**Ανίχνευση μοριακών δεικτών καρκίνου και καρδιακών νοσημάτων με μεθόδους Μοριακής Διαγνωστικής.**

**Μοριακή Διαγνωστική και Καρκίνος**

Κατά τη διάρκεια των προηγούμενων 20 ετών, οι τεχνολογικές πρόοδοι στη μοριακή βιολογία κατέστησαν ανεκτίμητες στην κατανόηση της παθογένεσης του ανθρώπινου καρκίνου. Η εφαρμογή της μοριακής τεχνολογίας στη μελέτη του καρκίνου δεν έχει μόνο προσφέρει στην πρόοδο της διάγνωσης των όγκων, αλλά έχει παράσχει επίσης δείκτες για το την αξιολόγηση της πρόγνωσης και την εξέλιξη των ασθενειών. Ο στόχος της μοριακής ανάλυσης του καρκίνου είναι να παράσχει μια περιεκτική συλλογή από πολύ περισσότερες up-to-date τεχνικές για την ανίχνευση των μοριακών αλλαγών στον ανθρώπινο καρκίνο. Κορυφαίοι ερευνητές στον τομέα έχουν συμβάλει με πρακτικές διαδικασίες σε ένα ευρύ φάσμα από τεχνικές. Η Μοριακή ανάλυση του καρκίνου περιλαμβάνει κεφάλαια που περιγράφουν τεχνικές για τον προσδιορισμό χρωμοσωμικών ανωμαλιών και περιλαμβάνουν: επιτόπια υβριδοποίηση φθορισμού (FISH), φασματική καρυοτύπηση (SKY), συγκριτική γενωμική υβριδοποίηση (CGH), και ανάλυση μικροδορυφόρων. Η FISH έχει έναν προεξέχοντα ρόλο στη μοριακή ανάλυση του καρκίνου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση αριθμητικών και δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Πρόσφατα περιγραφής SKY, στο οποίο όλα τα ανθρώπινα χρωμοσώματα μετάφασης απεικονίζονται με συγκεκριμένα χρώματα, επιτρέπει τον καθορισμό όλων των χρωμοσωμικών αναδιοργανώσεων και δεικτών χρωμοσωμάτων σε ένα καρκινικό κύτταρο. Πρωτόκολλα για την ανίχνευση χρωμοσωμικών αναδιοργανώσεων με PCR και RT-PCR περιγράφονται, καθώς επίσης και η τεχνική DNA δακτυλοσκοπία, ένα ισχυρό εργαλείο για σωματικές γενετικές αλλαγές στην καρκινογένεση. Διάφορες προσεγγίσεις για να προσδιορίσουν τις μεταλλαγές περιγράφονται λεπτομερώς, και περιλαμβάνουν SSCP, DGGE, μη ισοτοπική RNase δοκιμή διάσπασης, η πρωτεϊνική δοκιμή αποκοπής, και DNA αλληλούχιση. Μια αλλαγή στη θέση μεθυλίωσης του DNA παρατηρείται συνήθως στον καρκίνο, και συγκεκριμένη μεθοδολογία για την ανάλυση μεθυλίωσης αναλύεται παρακάτω. Η ανάλυση της έκφρασης γονιδίων αντιπροσωπεύει μια βασική περιοχή από την έρευνα στη μελέτη του ανθρώπινου καρκίνου. Σφαιρική ανάλυση RNA έκφρασης χρησιμοποιώντας τεχνολογία μικροσυστιχιών επιτρέπει τον προσδιορισμό των γονιδίων που είναι διαφορικά εκφρασμένα στον όγκο έναντι των κανονικών ιστών. Αυτό είναι μια ισχυρή προσέγγιση για προσδιορίσουμε τα γονίδια που παίζουν κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη της ασθένειας ή στην πρόοδό της και μπορούμε επίσης να προσδιορίσουμε νέους διαγνωστικούς δείκτες.[1]

Μια μείωση του μήκους των τελομερών, μαζί με την έκφραση από το ένζυμο συντήρησης των τελομερών, την τελομεράση, έχει περιγραφεί σε ένα ευρύ φάσμα από τους ανθρώπινους καρκίνους. Η περιγραφή της μέτρησης του μήκους του τελομερούς και των επιπέδων της τελομεράσης, είναι ένας τομέας εκτενούς μελέτης στον τομέα της έρευνας του καρκίνου. [1]

Ο καρκίνος είναι μια σύνθετη ασθένεια που εμφανίζεται ως αποτέλεσμα μιάς προοδευτικής συσσώρευσης από τις γενετικές παρεκκλίσεις και επιγενετικές αλλαγές που επιτρέπει τη διαφυγή από φυσιολογικό κυτταρικό και περιβαλλοντικό έλεγχο. Τα νεοπλαστικά κύτταρα μπορούν να έχουν πολυάριθμες επίκτητες γενετικές ανωμαλίες συμπεριλαμβανομένης της ανευπλοειδίας, χρωμοσωμικές αναδιοργανώσεις, ενισχύσεις, διαγραφές, αναδιοργανώσεις γονιδίων, και απώλεια λειτουργίας ή ενίσχυση λειτουργίας μεταλλαγές. Οι πρόσφατες μελέτες τονίζουν επίσης τη σημασία των επιγενετικών αλλαγών σε ορισμένα γονίδια με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση από τις λειτουργίες τους σε μερικούς ανθρώπινους καρκίνους. Αυτή η παρέκκλιση δείχνει κοινή ανώμαλη συμπεριφορά σε όλα τα νεοπλαστικά κύτταρα: δυσρυθμιζόμενη αύξηση, έλλειψη παρεμπόδισης επαφών, γενωμική αστάθεια, και ροπή για μετάσταση. Τα γονίδια που επηρεάζονται από τις μεταλλαγές στον καρκίνο μπορεί να διαιρεθούν σε δύο κύριες κατηγορίες: μεταλλαγές σε γονίδια που έχουν το κέρδος στη λειτουργία (ενεργοποίηση), που είναι γνωστά ως ογκογονίδια, και μεταλλαγές σε γονίδια για τα οποία και τα δύο αλληλόμορφα έχουν χάσει την λειτουργία τους (αδρανοποίηση), που είναι γνωστά ως γονίδια καταστολής όγκων. Κοντά στα 100 γονίδια έχουν παρουσιαστεί για να διαδραματίσουν ένα ρόλος στην ανάπτυξη ή την πρόοδο στους ανθρώπινους καρκίνους, μερικοί των οποίων έχουν εμπλακεί σε ένα ευρύ φάσμα από κακοήθης όγκους, εκτιμώντας ότι άλλοι είναι μοναδικοί σε έναν συγκεκριμένο τύπο. Οι καρκίνοι μπορούν να προκύψουν μέσω μιάς παρέκκλισης από διαφορετικούς συνδυασμούς γονιδίων, που μπορούν στη συνέχεια να αλλοιώνονται, να υπερεκφράζονται, ή να διαγράφονται. Η τάξη στην οποία αυτά τα γεγονότα εμφανίζονται έχει αποδειχθεί επίσης ότι είναι σημαντική. Παραδείγματος χάριν, στον καρκίνο του μαστού έχει προταθεί ότι τουλάχιστον 10 ευδιάκριτες αλλαγές γονίδιων μπορούν να περιληφθούν στην έναρξη και πρόοδο της ασθένειας. Η μελέτη του καρκίνου του κόλου έχει παρουσιάσει την καρκινιγένεση σαν μια πολυβάθμια διαδικασία με ανάμειξη της ενεργοποίησης των κυτταρικών ογκογονιδίων, τη διαγραφή των πολλαπλών χρωμοσωμικών περιοχών, και την απώλεια λειτουργίας από τα γονίδια καταστολής όγκων. Πρόοδοι της τεχνολογίας στη μοριακή βιολογία τα τελευταία 20–25 χρόνια έχουν οδηγήσει σε μια δραματική αύξηση στον προσδιορισμό των μοριακών διαδικασιών της βολβοειδούς καρκινογένεσης. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, η μοριακή βάση του καρκίνου no εμπεριέχει το μυστήριο που είχε κάποτε. Είναι, εντούτοις, επίσης σαφές ότι η τεχνογνωσία που έχει συσσωρευθεί είναι ανεπαρκής να απαιτήσει μια συνολική κατανόηση του μηχανισμού της ανάπτυξης του καρκίνου.[1]

**DNA Ανάλυση**

Η μεταλλακτική ανάλυση μπορεί να εκτελεσθεί με χρησιμοποίηση ποικίλων τεχνικών, και η πλειοψηφία αυτών τονίζεται παρακάτω. Η ενίσχυση των συγκεκριμένων περιοχών DNA η RNA με PCR έχει ανοίξει ατελείωτες δυνατότητες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για γρήγορη και αποδοτική ανίχνευση των αλλαγών, ακόμη και απλών αλλαγών νουκλεοτιδίων. Αυτή η PCR- τεχνική είναι βασισμένη στις αλλαγές στην ηλεκτροφορητική κινητικότητα προκληθείσα από αλλαγμένη δευτεροταγή δομή της απλής αλυσίδας (single-strand conformation polymorphism), από τα αλλαγμένα ποσοστά διαχωρισμού τμημάτων του DNA (denaturing gradient gel electrophoresis), η με RNase cleavage assays.Η PCR μπορεί ακόμη να χρησιμοποιηθεί για γρήγορή και ποσοτική ανίχνευση από χρωμοσωμικές αναδιοργανώσεις, όπως συνήθως παρατηρείται στη λευκαιμία.Η PCR σχεδιάστηκε για να ενισχύσει συγκεκριμένα γενωμικά τμήματα που δεν είναι κανονικά εφαπτόμενα και είναι, επομένως, μοναδικά σε αυτόν τον τύπο αναδιοργάνωσης γονιδίων. Μετατροπή του RNA σε DNA με την αντίστροφη μεταγραφάση (RT) πριν από την PCR απαιτείται συνήθως για την ανάλυση. Εντούτοις, σε μερικές περιπτώσεις, γενωμικού DNA μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε για την άμεση ενίσχυση σημείων σπασιμάτων από μετατόπιση. Μια παραλλαγή PCR εμπεριέχει τη χρήση DNA δακτυλικών αποτυπωμάτων για να ανιχνεύσει γενετικά αίτια στον καρκίνο. Οι εκκινητές είναι συχνά αυθαίρετοι ή επαναλαμβάνουν (π.χ., ALU) ακολουθίες, που θα δώσουν, μετά από την ηλεκτροφόρηση, ένα δακτυλικό αποτύπωμα DNA που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση γενετικών ανωμαλιών. Επαναλήψεις μικροδορυφόρων εμφανίζονται σε όλο το γονιδίωμα και μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για γενετικές αλλαγές, συνήθως για την απώλεια ετεροζυγωτίας, που θα δείξει ότι μια διαγραφή έχει εμφανιστεί να επικαλύπτει τον συγκεκριμένο δείκτη. Για τα συγκεκριμένα γονίδια σχετικά με ορισμένους καρκίνους, η μεταλλακτική ανάλυση μπορεί να πραγματοποιηθεί με χρησιμοποίηση ενός δείκτη στη ανάλυση αποκοπής. Αυτή η ανάλυση περιλαμβάνει τον προσδιορισμό ανώμαλών πολυπεπτιδίων που συντίθενται in vitro από RT-PCR προϊόντα, και οι μεταλλαγές περικοπής συνήθως επιβεβαιώνονται με ανάλυση ακολουθίας [1]

**Ανάλυση έκφρασης RNA**

Η τεχνολογία μικροσυστοιχιών DNA, που χρησιμοποιεί την ανάλυση δείκτη υψηλής πυκνότητας δύο διαστάσεων ολογονουκλεοτιδίων περιέχει εκατοντάδες ή χιλιάδες δείκτες, ολογονουκλεοτιδίων αντιπροσωπεύει ένα νέα ισχυρό εργαλείο στην ανάλυση ακολουθίας DNA για ποικίλες γενετικές μεταλλαγές Υβριδοποίηση toc DNA μικροσυστοιχιών επιτρέπει την ταυτόχρονη παράλληλη ανάλυση έκφρασης από χιλιάδες γονίδια. Για γονίδιο με έκφραση υψηλής-ρυθμοαπόδοσης ο σχεδιάσμός περιγράμματος όλο και περισσότερο αποτελεί μια πολύτιμη μέθοδο για να προσδιοριστεί γονίδια διαφορικά εκφρασμένα σε όγκο vs κανονικών ιστών. Έκφραση γονιδίων μικροσυστοιχιών υπόσχεται πολλά για τις μελέτες της ανθρώπινης καρκινογένεσης, και τα πολλά στοιχεία έκφρασης των γονιδίων τα συνολικά παραχθέντα έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν νέες ιδέες στη θεμελιώδη βιολογία του καρκίνου σε μοριακό επίπεδο. Πράγματι, η τεχνολογία μικροσυστοιχιών του cDNA έχει αρχίσει ήδη να βοηθά στη διευκρίνιση των γενετικών γεγονότων που κρύβονται κάτω από την έναρξη και την εξέλιξη μερικών ανθρώπινων καρκίνων. Τα διαφορικά εκφρασμένα γονίδια μπορούν επίσης να ανιχνευθούν από άλλες τεχνικές όπως η διαφορική επίδειξη, που περιλαμβάνει μία τυχαίου εκκινητή RT-PCR επίδειξη δακτυλοσκόπησης από τα υποσύνολα εκφρασμένου RNA, ή αφαιρετική υβριδοποίηση, που περιλαμβάνει τον εμπλουτισμό των γονιδίων κατά προτίμηση των εκφρασμένων σε έναν ιστό έναντι ενός δεύτερου.[1]

