
**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ, ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΙΟΛΟΓΙΑΣ
(Δ/ΤΗΣ ΚΑΘ. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Α. ΣΠΑΝΤΙΔΟΣ)**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ P73, P53 ΚΑΙ P21 ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ
ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ
ΣΕ ΥΠΕΡΠΛΑΣΙΕΣ ΚΑΙ ΚΑΚΟΗΘΕΙΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ**

**ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΛΙΑΝΟΣ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2012

Αφιερωμένο στην οικογένεια μου.

Υπεύθυνος Διατριβής

Καθηγητής Σπαντίδος Δημήτριος

Τριμελή συμβουλευτική επιτροπή

Σπαντίδος Δημήτριος

Σοφράς Φραγκίσκος

Σουρβίνος Γεώργιος

Επταμελή εξεταστική επιτροπή

Σπαντίδος Δημήτριος

Σοφράς Φραγκίσκος

Σουρβίνος Γεώργιος

Ζαφειρόπουλος Αλέξανδρος

Ζώρας Οδυσσέας

Τσατσάνης Χρήστος

Σταθόπουλος Ευστάθιος

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	7
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	43
ABSTRACT.....	44

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1) Ο κυτταρικός κύκλος των ευκαριωτικών κυττάρων.....	45
2) Ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου.....	47
3) Ο κυτταρικός κύκλος και οι πρωτεΐνες P21,P53, P73.....	48
4) Ο προστάτης αδένας.....	62
5) Στοιχεία εμβρυολογίας και ανατομίας του προστάτη.....	62
6) Φυσιολογία-ενδοκρινολογία του προστάτη.....	65
7) Παθήσεις του προστάτη.....	67
8) Καλοήθης υπερτροφία.....	67
9) Οξεία και χρόνια φλεγμονή.....	68
10) Προκαρκινικές βλάβες του προστάτου.....	70
11) Ο Καρκίνος.....	72
12) Ορισμός.....	73
13) Ογκογονίδια.....	73
14) Ογκοκατασταλτικά γονίδια.....	77
15) Ο καρκίνος του προστάτη.....	82
16) Επιδημιολογία καρκίνου του προστάτη.....	83
17) Μορφές προστατικού καρκίνου.....	85
18) Αιτιολογία-προδιαθεσικοί παράγοντες.....	86
19) Φυσική ιστορία του προστατικού καρκίνου.....	90
20) Ιστολογικοί τύποι του προστατικού καρκινώματος.....	91
21) Σταδιοποίηση του προστατικού καρκίνου.....	94
22) Διάγνωση- εξέλιξη.....	97
23) Πρώιμος εντοπισμός.....	98

24) Θεραπευτική προσέγγιση-χημειοπροφυλαξη.....	99
25) Μεταγραφικοί παράγοντες.....	103
26) Καρκινικοί δείκτες PSA.....	106

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

27) Εισαγωγή.....	112
27) Υλικό.....	114
28) Μέθοδος.....	115
29) Αποτελέσματα.....	124
30) Συζήτηση- Συμπέρασμα	133
31) Βιβλιογραφία	137

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ τους καθηγητές μου και όλους τους συνεργάτες, που με περιέβαλαν με αγάπη και καλοσύνη σε όλη την μακρόχρονη διάρκεια της ολοκλήρωσης του εν λόγω εκπονήματος.

**ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ
ΣΗΜΕΙΩΜΑ****ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ
ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ**

Όνοματεπώνυμο

Διεύθυνση

Τηλέφωνο

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο

Υπηκοότητα

Ημερομηνία γέννησης

Οικογενειακή κατάσταση

**ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ
ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ**

- 1983
- 1992
- 2001
- 2001
- 2004

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 11^{ος} 2008-σήμερα
- 2^{ος} 2008-11^{ος} 2008
- 2004-2008
- 2001-2004
- 4^{ος} -9^{ος} 2001
- 1995-2001
- 1994-1995
- 1993-1994
- 2^{ος} 1993-5^{ος} 1993

ΛΙΑΝΟΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

Σκορδυλών 15, 72100 Άγιος Νικόλαος, Κρήτη

6944460806

lianosem@gmail.com

Ελληνική

22-06-1965

Έγγαμος με δυο παιδιά

Απολυτήριο 2^ο γενικό λύκειο Ιεράπετρας (Λιαν Καλώς)

Πτυχίο ιατρικής πανεπιστήμιο Κατανίας-Ιταλία (Άριστα)

Λήψη ειδικότητας ουρολογίας

Υποτροφία για μετεκπαίδευση 6 μήνες στη λαπαροσκοπική ουρολογία
Εδιμβούργο Σκωτία

Εκπαίδευση στην βιοστατιστική. Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας

Υπεύθυνος ουρολογικής κλινικής Γ. Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου

Επιμελητής Α΄ ουρολογικής κλινικής Γ. Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου

Επιμελητής Β΄ ουρολογικής κλινικής Γ. Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου

Επικουρικός Επιμελητής Β΄ ουρολογικής κλινικής Γ. Νοσοκομείο
Αγίου Νικολάου.Υποτροφία για Μετεκπαίδευση 6 μήνες στη λαπαροσκοπική
ουρολογία Εδιμβούργο Σκωτία

Ειδικότητα Ουρολογίας ΠΑΓΝΗ

Υπηρεσία υπαίθρου Γ. Νοσοκομείο Κ-Υ Ιεράπετρας

Στρατιωτική θητεία 219 ΚΙΧΝΕ Δυδ/χο

Άμισθος βοηθός παθολογική κλινική Γ. Νοσοκομείο Ιεράπετρας

ΜΗΤΡΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

Ελληνικά

ΆΛΛΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά (πολύ καλά), Ιταλικά (Άριστα)

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ-ΕΠΑΙΝΟΙ

-Υποτροφία «Α.Δεληβελιωτης» από την Ελληνική Ουρολογική Εταιρία 2.000.000 δρχ. Ιούνιος 2001.

-Επιχορήγηση ύψους 2 εκ. Δραχμών μετά από απόφαση της επιστημονικής επιτροπής και του Δ.Σ. του Πα.Γ.Ν.Η.για ερευνητικό πρωτόκολλο μελέτης του ρόλου των γονιδίων p 73 , p 53 και p 21 στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου σε υπερπλασίες και κακοήθειες του προστάτη (1999-2000)

- Βραβείο καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης στο 2⁰ Ουρολογικό συνέδριο Β. Ελλάδος,1999.

-Έπαινος του τοπικού τμήματος του Ελληνικού Ερυθρού Σταυρού για συμμετοχή ως εθελοντής εκπαιδευτής στην σχολή πρώτων βοηθειών,2012

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

-Ερευνητικό πρόγραμμα επιδημιολογικής έρευνας, μελέτης επιπολασμού ακράτειας και νόσων προστάτου της περιοχής Ανωγείων Κρήτης, 2003.

- Ερευνητικό πρωτόκολλο εγκεκριμένο από τον ΕΟΦ με τίτλο «επιδημιολογική μελέτη παρατήρησης οστικών συμβαμάτων σε ασθενείς με καρκίνο και οστική νόσο» στην ουρολογική κλινική του Γ.Ν.Ν. Αγίου Νικολάου,2004.

-Μεταπτυχιακός στο Τμήμα Ιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης στα πλαίσια εκπόνησης της Διδακτορικής μου Διατριβής από τον Ιανουάριο του 1999 έως τον Μάιο του 2001.

-Ερευνητικό πρωτόκολλο της ουρολογικής κλινικής Νοσοκομείου Αγίου Νικόλαου «έρευνα σχετικά με τον διαβήτη και τη δυσλειτουργία του ουροποιητικού συστήματος» εγκεκριμένο από την 7^η ΥΠΕ Κρήτης, 2011

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ	<ul style="list-style-type: none"> - Εκπαιδευτής στην σχολή πρώτων βοηθειών του σώματος εθελοντών Σαμαρειτών(ΕΕΣ) ,2012. - Εκπαιδευτής στην επαγγελματική σχολή Β. Νοσηλευτών Νοσοκομείου Αγίου Νικολάου, 2011-2012.
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ	<p>“ Μελέτη του ρόλου των γονιδίων p 73 , p 53 και p 21 στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου σε υπερπλασίες και κακοήθειες του προστάτη ”</p>
ΟΜΙΛΙΕΣ	<ul style="list-style-type: none"> -12 ομιλίες στα πλαίσια μετεκπαιδευτικών και φροντιστηριακών μαθημάτων της ουρολογικής Κλινικής του Πα.Γ.Ν.Η. 2008-2010 -Ομιλία με θέμα «Νέα δεδομένα στην θεραπεία της ακράτειας» σε Στρογγυλή τράπεζα κατά το 13^ο Παγκρήτιο ιατρικό συνέδριο. Ηράκλειο 9-12 Νοεμβρίου 2006. -Προεδρείο σε κλινικό φροντιστήριο «γυναικεία ακράτεια-η πτώση ενός μύθου» στο 12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Ελούντα, Κρήτη. 28-31 Οκτωβρίου 2004 -Ομιλία «ακράτεια και τρίτη ηλικία» ΚΑΠΗ Ανώγεια,2003 -Ομιλία -ενημέρωση σχετικά με το AIDS σε μαθητές 2^ο λύκειο Ιεράπετρας,2003 -Ομιλία σε ραδιοφωνική εκπομπή ραδιοφωνικού σταθμού ανατολικής Κρήτης με θέμα την ασθένεια του AIDS,2003.
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ	<ul style="list-style-type: none"> -6 Δημοσιεύσεις σε Ελληνικά περιοδικά -21 Δημοσιεύσεις σε Ξένα περιοδικά (βλέπε συνημμένο πίνακα)
ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ	<ul style="list-style-type: none"> -53 Ανακοινώσεις σε Ελληνικά συνέδρια -29 Ανακοινώσεις σε Ξένα συνέδρια (βλέπε συνημμένο πίνακα)

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Συμμετοχή σε 46 Συνέδρια Ελληνικά

Συμμετοχή σε 31 Συνέδρια Διεθνή

(βλέπε συνημμένο πίνακα)

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ
ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ
ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗ ΙΑΤΡΙΚΗ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ**

Συμμετοχή σε 14 Σεμινάρια - Προγράμματα Κατάρτισης Ελληνικά

Συμμετοχή σε 12 Σεμινάρια - Προγράμματα Κατάρτισης Διεθνή

(βλέπε συνημμένο πίνακα)

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ
ΑΝΑΦΟΡΕΣ (CITATION
INDEX)**

56 citations references

(βλέπε συνημμένο πίνακα)

**ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΕΣ
ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ**

Χειρουργικές επεμβάσεις (2003-2012)

A). Ενδοσκοπικές επεμβάσεις: Ως χειρουργός : 1953, ως βοηθός :
1250

B). Μείζονες και ελάσσονες χειρουργικές επεμβάσεις: Ως χειρουργός :
823, ως βοηθός : 1054

**ΜΕΛΟΣ ΣΕ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ
ΟΡΓΑΝΩΣΕΙΣ**

Μέλος της Ελληνικής Ουρολογικής εταιρίας(ΕΟΕ)

Μέλος της Ευρωπαϊκής ουρολογικής εταιρίας(ΕΑΥ)

Μέλος Δ.Σ.(γραμματέας) στην ιατρική εταιρία Λασιθίου

Μέλος του πειθαρχικού συμβουλίου του ιατρικού συλλόγου Λασιθίου

Μέλος της εξελεγκτικής επιτροπής της ένωσης νοσοκομειακών ιατρών
Λασιθίου

ΕΙΣΗΓΗΣΕΙΣ

- Εισηγητής κριτής, για κρίση θέσεων ιατρών ΕΣΥ Επιμ.Β' ουρολόγου
Γ. Νοσοκομείο Ρεθύμνου. Αρ. προκ.3118/28-5-2010.

- Εισηγητής κριτής , μέλος του συμβουλίου προσλήψεων-
κρίσεων για κρίση θέσεων ιατρών ΕΣΥ Επιμ. Β'
ουρολόγου Γ. Νοσοκομείο Χανίων. Αρ. προκ.7918/23-6-
2010.

-Εισηγητής κριτής, μέλος του συμβουλίου προσλήψεων-
κρίσεων για κρίση θέσεων ιατρών ΕΣΥ Επιμ. Β'
ουρολόγου Νοσοκομείο «Βενιζέλειο-Πανάνειο» .
Αρ.προκ.159/13-5-2010.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

-Τακτικό Μέλος του συμβουλίου προσλήψεων-κρίσεων για κρίση θέσεων ιατρών ΕΣΥ Επιμ. Β' ουρολόγου Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. Αρ.προκ.456/2009
-Εισηγητής κριτής , μέλος του συμβουλίου προσλήψεων-κρίσεων για κρίση θέσεων ιατρών ΕΣΥ Επιμ. Α' οδοντιάτρου Κ.Υ Τζερμιάδων . Αρ.προκ.87/2005.

-Υπεύθυνος σύνταξης τεχνικών προδιαγραφών για Ουροσυλλέκτες. Απόφαση διοικητού Γ. Νοσοκομείου Αγίου Νικολάου. Αρ πρωτ. Δ.Σ. 109/17-3-10

-Υπεύθυνος σύνταξης τεχνικών προδιαγραφών για Καθετήρες διάφορους. Απόφαση διοικητού Γ. Νοσοκομείου Αγίου Νικολάου. Αρ πρωτ. Δ.Σ. 111/19-3-10

-Μέλος της οργανωτικής επιτροπής του 12ου Παγκρήτιου ιατρικού συνεδρίου. Οκτώβριος 2004

-Μέλος της οργανωτικής επιτροπής του 16ου Παγκρήτιου ιατρικού συνεδρίου Οκτώβριος 2012

-Το βιογραφικό μου έχει συμπεριληφθεί στην 23^η έκδοση του Who's who in the world (2006)

ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

Άριστη γνώση Ηλεκτρονικού υπολογιστή PC & Mac.
(Εφαρμογές Microsoft office, internet, SPSS)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

επισυναπτόμενα έγγραφα σελίδες 12 έως 42

Δημοσιεύσεις σε Ελληνικά περιοδικά (6)

1. Η μετεγχειρητική αναλγησία σε ασθενείς με διακυστική προστατεκτομή
Ι. Χαιρέτης, Ν. Μακρυγιαννάκης, Ε. Λιανός, Ι. Καζάνης κ.α.
Ιατρικά χρονικά 22 : 4 : 229-232,1999

2. Τρεις περιπτώσεις σπάνιας συγγενούς ανωμαλίας του ουροποιητικού :
σιγμοειδής, πεταλοειδής νεφρός και διασταυρούμενη εκτοπία μονήρους
νεφρού.
Ι. Καζάνης, Γ. Δολαψάκης, Ι. Βελεγράκης, Ε. Λιανός κ.α.
Ουρολογικά Νέα , 3:197-201,1997

3. Αντιμετώπιση παραμελημένου φαρμακευτικού πριαπισμού.
Παρουσίαση μιας περίπτωσης
Λιανός Ε, Δελακάς Δ, Δασκαλόπουλος Γ, Τσεμπισσεφ Π. κ.α.
Ουρολογικά Νέα 1999, 5(2):151

4. Αντιμετώπιση της αιματουρίας που οφείλεται σε καλοήγη υπερπλασία
του προστάτη με χορήγηση φιναστερίδης.
Δελακάς Δ, Λιανός Ε, Δασκαλόπουλος Γ, Τριανταφύλλου Θ. κ.α
Ουρολογικά Νέα 1999, 5(2):146

5. Διαδερμική τοποθέτηση μεταλλικών ενδοπροθέσεων ουρητήρα σε ασθενείς
με αποφρακτική ουροπάθεια .
Δασκαλόπουλος Γ, Λιανός Ε, Δελακάς Δ, Ανεζίνης Π. κ.α
Ουρολογικά Νέα 1999, 5(2):147

6. Πλήρης διατομή ουρητήρα από πυροβολισμό με συνοδό μεγάλο ουρίνωμα .
Περιγραφή μιας περίπτωσης
Δασκαλόπουλος Γ, Χόνδρος Ν, Λιανός Ε, Μεταξάρη Μ, κ.α
Ουρολογικά Νέα 1999, 5(2):153.

Δημοσιεύσεις σε Ξένα περιοδικά (21)

1. Demetrios Arvanitis, Emmanuel Lianos, Nikoloas Soultzis, Demetrios Delakas, Demetrios Spandidos.
Deregulation of p73 isoform equilibrium in benign prostate hyperplasia and prostate cancer. *Oncology reports* 12: 1131-1137, 2004
2. Demetrios Delakas, M.D., Ioannis Karyotis, M.D., George Daskalopoulos, M.D., Emmanuel Lianos, M.D., Emmanuel Mavromanolakis, M.D.
Independent predictors of failure of shokwave lithotripsy for ureteral stones employing a second-generation lithotripter.
Journal of endourology 2003;17:4,201-205
3. Dimitrios Delakas, Emannuel Lianos, Ioannis Karyotis, Angelos Cranidis
Finasteride: A Long-term follow-up in the treatment of recurrent hematuria associated with benign prostate hyperplasia.
Urologia Internationalis 2001 ;67:69-72
4. Mariani L., Mastroeni G., Lianos E., Marchese G.P., Gulisano G.
Aspetti dell' immigrazione extracomunitaria in Catania: Il parto e la legge 194. *Difesa Sociale* N.6 , 1996
5. G. Gulisano, L. Mariani, G. Mastroeni, G.P. Marchese, E. Lianos
Pneumonic tuberculosis in non-EU subjects resident in south-east Sicily.
Socio- sanitary aspects.
New trends in Mediterranean Journal of Infectious and Parasitic Diseases Vol. X – 3/1995
6. G. Gulisano, L. Mariani, G. Mastroeni, G. Marchese, E. Lianos
Seroprevalence of antibodies to HIV in heterosexual African immigrants living in south east Sicily.
New trends in Mediterranean Journal of Infectious and Parasitic Diseases.
Vol. IX – 4/1994

-
7. G. Gulisano, G. Mastroeni, E. Lianos, G.P. Marchese, L. Mariani.
Campylobacter jejuni: rilievi epidemiologici in un area agro-pastorale della provincia di Catania.
Giornale di Malattie Infettive e Parassitarie vol 45-N 9 & 11: 924-928, 1993.
 8. Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Effectiveness of Alfuzosin in the spontaneous passage of stones located in the uretero-bladder junction.
Journal of endourology, vol 20, suppl 1, p A83. August 2006
 9. Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Effects of intravesical sodium hyaluronate on vesical mucosa in recurrent chronic bacterial cystitis.
Journal of endourology, vol 19, suppl 1, p A277. August 2005
 10. Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Effectiveness of uro-vaxom and vitamin E in delaying recurrences of E.coli LUTS in geriatric patients.
European urology suppl. Vol 4: 3;134 abst. 526, 2005
 11. Lianos E. Mountrakis S. Zambiozis E.
Effects of Dutasteride on inflammatory chronic bacterial prostatitis.
The impact on patients quality of life.
BJU Int. vol 94,s2:5, MP-1.05,2004
 12. Lianos E. Mountrakis S. Zambiozis E.
Local intravesical anesthesia for minimally invasive endoscopic procedures.
The use of Ropivacaine.
BJU Int. vol 94,s2:270, UP-15.08,2004
 13. Lianos E., Delakas D., Arvanitis D., Spandidos D.
Alternative splicing deregulation leads to over expression of exon 13 P73

-
- isoforms.
European Urology suppl. Vol 2:1,163, abst 643, 2003
14. E. Lianos, D. Arvanitis, N. Soultziz, D. Delakas & D. Spandidos.
Alternative splicing deregulation of P73 mRNA in benign prostate hyperplasia and prostate cancer.
BJU int. ; 90 (suppl. 2): 244, 2002
15. Lianos Emmanuel, Lalak Nestor, Esposito Michael, Tolley David
Laparoscopic renal surgery in high risk patients.
European Urology suppl. 1;1:5 abst. 11, 2002
16. Lianos Emmanuel, Wilson I., Esposito Michael, Lalak Nestor, Tolley David
Laparoscopic radical nephrectomy for renal cell carcinoma. The Edinburgh
experience.
European Urology suppl. 1;1:28 abstr. 101, 2002
17. Lianos Emmanuel, Esposito Michael, Lalak Nestor, Tolley David
Complications of the first 235 cases of laparoscopic nephrectomy.
European Urology suppl. 1;1:55 abstr. 210, 2002
18. Lianos Emmanuel, Esposito Michael, Moussa Sami, Smith Gordon, Tolley
David.
Management of renal calculi in pelvic kideys.
European Urology suppl. 1;1:149 abstr. 587, 2002
19. Demetrios Arvanitis, Emmanuel Lianos, Nikolaos Soultziz, Demetrios
Delakas, Demetrios Spandidos.
Expression profile of P53, P73, MDM2 and P21^{WAF1/CIP1} in benign
prostate hyperplasia and prostate cancer: Alternative splicing deregulation
leads to overexpression of exon 13 P73 isoforms.
Intern J of Molecular Medicine (suppl.1);8:96, abstr. 465, 2001.
20. Mavromanolakis E, Lianos E, Maraki S, Samonis G, Cranidis A

Influence of fluoroquinolones in enteric candida colonization in patients with active urinary tract infection.

