6.

Elsaleh, H., Powell, B., Soontrapornchai, P., Joseph, D., Gorla, F., Spry, N., Iacopetta, B., 2000. p53 gene mutation, microsatellite instability and adjuvant chemotherapy: impact on survival of 388 patients with Dukes' C colon carcinoma. *Oncology* 58 (1), 52–59.

Eurostat (2016) Colorectal cancer. https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Cancer_statistics_-_specific_cancers#Colorectal_cancer

F.M., Allen, J.I., Axilbund, J.E., Boland, C.R., Burke, C.A., Burt, R.W., Church, J.M., Dominitz, J.A., Johnson, D.A., Kaltenbach, T., Levin, T.R., Lieberman, D.A., Robertson, D.J., Syngal, S., Rex, D.K., 2014. Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastrointest. Endosc.* 80 (2), 197–220.

Fallik, D., Borrini, F., Boige, V., Viguier, J., Jacob, S., Miquel, C., Sabourin, J.C., Ducreux, M., Praz, F., 2003. Microsatellite instability is a predictive factor of the tumor response to irinotecan in patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Res.* 63 (18), 5738–5744.

- Felton, K.E., Gilchrist, D.M., Andrew, S.E., 2007. Constitutive deficiency in DNAmismatch repair: is it time for Lynch III? *Clin. Genet.* 71 (6), 499–500.
- Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. (2012) Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol* 3(3):153-173
- Fox S.I., (2013). Φυσιολογία του Ανθρώπου, Επιμέλεια Ελληνικής Έκδοσης: Μανδρούκας Κ, 9^η Έκδοση, Εκδόσεις: Παρισιάνος
- Frayling, I.M., Arends, M.J., 2015. How can histopathologists help clinical genetics in the investigation of suspected hereditary gastrointestinal cancer? *Diagn.Histopathol.* 21 (4), 137–146.
- Frayling, I.M., Arends, M.J., 2015. How can histopathologists help clinical genetics in the investigation of suspected hereditary gastrointestinal cancer? *Diagn.Histopathol.* 21 (4), 137–146.
- Fritsch H., & Kuhnel W. (2009). Εγχειρίδιο Περιγραφικής Ανατομίας. Τόμος II (Επιμέλεια Ελληνικής έκδοσης Δημητρίου Θ., Θαλασσινός Ν., Καναβάρος Π., Μανώλης Ε., Νάτσης Κ., Παπαδήτριου Ε.). Αθήνα, Εκδόσεις Πασχαλίδης
- Funkhouser WK, Jr., Lubin IM, Monzon FA, et al.: Relevance, pathogenesis, and testing algorithm for mismatch repair-defective colorectal carcinomas: a report of the association for molecular pathology. *J Mol Diagn* 14: 91-103, 2012.
- Fusi, A., Festino, L., Botti, G., Masucci, G., Melero, I., Lorigan, P., Ascierto, P.A., 2015. PD-L1 expression as a potential predictive biomarker. *Lancet Oncol.* 16 (13), 1285–1287.
- Gao J, Sun ZW, Li YY, Shen L: Mutations of KRAS and BRAF in Chinese patients with colorectal carcinoma: analyses of 966 cases. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 41: 579-583, 2012. PMID: 23157823. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2012.09.002.
- Gavin, P.G., Colangelo, L.H., Fumagalli, D., Tanaka, N., Remillard, M.Y., Yothers, G., Kim, C., Taniyama, Y., Kim, S.I., Choi, H.J., Blackmon, N.L., Lipchik, C., Petrelli, N.J., O'Connell, M.J., Wolmark, N., Paik, S., Pogue-Geile, K.L., 2012. Mutation profiling and microsatellite instability in stage II and III colon cancer: an assessment of their prognostic and oxaliplatin predictive value. *Clin. Cancer Res.* 18 (23), 6531–6541.

Gavin, P.G., Paik, S., Yothers, G., Pogue-Geile, K.L., 2013. Colon cancer mutation:prognosis/prediction–response. *Clin. Cancer Res.* 19 (5), 1301.

Geiersbach, K.B., Samowitz, W.S., 2011. Microsatellite instability and colorectal cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 135 (10), 1269–1277.

Geiersbach, K.B., Samowitz, W.S., 2011. Microsatellite instability and colorectal cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 135 (10), 1269–1277.

Geiersbach, K.B., Samowitz, W.S., 2011. Microsatellite instability and colorectal cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 135 (10), 1269–1277.

Geiersbach, K.B., Samowitz, W.S., 2011. Microsatellite instability and colorectal cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 135 (10), 1269–1277.

Geurts-Giele, W.R., Leenen, C.H., Dubbink, H.J., Meijssen, I.C., Post, E., Sleddens, H.F., Kuipers, E.J., Goverde, A., van den Ouweland, A.M., van Lier, M.G., Steyerberg, E.W., van Leerdam, M.E., Wagner, A., Dinjens, W.N., 2014. Somatic aberrations of mismatch repair genes as a cause of microsatellite-unstable cancers. *J. Pathol.* 234 (4), 548–559.

Geurts-Giele, W.R., Leenen, C.H., Dubbink, H.J., Meijssen, I.C., Post, E., Sleddens, H.F., Kuipers, E.J., Goverde, A., van den Ouweland, A.M., van Lier, M.G., Steyerberg, E.W., van Leerdam, M.E., Wagner, A., Dinjens, W.N., 2014. Somatic aberrations of mismatch repair genes as a cause of microsatellite-unstable cancers. *J. Pathol.* 234 (4), 548–559.

Goldberg, Y., Barnes-Kedar, I., Lerer, I., Halpern, N., Plesser, M., Hubert, A., Kadouri, L., Goldshmidt, H., Solar, I., Strul, H., Rosner, G., Baris, H.N., Peretz, T., Levi, Z., Kariv, R., 2015. Genetic features of Lynch syndrome in the Israeli population. *Clin. Genet.* 87 (6), 549–553.

Goldstein, J., Tran, B., Ensor, J., Gibbs, P., Wong, H.L., Wong, S.F., Vilar, E., Tie, J., Broaddus, R., Kopetz, S., Desai, J., Overman, M.J., 2014.

Multicenterretrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with high-levelmicrosatellite instability (MSI-H). *Ann. Oncol.* 25 (5), 1032–1038.

Goldstein, J., Tran, B., Ensor, J., Gibbs, P., Wong, H.L., Wong, S.F., Vilar, E., Tie, J., Broaddus, R., Kopetz, S., Desai, J., Overman, M.J., 2014. Multicenterretrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with high-level microsatellite instability (MSI-H). *Ann. Oncol.* 25 (5), 1032–1038.

Gologan, A., Sepulveda, A.R., 2005. Microsatellite instability and DNA mismatchrepair deficiency testing in hereditary and sporadic gastrointestinal cancers. *Clin. Lab. Med.* 25 (1), 179–196.

Gologan, A., Sepulveda, A.R., 2005. Microsatellite instability and DNA mismatchrepair deficiency testing in hereditary and sporadic gastrointestinal cancers. *Clin. Lab. Med.* 25 (1), 179–196.

Grady, W.M., Carethers, J.M., 2008. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 135 (4), 1079–1099.

Green, R.C., Parfrey, P.S., Woods, M.O., Younghusband, H.B., 2009. Prediction of Lynch syndrome in consecutive patients with colorectal cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 101 (5), 331–340.

Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, et al.: Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data. *Eur J Cancer* 46: 2788-2798, 2010.

Guastadisegni, C., Colafranceschi, M., Ottini, L., Dogliotti, E., 2010. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data. *European J. Cancer (Oxford, Engl.: 1990)* 46(15), 2788–2798.

Guastadisegni, C., Colafranceschi, M., Ottini, L., Dogliotti, E., 2010. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data. *European J. Cancer (Oxford, Engl.: 1990)* 46(15), 2788–2798.

Guinney, J., Dienstmann, R., Wang, X., de Reynies, A., Schlicker, A., Soneson, C., Marisa, L., Roepman, P., Nyamundanda, G., Angelino, P., Bot, B.M., Morris, J.S., Simon, I.M., Gerster, S., Fessler, E., De Sousa, E.M.F., Missiaglia, E., Ramay, H., Barras, D., Homicsko, K., Maru, D., Manyam, G.C., Broom, B., 2015. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat. Med.* 21 (11), 1350–1356.

Gutterman, J.U., Mavligit, G.M., Blumenshein, G., Burgess, M.A., McBride, C.M., Hersh, E.M., 1976. Immunotherapy of human solid tumors with *Bacillus Calmette-Guerin*: prolongation of disease-free interval and survival in malignant melanoma, breast, and colorectal cancer. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 277(00), 135–159.

Hagan, S., Orr, M.C., Doyle, B., 2013. Targeted therapies in colorectal cancer— an integrative view by PPPM. *EPMA J.* 4 (1), 3.

Haller, D.G., Tabernero, J., Maroun, J., de Braud, F., Price, T., Van Cutsem, E., Hill, M., Gilberg, F., Rittweger, K., Schmoll, H.J., 2011. Capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and folinic acid as adjuvant therapy for stage III colon cancer. *J. Clin. Oncol.* 29 (11), 1465–1471.

Hampel, H., Frankel, W.L., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P., Clendenning, M., Sotamaa, K., Prior, T., Westman, J.A., Panescu, J., Fix, D., Lockman, J., LaJeunesse, J., Comeras, I., de la Chapelle, A., 2008. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 26 (35), 5783–5788.

Hampel, H., Frankel, W.L., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P., Nakagawa, H., Sotamaa, K., Prior, T.W., Westman, J., Panescu, J., Fix, D., Lockman, J., Comeras, I., de la Chapelle, A., 2005. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N. Engl. J. Med.* 352(18), 1851–1860.

Hanna MC, Go C, Roden C, Jones RT, Pochanard P, Javed AY, Javed A, Mondal C, Palescandolo E, Van Hummelen P, Hatton C, Bass AJ, Chun SM, Na

DC, Kim TI, Jang SJ, Osarogiagbon RU, Hahn WC, Meyerson M, Garraway LA, MacConaill LE: Colorectal cancers from distinct ancestral populations show variations in BRAF mutation frequency. *PLoS One* 8: e74950, 2013. PMID: 24066160. DOI: 10.1371/journal.pone.0074950.

Hanna MC, Go C, Roden C, Jones RT, Pochanard P, Javed AY, Javed A, Mondal C, Palescandolo E, Van Hummelen P, Hatton C, Bass AJ, Chun SM, Na DC, Kim TI, Jang SJ, Osarogiagbon RU, Hahn WC, Meyerson M, Garraway LA, MacConaill LE: Colorectal cancers from distinct ancestral populations show variations in BRAF mutation frequency. *PLoS One* 8: e74950, 2013. PMID: 24066160. DOI: 10.1371/journal.pone.0074950.

Hansen, M.F., Johansen, J., Sylvander, A.E., Bjornevoll, I., Talseth-Palmer, B.A., Lavik,L.A., Xavier, A., Engebretsen, L.F., Scott, R.J., Drablos, F., Sjrursen, W., 2017. Use ofMultigene-panel Identifies Pathogenic Variants in Several CRC-predisposingGenes in Patients Previously Tested for Lynch Syndrome.

Hansen, M.F., Johansen, J., Sylvander, A.E., Bjornevoll, I., Talseth-Palmer, B.A., Lavik,L.A., Xavier, A., Engebretsen, L.F., Scott, R.J., Drablos, F., Sjrursen, W., 2017. Use ofMultigene-panel Identifies Pathogenic Variants in Several CRC-predisposingGenes in Patients Previously Tested for Lynch Syndrome.

Haraldsdottir, S., Hampel, H., Tomsic, J., Frankel, W.L., Pearlman, R., de la Chapelle,A., Pritchard, C.C., 2014. Colon and endometrial cancers with mismatch repairdeficiency can arise from somatic, rather than germline, mutations.*Gastroenterology* 147 (6), 1308–1316 (e1301).

Haraldsdottir, S., Hampel, H., Tomsic, J., Frankel, W.L., Pearlman, R., de la Chapelle,A., Pritchard, C.C., 2014. Colon and endometrial cancers with mismatch repairdeficiency can arise from somatic, rather than germline, mutations.*Gastroenterology* 147 (6), 1308–1316 (e1301).

Haraldsdottir, S., Hampel, H., Tomsic, J., Frankel, W.L., Pearlman, R., de la Chapelle,A., Pritchard, C.C., 2014. Colon and endometrial cancers with

mismatch repair deficiency can arise from somatic, rather than germline, mutations. *Gastroenterology* 147 (6), 1308–1316 (e1301).

Haraldsdottir, S., Roth, R., Pearlman, R., Hampel, H., Arnold, C.A., Frankel, W.L., 2016. Mismatch repair deficiency concordance between primary colorectal cancer and corresponding metastasis. *Fam. Cancer* 15 (2), 253–260.