**Χρωμοσωμική Ανάλυση**

Fluorescence in situ hybridization (FISH) είναι μια από τις τεχνικές με σημαντικό ρόλο στην μοριακή ανάλυση του καρκίνου. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απλή ανίχνευση αριθμητικών και δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών αυτός μπορεί να εμφανιστεί στα καρκινικά κύτταρα και είναι ιδιαίτερα χρήσιμη ως εργαλείο για τη διάγνωση μη τυχαίων μετατοπίσεων στη λευχαιμία και σε πολυάριθμους άλλους καρκίνους. Μέχρι σήμερα, οι περισσότερες FISH μελέτες έχουν περιλάβει τη χρήση ολόκληρου του χρωμοσώματος γονιδιακών δεικτών. Αυτό έχει γίνει σε νέα επίπεδα με την ανάπτυξη φασματικής καρυοτύπησης, που περιλαμβάνει την υβριδοποίηση 24 ιχνηθετημένων με φθορίζουσες ουσίες χρωμοσωμικών χρωματισμένων δεικτών που στη μετάφαση δινει ταυτόχρονη απεικόνιση σε κάθε ένα από τα χρωμοσώματα με ένα διαφορετικό χρώμα. Χρησιμοποιώντας αυτήν την μέθοδο, είναι δυνατό να καθορίσουμε όλες τις χρωμοσωμικές αναδιοργανώσεις και να προσδιορίσουμε τον χρωμοσωμικό δείκτη στα καρκινικά κύτταρα. Συγκριτική γενομική υβριδοποίηση (CGH) είναι μια FISH-βασιζόμενη τεχνική που μπορεί να ανιχνεύσει τα κέρδη και τις απώλειες ολόκληρων των χρωμοσωμάτων και υποχρωμοσωμικές περιοχές. Η CGH είναι βασισμένη σε διχρωματική, ανταγωνιστική FISH με διαφορικά ιχνηθετημένο όγκος και DNA αναφοράς στα κανονικά χρωμοσώματα της μετάφασης και μπορεί να ανιχνεύσει ολόκληρο το γονιδίωμα χωρίς προγενέστερη γνώση από τις συγκεκριμένες χρωμοσωμικές ανωμαλίες.[1]

**Ανάλυση της Θέσης Μεθυλίωσης**

Μερικές μοριακές μέθοδοι θα αναλύσουν συγκεκριμένες αλλαγές στη δομή του DNA η σε γενωμικές τροποποιήσεις. Αλλαγές στη θέση μεθυλίωσης του DNA είναι μια από τις πιό κοινές ανιχνεύσιμες ανωμαλίες στον ανθρώπινο καρκίνο. Υπερμεθυλίωση μέσα σε υποκινητές από επιλεγμένα γονίδια είναι ιδιαίτερα κοινή και είναι συχνα συνδεδεμένη με αδρανοποίηση του περιληφθέντος γονιδίου ή γονιδίων και μπορεί να είναι ένα πρόωρο γεγονός στην παθογένεση μερικών καρκίνων, εκτιμώντας ότι άλλα γονίδια μεθυλιώνονται κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των ασθενειών [1].

**Δραστηριότητα Τελομερών και Τελομεράσης**

Τα τελομερή είναι επαναλαμβανόμενες ακολουθίες DNA στις άκρες των χρωμοσωμάτων, που είναι απαραίτητοι για τη διατήρηση της χρωμοσωμικής ακεραιότητας. Μια μείωση του μήκους των τελομερών έχει περιγραφεί σε ένα ευρύ φάσμα των ανθρώπινων καρκίνων, και συμπεριλαμβανομένων των στερεών όγκων και των λευχεμιών. Το ένζυμο της τελομεράσης συνθέτει de novo τελομερικές επαναλήψεις και τις ενσωματώνει επάνω στα 3' άκρα του DNA από τα χρωμοσώματα.Το κόντεμα στα τελομερή στα κανονικά κύτταρα είναι ένα αποτέλεσμα της αντιγραφής του DNA, και μείωση πέρα από ένα κρίσιμο μήκος είναι ένα σήμα για κυτταρική γήρανση. Εντούτοις, η συντήρηση του μήκους των τελομερών, από την ενεργοποίηση του ενζύμου της τελομεράσης, είναι πιθανά ουσιαστική για την αποφυγή του ανθρώπινου καρκίνου των κυττάρων για να αντισταθμίσουν την απώλεια του DNA από τις άκρες των χρωμοσωμάτων. Επομένως, το μέτρημα του μήκους των τελομερών και των επιπέδων της δραστηριότητας του ενζύμου της τελομεράσης είναι σημαντικό στον έλεγχο της προόδου των ασθενειών και στην ανταποκριση της θεραπείας. Πρόσφατα, ο πιθανός χειρισμός της τελομεράσης έχει παραγάγει κάποιο ενθουσιασμό σαν αντικαρκινική στρατηγική.[1]

**Κλωνική προέλευση του καρκίνου (Clonal Origin of Cancer)**

Οι μέθοδοι που περιγράφηκαν επιτρέπουν στον ερευνητή για να μελετήσει τη μυριάδα από τις γενετικές αλλαγές που μπορούν να εμφανιστούν κατά τη διάρκεια της έναρξης, ανάπτυξης, και εξέλιξης του καρκίνου. Εντούτοις, είναι επίσης δυνατό να παρέχει διορατικότητα στη μετάβαση από τη μεταλλαγή σωματικών κυττάρων στη νεοπλασία. Η κλωνική προέλευση της κυτταρικής ανίχνευσης αξιολογείται στους ασθενείς με πολυμορφισμούς συνδεμένους με το X χρωμόσωμα για να εκμεταλλευθεί την τυχαία αδρανοποίηση του X χρωμοσώματος. Η αδρανοποίηση συσχετίζεται με διαφορικά μεθυλιωμένα σχήματα στα ενεργά και ανενεργά χρωμοσώματα Χ.[1]

**Καρκινικοί δείκτες**

Καρκινικοί δείκτες ή δείκτες όγκου είναι φυσιολογικά κυτταρικά συστατικά τα οποία απελευθερώνονται σε παθολογικές ποσότητες από τα ίδια τα νεοπλασματικά κύτταρα από τα κύτταρα του ξενιστή οργανισμού σε απάντηση ενός αντιγονικού (νεοπλασματικού) ερεθίσματος. Είναι ένζυμα, ορμόνες, ογκοεμβρυικά αντιγόνα και άλλες πρωτείνες Ανιχνεύονται με τη βοήθεια ειδικών τεχνικών στο αίμα, πλάσμα και άλλα υγρά του σώματος (ΕΝΥ, πλευριτικό υγρό, περιτοναικό υγρό, ούρα) σε κύτταρα και ιστούς.

Κανένας δείκτης δεν είναι απόλυτα ειδικός και η ευαισθησία ποικίλλει

Ανιχνεύονται σε χαμηλά επίπεδα σε φυσιολογικές καταστάσεις μη νεοπλασματικές παθήσεις. [2]

**Ανοσοϊστοχημεία και μοριακές μέθοδοι ανίχνευσης**

**διάγνωση**

Η μεγάλη συμβολή της ανοσοϊστοχημείας στην παθολογοανατομική διάγνωση αποδίδεται σε τρεις παράγοντες

* 1. τη διαθεσιμότητα πολλών αντισωμάτων κατάλληλων για χρήση σε αρχειακό υλικό
	2. την πρόοδο των τεχνικών ανάκλησης των αντιγόνων (antigen retrieval), η οποία οδηγεί σε αξιόπιστα αποτελέσματα και
	3. την ανάπτυξη ευαίσθητων συστημάτων ανίχνευσης

Το μέλλον της ανοσοϊστοχημείας διαγράφεται ελπιδοφόρο, καθώς αναπτύσσονται νέες τεχνικές όπως οι μικροσυστοιχίες ιστού (tissue microarrays) (Εικόνα 1)οι οποίες επιτρέπουν την ανίχνευση μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων ή την ανίχνευση μεγάλου αριθμού πρωτεϊνών σε ένα μόνο δείγμα, με σχετικά χαμηλό κόστος.[2]



Εικόνα 1.[2]

* Στη διερεύνηση των καρκινωμάτων αγνώστου πρωτοπαθούς εστίας ιδιαίτερα χρήσιμη είναι η ταυτοποίηση των εκφραζόμενων κυτοκερατινών.
* Έχουν αναγνωριστεί 20 υπότυποι της κυτοκερατίνης, που έχουν ποικίλα μοριακά βάρη και εκφράζονται διαφορετικά σε κάθε τύπο επιθηλιακών κυττάρων και στα νεοπλάσματα.
* Μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον ειδικών υποτύπων των κυτοκερατινών έχουν χρησιμοποιηθεί για να ταξινομηθούν νεοπλάσματα ανάλογα με τη θέση προέλευσής τους

Οι πιο χρήσιμες χρώσεις είναι για τις CK7 (Εικόνα 2)και CK20 (Εικόνα 3)

Η CK20 είναι χαμηλού μοριακού βάρους και εκφράζεται φυσιολογικά στο επιθήλιο του γαστρεντερικού, στο ουροθήλιο και στα κύτταρα Merkel.

Η CK7 εκφράζεται στα νεοπλάσματα του πνεύμονα, της ωοθήκης, του ενδομητρίου και του μαστού.

Αν και κανένας ανοσοφαινότυπος δεν είναι παθογνωμονικός ο ανοσοφαινότυπος CK7-/CK20+ εισηγείται πρωτοπαθή όγκο του παχέος εντέρου ενώ ο ανοσοφαινότυπος CK7+/CK20- περιορίζει τη διαφορική διάγνωση σε καρκινώματα του πνεύμονα, μαστού, χοληφόρων, παγκρέατος, ωοθηκών και ενδομητρίου



Εικόνα 2 CK7 σε αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα [2]



Εικόνα 3 CK20 σε αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου [2]

Χρήσιμοι δείκτες για τη διάγνωση νεοπλασμάτων του θυρεοειδούς αδένα είναι οι CK19 (Εικόνα 4 ) και η γκαλεκτίνη (galectin-3).H CK19 εκφράζεται έντονα στα νεοπλασματικά κύτταρα του θηλώδους καρκινώματος ΔΔ:

* καλοήθη αλλοίωση με θηλώδη μορφολογία
* θυλακιώδες καρκίνωμα (η θυλακιώδης ποικιλία του
* θηλώδους καρκινώματος)



Εικόνα 4 CK19 σε θηλώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς αδένα [2]

H γκαλεκτίνη (galectin-3) (Εικόνα 5 )εκφράζεται στα νεοπλασματικά κύτταρα του θυλακιώδους καρκινώματος ΔΔ:

* θυλακιώδες αδένωμα από θυλακιώδες καρκίνωμα (minimally invasive follicular carcinoma) ελλείψει σαφών ιστολογικών κριτηρίων
* θυλακιώδες αδένωμα από θυλακιώδη ποικιλία του θηλώδους καρκινώματος



Εικόνα 5 galectin-3 σε θυλακιώδες καρκίνωμα θυρεροειδούς [2]

Άλλοι χρήσιμοι δείκτες είναι:

* ο TTF-1 (thyroid transcription factor) (Εικόνα 6 )που εκφράζεται σε καρκινώματα πνεύμονα και θυρεοειδούς



Εικόνα 6 TTF-1 σε καρκίνωμα πνεύμονα [2]

* η GCDFP (gross cystic disease fibrous protein), η οποία είναι δείκτης αποκρινούς διαφοροποίησης και εκφράζεται σε καρκινώματα μαστού και
* η ουροπλακίνη ΙΙΙ (UROIII), η οποία εισηγείται ουροθηλιακή προέλευση του νεοπλάσματος.

Διάγνωση συχνών νεοπλασμάτων επιθηλιακής προέλευσης, όπως το καρκίνωμα του μαστού Ο έλεγχος της έκφρασης της E-cadherin (Εικόνα 7 )για τη διαφορική διάγνωση μεταξύ πορογενούς και λοβιακού καρκινώματος.