European Urology 39/S5/01 39 abstr 247,2001

21. Dimitrios Delakas, George Daskalopoulos, Emmanuil Lianos, Angelos Cranidis.

Can we predict the success of extracorporeal shockwave lithotripsy in ureteral lithiasis?

Journal of Endourology vol. 14;Sept 2000 supp 1; A80;abstr P16-2,2000

Ανακοινώσεις σε Ελληνικά συνέδρια (53)

1. ΕΝΔΟΚΥΣΤΙΚΕΣ ΕΓΧΥΣΕΙΣ ΙΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΕΤΑ-ΑΚΤΙΝΙΚΗ ΚΥΣΤΙΤΙΔΑ.

Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης

Ουρολογική Κλινική. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.

13^ο Παγκρήτιο ιατρικό συνέδριο. Ηράκλειο, Κρήτη . 9-12 Νοέμβριου 2006

2. Συμβολή της ταμσουλοζίνης στην αυτόματη αποβολή μικρών λίθων της κατώτερης μοίρας του ουρητήρα.

Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης

Ουρολογική Κλινική. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.

13^ο Παγκρήτιο ιατρικό συνέδριο. Ηράκλειο, Κρήτη . 9-12 Νοέμβριου 2006

3. Φιναστερίδη v/s Ντουταστερίδης σε συνδυασμένη θεραπεία για την καλοήγη υπερτροφία του προστάτη.

Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης

Ουρολογική Κλινική. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.

13^ο Παγκρήτιο ιατρικό συνέδριο. Ηράκλειο, Κρήτη . 9-12 Νοέμβριου 2006

4. Συμβολή της αλφουζοσίνης στην αυτόματη αποβολή μικρών λίθων της κατώτερης μοίρας του ουρητήρα.

Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης

Ουρολογική Κλινική. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.
18^ο πανελλήνιο ουρολογικό συνέδριο. Ρόδος 27/09 - 1/10, 2006.

5. Ενδιαφέρον περιστατικό : Κλινική περίπτωση ευμεγεθών λίθων ουρήθρας
Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης
Ουρολογική Κλινική. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.
18^ο πανελλήνιο ουρολογικό συνέδριο. Ρόδος 27/09 - 1/10, 2006.

6. Δράση του Ιαλουρονικού οξέως στον βλεννογόνο της ουροδόχου κύστης.
Αναπλαστικές ιδιότητες.
Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης
Ουρολογική Κλινική. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου
18^ο πανελλήνιο ουρολογικό συνέδριο. Ρόδος 27/09 - 1/10, 2006.

7. ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ, ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ ΣΥΓΓΕΝΩΝ
ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ ΚΑΙ ΛΙΘΙΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ
ΣΕ ΑΛΛΟΔΑΠΟΥΣ ΤΟΥ ΝΟΜΟΥ ΛΑΣΙΘΙΟΥ.

Ε. Λιανός¹, Μ. Φινοκαλιώτης², Ε. Ταβλά², Χ. Βαλάτσου², Γ. Κατερίνα²,
Σ. Μουντράκης¹ και Ε. Ζαμπιόζης¹

Ουρολογική Κλινική¹ και Ακτινολογικό Τμήμα².

Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό
Συνέδριο. Ελούντα Λασιθίου 28-31 Οκτωβρίου 2004

8. ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΛΙΘΙΑΣΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ.

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Ε. Λιανός¹, Ε. Ταβλά², Μ. Φινοκαλιώτης², Α. Στακτέας²,

Γ. Κατερίνα² και Ε. Ζαμπιόζης¹

Ουρολογική Κλινική¹ και Ακτινολογικό Τμήμα².

Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό
Συνέδριο. Ελούντα Λασιθίου 28-31 Οκτωβρίου 2004

9. ΨΑΜΜΙΑΣΙΚΗ ΟΥΡΙΚΗ ΛΙΘΙΑΣΗ . ΚΙΤΡΙΚΑ ΑΛΑΤΑ Η΄
ΦΥΤΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Ε. Λιανός¹, Μ. Φινοκαλιώτης², Β.Βοδουσάκης², Σ. Μουντράκης¹ και
Ε. Ζαμπιόζης¹

Ουρολογική Κλινική¹ και Ακτινολογικό Τμήμα².

Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό
Συνέδριο. Ελούντα Λασιθίου 28-31 Οκτωβρίου 2004

10. ΕΥΜΕΓΕΘΕΣ ΠΟΛΥΧΟΡΟ ΚΥΣΤΙΚΟ ΜΟΡΦΩΜΑ ΝΕΦΡΟΥ.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ

Ε. Λιανός¹, Γ. Κατερίνα², Μ. Φινοκαλιώτης², Ε. Ταβλά², Σ. Μουντράκης¹
και Ε. Ζαμπιόζης¹

Ουρολογική Κλινική¹ και Ακτινολογικό Τμήμα².

Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό
Συνέδριο. Ελούντα Λασιθίου 28-31 Οκτωβρίου 2004

11. ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΥ- ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΟΣ ΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΩΝ ΚΥΣΤΙΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΝΕΦΡΟΥ.

Ε. Λιανός¹, Γ. Κατερίνα², Ε. Ταβλά², Σ. Μουντράκης¹ και Ε. Ζαμπιόζης¹
Ουρολογική Κλινική¹ και Ακτινολογικό Τμήμα².

Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό
Συνέδριο. Ελούντα Λασιθίου 28-31 Οκτωβρίου 2004

12. ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΖΟΛΕΔΡΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ ΣΕ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟΥΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥΣ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟ ΑΛΓΟΣ

Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης και Ε. Ζαμπιόζης

Ουρολογική Κλινική. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.

12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Ελούντα Λασιθίου 28-31 Οκτωβρίου 2004

13. ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΡΟΠΙΒΑΚΑΪΝΗΣ ΓΙΑ ΕΝΔΟΚΥΣΤΙΚΗ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΕ ΕΛΑΣΣΟΝΕΣ ΟΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ.

Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης

Ουρολογική Κλινική. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.

12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Ελούντα Λασιθίου 28-31 Οκτωβρίου 2004

-
14. Συγκριτικά αποτελέσματα ουροκαλλιεργείων ασθενών με γλυκοζουρία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II και ασθενών με αδιάγνωστη θετική δοκιμασία γλυκόζης ούρων.
Ει.Τράνακα¹, Ει.Παγκάλου¹, Ε.Λιανός², Λ. Μαλλιωτακη¹, Κ.Μακρής¹, Μ.Μουντράκη¹.
Μικροβιολογικό-Βιοχημικό τμήμα¹ και Ουρολογική κλινική². Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.
12^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Ελούντα Λασιθίου 28-31 Οκτωβρίου 2004
15. Δράση της Ντουταστερίδης στην χρόνια βακτηριακή προστατίτιδα. Επίδραση στην ποιότητα ζωής των ασθενών.
Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης. Ουρολογική Κλινική.
Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 17ο Πανελλήνιο
Ουρολογικό συνέδριο. Αλεξανδρούπολη, Ιούνιος 2004.
16. Συγκριτική μελέτη του τύπου αναλγησίας και του επίπεδου συνείδησης ασθενών υψηλού διεγχειρητικού κινδύνου μετά από προστατεκτομή. Οικονομάκης Μιχαήλ, Λιανός Εμμανουήλ, Παπαντωνάκη Σοφία, Νύκταρη Βασιλική. Ουρολογική κλινική και Αναισθησιολογικό τμήμα. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.
15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αναισθησιολογίας. Χερσόνησος Κρήτη. Μαΐος 2003.
17. Επίδραση του μη ιοντικού σκιαγραφικού Iomeron στα επίπεδα της Θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH) και των ηλεκτρολυτών του αίματος κατά την διάρκεια ενδοφλεβίου ουρογραφίας.
Ε. Λιανός¹, Ε. Ταβλά², Μ. Φινοκαλιώτης², Λ. Αμαριωτάκης², Σ.
Μουντράκης¹ και Ε. Ζαμπιόζης¹. Ουρολογική Κλινική¹ και
Ακτινολογικό Τμήμα² Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου
Νικολάου. 11ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Χανιά 2002
18. Εκκόλπωμα γίγας ουροδόχου κύστης. Παρουσίαση κλινικής περίπτωσης.
Ε. Λιανός¹, Μ. Αβερικίου², Μ. Φινοκαλιώτης², Ε. Ταβλά²,
Λ. Αμαριωτάκης², Σ. Μουντράκης¹ και Ε. Ζαμπιόζης¹
Ουρολογική Κλινική¹ και Ακτινολογικό Τμήμα²
Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 11ο Παγκρήτιο
Ιατρικό συνέδριο. Χανιά 2002

19. Επιπολασμός, νοσηρότητα και θνητότητα συγγενών ανωμαλιών του ουροποιητικού στην επαρχία Μεραμβέλλου Νομού Λασιθίου.

Ε. Λιανός¹, Μ. Φινοκαλιώτης², Ε. Ταβλά², Λ. Αμαριωτάκης², Σ.

Μουντράκης¹ και Ε. Ζαμπιόζης¹. Ουρολογική Κλινική¹ και Ακτινολογικό

Τμήμα². Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 11ο Παγκρήτιο

Ιατρικό συνέδριο. Χανιά 2002

20. Επιπλοκές αυτοσυγκρατουμένων ουρητηρικών καθετήρων . Η εμπειρία μας.

Ε. Λιανός, Σ. Μουντράκης, Ε. Ζαμπιόζης¹. Ουρολογική Κλινική . Γενικό

Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 11ο Παγκρήτιο Ιατρικό

συνέδριο. Χανιά 2002

21. Συσχέτιση ιστολογικής διάγνωσης και τιμών του PSA σε παθήσεις του προστάτη.

Ε. Λιανός¹, Δ. Κούρτης², Μ. Αλεξανδράκης², Ε. Παγκάλου³, Σ. Μουντράκης¹

και Ε. Ζαμπιόζης¹. Ουρολογική Κλινική¹, Παθολογοανατομικό² και

μικροβιολογικό³ Τμήμα. Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου.

11ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Χανιά 2002

22. Υπερηχοτομογραφία και απλή ακτινογραφία Ν.Ο.Κ. στην διαγνωστική προσέγγιση κωλικών νεφρού.

Μια μεθοδολογία ακόμα έγκυρη?

Ε. Λιανός¹, Ε. Ταβλά², Μ. Φινοκαλιώτης², Χ. Κίγκας², Λ. Αμαριωτάκης²,

και Ε. Ζαμπιόζης¹. Ουρολογική Κλινική¹ και Ακτινολογικό Τμήμα².

Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 11ο Παγκρήτιο Ιατρικό

συνέδριο. Χανιά 2002

-
23. Μελέτη της επίδρασης του τύπου αναλγησίας στην άμεση μετεγχειρητική πορεία ασθενών υψηλού εγχειρητικού κινδύνου μετά από προστατεκτομή.
Ε. Λιανός¹, Μ. Οικονομάκης², Σ. Παπαντωνάκη², Β. Νύκταρη², Σ. Μουντράκης¹ και Ε. Ζαμπιόζης¹. Ουρολογική Κλινική¹ και Αναισθησιολογικό Τμήμα². Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Αγίου Νικολάου. 11ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Χανιά 2002.
24. Μελέτη του ρόλου έκφρασης των ογκοκατασταλτικών γονιδίων P 53, P 73, MDM2 ΚΑΙ P 21^{WAF1/CIP1} στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου σε καλοήγη υπερτροφία και κακοήθεια του προστάτη.
Ε. Λιανός^{1,2}, Δ. Αρβανίτης², Ν. Σουλτιζής², Δ. Δελακάς¹, Δ. Σπαντίδος².
¹Ουρολογική Κλινική & ²Εργαστήριο Ιολογίας, Παν/μίου Κρήτης.
16⁰ Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Καλαμάτα 2002.
25. Μελέτη της επίδρασης του τύπου αναλγησίας στην άμεση μετεγχειρητική πορεία ασθενών υψηλού εγχειρητικού κινδύνου μετά από προστατεκτομή.
Ε. Λιανός, Μ. Οικονομάκης και Ε. Ζαμπιόζης κ.α. Ουρολογική Κλινική και αναισθησιολογικό τμήμα Γενικό Νομ. Νοσοκομείο Αγ. Νικολάου.
16⁰ Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Καλαμάτα 2002
26. Υπερηχοτομογραφία και απλή ακτινογραφία ΝΟΚ στην διαγνωστική προσέγγιση κωλικών νεφρού. Μια μεθοδολογία ακόμα έκγυρη?
Ε. Λιανός, Ε. Ταβλά, Λ. Αμαριωτάκης και Ε. Ζαμπιόζης. Ουρολογική Κλινική και ακτινολογικό τμήμα Γενικό Νομ. Νοσοκομείο Αγ. Νικολάου.
16⁰ Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Καλαμάτα 2002
27. Επίδραση του μη ιοντικού σκιαγραφικού Iohexol στα επίπεδα της Θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH) και των ηλεκτρολυτών του αίματος κατά την διάρκεια ενδοφλεβίου ουρογραφίας.
Ε. Λιανός, Ε. Ταβλά, Λ. Αμαριωτάκης και Ε. Ζαμπιόζης. Ουρολογική Κλινική και ακτινολογικό τμήμα Γενικό Νομ. Νοσοκομείο Αγ. Νικολάου.
16⁰ Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Καλαμάτα 2002.
28. Ριζική λαπαροσκοπική νεφρεκτομή για νεφροκυτταρικό καρκίνωμα. Laparoscopic radical nephrectomy for RCC.

-
- E.Lianos, N.Lalak, M.Esposito and D.Tolley. Western General Hospital ,
Scottish lithotripter Centre, Edinburgh. 3^ο Μακεδονικό Ουρολογικό
Συνέδριο. Θεσσαλονίκη 2001.
29. Επιπλοκές λαπαροσκοπικής νεφρεκτομής. Complications of the first 200 cases of laparoscopic
nephrectomy.
E.Lianos, N.Lalak, M.Esposito and D.Tolley. Western General Hospital, Scottish lithotripter Centre,
Edinburgh. 3^ο Μακεδονικό Ουρολογικό Συνέδριο. Θεσσαλονίκη 2001.
30. Απώτερα αποτελέσματα στην αντιμετώπιση της αιματουρίας που οφείλεται σε καλοήγη υπερπλασία
του προστάτη με χορήγηση φιναστερίδης
Λιανός Ε, Δελακάς Δ, Μακρυγιαννάκης Ν, Τριανταφύλλου Θ. κ.α
15^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Κέρκυρα 27-30 Σεπτεμβρίου 2000
31. Μακροχρόνια αποτελέσματα από την χρήση ενδοσηρραγγωδών ενέσεων σε άνδρες με δυσλειτουργία
σύσης.
Ε. Μαυρομανωλάκης , Ε.Λιανός, Ν. Μακρυγιαννάκης κ.α.
15^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Κέρκυρα 27-30 Σεπτεμβρίου 2000
32. Αντιμετώπιση της πρόωρης εκσπερμάτισης με παροξετίνη
Ε. Μαυρομανωλάκης , Ε.Λιανός, Δ.Δελακάς κ.α.
15^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Κέρκυρα 27-30 Σεπτεμβρίου 2000
33. Αντιμετώπιση της αποφρακτικής ουροπάθειας με διαδερμική τοποθέτηση μεταλλικών ενδοπροθέσεων
ουρητήρα.
Δασκαλόπουλος Γ, Λιανός Ε, Δελακάς Δ. κ.α.
15^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο .Κέρκυρα 27-30 Σεπτεμβρίου 2000
34. Συγκριτική μελέτη της κλινικής σταδιοποίησης με το διορθικό
υπερηχογράφημα σε σχέση με την παθολογοανατομική σταδιοποίηση σε
ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ριζική προστατεκτομή για καρκίνο του
προστάτη
Δελακάς Δ, Τριανταφύλλου Θ, Χαιρέτης Ι, Δασκαλόπουλος Γ , Λιανός Ε.

Κρανίδης Α.

15^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο .Κέρκυρα 27-30 Σεπτεμβρίου 2000

35. Μελέτη της επίδρασης κινολονών στην μυκητιασική χλωρίδα του εντέρου ασθενών με λοιμώξεις του ουροποιητικού

Ε. Μαυρομανωλάκης , Σ. Μαράκη, Ε.Λιανός, Γ. Σαμώνης κ.α.

15^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο .Κέρκυρα 27-30 Σεπτεμβρίου 2000

36. Ο καρκίνος νεφρού σαν τυχαίο εύρημα. Συχνότητα, κλινική σημασία.

Ν. Χόνδρος, Ε. Λιανός, Π. Ανεζίνης, Γ. Σηφάκης, Α. Κρανίδης.

10^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Ρέθυμνο 9-12 Νοεμβρίου 2000

37. Η χορήγηση Σιλδεναφίλης (VIAGRA) σε διαβητικούς ασθενείς με προβλήματα στύσης. Ε.

Μαυρομανωλάκης, Ε. Λιανός, Ι. Καριώτης, Ν. Χόνδρος, Α. Κρανίδης.

10^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Ρέθυμνο 9-12 Νοεμβρίου 2000

38. Συγκριτική μελέτη επιπλοκών μετά από ενδοσηρραγγώδεις ενέσεις Αλπροσταδίνης σε διαβητικούς και μη διαβητικούς άνδρες με προβλήματα στύσης.

Ε. Μαυρομανωλάκης, Ι. Χαιρέτης, Ε. Λιανός, Γ. Δασκαλόπουλος,

Α. Κρανίδης.

10^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Ρέθυμνο 9-12 Νοεμβρίου 2000

39. Αντιμετώπιση της αιματουρίας που οφείλεται σε καλοήγη υπερπλασία του προστάτη με χορήγηση φιναστερίδης.

Δελακάς Δ, Λιανός Ε, Δασκαλόπουλος Γ, Τριανταφύλλου Θ. κ.α

2^ο Μακεδονικό Ουρολογικό συμπόσιο 22-24 Οκτωβρίου 1999 Θεσ/νίκη.

40. Διαδερμική τοποθέτηση μεταλλικών ενδοπροθέσεων ουρητήρα σε ασθενείς με αποφρακτική ουροπάθεια .

Δασκαλόπουλος Γ, Λιανός Ε, Δελακάς Δ, Ανεζίνης Π. κ.α

2^ο Μακεδονικό Ουρολογικό συμπόσιο 22-24 Οκτωβρίου 1999 Θεσ/νίκη.