Harrison S, Benziger H. The molecular biology of colorectal carcinoma and its implications: a review. *Surgeon.* 2011 Aug;9(4):200-10. doi: 10.1016/j.surge.2011.01.011. Epub 2011 May 24. Review. PMID:21672660.

Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, Brandhuber BJ, Anderson DJ, Alvarado R, Ludlam MJ, Stokoe D, Gloor SL, Vigers G, Morales T, Aliagas I, Liu B, Sideris S, Hoeflich KP, Jaiswal BS, Seshagiri S, Koeppen H, Belvin M, Friedman LS, Malek S. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature.* 2010 Mar 18;464(7287):431-5. doi: 10.1038/nature08833. Epub 2010 Feb 3. PMID:20130576

Heald JR (1990) Synchronous and metachronous carcinoma of the colon and rectum *Annals of the Royal College of Surgeons of England* 72 (3):172-174.

Hemminki, A., Mecklin, J.P., Jarvinen, H., Aaltonen, L.A., Joensuu, H., 2000. Microsatellite instability is a favorable prognostic indicator in patients with colorectal cancer receiving chemotherapy. *Gastroenterology* 119 (4), 921–928.

Heneghan, H.M., Martin, S.T., Winter, D.C., 2015. Segmental vs extended colectomy in the management of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis.: J. Assoc. Coloproctology G. B. Irel.* 17(5), 382–389.

Heneghan, H.M., Martin, S.T., Winter, D.C., 2015. Segmental vs extended colectomy in the management of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis.: J. Assoc. Coloproctology G. B. Irel.* 17(5), 382–389.

Herman, J.G., Umar, A., Polyak, K., Graff, J.R., Ahuja, N., Issa, J.P., Markowitz, S., Willson, J.K., Hamilton, S.R., Kinzler, K.W., Kane, M.F., Kolodner, R.D., Vogelstein, B., Kunkel, T.A., Baylin, S.B., 1998. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95 (12), 6870–6875.

Herman, J.G., Umar, A., Polyak, K., Graff, J.R., Ahuja, N., Issa, J.P., Markowitz, S., Willson, J.K., Hamilton, S.R., Kinzler, K.W., Kane, M.F., Kolodner, R.D., Vogelstein, B., Kunkel, T.A., Baylin, S.B., 1998. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95 (12), 6870–6875.

Hong, S.P., Min, B.S., Kim, T.I., Cheon, J.H., Kim, N.K., Kim, H., Kim, W.H., 2012. The differential impact of microsatellite instability as a marker of prognosis and tumour response between colon cancer and rectal cancer. *Eur. J. Cancer* 48 (8), 1235–1243.

Hong, S.P., Min, B.S., Kim, T.I., Cheon, J.H., Kim, N.K., Kim, H., Kim, W.H., 2012. The differential impact of microsatellite instability as a marker of prognosis and tumour response between colon cancer and rectal cancer. *Eur. J. Cancer* 48 (8), 1235–1243.

Hsieh LL, Er TK, Chen CC, Hsieh JS, Chang JG, Liu TC: Characteristics and prevalence of KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in colorectal cancer by high-resolution melting analysis in Taiwanese population. *Clin Chim Acta* 413: 1605-1611, 2012. PMID: 22579930. DOI: 10.1016/j.cca.2012.04.029.

Hunter, J.E., Zepp, J.M., Gilmore, M.J., Davis, J.V., Esterberg, E.J., Muessig, K.R., Peterson, S.K., Syngal, S., Acheson, L.S., Wiesner, G.L., Reiss, J.A., Goddard, K.A., 2015. Universal tumor screening for Lynch syndrome: assessment of the perspectives of patients with colorectal cancer regarding benefits and barriers. *Cancer* 121 (18), 3281–3289.

Hutchins, G., Southward, K., Handley, K., Magill, L., Beaumont, C., Stahlschmidt, J., Richman, S., Chambers, P., Seymour, M., Kerr, D., Gray, R., Quirke, P., 2011. Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in

predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 29 (10),1261–1270.

Hutchins, G., Southward, K., Handley, K., Magill, L., Beaumont, C., Stahlschmidt, J., Richman, S., Chambers, P., Seymour, M., Kerr, D., Gray, R., Quirke, P., 2011. Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 29 (10),1261–1270.

Huth, C., Kloor, M., Voigt, A.Y., Bozukova, G., Evers, C., Gaspar, H., Tariverdian, M., Schirmacher, P., von Knebel Doeberitz, M., Blaker, H., 2012. The molecular basis of EPCAM expression loss in Lynch syndrome-associated tumors. *Mod. Pathol.* 25 (6), 911–916.

Imai K. Yamamoto H. (2008) Carcinogenesis and microsatellite instability: the interrelationship between genetics and epigenetics. *Carcinogenesis* 29 (4):673-680.

Imai, K., Yamamoto, H., 2008. Carcinogenesis and microsatellite instability: the interrelationship between genetics and epigenetics. *Carcinogenesis* 29 (4),673–680.

Inamura, K., Yamauchi, M., Nishihara, R., Lochhead, P., Qian, Z.R., Kuchiba, A., Kim, S.A., Mima, K., Sukawa, Y., Jung, S., Zhang, X., Wu, K., Cho, E., Chan, A.T., Meyerhardt, J.A., Harris, C.C., Fuchs, C.S., Ogino, S., 2014. Tumor LINE-1 methylation level and microsatellite instability in relation to colorectal cancer prognosis. *J. Natl. Cancer Inst.* 106 (9).

Ishikubo, T., Nishimura, Y., Yamaguchi, K., Khansuwan, U., Arai, Y., Kobayashi, T., Ohkura, Y., Hashiguchi, Y., Tanaka, Y., Akagi, K., 2004. The clinical features of rectal cancers with high-frequency microsatellite instability (MSI-H) in Japanese males. *Cancer Lett.* 216 (1), 55–62.

Ishikubo, T., Nishimura, Y., Yamaguchi, K., Khansuwan, U., Arai, Y., Kobayashi, T., Ohkura, Y., Hashiguchi, Y., Tanaka, Y., Akagi, K., 2004. The

clinical features of rectal cancers with high-frequency microsatellite instability (MSI-H) in Japanese males. *Cancer Lett.* 216 (1), 55–62.

Jass, J.R., 2007. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 50 (1), 113–130.

JE, Hartman TJ (2013) Meat-Related Compounds and Colorectal Cancer Risk by Anatomical Subsite *Nutr Cancer* 65(2): 202–226.

Jenkins, M.A., Hayashi, S., O'Shea, A.M., Burgart, L.J., Smyrk, T.C., Shimizu, D., Waring, P.M., Ruzkiewicz, A.R., Pollett, A.F., Redston, M., Barker, M.A., Baron, J.A., Casey, G.R., Dowty, J.G., Giles, G.G., Limburg, P., Newcomb, P., Young, J.P., Walsh, M.D., Thibodeau, S.N., Lindor, N.M., Lemarchand, L., Gallinger, S., Haile, R.W., Potter, J.D., Hopper, J.L., Jass, J.R., 2007. Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population-based study. *Gastroenterology* 133 (1), 48–56.

Jover, R., Castells, A., Llor, X., Andreu, M., 2006. Predictive value of microsatellite instability for benefit from adjuvant fluorouracil chemotherapy in colorectal cancer. *Gut* 55 (12), 1819–1820.

Jover, R., Zapater, P., Castells, A., Llor, X., Andreu, M., Cubiella, J., Balaguer, F., Sempere, L., Xicola, R.M., Bujanda, L., Rene, J.M., Cloment, J., Bessa, X., Morillas, J.D., Nicolas-Perez, D., Pons, E., Paya, A., Alenda, C., 2009. The efficacy of adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil in colorectal cancer depends on the mismatch repair status. *Eur. J. Cancer (Oxford, Engl.: 1990)* 45 (3), 365–373.

Julie, C., Tresallet, C., Brouquet, A., Vallot, C., Zimmermann, U., Mitry, E., Radvanyi, F., Rouleau, E., Lidereau, R., Coulet, F., Olschwang, S., Frebourg, T., Rougier, P., Nordlinger, B., Laurent-Puig, P., Penna, C., Boileau, C., Franc, B., Muti, C., Hofmann-Radvanyi, H., 2008. Identification in daily practice of patients with Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer): revised Bethesda guidelines-based approach versus molecular screening. *American J. Gastroenterol.* 103 (11), 2825–2835 (quiz 2836).

Jung, B., Doctolero, R.T., Tajima, A., Nguyen, A.K., Keku, T., Sandler, R.S., Carethers, J.M., 2004. Loss of activin receptor type 2 protein expression in microsatellite unstable colon cancers. *Gastroenterology* 126 (3), 654–659.

Ju-Xiang Ye, Yan Liu, Yun Qin, Hao-Hao Zhong, Wei-Ning Yi, Xue-Ying Shi: KRAS and BRAF gene mutations and DNA mismatch repair status in Chinese colorectal carcinoma patients. *World J Gastroenterol* 7; 21(5): 1595-1605 ISSN 1007-9327, 2015. DOI: 10.3748/wjg.v21.i5.1595.

Kalady, M.F., Kravochuck, S.E., Heald, B., Burke, C.A., Church, J.M., 2015. Defining the adenoma burden in lynch syndrome. *Dis. Colon Rectum* 58 (4), 388–392.

Kalady, M.F., Lipman, J., McGannon, E., Church, J.M., 2012. Risk of colonic neoplasia after proctectomy for rectal cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Ann. Surg.* 255 (6), 1121–1125.

Kang, S.Y., Park, C.K., Chang, D.K., Kim, J.W., Son, H.J., Cho, Y.B., Yun, S.H., Kim, H.C., Kwon, M., Kim, K.M., 2015. Lynch-like syndrome: characterization and comparison with EPCAM deletion carriers. *Int. J. Cancer* 136 (7), 1568–1578.

Kang, S.Y., Park, C.K., Chang, D.K., Kim, J.W., Son, H.J., Cho, Y.B., Yun, S.H., Kim, H.C., Kwon, M., Kim, K.M., 2015. Lynch-like syndrome: characterization and comparison with EPCAM deletion carriers. *Int. J. Cancer* 136 (7), 1568–1578.

Kastrinos, F., Steyerberg, E.W., Mercado, R., Balmana, J., Holter, S., Gallinger, S., Siegmund, K.D., Church, J.M., Jenkins, M.A., Lindor, N.M., Thibodeau, S.N., Burbidge, L.A., Wenstrup, R.J., Syngal, S., 2011. The PREMM(1,2,6) model predicts risk of MLH1, MSH2, and MSH6 germline mutations based on cancer history. *Gastroenterology* 140 (1), 73–81.

Kaufman, H.L., Lenz, H.J., Marshall, J., Singh, D., Garrett, C., Cripps, C., Moore, M., von Mehren, M., Dalfen, R., Heim, W.J., Conry, R.M., Urba, W.J., Benson, A.B., Yu, 3rd, Caterini, M., Kim-Schulze, J., Debenedette, S., Salha, M., Vogel, D., Elias, T., Berinstein, I., 2008. Combination chemotherapy and

ALVAC-CEA/B7.1 vaccine in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 14 (15),4843–4849.

Kawaguchi, M., Yanokura, M., Banno, K., Kobayashi, Y., Kuwabara, Y., Kobayashi, M., Nomura, H., Hirasawa, A., Susumu, N., Aoki, D., 2009. Analysis of a correlation between the BRAF V600E mutation and abnormal DNA mismatch repair in patients with sporadic endometrial cancer. *Int. J. Oncol.* 34 (6), 1541–1547.

Kawakami, H., Zaanan, A., Sinicrope, F.A., 2015. Microsatellite instability testing and its role in the management of colorectal cancer. *Curr. Treat. Options Oncol.* 16 (7), 30.

Kerr, D.J., Midgley, R., 2010. Defective mismatch repair in colon cancer: a prognostic or predictive biomarker? *J. Clin. Oncol.* 28 (20), 3210–3212.

Kim GP, Colangelo LH, Wieand HS, Paik S, Kirsch IR, Wolmark N, Allegra CJ: Prognostic and predictive roles of high-degree microsatellite instability in colon cancer: a National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Collaborative Study. *J Clin Oncol* 25: 767-772, 2007. PMID: 17228023. DOI: 10.1200/jco.2006.05.8172.

Kim, C.G., Ahn, J.B., Jung, M., Beom, S.H., Kim, C., Kim, J.H., Heo, S.J., Park, H.S., Kim, J.H., Kim, N.K., Min, B.S., Kim, H., Koom, W.S., Shin, S.J., 2016. Effects of microsatellite instability on recurrence patterns and outcomes in colorectal cancers. *Br. J. Cancer* 115 (1), 25–33.