Εικόνα 7 E-καντχερίνη σε in situ αδενοκαρκίνωμα μαστού [2]

Η εφαρμογή ανοσοχρώσεων κυτοκερατίνης για την ανίχνευση μεταστάσεων στο λεμφαδένα φρουρό

Διάγνωση των νεοπλασμάτων μεσεγχυματικής αρχής, τα οποία χαρακτηρίζονται από μεγάλη ετερογένεια, με ποικίλες κατευθύνσεις διαφοροποίησης και συχνές δυσκολίες στη διαφορική διάγνωση από καλοήθεις ψευδονεοπλασματικές αλλοιώσεις κακοήθη νεοπλάσματα μη μεσεγχυματικής αρχής.[2]

Η αναζήτηση των καρκινικών δεικτών θεωρείται απαραίτητη για τη διάγνωση, γιατί ο ανοσοφαινότυπος αποτελεί μέρος της ταυτότητας του όγκου. Τέτοια νεοπλάσματα είναι:

* το ραβδομυοσάρκωμα
* το επιθηλιοειδές σάρκωμα
* το διαυγοκυτταρικό σάρκωμα
* ο δεσμοπλαστικός στρογγυλοκυτταρικός όγκος και
* οι στρωματικοί όγκοι του γαστρεντερικού

Οι πιο χρήσιμοι δείκτες για την αρχική προσέγγιση του νεοπλάσματος είναι:

Επιθηλιακοί δείκτες, όπως η πανκυτοκερατίνη (Εικόνα 8 )και το ΕΜΑ (Epithelial Membrane Antigen), που είναι χρήσιμοι για τη διάγνωση σαρκωματόμορφου καρκινώματος, συνοβιοσαρκώματος, επιθηλιοειδούς σαρκώματος και μυοεπιθηλιώματος, η πρωτεΐνη S100 η οποία αν και δεν είναι ειδική αποτελεί πολύ χρήσιμο δείκτη για τους όγκους των ελύτρων των περιφερικών νεύρων, το μελάνωμα και το διαυγοκυτταρικό σάρκωμα, δείκτες μυϊκής διαφοροποίησης, κυρίως η δεσμίνη και η SMA, ο δείκτης CD34, για αγγειακούς όγκους, προέχον δερματοϊνοσάρκωμα, μονήρη ινώδη όγκο, στρωματικούς όγκους, ατρακτόμορφο και πλειόμορφο λίπωμα, όγκους των ελύτρων των περιφερικών νεύρων και επιθηλιοειδές σάρκωμα.[2]



Εικόνα 8 Μετάσταση σε λεμφαδένα / πανκυτοκερατίνη [2]

CD117 (Εικόνα 9 )(c-kit) για τους στρωματικούς όγκους του γαστρεντερικού συστήματος



Εικόνα 9 CD117 IHC σε GIST περιπτώσεις [3]

Οι στρωματικοί όγκοι (GISTs) είναι οι πιο συχνοί μεσεγχυματικοί όγκοι του γαστρεντερικού συστήματος (80%), μεταλλάξεις του πρωτοογκογονιδίου KIT (εξώνιο 11) στην πλειονότητα των περιπτώσεων ,υποδοχέας του KIT: δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης, ανοσοιστοχημική ανίχνευση της KIT πρωτείνης: CD117 αντιγόνο

**Πρόγνωση - Μέθοδοι ανίχνευσης**

Ορμονικοί υποδοχείς (ΕR, PR, AR),: Κύριες μέθοδοι ανίχνευσης :Ενζυμικές μέθοδοι, Ανοσοϊστοχημεία. Σε καρκινώματα μαστού: ER: 24-63% των περιπτώσεων, PR: 9-37% των περιπτώσεων. Ασθενείς με θετικά επίπεδα ER και PR:έχουν μικρότερο κίνδυνο υποτροπών, καλύτερη επιβίωση [2]

* Ανοσοϊστοχημεία (προσδιορισμός της πρωτείνης)
* Φθορίζων in situ υβριδισμός (FISH) (ενίσχυση του γονιδίου)

Υπερέκφραση της HER-2/neu πρωτεΐνης σε ποσοστό 20-30% των περιπτώσεων

 εύρος τιμών έκφρασης 5-85% (διαφορές στη μεθοδολογία, αξιολόγηση, χρησιμοποιηθέντα αντισώματα)

Καρκίνωμα παχέος εντέρου / E-καντχερίνη-Mεταλλάξεις του γονιδίου

Απώλεια/ελαττωμένη έκφρασή της σχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση, αυξημένη συχνότητα υποτροπών, μικρή επιβίωση

EGF-R, 16 μελέτες (2.810 ασθενείς)

Εφαρμόσιμες τεχνικές:

ανοσοϊστοχημεία (13/16) ανοσοϊστοχημεία και Northern blot (1/16) PCR (2/16) μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά αντισώματα, ανάλυση επιβίωσης σε 11/16 μελέτες (2.185 ασθενείς)

Η ανοσοϊστοχημική έκφραση του EGFR αποτελεί δείκτη κακής πρόγνωσης σε ασθενείς με NSCLC

Μεσεγχυματικής αρχής νεοπλάσματα

Κυτταρογενετικές μελέτες Χρωμοσωμικές ανωμαλίες - Διαμεταθέσεις γονιδίων, Διαγνωστική προσέγγιση, Προγνωστική αξία.

Συσχέτιση υπερέκφρασης της p53 πρωτεΐνης και του Ki67 (Εικόνα 10 )με επιβίωση.



Εικόνα 10 Ki67 σε συνοβιακό σάρκωμα [2]

Πρωτεΐνες κυτταρικού κύκλου (Ki67, PCNA, κυκλίνες Α, Β1, D, E, κυκλινοεξαρτώμενες κινάσες και αναστολείς τους CDK και CDKIs: p15, p16, p18, p19, p21, p27, p57)

Ογκογονίδια - Ογκοκατασταλτικά γονίδια (c-erbB-2, ras, myc, met, p53, Rb, APC, BRCA1, BRCA2)

Αυξητικοί παράγοντες (EGFR, IGFR)

Δείκτες απόπτωσης (bax, bak, bad, bcl-2, bcl-x, bcl-w)

Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης και υποδοχείς (CD44, ιντεγκρίνες, κατενίνες, E-cadherin

Πρωτεΐνες του εξωκυτταρίου στρώματος (καθεψίνες, μεταλλοπρωτεινάσες, ενεργοποιητής του πλασμινογόνου ουροκινάση (uPA) και αναστολέας PAI-1)

Αγγειογενετικά μόρια (αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF, b-FGF, PD-ECGF, θρομβοσπονδίνη, ενδοστατίνη, αγγειογενίνη)[2]

**Καρκίνος του μαστού – Μοριακοί δείκτες - Μεταγωγή σημάτων**

Η μεταγωγή σημάτων (signal transduction) είναι ο τρόπος με τον οποίο ένα κύτταρο επικοινωνεί με ένα άλλο. Η "συνομιλία" μεταξύ δύο κυττάρων περιλαμβάνει έναν μοριακό αγγελιοφόρο (ligand) από τον αποστολέα και μια περιοχή-υποδοχέα (receptor) πάνω στην μεμβράνη του κυττάρου στην οποία συνδέεται ο αγγελιοφόρος. Όταν το σήμα παραλαμβάνεται, το μήνυμα μεταφέρεται από την εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου στον πυρήνα του κυττάρου. Τα μηνύματα μπορούν να είναι υγιή ή επιβλαβή για τον οργανισμό. Παραδείγματος χάριν, μερικά μηνύματα μπορεί να «λένε» στο κύτταρο να αυξηθεί (πράγμα που μπορεί να οδηγήσει στον καρκίνο) ή να αρχίσει η διαδικασία απόπτωσης. Μερικές από τις πιο κοινές οδούς μεταγωγής των σημάτων περιλαμβάνουν τους πρωτεϊνικούς υποδοχείς κινασών της τυροσίνης (tyrosine kinases), οι οποίες αποτελούνται από τρία βασικά μέρη:

1. Ένας εξωκυττάριος (extracellular ligand-binding domain ) υποδοχέας που βρίσκεται έξω από το κύτταρο και λαμβάνει τα εισερχόμενα σήματα

2. Μια διαμεμβρανική (transmembrane) περιοχή που διασχίζει τη μεμβράνη των κυττάρων και μεταβιβάζει τις πληροφορίες από το εξωτερικό στο εσωτερικό;

3. Μια ενδοκυτταρική περιοχή κινασών στην οποία προστίθεται ένα μόριο φωσφορικού άλατος στη τυροσίνη. Αυτή η διαδικασία είναι η αρχή ενός «καταρράκτη» αντιδράσεων στο εσωτερικό του κυττάρου και αναφέρεται ως φωσφορυλίωση "phosphorylation."[4]

Στην ογκολογία, ένα από τα σημαντικότερα δίκτυα υποδοχέων -σημάτων του τύπου των κινασών της τυροσίνης είναι μια ομάδα υποδοχέων που ανήκουν στην οικογένεια " HER ", επίσης γνωστή ως δίκτυο σημάτων ErbB. Η οικογένεια των HER υποδοχέων αποτελείται από τέσσερα κύρια μέλη καλούμενα συνήθως HER1/EGFR, HER2, HER3 και HER4. (Εικόνα 11 ) Κάθε ένας από τους υποδοχείς αυτούς εμπλέκεται στην ανάπτυξη του καρκίνου αν και ο βαθμός συμμετοχής ποικίλλει. Υπάρχει μια μη αμελητέα σχέση "αλληλεπίδρασης" μεταξύ των HER πρωτεϊνών, πράγμα που σημαίνει ότι η ενεργοποίηση ή η παρεμπόδιση της μιας μπορεί να έχει ανάλογα αποτελέσματα στις άλλες. Η κατανόηση του βιολογικού ρόλου της οικογένειάς HER έχει οδηγήσει στην ανακάλυψη και άλλων σημαντικών συστημάτων μεταγωγής σημάτων, όπως π.χ υποδοχείς που είναι διακριτοί από την οικογένειά HER αλλά έχουν τη δυνατότητα να επιδρούν με τα δικά τους σήματα στους HER –εξαρτώμενους όγκους.



Εικόνα 11 HER-2/neu (c-erbB-2)[4]