-
41. Αντιμετώπιση παραμελημένου φαρμακευτικού πριαπισμού. Παρουσίαση μιας περίπτωσης
Λιανός Ε, Δελακάς Δ, Δασκαλόπουλος Γ, Τσεμπισσεφ Π. κ.α.
2^ο Μακεδονικό Ουρολογικό συμπόσιο 22-24 Οκτωβρίου 1999 Θεσ/νίκη.
42. Πλήρης διατομή ουρητήρα από πυροβολισμό με συνοδό μεγάλο ουρίνωμα . Περιγραφή μιας περίπτωσης
Δασκαλόπουλος Γ, Χόνδρος Ν, Λιανός Ε, Μεταξάρη Μ, κ.α
2^ο Μακεδονικό Ουρολογικό συμπόσιο 22-24 Οκτωβρίου 1999 Θεσ/νίκη.
43. Θρόμβωση σπερματικής φλέβας: μια σπάνια χειρουργική οντότητα που συχνά υποδέεται οξεία ορχεο-επιδιδυμίτιδα ή συστροφή όρχεως.
Ν.Μακρυγιαννάκης, Ε.Λιανός, Γ. Αρετάκης, Σ. Βελεγράκης κ.α.
14^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Κως 1-5 Οκτωβρίου 1998 .
44. Αποτελέσματα, επιπλοκές και παρατηρήσεις από τη χρήση της ταμσουλοζίνης μετά από ένα έτος θεραπείας παθήσεων του κατώτερου ουροποιητικού σε άνδρες και γυναίκες.
Ε.Λιανός, Ν.Μακρυγιαννάκης, Γ. Αρετάκης, Σ. Βελεγράκης κ.α.
14^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Κως 1-5 Οκτωβρίου 1998 .
45. Η μετεγχειρητική αναλγησία σε ασθενείς με διακυστική προστατεκτομή.
Ι. Χαιρέτης, Ν. Μακρυγιαννάκης, Ε. Λιανός, Ι. Καζάνης κ.α.
9^ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Ηράκλειο 5-8 Νοεμβρίου 1998
46. Προχωρημένος καρκίνος του προστάτη: Φαρμακευτικός ή χειρουργικός ευνουχισμός : Αποτελέσματα πέντε χρόνων.
Ι. Καζάνης, Ι. Χαιρέτης, Ν. Μακρυγιαννάκης, Ε. Λιανός, κ.α.
9^ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Ηράκλειο 5-8 Νοεμβρίου 1998
47. Μετάσταση αδενοκαρκινώματος του ορθού στο στόμιο ουρητηροδερμοστομίας σε ασθενή με επίκτητο μονήρη νεφρό.
Παρουσίαση της περίπτωσης και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.
Γ. Αρετάκης, Σ. Βελεγράκης, Ε. Λιανός, Ν. Μακρυγιαννάκης, Ι. Καζάνης, κ.α.
1^ο Μακεδονικό Ουρολογικό Συνέδριο. 7-9 Νοεμβρίου 1997, Θεσ/νίκη.
-

-
48. Διαπυηθείσα κύστη ουραχού : Μια σπάνια φλεγμονή που συχνά υποδύεται οξεία κοιλία.
Σ. Βελεγράκης, Γ. Αρετάκης, , Ν. Μακρυγιαννάκης, Ε. Λιανός κ.α.
Γ^ο Μακεδονικό Ουρολογικό Συνέδριο. 7-9 Νοεμβρίου 1997,
Θεσσαλονίκη .
49. Αποτελέσματα, επιπλοκές και παρατηρήσεις από τη χρήση διαφορετικών α1-blockers για την αντιμετώπιση της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη.
Ν. Μακρυγιαννάκης, Σ. Βελεγράκης, _Ε. Λιανός , Γ. Αρετάκης, κ.α.
Γ^ο Μακεδονικό Ουρολογικό Συνέδριο. 7-9 Νοεμβρίου 1997,
Θεσσαλονίκη
50. Η χρησιμότητα της ενδοσκόπησης του ανώτερου πεπτικού στη σωστή λειτουργία χειρουργικής κλινικής. Ανάλυση υλικού τριετίας.
Α. Μαμαντόπουλος, Ε. Λιανός, Ε. Τζιράκης, Η. Μυλωνά κ.α.
8^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Αγ.Νικόλαος 24-27 Οκτωβρίου 1996
51. Λαπαροσκοπική διερεύνηση μετεγχειρητικής αιμορραγίας. Η σημασία της συστηματικής βιντεοσκόπησης.
Α. Μαμαντόπουλος, Ε. Τζιράκης, Ε. Λιανός, Η. Μυλωνά κ.α.
8^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Αγ. Νικόλαος 24-27 Οκτωβρίου 1996
52. Ελεύθεροι χολόλιθοι στην περιτοναϊκή κοιλότητα κατά την λαπαροσκοπική χολεκυστεκτομή. Αληθινή επιπλοκή ? Αντιμετώπιση
Α. Μαμαντόπουλος, Ε. Λιανός, Ε. Τζιράκης, Η. Μυλωνά κ.α.
8^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Αγ. Νικόλαος 24-27 Οκτωβρίου 1996
53. Αντιμετώπιση της παράλυσης του μέσου νεύρου σε παραμελημένο σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα (Σ.Κ.Σ.)
Μ. Διαλυνάς, Αθ. Λουτριώτης, Σ. Ελληνικάκης, Εμ. Λιανός, κ.α.
8^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Αγ.Νικόλαος 24-27 Οκτωβρίου 1996

Ανακοινώσεις σε Ξένα συνέδρια (29)

1. The role of ultrasonography for mondor's disease of the penis.
Boulalas I, Filippou P, Pagonidis K, Serafetinidis E, Karyotis I, Lianos E. Delakas D.
Department of urology Asklepion general Hospital, Department of urology Agios nikolaos general Hospital,
16th European Symposium on urogenital radiology. 10-13 September 2009 Athens.
2. Effectiveness of Alfuzosin in the spontaneous passage of stones located in the uretero-bladder junction.
Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Urology Department. Gen. Hosp. Agios Nikolaos, Crete, Greece
24th World Congress of Endourology. Cleveland -Ohio, USA. August 17-20 2006
3. Effectiveness of alpha-blocker alfuzosin in the spontaneous passage of the stones located in the uretero-bladder junction.
Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Urology Department. Gen. Hosp. Agios Nikolaos, Crete, Greece
The 1st Athenian EuroAmerican congress of urology. 15-18 June 2006
4. Effects of intravesical sodium hyaluronate on vesical mucosa in recurrent chronic bacterial cystitis.
Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Urology Department. Gen. Hosp. Agios Nikolaos, Crete, Greece
23th World Congress on Endourology. Amsterdam, August 23-26 2005
5. Exon 13 p73 isoforms in prostate cancer. Alternative splicing deregulation leads to genes over expression.
Lianos E., Heretis I., Demetrios A Spandidos, Sofras F.
Department of urology, university hospital heraklion, Crete
Department of virology, medical school university of Crete.
9th Symposium of the Greek- German Urological Association. Athens, June 29 – July 3, 2005

-
6. First clinical results with the new power extracorporeal DOLI S 220 F-XP for the treatment of renal calculi.
Nomikos M., Heretis I., Delakas D., Lianos E., Sofras F.
Department of urology, university hospital, heraklion, Crete.
9th Symposium of the Greek- German Urological Association. Athens, June 29 – July 3, 2005

 7. Effectiveness of uro-vaxom and vitamin E in delaying recurrences of E.coli LUTS in geriatric patients.
Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Urology Department. Gen. Hosp. Agios Nikolaos, Crete, Greece
XXth Congress of the European Association of Urology. ISTANBUL 16-19 March 2005.

 8. Local intravesical anesthesia for minimally invasive endoscopic procedures.
The use of ropivacaine
Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Urology Department. Gen. Hosp. Agios Nikolaos, Crete, Greece.
18th ESUR Congress. Athens 4-6 November 2004

 9. Newer PDE 5 in premature ejaculation: Effects on the intravaginal ejaculatory latency time.
Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Urology Department. Gen. Hosp. Agios Nikolaos, Crete, Greece
3th ESAU meeting. Athens 17-18 September 2004

 10. Effects of Dutasteride on inflammatory chronic non bacterial prostatitis.
The impact on patients quality of life.
Lianos E., Mountrakis S., Zambiozis E.
Urology Department. Gen. Hosp. Agios Nikolaos, Crete, Greece.
27th Congress of the society Internationale d'Urology . Honolulu, Hawaii. October 3-7 2004

-
11. Local intravesical anesthesia for minimally invasive endoscopic procedures. The use of Ropivacaine.
Lianos E. Mountrakis S. Zambiozis E.
Urology Department. Gen. Hosp. Agios Nikolaos, Crete, Greece.
27th Congress of the society Internationale d'Urology . Honolulu, Hawaii.
October 3-7 2004
12. Effects of Tamsulosin and Finasteride on bacterial chronic prostatitis. The impact on patient's quality of life.
Lianos E., Tranaka E., Mountrakis S. and Zambiozis E.
Urology and Microbiology department. General Hospital Agios Nikolaos, Crete, Greece. 8th Mediterranean Congress of Urology. Herakleion Crete, Greece. 11-14 September 2003.
13. Alternative splicing deregulation leads to over expression of exon 13 p73 isoforms.
Lianos E., Delakas D., Arvanitis D., Spandidos D. Department of Urology and Laboratory of Virology, Medical School, University of Crete, Greece.
XVIIIth Congress of The European Association of Urology. Madrid, Spain March 12-15 2003.
14. Expression profile of p53, p73, MDM2 and p21^{WAF1/CIP1} in benign prostate hyperplasia and prostate cancer: Alteration splicing deregulation leads to over expression of exon 13 p 73 isoforms.
Emanuel Lianos, D. Arvanitis, N.Soulitzis, D. Delakas, D. Spandidos. Department of Urology and Laboratory of Virology, Medical school, University of Crete, Greece.
26th SIU World Congress of Urology. Stockholm. Sweden September 2002
15. Complications of the first 235 cases of laparoscopic nephrectomy.
Emmanuel Lianos, N.Lalak, M.Esposito and D.Tolley. Western General Hospital , Scottish lithotripter Centre, Edinburgh.
15th EAU congress. 2002 Birmingham, U.K.
16. Laparoscopic Radical Nephrectomy for RCC. The Edinburgh experience Emmanuel Lianos, N.Lalak, M.Esposito and D.Tolley. Western General Hospital , Scottish lithotripter Centre, Edinburgh.
15th EAU congress. 2002 Birmingham, U.K.

17. Laparoscopic Renal Surgery in high risk patients

Emmanuel Lianos, N.Lalak, M.Esposito and D.Tolley. Western General Hospital, Scottish lithotripter Centre, Edinburgh.
15th EAU congress. 2002 Birmingham, U.K.

18. Management of renal calculi in pelvic kidneys.

Emmanuel Lianos, N.Lalak, M.Esposito Sami Moussa, Gordon Smith and D.Tolley. Western General Hospital, Scottish lithotripter Centre, Edinburgh. 15th EAU congress. 2002 Birmingham, U.K.

19. Expression profile of p53, p73, MDM2 and p21^{WAF1/CIP1} in benign prostate hyperplasia acute and chronic inflammation and prostate cancer: Alteration splicing deregulation leads to over expression of exon 13 p 73 isoforms.

Emanuel Lianos, D. Arvanitis, N.Soulitzis, D. Delakas, D. Spandidos.
Department of Urology and Laboratory of Virology, Medical school, University of Crete, Greece.
XIth European Urological Winter forum congress of the European Association of Urology Davos Swiss 2002

20. Non comparative study to assess the long term safety and efficacy of sildenafil in patients with erectile dysfunction (ED).

Mavromanolakis E., Triantafyllou T., Lianos E., Maraki S., Kranidis A.
4th Congress of the European Society for Sexual and Impotence
Research. Rome Italy September 30th - October 3rd 2001.

21. Expression profile of p53, p73, MDM2 and p21WAF1/CIP1 in benign prostate hyperplasia and prostate cancer: Alternative splicing deregulation leads to over expression of exon 13 p73 isoforms.

Emmanuel Lianos, Demetrios Arvanitis, Nikolaos Soulitzis, Demetrios Delakas, Demetrios Spandidos. Department of Urology and Department of Virology, University General Hospital, Heraklion, Crete, Greece. 6th World Congress on advance in oncology. Hersonissos, Crete, 18-20 October 2001.

22. Influence of fluoroquinolones in enteric candida colonization in patients with active urinary tract infection

Mavromanolakis E, Lianos E, Maraki S, Samonis G, Cranidis A.

XVIth Congress of the European Association of Urology. April 7-10 2001
Geneva, Swiss.

23. Can we predict the success of extracorporeal shockwave lithotripsy in
ureteral lithiasis?

Dimitrios Delakas, George Daskalopoulos, Emmanuil Lianos, Angelos
Cranidis. WCE 18th World Congress on Endourology & Shockwave .
September 14-17/ 2000 Sao Paulo . Brazil

24. Long term follow up in the treatment of hematuria associated with the
benign prostatic hyperplasia with finasteride.

Delakas D, Lianos E, Cranidis A.

5th International Consultation on Benign Prostatic Hyperplasia

June 25-28,2000 Paris – France

25. Three cases of uncommon congenital anomaly of the urinary system: A
solitary crossed renal ectopia, an S-shaped and a horseshoe kidney.

E. Lianos, N. Makrygiannakis, G. Dolapsakis, I. Velegrakis G. Aretrakis

1st Urological Balkan Conference. Athens January 30 – February 1, 1998

26. Tubercolosi Polmonare in Extracomunitari

Gulisano G, Marchese G.P., Lianos E, Mastroeni G, Mariani L.

Cattedra di Malattie Tropicali . Universita di Catania.

Atti IIIo Consensus conference sulla immigrazione . 29 Maggio- 1 Giugno

1994 Palermo – Italia

27. Salute degli immigrati in Catania e considerazioni sulla seconda
generazione .

Gulisano G, Mariani L. Mastroeni G, Lianos E, Marchese G.P.

Cattedra di Malattie Tropicali . Universita di Catania.

Atti IIIo Consensus conference sulla immigrazione . 29 Maggio- 1 Giugno

1994 Palermo – Italia

28. Migrazione e tubercolosi a Catania

Mariani L. Marchese G.P., Mastroeni G, Lianos E, Gulisano G,
Cattedra di Malattie Tropicali . Universita di Catania.

I^o Congresso Nazionale della societa Italiana di Medicina Tropicale
19-22 Ottobre 1994 Mondello (Palermo) – Italia

29. Donne migranti, nucleo familiare e legge 194

Gulisano G, Mariani L. Mastroeni G, Marchese G.P., Lianos E.
Cattedra di Malattie Tropicali . Universita di Catania.

I^o Congresso Nazionale della societa Italiana di Medicina Tropicale
19-22 Ottobre 1994 Mondello (Palermo) – Italia.

Συμμετογή σε Συνέδρια Ελληνικά (46)

1. 31^{ες} Αθηναϊκές ουρολογικές ημέρες.6-8 Μαΐου 2011, Αθήνα.
2. 20^o Πανελλήνιο Ουρολογικό συνέδριο, 23-27 Οκτωβρίου 2010, Λεμεσό, Κύπρος.
3. 2^o ουρολογικό συμπόσιο Αιγαίου,1-4 Οκτωβρίου 2009, Ηράκλειο
4. 3^η επιστημονική συνάντηση ΟΝΟΓΟ ,8-10 Οκτωβρίου 2009, Κυλλήνη.
5. 19^o Πανελλήνιο ουρολογικό συνέδριο, 1-5 Οκτωβρίου 2008, Χαλκιδική.
6. 1^o Διαδραστικό σχολείο ουρολογίας, 10-13 Απριλίου 2008, Πορταριά, Πήλιο.
7. 14^o Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο, 29/10-01/11 2008 Γεωργιούπολη, Κρήτη.
8. 34^o ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό συνέδριο, 20-24 Μαΐου 2008, Αθήνα.
9. Β΄ επιστημονική συνάντηση ΟΓΟΝΟ ,27-29 Σεπτεμβρίου 2007, Χαλκιδική.
10. 13^o Παγκρήτιο ιατρικό συνέδριο. Ηράκλειο 9-12 Νοεμβρίου 2006
11. 18^o Πανελλήνιο ουρολογικό συνέδριο. Ρόδος 27/9 έως 1/10, 2006
12. 26^{ες} Αθηναϊκές Ουρολογικές ημέρες . 5-7 Μαΐου. Αθήνα 2006
13. Urology Days in Epirus. Κέρκυρα 28-30 Οκτ.2005
14. 1^o Ουρολογικό συμπόσιο Αιγαίου. Ηράκλειο, Κρήτη 8-11/9/2005
15. 25^{ες} Αθηναϊκές Ουρολογικές ημέρες. 8-10 Απριλίου. Αθήνα 2005
16. 12^o Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Ελούντα, Κρήτη. 28-31 Οκτωβρίου 2004
17. 17^o Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Αλεξανδρούπολη, 23-26 Ιουνίου 2004
18. 24^{ες} Αθηναϊκές Ουρολογικές ημέρες. 24-25 Απριλίου Αθήνα 2004
19. 11^o Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Χανιά, Κρήτη. 1-3 Νοεμβρίου 2002.
20. 16^o Πανελλήνιο Ουρολογικό συνέδριο. Καλαμάτα, 25-29 Σεπτεμβρίου 2002.

-
21. 16^ο Διαπανεπιστημιακό Ιατρικό συμπόσιο. Χερσόνησος, Ηράκλειο, Κρήτη. 21-23 /6/02
 22. 3^ο Ουρολογικό Μακεδονικό συμπόσιο. Θεσσαλονίκη, 9-11 Νοεμβρίου 2001.
 23. 21^{ες} Αθηναϊκές Ουρολογικές ημέρες. Αθήνα 30 Μαρτίου – 1 Απριλίου 2001.
 24. 8^ο Μετεκπαιδευτικό συνέδριο κλινικής ογκολογίας. Ηράκλειο Κρήτης, 22- 26 Νοεμβρίου 2000.
 25. 4^ο Πανελλήνιο Ανδρολογικό συνέδριο. Αθήνα, 10-12 Νοεμβρίου 2000.
 26. 10^ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Ρέθυμνο, Κρήτη, 9-12 Νοεμβρίου 2000.
 27. 15^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό συνέδριο. Κέρκυρα, 27-30 Σεπτεμβρίου 2000.
 28. 20^{ες} Αθηναϊκές Ουρολογικές ημέρες. Αθήνα 12 – 14 Μαΐου 2000.
 29. 2^ο Ουρολογικό Μακεδονικό συμπόσιο. Θεσσαλονίκη 24 Οκτωβρίου 1999.
 30. 19^{ες} Αθηναϊκές Ουρολογικές ημέρες. Αθήνα 14-16 Μαΐου 1999.
 31. 9^ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Ηράκλειο 5-8 Νοεμβρίου 1998.
 32. 14^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό συνέδριο. Κως 1-5 Οκτωβρίου 1998.
 33. 18^{ες} Αθηναϊκές Ουρολογικές ημέρες. Αθήνα 15-17 Μαΐου 1998.
 34. 1^ο Μακεδονικό Ουρολογικό συνέδριο. Θεσσαλονίκη 9 Νοεμβρίου 1997.
 35. 17^ο Πανελλήνιο συνέδριο γαστρεντερολογίας. Ηράκλειο, Κρήτη. 29/10 – 2/11 1997.
 36. 7^ο Διαπανεπιστημιακό συνέδριο ακτινολογίας. Ηράκλειο 24-26 Οκτωβρίου 1997.
 37. 5^ο Μετεκπαιδευτικό συνέδριο κλινικής ογκολογίας. Ηράκλειο, Κρήτη. 15-19 Οκτωβρίου 1997.
 38. 15^ο Πανελλήνιο συνέδριο Ελλήνων Νευρολόγων. Ηράκλειο, Κρήτη. 15-18 Οκτωβρίου 1997.
 39. 4^ο Διαπανεπιστημιακό Ουρολογικό συμπόσιο. Ηράκλειο, Κρήτη. 12-16 Ιουνίου 1997.
 40. 3^ο συμπόσιο Ελληνογερμανικού συνδέσμου Ουρολόγων. Ηράκλειο, Κρήτη. 12-16 Ιουνίου 1997.
 41. 7^ο Πανελλήνιο συνέδριο Μαιευτικής και Γυναικολογίας. Ηράκλειο, Κρήτη. 14-17 Μαΐου 1997.
 42. 8^ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Σίσι-Άγιος Νικόλαος, Κρήτη. 24-27 Οκτωβρίου 1996.
 43. 2^ο Ελληνο-Ιταλικό συνέδριο Αγγειολογίας-Αγγειοχειρουργικής. Ηράκλειο, Κρήτη. 10-14 Μαΐου 1996.
 44. 17^ο Ετήσιο συμπόσιο του International College of Surgeons και της β' Χειρουργικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Αθήνα 1-2 Δεκεμβρίου 1995.
 45. 9^ο Διαπανεπιστημιακό Ιατρικό συμπόσιο. Ηράκλειο, Κρήτη 17-19 Νοεμβρίου 1995.
 46. 7^ο Παγκρήτιο Ιατρικό συνέδριο. Ρέθυμνο, Κρήτη. 18-20 Νοεμβρίου 1994.

Συμμετογή σε Συνέδρια Διεθνή (31)

1. 1st meeting EAU section of urolithiasis (EULIS), London UK. 7-10 September 2011.
2. 26th Annual EAU congress, 18-22 March 2011, Vienna, Austria.
3. 5th European International Kidney cancer Symposium, 7-8 May 2011, London, England.
4. 25th Annual EAU congress, 16-20 April 2010, Barcelona, Spain.
5. 27th World congress of Endourology & SWL, 6-10 October 2009, Munchen, Germany.
6. 6th Annual European Robotic Urology Symposium (ERUS), 24-25 September 2009, Padua, Italy.
7. 2008 Annual meeting of the AUA, 17-22 May 2008, Orlando, Florida, USA
8. Innovations and evidence based medicine in urology congress, 4-7 October 2007, Athens, Greece.
9. 29th congress of SIU, 2-6 September 2007, Paris, France.
10. 2nd EAU south eastern European meeting. Thessalonica, Greece
20-21 October 2006.
11. 24th World congress of endourology. August 17-20 Cleveland USA 2006.
12. The 1st Athenian EuroAmerica congress of urology. 15-18/6 2006, Athens.
13. 23th World congress on endourology & SWL August 23-26 Amsterdam
2005.
14. 21st basic research symposium August 23-26 Amsterdam 2005.
15. 9th symposium of the Greek German Urological association June 29 July 3
2005 Athens Greece.
16. 6th international consultation on prostate cancer. June 24-27 paris 2005.
17. XXth Congress of the European Association of Urology. ISTANBUL 16-19
March 2005.
18. 3th ESAU meeting. Athens 17-18 September 2004.
19. XIXth EAU Congress. Austria Center, Vienna, Austria. 24-27 March 2004.
20. AUA 101ST Annual meeting (New York Section). Greece 2003 October 11-
18, 2003.
21. 8th Mediterranean Congress of Urology. September 11-14, 2003. Crete.
Greece.
22. XIVth ESPU Congress. March 12-15, 2003. IFEMA, Madrid, Spain.
23. XVIIIth EAU Congress. March 12-15, 2003. IFEMA, Madrid, Spain.
24. 7th World Congress on Advances in Oncology. Hersonisos, Crete, Greece.
October 10-12, 2002

-
25. 5th International Symposium on Molecular Medicine. Hersonisos, Crete, Greece. October 10-12, 2002
 26. 26th Congress of the Societe Internationale d'Urologie. Stockholm, Sweden. September 8-12, 2002.
 27. XVIIth EAU Congress, February 23-26, 2002. NEC, Birmingham, United Kingdom.
 28. XVIth EAU Congress, April 7-10, 2001. Palexpo, Geneva, Switzerland.
 29. 18th World Congress On Endourology & Shockwave. Sao Paolo, Brazil. September 14-17, 2000.
 30. 16th Basic Research Symposium. Sao Paolo, Brazil. September 14-17, 2000.
 31. 1st Balkan Urological Conference. Inter-University meeting of the Countries of Southeastern Europe. January 30- February 1, 1998. Athens, Greece.