Kim, J.H., Kang, G.H., 2014. Molecular and prognostic heterogeneity of microsatellite-unstable colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.* 20 (15),4230–4243.

Kim, S.T., Lee, J., Park, S.H., Park, J.O., Lim, H.Y., Kang, W.K., Kim, J.Y., Kim, Y.H., Chang, D.K., Rhee, P.L., Kim, D.S., Yun, H., Cho, Y.B., Kim, H.C., Yun, S.H., Chun, H.K., Lee, W.Y., Park, Y.S., 2010. The effect of DNA mismatch repair (MMR) status on oxaliplatin-based first-line chemotherapy as in recurrent or metastatic colon cancer. *Med. Oncol.* 27 (4), 1277–1285.

Klarskov, L., Holck, S., Bernstein, I., Okkels, H., Rambech, E., Baldetorp, B., Nilbert, M., 2011. Challenges in the identification of MSH6-associated colorectal cancer: rectal location, less typical histology, and a subset with retained mismatch repair function. *Am. J. Surg. Pathol.* 35 (9), 1391–1399.

Klingbiel, D., Saridaki, Z., Roth, A.D., Bosman, F.T., Delorenzi, M., Tejpar, S., 2015. Prognosis of stage II and III colon cancer treated with adjuvant 5-fluorouracil and FOLFIRI in relation to microsatellite status: results of the PETACC-3 trial. *Ann. Oncol.* 26 (1), 126–132.

Klingbiel, D., Saridaki, Z., Roth, A.D., Bosman, F.T., Delorenzi, M., Tejpar, S., 2015. Prognosis of stage II and III colon cancer treated with adjuvant 5-fluorouracil and FOLFIRI in relation to microsatellite status: results of the PETACC-3 trial. *Ann. Oncol.* 26 (1), 126–132.

Klingbiel, D., Saridaki, Z., Roth, A.D., Bosman, F.T., Delorenzi, M., Tejpar, S., 2015. Prognosis of stage II and III colon cancer treated with adjuvant 5-fluorouracil and FOLFIRI in relation to microsatellite status: results of the PETACC-3 trial. *Ann. Oncol.* 26 (1), 126–132.

Klingbiel, D., Saridaki, Z., Roth, A.D., Bosman, F.T., Delorenzi, M., Tejpar, S., 2015. Prognosis of stage II and III colon cancer treated with adjuvant 5-fluorouracil and FOLFIRI in relation to microsatellite status: results of the PETACC-3 trial. *Ann. Oncol.* 26 (1), 126–132.

Kloor, M., Huth, C., Voigt, A.Y., Benner, A., Schirmacher, P., von Knebel Doeberitz, M., Blaker, H., 2012. Prevalence of mismatch repair-deficient crypt foci in Lynch syndrome: a pathological study. *Lancet Oncol.* 13 (6), 598–606.

Koinuma, K., Shitoh, K., Miyakura, Y., Furukawa, T., Yamashita, Y., Ota, J., Ohki, R., Choi, Y.L., Wada, T., Konishi, F., Nagai, H., Mano, H., 2004. Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas. *Int. J. Cancer* 108 (2), 237–242.

Koinuma, K., Shitoh, K., Miyakura, Y., Furukawa, T., Yamashita, Y., Ota, J., Ohki, R., Choi, Y.L., Wada, T., Konishi, F., Nagai, H., Mano, H., 2004.

Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas. *Int. J. Cancer* 108 (2), 237–242.

Kovacs, M.E., Papp, J., Szentirmay, Z., Otto, S., Olah, E., 2009. Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. *Hum. Mutat.* 30 (2), 197–203.

Kovacs, M.E., Papp, J., Szentirmay, Z., Otto, S., Olah, E., 2009. Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. *Hum. Mutat.* 30 (2), 197–203.

Kuebler, J.P., Wieand, H.S., O'Connell, M.J., Smith, R.E., Colangelo, L.H., Yothers, G., Petrelli, N.J., Findlay, M.P., Seay, T.E., Atkins, J.N., Zapas, J.L., Goodwin, J.W., Fehrenbacher, L., Ramanathan, R.K., Conley, B.A., Flynn, P.J., Soori, G., Colman, L.K., Levine, E.A., Lanier, K.S., Wolmark, N., 2007. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J. Clin. Oncol.* 25 (16), 2198–2204.

Kuiper, R.P., Vissers, L.E., Venkatachalam, R., Bodmer, D., Hoenselaar, E., Goossens, M., Haufe, A., Kamping, E., Niessen, R.C., Hogervorst, F.B., Gille, J.J., Redeker, B., Tops, C.M., van Gijn, M.E., van den Ouweland, A.M., Rahner, N., Steinke, V., Kahl, P., Holinski-Feder, E., Morak, M., Kloor, M., Stemmler, S., Betz, B., Hutter, P., Bunyan, D.J., Syngal, S., Culver, J.O., Graham, T., Chan, T.L., Nagtegaal, I.D., van Krieken, J.H., Schackert, H.K., Hoogerbrugge, N., van Kessel, A.G., Ligtenberg, M.J., 2011. Recurrence and variability of germline EPCAM deletions in Lynch syndrome. *Hum. Mutat.* 32 (4), 407–414.

Kuiper, R.P., Vissers, L.E., Venkatachalam, R., Bodmer, D., Hoenselaar, E., Goossens, M., Haufe, A., Kamping, E., Niessen, R.C., Hogervorst, F.B., Gille, J.J., Redeker, B., Tops, C.M., van Gijn, M.E., van den Ouweland, A.M., Rahner, N., Steinke, V., Kahl, P., Holinski-Feder, E., Morak, M., Kloor, M., Stemmler, S., Betz, B., Hutter, P., Bunyan, D.J., Syngal, S., Culver, J.O., Graham, T., Chan, T.L., Nagtegaal, I.D., van Krieken, J.H., Schackert, H.K., Hoogerbrugge, N., van

Kessel, A.G., Ligtenberg, M.J., 2011. Recurrence and variability of germline EPCAM deletions in Lynch syndrome. *Hum. Mutat.* 32 (4), 407–414.

Kuismanen, S.A., Holmberg, M.T., Salovaara, R., de la Chapelle, A., Peltomäki, P., 2000. Genetic and epigenetic modification of MLH1 accounts for a major share of microsatellite-Unstable colorectal cancers. *Am. J. Pathol.* 156 (5), 1773–1779.

Kushi L. Giovannucci E. (2002) Dietary Fat and Cancer. *The American Journal of Medicine* 113 (9B): 63-70.

Lagerstedt Robinson, K., Liu, T., Vandrovcova, J., Halvarsson, B., Clendenning, M., Frebourg, T., Papadopoulos, N., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., Peltomäki, P., Kolodner, R.D., Nilbert, M., Lindblom, A., 2007. Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) diagnostics. *J. Natl. Cancer Inst.* 99 (4), 291–299.

Larsson SC, Orsini N, Wolk (2005) A Diabetes mellitus and risk of colorectal cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 97(22):1679-1687.

Lasota, J., Kowalik, A., Wasag, B., Wang, Z.F., Felisiak-Golabek, A., Coates, T., Kopczynski, J., Gozdz, S., Miettinen, M., 2014. Detection of the BRAF V600E mutation in colon carcinoma: critical evaluation of the immunohistochemical approach. *The Am. J. Surg. Pathol.* 38 (9), 1235–1241.

Le Flahec, G., Uguen, M., Uguen, A., 2016. Detection of mismatch repair deficiency in colorectal cancers: is it really time to eliminate immunohistochemistry? *J. Clin. Oncol.* 35 (3), 376–377, <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2016.68.3193>.

Le, D.T., Uram, J.N., Wang, H., Bartlett, B.R., Kemberling, H., Eyring, A.D., Skora, A.D., Luber, B.S., Azad, N.S., Laheru, D., Biedrzycki, B., Donehower, R.C., Zaheer, A., Fisher, G.A., Crocenzi, T.S., Lee, J.J., Duffy, S.M., Goldberg, R.M., de la Chapelle, A., Koshiji, M., Bhaijee, F., Huebner, T., Hruban, R.H., Wood, L.D., Cuka, N., Pardoll, D.M., Papadopoulos, N., Kinzler, K.W., Zhou, S., Cornish, T.C., Taube, J.M., Anders, R.A., Eshleman, J.R., Vogelstein, B.,

Diaz Jr., L.A., 2015. PD-1 blockade intumors with mismatch-Repair deficiency. *N. Engl. J. Med.* 372 (26), 2509–2520.

Le, D.T., Uram, J.N., Wang, H., Bartlett, B.R., Kemberling, H., Eyring, A.D., Skora, A.D.,Luber, B.S., Azad, N.S., Laheru, D., Biedrzycki, B., Donehower, R.C., Zaheer, A.,Fisher, G.A., Crocenzi, T.S., Lee, J.J., Duffy, S.M., Goldberg, R.M., de la Chapelle, A.,Koshiji, M., Bhaijee, F., Huebner, T., Hruban, R.H., Wood, L.D., Cuka, N., Pardoll,D.M., Papadopoulos, N., Kinzler, K.W., Zhou, S., Cornish, T.C., Taube, J.M.,Anders, R.A., Eshleman, J.R., Vogelstein, B., Diaz Jr., L.A., 2015. PD-1 blockade intumors with mismatch-Repair deficiency. *N. Engl. J. Med.* 372 (26), 2509–2520.

Le, D.T., Uram, J.N., Wang, H., Bartlett, B.R., Kemberling, H., Eyring, A.D., Skora, A.D.,Luber, B.S., Azad, N.S., Laheru, D., Biedrzycki, B., Donehower, R.C., Zaheer, A.,Fisher, G.A., Crocenzi, T.S., Lee, J.J., Duffy, S.M., Goldberg, R.M., de la Chapelle, A.,Koshiji, M., Bhaijee, F., Huebner, T., Hruban, R.H., Wood, L.D., Cuka, N., Pardoll,D.M., Papadopoulos, N., Kinzler, K.W., Zhou, S., Cornish, T.C., Taube, J.M.,Anders, R.A., Eshleman, J.R., Vogelstein, B., Diaz Jr., L.A., 2015. PD-1 blockade intumors with mismatch-Repair deficiency. *N. Engl. J. Med.* 372 (26), 2509–2520.

Lee, J.S., Petrelli, N.J., Rodriguez-Bigas, M.A., 2001. Rectal cancer in hereditarynonpolyposis colorectal cancer. *Am. J. Surg.* 181 (3), 207–210.

Leenen, C.H., van Lier, M.G., van Doorn, H.C., van Leerdam, M.E., Kooi, S.G., deWaard, J., Hoedemaeker, R.F., van den Ouweland, A.M., Hulspas, S.M., Dubbink,H.J., Kuipers, E.J., Wagner, A., Dinjens, W.N., Steyerberg, E.W., 2012. Prospectiveevaluation of molecular screening for Lynch syndrome in patients withendometrial cancer </ = 70 years. *Gynecol. Oncol.* 125 (2), 414–420.

Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Smith RA, Brooks D, Andrews KS, Dash C, Giardiello FM, Glick S, Levin TR, Pickhardt P, Rex DK, Thorson A, Winawer SJ (2008) Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal

Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology* 134(5):1570-1595

Levin KE, Dozois RR. (1991) Epidemiology of large bowel cancer. *World J Surg.* 15(5):562-567.

Li HT, Lu YY, An YX, Wang X, Zhao QC: KRAS, BRAF and PIK3CA mutations in human colorectal cancer: relationship with metastatic colorectal cancer. *Oncol Rep* 25: 1691-1697, 2011. PMID: 21424126. DOI: 10.3892/or.2011.1217.

Li HT, Lu YY, An YX, Wang X, Zhao QC: KRAS, BRAF and PIK3CA mutations in human colorectal cancer: relationship with metastatic colorectal cancer. *Oncol Rep* 25: 1691-1697, 2011. PMID: 21424126. DOI: 10.3892/or.2011.1217.

Liao W, Liao Y, Zhou JX, Xie J, Chen J, Huang W, Luo R: Gene mutations in epidermal growth factor receptor signaling network and their association with survival in Chinese patients with metastatic colorectal cancers. *Anat Rec (Hoboken)* 293: 1506-1511, 2010. PMID: 20652941. DOI: 10.1002/ar.21202.

Ligtenberg, M.J., Kuiper, R.P., Chan, T.L., Goossens, M., Hebeda, K.M., Voorendt, M., Lee, T.Y., Bodmer, D., Hoenselaar, E., Hendriks-Cornelissen, S.J., Tsui, W.Y., Kong, C.K., Brunner, H.G., van Kessel, A.G., Yuen, S.T., van Krieken, J.H., Leung, S.Y., Hoogerbrugge, N., 2009. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. *Nat. Genet.* 41 (1), 112–117.