Προσδιορίζοντας την πηγή δυσλειτουργίας σε όλα τα κύτταρα, μέχρι σε ένα επίπεδο μεταγωγής σημάτων κυτταρικού πολλαπλασιασμού η διαδικασία είναι κανονική και είναι μέρος του κανονικού κύκλου πολλαπλασιασμού. Είναι η υπερέκφραση, ή η ενεργοποίηση, αυτών των σημάτων - ή η αποτυχία να αντισταθμιστούν ή να εμποδιστούν εκείνα τα σήματα -- που οδηγούν στον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό. Στην περίπτωση του γονιδίου HER2, παραδείγματος χάριν, η υπερέκφραση είναι το αποτέλεσμα μιας γενετικής αλλαγής που παράγει πολλαπλάσια αντίγραφα ενός γονιδίου το οποίο κωδικοποιεί την παραγωγή του υποδοχέα. Λόγω του πλεονάσματος των γονιδίων στο κύτταρο, δημιουργούνται υπερβολικοί αριθμοί μεμβρανικών υποδοχέων οι οποίοι όταν ενεργοποιούνται, μεταφέρουν υπερβολικά σήματα πολλαπλασιασμού που υποκινούν το κύτταρο να επιταχύνει την κυτταροδιαίρεση με τελική κατάληξη την δημιουργία όγκων. Μετάλλαξη γονιδίων HER και καρκίνος Όνομα Άλλα ονόματα Τύποι διαταραχής Είδη καρκίνου HER1 EGFR Υπερέκφραση Η μετάλλαξη οδηγεί σε ατέρμονη (non-stop) δραστηριότητα Κεφαλής, λαιμού, ουροδ.κύστης, προστάτη, νεφρού, μη μικροκυτταρικό πνεύμονα, ωοθηκών, παγκρέατος, γλοιοβλάστωμα. HER2 c-erbB-2 ErbB2 Υπερέκφραση Συν έκφραση με HER-1 βελτιώνει τη δυνατότητα πρόβλεψης για την επιθετικότητα του καρκίνου του μαστού Μαστού, ωοθηκών. HER3 ErbB3 Συνέκφραση με HER-2 βελτιώνει τη δυνατότητα πρόβλεψης για την επιθετικότητα του καρκίνου του μαστού Μαστού, παχέος, στομάχου, προστάτη, κλπ HER4 ErbB4 Συνέκφραση με HER-2 έχει προγνωστική αξία Μαστού, προστάτη, μυελοβλάστωμα (παιδιά). Ένα φυσικό χαρακτηριστικό γνώρισμα της οικογένειας των HER υποδοχέων είναι ότι το σύστημα υποδοχέων περιλαμβάνει πάντα δύο πρωτείνες-υποδοχείς σε συνδυασμό, σε έναν σχηματισμό αποκαλούμενο διμερές "dimer." Τα ομοδιμερή “homodimers” είναι συνδυασμοί δύο παρόμοιων τύπων υποδοχέων, όπως HER1/HER1 και HER3/HER3.Τα ετεροδιμερή «heterodimers» αποτελούνται από δύο διαφορετικούς υποδοχείς, όπως π.χ τα: HER1/HER2, HER1/HER3 και HER4/HER3. Τα διάφορα ετερο- και ομοδιμερή έχουν διαφορές στη ικανότητα μεταγωγής των σημάτων μέσα στο κύτταρο. Παραδείγματος χάριν, η ομο-έκφραση ορισμένων ζευγαριών (όπως HER3/HER2) είναι ισχυρότερη από άλλα όπως το HER3/HER3 ομοδιμερές, το οποίο είναι ανενεργό. Η έρευνα είναι εν εξελίξει για να γίνει καλύτερα κατανοητό γιατί διαφορετικές ενώσεις διμερών έχουν διαφορετικά αποτελέσματα και πώς αυτά τα αποτελέσματα εκδηλώνονται στο καρκινικό κύτταρο. Ογκογονίδιο HER-2/neu Το HER-2/neu είναι ένα πρωτογκογονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17q11.2-12 και κωδικοποιεί ένα μέρος ενός υποδοχέα που αποτελείται από τρία μέρη: εντός κυτταροπλάσματος, επί της κυτταρικής μεμβράνης και εκτός του κυττάρου P101P. O υποδοχέας αυτός είναι μία πρωτεΐνη 185 kd πάνω στην οποία συνδέεται με τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα. H σύνδεση αυτή προκαλεί το σχηματισμό ομο-ετεροδιμερών που οδηγούν στην φωσφορυλίωση του ενδοκυττάριου τμήματος του υποδοχέα η οποία με τη σειρά της πυροδοτεί ένα καταρράκτη ενδοκυττάριων αντιδράσεων με τελικό αποτέλεσμα την υπερπλασία του κυττάρου. Έτσι η ενεργοποίηση του ογκογονιδίου αυτού είναι δυνατόν να οδηγήσει στην υπερβολική ή και ανεξέλεγκτη παραγωγή πρωτεϊνών-υποδοχέων οι οποίοι με τη σειρά τους ενοχοποιούνται για την προαγωγή ή ακόμα την έναρξη της διαδικασίας εξαλλαγής του κυττάρου σε νεοπλασματικό P102P. Η ενεργοποίηση του γονιδίου και η υπερπαραγωγή της πρωτεΐνης εμφανίζεται στο ένα τρίτο περίπου των όγκων στο μαστόP103P. Πάρα πολλές μελέτες έχουν γίνει για να εκτιμηθεί η προγνωστική αξία της υπερέκφρασης του HER-2/neu στους ασθενείς με καρκίνο στο μαστό. Στους ασθενείς που έχουν όγκους με θετικούς λεμφαδένες η παρουσία του HER-2/neu έχει ξεκάθαρη δυσμενή προγνωστική αξία και συνδέεται με μικρότερο διάστημα χωρίς υποτροπή της νόσου και μειωμένη επιβίωση.P104P Αντίθετα τα πράγματα είναι πιο πολύπλοκα στους ασθενείς χωρίς λεμφαδενική συμμετοχή όπου δεν έχει αποδειχτεί η προγνωστική αξία του HER-2/neu αφού τα αποτελέσματα των μελετών που έχουν γίνει μέχρι τώρα είναι αντικρουόμενα P83,93,105P. Ένα άλλο ερώτημα που προκύπτει από τη βιβλιογραφία έχει να κάνει με το κατά πόσο ανεξάρτητος είναι ως προγνωστικός δείκτης το HER-2/neu. Αν και κάποιοι ερευνητές θεωρούν το HER-2/neu ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη P104,105 P πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η υπερέκφραση του HER-2/neu συνδέεται στενά με την παρουσία και άλλων δυσμενών προγνωστικών δεικτών όπως είναι: οι διηθημένοι λεμφαδένες, το μεγάλο μέγεθος του όγκου, ο υψηλός βαθμός κακοήθειας, η απουσία οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων, ιδιαίτερα στους όγκους με αρνητικούς λεμφαδένες κλπ. Σε μερικές από αυτές τις μελέτες το HER-2/neu χάνει την προγνωστική αξία που είχε στη univariate ανάλυση όταν γίνεται multivariate ανάλυση. Παρόλα αυτά το συμπέρασμα είναι ότι σε γενικές γραμμές η υπερέκφραση του HER-2/neu στους όγκους στο μαστό έχει δυσμενή επίδραση στη επιβίωση αυτών των ασθενών και αυτό το φαινόμενο πρέπει να εξηγηθεί σε βιολογικό και μοριακό επίπεδο P106, 107,108,109, 110P Αρκετές μελέτες έχουν προσπαθήσει να ανιχνεύσουν εάν η υπερέκφραση του HER-2/neu έχει προβλεπτική αξία ούτως ώστε να γίνει η επιλογή του καταλληλότερου χημειοθεραπευτικού ή άλλου σχήματος. Το πιο καθαρό συμπέρασμα που έχει βγει μέχρι τώρα δείχνουν ότι η υπερέκφραση του HER-2/neu συνδέεται με αυξημένη ευαισθησία στα χημειοθεραπευτικά σχήματα που περιέχουν ανθρακυκλίνες. Από την άλλη μεριά υπάρχουν κάποια δεδομένα που δείχνουν ότι το HER-2/neu συνδέεται με αυξημένη αντοχή σε άλλες ουσίες όπως είναι οι ταξάνες, η κυκλοφωσφαμίδη, η μεθοτρεξάτη, η 5-φλουοροουρακίλη και η ταμοξιφαίνη αλλά τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα αφού υπάρχουν και μελέτες που δείχνουν ευαισθησία σε αυτές τις ουσίες P105,106,107,111P Η διαφαινόμενη σημασία του HER-2/neu στη πρόγνωση και στη θεραπεία των ασθενών με καρκίνο του μαστού το έκανε το ίδιο θεραπευτικό στόχο. Έτσι αναπτύχθηκε μετά από πειράματα στο εργαστήριο ένα μονοκλωνικό ειδικό αντίσωμα που λέγεται Herceptin (trastuzumab) και χορηγείται στους ασθενείς στοχεύοντας το ίδιο το HER-2/neu στα καρκινικά κύτταρα P112P. Mάλιστα το αντίσωμα αυτό έχει δείξει πολύ καλά αποτελέσματα ακόμα και όταν χορηγείται μόνο του σε ασθενείς στους οποίους δεν απέδωσε η χημειοθεραπεία P113P. Πρόσφατα ιδιαίτερο ενδιαφέρονP114P έχει αποκτήσει η εμπλοκή της ενεργοποίησης του γονιδίου αυτού μαζί με άλλα στων αρχική φάση της ογκογενετικής διαδικασίας στο μαστό η οποία μέχρι τώρα αποδιδόταν αποκλειστικά στην μεσολάβηση άμεσα η έμμεσα των οιστρογόνων και των υποδοχέων τους.[4]

**Συνδυασμένη έκφραση των p53, Bcl-2, και p21WAF-1 πρωτεϊνών στον καρκίνο των πνευμόνων και σε προκαρκινοματώδεις αλλοιώσεις: σύνδεση με τα κλινικά χαρακτηριστικά**

Εξετάστηκαν η πρωτεϊνική έκφραση των p53, p21WAF-1, και Bcl-2 (Εικόνα 12 )σε κακοήθη και καλοήθη βρογχικά δείγματα αποκτηθέντα κατά τη διάρκεια βρογχοσκόπησης από 60 ασθενείς με καρκίνο πνευμόνων. Είκοσι έξι (43.3%), 36 (60%), και 20 (33.3%) από τους όγκους ήταν p53, p21WAF-1, και Bcl-2 θετικό, αντίστοιχα. Υψηλά επίπεδα p53 και Bcl-2 έκφρασης προσδιορίστηκαν σε προχωρημένες προκαρκινοματώδεις, αλλοιώσεις ενώ υπερπλασίες, πλακώδεις μεταπλασίες, και ήπιες δυσπλασίες έδειξαν χαμηλά επίπεδα έκφρασης. Δεν υπήρξε καμία διαφορά μεταξύ πρώϊμων και προχωρημένων προκαρκινοματωδών αλλοιώσεων στο επίπεδο της έκφρασης των p21WAF-1. Ένα ιστορικό βαριού καπνίσματος συνδέθηκε με την έκφραση των p21WAF-1, στις προκαρκινοματώδεις, αλλοιώσεις (p = 0.022) και όγκους (p = 0.032). p53(-)/p21WAF-1(++)/bcl-2(-)ήταν ο μόνος σημαντικός ανεξάρτητος προάγγελος από χαμηλότερη κλινική κατάσταση(OR: 0.88, p = 0.038). Στη μεταβλητή ανάλυση, επιβίωσης NSCLC οι ασθενείς επηρεάστηκαν από την κατάσταση της ασθένειας (p <0.001) και ιστολογία όγκων (p = 0.018). Ενώ η ενιαία-πρωτεϊνική έκφραση δεν συνδέθηκε με την πρόγνωση, συνδυασμένος ανοσοφαινότυπος p53(-)/p21WAF-1(++)/bcl-2(-) προβλέπει πιό μακροχρόνια επιβίωση (p = 0.03). Στην πολλών μεταβλητών ανάλυση, μόνο TNM κατάσταση βρέθηκε να είναι ένας προγνωστικός παράγοντας για NSCLC. Ολοκληρώνοντας αυτές οι αλλαγές των p53 και Bcl-2 μπορούν να συμβούν νωρίς στη βρογχική καρκινογένεση και η απουσία από αυτές τις αλλαγές σε συνδυασμό με την υπερέκφραση των p21WAF-1, μπορέστε να συνδεθεί με συμπεριφορά λιγότερο επιθετικού όγκου. Αυτό είναι μια από τις πολλές κλινικές μελέτες που επιδιώκουν να προσδιορίσουν μοριακούς δείκτες από τα διάφορα στάδια του καρκίνου των πνευμόνων. Η παρούσα μελέτη προσθέτει κάποια στοιχεία για εκείνους τους μοριακούς δείκτες που μπορούν να είναι προφητικοί για τη βιολογία και την επιθετικότητα όγκων και μπορεί να συμπληρώσει το TNM στάδιο για προγνωστικούς λόγους.[5]



Εικόνα 12 bcl-2 σε αδενοκαρκίνωμα μαστού[5]

Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (UPA). Ένας νέος δείκτης για τον καρκίνο του παχέος εντέρου

Η σταδιοποίηση του καρκίνου του παχέος εντέρου κατά DUKES' αποτελεί μέχρι σήμερα τον καλύτερο δείκτη πρόγνωσης αν και υπάρχει μεγάλη ανάγκη για περαιτέρω υποδιαίρεση, κυρίως των σταδίων Β και C, σε περισσότερες κατηγορίες που δίνουν τη δυνατότητα ιδιαίτερης θεραπευτικής προσέγγισης. Αυτό ίσως γίνει εφικτό με τη διερεύνηση νέων βιολογικών δεικτών. Η διήθηση και η νετάσταση του καρκίνου διευκολύνονται από αρκετά πρωτεολυτικά ενζυμικά συστήματα μεταξύ των οποίων και οι ενεργοποιητές πλασμινογόνου. Μελετήθηκε η έκφραση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου της ουροκινάσης (UΡΑ) σε 64 ζεύγη κυτοσολίων ιστών παχέος εντέρου (καρκινικό/μη καρκινικό των ίδιων ασθενών) με τη μέθοδο ELISA, καθώς επίσης με ανοσοϊστοχημική μέθοδο σε τομές παραφίνης των όγκων των ίδιων ασθενών. για τη στατιστική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες ΜANN-WHITNEY, KRUSKAL-WALLIS, X2 ΚΑΙ FISHERS EXACT. Εξήντα δύο ασθενείς είχαν υψηλότερη συγκέντρωση UΡΑ (96,8%) στον καρκινικό απ' ό,τι στον μη καρκινικό ιστό, ενώ δύο είχαν χαμηλότερη στον καρκινικό (3,2%) απ' ό,τι στον μη καρκινικό. Οι συγκεντρώσεις του UΡΑ κυμαίνονταν μεταξύ 0,30 και 2,80 NG/MG πρωτεϊνης, με μέσο όρο±μέση απόκλιση 1,92±0,47 NG/MG πρωτεϊνης για τον καρκινικό ιστό ενω για τον μη καρκινικό κυμαίνονταν μεταξυ 0,18 και 0,75 με μέσο όρο±σταθερή απόκλιση 0,29±0,11 NG/MG πρωτεϊνης. Στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η διαφορά της συγκέντρωσης του UΡΑ μεταξύ καρκινικών και μη καρκινικών ιστών παχέος εντέρου των ίδιων ασθενών είναι στατιστικά σημαντική (Ρ<0,001). Επίσης στατιστική ανάλυση έδειξε θετική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του UΡΑ και του βαθμού διαφοροποίησης (GRADE) (Ρ<0,001), καθώς επίσης και της διήθησης των λεμφαδένων (Ρ=0,045), όχι όμως και του σταδίου κατά DUKES'. Μελέτη της έκφρασης του UΡΑ με ανοσοϊστοχημεία έδειξε θετική σχέση με το GRADE, το στάδιο κατά DUKES' και τη διήθηση των λεμφαδένων (Ρ<0,001, Ρ<0,001, Ρ=0,002 αντίστοιχα). Μελέτη μεγαλύτερου αριθμού δειγμάτων διεξάγεται στο εργαστήριο με στόχο την διερεύνηση της πιθανότητας χαρακτηρισμού του UΡΑ ως νέου προγνωστικού δεικτη για τον καρκίνο του παχέος εντέρου.[6]