Συμμετογή σε Σεμινάρια - Προγράμματα Κατάρτισης Ελληνικά (14)

1. Πρόγραμμα συνεχιζόμενης επαγγελματικής κατάρτισης « Αρχές και μεθοδολογία βιοστατιστικής ». Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας. 27-09-2004 έως 15-10-2004.
2. 1^ο Σεμινάριο Φωνιατρικής και φωνητικών τεχνών. Άγιος Νικόλαος. 14-15 Ιουνίου 2003.
3. Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Ανδρολογίας “Andrology days in Chania 2002”. Χανιά 9 Ιουνίου 2002.
4. «Λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού σε παιδιά και ενήλικες». ΩΡΛ Εταιρεία Κρήτης. Άγιος Νικόλαος Κρήτης 17 Νοεμβρίου 2001.
5. 8^η Επιστημονική ημερίδα « Υπερηχογραφική παρακολούθηση εγκυμοσύνης και προγεννητικός έλεγχος». 25 Νοεμβρίου 2000.
6. Ημερίδα με θέμα « Η συμβολή αποκατάστασης στην ακράτεια ούρων των ενήλικων γυναικών ». Πανεπιστήμιο Κρήτης. Κλινική Κοινωνικής και οικογενειακής Ιατρικής. Ηράκλειο 3 Απριλίου 1999.
7. 9^ο Πανελλήνιο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Γυναικολογικής Ενδοκρινολογίας. 30 -31 Ιανουαρίου 1999. Ηράκλειο Κρήτη.
8. Πρόγραμμα επαγγελματικής κατάρτισης « Χρήση Η/Υ και προγραμμάτων γραφείου » για Windows '98- word'97- excel'97 από 21-11-1998 έως 20-12-1998.
9. 9^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο. Κλινικό φροντιστήριο με θέμα « Καρδιοπνευμονική αναζωογόνηση (ΚΑΡΠΑ)». 8 Νοεμβρίου 1998. Ηράκλειο Κρήτη.
10. Επιστημονική Ημερίδα « Ακράτεια ούρων στις ενήλικες Γυναίκες». Πανεπιστήμιο Κρήτης. Ουρολογική Κλινική. Τομέας Κοινωνικής Ιατρικής. 11 Απριλίου 1998.
11. Πρόγραμμα επαγγελματικής κατάρτισης « Επιδημιολογικό πρόγραμμα EPI- INFO ». από 13-11-1997 έως 13-12-1997.
12. Ημερίδα με θέμα « Νεώτερες αντιλήψεις στην διάγνωση και τη θεραπεία του καρκίνου του προστάτη ». Θεραπευτήριο « Ο Ευαγγελισμός », Ουρολογική Κλινική. 4 Οκτωβρίου 1997.
13. Ανδρολογικό σεμινάριο « Διαταραχές της στύσης στον άνδρα. Διάγνωση και θεραπεία ». Πανεπιστήμιο Κρήτης. Ουρολογική Κλινική, 22 Φεβρουαρίου 1997.
14. Μετεκπαιδευτικό σεμινάριο ΟΝΟΓΟ. Αθήνα 15 Ιουνίου 2006

Συμμετογή σε Σεμινάρια Διεθνή (12)

1. Course on the use of robotics in urology (ERUS 2009),23 September 2009,padua, Italy.
2. Postgraduate course on managing complications and failures after anti-incontinence surgery in women. 2008 AUA annual meeting,17-22 May, Orlando, Florida, Usa.
3. Hands on training workshop in laparoscopy ,4-7 october 2007,Athens Greece.
- 4, Robotic assisted live surgery. The da vinci surgical system. Barcelona 30/10 2005
5. European society of musculoskeletal radiology (ESSR) 2nd Educational course. October 9, 2003 Crete-Greece
6. XVIIth EAU Congress. Participation in the Course “Ureterorenoscopy hands-on-training”. Birmingham UK, February 23-26, 2002.
7. XVIIth EAU Congress. Participation in the European School of Urology Course “Practical urodynamics-diagnosis and treatment”. Birmingham UK, February 23-26, 2002.
8. XVIIth EAU Congress. Participation in the European School of Urology Course “Advance laparoscopy”. Birmingham UK, February 23-26, 2002.
9. XVIIth EAU Congress. Participation in the European School of Urology Course “Diagnosis and management of erectile”. Birmingham UK, February 23-26, 2002.
10. 18th World Congress on Endourology & Shockwave. Participant lab session 6 “Endourological / techniques flexible ureteroscopy HO :Laser-Circon”. Sao Paolo – Brazil. September 14-17, 2000.
11. 18th World Congress on Endourology & Shockwave. Participant lab session 3 “Ureteroscopy - Micronal”. Sao Paolo – Brazil. September 14-17, 2000.
12. VIIth Urotraining course « Highlights on prostatic diseases ». Crete 4th – 6th April 1997.

CITATION INDEX

56 citations

1. **Demetrios Arvanitis, Emmanuel Lianos, Nikoloas Soultzis, Demetrios Delakas, Demetrios Spandidos.**
Deregulation of p73 isoform equilibrium in benign prostate hyperplasia and prostate cancer.
Oncology reports 12: 1131-1137, 2004

8 citations

1. Unbalanced alternative splicing and its significance in cancer. JP Venables - Bioessays, 2006
2. Deregulation of the G1/S phase transition in cancer and squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix: A case control study. DA Arvanitis... - Oncology reports, 2010
3. p53 Family: Role of Protein Isoforms in Human Cancer. J Wei, E Zaika... - J Nucleic Acids, 2012
4. On the structure-function relationship of p73. U Nyman – 2009.(Book)
5. Overexpression and ratio disruption of $\Delta Np63$ and TAp63 isoform equilibrium in endometrial adenocarcinoma: correlation with obesity, menopause, and grade I/II ... E Vakonaki, N Soultzis, S Sifakis... - Journal of Cancer ..., 2012
6. p53 Family: Role of Protein Isoforms in Human Cancer. W Jinxiong, Z Elena... - Journal of Nucleic Acids, 2011
7. Alternative Splicing and Its Impact as a Cancer Diagnostic Marker. YJ Kim... - Genomics & Informatics, 2012
8. Survey of the Applications of NGS to Whole-Genome Sequencing and Expression Profiling. JS Lim, BS Choi, JS Lee, C Shin... - Genomics & ..., 2012

2. **Demetrios Delakas, M.D., Ioannis Karyotis, M.D., George Daskalopoulos, M.D., Emmanuel Lianos, M.D., Emmanuel Mavromanolakis, M.D.**
Independent predictors of failure of shockwave lithotripsy for ureteral stones employing a second-generation lithotripter.
Journal of endourology 2003;17:4,201-205

36 citations

1. Feasibility and efficacy of extracorporeal shock-wave lithotripsy using a new modified lateral position for the treatment of renal stones in obese patients
Anastasios Karatzas, Stavros Gravas, Vassilios Tzortzis, Evangelos Aravantinos, Ioannis Zachos, Nikolaos Kalogeras, Michael Melekos
Urological Research. Aug 2012, Vol. 40, No. 4: 355-359
2. Is shock wave lithotripsy efficient for the elderly stone formers? Results of a matched-pair analysis
Prodromos Philippou, Djelali Lamrani, Konstantinos Moraitis, Christian Bach, Junaid Masood, Noor Buchholz

3.Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) versus ureteroscopic management for ureteric calculi
Omar M Aboumarzouk, Slawomir G Kata, Francis X Keeley, Samuel McClinton, Ghulam Nabi, Ghulam Nabi . May 2012

4.Management of Stones in Obesity
Ömer Levent Tuncay, Cenk Acar, Saadettin Eskicorapci
Feb 2012: 654-661

5.Shock-Wave Lithotripsy of Ureteral Calculi
Damien M. Bolton, Anthony Ta
Feb 2012: 598-611

6.Safety of ESWL in elderly: Evaluation of independent predictors and comorbidity on stone-free rate and complications
Fazlı Polat, Süleyman Yeşil, Esat Ak, Amiralı Farahvash, Üstünoğlu Karaoğlu, Hasan Biri, İbrahim Bozkırlı
Geriatrics & Gerontology International. Jan 2012

7.Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) versus ureteroscopic management for ureteric calculi
Omar M Aboumarzouk, Slawomir G Kata, Francis X Keeley, Ghulam Nabi, Ghulam Nabi
.Dec 2011

8.Shock Wave Lithotripsy for Renal and Ureteric Stones
Christian Bach, Noor Buchholz
European Urology Supplements. Aug 2011

9.Shock-wave lithotripsy in the elderly: Safety, efficacy and special considerations
Prodromos Philippou, D. Lamrani, Konstantinos Moraitis, Hassan Wazait, Junaid Masood, Noor Buchholz
Arab Journal of Urology. May 2011

10.Extracorporeal shock wave lithotripsy of lower ureteric stones: Outcome and criteria for success
Mohammad Abdelghany, Tarek Zaher, Rafik El Halaby, Tarek Osman
Arab Journal of Urology. May 2011

11.Prognostic variables for shockwave lithotripsy (SWL) treatment success: no impact of body mass index (BMI) using a third generation lithotripter
Gencay Hatiboglu, Valentin Popeneciu, Martin Kuroschi, Johannes Huber, Sascha Pahernik, Jesco Pfitzenmaier, Axel Haferkamp, Markus Hohenfellner
BJU International. Mar 2011: no-no

12.Prediction of outcome of extracorporeal shock wave lithotripsy in the management of ureteric calculi
Mingqing Wang, Qiduo Shi, Xuguang Wang, Kun Yang, Rui Yang
Urological Research. Feb 2011, Vol. 39, No. 1: 51-57

13.Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy for Ureteral Stones: Do Decompression Tubes Matter?
Seshikanth Middela, Georgios Papadopoulos, Shalom Srirangam, Poduri Rao
Urology. Oct 2010, Vol. 76, No. 4: 821-825

14. The Effects of Hydronephrosis and Stone Burden on Success Rates of Shockwave Lithotripsy in Pediatric Population

Tahsin Turunc, Murat Gonen, Baris Kuzgunbay, Ugur Taylan Bilgilişoy, Ayhan Dirim, Mehmet Ilteris Tekin, Hakan Ozkardes

Journal of Endourology. Jun 2010, Vol. 24, No. 6: 1037-1041

15. Success of Extracorporeal Shockwave Lithotripsy for Distal Ureteric Stones in Patients With and Without Hydronephrosis

Hashem Hafez, Mohamed Hassan Ali, Tarek Salem

UroToday International Journal. Jan 2010, Vol. 03, No. 05

16. The effect of age on outcomes in patients undergoing treatment for renal stones

Chi-Fai Ng

Current Opinion in Urology. Mar 2009, Vol. 19, No. 2: 211-214

17. Do stone size and impaction influence therapeutic approach to proximal ureteral stones?

Slobodan Radulovic, Aleksandra Vuksanovic, Dragica Milenkovic-Petronic, Bozo Vavic

Vojnosanitetski pregled. Jan 2009, Vol. 66, No. 2: 129-133

18. Ureteric stents compromise stone clearance after shockwave lithotripsy for ureteric stones: results of a matched-pair analysis

Athanasios N. Argyropoulos, David A. Tolley

BJU International. Jan 2009, Vol. 103, No. 1: 76-80

19. A Passive Acoustic Device for Real-Time Monitoring of the Efficacy of Shockwave Lithotripsy Treatment

T.G. Leighton, F. Fedele, A.J. Coleman, C. McCarthy, S. Ryves, A.M. Hurrell, A. De Stefano, P.R. White

Ultrasound in Medicine & Biology. Oct 2008, Vol. 34, No. 10: 1651-1665

20. Audit on extracorporeal shockwave lithotripsy of renal and ureteric stones in Tuen Mun Hospital using Dornier Lithotripter S

Chi-Fai Ng

Surgical Practice. Aug 2007, Vol. 11, No. 3: 134-135

21. Re: Audit on extracorporeal shockwave lithotripsy of renal and ureteric stones in Tuen Mun Hospital using Dornier Lithotripter S

Wing-Hang Au

Surgical Practice. Aug 2007, Vol. 11, No. 3: 135-135

22. Is extracorporeal shock wave lithotripsy the preferred treatment option for elderly patients with urinary stone? A multivariate analysis of the effect of patient age on treatment outcome

Chi-Fai Ng, Annie Wong, David Tolley

BJU International. Aug 2007, Vol. 100, No. 2: 392-395

23. Optimizing Shock Wave Lithotripsy in the 21st Century

Athanasios N. Argyropoulos, David A. Tolley

European Urology. Aug 2007, Vol. 52, No. 2: 344-354

24. Treatment Selection and Outcomes: Ureteral Calculi

J WOLFJR

25. Limitations of extracorporeal shock wave lithotripsy

Sanjeev Madaan, Adrian D Joyce

Current Opinion in Urology. Mar 2007, Vol. 17, No. 2: 109-113

26. Does Degree of Hydronephrosis Affect Success of Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy for Distal Ureteral Stones?

A ELASSMY, A ELNAHAS, R YOUSSEF, A ELHEFNAWY, K SHEIR

Urology. Mar 2007, Vol. 69, No. 3: 431-435

27. Extra-corporeal shock wave lithotripsy (ESWL) versus ureteroscopic management for ureteric calculi

Ghulam Nabi, Paul Downey, Francis X Keeley, Graham M Watson, Samuel McClinton, Ghulam Nabi

. Jan 2007

28. Is Pre-Shock Wave Lithotripsy Stenting Necessary for Ureteral Stones With Moderate or Severe Hydronephrosis?

Ahmed El-Assmy, Ahmed R. El-Nahas, Khaled Z. Sheir

The Journal of Urology. Nov 2006, Vol. 176, No. 5: 2059-2062

29. Efficacy of Extracorporeal Shockwave Lithotripsy with Patients Rotated Supine or Rotated Prone for Treating Ureteral Stones: A Case-Control Study

Noboru Hara, Hiroshi Koike, Vladimir Bilim, Kota Takahashi, Tsutomu Nishiyama

Journal of Endourology. Mar 2006, Vol. 20, No. 3: 170-174

30. Prediction of shockwave failure in patients with urinary tract stones

Fernando J. Kim, Kevin R. Rice

Current Opinion in Urology. Mar 2006, Vol. 16, No. 2: 88-92

31. Single-Center Experience Using Three Shockwave Lithotripters with Different Generator Designs in Management of Urinary Calculi

C.F. Ng, T.J. Thompson, L. McLornan, D.A. Tolley

Journal of Endourology. Jan 2006, Vol. 20, No. 1: 1-8

32. Lithotripsy

India F. Lane, Mary A. Labato, Larry G. Adams

. Jan 2006: 407-414

33. Urolithiasis and obesity: metabolic and technical considerations

Robert C Calvert, Neil A Burgess

Current Opinion in Urology. Mar 2005, Vol. 15, No. 2: 113-117

34. Management of Ureteral Calculi

Glenn S. Gerber

Journal of Endourology. Jun 2004, Vol. 18, No. 5: 415-417

35. The impact of obesity in urology

J MYDLO

Urologic Clinics of North America. May 2004, Vol. 31, No. 2: 275-287

36.Extracorporeal Shockwave Lithotripsy For Solitary Distal Ureteral Stones: Does the Degree of Urinary Obstruction Affect Success?

Murat Demirbas, Ahmet C. Kose, Murat Samli, Cem Guler, Turgay Kara, Mustafa Karalar
Journal of Endourology. Apr 2004, Vol. 18, No. 3: 237-240

**3. Dimitrios Delakas, Emannuel Lianos, Ioannis Karyotis, Angelos Cranidis
Finasteride: A Long-term follow-up in the treatment of recurrent hematuria
associated with benign prostate hyperplasia.
Urologia Internationalis 2001 ;67:69-72**

12 citations

1. Pharmacological therapy of benign prostatic hyperplasia/lower urinary tract symptoms: an overview for the practising clinician. CR Chapple - BJU international, 2004
2. 5 Alpha-reductase inhibitors: what's new? CL Foley... - Current opinion in urology, 2003
3. Blood loss and postoperative complications associated with transurethral resection of the prostate after pretreatment with dutasteride. RG Hahn, T Fagerström, TLJ Tammela... - BJU ..., 2007
4. Hormonal and morphologic evaluation of the effects of antiandrogens on the blood supply of the rat prostate. Y Shibata, Y Ono, B Kashiwagi, K Suzuki... - Urology, 2003
5. Contemporary diagnosis and management of diseases of the prostate. MM Issa... - 2005 - Handbooks in Health Care
6. An update on the use of 5alpha-reductase inhibitors. CL Foley, SR Bott, IS Shergill... - Drugs Today (Barc), 2004
7. Effect of androgen concentration on seminal vesicle blood flow in rats-establishment of new highly sensitive simultaneous androgen measurement method. B Kashiwagi, Y Shibata, Y Ono, K Suzuki... - Urology, 2005 – Elsevier
8. Present and future pharmacotherapy for benign prostatic hyperplasia. SA Doggrell - Drugs of the Future, 2002 - journals.prous.com
9. Therapie des benignen Prostatasyndroms (BPS). R Berges, K Dreikorn, K Höfner, S Madersbacher... - Der Urologe A, 2009 – Springer
10. Locul 5 α -reductazei în tratamentul medical al hipertrofiei benigne de prostată. C Novac, N Suditu, B Novac... - Jurnalul de Chirurgie, 2007
11. Complications of Transurethral Surgery. R Saini... - Reoperative Pelvic Surgery, 2009
12. Urological emergencies in the cancer patient—diagnosis and treatment. PF Keane... - EJC Supplements, 2007

ΔΙΑΤΡΙΒΗ : ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Demetrios Arvanitis, Emmanuel Lianos, Nikolaos Soultzis, Demetrios Delakas, Demetrios Spandidos.
Deregulation of p73 isoform equilibrium in benign prostate hyperplasia and prostate cancer.
ONCOLOGY REPORTS 12: 1131-1137, 2004
2. Lianos E., Delakas D., Arvanitis D., Spandidos D.
Alternative splicing deregulation leads to over expression of exon 13 P73 isoforms.
European Urology suppl. Vol 2:1,163, abst 643, 2003
3. E. Lianos, D. Arvanitis, N. Soultzis, D. Delakas & D. Spandidos.
Alternative splicing deregulation of P73 MRNA in benign prostate hyperplasia and prostate cancer.
BJU int. ; 90 (suppl. 2): 244, 2002

ΔΙΑΤΡΙΒΗ: ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Μελέτη του ρόλου έκφρασης των ογκοκατασταλτικών γονιδίων P 53, P 73,MDM2 ΚΑΙ P 21^{WAF1/CIP1} στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου σε καλοήγη υπερτροφία και κακοήθεια του προστάτη.
Ε. Λιανός^{1,2}, Δ. Αρβανίτης², Ν. Σουλτζής², Δ. Δελακάς¹, Δ. Σπαντίδος².
¹Ουρολογική Κλινική & ²Εργαστήριο Ιολογίας, Παν/μίου Κρήτης.
16⁰ Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο. Καλαμάτα 2002.
2. Alternative splicing deregulation leads to over expression of exon 13 p73 isoforms.
Lianos E., Delakas D., Arvanitis D., Spandidos D.
Department of Urology and Laboratory of Virology, Medical School, University of Crete, Greece. XVIIIth Congress of The European Association of Urology. Madrid, Spain. March 12-15 2003.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Ερευνάται η έκφραση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων P53, P73 και P21 στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου σε καλοήγη υπερτροφία προστάτη καθώς και στην κακοήγη εξαλλαγή του αδένου.

Υλικό – Μέθοδος: Στην παρούσα μελέτη ερευνούμε τα μεταγραφικά επίπεδα των p53, p73, MDM2 και p21WAF1/CIP1 γονιδίων σε 15 καρκίνους προστάτου, 21 καλοήθεις υπερτροφίες προστάτου (12 με στοιχεία οξείας ή χρόνιας φλεγμονής) και 8 φυσιολογικούς προστατικούς ιστούς κάνοντας χρήση της ημιποσοστιαίας RT-PCR, έχοντας μία β2-μικροσφαιρίνη σαν εσωτερικό μάρτυρα. Επιπλέον γίνεται χρήση ενός συμπληρωματικού ζεύγους εκκινιτών για να διερευνηθούν τα επίπεδα των ισόμορφων της p73 με ή χωρίς το εξόνιο 13.