Lim, S.H., Chua, W., Henderson, C., Ng, W., Shin, J.S., Chantrill, L., Asghari, R., Lee, C.S., Spring, K.J., de Souza, P., 2015. Predictive and prognostic biomarkers for neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 96 (1), 67–80.

Lim, S.H., Chua, W., Henderson, C., Ng, W., Shin, J.S., Chantrill, L., Asghari, R., Lee, C.S., Spring, K.J., de Souza, P., 2015. Predictive and prognostic biomarkers for neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 96 (1), 67–80.

Lindor, N.M., Rabe, K., Petersen, G.M., Haile, R., Casey, G., Baron, J., Gallinger, S.,Bapat, B., Aronson, M., Hopper, J., Jass, J., LeMarchand, L., Grove, J., Potter, J.,Newcomb, P., Terdiman, J.P., Conrad, P., Moslein, G., Goldberg, R., Ziogas, A.,Anton-Culver, H., de Andrade, M., Siegmund, K., Thibodeau, S.N., Boardman,L.A., Seminara, D., 2005. Lower cancer incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X.JAMA 293 (16), 1979–1985.

Lindor, N.M., Rabe, K., Petersen, G.M., Haile, R., Casey, G., Baron, J., Gallinger, S.,Bapat, B., Aronson, M., Hopper, J., Jass, J., LeMarchand, L., Grove, J., Potter, J.,Newcomb, P., Terdiman, J.P., Conrad, P., Moslein, G., Goldberg, R., Ziogas, A.,Anton-Culver, H., de Andrade, M., Siegmund, K., Thibodeau, S.N., Boardman,L.A., Seminara, D., 2005. Lower cancer incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X.JAMA 293 (16), 1979–1985.Llosa, N.J., Cruise, M., Tam, A., Wicks.

Liou JM, Wu MS, Shun CT, Chiu HM, Chen MJ, Chen CC, Wang HP, Lin JT, Liang JT: Mutations in BRAF correlate with poor survival of colorectal cancers in Chinese population. *Int J Colorectal Dis* 26: 1387-1395, 2011. PMID: 21553007. DOI: 10.1007/s00384-011-1229-1.

Liou JM, Wu MS, Shun CT, Chiu HM, Chen MJ, Chen CC, Wang HP, Lin JT, Liang JT: Mutations in BRAF correlate with poor survival of colorectal cancers in Chinese population. *Int J Colorectal Dis* 26: 1387-1395, 2011. PMID: 21553007. DOI: 10.1007/s00384-011-1229-1.

Llosa, N.J., Cruise, M., Tam, A., Wicks, E.C., Hechenbleikner, E.M., Taube, J.M.,Blosser, R.L., Fan, H., Wang, H., Lubber, B.S., Zhang, M., Papadopoulos, N., Kinzler,K.W., Vogelstein, B., Sears, C.L., Anders, R.A., Pardoll, D.M., Housseau, F., 2015.The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable coloncancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints. *Cancer Discov.*5 (1), 43–51.

Losso GM, Moraes Rda S, Gentili AC, Messias-Reason IT. Microsatellite instability--MSI markers (BAT26, BAT25, D2S123, D5S346, D17S250) in

rectal cancer. *Arq Bras Cir Dig.* 2012 Oct-Dec;25(4):240-4. English, Portuguese. PMID:23411922

Lu, K.H., Wood, M.E., Daniels, M., Burke, C., Ford, J., Kauff, N.D., Kohlmann, W., Lindor, N.M., Mulvey, T.M., Robinson, L., Rubinstein, W.S., Stoffel, E.M., Snyder, C., Syngal, S., Merrill, J.K., Wollins, D.S., Hughes, K.S., 2014. American Society of Clinical Oncology Expert Statement: collection and use of a cancer family history for oncology providers. *J. Clin. Oncol.* 32 (8), 833–840.

Lynch, H.T., Lynch, P.M., Lanspa, S.J., Snyder, C.L., Lynch, J.F., Boland, C.R., 2009. Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin. Genet.* 76 (1), 1–18.

H. M., Ryan, E., Balasubramanian, I., Kennelly, R., Geraghty, R., Sclafani, F., Fennelly, D., McDermott, R., Ryan, E.J., O'Donoghue, D., Hyland, J.M., Martin, S.T., O'Connell, P.R., Gibbons, D., Winter, D., Sheahan, K., 2016. Microsatellite instability is associated with reduced disease specific survival in stage III colon cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* 42 (November (11)), 1680–1686, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2016.05.013>, Epub 2016 Jun 22.

M. , Sigg, M., Ruschoff, J.H., Wild, P.J., Moch, H., Weber, A., Rechsteiner, M.P., 2013. Ultra-deep sequencing confirms immunohistochemistry as a highly sensitive and specific method for detecting BRAF V600E mutations in colorectal carcinoma. *Virchows Arch.* 463 (5), 623–631.

N. B., Allen, B., Kaldate, R.R., Bowles, K.R., Judkins, T., Kaushik, P., Roa, B.B., Wenstrup, R.J., Hartman, A.R., Syngal, S., 2015. Identification of a variety of mutations in cancer predisposition genes in patients with suspected Lynch syndrome. *Gastroenterology* 149 (3), 604–613 (e620).

M. E., Papp, J., Szentirmay, Z., Otto, S., Olah, E., 2009. Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. *Hum. Mutat.* 30 (2), 197–203.

Malesci A, Laghi L, Bianchi P, et al.:Reduced likelihood of metastases in patients with microsatellite-unstable colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 13: 3831-3839, 2007.

Mao C, Zhou J, Yang Z, Huang Y, Wu X, Shen H, Tang J, Chen Q: KRAS, BRAF and PIK3CA mutations and the loss of PTEN expression in Chinese patients with colorectal cancer. *PLoS One* 7: e36653, 2012. PMID: 22586484. DOI: 10.1371/journal.pone.0036653.

Markowitz, S., Wang, J., Myeroff, L., Parsons, R., Sun, L., Lutterbaugh, J., Fan, R.S.,Zborowska, E., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., et al., 1995. Inactivation of the typeII TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability.*Science (New York, N.Y.)* 268 (5215), 1336–1338.

Martínez ME, Giovannucci E, Spiegelman D, Hunter DJ, Willett WC, Colditz GA (1997) Leisure-time physical activity, body size, and colon cancer in women. Nurses' Health Study Research Group *J Natl Cancer Inst.* 89 (13):948-955

Mavligit, G.M., Gutterman, J.U., Malahy, M.A., Burgess, M.A., McBride, C.M., Jubert,A., Hersh, E.M., 1977. Adjuvant immunotherapy and chemoimmunotherapy incolorectal cancer (Dukes' class C): prolongation of disease-free interval andsurvival. *Cancer* 40 (Suppl. 5), 2726–2730.

Mensenkampet, A.R., Vogelaar, I.P., van Zelst-Stams, W.A., Goossens, M., Ouchene, H.,Hendriks-Cornelissen, S.J., Kwint, M.P., Hoogerbrugge, N., Nagtegaal, I.D.,Ligtenberg, M.J., 2014. Somatic mutations in MLH1 and MSH2 are a frequentcause of mismatch-repair deficiency in Lynch syndrome-like tumors.*Gastroenterology* 146 (3), 643–646 (e648).

Miller PE. Lazarus P, Lesko SM, Cross AJ, Sinha R, Laio J, Zhu J, Harper G, Muscat

Mitchell, R.J., Brewster, D., Campbell, H., Porteous, M.E., Wyllie, A.H., Bird, C.C.,Dunlop, M.G., 2004. Accuracy of reporting of family history of colorectalcancer. *Gut* 53 (2), 291–295.

Mohan, H.M., Ryan, E., Balasubramanian, I., Kennelly, R., Geraghty, R., Sclafani, F., Fennelly, D., McDermott, R., Ryan, E.J., O'Donoghue, D., Hyland, J.M., Martin, S.T., O'Connell, P.R., Gibbons, D., Winter, D., Sheahan, K., 2016. Microsatellite instability is associated with reduced disease specific survival in stage III colon cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* 42 (November (11)), 1680–1686, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2016.05.013>, Epub 2016 Jun 22.

Molinari F, Felicioni L, Buscarino M, De Dosso S, Buttitta F, Malatesta S, Movilia A, Luoni M, Boldorini R, Alabiso O, Girlando S, Soini B, Spitale A, Di Nicolantonio F, Saletti P, Crippa S, Mazzucchelli L, Marchetti A, Bardelli A, Frattini M: Increased detection sensitivity for KRAS mutations enhances the prediction of anti-EGFR monoclonal antibody resistance in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 17: 4901-4914, 2011. PMID: 21632860. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-10-3137.

Moller, P., Seppala, T., Bernstein, I., Holinski-Feder, E., Sala, P., Evans, D.G., Lindblom, A., Macrae, F., Blanco, I., 2015. Cancer Incidence and Survival in Lynch Syndrome Patients Receiving Colonoscopic and Gynaecological Surveillance: First Report from the Prospective Lynch Syndrome Database.

Moore K. Dalley A. Agur A. (2012) Κλινική ανατομία 6^η έκδοση, Επιμέλεια Ελληνική έκδοσης: Αρβανίτης Δ. Καναβάρος Π. Νάτσης Κ. Τζανακάκης Γ. Εκδόσεις: Π.Χ Πασχαλίδης-Broken Hill Publisher Ltd

Moreira, L., Balaguer, F., Lindor, N., de la Chapelle, A., Hampel, H., Aaltonen, L.A., Hopper, J.L., Le Marchand, L., Gallinger, S., Newcomb, P.A., Haile, R., Thibodeau, S.N., Gunawardena, S., Jenkins, M.A., Buchanan, D.D., Potter, J.D., Baron, J.A., Ahnen, D.J., Moreno, V., Andreu, M., Ponz de Leon, M., Rustgi, A.K., Castells, A., 2012a. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *JAMA* 308 (15), 1555–1565.

Moreira, L., Balaguer, F., Lindor, N., de la Chapelle, A., Hampel, H., Aaltonen, L.A., Hopper, J.L., Le Marchand, L., Gallinger, S., Newcomb, P.A., Haile, R., Thibodeau, S.N., Gunawardena, S., Jenkins, M.A., Buchanan, D.D., Potter, J.D., Baron, J.A., Ahnen, D.J., Moreno, V., Andreu, M., Ponz de Leon, M., Rustgi, A.K., Castells, A., Consortium, E., 2012b. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *JAMA* 308 (15), 1555–1565.

Moulton, H.M., Yoshihara, P.H., Mason, D.H., Iversen, P.L., Triozzi, P.L., 2002. Activespecific immunotherapy with a beta-human chorionic gonadotropin peptidevaccine in patients with metastatic colorectal cancer: antibody response isassociated with improved survival. *Clin. Cancer Res.* 8 (7), 2044–2051.

Muir's Παθολογική Ανατομική, (2019) 9: 419 εκδόσεις Πασχαλίδης.

Muller CI, Schulmann K, Reinacher-Schick A, et al.: Predictive and prognostic value of microsatellite instability in patients with advanced colorectal cancer treated with a fluoropyrimidine and oxaliplatin containing first-line chemotherapy. A report of the AIO Colorectal Study Group. *Int J Colorectal Dis* 23: 1033-1039, 2008.

Musulen, E., Blanco, I., Carrato, C., Fernandez-Figueras, M.T., Pineda, M., Capella, G., Ariza, A., 2013. Usefulness of epithelial cell adhesion molecule expression inthe algorithmic approach to Lynch syndrome identification. *Hum. Pathol.* 44(3), 412–416.

Naguib A, Mitrou PN, Gay LJ, Cooke JC, Luben RN, Ball RY, McTaggart A, Arends MJ, Rodwell SA: Dietary, lifestyle and clinicopathological factors associated with BRAF and K-ras mutations arising in distinct subsets of colorectal cancers in the EPIC Norfolk study. *BMC Cancer* 10: 99, 2010. PMID: 20233436. DOI: 10.1186/1471-2407-10-99.

Ngeow, J., Eng, C., 2013. Population-based universal screening for Lynch syndrome:ready, set. . . How? *J. Clin. Oncol.* 31 (20), 2527–2529.

Nichita C. (2013) Prévention et dépistage du cancer colorectal. Available from: http://www.chuv.ch/gastro-hepato/glg_journee_culturelle_11.2013_cnichita.pdf

Nilbert, M., Planck, M., Fernebro, E., Borg, A., Johnson, A., 1999. Microsatelliteinstability is rare in rectal carcinomas and signifies hereditary cancer. *Eur. J.Cancer (Oxford, Engl.:* 1990 35 (6), 942–945.