**Ογκολογικοί δείκτες στον καρκίνο του ουροποιητικού**

|  |
| --- |
| **Καρκίνος ουροδόχου κύστης**Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης αντιπροσωπεύει τον 4ο συχνότερο καρκίνο στους άνδρες και τον 10ο στις γυναίκες, με ποσοστό υποτροπής 70% και 30% των υποτροπών να εξελίσσονται. Περίπου 60% των ασθενών με προχωρημένο καρκίνο ουροδόχου κύστης θα έχει αυξημένα επίπεδα ορού, τουλάχιστον ενός από τους παρακάτω καρκινικούς δείκτες: βHCG, CEA, CA125 και CA19.9, οι οποίοι αποτελούν και δείκτες ανταπόκρισης στην χημειοθεραπεία.Χρησιμοποιούνται ήδη στην κλινική πράξη οι παρακάτω διαγνωστικές εξετάσεις καρκινικών δεικτών των ούρων για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης: το ΒΤΑstat test (ποιοτική ανοσοχρωματογραφική εξέταση που ανιχνεύει το ειδικό αντιγόνο hCFHrp), το NMP22 test (ανοσολογική εξέταση ποσοτικής ανίχνευσης της πυρηνικής δομικής πρωτεΐνης 22), το UBC test (ανοσολογική ποιοτική αλλά και ποσοτική μέτρηση των επιπέδων τμημάτων των κυτταροκερατινών 8 και 18), το GYFRA-21 test (ανοσοενζυμική μέτρηση κυτταροκερατίνης 21-1) και το Aura Tek FDP test (μέτρηση προϊόντων καταβολισμού ινώδους/ινωδογόνου). Η κυτταρομετρία ροής μελετώντας την πλοειδικότητα του DNA και τις φάσεις πολαπλασιασμού υπερέχει της κυτταρολογικής εξέτασης των ούρων στην διάγνωση του καρκίνου της κύστης. Χρησιμοποιούνται επίσης και οι τεχνικές γονιδιακής υβριδοποίησης (CGH) και κυτταρικής μορφομετρίας (CIA).Υπό μελέτη είναι οι παρακάτω δείκτες: οι ρυθμιστικές πρωτεΐνες του κυτταρικού κύκλου όπως η τελομεράση και ο αναστολέας των κινασών κυκλίνης p21Cip1, τα αντιγόνα ομάδων αίματος (ΑBH, Lewis και Thomsen-Friedenreich), οι δείκτες πολλαπλασιασμού (π.χ., Ki67), ογκογονίδια (π.χ., ras, bcl-2, c-Erb-B2), τα ογκοκατασταλτικά γονίδια (π.χ., p53 και Rb), οι παράγοντες αγγειογένεσης και μετάστασης (π.χ., VEGF, VPF, PDECGF, MMPs, ΗΑ), οι αυξητικοί παράγοντες και οι υποδοχείς τους (π.χ., EGF και EGFR, (Εικόνα 13 ) TGF-a), τα μόρια συγκόλλησης (π.χ., Ε-cadherin) και άλλα.[7]Εικόνα 13 EGF-R σε αδενοκαρκίνωμα [2]**Καρκίνος νεφρού**Η επίπτωση του καρκίνου του νεφρού έχει αυξηθεί την τελευταία εικοσαετία. Eνοχοποιούνται γονίδια όπως το ογκογονίδιο c-met και το von Hippel-Lindau (VHL) γονίδιο που κωδικοποιεί μεταγραφικό παράγοντα επεξεργασίας του RNA. Έχει διαπιστωθεί ότι το CEA είναι αυξημένο στις μισές περίπου περιπτώσεις. Άλλοι δυνητικοί καρκινικοί δείκτες είναι το CA50 και TPA. Υπό μελέτη μοριακοί καρκινικοί δείκτες είναι διάφοροι παράγοντες απόπτωσης και αγγειογένεσης καθώς και δείκτες πολλαπλασιασμού. Τέλος, η καρυοτυπική ανάλυση με in situ υβριδισμό και η RFLP ανάλυση του γενετικού υλικού, βοηθά σημαντικά στη γενετική ταξινόμηση των νεοπλασμάτων του νεφρού.[7]**Καρκίνος προστάτη**O καρκίνος του προστάτη αποτελεί την δεύτερη συχνότερη αιτία θανάτου από καρκίνο στους άνδρες, μετά από τον καρκίνο του πνεύμονα, με το μειονέκτημα σε πάνω από το ήμισυ των περιπτώσεων ο καρκίνος να διαγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο. Η εισαγωγή της χρήσης του ειδικού προστατικού αντγόνου (PSA), (Εικόνα 14 )την τελευταία εικοσαετία, προσέθεσε τον πιο σημαντικό καρκινικό δείκτη για τον καρκίνο του προστάτη, στις χρησιμοποιούμενες εξετάσεις του προστατικού κλάσματος της όξινης φωσφατάσης και της ΑLP. Προκειμένου να αυξηθεί η ειδικότητα και ευαισθησία του PSA, έχουν προταθεί παράμετροι όπως το κλάσμα ελεύθερου προς ολικό PSA, η ταχύτητα αύξησης του PSA και η πυκνότητα του PSA και η σχέση του PSA με την ηλικία. Η χρησιμότητα του PSA δεν περιορίζεται μόνο στην πρώιμη διάγνωση και ριζική αντιμετώπιση του καρκίνου του προστάτη, αλλά και στον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της χειρουργικής αντιμετώπισης, ορμονοθεραπείας, χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας, αποτελώντας παράλληλα έναν πολύ χρήσιμο προγνωστικό δείκτη.[7]Εικόνα 14 PSA σε αδενοκαρκίνωμα προστάτη [2]Υπό μελέτη είναι οι παρακάτω δείκτες που παίζουν ρόλο και στην ανάπτυξη ανδρογόνο-ανεξαρτησίας και αποτυχίας του ανδρογονικού αποκλεισμού: οι αυξητικοί παράγοντες με τους αντίστοιχους υποδοχείς (π.χ., EGF, KGF, IGF-I, IGF-IΙ), οι αποπτωτικές και αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες (π.χ., Βax, Bcl-2, Bcl-X, Mcl-1), οι κυκλίνες (π.χ., D, E, Α), οι κινάσες των κυκλινών και οι αναστολείς τους (π.χ., CDK4, CDK6, CDK2, p27Kip1, p15INK4B, p16INK4A), (Εικόνα 15) οι τελομεράσες, τα προϊόντα ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων (π.χ., ΗΕR-2/Neu, ras, c-met, p53, Rb), οι παράγοντες αγγειογένεσης και επέκτασης (VEGF, C-CAMI, MUC1, MUC2, MMPs, TIMPs, uPA) οι δείκτες νευροενδοκρινικής διαφοροποίησης (π.χ., NGF) και άλλα.[7]Εικόνα 15 p27 σε καρκίνωμα [2]Στον εντοπισμό των παραπάνω δεικτών βοηθούν και οι διάφορες σύγχρονες τεχνικές ανίχνευσης γενετικών διαταραχών, όπως στην περίπτωση των χρωμοσωμιακών μεταλλάξεων, των πολυμορφισμών (π.χ., των υποδοχέων των ανδρογόνων; AR, ή της βιταμίνης D; VDR), της γονιδιακής ενίσχυσης (π.χ., του AR) και της απώλειας της ετεροζυγωτίας (LOH).Τα ειδικά αντιγόνα του προστάτη (π.χ., PSA, PSMA, PSCA, PCGEM1, DD3, PSGR) δεν αποτελούν μόνο ειδικούς δείκτες, αλλά και βοηθούν στην ειδικότητα της γονιδιακής θεραπείας (αποκατάστασης ή αυτοκτονίας) αλλά και στην αποτελεσματικότητα της ανοσοθεραπείας.[7]**Καρκίνος όρχεων**Ο καρκίνος των όρχεων είναι ο πιο συχνός καρκίνος στους νεαρούς άρρενες με επίπτωση που έχει διπλασιαστεί τα τελευταία 25 έτη. Ενοχοποιούνται διαταραχές ογκογονιδίων και αυξητικών παραγόντων: c-kit, hst1, c-myc, κυκλίνης D και PTHLH. Καθιερωμένοι καρκινικοί δείκτες είναι η AFP και η βHCG. Επίσης χρησιμοποιούνται με διαφορετικοί ειδικότητα και ευαισθησία στους διάφορους ιστολογικούς τύπους οι παρακάτω δείκτες: CEA, LDH, γ-GT, PLAT, SSP1, τεστοστερόνη, ειδική β1-γλυκοπρωτείνη της κύησης, πλακουντιακή ALP και άλλα. [7] |

**Ογκολογικοί δείκτες στον καρκίνο του πνεύμονα**

**Εισαγωγή**

Ως καρκινικοί δείκτες ορίζονται ουσίες που έχουν τη δυνατότητα να προσδιορισθούν ποσοτικά και να παράσχουν πληροφορίες σχετικά με την ύπαρξη, την φύση και την ανάπτυξη του όγκου, την μεταστατική του εξάπλωση και την ανταπόκριση ή όχι στην χημειοθεραπεία (ΧΜΘ).

Η επιλογή της θεραπείας στηρίζεται κυρίως 1) στην ύπαρξη προγνωστικών παραγόντων όπως το ΤΝΜ σύστημα, 2) στην έκταση των λεμφαδενικών (Ν) μεταστάσεων και 3) στην γενική κατάσταση του ασθενούς.

Πολλές φορές οι ασχολούμενοι με τον καρκίνο του πνεύμονα έρχονται αντιμέτωποι με ασθενείς που παρά την διαφορετική τους πρόγνωση, καταλήγουν σύντομα κι αυτό δείχνει ότι άλλα, ειδικά χαρακτηριστικά του όγκου παίζουν ρόλο στον καθορισμό της κλινικής πορείας του ασθενούς. Η γνώση των βιολογικών μεταβολών που συνοδεύουν τον καρκίνο του πνεύμονα είναι απαραίτητη προκειμένου να κατανοήσουμε τους γενετικούς και κυτταρικούς μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την ανάπτυξη και τον έλεγχο αύξησης του όγκου.

Η κλινική αξία της χρήσης των καρκινικών δεικτών μέχρι σήμερα περιορίζεται α) στην προγνωστική αξιολόγηση και β) στην παρακολούθηση της πορείας της νόσου, είτε είναι χειρουργήσιμη είτε όχι.

Στόχος της έρευνας σε αυτό το πεδίο είναι να βρεθούν ουσίες με υψηλή προγνωστική αξία στη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα που θα καθιστούν ικανό τον κλινικό γιατρό να προγραμματίζει με μεγαλύτερη ακρίβεια τους θεραπευτικούς του χειρισμούς, να αξιολογεί την ανταπόκριση στη ΧΜΘ και να προσδιορίζει την χρονικότητα των υποτροπών.

Οι βιολογικοί, μοριακοί και γενετικοί δείκτες που αναζητούνται στον καρκίνο του πνεύμονα είναι:

\* Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA)

\* Καρκινικό αντιγόνο 15-3 (CA 15-3)

\* Κυτταροκερατίνη 21-1 (CYFRA 21-1)

\* Νευροενδοκρινική ενολάση (NSE)

\* Β-Β Κρεατινική κινάση (Β-Β creatine kinase)

\* Αντιγόνο πλακώδους καρκινώματος (SCC)

\* Ιστικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο (TPA)

\* Ειδικό Ιστικό Πολυπεπτιδικό Αντιγόνο (TPS).

Νεότεροι δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί στον καρκίνο του πνεύμονα κι αυτοί είναι οι:

\* Υποδοχείς ορμονικών υποδοχέων στεροειδικών ορμονών, καθώς και μοριακοί και γενετικοί καρκινικοί δείκτες όπως:

\* Ογκογονίδια και ογκοπρωτεϊνες

\* Ογκοκατασταλτικά γονίδια και πρωτεϊνες

\* Αυξητικοί παράγοντες του όγκου

\* Παραγωγή χειμερικών πρωτεϊνών

\* Απώλεια ετεροζυγωτείας και μικροδορυφορικό DNA

\* Προσδιορισμός Τελομεράσης.

**Καρκίνος πνεύμονα**

Ο καρκίνος του πνεύμονα είναι ο πιό κοινός και θανατηφόρος καρκίνος παγκοσμίως. Περίπου το 80% του καρκίνου του πνεύμονα αποτελεί ο ΜΜΚΠ που σταδιοποιείται κατά ΤΝΜ σύμφωνα με την πρόταση των C.Mountain, Ts. Naruke.

Η βασική θεραπευτική αντιμετώπιση για τα πρώϊμα στάδια του ΜΜΚΠ (Ι, ΙΙ, ΙΙΙα) που αποτελούν το 20-25% των καρκίνων, είναι η χειρουργική εξαίρεση. Σε αυτά τα στάδια, η αύξηση των επιπέδων των καρκινικών δεικτών αποτελεί ένδειξη φτωχής πρόγνωσης (διάστημα ελεύθερο νόσου και συνολική επιβίωση).

Η αξιολόγηση των καρκινικών δεικτών προσδιορίζει περιπτώσεις υψηλού κινδύνου για υποτροπή και ασθενείς που μπορούν να δεχθούν ΧΜΘ ανοσοενισχυτικός και nνεο- ανοσοενισχυτικός.

Ο μετεγχειρητικός προσδιορισμός των καρκινικών δεικτών χρησιμεύει:

\* Στην εκτίμηση της υπολειμματικής νόσου

\* Στον πρώϊμο προσδιορισμό των υποτροπών

Οι συνήθως χρησιμοποιούμενοι καρκινικοί δείκτες στον ΜΜΚΠ φαίνονται στον πίνακα.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Όνομα**  | **Σύντμηση**  | **Βιοχημικές ιδιότητες**  |
| **Καρκινοεμβρυικό αντιγόνο**  | **CEA**  | **Γλυκοπρωτεϊνη**  |
| **Καρκινικό αντιγόνο 125**  | **CA 125**  | **Βλεννώδης ουσία προσδιορισμένη με μονοκλωνικά αντισώματα**  |
| **Αντιγόνο πλακώδους Καρκινώματος**  | **SCC-Ag**  | **Γλυκοπρωτεϊνικό κλάσμα καρκινικού αντιγόνου Τ4**  |
| **Ιστικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο**  | **TPA**  | **Τμήμα των κυτταροκερατινοκινών 8,18,19**  |
| **Κυτταροκερατίνη 21-1**  | **CYFRA 21-1**  | **Τμήμα κυτταροκερατίνης 19**  |
| **Ειδικό ιστικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο**  | **TPS**  | **Τμήμα κυτταροκερατίνης 18**  |

Συμπερασματικά πρέπει να πουμε ότι οι καρκινικοί δείκτες μπορεί να είναι χρήσιμοι στον ΜΜΚΠ σε 4 περιπτώσεις:

1. Ως προγνωστικοί δείκτες της έκτασης της νόσου προεγχειρητικά σε ασθενείς με εντοπισμένη νόσο. Σε απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων, ίσως είναι υποψήφιοι για νεο-ανοσοενισχυτική ή ανοσοενισχυτική θεραπεία.