Αποτελέσματα: Η αναλογία των μεταγραφών του εξωνίου 13 ως προς το ολικό p73 mRNA ήταν σημαντικά αυξημένη από 6 έως και 8 φορές παράλληλα και στους όγκους, και στις υπερπλασίες. Τα μεταγραφικά επίπεδα των MDM2 και p53 μειώθηκαν κατά 4 φορές στο 67% των καρκίνων και στο 45% των περιπτώσεων καλοήθους υπερτροφίας χωρίς σημεία φλεγμονής, ενώ αντίθετα αυξήθηκαν κατά το 75% σε φλεγμονώδεις καταστάσεις. Τα επίπεδα της p21WAF1/CIP1 διατηρήθηκαν σχετικά σταθερά.

Συμπέρασμα : Από την ανάλυση των δεδομένων της έρευνας διαφαίνεται ότι διαφοροποιήσεις στο εναλλακτικό μάτισμα της p73 και στην αναλογία μεταγραφών του εξωνίου 13 συμβαίνουν και στην καλοήγη υπερτροφία του προστάτη καθώς και στην κακοήθεια του αδένου όταν συγκρίνονται με φυσιολογικό ιστό ελέγχου. Αυτή η διαφοροποίηση θα μπορούσε να αποτελέσει ένα κλειδί στην θεωρία του μηχανισμού λειτουργίας της πρωτεΐνης p73 σε συσχέτιση και με τον μηχανισμό ανάπτυξης και εξέλιξης της καλοήθους και κακοήθους νόσου του προστάτη.

ABSTRACT

Introduction: P53 protein is important for growth suppression and induction of apoptosis. p73, a recently discovered p53 homolog, undergoes complex alternative splicing and produces several isoforms who differ in their C-terminal, as well as in their potential to substitute p53 functions.

Material and Methods: We investigated the transcriptional levels of p53-pathway genes, p53, p73, MDM2 and p21^{WAF1/CIP1} in 15 prostate carcinomas, 21 benign prostate hyperplasias (12 with acute or chronic inflammation) and 8 normal prostate tissues by means of semi-quantative RT-PCR, using β 2-microglobulin as internal control. Moreover we used an additional primer set to detect the levels of p73 isoforms with or without exon 13.

Results: The ratio of exon 13 transcripts/total p73 mRNAs was significantly increased 6 to 8-fold in both tumors (80% of cases) and hyperplasias (52% of cases). MDM2 and p53 transcriptional levels were decreased 4-fold in 67% of cancer and 45% of benign lesions without inflammation, while they were increased 6-fold in 75% of inflammatory hyperplasias. p21^{WAF1/CIP1} levels were relatively constant.

Conclusion: Our data suggest that alternative splicing shift of p73 in benign prostate hyperplasia and prostate cancer compared to normal controls could be a key element in the development of these diseases.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΩΝ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Κυτταρικός κύκλος καλείται ο κύκλος ζωής του κυττάρου, μια διαδικασία που ολοκληρώνεται υπο αυστηρό έλεγχο και δια της οποίας επιτυγχάνεται η κυτταρική διαίρεση. Έτσι εξασφαλίζεται ο διπλασιασμός και η ακριβής μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας από τα μητρικά στα θυγατρικά κύτταρα. Ο κυτταρικός κύκλος στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς χωρίζεται σε δυο στάδια:

στη μεσόφαση που καταλαμβάνει το μεγαλύτερο ποσοστό του κυτταρικού κύκλου και στη μίτωση κατά την οποία λαμβάνει χώρα η κυτταρική διαίρεση. (Campell and Reece, 2002. Εικ.1).

1.ΜΕΣΟΦΑΣΗ

Η μεσόφαση αποτελεί το διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ δύο μιτώσεων και περιλαμβάνει τρεις επιμέρους φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Στις φάσεις αυτές το κύτταρο επιτελεί συγκεκριμένες βιοσυνθετικές διεργασίες, που το προετοιμάζουν για την κυτταρική διαίρεση.

-Φάση G1: πρόκειται για μια περίοδο έντονης μεταβολικής δραστηριότητας η οποία μεσολαβεί από το τέλος της μίτωσης μέχρι τη φάση του διπλασιασμού του γενετικού υλικού. Προς το τέλος της φάσης G1, το κύτταρο ελέγχει αν πληρούνται οι κατάλληλες προϋποθέσεις (περιβαλλοντικές συνθήκες, παρουσία αυξητικών παραγόντων, σωστό κυτταρικό μέγεθος και απουσία βλαβών στο DNA) προκειμένου να προχωρήσει στην επόμενη φάση (φάση S). Το κρίσιμο αυτό σημείο του κυτταρικού κύκλου ονομάζεται σημείο περιορισμού (restriction point) ή σημείο ελέγχου G1 (G1 checkpoint) στα ανώτερα ευκαρυωτικά κύτταρα.

Είναι δυνατόν κάτω από ειδικές συνθήκες, κύτταρα που βρίσκονται στη φάση G1 αλλά δεν έχουν περάσει ακόμα το σημείο περιορισμού, να εισέλθουν σε μια ειδική φάση, που ονομάζεται φάση G0 ή φάση εφησυχασμού (Pardee,1974)

Η φάση αυτή μπορεί να αποτελέσει σημείο παροδικής ή και μόνιμης εξόδου από τον κυτταρικό κύκλο.

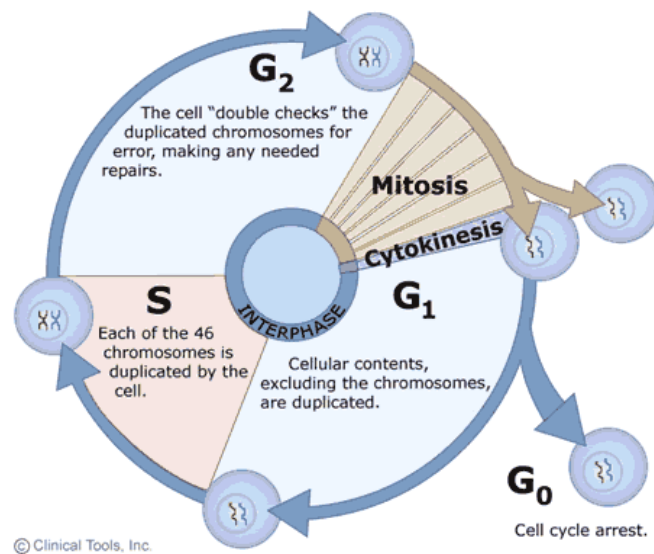
-Φάση S (φάση σύνθεσης): πραγματοποιείται ο διπλασιασμός του γενετικού υλικού, ενώ εξακολουθεί να λαμβάνει χώρα μεταγραφή γονιδίων και κυτταρική αύξηση.

-Φάση G2: αποτελεί τη φάση μεταξύ του τέλους της φάσης S και της αρχής της μίτωσης. Στο τέλος της φάσης G2 δρουν μηχανισμοί ελέγχου που διασφαλίζουν ότι το κύτταρο δεν θα εισέλθει στη φάση της μίτωσης, αν προηγουμένως δεν έχει ολοκληρωθεί πλήρως ο διπλασιασμός του γενετικού υλικού, αν δεν έχουν επιδιορθωθεί τυχόν βλάβες στο γενετικό υλικό καθώς και αν το κύτταρο δεν έχει το κατάλληλο μέγεθος

2.ΜΙΤΩΣΗ

-Φάση M : Η φάση M, η οποία κατέχει ένα μικρό ποσοστό του κυτταρικού κύκλου, αναφέρεται τόσο στην πυρηνική διαίρεση (μίτωση), δηλαδή στο διαμοιρασμό των μητρικών χρωμοσωμάτων στα θυγατρικά κύτταρα, όσο και στην κυτταροκίνηση, που αφορά τη διαδικασία διαίρεσης του μητρικού κυτταροπλάσματος. Διακρίνεται σε 6 επιμέρους στάδια από τα οποία τα πρώτα πέντε αποτελούν τη μίτωση (πρόφαση, προμετάφαση, μετάφαση, ανάφαση, τελόφαση) , ενώ το έκτο την κυτταροκίνηση.

Ο χρόνος της κυτταρικής διαίρεσης ποικίλλει ανάλογα με το είδος των κυττάρων και τον οργανισμό. Για παράδειγμα, ο μέσος χρόνος διάρκειας του κυτταρικού κύκλου σε θηλαστικά κύτταρα σε καλλιέργεια είναι εικοσιτέσσερις ώρες, όπου η φάση G1 καταλαμβάνει 11 ώρες, η φάση S περίπου 8 ώρες, η G2 περίπου 4 ώρες και η μίτωση 1 ώρα. Αντίθετα, στα πρώιμα εμβρυϊκά κύτταρα, ο κυτταρικός κύκλος διαρκεί 30 λεπτά και έχει την ιδιομορφία ότι αποτελείται από εναλλασσόμενες φάσεις S και M.



Εικ.1 Απεικόνιση του κυτταρικού κύκλου

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ

Όλοι οι οργανισμοί, από τις μονοκύτταρες ζύμες μέχρι τους σύνθετους πολυκύτταρους οργανισμούς, πρέπει να διασφαλίζουν την απρόσκοπτη και διαδοχική ενεργοποίηση των φάσεων του κυτταρικού κύκλου, ώστε να μεταβιβαστεί ακέραιο το γενετικό υλικό στα θυγατρικά κύτταρα. Σε αντίθετη περίπτωση, προκαλούνται γενετικές αλλαγές που ενδέχεται να οδηγήσουν είτε στον κυτταρικό θάνατο είτε σε μη ελεγχόμενο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, χαρακτηριστικό γνώρισμα των καρκινικών κυττάρων. Προκειμένου να αποφευχθούν τέτοιου είδους γενετικές αλλαγές, το κύτταρο έχει αναπτύξει μια σειρά από μηχανισμούς ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, που εξασφαλίζουν ότι η φάση της αντιγραφής του γενετικού υλικού (φάση S) θα εναλλάσσεται πάντα με την φάση της μίτωσης και ότι κάθε τμήμα του γενετικού υλικού θα διπλασιάζεται μία και μόνο μία φορά σε κάθε κυτταρικό κύκλο (Nurse, 1994 και Heichman and Roberts, 1994). Τα πρώτα πειράματα που απέδειξαν την ύπαρξη μιας τέτοιας αυστηρής ρύθμισης στα κύτταρα είναι πειράματα σύντηξης κυττάρων θηλαστικών που πραγματοποιήθηκαν το 1970 από τους Rao και Johnson. Συγκεκριμένα, όταν κύτταρα σε φάση G1 ήρθαν σε σύντηξη με κύτταρα φάσης S, τότε τα κύτταρα της φάσης G1 διπλασίασαν το γενετικό τους υλικό νωρίτερα από ότι ήταν αναμενόμενο. Αντίθετα, όταν η σύντηξη των κυττάρων της φάσης S έγινε με κύτταρα από τη φάση G2, τα κύτταρα της φάσης G2 δεν προχώρησαν σε εκ νέου διπλασιασμό του DNA τους και εισήλθαν στη φάση της μίτωσης μόνο όταν και τα κύτταρα της φάσης S είχαν ολοκληρώσει το διπλασιασμό του γενετικού τους υλικού.

Βάσει αυτών των πειραμάτων διατυπώθηκαν οι βασικές αρχές που διέπουν τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου:

A. κύτταρα που βρίσκονται σε φάση S περιέχουν παράγοντες που προάγουν την έναρξη της αντιγραφής και που δρουν *in trans*.

B. τα κύτταρα της φάσης G1, αλλά όχι τα κύτταρα της φάσης G2, είναι 'δεκτικά' στην έναρξη της αντιγραφής.

Γ. τα κύτταρα της φάσης S έχουν τη δυνατότητα να παράγουν σήματα ανασταλτικά για την είσοδο των κυττάρων της φάσης G2 στη μίτωση, εξασφαλίζοντας έτσι ότι κανένα κύτταρο δεν θα ξεκινήσει το διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων του αν δεν έχει ολοκληρωθεί ο διπλασιασμός του γενετικού του υλικού.

Δ. τα κύτταρα της G2 φάσης δεν μπορούν να εισέλθουν στη φάση της αντιγραφής παρά μόνο αν ολοκληρώσουν τη φάση της μίτωσης.

Οι μηχανισμοί της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου διαλευκάνθηκαν ακόμα περισσότερο τα επόμενα χρόνια με μια σειρά γενετικών πειραμάτων σε κύτταρα του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* και του σχιζοσακχαρομύκητα *Schizosaccharomyces pombe* και *in vitro* πειραμάτων με εκχυλίσματα ωοκυττάρων

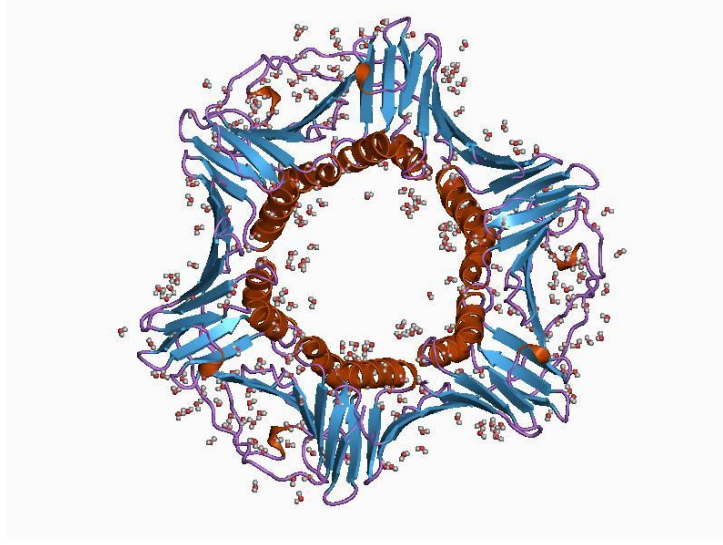
Xenopus laevis, τα οποία συνετέλεσαν στην κατανόηση του πώς επιτυγχάνεται η ομαλή μετάβαση των κυττάρων στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου (Su et al, 1995 και Nishitani and Lygerou,2002).

Ο ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΚΑΙ ΟΙ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ P21 , P53, P73, P21

Η πρωτεΐνη p21WAF1/Cip1 (Εικ.2) αποτελεί τον πρώτο αναστολέα κυκλινών-CDK που ταυτοποιήθηκε. Η πρωτεΐνη αυτή θεωρείται ως διαμεσολαβητής της αναστολής του κυτταρικού κύκλου από την p53 (el-Deiry et al, 1993) και ως άμεσος ρυθμιστής της ενεργότητας των CDKs (Harper et al, 1993), ενώ το p21 γονίδιο αναγνωρίζεται ως γονίδιο του οποίου η έκφραση αυξάνεται ως επακόλουθο της κυτταρικής γήρανσης (Noda et al, 1994). Η p21, όπως αναφέραμε και νωρίτερα, ανήκει στην οικογένεια Cip/Kip των αναστολέων των CDKs (p21WAF1/Cip1, p27Kip1, p57Kip2), οι οποίες εμφανίζουν ομολογία στην αμινο-τερματική τους ακολουθία και αναγνωρίζουν ένα ευρύ φάσμα CDK- κυκλινών (Sherr and Roberts, 1999). Η αμινο-τερματική περιοχή της p21 είναι αναγκαία και ικανή να αναστείλει τη δράση των συμπλόκων CDK-κυκλινών τόσο in vitro όσο και in vivo. Η μοναδική καρβοξυ-τερματική περιοχή της p21 αλληλεπιδρά με το πυρηνικό αντιγόνο πολλαπλασιασμού κυττάρων (PCNA), που αποτελεί υπομονάδα της DNA πολυμεράσης δ και μπορεί να αναστείλει άμεσα την αντιγραφή του DNA, χωρίς να επηρεάσει την επιδιόρθωση του DNA (Li R. et al, 1994; Shivji et al, 1994; Chen et al, 1995; Luo et al, 1995).

Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι η πρόσδεση του PCNA στην p21 μπορεί να ρυθμιστεί από αντιστρέψιμη φωσφορυλίωση της p21 στην καρβοξυ-τερματική της περιοχή (Scott et al, 2000). Εκτός από την αλληλεπίδρασή της με τα σύμπλοκα CDK-κυκλινών και το PCNA, η p21 βρέθηκε να συμμετέχει και σε έναν αριθμό διαφορετικών πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων.

Κάποιες από αυτές παίζουν, επίσης, ρόλο στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, ενώ οι άλλες σχετίζονται με διαφορετικές λειτουργίες της πρωτεΐνης.



Εικ.2 Η πρωτεΐνη p21WAF1/Cip1(Γραφική αναπαράσταση)

P21 ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ

Σε φυσιολογικούς ινοβλάστες, η πλειονότητα των CDKs απαντάται σε τετραμερή σύμπλοκα τα οποία εκτός από την κυκλίνη και την καταλυτική υπομονάδα CDK, περιλαμβάνουν το πυρηνικό αντιγόνο πολλαπλασιασμού κυττάρων (PCNA) και μια πρωτεΐνη με MB 21000 Da, την p21 (Xiong et al., 1992; Zhang et al., 1993). Η p21 συνδέεται απευθείας στις cdc2, CDK2 και CDK4 (Harper et al., 1993; Xiong et al., 1993a,b; Zhang et al., 1993; Dulic et al., 1994) και απομονώνεται μαζί με αυτές σε ενεργά σύμπλοκα που σχηματίζονται με τις κυκλίνες A, B, D και E (Xiong et al., 1993a; Zhang et al., 1993, 1994). Η κλωνοποίηση του γονιδίου της p21, η επανασύνδεση καθαρής πρωτεΐνης p21 με σύμπλοκα κυκλίνης-CDK *in vitro* και η υπερέκφρασή της σε κυτταρικές σειρές θηλαστικών απέδειξαν ότι η πρωτεΐνη αυτή είναι ένας αναστολέας της δράσης των CDKs, ικανός να αναστείλει τον κυτταρικό κύκλο (el-Deiry et al., 1993; Y Gu et al., 1993; Harper et al., 1993; Xiong et al., 1993b; Noda et al., 1994).

Η P21 ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΑΣ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Μετά από επίδραση ακτινοβολίας και χημειοθεραπευτικών παραγόντων, η πρωτεΐνη p53 σταθεροποιείται και οδηγεί σε αναστολή του κυτταρικού κύκλου και απόπτωση. Παρόλο που οι μηχανισμοί της

εξαρτώμενης από p53 απόπτωσης δεν είναι ακόμη κατανοητοί, η αναστολή του κυτταρικού κύκλου από p53 γίνεται μέσω της p21. Δεν είναι ακόμη γνωστός ο τρόπος με τον οποίο το κύτταρο επιλέγει μεταξύ της απόπτωσης και της αναστολής του κυτταρικού κύκλου μετά από βλάβη στο DNA, αλλά υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η p21 αποτελεί κύριο αναστολέα της απόπτωσης που οφείλεται σε p53 (Gartel and Tyner, 2002).

Η p21 αποτελεί κύριο αναστολέα της εξαρτημένης και ανεξάρτητης από p53 απόπτωσης. Η βλάβη του DNA και το οξειδωτικό στρες (H₂O₂) ενεργοποιούν δύο μονοπάτια, αυτό που εμπλέκει την εξαρτημένη από p53 απόπτωση και αυτό που εμπλέκει την εξαρτημένη από p53 ενεργοποίηση της p21 που προστατεύει τα κύτταρα από απόπτωση.

Τα επίπεδα της p21 συχνά καθορίζουν την κυτταρική απόκριση σε διαφορετικά φάρμακα. Για παράδειγμα, βρέθηκε ότι σε μια ανθρώπινη καρκινική κυτταρική σειρά που οδηγείται σε απόπτωση μετά από επίδραση με το φάρμακο prostaglandin A₂, τα επίπεδα της p21 είναι χαμηλά (Gorospe et al, 1996). Αντίθετα, άλλες κυτταρικές σειρές που εκφράζουν υψηλά επίπεδα p21 αναστέλλουν τον κυτταρικό τους κύκλο στη φάση G₁ μετά από επίδραση με το ίδιο φάρμακο (Gorospe et al, 1996; Hitomi et al, 1996).

Βέβαια, ο μηχανισμός με τον οποίο η p21 αποτρέπει την απόπτωση των κυττάρων δεν είναι ακόμη απόλυτα κατανοητός. Ένας μηχανισμός εικάζεται ότι είναι η αναστολή του κυτταρικού κύκλου από την p21 (κυρίως στο σημείο ελέγχου G₂/M) η οποία επιτρέπει την επιδιόρθωση ή αποτρέπει τη βλάβη του DNA .