Nordholm-Carstensen, A., Krarup, P.M., Morton, D., Harling, H., 2015. Mismatchrepair status and synchronous metastases in colorectal cancer: a nationwidecohort study. *Int. J. Cancer* 137 (9), 2139–2148.

Nordholm-Carstensen, A., Krarup, P.M., Morton, D., Harling, H., 2015. Mismatch repair status and synchronous metastases in colorectal cancer: a nationwide cohort study. *Int. J. Cancer* 137 (9), 2139–2148.

Ogino, S., Goel, A., 2008. Molecular classification and correlates in colorectal cancer. *J. Mol. Diagn.: JMD* 10 (1), 13–27.

Ogino, S., Shima, K., Meyerhardt, J.A., McCleary, N.J., Ng, K., Hollis, D., Saltz, L.B., Mayer, R.J., Schaefer, P., Whittom, R., Hantel, A., Benson 3rd, A.B., Spiegelman, D., Goldberg, R.M., Bertagnolli, M.M., Fuchs, C.S., 2012. Predictive and prognostic roles of BRAF mutation in stage III colon cancer: results from intergroup trial CALGB 89803. *Clin. Cancer Res.* 18 (3), 890–900.

Ollila, S., Sarantaus, L., Kariola, R., Chan, P., Hampel, H., Holinski-Feder, E., Macrae, F., Kohonen-Corish, M., Gerdes, A.M., Peltomaki, P., Mangold, E., de la Chapelle, A., Greenblatt, M., Nystrom, M., 2006. Pathogenicity of MSH2 missense mutations is typically associated with impaired repair capability of the mutated protein. *Gastroenterology* 131 (5), 1408–1417.

Pai, R.K., Jayachandran, P., Koong, A.C., Chang, D.T., Kwok, S., Ma, L., Arber, D.A., Balise, R.R., Tubbs, R.R., Shadrach, B., Pai, R.K., 2012. BRAF-mutated, microsatellite-stable adenocarcinoma of the proximal colon: an aggressive adenocarcinoma with poor survival, mucinous differentiation, and adverse morphologic features. *Am. J. Surg. Pathol.* 36 (5), 744–752.

Pai, R.K., Shadrach, B.L., Carver, P., Heald, B., Moline, J., Church, J., Kalady, M.F., Burke, C.A., Plesec, T.P., Lai, K.K., Gonzalo, D.H., Pai, R.K., 2014. Immunohistochemistry for annexin A10 can distinguish sporadic from Lynch syndrome-associated microsatellite-unstable colorectal carcinoma. *American J. Surg. Pathol.* 38 (4), 518–525.

Palles, C., Cazier, J.B., Howarth, K.M., Domingo, E., Jones, A.M., Broderick, P., Kemp, Z., Spain, S.L., Guarino, E., Salguero, I., Sherborne, A., Chubb, D., Carvajal-Carmona, L.G., Ma, Y., Kaur, K., Dobbins, S., Barclay, E., Gorman, M., Martin, L., Kovac, M.B., Humphray, S., Lucassen, A., Holmes,

C.C., Bentley, D., Donnelly, P., Taylor, J., Petridis, C., Roylance, R., Sawyer, E.J., Kerr, D.J., Clark, S., Grimes, J., Kearsley, S.E., Thomas, H.J., McVean, G., Houlston, R.S., Tomlinson, I., 2013. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat. Genet.* 45 (2), 136–144.

Palomaki, G.E., McClain, M.R., Melillo, S., Hampel, H.L., Thibodeau, S.N., 2009. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. *Genet. Med.* 11 (1), 42–65.

Papadopoulos V. Michalopoulos A. Basdanis G. Papapolychroniadis K. Paramythiotis D. Fotiadis P. Berovalis P. Harlaftis N. (2004) Synchronous and metachronous colorectal carcinoma *Techniques in Coloproctology*, 8 (1):97-100

Papapolychroniadis C. (2004) Environmental and other risk factors for colorectal carcinogenesis *Tech Coloproctol.* 1:7-9

Park, I.J., You, Y.N., Agarwal, A., Skibber, J.M., Rodriguez-Bigas, M.A., Eng, C., Feig, B.W., Das, P., Krishnan, S., Crane, C.H., Hu, C.-Y., Chang, G.J., 2012. Neoadjuvant treatment response As an early response indicator for patients with rectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 30 (15), 1770–1776.

Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, et al.: Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. *J Med Genet* 49: 151–7, 2012.

Parsons, M.T., Buchanan, D.D., Thompson, B., Young, J.P., Spurdle, A.B., 2012. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. *J. Med. Genet.* 49 (3), 151–157.

Peltomaki, P., 2003. Role of DNA mismatch repair defects in the pathogenesis of human cancer. *J. Clin. Oncol.* 21 (6), 1174–1179.

Pérez-Ruiz E, Rueda A, Pereda T, Alcaide J, Bautista D, Rivas Ruiz F, Villatoro R, Pérez D, Redondo M: Involvement of K-RAS mutations and amino acid

substitutions in the survival of metastatic colorectal cancer patients. *Tumour Biol* 33: 1829-1835, 2012. PMID: 22791568. DOI: 10.1007/s13277-012-0442-z.

Peter N. Abotchie, Sally W. Vernon, Xianglin L. Du: Gender Differences in Colorectal Cancer Incidence in the United States, 1975–2006. *Journal of women's health* Volume 21, Number 4, Mary Ann Liebert, Inc, 2012. DOI: 10.1089/jwh.2011.2992.

Peterlongo, P., Nafa, K., Lerman, G.S., Glogowski, E., Shia, J., Ye, T.Z., Markowitz, A.J., Guillem, J.G., Kolachana, P., Boyd, J.A., Offit, K., Ellis, N.A., 2003. MSH6 germline mutations are rare in colorectal cancer families. *Int. J. Cancer* 107 (4), 571–579.

Peterson, L.M., Kipp, B.R., Halling, K.C., Kerr, S.E., Smith, D.I., Distad, T.J., Clayton, A.C., Medeiros, F., 2012. Molecular characterization of endometrial cancer: a correlative study assessing microsatellite instability, MLH1 hypermethylation, DNA mismatch repair protein expression, and PTEN, PIK3CA, KRAS, and BRAF mutation analysis. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 31 (3), 195–205.

Phelps RA, Chidester S, Dehghanizadeh S, Phelps J, Sandoval IT, Rai K, Broadbent T, Sarkar S, Burt RW, Jones DA. A two-step model for colon adenoma initiation and progression caused by APC loss. *Cell.* 2009 May 15;137(4):623-34. doi: 10.1016/j.cell.2009.02.037. PMID:19450512.

Phillips, S.M., Banerjea, A., Feakins, R., Li, S.R., Bustin, S.A., Dorudi, S., 2004. Tumour-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer with microsatellite instability are activated and cytotoxic. *Br. J. Surg.* 91 (4), 469–475.

Phipps AI, Buchanan DD, Makar KW, et al.: BRAF mutation status and survival after colorectal cancer diagnosis according to patient and tumor characteristics. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 21:1792–8, 2012.

Phipps, A.I., Limburg, P.J., Baron, J.A., Burnett-Hartman, A.N., Weisenberger, D.J., Laird, P.W., Sinicrope, F.A., Rosty, C., Buchanan, D.D., Potter, J.D.,

Newcomb, P.A., 2015. Association between molecular subtypes of colorectal cancer and patient survival. *Gastroenterology* 148 (1), 77–87 (e72).

Pino, M.S., Chung, D.C., 2011. Microsatellite instability in the management of colorectal cancer. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 5 (3), 385–399.

Plaschke, J., Engel, C., Kruger, S., Holinski-Feder, E., Pagenstecher, C., Mangold, E., Moeslein, G., Schulmann, K., Gebert, J., von Knebel Doeberitz, M., Ruschoff, J., Loeffler, M., Schackert, H.K., 2004. Lower incidence of colorectal cancer and later age of disease onset in 27 families with pathogenic MSH6 germline mutations compared with families with MLH1 or MSH2 mutations: the German Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Consortium. *J. Clin. Oncol.* 22 (22), 4486–4494.

Pogue-Geile, K., Yothers, G., Taniyama, Y., Tanaka, N., Gavin, P., Colangelo, L., Blackmon, N., Lipchik, C., Kim, S.R., Sharif, S., Allegra, C., Petrelli, N., O'Connell, M.J., Wolmark, N., Paik, S., 2013. Defective mismatch repair and benefit from bevacizumab for colon cancer: findings from NSABP C-08. *J. Natl. Cancer Inst.* 105 (13), 989–992.

Polyak K, Hamilton SR, Vogelstein B, Kinzler KW (1996) Early alteration of cell-cycle-regulated gene expression in colorectal neoplasia. *American journal of Pathology* 149:381-387

Polydorides, A.D., Mukherjee, B., Gruber, S.B., McKenna, B.J., Appelman, H.D., Greenson, J.K., 2008. Adenoma-infiltrating lymphocytes (AILs) are a potential marker of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Am. J. Surg. Pathol.* 32(11), 1661–1666.

Popat, S., Hubner, R., Houlston, R.S., 2005. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J. Clin. Oncol.* 23 (3), 609–618.

Poulogiannis, G., Frayling, I.M., Arends, M.J., 2010. DNA mismatch repair deficiency in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. *Histopathology* 56 (2), 167–179.

Rampino, N., Yamamoto, H., Ionov, Y., Li, Y., Sawai, H., Reed, J.C., Perucho, M., 1997. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science (New York, N.Y.)* 275 (5302), 967–969.

Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al.: Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 349: 247-257, 2003.

Ribic, C.M., Sargent, D.J., Moore, M.J., Thibodeau, S.N., French, A.J., Goldberg, R.M., Hamilton, S.R., Laurent-Puig, P., Gryfe, R., Shepherd, L.E., Tu, D., Redston, M., Gallinger, S., 2003. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N.Engl. J. Med.* 349 (3), 247–257.

Rigau, V., Sebbagh, N., Olschwang, S., Paraf, F., Mourra, N., Parc, Y., Flejou, J.F., 2003. Microsatellite instability in colorectal carcinoma. The comparison of immunohistochemistry and molecular biology suggests a role for hMSH6 [correction of hMLH6] immunostaining. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 127 (6), 694–700.

Robinson, K., Liu, T., Vandrovcova, J., Halvarsson, B., Clendenning, M., Frebourg, T., Papadopoulos, N., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., Peltomaki, P., Kolodner, R.D., Nilbert, M., Lindblom, A., 2007. Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) diagnostics. *J. Natl. Cancer Inst.* 99 (4), 291–299.

Rodriguez-Bigas, M.A., Boland, C.R., Hamilton, S.R., Henson, D.E., Jass, J.R., Khan, P.M., Lynch, H., Perucho, M., Smyrk, T., Sobin, L., Srivastava, S., 1997. A national cancer institute workshop on hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J. Natl. Cancer Inst.* 89(23), 1758–1762.

Rodriguez-Soler, M., Perez-Carbonell, L., Guarinos, C., Zapater, P., Castillejo, A., Barbera, V.M., Juarez, M., Bessa, X., Xicola, R.M., Cloment, J., Bujanda, L., Balaguer, F., Rene, J.M., de-Castro, L., Marin-Gabriel, J.C., Lanas, A., Cubiella, J., Nicolas-Perez, D., Brea-Fernandez, A., Castellvi-Bel, S., Alenda, C.,

Ruiz-Ponte,C., Carracedo, A., Castells, A., Andreu, M., Llor, X., Soto, J.L., Paya, A., Jover, R.,2013. Risk of cancer in cases of suspected lynch syndrome without germlinemutation. *Gastroenterology*, 926–932.

Rowan A, Halford S, Gaasenbeek M, Kemp Z, Sieber O, Volikos E, Douglas E, Fiegler H, Carter N, Talbot I, Silver A, Tomlinson I. Refining molecular analysis in the pathways of colorectal carcinogenesis.*Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005 Nov;3(11):1115-23.PMID:16271343.

Rosty, C., Williamson, E.J., Clendenning, M., Walters, R.J., Win, A.K., Jenkins, M.A.,Hopper, J.L., Winship, I.M., Southey, M.C., Giles, G.G., English, D.R., Buchanan,D.D., 2014. Should the grading of colorectal adenocarcinoma includemicrosatellite instability status? *Hum. Pathol.* 45 (10), 2077–2084.

Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, Dietrich D, Biesmans B, Bodoky G, Barone C, Aranda E, Nordlinger B, Cisar L, Labianca R, Cunningham D, Van Cutsem E, Bosman F. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 466-474 [PMID: 20008640 DOI: 10.1200/jco.2009.23.3452]

Roth, A.D., Delorenzi, M., Tejpar, S., Yan, P., Klingbiel, D., Fiocca, R., d’Ario, G., Cisar,L., Labianca, R., Cunningham, D., Nordlinger, B., Bosman, F., Van Cutsem, E.,2012. Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stageII/III colon cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 104 (21), 1635–1646.