2. Στην λήψη απόφασης για έναρξη ΧΜΘ σε ασθενείς με εκτεταμένη νόσο. Οι καρκινικοί δείκτες θα μπορούσαν να βελτιώσουν την ικανότητά μας να επιλέξουμε τους κατάλληλους ασθενείς και ίσως να μας βοηθήσουν στην επιλογή των ΧΜΘ φαρμάκων.

3. Στην μετεγχειρητική παρακολούθηση ασθενών. Οι καρκινικοί δείκτες πρέπει να αποτελούν μέρος των θεραπευτικών χειρισμών και η χρησιμότητά τους πρέπει να συγκρίνεται με συγκεκριμένους διαγνωστικούς χειρισμούς κατά τον προσδιορισμό των υποτροπών.

4. Στην παρακολούθηση της απάντησης στην θεραπεία γεγονός που θα μας βοηθήσει να αλλάξουμε θεραπευτική προσέγγιση αν ο ασθενής δεν απαντά περισσότερο στην εφαρμοζόμενη θεραπεία.

Νευροενδοκρινικοί δείκτες

Σε περισσότερο από 80% ΜΚΠ έχουν προσδιοριστεί Νευροενδοκρινικοί δείκτες με κυριο εκπρόσωπο την NSE (Νευροενδοκρινική Ειδική Ενολάση). Νευροενδοκρινική δραστηριότητα παρουσιάζει και ο ΜΜΚΠ (23%) και η NSE συσχετίζεαι με καλλίτερη απάντηση στη ΧΜΘ.

Σε εργασία των NE Kushlinsky αναφέρεται ότι η NSE παρουσιάζει διαγνωστική ευαισθησία 76% για τον ΜΚΠ με ψηλότερες τιμές σε εκτεταμένη νόσο.

Η αυξηση της NSE σε ΜΜΚΠ παρουσιάζει διαφορές στο πλακώδες (34%) και στο αδενοκαρκίνωμα (43,8%). Συμφωνα με τον Rastel η NSE δεν έχει την απαιτουμενη ειδικότητα και ευαισθησία προκειμένου να χρησιμοποιηθεί στην δ/δ του ΜΚΠ από τον ΜΜΚΠ. Η μέτρησή της μπορεί να χρησιμευσει σην παρακολουθηση της πορείας του ΜΚΠ.

Μοριακοί και γενετικοί δείκες

Ογκογονίδια: Σ' αυτά ανήκουν κυρίως οι οικογένειες Myc και Ras.

Στην οικογένεια Ras συγκαταλέγονται τα HRAS1, KRAS2, NRAS και ο KRAS2 παρουσιάζει μετάλλαξη στη θέση 12. Απαντάται 90% στο Αδενοκαρκίνωμα και συσχετίζεται με αυξηση σο ρυθμό μεγένθυνσης του όγκου και μικρότερη επιβίωση.

Η οικογένεια Myc περιλαμβάνει τα c- Myc, N- Myc, L- Myc. Παρατηρείαι μεγένθυνση ή υπερέκφραση κυρίως στο c- Myc. Αυτή η βλάβη απαντάται 80-90% σε ΜΚΠ και 10% σε ΜΜΚΠ και δηλώνει τάση για υποτροπή μετά ΧΜΘ καθώς και κακή πρόγνωση.

Ογκοκατασταλτικά γονίδια: Παρατηρείται απώλεια λειτουργικότητας. Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι είναι το γονίδιο του Ρετινοβλαστώματος που απαντάται κυρίως στο ΜΚΠ και λιγότερο σχνά σε ΜΜΚΠ, το γονίδιο p53 (Εικόνα 16 )που παρατηρείται 75-78% σε ΜΚΠ και 50% σε ΜΜΚΠ. Οι μεταλλάξεις αυτές σχετίζονται με μεταστάσεις σε πυλαίους και μεσοθωρακικους λεμφαδένες. Οι απώλειες στο χρωμόσωμα 3ρ παρατηρουνται 100% στο ΜΚΠ και 50% στο ΜΜΚΠκαι αφορουν σε ομόζυγη εξάλειψη των περιοχών 3ρ12-3ρ22.



Εικόνα 16 p53 σε ινοσάρκωμα [2]

Αλλοι παράγοντες που ο ρόλος τους ακόμη συζητείται σην κλινική αξιολόγηση των καρκίνων του πνευμονα είναι οι αυξητικοί παράγονες GRP, EGF, GF-a, IGF-1 και ο προσδιορισμός επιφανειακών επιτόπων που αναμένεται να πλουτίσον τις γνώσεις μας και να συμβάλλον στην πληρέστερη αντιμετώπιση το καρκινοπαθή.[8]

**Θεραπεία**

Η κλινική έρευνα της θεραπευτικής των κακοήθων νεοπλασμάτων επικεντρώνεται στους διαρκώς αναγνωριζόμενους μοριακούς δείκτες που εμπλέκονται στην παθογένειά τους.

Την τελευταία δεκαετία εξελίχθηκε η προσπάθεια ανάπτυξης θεραπευτικών παραγόντων με ικανότητα στόχευσης και αναστολής της λειτουργίας αυτών των δεικτών.[2]

**Ιστορική αναδρομή**

1846 πρωτείνη Bence-Jones

1940 όξινη φωσφατάση

1963 α-φετοπρωτείνη (AFP)

1965 καρκινοεμβρυικό αντιγόνο (CEA)

1975 μονοκλωνικά αντισώματα

1980 CA 125, CA 15.3, CA 19.9 ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA)

1970-1980 ογκογονίδια, ογκοκατασταλτικά γονίδια

2001 PCR, μικροσυστοιχίες, πρωτεομική, σπεκτρομετρία μάζας [2]

**Δυνητικά οφέλη (potential uses) καρκινικών δεικτών**

* Σάρωση γενικού πληθυσμού
* Διάγνωση και διαφορική διάγνωση συμπτωματικών ασθενών
* Σταδιοποίηση της νόσου
* Εκτίμηση της πρόγνωσης
* Εκτίμηση ύφεσης ή υποτροπής της νόσου
* Εκτίμηση ανταπόκρισης στη θεραπεία

**1. Screening γενικού πληθυσμού.**

* περιορισμένη
* μικρή ευαισθησία (οι περισσότεροι δείκτες ανιχνεύονται σε υψηλά επίπεδα σε προχωρημένα στάδια)
* μικρή ειδικότητα
* έκφραση σε ποικιλία νεοπλασμάτων και σε μη νεοπλασματικές παθήσεις

**2. Διάγνωση και διαφορική διάγνωση συμπτωματικών ασθενών**

* περιορισμένη
* μικρή ευαισθησία
* μικρή ειδικότητα

για επιλεγμένες ομάδες ασθενών, π.χ υψηλού κινδύνου, η συστηματική ανάλυση δεικτών πιθανώς να οδηγήσει σε λεπτομερέστερο έλεγχο (ενδοσκόπηση, απεικονιστικές μέθοδοι)

**3. Σταδιοποίηση της νόσου.**

* περιορισμένη

**4. Εκτίμηση πρόγνωσης για την εξέλιξη της νόσου.**

* σχετικά περιορισμένη
* κάποιοι δείκτες φαίνεται να έχουν προγνωστική αξία

**5. Εκτίμηση ανταπόκρισης στη θεραπεία.**

* σημαντική
* λίγοι δείκτες: καρκίνωμα μαστού ER, PR, c-erbB2 (Εικόνα 17 )





Εικόνα 17 [2]

**6. Εκτίμηση υποτροπής ή ύφεσης της νόσου.**

* περιορισμένη
* υποτροπή νόσου χωρίς αύξηση τιμών
* μη ειδική αύξηση χωρίς επιδείνωση της νόσου

διακοπή του θεραπευτικού σχήματος ή υπερθεραπεία [2]

**Τι προσδοκούμε στο μέλλον - Νέες πηγές γνώσεων (2007-2010)**

* Γονίδια και κωδικοποιούμενες πρωτείνες
* Κυτταρική εντόπιση των πρωτεινών
* Δομή και λειτουργία των πρωτεινών
* Βιοχημικά μονοπάτια
* Φάσμα μεταλλάξεων
* Τεχνολογίες (γενομική, πρωτεομική)

Τα νοσήματα θα ταξινομούνται με βάση μοριακή και όχι μορφολογική ανάλυση.

Η έγκαιρη διάγνωση θα είναι δυνατή με την αναζήτηση συγκεκριμένων γονιδιακών ή πρωτεινικών profiles, που θα αποτελούνται από πολλούς μοριακούς δείκτες (biomarkers).

Οι μοριακοί δείκτες θα αποτελούν στόχους θεραπευτικών στρατηγικών.[2]

**Συστοιχίες μικροκηλίδων ολιγονουκλεοτιδίων για την ανίχνευση μεταλλάξεων**

Οι συστοιχίες µικροκηλίδων ολιγονουκλεοτιδίων παρέχουν ένα σηµαντικό εργαλείο για την ταυτόχρονη ανίχνευση πολλαπλών µεταλλάξεων σε γονίδια.

Πλεονεκτούν έναντι των κλασσικών µεθόδων ανάλυσης του DNAως προς την ταχύτητα, την απλότητα και το κόστος της ανάλυσης.

Απαιτείται προσεκτική ρύθµιση των σύνθηκών ακινητοποίησης των ολιγονουκλεοτιδίων ανιχνευτών καθώς και των συνθηκών υβριδισµού και έκπλυσης ώστε να επιτευχθεί επαρκές σήµα φθορισµού και υψηλή ειδικότητα.

Είναι ιδανικές για µελέτες σε επίπεδο πλυθησµού, για πρόγνωση ασθενειών, ανακάλυψη νέων πολυµορφισµών που µπορεί να σχετίζονται µε έναν συγκεκριµένο γονότυπο.[9]

Ανάλυση Μεταλλάξεων του Υποδοχέα του Επιδερμικού Αυξητικού Παράγοντα (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR)

Στον μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) έχουν βρεθεί μεταλλάξεις του EGFR. Ασθενείς φορείς των μεταλλάξεων αυτών ανταποκρίνονται σε στοχευμένη θεραπεία με αναστολείς του EGFR (gefitinib). Οι μεταλλάξεις αυτές (σημειωμένες με κόκκινο στο σχήμα) εντοπίζονται στην περιοχή του γονιδίου (εξώνια 18-21) που αντιστοιχεί στην περιοχή κινάσης τυροσίνης. (Εικόνα 18 )

Η διαδικασία της ανάλυσης των μεταλλάξεων του EGFR περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. απομόνωση DNA από κύτταρα του όγκου

2. εκλεκτική ενίσχυση των εξωνίων 18-21 με PCR

3. προσδιορισμός της αλληλουχίας των βάσεων και σύγκριση με αλληλουχίες αναφοράς. [10]

Εικόνα 18 [10]

**Γενετικός έλεγχος συμπαγών όγκων**

Ο γενετικός έλεγχος των συμπαγών όγκων προσφέρει σημαντικά δεδομένα χρήσιμα στη διάγνωση, στην πρόγνωση και στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας [11, 12]. Οι αναλύσεις με την κλινικά σημαντικότερη αξία εστιάζονται κυρίως στη διαφορική διάγνωση των μπλε μικροστρογγυλοκυτταρικών όγκων. Στα νεοπλάσματα αυτά η γενετική ανάλυση αποσαφηνίζει κατηγορηματικά τη διάγνωση με τον εντοπισμό ειδικών μεταθέσεων για το κάθε είδος όγκου. Η μεθοδολογία έχει επεκταθεί και σε ορισμένα άλλα είδη μεσεγχυματογενών όγκων [12]

Σήμερα διεξάγονται οι ακόλουθες αναλύσεις:

Γενετικές αναλύσεις συμπαγών όγκων με την τεχνική RΤ-PCR

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Χρωμοσωμική** **Ανωμαλία** | **Γονιδιακή Ανακατάταξη** |
| Σάρκωμα Ewing (ES) | t(11;22) | *EWS/FLI1* |
| Σάρκωμα Ewing (ES) | t(21;22) | *EWS/ERG* |
| Συνοβιοσάρκωμα ( SS ) | t(X;18) | *SYT/SSX* |
| Ραβδομυοσάρκωμα ( RH ) | t(2;13)  | *PAX3/FKHR*  |
| Ραβδομυοσάρκωμα ( RH ) | t (1;13)  | *PAX7/FKHR*  |
| Δεσμοπλαστικός μικροστρογγυλοκυτταρικός όγκος( D )  | t(11;22)  | *EWS/WT1* |
| Μυξοειδές Λιποσάρκωμα ( ML ) | t(12;16) | *FUS/CHOP*  |
| Μυξοειδές Λιποσάρκωμα ( ML ) | t(12;22) | *EWS/CHOP* |
| Σάρκωμα εκ διαυγών κυττάρων ( CCS ) | t(12;22) | *EWS/ATF1* |

Οι αναλύσεις για ML πραμγατοποιούνται με την τεχνική long-PCR.