Για παράδειγμα, αδено-σχετιζόμενοι ιοί αυξάνουν επιλεκτικά την απόπτωση σε κύτταρα που δεν εκφράζουν p53 και p21. Κύτταρα με ενεργές p21 και p53 δεν πεθαίνουν αλλά αναστέλλουν τον κυτταρικό τους κύκλο στη φάση G₂, γεγονός που χαρακτηρίζεται από αύξηση στην ενεργότητα της p53 και στα επίπεδα της p21 (Raj et al, 2001). Κύτταρα με ενεργές p53 και p21 σταματούν στη G₂, ώστε να εξαλείψουν το γένωμα των ιών και ακολούθως να συνεχίσουν την κυτταρική διαίρεση. Κύτταρα χωρίς p53 και p21 δεν μπορούν να διατηρηθούν στη φάση G₂ και ξεκινούν την καταστροφική πυρηνική διαίρεση που οδηγεί τελικά σε κυτταρικό θάνατο (Vogelstein and Kinzler, 2001).

Στην περίπτωση αυτή, η ικανότητα της p21 να διαμεσολαβεί την εξαρτημένη από p53 αναστολή στη φάση G₂ μετά από βλάβη στο DNA, προστατεύει τα κύτταρα από απόπτωση. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν αναφερθεί και για άλλους παράγοντες που αυξάνουν την p21 και προστατεύουν έτσι από απόπτωση (Lin et al, 2000; Schmidt et al, 2001).

Μια πληθώρα τύπων κυτταρικού στρες οδηγεί σε αύξηση της p21 η οποία μπορεί να είναι ανεξάρτητη ή εξαρτημένη από p53. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η αναστολή του κυτταρικού κύκλου που οφείλεται στην αύξηση της p21 προστατεύει τα κύτταρα και παρεμποδίζει την απόπτωση.

Ωστόσο, μια σειρά δημοσιεύσεων προτείνουν ότι η p21 μπορεί να διαδραματίσει και προαποπτωτικό ρόλο κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες σε συγκεκριμένα συστήματα. Υπερέκφραση της p21 σε θυμοκύτταρα οδήγησε σε αυξημένο κυτταρικό θάνατο εξαρτημένο από p53 μετά την επίδραση με ακτινοβολία, αλλά όχι μετά την επίδραση με dexamethasone σε διαγενετικά ζώα (Fotedar et al, 1999). Υπερέκφραση της p21 σε καρκινικά κύτταρα που δεν εκφράζουν p53 αύξησε την απόπτωση (Shibata et al, 2001). Επίσης, υπερέκφραση της p21 σε κυτταρικές σειρές που έχουν επεξεργασθεί με την ουσία cisplatin οδηγήθηκαν σε απόπτωση (Kondo et al, 1996; Lincet et al, 2000).

Οι μηχανισμοί με τους οποίους η p21 ευνοεί την απόπτωση δεν είναι ακόμη κατανοητοί, αλλά πιθανά να σχετίζονται με την ικανότητά της να αλληλεπιδρά και να ρυθμίζει συστατικά της μηχανής επιδιόρθωσης του DNA. Συνολικά, πάντως, οι αναφορές που υποστηρίζουν αντιαποπτωτικό ρόλο για την p21 είναι πολύ περισσότερες από αυτές που αποδίδουν αποπτωτικές ιδιότητες στην πρωτεΐνη αυτή (Gartel and Tyner, 2002).

ΤΟ P21 ΓΟΝΙΔΙΟ ΚΑΙ Η P21 ΠΡΩΤΕΪΝΗ

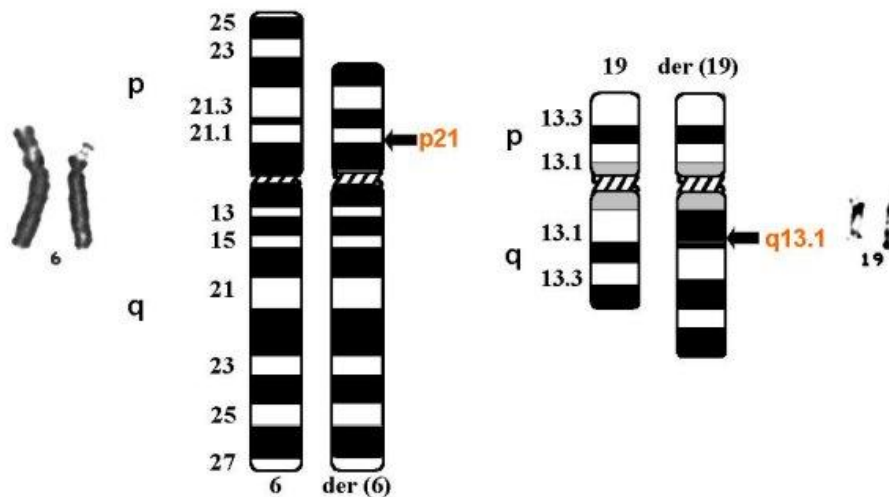
Το γονίδιο p21 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6, στη θέση 6p21.2.(Εικ.3). Η ακολουθία και η δομή του είναι συντηρημένη στα τρωκτικά. Ο υποκινητής του γονιδίου μπορεί να διαχωρισθεί σε δύο διακριτές περιοχές : την κοντινή περιοχή, που περιλαμβάνει 6 θέσεις πρόσδεσης του Sp1 και μια θέση πρόσδεσης του παράγοντα Miz-1 και τη μακρινή περιοχή, που περιλαμβάνει δύο θέσεις πρόσδεσης της πρωτεΐνης p53.

Οι θέσεις πρόσδεσης της πρωτεΐνης Sp1 ονομάζονται 1-6 και οι δύο από αυτές (5 και 6) είναι αλληλεπικαλυπτόμενες. Το προϊόν του γονιδίου αυτού είναι μια πρωτεΐνη 164 αμινοξέων σε μήκος.

Η ανασταλτική δράση των CDKs και η θέση σύνδεσης με το PCNA είναι διακριτές και εντοπίζονται στο αμινο-τερματικό και καρβοξυ-τερματικό άκρο του μορίου της p21, αντίστοιχα. Πιο συγκεκριμένα η περιοχή αναστολής των CDKs και της σύνθεσης του DNA είναι μεταξύ των αμινοξέων 1-71, ενώ αυτή που συνδέεται με το PCNA έχει μήκος 20 αμινοξέων και βρίσκεται στη θέση 141-160 (Chen et al., 1995; Luo et al., 1995; Nakanishi et al., 1995; Warbrick et al., 1995).

Όλες οι παραπάνω παρατηρήσεις προήλθαν από *in vitro* πειράματα. Πέρα, όμως, από τα συγκεκριμένα δεδομένα υπάρχουν και *in vivo* μελέτες για τα χαρακτηριστικά της p21, που είναι υπεύθυνα για την αναστολή της ανάπτυξης (Chen et al., 1995; Strausfeld et al., 1994; Chen et al., 1995; Luo et al., 1995; Nakanishi et al., 1995).

Η ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου p21 ελέγχεται σε μεταγραφικό επίπεδο από μηχανισμούς είτε ανεξάρτητους από την p53, είτε εξαρτημένους από το μόριο αυτό, καθώς και σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο. Στη συνέχεια θα περιγράψουμε τους μηχανισμούς ρύθμισης της μεταγραφής του p21, είτε αυτοί εξαρτώνται είτε όχι από την p53.



Εικ.3 Το γονίδιο p21 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6, στη θέση 6p21.2

ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗ ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ P21 ΑΠΟ ΤΗΝ P53.

Η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας, υπεύθυνος για την ενεργοποίηση πολλών γονιδίων που εμπλέκονται στον κυτταρικό κύκλο (Wiman et al., 1997). Σύγκριση της ακολουθίας του υποκινητή του γονιδίου p21 σε αρουραίο, ποντίκι και άνθρωπο, αποκάλυψε την ύπαρξη δύο θέσεων πρόσδεσης της p53 σε κάθε έναν από τους υποκινητές αυτούς και τουλάχιστον μια από τις θέσεις αυτές

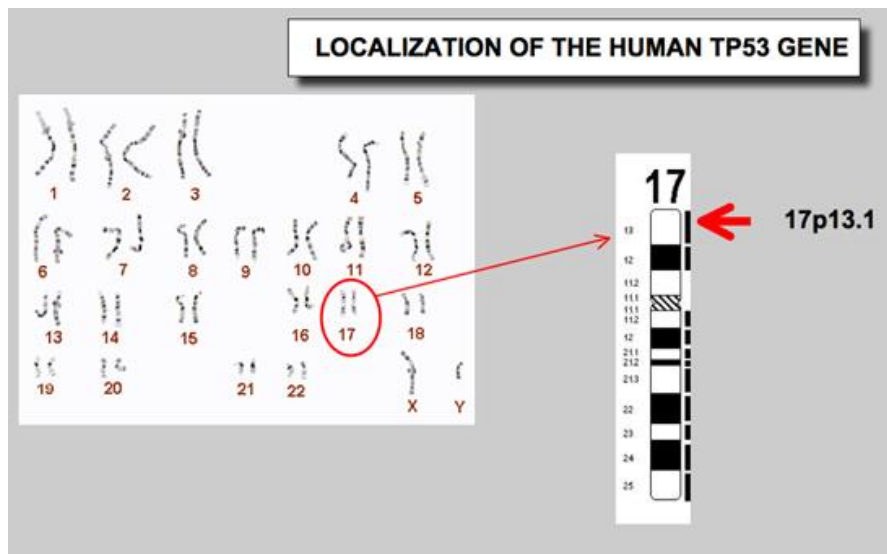
απαιτείται για την απόκριση στην p53 (El-Deiry et al., 1995). Αν και η p53 δεν είναι απαραίτητη για την προαγωγή της μεταγραφής του p21 κατά την ανάπτυξη και στους περισσότερους ιστούς του ώριμου ατόμου, εντούτοις έκθεση σε γ-ακτινοβολία ποντικών των οποίων το γονίδιο p53 είχε απενεργοποιηθεί έδειξε ότι σε περιπτώσεις βλάβης του DNA απαιτείται ρύθμιση του γονιδίου p21 από την p53 (Macleod et al., 1995). Ακτινοβόληση ανθρώπινων κυτταρικών σειρών οδηγεί σε αύξηση της μεταγραφής του γονιδίου p21 από την p53 και σε αναστολή του κυτταρικού κύκλου (Dulich et al., 1994; Namba et al., 1995). Αρκετοί παράγοντες, όπως οι Zta, NDF, c-Rel ή αναστολείς της σύνθεσης ριβονουκλεοτιδίων ευνοούν την αύξηση της μεταγραφής του γονιδίου p21 από την p53, ενεργοποιώντας ή σταθεροποιώντας το RNA ή την πρωτεΐνη p53. Ο Zta ευνοεί την αναστολή του κυτταρικού κύκλου μέσω μετα-μεταφραστικής ρύθμισης της p53 και κατ' επέκταση της μεταγραφής του γονιδίου p21 (Caryol et al., 1996). Ο παράγοντας διαφοροποίησης Neu (NDF) σταθεροποιεί την p53 και έτσι προάγει τη μεταγραφή του γονιδίου p21 (Bacus et al., 1996). Αναστολείς της σύνθεσης ριβονουκλεοτιδίων αυξάνουν την έκφραση του γονιδίου p21 με τρόπο εξαρτημένο της p53 απουσία βλάβης στο DNA, οδηγώντας σε υποφωσφορυλίωση της pRB σε φυσιολογικούς ανθρώπινους ινοβλάστες και τελικά σε παύση του κυτταρικού κύκλου (Linke et al., 1996). Στην περίπτωση αυτή η p53 δρα ως μεταβολικός αισθητήρας που ενεργοποιείται από την έλλειψη νουκλεοτιδίων, αλλά ο ακριβής μηχανισμός είναι ακόμη άγνωστος. Η c-Rel, ένα μέλος της οικογένειας των Rel/NF-κB, σταματά τον 37 πολλαπλασιασμό κυττάρων HeLa στη μετάβαση από τη G1 στην S φάση μέσω αύξησης της σταθερότητας της p53 και τελικά αύξησης της έκφρασης του p21 γονιδίου (Bash et al., 1997).

Η ΠΡΩΤΕΪΝΗ P53, ΤΟ ΠΡΟΪΟΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ P53

Το γονίδιο p53 είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο και αποτελεί τον πιο συχνό στόχο των γενετικών αλλαγών που συναντώνται στους ανθρώπινους όγκους (Hollstein et al., 1991, 1996). Διαγενετικά ποντίκια που εκφράζουν μεταλλαγμένη p53 ή ποντίκια που δεν εκφράζουν καθόλου p53 είναι επιρρεπή σε εμφάνιση όγκων (Donehower et al., 1992). Ο παράγοντας p53 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και την απόπτωση μετά την επίδραση γενετικών βλαβών ή κυτταρικού στρες (Ko and Prives, 1996; Levine, 1997; Choisy-Rossi and Yonish-Rouach, 1998; el-Deiry, 1998; Prives and Hall, 1999; Oren, 1999). Η αναστολή του κυτταρικού κύκλου ή ο κυτταρικός θάνατος που προκαλείται από την ενεργοποίηση της p53 αποτρέπει την αντιγραφή του κατεστραμμένου DNA και τον πολλαπλασιασμό. Για το λόγο αυτό, η πρωτεΐνη p53 έχει χαρακτηριστεί ως «φύλακας του

γενώματος» (Lane, 1992). Η δράση της αυτή είναι απαραίτητη για την απόκριση των καρκινικών κυττάρων σε αντικαρκινικά φάρμακα, τα οποία ευνοούν την απόπτωση προκαλώντας βλάβη στο DNA.

Πράγματι, απενεργοποίηση της p53 λόγω απαλοιφής, μετάλλαξης ή αλληλεπίδρασης με κυτταρικές και ιικές πρωτεΐνες αποτελεί τη βασικότερη προϋπόθεση για την ανάπτυξη τουλάχιστον του 50% των ανθρώπινων όγκων.



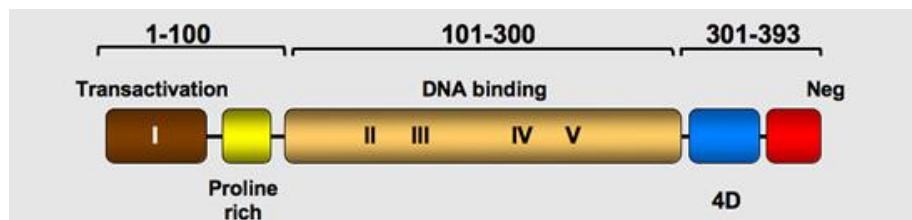
Εικ.4 Το ανθρώπινο γονίδιο p53 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17p13.1

ΟΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ P53

Το ανθρώπινο γονίδιο p53 (Εικ.4) αποτελείται από 11 εξόνια και εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17p13.1. Εναλλακτικό μάτισμα του ιντρονίου 9 στο ανθρώπινο p53 mRNA οδηγεί σε μια ελλιπή στο καρβοξυτερματικό άκρο μορφή (p53AS) (Arai et al, 1986). Η ανθρώπινη p53 πρωτεΐνη αποτελείται από 393 αμινοξέα και περιλαμβάνει διακριτές δομικά και λειτουργικά περιοχές : την περιοχή ενεργοποίησης, την περιοχή αναστολής της ανάπτυξης, την περιοχή πρόσδεσης στο DNA, την περιοχή πυρηνικού εντοπισμού (NLS), την περιοχή ολιγομερισμού και τη ρυθμιστική περιοχή (Ko and Prives, 1996). Η περιοχή ενεργοποίησης (AD) διακρίνεται στις AD1 και AD2 οι οποίες περιλαμβάνουν τα αμινοξέα 1-42 και 43-63 αντίστοιχα (Zhu et al, 1998; Candau et al, 1997). Η περιοχή αυτή αλληλεπιδρά με τη βασική μεταγραφική μηχανή, ώστε να αυξήσει την έκφραση των γονιδίων. Τα αμινοξέα 13-23 της πρωτεΐνης p53 είναι αρκετά

συντηρημένα σε αρκετά είδη. Επίσης, βρέθηκε ότι τα αμινοξέα F19, L22 και W23 είναι απαραίτητα για τη μεταγραφική ενεργοποίηση από την p53 in vivo (Lin et al, 1995). Επιπλέον, τα αμινοξέα αυτά προσδένονται, in vitro, με τους παράγοντες TAFII70 και TAFII31, οι οποίοι αποτελούν υπομονάδες του TFIID (Lu and Levine, 1995; Thut et al, 1995).

Η περιοχή αναστολής της ανάπτυξης εντοπίζεται μεταξύ των αμινοξέων 64-90 και περιλαμβάνει 5 μοτίβα πλούσια σε προλίνη (PXXP, όπου P προλίνη και X οποιοδήποτε αμινοξύ). (Εικ.5). Απαλοιφή της περιοχής αυτής μειώνει την ικανότητα της p53 να αναστέλλει την ανάπτυξη όγκων (Walker and Levine, 1996).



Εικ.5 Η δομή της πρωτεϊνης P53

ΟΙ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ P73 ΚΑΙ P63

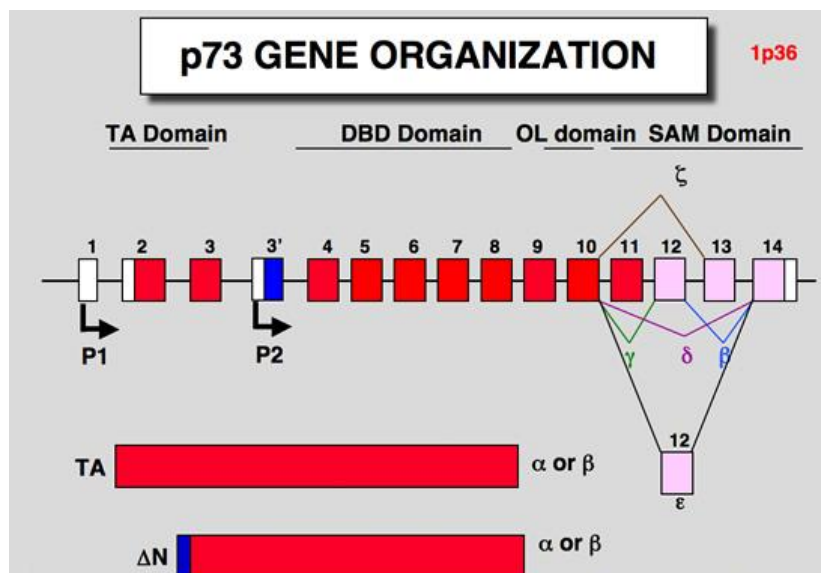
Αρκετά χρόνια μετά την ανακάλυψη του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53, κλωνοποιήθηκαν δύο ακόμη γονίδια, τα p63 και p73, τα οποία ανήκουν στην οικογένεια της p53. Οι ακολουθίες των p63 και p73 παρουσιάζουν περισσότερες ομοιότητες μεταξύ τους παρά με αυτή του p53 γονιδίου.

Φυλογενετική ανάλυση έδειξε ότι το γονίδιο p53 πρέπει να προέρχεται από αρχέγονο γονίδιο, παρόμοιο με τα p63/p73 (Kaghad et al, 1997; Yang et al, 1998). Το p63 γονίδιο περιέχει 15 εξόνια (Yang et al, 1998) και εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 3q27-29, ενώ το p73 έχει μήκος περίπου 65kb, περιέχει 14 εξόνια (Kaghad et al, 1997) και εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1p36. (Εικ.6). Υπάρχουν αρκετά κοινά σημεία ανάμεσα στα γονίδια της οικογένειας p53 : α) Όλα περιέχουν μεγάλα ιντρόνια (Mai et al, 1998). Το γονίδιο p53 των θηλαστικών περιέχει ένα ιντρόνιο 10,7 kb μεταξύ των εξονίων 1 και 2, ενώ το ανθρώπινο p73 περιέχει 3 μεγάλα ιντρόνια : το ιντρόνιο 1 (>32kb), το ιντρόνιο 3 (12kb) και το ιντρόνιο 4 (8kb). Το p63, παρομοίως, περιέχει 2 μεγάλα ιντρόνια, τα 1 και 3. β) Το εξόνιο 1 δεν κωδικοποιεί σε καμιά περίπτωση. Η περιοχή αυτή στο γονίδιο p53, και θεωρητικά και στο p73, κωδικοποιεί μια κατασκευή βρόχου η οποία πιθανά να

επηρεάζει τη μετάφραση (Kaghad et al, 1997; Mosner et al, 1995). γ) Η οργάνωση των εξονίων και των ιντρονίων είναι παρόμοια σε όλα τα μέλη της οικογένειας.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, υπάρχουν δύο μορφές p53 mRNA, που προέρχονται από διαφορετικό μάτισμα. Σε αντιστοιχία και τα γονίδια p63 και p73 παράγουν πολλαπλά mRNA μετάγραφα, που προέρχονται από διαφορετικό μάτισμα. Τα περισσότερα ματίσματα συμβαίνουν στο 3' άκρο και δημιουργούν πρωτεΐνες με διαφορετικά καρβοξυ-τερματικά άκρα. Υπάρχουν τουλάχιστον 6 διαφορετικές p73 πρωτεΐνες (α-ζ) στα φυσιολογικά κύτταρα (Kaghad et al., 1997; De Laurenzi et al., 1998, 1999; Ueda et al., 1999). Οι β και δ ισομορφές είναι ελλειπείς μορφές της α : τα εναλλακτικά αναγνωστικά πλαίσια από τα διαφορετικά ματίσματα δημιουργούν ένα κωδικόνιο λήξης. Η ισομορφή δ δε διαθέτει το μεγαλύτερο τμήμα της καρβοξυ-τερματικής περιοχής, και για το λόγο αυτό μοιάζει περισσότερο με την p53.