Roth, A.D., Tejpar, S., Delorenzi, M., Yan, P., Fiocca, R., Klingbiel, D., Dietrich, D.,Biesmans, B., Bodoky, G., Barone, C., Aranda, E., Nordlinger, B., Cisar, L.,Labianca, R., Cunningham, D., Van Cutsem, E., Bosman, F., 2010. Prognostic roleof KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of thetranslational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J. Clin.Oncol.* 28 (3), 466–474.

Rozek LS, Herron CM, Greenson JK, Moreno V, Capella G, Rennert G, Gruber SB: Smoking, gender, and ethnicity predict somatic BRAF mutations in colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 19: 838-843, 2010. PMID: 20200438. DOI: 10.1158/1055-9965.epi-09-1112.

- Ryan-Harshmann M. Aldoori W. (2007) Diet and colorectal cancer *Canadian Family Physician* 53 (11):1913-1920.
- Saltz, L.B., Niedzwiecki, D., Hollis, D., Goldberg, R.M., Hantel, A., Thomas, J.P., Fields, A.L., Mayer, R.J., 2007. Irinotecan fluorouracil plus leucovorin is not superior to fluorouracil plus leucovorin alone as adjuvant treatment for stage III colon cancer: results of CALGB 89803. *J. Clin. Oncol.* 25 (23), 3456–3461.
- Sameer D. Saini D.S., Kim M.H., Schoenfeld P. (2006) Incidence of advanced adenomas at surveillance colonoscopy in patients with a personal history of colon adenomas: a meta-analysis and systematic review. *Gastrointestinal Endoscopy* 64 (4):614-626
- Samowitz WS, Curtin K, Schaffer D, Robertson M, Leppert M, Slattery ML: Relationship of Ki-ras mutations in colon cancers to tumor location, stage, and survival: a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 1193-1197, 2000. PMID: 11097226.
- Samowitz, W.S., Curtin, K., Wolff, R.K., Tripp, S.R., Caan, B.J., Slattery, M.L., 2009. Microsatellite instability and survival in rectal cancer. *Cancer Causes Control: CCC* 20 (9), 1763–1768.
- Sandhu MS. White I. McPherson K. (2001) Systematic review of the prospective cohort studies on meat consumption and colorectal cancer risk: A meta-analytical approach. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10 (5):439-446.
- San-Gang Wu, Jia-Yuan Sun, Juan Zhou, Feng-Yan Li, Qin Lin, Huan-Xin Lin, Xun-Xing Guan, and Zhen-Yu He: Number of negative lymph nodes is associated with disease-free survival in patients with breast cancer. *BMC Cancer* 15: 43, 2015. Published online 2015 Feb 7. DOI: 10.1186/s12885-015-1061-z.
- Sargent, D.J., Marsoni, S., Monges, G., Thibodeau, S.N., Labianca, R., Hamilton, S.R., French, A.J., Kabat, B., Foster, N.R., Torri, V., Ribic, C., Grothey, A., Moore, M., Zaniboni, A., Seitz, J.F., Sinicrope, F., Gallinger, S., 2010. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J. Clin. Oncol.* 28 (20), 3219–3226.
- Saridaki, Z., Souglakos, J., Georgoulas, V., 2014. Prognostic and predictive significance of MSI in stages II/III colon cancer. *World J. Gastroenterol.* 20 (22), 6809–6814.

Schmeler, K.M., Lynch, H.T., Chen, L.M., Munsell, M.F., Soliman, P.T., Clark, M.B., Daniels, M.S., White, K.G., Boyd-Rogers, S.G., Conrad, P.G., Yang, K.Y., Rubin, M.M., Sun, C.C., Slomovitz, B.M., Gershenson, D.M., Lu, K.H., 2006. Prophylactic surgery to reduce the risk of gynecologic cancers in the Lynch syndrome. *N.Engl. J. Med.* 354 (3), 261–269.

Schneider, J.L., Davis, J., Kauffman, T.L., 2016. Stakeholder perspectives on implementing a universal Lynch syndrome screening program: a qualitative study of early barriers and facilitators. *Genet. Med.* 18 (February (2)), 152–161, <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2015.43>, Epub 2015 Apr 16.

Schulz, E., Klampfl, P., Holzapfel, S., Janecke, A.R., Ulz, P., Renner, W., Kashofer, K., Nojima, S., Leitner, A., Zebisch, A., Wolfler, A., Hofer, S., Gerger, A., Lax, S., Beham-Schmid, C., Steinke, V., Heitzer, E., Geigl, J.B., Windpassinger, C., Hoefler, G., Speicher, M.R., Boland, C.R., Kumanogoh, A., Sill, H., 2014. Germline variants in the SEMA4A gene predispose to familial colorectal cancer type X. *Nat. Commun.* 5, 5191.

Schunke M., Schulte E., Schumacher U. (2011). Βασική Περιγραφική Ανατομική. Τόμος II. (Επιμέλεια Ελληνικής έκδοσης Αρβανίτης Δ., Βαράκης Ι., Δημητρίου Θ., Καναβάρος Π., Μανώλης Ε., Μπαλτόπουλος Π., Μυλωνάς Α., Νάτσης Κ., Τσικάρας Π., Τουσίμης Δ.) Αθήνα, Εκδόσεις Πασχαλίδης.

Schwartz Jr., S., Yamamoto, H., Navarro, M., Maestro, M., Reventos, J., Perucho, M., 1999. Frameshift mutations at mononucleotide repeats in caspase-5 and other target genes in endometrial and gastrointestinal cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Cancer Res.* 59 (12), 2995–3002.

Segui, N., Mina, L.B., Lazaro, C., Sanz-Pamplona, R., Pons, T., Navarro, M., Bellido, F., Lopez-Doriga, A., Valdes-Mas, R., Pineda, M., Guino, E., Vidal, A., Soto, J.L., Caldes, T., Duran, M., Urioste, M., Rueda, D., Brunet, J., Balbin, M., Blay, P., Iglesias, S., Garre, P., Lastra, E., Sanchez-Heras, A.B., Valencia, A., Moreno, V., Pujana, M.A., Villanueva, A., Blanco, I., Capella, G., Surralles, J., Puente, X.S., Valle, L., 2015. Germline mutations in FAN1 cause hereditary colorectal cancer by impairing DNA repair. *Gastroenterology* 149 (3), 563–566.

Seppala T T, Bohm J P, Friman M, Lahtinen L, Vayrynen V M J, Liipo T K E, Ristima A P, Kairaluoma M V J, Kellokumpu I H, Kuopio T H I and Mecklin J-

P: Combination of microsatellite instability and BRAF mutation status for subtyping colorectal cancer. *British Journal of Cancer* 112, 1966–1975, 2015. DOI: 10.1038/bjc.2015.160.

Setaffy L, Langner C: Microsatellite instability in colorectal cancer: clinicopathological significance. *Pol J Pathol* 66: 203-218, 2015.

Shao T, Yang YX. (2005) Cholecystectomy and the risk of colorectal cancer. *Am J Gastroenterol.* 100(8):1813-1820

Shen H, Yuan Y, Hu HG, Zhong X, Ye XX, Li MD, Fang WJ, Zheng S: Clinical significance of K-ras and BRAF mutations in Chinese colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol* 17: 809-816, 2011. PMID: 21390154. DOI: 10.3748/wjg.v17.i6.809.

Sheng, J.Q., Chan, T.L., Chan, Y.W., Huang, J.S., Chen, J.G., Zhang, M.Z., Guo, X.L., Mu, H., Chan, A.S., Li, S.R., Yuen, S.T., Leung, S.Y., 2006. Microsatellite instability and novel mismatch repair gene mutations in northern Chinese population with hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Chin. J. Dig. Dis.* 7 (4), 197–205.

Shia, J., Stadler, Z., Weiser, M.R., Rentz, M., Gonen, M., Tang, L.H., Vakiani, E., Katabi, N., Xiong, X., Markowitz, A.J., Shike, M., Guillem, J., Klimstra, D.S., 2011. Immunohistochemical staining for DNA mismatch repair proteins in intestinal tract carcinoma: how reliable are biopsy samples? *Am. J. Surg. Pathol.* 35 (3), 447–454.

Shin, J.S., Tut, T.G., Yang, T., Lee, C.S., 2013. Radiotherapy response in microsatellite instability related rectal cancer. *Korean J. Pathol.* 47 (1), 1–8.

Short, E., Thomas, L.E., Hurley, J., Jose, S., Sampson, J.R., 2015. Inherited predisposition to colorectal cancer: towards a more complete picture. *J. Med. Genet.* 52 (12), 791–796.

Sillars-Hardebol AH, Carvalho B, de Wit M, Postma C, Delis-van Diemen PM, Mongera S, Ylstra B, van de Wiel MA, Meijer GA, Fijneman RJ. Identification of key genes for carcinogenic pathways associated with colorectal adenoma-to-

carcinoma progression. *Tumour Biol.* 2010 Apr;31(2):89-96. doi: 10.1007/s13277-009-0012-1. Epub 2010 Jan 21. PMID:20358421.

Sinicrope FA, Foster NR, Thibodeau SN, Marsoni S, Monges G, Labianca R, Kim GP, Yothers G, Allegra C, Moore MJ, Gallinger S, Sargent DJ: DNA mismatch repair status and colon cancer recurrence and survival in clinical trials of 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. *J Natl Cancer Inst* 103: 863-875, 2011. PMID: 21597022. DOI: 10.1093/jnci/djr153.

Sinicrope FA, Foster NR, Yoon HH, Smyrk TC, Kim GP, Allegra CJ, Yothers G, Nikcevich DA, Sargent DJ: Association of obesity with DNA mismatch repair status and clinical outcome in patients with stage II or III colon carcinoma participating in NCCTG and NSABP adjuvant chemotherapy trials. *J Clin Oncol* 30: 406-412, 2012. PMID: 22203756. DOI: 10.1200/jco.2011.39.2563.

Sinicrope, F.A., 2010. DNA mismatch repair and adjuvant chemotherapy in sporadic colon cancer. *Nature reviews. Clin. Oncol.* 7 (3), 174–177.

Sinicrope, F.A., Mahoney, M.R., Smyrk, T.C., Thibodeau, S.N., Warren, R.S., Bertagnolli, M.M., Nelson, G.D., Goldberg, R.M., Sargent, D.J., Alberts, S.R., 2013a. Prognostic impact of deficient DNA mismatch repair in patients with stage III colon cancer from a randomized trial of FOLFOX-based adjuvant chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 31 (29), 3664–3672.

Sinicrope, F.A., Shi, Q., Smyrk, T.C., Thibodeau, S.N., Dienstmann, R., Guinney, J., Bot, B.M., Tejpar, S., Delorenzi, M., Goldberg, R.M., Mahoney, M., Sargent, D.J., Alberts, S.R., 2015. Molecular markers identify subtypes of stage III colon cancer associated with patient outcomes. *Gastroenterology* 148 (1), 88–99.

Sinicrope, F.A., Smyrk, T.C., Tougeron, D., Thibodeau, S.N., Singh, S., Muranyi, A., Shanmugam, K., Grogan, T.M., Alberts, S.R., Shi, Q., 2013b. Mutation-specific antibody detects mutant BRAFV600E protein expression in human colon carcinomas. *Cancer* 119 (15), 2765–2770.

Sinicrope, F.A., Yang, Z.J., 2011. Prognostic and predictive impact of DNA mismatchrepair in the management of colorectal cancer. *Future Oncol.* 7 (3), 467–474.

Snowsill, T., Huxley, N., Hoyle, M., Jones-Hughes, T., Coelho, H., Cooper, C., Frayling, I., Hyde, C., 2014. A systematic review and economic evaluation of diagnostic strategies for Lynch syndrome. *Health Technol. Assess.* 18 (58), 1–406.

Sourrouille, I., Coulet, F., Lefevre, J.H., Colas, C., Eyries, M., Svrcek, M., Bardier-Dupas, A., Parc, Y., Soubrier, F., 2013. Somatic mosaicism and double somatic hits can lead to MSI colorectal tumors. *Fam. Cancer* 12 (1), 27–33.

Spier, I., Holzapfel, S., Altmuller, J., Zhao, B., Horpaopan, S., Vogt, S., Chen, S., Morak, M., Raeder, S., Kayser, K., Stienen, D., Adam, R., Nurnberg, P., Plotz, G., Holinski-Feder, E., Lifton, R.P., Thiele, H., Hoffmann, P., Steinke, V., Aretz, S., 2015. Frequency and phenotypic spectrum of germline mutations in POLE and seven other polymerase genes in 266 patients with colorectal adenomas and carcinomas. *Int. J. Cancer* 137 (2), 320–331.