Επεξηγήσεις: RT-PCR: reverse transcription-PCR, t: μετάθεση.

**Γενετική ανάλυση αιματολογικών νεοπλασμάτων**

Ο γενετικός έλεγχος ασθενών με Χρόνια Μυελογενή Λευχαιμία (CML), Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία (AML) και Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (ALL) αποτελεί εργαλείο για τη διάγνωση, την πρόγνωση και την παρακολούθηση αυτών των ασθενειών. Επιπλέον, ο γενετικός έλεγχος καθιερώνεται σταδιακά ως εξέταση ρουτίνας στα Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα καθώς και στη Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία (CLL), ενώ σύντομα αναμένεται να επεκταθεί και στα Μυελώματα, δεδομένου ότι νέοι γενετικοί δείκτες ταυτοποιούνται διεθνώς [13, 14].

Η πρώτη χρωμοσωμική ανωμαλία που συνδέθηκε με τη νεοπλασία, το χρωμόσωμα Φιλαδέλφεια, εντοπίστηκε σε κακοήθη αιματολογική νόσο [15]. Έκτοτε, στους διάφορους τύπους λευχαιμιών και λεμφωμάτων έχουν ανιχνευθεί περίπου 200 χρωμοσωμικές μεταθέσεις [16].

Οι περισσότερες είναι ειδικές για συγκεκριμένους μορφολογικούς, ανοσοφαινοτυπικούς και ιστολογικούς υποτύπους.

**Γενετικός έλεγχος**

H τεχνογνωσία σήμερα καλύπτει το πλέον ευρύ φάσμα γενετικού ελέγχου νεοπλασμάτων με μεθοδολογία και τεχνικές που είναι απαραίτητες για πολυποίκιλες προσεγγίσεις: PCR, real-time PCR (ποσοτική), ανάλυση αλληλουχίας των βάσεων DNA, blots, φθορίζων υβριδισμός in situ (FISH), multicolor FISH και CGH.

Η διαγνωστική αξία των χρωμοσωμικών ανακατατάξεων που περιλαμβάνονται στον πίνακα αναλύσεων που ακολουθεί είναι μεγάλη, καθώς και η δυνατότητα παρακολούθησης, σε ορισμένες περιπτώσεις, της υπολειπόμενης νόσου με real-time PCR [17, 18]

**Γενετικές αναλύσεις σε αιματολογικά νεοπλάσματα**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Χρωμοσωμική Aνωμαλία** | **Υβριδικό Γονιδίο** | **Μεθοδολογία** |
| **CML** | t(9;22)  | *BCR/ABL* | RT-PCR ή real-time PCR |
| **AML** | t(8:21) | *AML1/ETO*   | RT-PCR ή real-time PCR |
| **AML** | t(15;17) | *PML/RARA*  | RT-PCR ή real-time PCR |
| **AML** | inv(16) | *CBFB/MYH1*  | RT-PCR |
| **ALL** | del(1p23) | *SIL/TAL1* | RT-PCR |
| **ALL** | t(1;19) | *E2A/PBX1* | RT-PCR |
| **ALL**  | t(4;11) | *MLL/AF4*  | RT-PCR |
| **ALL** | t(9;22)  | *BCR/ABL* | RT-PCR |
| **ALL** | t(12;21)  | *TEL/AML1* | RT-PCR |

Επεξηγήσεις: CML: Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία, ΑΜL: Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία, ALL: Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία, RT-PCR: reverse transcription-PCR, t: μετάθεση, inv: αναστροφή, del:έλλειψη

**Αναταραχές των υπεροξειδιοσωμάτων**

Τα τελευταία λίγα χρόνια πολύ γνώση έχει αποκτηθεί στη μοριακή βάση από το διάφορες αναταραχές των υπεροξειδιοσωμάτων όπως συνοψίζεται κατωτέρω:

* Υπεροξειδιοσωμάτων βιογένεσης αναταραχές: μετά από τον προσδιορισμό από την εκτενή γενετική ετερογένεια μεταξύ των ασθενών που προσβλήθηκαν από από το PBD μέσα από σημπληρωματικές μελέτες, πολλά από να κρυμμένα γονίδια προσδιορίστηκαν και η μοριακή διάγνωση είναι τώρα δυνατή στη μεγάλη πλειοψηφία των περιπτώσεων.
* Rhizomelic chondrodysplasia punctata: τα τρία γονίδια που βρίσκονται πίσω από τους RCDP τύπους 1, 2 και 3 έχουν προσδιοριστεί και η μοριακή ανάλυση είναι τώρα δυνατή και για τις 3 αυτές μορφές.
* Υπεροξειδιοσωμάτων λιπαρού οξέος β-οξειδάση ανεπάρκειες: Acyl-CoA οξειδάσης ανεπάρκεια και D- δισλειτουργικής πρωτεϊνης ανεπάρκεια έχουν και οι δύο επιλυθεί σε μοριακό επίπεδο και πολύ συχνά ιδιαίτερες μεταλλαγές έχουν προσδιοριστεί. Το ίδιο πράγμα ισχύει για ασθένεια Refsum και την 2-methylacyl-CoA racemase ανεπάρκεια.[19]

**Μοριακή ανάλυση γονιδίων καρδιαγγειακού κινδύνου**

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την πρώτη αιτία θανάτου στις αναπτυσσόμενες χώρες. Ο βιοχημικός προσδιορισμός δεικτών ελέγχου του καρδιαγγειακού συστήματος στον ορό ή το πλάσμα προσφέρει γρήγορη πληροφόρηση για τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακού νοσήματος. Σε συνδυασμό με τον βιοχημικό έλεγχο, αναπτύσσεται ταχύτατα και εφαρμόζεται πλέον ο γενετικός έλεγχος γονιδίων που σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακού νοσήματος. Η μοριακή ανάλυση τέτοιων γονιδίων μέσω ανίχνευσης συγκεκριμένων μεταλλάξεων προσφέρει τα παρακάτω οφέλη:

* Γίνεται μία φορά στην διάρκεια ζωής του ατόμου (lifetime test) προσφέροντας απόλυτα αξιόπιστα αποτελέσματα
* Προσφέρει προσυμπτωματική διάγνωση, δίνοντας την δυνατότητα πρόληψης και αυξημένης ιατρικής παρακολούθησης σε περίπτωση προσδιορισμού γονιδιακής μετάλλαξης που αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Το γεγονός αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία στην περίπτωση νεογνών ή παιδιών μικρής ηλικίας, καθώς η θεραπευτική τους αγωγή ή η αγωγή πρόληψής τους μπορεί να ξεκινήσει το νωρίτερα δυνατόν.
* Σε κάποιες περιπτώσεις η ανίχνευση συγκεκριμένων γονιδιακών μεταλλάξεων οδηγεί σε αλλαγή θεραπευτικών σχημάτων προς όφελος του ασθενούς.
* Το αποτέλεσμα της γενετικής εξέτασης προσφέρει χρήσιμη ιατρική πληροφορία τόσο στα μέλη μιας οικογένειας, όσο και στους κοντινούς συγγενείς ενός εξεταζόμενου, καθώς στην περίπτωση ενός φορέα γονιδιακής μετάλλαξης, υπάρχει πιθανότητα, η μετάλλαξη αυτή να υπάρχει σε κάποιον από τους γονείς του, τα αδέλφια του ή τα παιδιά του.

Η ανίχνευση των κύριων γονιδιακών μεταλλάξεων που σχετίζονται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα σε μια ομάδα διαφορετικών γονιδίων γίνεται μέσω προσδιορισμού νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (DNA Sequencing). Η μέθοδος αυτή εντοπισμού μεταλλάξεων είναι απόλυτα ασφαλής και πλεονεκτεί έναντι όλων των υπόλοιπων μεθόδων (π.χ πέψη με περιοριστικά ένζυμα) στο θέμα της αξιοπιστίας αποτελεσμάτων.Σήμερα διεξάγεται γενετικός έλεγχος για τα κάτωθι:

* FACTOR V LEIDEN (Παράγων V LEIDEN)
* PROTHROMBIN (Προθρομβίνη)
* MTHFR (Γονίδιο Υπερομοκυστεϊναιμίας)
* CBS (β-Συνθετάση της Κυσταθειονίνης)
* Glycoprotein IIIa (Γλυκοπρωτεΐνη ΙΙΙα)
* eNOS (Endothelial Nitric Oxide Synthase) (Ενδοθηλιακή Συνθετάση του Νιτρικού Οξειδίου)
* Stromelysin-1(matrix metalloproteinase-3) (Στρωμελυσίνη-1)
* Apolipoprotein E (Απολιποπρωτεΐνη Ε)
* Alpha-1-antitrypsin (Α1ΑΤ) (Άλφα-1 Αντιτρυψίνη )
* ACE (Ένζυμο Μετατροπής Αγγεοιοτενσίνης) [20]

**FACTOR V LEIDEN (Παράγων V LEIDEN)**

Η αντοχή (resistance) στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C είναι η πιο συχνή αιτία φλεβικής θρόμβωσης. Η αιτία της φλεβικής θρόμβωσης συνδέεται σε μεγάλο ποσοστό με την ύπαρξη μιας συγκεκριμένης μετάλλαξης στο γονίδιο FACTOR V. Η μετάλλαξη αυτή έχει πλέον χαρακτηρισθεί (G1691A) και αφορά την αντικατάσταση ενός αμινοξέος από κάποιο άλλο. Στο γενικό πληθυσμό περίπου το 6-10% των αντρών και γυναικών Καυκάσιας καταγωγής είναι ετερόζυγοι για τη μετάλλαξη αυτή, ενώ πιο σπάνια είναι η περίπτωση ομόζυγων ατόμων. Η ύπαρξη της μετάλλαξης στο γονίδιο του παράγοντα V Leiden αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης θρόμβωσης κατά 7 φορές στους ετεροζυγώτες και κατά 80 φορές στους ομοζυγώτες. Η ανίχνευση της μετάλλαξης αιτιολογεί την εμφάνιση θρόμβωσης, αποκαλύπτει άτομα και οικογένειες με υψηλές πιθανότητες εμφάνισης θρόμβωσης και παρέχει την δυνατότητα λήψης προληπτικών μέτρων για άτομα που έχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης φλεβικών θρομβώσεων.

Ανίχνευση της μετάλλαξης G1691A του γονιδίου Factor V [20]

**PROTHROMBIN (Προθρομβίνη)**

Η προθρομβίνη είναι ο πρόδρομος της πρωτεάσης θρομβίνης, η οποία έχει τον κύριο ρόλο στη διαδικασία της αιμόστασης και της θρόμβωσης. Είναι πλέον αποδεκτό ότι η νουκλεοτιδική αντικατάσταση μιας βάσης G σε A στη θέση 20210 (G20210Α) συνδέεται άμεσα με τη φλεβική θρόμβωση. Οι φορείς της συγκεκριμένης μετάλλαξης εμφανίζουν 2,8 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης θρόμβωσης. Επομένως, κρίνεται αναγκαία η ανίχνευση της μετάλλαξης στο γονίδιο της προθρομβίνης.

Ανίχνευση της μετάλλαξης G20210Α του γονιδίου της προθρομβίνης [20]

**MTHFR (Γονίδιο Υπερομοκυστεϊναιμίας)**

Η υπερομοκυστεϊναιμία είναι ένας κύριος παράγοντας εμφάνισης μεταξύ άλλων ασθενειών και της φλεβικής θρόμβωσης. Τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στο αίμα επηρεάζονται τόσο από γενετικούς όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ένας από τους κύριος γενετικούς παράγοντες είναι η ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο MTHFR. Σήμερα, είναι καλά χαρακτηρισμένες δύο μεταλλάξεις στο συγκεκριμένο γονίδιο : η C677T και η A1298C. Η πρώτη από αυτές έχει συνδεθεί άμεσα με υπερομοκυστεϊναιμία, τόσο σε ομόζυγη όσο και σε ετερόζυγη κατάσταση. Αντίθετα, η δεύτερη δεν έχει συσχετισθεί με υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης στο αίμα. Τέλος, η ταυτόχρονη ύπαρξη και των δύο μεταλλάξεων σε ετερόζυγη κατάσταση έχει τα ίδια συμπτώματα με τη μετάλλαξη C677T σε ομόζυγη κατάσταση. Επομένως, η ανίχνευση μεταλλάξεων στο γονίδιο MTHFR είναι σημαντική τόσο για τον προσδιορισμό οικογενειών με αυξημένη πιθανότητα φλεβικής θρόμβωσης, όσο και για το σχεδιασμό κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής.

Ανίχνευση των μεταλλάξεων C677T και  A1298C  του γονιδίου MTHFR.[20]

**CBS (β-Συνθετάση της Κυσταθειονίνης)**

Το ένζυμο CBS μετατρέπει την ομοκυστεΐνη σε κυσταθειόνη. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού έχουν ως αποτέλεσμα την παραγωγή πρωτεΐνης μειωμένης ενεργότητας, με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στο αίμα. Μέχρι σήμερα, έχουν περιγραφεί 131 μεταλλάξεις στο συγκεκριμένο γονίδιο, οι οποίες εντοπίζονται σε όλο το μήκος του και οι οποίες σχετίζονται με συγκεκριμένα κλινικά ευρήματα. Οι πιο βασικές είναι η G919A και η T833C.