Η ισομορφή ζ διαθέτει μια εσωτερική απαλοιφή μεταξύ των αμινοξέων 400-496 της μορφής α. Η ισομορφή γ περιέχει ένα μεγάλο εναλλακτικό αναγνωστικό πλαίσιο το οποίο οδηγεί στη δημιουργία ενός διαφορετικού καρβοξυ-τερματικού άκρου μήκους 75 αμινοξέων. Η ισομορφή ε διαθέτει μια καρβοξυ-τερματική περιοχή που αποτελείται από τμήματα των αναγνωστικών πλαισίων των α και γ ισομορφών . Επιπλέον ισομορφές ανιχνεύθηκαν με RT-PCR τόσο σε καρκινικά όσο και σε φυσιολογικά κύτταρα, αλλά δεν έχουν κλωνοποιηθεί ακόμη.



Εικ.6 Οργάνωση του γονιδίου P73

Παρόμοια με το γονίδιο p73, το γονίδιο p63 δημιουργεί 3 διαφορετικά στο καρβοξυ-τερματικό τους άκρο μετάγραφα. Από αυτά προκύπτει μια φυσιολογικού μήκους α ισομορφή, μια β ισομορφή που είναι ελλιπής μετά το εξόνιο 12 και μια γ ισομορφή η οποία δε διαθέτει τα εξόνια 12-14, ενώ περιέχει ένα επιπλέον εξόνιο, το 15. Επίσης, οι ισομορφές της πρωτεΐνης p63 διακρίνονται ανάλογα με το αν περιέχουν την περιοχή ενεργοποίησης (μορφές TA) ή όχι (μορφές ΔN). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μεταγραφή μπορεί να αρχίσει είτε από το εξόνιο 1 (μορφές TA) είτε από το εξόνιο 3 (μορφές ΔN).

Οι ΔN ισομορφές δεν μπορούν να ενεργοποιήσουν τη μεταγραφή, αλλά Αντίθετα δρουν ως αρνητικά επικρατούσες και παρεμποδίζουν την ενεργοποίηση από τις TA ισομορφές, καθώς και από την p53 (Yang et al., 1998). Ομολογία και διαφορές μεταξύ των μελών της οικογένειας p53. Τα 3 μέλη της οικογένειας p53 παρουσιάζουν σημαντική ομολογία, τόσο σε γενωμικό όσο και σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Με εξαίρεση τις ισομορφές ΔN των p63 και p73, όλες οι άλλες ισομορφές διαθέτουν τις περιοχές που περιέχει και η p53. Το υψηλότερο επίπεδο ομολογίας παρατηρείται στην περιοχή πρόσδεσης στο DNA. Μεταξύ των p53 και p73 παρατηρείται 63% ομολογία, ενώ μεταξύ των p53 και p63 60% ομολογία. Αυτό υποδεικνύει ότι οι 3 αυτές πρωτεΐνες προσδένονται στις ίδιες ακολουθίες DNA και ενεργοποιούν τους ίδιους υποκινητές. Παρόλα αυτά, υπάρχει εξειδίκευση στους υποκινητές που ενεργοποιεί η κάθε πρωτεΐνη.

Επίσης, η υψηλή ομολογία που υπάρχει ανάμεσα στις περιοχές ολιγομερισμού των 3 πρωτεϊνών υποδεικνύει ότι αυτές είναι ικανές να σχηματίσουν εκτός από ομο-ολιγομερή και ετερο-ολιγομερή. Παρόλα αυτά διάφορες αναλύσεις έδειξαν ότι οι περιοχές ολιγομερισμού των πρωτεϊνών αυτών τείνουν να σχηματίζουν ομο-ολιγομερή και όχι ετερο-ολιγομερή (Kaghad et al., 1997; De Laurenzi et al., 1998; Davison et al., 1999; Di Como et al., 1999).

Οι μεγάλες διαφορές μεταξύ των 3 πρωτεϊνών εντοπίζονται στο καρβοξυ-τερματικό τους άκρο. Λόγω του διαφορετικού ματίσματος οι p63 και p73 έχουν πιο επιμήκη καρβοξυ-τερματικά άκρα. Στα άκρα αυτά έχουν εντοπισθεί επιπλέον λειτουργικές περιοχές. Έτσι, έχει περιγραφεί μια δεύτερη περιοχή ενεργοποίησης στην p73 μεταξύ των αμινοξέων 382 και 491 (Takeda et al, 1994). Επίσης, κάποιες ισομορφές των p63 και p73 διαθέτουν μια περιοχή SAM (Sterile Alpha Motif) (Thanos and Bowie, 1999; Bork and Koonin, 1999). Η περιοχή αυτή είναι υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση μεταξύ πρωτεϊνών (Chi et al., 1999) και πιο συγκεκριμένα πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη διαφοροποίηση. Βέβαια σε αντίθεση με άλλες περιοχές SAM, αυτές που εντοπίζονται στις p63 και p73 δεν παίζουν ρόλο στον ομο- ή ετερο-διμερισμό (Chi et al., 1999), το οποίο σημαίνει ότι είναι σημαντικές για αλληλεπιδράσεις με άλλες, άγνωστες προς το παρόν πρωτεΐνες (Levrero et al, 2000).

Καθώς η p53 αποτελεί τον κύριο αναστολέα του κυτταρικού κύκλου, η δράση της πρέπει να ρυθμίζεται αυστηρά. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω διάφορων μηχανισμών που περιλαμβάνουν ρύθμιση της μεταγραφής και της μετάφρασης της p53, της πρωτεϊνικής σταθερότητας, του υποκυτταρικού εντοπισμού και της ενεργότητας (Woods and Vousden 2001).

A) Μεταγραφική ρύθμιση του γονιδίου p53.

Λόγω της μεγάλης σημασίας των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων στη δράση της p53, η μεταγραφική ρύθμιση του γονιδίου αυτού δεν έτυχε ευρείας προσοχής τα τελευταία χρόνια. Αυτό φυσικά δε σημαίνει ότι η ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου p53 είναι ασήμαντη. Αντίθετα, είχε παρατηρηθεί παλιότερα ότι τα επίπεδα του p53 mRNA αυξάνονται μετά από προσθήκη ορού (Reich and Levine, 1984). Αυτό πιθανά να οφείλεται στην παρουσία θέσεων πρόσδεσης παραγόντων του ορού στον p53 υποκινητή (Ginsberg et al, 1990), καθώς και στην ικανότητα του p53 γονιδίου να προσδένει την πρωτεΐνη c-Myc και να ενεργοποιείται η μεταγραφή του από περίσσεια c-Myc (Reisman et al, 1993). Βέβαια, εκ πρώτης άποψης η αύξηση του αντι-πολλαπλασιαστικού γονιδίου p53 από ορό και αναπτυξιακούς παράγοντες φαίνεται παράλογη. Εντούτοις, είναι απόλυτα φυσιολογική. Τα κύτταρα που πολλαπλασιάζονται με γρήγορο ρυθμό παρουσιάζουν αυξημένες πιθανότητες βλάβης του DNA και κατ' επέκταση ανάπτυξης εστιών καρκίνου. Υψηλά επίπεδα p53 mRNA στα κύτταρα αυτά, αυτόματα τα καθιστά σε ετοιμότητα. Εφόσον, δεν υπάρχουν βλάβες στο DNA η p53 παραμένει ανενεργή και δεν εμπλέκεται στις φυσιολογικές κυτταρικές διεργασίες. Αν, όμως, οι συνθήκες απαιτούν άμεση p53 απόκριση, τότε τα υψηλά επίπεδα p53 mRNA εξασφαλίζουν γρήγορη και αποτελεσματική απόκριση (Oren, 1999). Επίσης, έκθεση των κυττάρων σε σήματα που ενεργοποιούν την p53 είναι ικανά να οδηγήσουν σε ελάχιστο χρόνο σε αύξηση των επιπέδων της p53 πρωτεΐνης. Μέχρι ενός σημείου αυτό δικαιολογείται από αύξηση της μετάφρασης του p53 mRNA, αναστέλλοντας έναν μηχανισμό παρεμπόδισης της μετάφρασης (Fu et al, 1996). Υπάρχουν, επίσης, ενδείξεις ότι η p53 είναι ικανή να αναστέλλει την ίδια της τη σύνθεση, αλληλεπιδρώντας με το mRNA της (Mosner et al, 1995; Fontoura et al, (1997).

B) Μετα-μεταφραστικοί μηχανισμοί τροποποίησης της πρωτεΐνης p53.

Παρόλα αυτά, είναι γενικά αποδεκτό ότι η συσσώρευση ενεργής p53 ως απόκριση σε στρες οφείλεται, κυρίως, σε μετα-μεταφραστικούς μηχανισμούς. Ιδιαίτερα κρίσιμη είναι η αύξηση του χρόνου ημιζωής της p53 πρωτεΐνης. Η p53 έχει φυσιολογικά χρόνο ημιζωής περίπου 20 λεπτά (Rogel et al, 1985). Μετά από βλάβες στο DNA ή επίδραση παραγόντων που πιέζουν τα κύτταρα, η p53 εμφανίζει μια αξιοσημείωτη σταθερότητα (Kastan et

al, 1991; Maltzman and Czyzyk, 1984). Η γρήγορη αύξηση της συγκέντρωσης της p53 χωρίς να απαιτείται *de novo* σύνθεσή της, αποτελεί πλεονέκτημα για τα κύτταρα με σοβαρές βλάβες στο γένωμά τους. Επιπρόσθετα, συμβαίνει μια γρήγορη μετάβαση από την ανενεργή στην ενεργή μορφή. Η καλύτερα τεκμηριωμένη αλλαγή αφορά την ικανότητα πρόσδεσης της p53 σε συγκεκριμένες θέσεις του DNA. Η p53 αποτελεί ένα μεταγραφικό ενεργοποιητή συγκεκριμένων γονιδίων και η δράση της αυτή βασίζεται στην ικανότητά της να προσδένεται αποκλειστικά σε ειδικές θέσεις στους υποκινητές των γονιδίων στόχων (Hansen and Oren, 1997; Levine, 1997; Agarwal et al, 1998; Almog and Rotter, 1998; Prives and Hall, 1999). Η ειδική πρόσδεση της p53 στο DNA αποτελεί στόχο αρνητικής ρύθμισης, αρχικά μέσω της ανασταλτικής καρβοξυ-τερματικής περιοχής της ίδιας της p53 (Hupp et al, 1992; Bayle et al, 1995; Wolkowicz et al, 1995). Αναστολή αυτής της παρεμπόδισης οδηγεί σε αυξημένη πρόσδεση στο DNA (Hupp and Lane, 1995; Gu and Roeder, 1997; Waterman et al, 1998) και κατ' επέκταση αυξημένη βιολογική δραστηριότητα.

Η αύξηση στη μεταγραφική δραστηριότητα της p53 μπορεί να οφείλεται, επίσης, σε αλλαγές σε άλλες περιοχές, όπως είναι τροποποιήσεις στην αμινο-τερματική Περιοχή ενεργοποίησης, επιτρέποντας αποδοτικότερη στρατολόγηση παραγόντων της μεταγραφικής μηχανής (Lambert et al, 1998).

Τέλος, η ενεργοποίηση της p53 μπορεί να προϋποθέτει και αλλαγή στον υποκυτταρικό εντοπισμό της πρωτεΐνης. Πράγματι, ενώ η ανενεργή μορφή είναι κυτταροπλασματική, τουλάχιστον σε κάποιο μέρος του κυτταρικού κύκλου, μετά την επίδραση γενοτοξικών παραγόντων η p53 συσσωρεύεται στον πυρήνα (Shaulsky et al, 1990).

Πολλές ερευνητικές μελέτες έχουν γίνει για τον καθορισμό δεικτών και μεθόδων εκτίμησης της αυξητικής δραστηριότητας των νεοπλασμάτων, καθόσον σήμερα είναι παραδεκτό ότι ο ρυθμός ανάπτυξης ενός νεοπλάσματος αντικατοπτρίζει την βιολογική του συμπεριφορά (Lipponen και συν. 1991).

Μετά την ολοκλήρωση της μίτωσης τα θυγατρικά κύτταρα εισέρχονται στην φάση G1 (gap 1) στην οποία παραμένουν για χρονικό διάστημα κυμαινόμενο ανάλογα με το είδος του ιστού .

Στη συνέχεια τα κύτταρα προχωρούν στην φάση σύνθεσης του DNA (S φάση), κατά την οποία το γενετικό υλικό διπλασιάζεται. Ακολουθεί η φάση G2 (gap 2) πριν από την επόμενη κυτταρική διαίρεση.

G0 :Τα κύτταρα δεν έχουν μπει στον κυτταρικό κύκλο.

G1 :Τα κύτταρα έχουν μπει σε φάση πολλαπλασιασμού αλλά το περιεχόμενο G1 DNA σε αυτά είναι το ίδιο με εκείνο της φάσης G0.

S. :Τα κύτταρα συνθέτουν DNA, Το περιεχόμενο στα κύτταρα DNA είναι μεγαλύτερο εκείνων των φάσεων G0 και G1 και το μικρότερο των φάσεων G2 και M.

G2 :Τα κύτταρα έχουν ολοκληρώσει τη σύνθεση DNA αλλά δεν έχουν μπει στην φάση της μίτωσης. Το περιεχόμενο DNA στα κύτταρα είναι διπλάσιο εκείνου των φάσεων G0/G1.

M. :Ενεργώς διαιρούμενα κύτταρα. Το περιεχόμενο DNA είναι διπλάσιο της φάσης G1. Η φάση της μίτωσης είναι η βραχύτερη φάση του.

Το χρονικό διάστημα μεταξύ δύο μιτώσεων αποτελεί τον κυτταρικό κύκλο και η διάρκεια ποικίλλει εξαρτώμενη από την διάρκεια της φάσης G1. Η φάση S είναι δείκτης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μπορεί να εκτιμηθεί με τις εξής μεθόδους:

α) Σύνδεση θυμιδίνης

β) Πρόσληψη βρωμοδεοξουριδίνης (BrdU)

γ) Μέτρηση του ποσού DNA των κυττάρων με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής (flow cytometry-FCM)

δ) Ανοσοϊστοχημική έκφραση αντιγόνων κυτταρικού πολιτισμού.

ε) Αντιγόνα πολ/σμού: Τα αντιγόνα πολ/σμού εκφράζονται στον πυρήνα των κυττάρων σε συγκεκριμένες φάσεις του κυτ/κού κύκλου.

Τα περισσότερα μελετημένα αντιγόνα κυτταρ/κού πολ/σμού είναι το Ki-67 και το PCNA / Cyclin (πυρηνικό αντιγόνο κυτ/κού πολ/σμού / κυκλίνης (Masuda και συν 1992).

Το Ki-67 είναι μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο αναγνωρίζει ένα πυρηνικό αντιγόνο που εκφράζεται σε όλες τις φάσεις του κυτ/κού κύκλου πολ/μένων κυττάρων εκτός από τη φάση G0.

Η αντίγνευση του αντιγόνου επιτυγχάνεται σε νωπούς ιστούς και πρόσφατα και σε τομείς παραφίνης (αντιγόνο MIB-1) με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους.

Ο αριθμός των κυττάρων τα οποία εκφράζουν θετικότητα για το Ki-67 παριστά τον αριθμό των κυττάρων που πολλαπλασιάζονται. Το Ki-67 ανιχνεύτηκε σε φυσιολογικούς και παθολογικούς ανθρώπινους ιστούς και στα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος. Τα αποτελέσματα αξιολογούνται με ημιποσοτικό προσδιορισμό. Η έκφραση του Ki-67 αυξάνεται ανάλογα με τον βαθμό κακοήθειας. Ο αριθμός των κυττάρων τα οποία εκφράζουν θετικότητα για το Ki-67 παριστά τον αριθμό των κυττάρων που πολλαπλασιάζονται. Το Ki-67 ανιχνεύτηκε σε φυσιολογικούς και παθολογικούς ανθρώπινους ιστούς και στα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος. Τα αποτελέσματα αξιολογούνται με ημιποσοτικό προσδιορισμό. Η έκφραση του Ki-67 αυξάνεται ανάλογα με τον βαθμό κακοήθειας και το στάδιο των καρκινωμάτων. Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση του Ki-67 αποτελεί εύχρηστο δείκτη κυτ/κού πολ/σμού και εκτίμησης της επιθετικότητας των νεοπλασμάτων, αν και μερικοί ερευνητές εκφράζουν σκεπτικισμό για την απόλυτη αξία του ως προγνωστικού δείκτη.

Η σήμανση με το Ki-67/MIB1 προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες για το δείκτη πολλ/σμού πολλών νεοπλασματικών και μη-νεοπλασματικών βλαβών.

Μελέτες σε κακοήθεις όγκους συσχετίζουν τον υψηλό Ki-67 δείκτη με χαμηλή διαφοροποίηση και προχωρημένο στάδιο. Το επίπεδο έκφρασης του Ki-67/MIB1 βρέθηκε παραλληλο με το βαθμό διαφοροποίησης σε όγκους των οστών, πρωτοπαθή λεμφώματα του στομάχου και Non-Hodgkin λεμφώματα.(Scotlandi K. ,Nakamura S,Cancer 1995).

Επίσης μελετήθηκε η προγνωστική αξία του δείκτη Ki-67/MIB1 σε διάφορους τύπους νεοπλασμάτων. Χαμηλός δείκτης Ki-67/MIB1 σχετίζεται με μεγαλύτερη επιβίωση στα σαρκώματα μαλακών μορίων, καρκινώματα μαστού χωρίς λεμφαδενική διήθηση,ολγοδενδρογλοιώματα, καρκινώματα νεφρικού παρεγχύματος, ενώ σε καρκινώματα ενδομητρίου μπορεί να είναι προγνωστικός δείκτης για τον κίνδυνο υποτροπής (Choong PF, Akerman M, APMIS 1995),(Weikel W, Cancer Detect Prev 1995).

Πιθανόν η σήμανση με Ki-67 να βελτιώνει την προγνωστική ακρίβεια των συμβατικών μορφολογικών συστημάτων καθορισμού της διαφοροποίησης των νεοπλασιών αλλά και να αποτελεί επιπλέον προγνωστικό δείκτη για την έκβαση της νόσου σε σχέση με άλλες κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους. Ο κυτταρικός πολλ/σμός μπορεί να αποτελεί ένα επιπλέον εργαλείο για την πρόβλεψη της βιολογικής συμπεριφοράς των όγκων.

Το αντιγόνο PCNA κυκλίνη είναι πυρηνική πρωτεΐνη, η έκφραση της οποίας σχετίζεται με την φάση S του κυτταρικού κύκλου. Νεότερες μελέτες υποστηρίζουν ότι η PCNA /κυκλίνη εμφανίζει συσχέτιση με τους λοιπούς δείκτες κυτταρικού πολ/σμού και παρουσιάζει αυξημένη έκφραση σε καρκινώματα και συχνά συσχετίζεται με επιθετική βιολογική συμπεριφορά (Nakoroulou και συν. 1995).

Ο ΠΡΟΣΤΑΤΗΣ ΑΔΕΝΑΣ

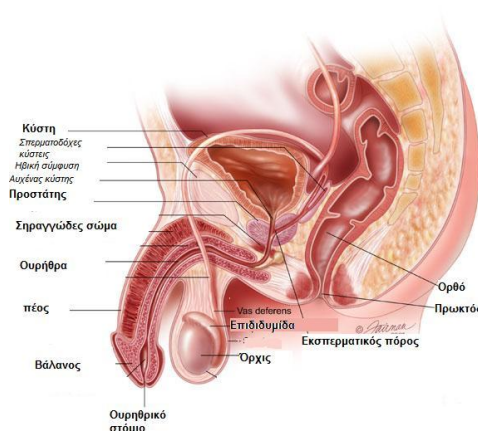
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Ο προστάτης αναπτύσσεται από πολλαπλές συμπαγείς προσεκβολές του ουρηθρικού επιθηλίου άνωθεν και κάτωθεν της εκβολής του πόρου του Wolff. Οι προσεκβολές αυτές αποκτούν αυλό και σχηματίζουν βαθμιαία το σωληναριακό σύστημα το οποίο περιβάλλεται από διαφοροποιημένα μεσεγχυματικά κύτταρα.