Stoffel, E.M., Mangu, P.B., Limburg, P.J., 2015. Hereditary colorectal cancer syndromes: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline endorsement of the familial risk-colorectal cancer: European Society for Medical Oncology clinical practice guidelines. *J. Oncol. Pract.* 11 (3), e437–441.

Stoffel, E.M., Syngal, S., 2005. Adenomas in young patients: what is the optimal evaluation [quest]. *Am. J. Gastroenterol.* 100 (5), 1150–1153.

Suehiro, Y., Wong, C.W., Chirieac, L.R., Kondo, Y., Shen, L., Webb, C.R., Chan, Y.W., Chan, A.S., Chan, T.L., Wu, T.T., Rashid, A., Hamanaka, Y., Hinoda, Y., Shannon, R.L., Wang, X., Morris, J., Issa, J.P., Yuen, S.T., Leung, S.Y., Hamilton, S.R., 2008. Epigenetic-genetic interactions in the APC/WNT,

RAS/RAF, and P53 pathways in colorectal carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 14 (9), 2560–2569.

Syngal, S., Brand, R.E., Church, J.M., Giardiello, F.M., Hampel, H.L., Burt, R.W., 2015. ACG clinical guideline: genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am. J. Gastroenterol.* 110 (2), 223–262(quiz 263).

Syngal, S., Fox, E.A., Eng, C., Kolodner, R.D., Garber, J.E., 2000. Sensitivity and specificity of clinical criteria for hereditary non-polyposis colorectal cancer associated mutations in MSH2 and MLH1. *J. Med. Genet.* 37 (9), 641–645.

T. T., O'Donohue, M.F., Wu, Y., Lohi, H., Scherer, S.W., Paterson, A.D., Ellonen, P., Abdel-Rahman, W.M., Valo, S., Mecklin, J.P., Jarvinen, H.J., Gleizes, P.E., Peltomaki, P., 2014. Germline mutation of RPS20, encoding a ribosomal protein, causes predisposition to hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma without DNA mismatch repair deficiency. *Gastroenterology* 147 (3), 595–598(e595).

Taieb, J., Tabernero, J., Mini, E., Subtil, F., Folprecht, G., Van Laethem, J.L., Thaler, J., Bridgewater, J., Petersen, L.N., Blons, H., Collette, L., Van Cutsem, E., Rougier, P., Salazar, R., Bedenne, L., Emile, J.F., Laurent-Puig, P., Lepage, C., 2014. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab in patients with resected stage III colon cancer (PETACC-8): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 15 (8), 862–873.

Tajima, A., Hess, M.T., Cabrera, B.L., Kolodner, R.D., Carethers, J.M., 2004. The mismatch repair complex hMutS alpha recognizes 5-fluorouracil-modified DNA: implications.

Takemoto, N., Konishi, F., Yamashita, K., Kojima, M., Furukawa, T., Miyakura, Y., Shitoh, K., Nagai, H., 2004. The correlation of microsatellite instability and tumor-infiltrating lymphocytes in hereditary non-polyposis

colorectal cancer(HNPCC) and sporadic colorectal cancers: the significance of different types of lymphocyte infiltration. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 34 (2), 90–98.

Takemoto, N., Konishi, F., Yamashita, K., Kojima, M., Furukawa, T., Miyakura, Y., Shitoh, K., Nagai, H., 2004. The correlation of microsatellite instability and tumor-infiltrating lymphocytes in hereditary non-polyposis colorectal cancer(HNPCC) and sporadic colorectal cancers: the significance of different types of lymphocyte infiltration. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 34 (2), 90–98.

Taube, J.M., Klein, A., Brahmer, J.R., Xu, H., Pan, X., Kim, J.H., Chen, L., Pardoll, D.M., Topalian, S.L., Anders, R.A., 2014. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clin. Cancer Res.* 20 (19), 5064–5074.

Ten Broeke, S.W., Brohet, R.M., Tops, C.M., van der Klift, H.M., Velthuisen, M.E., Bernstein, I., Capella Munar, G., Gomez Garcia, E., Hoogerbrugge, N., Letteboer, T.G., Menko, F.H., Lindblom, A., Mensenkamp, A.R., Moller, P., van Os, T.A., Rahner, N., Redeker, B.J., Sijmons, R.H., Spruijt, L., Suerink, M., Vos, Y.J., Wagner, A., Hes, F.J., Vasen, H.F., Nielsen, M., Wijnen, J.T., 2015. Lynch syndrome caused by germline PMS2 mutations: delineating the cancer risk. *J. Clin. Oncol.* 33 (4), 319–325.

Tie J, Gibbs P, Lipton L, Christie M, Jorissen RN, Burgess AW, Croxford M, Jones I, Langland R, Kosmider S, McKay D, Bollag G, Nolop K, Sieber OM, Desai J: Optimizing targeted therapeutic development: analysis of a colorectal cancer patient population with the BRAF(V600E) mutation. *Int J Cancer* 128: 2075-2084, 2011. PMID: 20635392. DOI: 10.1002/ijc.25555.

Tikidzhieva A, Benner A, Michel S, et al.: Microsatellite instability and Beta2-Microglobulin mutations as prognostic markers in colon cancer: results of the FOGT-4 trial. *Br J Cancer* 106: 1239-1245, 2012.

Toon CW, Chou A, DeSilva K, Chan J, Patterson J, Clarkson A, Sioson L, Jankova L, Gill AJ: BRAFV600E immunohistochemistry in conjunction with mismatch repair status predicts survival in patients with colorectal cancer. *Mod Pathol* 27: 644-650, 2014. PMID: 24157612. DOI: 10.1038/modpathol.2013.200.

Toon, C.W., Walsh, M.D., Chou, A., Capper, D., Clarkson, A., Sioson, L., Clarke, S., Mead, S., Walters, R.J., Clendenning, M., Rosty, C., Young, J.P., Win, A.K., Hopper, J.L., Crook, A., von Deimling, A., Jenkins, M.A., Buchanan, D.D., Gill, A.J., 2013. BRAFV600E immunohistochemistry facilitates universal screening of colorectal cancers for Lynch syndrome. *Am. J. Surg. Pathol.* 37 (10), 1592–1602.

Tougeron, D., Mouillet, G., Trouilloud, I., Lecomte, T., Coriat, R., Aparicio, T., DesGuetz, G., Lecaille, C., Artru, P., Sickersen, G., Cauchin, E., Sefrioui, D., Boussaha, T., Ferru, A., Matysiak-Budnik, T., Silvain, C., Karayan-Tapon, L., Pages, J.C., Vernerey, D., Bonnetain, F., Michel, P., Taieb, J., Zaan, A., 2016. Efficacy of adjuvant chemotherapy in colon cancer with microsatellite instability: a large multicenter AGEO study. *J. Natl. Cancer Inst.* 108 (7).

Toyota, M., Ahuja, N., Ohe-Toyota, M., Herman, J.G., Baylin, S.B., Issa, J.P., 1999. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96 (15), 8681–8686.

Tran, B., Kopetz, S., Tie, J., Gibbs, P., Jiang, Z.Q., Lieu, C.H., Agarwal, A., Maru, D.M., Sieber, O., Desai, J., 2011. Impact of BRAF mutation and microsatellite instability on the pattern of metastatic spread and prognosis in metastatic colorectal cancer. *Cancer* 117 (20), 4623–4632.

Trautmann K, Terdiman JP, French AJ, Roydasgupta R, Sein N, Kakar S, Fridlyand J, Snijders AM, Albertson DG, Thibodeau SN, Waldman FM. (2006) Chromosomal instability in microsatellite-unstable and stable colon cancer. *Clin Cancer Res* 12 (21):6379-6385.

Trouilloud, I., Dubreuil, O., Boussaha, T., Lepere, C., Landi, B., Zaan, A., Bachet, J.B., Taieb, J., 2011. Medical treatment of pancreatic cancer: new hopes after 10 years of gemcitabine. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 35 (5), 364–374.

Tsun L. Chan, Wei Zhao, Cancer Genome Project, Suet Y. Leung, and Siu T. Yuen: BRAF and KRAS Mutations in Colorectal Hyperplastic Polyps and Serrated Adenomas. *Cancer Research* 63, 4878–4881, 2003.

Uguen, A., Gueguen, P., Legoupil, D., Bouvier, S., Costa, S., Duigou, S., Lemasson, G., Lede, F., Sassolas, B., Talagas, M., Ferec, C., Le Marechal, C., De Braekeleer, M., Marcorelles, P., 2015. Dual NRASQ61R and BRAFV600E mutation-specific immunohistochemistry completes molecular screening in melanoma samples in a routine practice. *Hum. Pathol.* 46 (11), 1582–1591.

Umar, A., Boland, C.R., Terdiman, J.P., Syngal, S., de la Chapelle, A., Ruschoff, J., Fishel, R., Lindor, N.M., Burgart, L.J., Hamelin, R., Hamilton, S.R., Hiatt, R.A., Jass, J., Lindblom, A., Lynch, H.T., Peltomaki, P., Ramsey, S.D., Rodriguez-Bigas, M.A., Vasen, H.F., Hawk, E.T., Barrett, J.C., Freedman, A.N., Srivastava, S., 2004. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J. Natl. Cancer Inst.* 96 (4), 261–268.

Umeda Y, Nagasaka T, Mori Y, Sadamori H, Sun DS, Shinoura S, Yoshida R, Satoh D, Nobuoka D, Utsumi M, Yoshida K, Yagi T, Fujiwara T: Poor prognosis of KRAS or BRAF mutant colorectal liver metastasis without microsatellite instability. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 20: 223-233, 2013. PMID: 23010994. DOI: 10.1007/s00534-012-0531-9.

Van der Klift, H., Wijnen, J., Wagner, A., Verkuilen, P., Tops, C., Otway, R., Kohonen-Corish, M., Vasen, H., Ollani, C., Barana, D., Moller, P., Delozier-Blanchet, C., Hutter, P., Foulkes, W., Lynch, H., Burn, J., Moslein, G., Fodde, R., 2005. Molecular characterization of the spectrum of genomic deletions in the mismatch repair genes MSH2, MLH1, MSH6, and PMS2 responsible for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC). *Genes Chromosomes Cancer* 44 (2), 123–138.

Van Lier, M.G., Leenen, C.H., Wagner, A., Ramsoekh, D., Dubbink, H.J., van den Ouweland, A.M., Westenend, P.J., de Graaf, E.J., Wolters, L.M., Vrijland, W.W., Kuipers, E.J., van Leerdam, M.E., Steyerberg, E.W., Dinjens, W.N., Group, L.S., 2012. Yield of routine molecular analyses in colorectal cancer

patients ≤ 70 years to detect underlying Lynch syndrome. *J. Pathol.* 226 (5), 764–774.

Van Rijnsoever M, Grieu F, Elsaleh H, Joseph D, Iacopetta B. Characterisation of colorectal cancers showing hypermethylation at multiple CpG islands. *Gut.* 2002 Dec;51(6):797-802. PMID:12427779

Vasen, H.F., Blanco, I., Aktan-Collan, K., Gopie, J.P., Alonso, A., Aretz, S., Bernstein, I., Bertario, L., Burn, J., Capella, G., Colas, C., Engel, C., Frayling, I.M., Genuardi, M., Heinemann, K., Hes, F.J., Hodgson, S.V., Karagiannis, J.A., Lalloo, F., Lindblom, A., Mecklin, J.P., Moller, P., Myrhoj, T., Nagengast, F.M., Parc, Y., Ponz de Leon, M., Renkonen-Sinisalo, L., Sampson, J.R., Stormorken, A., Sijmons, R.H., Tejpar, S., Thomas, H.J., Rahner, N., Wijnen, J.T., Jarvinen, H.J., Moslein, G., 2013. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. *Gut* 62 (6), 812–823.

Vasen, H.F., Ghorbanoghli, Z., Bourdeaut, F., Cabaret, O., Caron, O., Duval, A., Entz-Werle, N., Goldberg, Y., Ilencikova, D., Kratz, C.P., Lavoine, N., Loeffen, J., Menko, F.H., Muleris, M., Sebille, G., Colas, C., Burkhardt, B., Brugieres, L., Wimmer, K., 2014. Guidelines for surveillance of individuals with constitutional mismatch repair-deficiency proposed by the European Consortium Care for CMMR-D (C4CMMR-D). *J. Med. Genet.* 51 (5), 283–293.

Vasen, H.F., Mecklin, J.P., Khan, P.M., Lynch, H.T., 1991. The international collaborative group on hereditary non-polyposis colorectal cancer (ICG-HNPCC). *Dis. Colon Rectum* 34 (5), 424–425.