Ανίχνευση των μεταλλάξεων G919A και T833C του γονιδίου CBS.[20]

**PAI-1 (Ενεργοποιητής του Aναστολέα του Πλασμινογόνου)**

Ο παράγων Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) είναι ο βασικός αναστολέας της ινοδώλυσης. Όταν τα επίπεδα του PAI-1 είναι υψηλά τότε η ινοδώλυση αναστέλλεται και αυξάνει ο κίνδυνος για αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση. Έχει αναγνωρισθεί μια μετάλλαξη στο γονίδιο PAI-1, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ύπαρξη δύο αλληλομόρφων του γονιδίου : 4G και 5G. Η παρουσία των 4G/4G και 4G/5G γονοτύπων στον πληθυσμό ανέρχεται στο 28% και 48% αντίστοιχα, και οι συγκεκριμένοι γονότυποι έχουν συσχετισθεί άμεσα με υψηλά επίπεδα ενεργότητας του PAI-1 στο πλάσμα και κατά συνέπεια με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων και εμφραγμάτων. Επομένως, είναι αναγκαία η ανίχνευση των αλληλομόρφων του ατόμου, ώστε να λάβει την απαραίτητη ιατρική παρακολούθηση.

Ανίχνευση των αλληλομόρφων 4G και 5G στο εξεταζόμενο άτομο.[20]

**Glycoprotein IIIa (Γλυκοπρωτεΐνη ΙΙΙα)**

Η Glycoprotein IIIa είναι μέρος ενός υποδοχέα που βρίσκεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και διαμεσολαβεί στην διαδικασία συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην αιμόσταση. Έχουν περιγραφεί δυο πολυμορφισμοί του γονίδιου (P1A1, P1A2). Η συχνότητα εμφάνισης τους στο πληθυσμό είναι 64%, 34% και 2,4% για τους γονοτύπους P1A1/P1A1, P1A1/P1A2 και P1A2/P1A2 αντίστοιχα. Ο πολυμορφισμός P1A2 έχει σχετισθεί άμεσα με περιπτώσεις εμφράγματος του μυοκαρδίου σε πρώιμες ηλικίες (<55 ετών), καθώς και με αυξημένη πιθανότητα θρόμβωσης της στεφανιαίας αρτηρίας σε ασθενείς που έχουν υποστεί καρδιολογικές επεμβάσεις με την χρήση stent.Επομένως, κρίνεται επιτακτική ανάγκη ο προσδιορισμός του γονοτύπου ατόμων με καρδιαγγειακά προβλήματα.

Ανίχνευση των πολυμορφισμών P1A1 και P1A2 του γονιδίου Glycoprotein IIIa.[20]

**eNOS (Endothelial Nitric Oxide Synthase) (Ενδοθηλιακή Συνθετάση του Νιτρικού Οξειδίου)**

Το ένζυμο eNOS καταλύει την σύνθεση του ΝΟ, το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην διατήρηση του αγγειακού τόνου. Η οποιαδήποτε ανεπάρκεια στη σύνθεση του ΝΟ αυξάνει τον κίνδυνο για πολύ σοβαρές καρδιαγγειακές δυσλειτουργίες (σύσπαση στεφανιαίας αρτηρίας, ατελές κάταγμα μυοκαρδίου κ.α.). Η παρουσία μεταλλάξεων στο γονίδιο του eNOS (T786C) έχει ως αποτέλεσμα την μειωμένη σύνθεση του ΝΟ και κατά συνέπεια την αύξηση του κινδύνου για τις προαναφερόμενες καρδιαγγειακές δυσλειτουργίες. Έχουν ανιχνευθεί δύο μεταλλάξεις στο γονίδιο eNOS οι οποίες συνδέονται άμεσα με τις προαναφερόμενες παθήσεις. Η μετάλλαξη G894T (Glu298Asp) και η μετάλλαξη T786C, οι οποίες οδηγούν σε μειωμένη σύνθεση ΝΟ και αυξάνουν την πιθανότητα καρδιαγγειακών παθήσεων. Αν λάβουμε, επίσης, υπόψη μας τη δυσκολία διάγνωσης της σύσπασης στεφανιαίας αρτηρίας, κρίνεται επιτακτική ανάγκη η γενετική εξέταση οικογενειών με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης της συγκεκριμένης πάθησης.

Ανίχνευση των μεταλλάξεων G894T και T786C του γονιδίου eNOS.[20]

**Stromelysin-1(matrix metalloproteinase-3) (Στρωμελυσίνη-1)**

Η Stromelysin-1 είναι ένα ένζυμο που δρα στο εξωκυττάριο πλέγμα συμμετέχοντας στη διαδικασίες επαναδημιουργίας του. Η σύσταση του εξωκυττάριου πλέγματος παίζει κρίσιμο ρόλο στην συσσώρευση λιπιδίων, την αναδημιουργία των αγγείων και την σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας. Η παρουσία ενός πολυμορφισμού (6A) στο γονίδιο της Stromelysin-1, ακόμη και σε ετερόζυγη κατάσταση, σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα του ενζύμου και αυξημένη ευαισθησία σε παράγοντες που συμβάλουν στην εμφάνιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η συχνότητα αυτού του αλληλόμορφου στο γενικό πληθυσμό είναι μεγάλη (30%) και η ανίχνευση της παρουσίας του θα μπορούσε να οδηγήσει σε λήψη μέτρων (αλλαγές τρόπου ζωής) που να μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Ανίχνευση των πολυμορφισμών 5Α και 6A στο εξεταζόμενο άτομο [20]

**Apolipoprotein E (Απολιποπρωτεΐνη Ε)**

Η εξέταση αυτή αφορά την μελέτη του γονιδίου της Απολιποπρωτείνης Ε ως προς τον προσδιορισμό αλληλομόρφων τα οποία μπορούν να ευθύνονται για:

-Αθηρωματική στένωση των αιμοφόρων αγγείων, έμφραγμα μυοκαρδίου

-Αυξημένα ποσά χοληστερόλης και β-λιποπρωτείνης

-Οικογενή υπερλιπιδαιμία τύπου ΙΙΙ

Υπάρχουν τρία αλληλόμορφα (e2, e3, e4) του γονίδίου της απολιπωπρωτείνης Ε, τα οποία κωδικοποιούν τις τρεις ισομορφές της πρωτεΐνης apoE. Από αυτά τα e2 και e4 έχουν συνδεθεί άμεσα με υψηλές συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων στο αίμα.

Ο προσδιορισμός των αλληλομόρφων της Απολιποπρωτεΐνης Ε με αλληλούχιση ειδικών περιοχών του γονιδίου είναι μια ταχεία και απόλυτα ακριβής μέθοδος με χαμηλό κόστος ανάλυσης που πλεονεκτεί έναντι των υπολοίπων στο θέμα της αξιοπιστίας. Η παραπάνω εξέταση προτείνεται σε όλους τους ασθενείς που εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα ολικής χοληστερόλης (>260 mg/ml) παράλληλα με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων (>300 mg/ml).

 Ανίχνευση των αλληλομόρφων e2, e3 και e4 στο εξεταζόμενο άτομο [20]

**Alpha-1-antitrypsin (Α1ΑΤ) (Άλφα-1 Αντιτρυψίνη)**

Η άλφα-1-Αντιτρυψίνη προστατεύει τους συνδετικούς ιστούς των πνευμόνων από ένα φυσικό ένζυμο (neutrophil elastase), ενώ η καταστολή της είναι συχνή γενετική αιτία για αυξημένη πιθανότητα κίρρωσης και εμφυσήματος. Έχουν ανιχνευθεί δύο μεταλλάξεις, S και Z, στο γονίδιο A1AT, οι οποίες ευθύνονται για μειωμένη δράση της A1AT πρωτεΐνης. Ειδικότερα, η Ζ μετάλλαξη αφορά μια νουκλεοτιδική αντικατάσταση στο κωδικόνιο 342 του γονιδίου, ενώ η S μετάλλαξη μια αντίστοιχη, στο κωδικόνιο 264. Έχει διαπιστωθεί ότι η ομοζυγωτία για την Ζ μετάλλαξη ή η παράλληλη ετεροζυγωτία για την Ζ και την S μετάλλαξη οδηγούν σε εμφύσημα σε άτομα νεαρής ηλικίας καθώς και σε ασθένειες του ήπατος τόσο σε νεογνά όσο και σε ενήλικες.

Ο προσδιορισμός των συγκεκριμένων μεταλλάξεων του γονιδίων με αλληλούχιση ειδικών περιοχών του είναι μια ταχεία και απόλυτα ακριβής μέθοδο με χαμηλό κόστος ανάλυσης που πλεονεκτεί έναντι των υπολοίπων στο θέμα της αξιοπιστίας. Ανίχνευση των μεταλλάξεων S και Z του γονιδίου Α1ΑΤ.[20]

**ACE (Ένζυμο Μετατροπής Αγγειοτενσίνης)**

Το ένζυμο ACE διαμεσολαβεί στο μεταβολισμό της αγγειοτενσίνης και τα επίπεδα του σχετίζονται με την υπέρταση, τη διαβητική νεφροπάθεια και με καρδιαγγειακά νοσήματα. Τα επίπεδα του ένζυμου συνδέονται στενά με την παρουσία ενός πολυμορφισμού (Insertion/Deletion polymorphism) στο ιντρόνιο 16 του γονιδίου ACE και επομένως ο έλεγχος για την παρουσία του πολυμορφισμού μπορεί να συμβάλει στην πληρέστερη διάγνωση και πρόληψη των σχετιζόμενων νοσημάτων. Ανίχνευση του πολυμορφισμού του γονιδίου ACE.[20]

**Βιβλιογραφία**

[1] Ken Mills, Methods in Molecular Medicine, vol. 68: Molecular Analysis of Cancer, Edited by: J. Boultwood and C. Fidler, Humana Press Inc., Totowa, NJ, p.13-16.

[2] Γούσια Α., M.D., Ph.D, Σύγχρονες απόψεις για την αξιολόγηση των καρκινικών δεικτών στη χειρουργική, Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

[3] M van de Rijn & C B Gilks, Histopathology, 44:97-108, 2004

[4] ΤΣΑΚΟΥΝΤΑΚΗΣ Ν., ΤΑ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΣΤΗ ΚΡΗΤΗ ΚΑΙ Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ, Διδακτορική Διατριβή, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ 2005

[5] Kalomenidis I, Orphanidou D, Papamichalis G, Vassilakopoulos T, Skorilas A, Rasidakis A, Papastamatiou H, Jordanoglou J, Roussos C.,Combined expression of p53, Bcl-2, and p21WAF-1 proteins in lung cancer and premalignant lesions: association with clinical characteristics,Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Medical School of Athens University, Evangelismos Hospital, Athens, Greece, The Forum for Early Diagnosis and Treatment of Lung Cancer, Number 14 December 2002.

[6] Σ. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ, Α. ΣΚΟΡΙΛΑΣ, Ν. ΑΡΝΟΓΙΑΝΝΑΚΗ, Ι. ΓΙΩΤΗΣ, Β. ΠΑΠΑΠΑΝΑΓΙΩΤΟΥ, Ν. ΑΓΝΑΝΤΗ, Μ. ΤΑΛΙΕΡΗ, Ο ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΗΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ UΡΑ. ΕΝΑΣ ΝΕΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ, ΙΑΤΡΙΚΗ, 78(5), 451-456, 2000 - Ερευνητική εργασία.

[7] Α. Γκέκας, Α.Γ. Παπατσώρης, Ι. Δάρρας, ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ, Ουρολογική Κλινική Γ.Π.Ν. Πατρών, <http://www.oncology.gr/1/synedrio1/praktikaa17.HTM>

[8] Παν. Ν. Γεωργακόπουλος, ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ, ΜΕΘ ΠΓΝΠ "Αγιος Ανδρέας", <http://www.oncology.gr/1/synedrio1/praktikaa16.HTM>

[9] Πέτρου Παναγιώτα, ΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ ΜΙΚΡΟΚΗΛΙ∆ΩΝ ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙ∆ΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ, Εργαστήριο Ανοσοαναλύσεων/Ανοσοαισθητήρων, Ινστιτούτο Ραδιοϊσοτόπων ––Ραδιοδιαγνωστικών Προϊόντων, ΕΚΕΦΕ «∆ηµόκριτος», Θερινό σχολείο, 11-22 Ιουλίου, 2005.

[10]<http://www.biogenomica.gr/biogenomica/SiteResources/Data/Templates/1Template1_BIOGENOMICA.asp?DocID=59&v1ID=0&RevID=116&lang=2&ch=1&S0=S0_59&S1=&S2>=

[11] Knutila 2004 Ann Med 36(3):162-71

[12] Pandis 1999 Forum Clin Oncol 2(4):293-8

[13] Seidl et al. 2003 Lancet Oncol 4(9):557-64

[14] Angtuaco et al 2004 Radiology 1: 11-23

[15] Nowell & Hungerford 1960 Science 132: 1497

[16] Mitelman et al 2004 http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman

[17] van Dongen et al 2003 Leukemia 13: 1901-28

[18] Gabert et al. 2003 Leukemia 17: 2318-57

[19] Nenad Blau, et all, Physician’s Guide to the laborator Diagnosis of Metabolic Diseases, Spinger 2ed ed. 2003, p.506.

[20]<http://www.biogenomica.gr/biogenomica/SiteResources/Data/Templates/1Template1_BIOGENOMICA.asp?DocID=74&v1ID=0&RevID=146&lang=2&ch=1&S0=S0_74&S1=&S2>=