Vasen, H.F., Moslein, G., Alonso, A., Bernstein, I., Bertario, L., Blanco, I., Burn, J., Capella, G., Engel, C., Frayling, I., Friedl, W., Hes, F.J., Hodgson, S., Mecklin, J.P., Moller, P., Nagengast, F., Parc, Y., Renkonen-Sinisalo, L., Sampson, J.R., Stormorken, A., Wijnen, J., 2007. Guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (hereditary non-polyposis cancer). *J. Med. Genet.* 44 (6), 353–362.

Vasen, H.F., Moslein, G., Alonso, A., Bernstein, I., Bertario, L., Blanco, I., Burn, J., Capella, G., Engel, C., Frayling, I., Friedl, W., Hes, F.J., Hodgson, S., Mecklin, J.P., Moller, P., Nagengast, F., Parc, Y., Renkonen-Sinisalo, L., Sampson, J.R., Stormorken, A., Wijnen, J., 2007. Guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (hereditary non-polyposis cancer). *J. Med. Genet.* 44 (6), 353–362.

Vasen, H.F., Stormorken, A., Menko, F.H., Nagengast, F.M., Kleibeuker, J.H., Griffioen, G., Taal, B.G., Moller, P., Wijnen, J.T., 2001a. MSH2 mutation carriers are at higher risk of cancer than MLH1 mutation carriers: a study of hereditary nonpolyposis colorectal cancer families. *J. Clin. Oncol.* 19 (20), 4074–4080.

Vasen, H.F., van Duijvendijk, P., Buskens, E., Bulow, C., Bjork, J., Jarvinen, H.J., Bulow, S., 2001b. Decision analysis in the surgical treatment of patients with familial adenomatous polyposis: a Dutch-Scandinavian collaborative study including 659 patients. *Gut* 49 (2), 231–235.

Vasen, H.F., Watson, P., Mecklin, J.P., Lynch, H.T., 1999. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 116 (6), 1453–1456.

Vasovcak P, Pavlikova K, Sedlacek Z, Skapa P, Kouda M, Hoch J, Krepelova A: Molecular genetic analysis of 103 sporadic colorectal tumours in Czech patients. *PLoS One* 6: e24114, 2011. PMID: 21901162. DOI: 10.1371/journal.pone.0024114.

Veigl, M.L., Kasturi, L., Olechnowicz, J., Ma, A.H., Lutterbaugh, J.D., Periyasamy, S., Li, G.M., Drummond, J., Modrich, P.L., Sedwick, W.D., Markowitz, S.D., 1998. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95 (15), 8698–8702.

Venderbosch, S., Nagtegaal, I.D., Maughan, T.S., Smith, C.G., Cheadle, J.P., Fisher, D., Kaplan, R., Quirke, P., Seymour, M.T., Richman, S.D., Meijer, G.A., Ylstra, B., Heideman, D.A., de Haan, A.F., Punt, C.J., Koopman, M., 2014. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin. Cancer Res.* 20 (20), 5322–5330.

Vilar, E., Gruber, S.B., 2010. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. *Nature reviews. Clin. Oncol.* 7 (3), 153–162.

Vinikoor LC, Galanko JA, Sandler RS. (2008) Cholecystectomy and the risk of colorectal adenomas. *Dig Dis Sci.* 53(3):730-735.

Von Knebel Doeberitz, M., Kloor, M., 2013. Towards a vaccine to prevent cancer in Lynch syndrome patients. *Fam. Cancer* 12 (2), 307–312.

Ward, R., Meagher, A., Tomlinson, I., O'Connor, T., Norrie, M., Wu, R., Hawkins, N., 2001. Microsatellite instability and the clinicopathological features of sporadic colorectal cancer. *Gut* 48 (6), 821–829.

Warrier, S.K., Trainer, A.H., Lynch, A.C., Mitchell, C., Hiscock, R., Sawyer, S., Boussioutas, A., Heriot, A.G., 2011. Preoperative diagnosis of Lynch syndrome with DNA mismatch repair immunohistochemistry on a diagnostic biopsy. *Dis. Colon Rectum* 54 (12), 1480–1487.

Wattendorf, D.J., Hadley, D.W., 2005. Family history: the three-generation pedigree. *Am. Fam. Physician* 72 (3), 441–448.

Webber, E.M., Kauffman, T.L., O'Connor Goddard, E.K.A., 2015. Systematic review of the predictive effect of MSI status in colorectal cancer patients undergoing 5FU-based chemotherapy. *BMC Cancer* 15, 156.

Wei, C., Peng, B., Han, Y., Chen, W.V., Rother, J., Tomlinson, G.E., Boland, C.R., Chaussabel, D., Frazier, M.L., Amos, C.I., 2015. Mutations of HNRNPA0 and WIF1 predispose members of a large family to multiple cancers. *Fam. Cancer* 14 (2), 297–306.

Weren, R.D., Ligtenberg, M.J., Kets, C.M., de Voer, R.M., Verwiel, E.T., Spruijt, L., vanZelst-Stams, W.A., Jongmans, M.C., Gilissen, C., 2015. A germline homozygous mutation in the base-excision repair gene NTHL1 causes adenomatous polyposis and colorectal cancer. *Nat. Genet.* 47 (June (6)), 668–671, <http://dx.doi.org/10.1038/ng.3287>, Epub 2015 May 4.

Wertzberger, B.E., Sherman, S.K., Byrn, J.C., 2014. Differences in short-term outcomes among patients undergoing IPAA with or without preoperative radiation: a National Surgical Quality Improvement Program analysis. *Dis. Colon Rectum* 57 (10), 1188–1194.

WHO, International Agency for Research on Cancer (IARC) 2018. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx

WHO. International Agency for Research on Cancer (IARC) 2012. <http://globocan.iarc.fr/Pages/>

Wijnen, J.T., Brohet, R.M., van Eijk, R., Jagmohan-Changur, S., Middeldorp, A., Tops, C.M., van Puijenbroek, M., Ausems, M.G., Gomez Garcia, E., Hes, F.J., Hoogerbrugge, N., Menko, F.H., van Os, T.A., Sijmons, R.H., Verhoef, S., Wagner, A., Nagengast, F.M., Kleibeuker, J.H., Devilee, P., Morreau, H., Goldgar, D., Tomlinson, I.P., Houlston, R.S., van Wezel, T., Vasen, H.F., 2009. Chromosome 8q23.3 and 11q23.1 variants modify colorectal cancer risk in Lynch syndrome. *Gastroenterology* 136 (1), 131–137.

Wilke, C.M., Bishop, K., Fox, D., Zou, W., 2011. Deciphering the role of Th17 cells in human disease. *Trends Immunol.* 32 (12), 603–611.

Wilke, C.M., Wu, K., Zhao, E., Wang, G., Zou, W., 2010. Prognostic significance of regulatory T cells in tumor. *Int. J. Cancer* 127 (4), 748–758.

Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE (1990) Relation of meat, fat and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med* 323 (24):1664–1672.

Wilson, B.J., Qureshi, N., Santaguida, P., Little, J., Carroll, J.C., Allanson, J., Raina, P., 2009. Systematic review: family history in risk assessment for common diseases. *Ann. Intern. Med.* 151 (12), 878–885.

Win, A.K., Parry, S., Parry, B., Kalady, M.F., Macrae, F.A., Ahnen, D.J., Young, G.P., Lipton, L., Winship, I., Boussioutas, A., Young, J.P., Buchanan, D.D., Arnold, J., LeMarchand, L., Newcomb, P.A., Haile, R.W., Lindor, N.M., Gallinger, S., Hopper, J.L., Jenkins, M.A., 2013. Risk of metachronous colon cancer following surgery for rectal cancer in mismatch repair gene mutation carriers. *Ann. Surg. Oncol.* 20 (6), 1829–1836.

Wójcik P, Okoń K, Osuch C, Klimkowska A, Tomaszewska R: BRAF mutations in sporadic colorectal carcinoma from Polish patients. *Pol J Pathol* 61: 23-26, 2010. PMID: 20496269.

Xu XM, Qian JC, Cai Z, Tang T, Wang P, Zhang KH, Deng ZL, Cai JP: DNA alterations of microsatellite DNA, p53, APC and K-ras in Chinese colorectal cancer patients. *Eur J Clin Invest* 42: 751-759, 2012. PMID: 22324744. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2011.02641.x.

Yamamoto, H., Imai, K., 2015. Microsatellite instability: an update. *Arch. Toxicol.* 89 (6), 899–921.

Yanus GA, Belyaeva AV, Ivantsov AO, Kuligina ESh, Suspitsin EN, Mitiushkina NV, Aleksakhina SN, Iyevleva AG, Zaitseva OA, Yatsuk OS, Gorodnova TV, Strelkova TN, Efremova SA, Lepenchuk AY, Ochir-Garyaev AN, Paneyah MB, Matsko DE, Togo AV, Imyanitov EN: Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients. *Med Oncol* 30: 686, 2013. PMID: 23943423. DOI: 10.1007/s12032-013-0686-5.

Young J, Jenkins M, Parry S, Young B, Nancarrow D, English D, Giles G, Jass J. Serrated pathway colorectal cancer in the population: genetic consideration. *Gut*. 2007 Oct;56(10):1453-9. Epub 2007 Jun 12. Review. No abstract available. PMID:17566021.

Yunxia Z, Jun C, Guanshan Z, Yachao L, Xueke Z, Jin L: Mutations in epidermal growth factor receptor and K-ras in Chinese patients with colorectal cancer. *BMC Med Genet* 11: 34, 2010. PMID: 20184776. DOI: 10.1186/1471-2350-11-34.

Yurgelun, M.B., Allen, B., Kaldate, R.R., Bowles, K.R., Judkins, T., Kaushik, P., Roa, B.B., Wenstrup, R.J., Hartman, A.R., Syngal, S., 2015. Identification of

a variety of mutations in cancer predisposition genes in patients with suspected lynch syndrome. *Gastroenterology* 149 (3), 604–613 (e620).

Zaanan, A., Meunier, K., Sangar, F., Flejou, J.F., Praz, F., 2011. Microsatellite instability in colorectal cancer: from molecular oncogenic mechanisms to clinical implications. *Cell Oncol (Dordr.)* 34 (3), 155–176.

Zhu XL, Cai X, Zhang L, Yang F, Sheng WQ, Lu YM, Du X, Zhou XY: KRAS and BRAF gene mutations in correlation with clinicopathologic features of colorectal carcinoma in Chinese. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 41: 584-589, 2012. PMID: 23157824. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2012.09.003.

Zlobec I, Bihl MP, Schwarb H, Terracciano L, Lugli A: Clinicopathological and protein characterization of BRAF- and K-RAS mutated colorectal cancer and implications for prognosis. *Int J Cancer* 127: 367-380, 2010. PMID: 19908233. DOI: 10.1002/ijc.25042

Αθανάτου Ε. (2007). Παθολογική και Χειρουργική Κλινική Νοσηλευτική, Έκδοση: Η, Εκδόσεις: Παρισίανος, Αθήνα.

Θερμόπουλος, Μ., (2016). Ο καρκίνος στην Ελλάδα: Σοκάρουν οι αριθμοί – Πλήρη στατιστικά και πρόβλεψη δεκαετίας <https://www.iatropedia.gr/eidiseis/o-karkinos-stin-ellada-sokaroun-oi-arithmoi-pliri-statistika-kai-provlepsis-dekaetias/50941/>

Θώδη Γ. Φωστήρα Φ. Γιαννουκάζος Δ. (2008) Γενετική αστάθεια ως μηχανισμός καρκινογένεσης. *Ογκολογία πεπτικού* 8 (3):102-109

Μεκράς Δ. (2012) Μελέτη της μοριακής έκφρασης της κυκλοοξυγενάσης (COX-2) και της διυδροπυριμινικής δευδρογενάσης (DPD) σε ασθενείς με εξαιρετικό ορθοκολικό καρκίνο. Διδακτορική Διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Παπασταματίου Μ., Νικολόπουλος Δ. (2010) Σταδιοποίηση καρκίνου παχέος εντέρου

http://www.mpapastamatiou.gr/files/Medtime%20%20karkinos_paxeos_enterou.pdf

Πλέσσας Σ., (2010). Φυσιολογία του ανθρώπου, Εκδόσεις: Φαρμάκων-Τύπος, Αθήνα

Τσακιρίδου Ε. Αργυρίου Κ. Χατζητόλιος Α. (2010) Πρόληψη του ορθοκολικού καρκίνου και προσυμπτωματικός έλεγχος. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 27 (2):151-164

Χανιώτης Φ. Χανιώτης Δ. (2015) Νοσολογία-Παθολογία Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας

Χατζημπούγιας, Ι. (2002). Στοιχεία Ανατομικής του Ανθρώπου. Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις GM Design

Χριστοδούλου Δ. Τσιάνος Ε. (2000) Πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου. ΑρχείαΕλληνικήςΙατρικής 17 (6): 566-575