Κατά το τέλος της 11^{ης} εβδομάδος αρχίζουν να σχηματίζονται 5 ομάδες αδενίων, η πλήρη διαμόρφωση των οποίων επιτυγχάνεται κατά την 16^η εμβρυϊκή εβδομάδα. Με τον τρόπο αυτό σχηματίζονται οι πέντε εμβρυϊκοί προστατικοί λοβοί, ο πρόσθιος, ο οπίσθιος, ο μέσος και οι δυο πλάγιοι λοβοί. Αρχικά οι λοβοί αυτοί διαχωρίζονται σαφώς μεταξύ τους αργότερα όμως συγχωνεύονται πλήρως και δεν ανευρίσκονται ούτε διαχωριστικά διαφράγματα. Το μόνο που παραμένει σαν διαχωριστικό σημείο μετά την γέννηση και έχει κάποια κλινική σημασία είναι το γεγονός ότι τα σωληνάκια κάθε λοβού δεν αναμιγνύονται με τα σωληνάκια των παρακείμενων λοβών αλλά πορεύονται το ένα πλησίον του άλλου.

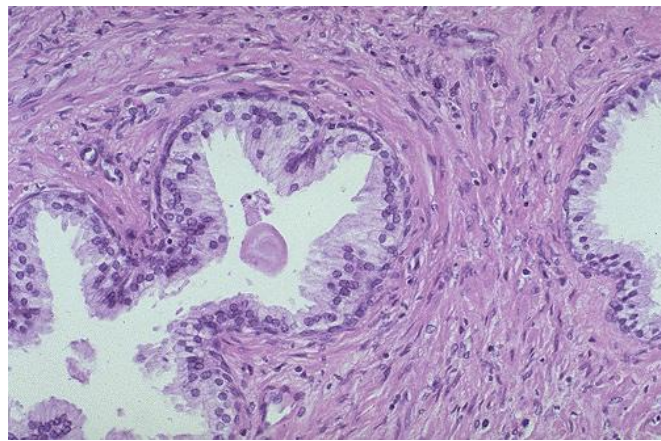
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Πάνω από δυο χιλιάδες χρόνια πριν, τον 3^ο π.Χ. Αιώνα, ο Ηρόφιλος, Έλληνας Ιατρός της Αλεξάνδρειας ανακάλυψε ένα μικρό αδένιο που «προΐστατο» της ουροδόχου κύστης και περιέβαλε την ουρήθρα. Ο προστάτης αποτελεί τον μεγαλύτερο επικουρικό αδένιο του γεννητικού συστήματος του άνδρα. Ανατομικά βρίσκεται κάτω από την ουροδόχο κύστη, πάνω από το ουρογεννητικό διάφραγμα, πίσω από την ηβική σύμφυση και μπροστά από το απευθυσμένο (Εικ.7).



Εικ.7 Στοιχεία ανατομίας προστάτη αδένιο

Περιβάλλει την οπίσθια ουρήθρα και διατιτραίνεται από τους εκσπερματικούς πόρους. Έχει μέγεθος και σχήμα κάστανου, με την βάση προς τα πάνω και τη κορυφή προς τα κάτω. Το βάρος ανέρχεται περίπου στα 20 γραμμάρια, περιβάλλεται δε από δικό του χιτώνα, την ινομυώδης κάψα η οποία είναι πλούσια σε λεία μυϊκά κύτταρα. Η κάψα αυτή στέλνει διαφράγματα, τα οποία διεισδύουν στον αδένα και τον χωρίζουν σε λοβούς. Έξω από την κάψα υπάρχει ινώδες έλυτρο, το οποίο αποτελεί μέρος της περισπλάχνιας πυελικής περιτονίας. Ο προστάτης εμφανίζει βάση, κορυφή, πρόσθια, οπίσθια και δύο πλάγιες επιφάνειες. Όσον αφορά στη δομή του, αποτελείται σε ποσοστό 50% - 70% από αδενικό ιστό και το υπόλοιπο 30% - 50% είναι ινομυϊκό στοιχείο. Αποτελείται, δηλαδή, από μια λοβωτή αδενική δομή, η οποία περιβάλλεται από πλούσιο ινομυώδες στρώμα, το οποίο με την σειρά του αποτελείται από λεία μυϊκά κύτταρα, ινοβλάστες και συνδετικό ιστό (Εικ.8).



Εικ 8. Μικροσκοπική απεικόνιση προστατικού αδενίου

Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει μια στενή βιολογική και δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ του στρώματος και του επιθηλίου του προστατικού αδένα. Οι προστατικοί αδένες εκβάλλουν σε κοινούς πόρους, σε 15 περίπου τμήματα στις πλευρές του σπερματικού λοφιδίου, στην προστατική μοίρα της ουρήθρας. Είναι διατεταγμένοι σε τρεις ομόκεντρες περιοχές και είναι τριών ειδών: βλεννογόνοι, υποβλεννογόνοι και κύριοι αδένες. Το επιθήλιο είναι συνήθως μονόστοιβο κυλινδρικό (κύριοι αδένες) ή ψευδοπολύστοιβο. Έχει μήκος 3,4 εκ., πλάτος 4,4 εκ. και πάχος 2,6 εκ. Η κλασική διαίρεση του προστάτη σε λοβούς είναι χρήσιμη για την κλινική εφαρμογή. Ο προστάτης διαιρείται ατελώς σε πέντε (5), δυσδιάκριτους στον ώριμο άρρενα, λοβούς:

Ο πρόσθιος λοβός ή ισθμός βρίσκεται μπροστά από την ουρήθρα και δεν έχει αδένες.

Ο μέσος λοβός έχει σφηνοειδές σχήμα και περιέχει πολλούς αδένες, ενώ βρίσκεται ανάμεσα στην ουρήθρα και τους εκσπερματικούς πόρους. Η άνω επιφάνειά του σχετίζεται με το κυστικό τρίγωνο. Ο οπίσθιος

λοβός βρίσκεται πίσω από την ουρήθρα και κάτω από τους εκσπερματικούς πόρους και περιέχει επίσης αδένες. Ο δεξιός και αριστερός πλάγιος λοβός βρίσκονται εκατέρωθεν της ουρήθρας και χωρίζονται ο ένας από τον άλλο με αβαθή κάθετη αύλακα της οπίσθιας επιφάνειας του προστάτη.

Οι πλάγιοι λοβοί περιέχουν πολλούς αδένες .

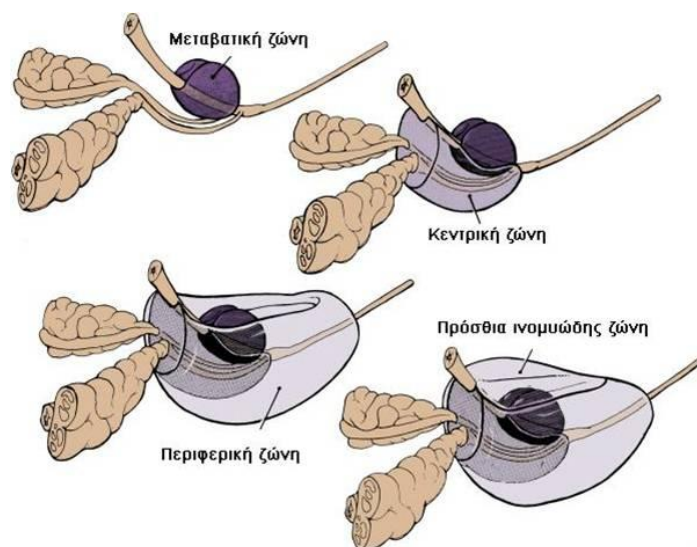
Κατά τον Mc Neal (1972) ο προστάτης αποτελείται από τρεις βασικές ζώνες. Την περιφερική που αποτελεί το 70% περίπου του όγκου του αδένα, την κεντρική η οποία αποτελεί περίπου το 20% και την μεταβατική ζώνη που αποτελεί το 5% του μεγέθους του οργάνου (Εικ.9)

Οι πόροι των αδένων της περιφερικής ζώνης εκβάλλουν στην ουρήθρα επί τα εκτός και κάτωθεν του σπερματικού λοφιδίου. Η ζώνη αυτή είναι η περιοχή προέλευσης του 65% - 70% των αδενοκαρκινωμάτων. Στην περιφερική ζώνη το συνδετικό υπόστρωμα είναι χαλαρότερο, το σύστημα των πόρων απλούστερο και οι σακκοειδείς σχηματισμοί με τα διαφράγματα λιγότερο αναπτυγμένοι.

Τα αδένια της κεντρικής ζώνης εκβάλλουν στην ουρήθρα πλαγίως και προς τη βάση του προστάτη.

Η κεντρική ζώνη περιέχει τους εκσπερματιστικούς πόρους και στη ζώνη αυτή δημιουργούνται συχνά φλεγμονές και ένα ποσοστό 10% - 15% των κακοηθών νεοπλασιών. Στην κεντρική ζώνη το συνδετικό υπόστρωμα είναι πυκνότερο, η διακλάδωση των πόρων πιο περίπλοκη, το επιθήλιο πιο τονισμένο και οι σακκοειδείς σχηματισμοί πιο μεγάλοι με προέχοντα ενδοαυλικά διαφράγματα.

Η μεταβατική ζώνη σχηματίζεται από τους δύο πλάγιους λοβούς του προστάτη, οι οποίοι μαζί με τους περιουρηθρικούς αδένες αποτελούν την κυρίως εστία ανάπτυξης της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη.



Εικ 9. Ανατομικές ζώνες του προστάτη κατά Mc Neal

Αγγεία και νεύρα : Ο προστάτης αγγειώνεται από κλάδους της κάτω κυστικής, της μέσης αιμορροϊδικής και της έσω αιδοϊκής αρτηρίας. Οι φλέβες εκβάλουν στα πλέγματα που βρίσκονται γύρω από τον προστάτη, κυρίως στο πλέγμα του Santorini, το οποίο βρίσκεται στον ηβοπροστατικό χώρο και σχηματίζεται από την ένωση των φλεβών του προστάτου και του πέους. Εκτός από τα ανωτέρω, οι φλέβες του προστάτη παρουσιάζουν ελεύθερες αναστομώσεις (πλέγμα του Batson) με τις φλέβες των λαγονίων οστών και των ιερών και οσφυϊκών σπονδύλων. Με τις αναστομώσεις αυτές μπορεί να εξηγηθεί η προτίμηση του καρκινώματος του προστάτη σε οστικές μεταστάσεις. Τα λεμφαγγεία του εκβάλλουν στα έσω λαγόνια λεμφαγγεία. Τα νεύρα προέρχονται από το πυελικό υπογάστριο πλέγμα και από σωματικές ίνες του 3^{ου} και 4^{ου} ιερού νεύρου.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Ο προστάτης είναι γνωστό ότι αποτελεί το μεγαλύτερο επικουρικό γεννητικό αδένα του άρρενος. Αναφέρετε ως όργανο ινομυώδες και συμβάλλει στον έλεγχο της ουροδόχου κύστης καθώς συμμετέχει στη διαδικασία της ούρησης, και ως αδένας με εξωκρινή λειτουργία. Οι εκφορητικοί πόροι των προστατικών αδενίων εκβάλουν στις παραλοφίδες αύλακες, στο οπίσθιο τοίχωμα της προστατικής ουρήθρας. Το προστατικό έκκριμα, ένα λεπτόρρευστο γαλακτοειδές υγρό, αποβάλλεται μέσα στην προστατική μοίρα της ουρήθρας με την σύσπαση των λείων μυϊκών ινών του προστάτη. Το προστατικό υγρό περιέχει αμυλάση, πρωτεολυτικά ένζυμα, λιπίδια, κιτρικό οξύ και όξινη φωσφατάση και αποτελεί περίπου το 20% του συνολικού όγκου του σπέρματος.

Το έκκριμα αυτό χρησιμεύει σαν διαλυτικό και μεταφορικό μέσο του σπέρματος, προστίθεται στο σπερματικό υγρό κατά την εκσπερμάτιση και όντας αλκαλικό εξουδετερώνει το όξινο περιβάλλον του κόλπου.

Ο αδένας είναι ορμονοεξαρτώμενος και υπόκειται στην επίδραση αφενός των ανδρογόνων αλλά και των οιστρογόνων του οργανισμού.

Ο φυσιολογικός προστάτης αναπτύσσεται και λειτουργεί σε ένα ορμονικό περιβάλλον, ανταποκρινόμενος σε μια πληθώρα ρυθμιστικών παραγόντων, σπουδαιότερος εκ των οποίων είναι τα ανδρογόνα. Η αύξηση, η ανάπτυξη, η ομοιοστάση και η λειτουργία του προστάτη εξαρτάται από τη συγκέντρωση της τεστοστερόνης στο πλάσμα. Η διαφοροποίηση του εμβρυϊκού προστάτη είναι αποτέλεσμα της απάντησης στην έκκριση ανδρογόνων από τους εμβρυϊκούς όρχεις.

Η χορήγηση τεστοστερόνης μπορεί να επιταχύνει την ανάπτυξη του ανώριμου προστάτη, ενώ ο ευνουχισμός πριν την εφηβεία δεν επιτρέπει την ανάπτυξη του αδένου - φαινόμενο αντιστρέψιμο με την εξωγενή χορήγηση τεστοστερόνης. Η τεστοστερόνη, η οποία αποτελεί το σημαντικότερο ανδρογόνο, προέρχεται από τους όρχεις, οι οποίοι συνθέτουν και εκκρίνουν το 95% της τεστοστερόνης που κυκλοφορεί στο πλάσμα. Η σύνθεση πραγματοποιείται στα κύτταρα του Leydig υπό τον έλεγχο της ωχρινότροπου ορμόνης (LH: Luteinizing Hormone) που οποία εκκρίνεται από την υπόφυση.

Η συγκέντρωση της τεστοστερόνης στις σπερματικές φλέβες είναι 75 φορές μεγαλύτερη από τη συγκέντρωση στο πλάσμα. Η έκκριση της LH ελέγχεται από τη LHRH (Luteinizing-Hormone Releasing Hormone), ένα δεκαπεπτίδιο το οποίο εκκρίνεται από τον υποθάλαμο κατά ώσεις. Η αλληλεπίδραση των ορμονών αυτών κατά μήκος του άξονα από τον υποθάλαμο μέχρι τα τελικώς παραγόμενα ανδρογόνα, ελέγχεται από ένα σύνθετο κύκλωμα αρνητικής παλίνδρομης δράσης (negative feedback control loop).

Τα επινεφρίδια παράγουν το υπόλοιπο 5% της κυκλοφορούσης τεστοστερόνης, είτε με άμεσο σχηματισμό, είτε εκ της περιφερικής μετατροπής των επινεφριδιακών C19 στεροειδών σε τεστοστερόνη στο λιπώδη ιστό. Η έκκριση των στεροειδών αυτών (DHEA, DHEA-S, ανδροστενεδιόνη), ελέγχεται από την έκκριση της ACTH.

Η τεστοστερόνη μεταφέρεται μέσα στο προστατικό κύτταρο, όπου μετατρέπεται σε 5Α – διϋδροτεστοστερόνη (DHT) υπό τη δράση του ενζύμου 5Α αναγωγάση, το οποίο βρίσκεται στη μεμβράνη του κυτταρικού πυρήνα. Η DHT παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια, σχεδόν πενταπλάσια, για τον ενδοκυτταρικό υποδοχέα ανδρογόνων συγκριτικά με την τεστοστερόνη. Έχει βρεθεί ότι ένα μικρό μέρος της DHT (<10%) προέρχεται από τη μετατροπή των επινεφριδιακών C19 στεροειδών υπό τη δράση των προστατικών ενζύμων, χωρίς όμως η φυσιολογική έκκριση των επινεφριδιακών αντιγόνων να μπορεί από μόνη της να υποστηρίξει τη λειτουργικότητα του προστάτη μετά από ευνουχισμό, ούτε να παρατηρείται αντιρροπιστική αύξηση στην έκκρισή τους.

Η DHT, προκειμένου να ασκήσει τη βιολογική δράση της, συνδέεται με την πυρηνική πρωτεΐνη του ανδρογονικού υποδοχέα (AR). Ακολούθως, το σύμπλεγμα DHT- AR υφίσταται διάφορες στερεοτακτικές τροποποιήσεις προκειμένου να συνδεθεί με συγκεκριμένες περιοχές του γονιδιώματος και να επάγει τη

διαδικασία της μεταγραφής και άρα της βιολογικής έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων, κάποιων που σχετίζονται με την έκκριση και προάγουν τη σύνθεση εκκριτικών πρωτεϊνών, και άλλων που σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και προάγουν τη σύνθεση ρυθμιστικών της ανάπτυξης παραγόντων (growth regulatory factors), ειδικών πεπτιδίων που απαιτούνται για την ανάπτυξη, την κυτταρική διαίρεση, τη διαφοροποίηση και τελικά την ομοιόσταση του προστάτη.

Τα οιστρογόνα διαδραματίζουν έναν εξίσου σημαντικό ρόλο στον προστάτη. Το μεγαλύτερο ποσοστό οιστρογόνων προέρχεται από τη μετατροπή της τεστοστερόνης και της ανδροστενεδιόνης σε οιστραδιόλη (E2) και οιστρόνη (E1). Η μετατροπή αυτή καταλύεται από το ενζυμικό σύστημα της αρωματάσης στο λιπώδη και μυϊκό ιστό. Τα οιστρογόνα φαίνεται να εμφανίζουν συνεργική δράση με τα ανδρογόνα στη ρύθμιση της ανάπτυξης του προστάτη.

ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΟΥ.

Η αύξηση του μέσου ορού ζωής τα τελευταία χρόνια έχει σαν αποτέλεσμα και την αύξηση των παθήσεων του προστάτη. Τα πιο συχνά νοσήματα που προσβάλλουν τον προστάτη κατά σειρά συχνότητας είναι η καλοήθης υπερτροφία του προστάτη (ΚΥΠ), ο καρκίνος του προστάτη και η οξεία και χρόνια προστατίτιδα. Η υπερπλασία του αδένου φαίνεται να υπάρχει στο 50% των ανδρών ηλικίας άνω των 60 ετών και στο 90% των ανδρών πάνω από 85 έτη. Είναι πιο συχνή σε αυτούς που καταναλώνουν γαλακτοκομικά σε σχέση με τους χορτοφάγους. Λαχανικά όπως η σόγια και τα παράγωγα της περιέχουν φυτό-οιστρογόνα τα οποία πιθανά μπορούν να προφυλάξουν από την ανάπτυξη της υπερτροφίας.

Η ΚΥΠ ευνοείται σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, αρτηριακή υπέρταση και καρδιαγγειακά νοσήματα. Έχει βρεθεί ότι υπάρχουν δύο φάσεις στην ανάπτυξη και εξέλιξη της προστατικής νόσου, μια αρχική κατά την διάρκεια της εφηβείας και μια άλλη φάση όπου η ανάπτυξη ακολουθεί βραδύτερους ρυθμούς.

ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΠΛΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ:

Περίπου στην ηλικία των 40 ετών, αναπτύσσονται στην μεταβατική ζώνη, γύρω από την ουρήθρα, μικροί όζοι που το μέγεθος τους ποικίλει από λίγα χιλιοστά μέχρι μερικά εκατοστά και αποτελούνται είτε από αδενικά είτε από ινομυϊκά στοιχεία (στρώμα). Η υπερπλασία του προστάτη αρχίζει γύρω από αυτούς τους όζους. Η αναλογία στρώματος και αδενικών στοιχείων ποικίλει από άτομο σε άτομο και αυτό μπορεί να εξηγήσει το γεγονός ότι υπάρχει μικρή συσχέτιση μεταξύ του προστατικού μεγέθους και της σοβαρότητας της ουρηθρικής απόφραξης. Στο στρώμα υπάρχει άλλοτε άλλη αναλογία λείων μυϊκών ινών οι οποίες νευρώνονται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα και ο τόνος τους υπόκεινται σε πολλές μεταβολές.

Μέχρι σήμερα τα αίτια ανάπτυξης των παθήσεων του προστάτη δεν είναι πλήρως κατανοητά. Δυο παράγοντες όμως είναι επιβεβαιωμένο ότι είναι απαραίτητοι για την εμφάνιση και διατήρηση της καλοήθους υπερτροφίας, η πάροδος της ηλικίας και η παρουσία ανδρογόνων. Από τις θεωρίες που έχουν διατυπωθεί οι επικρατέστερες είναι οι παρακάτω:

Πρώτη υπόθεση: Διαταραχή της σχέσης τεστοστερόνης και οιστρογόνων, καθώς και της σχέσης παραγόντων που διεγείρουν [epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF)] και αναστέλλουν την ανάπτυξη [transforming growth factor- β (TGF- β)]. Από τη μία πλευρά υπερεκφράζονται οι παράγοντες που διεγείρουν την ανάπτυξη, ενώ παράλληλα ελαττώνεται η έκφραση των ανασταλτικών της ανάπτυξης παραγόντων. Τα ανδρογόνα και τα οιστρογόνα δρώντας συνεργικά προωθούν την υπερπλασία του στρώματος. Ένας παράγοντας όπως ο FGF, ο οποίος εκκρίνεται από το στρώμα θα μπορούσε να ασκεί μια αυτοκρινή διεργετική επίδραση.

Δεύτερη υπόθεση: Η υπόθεση αυτή βασίζεται στην αλληλεπίδραση επιθηλίου –στρώματος, σύμφωνα με την οποία το στρώμα ευνοεί την ανάπτυξη του επιθηλίου. Το στρώμα αυξάνει στην υπερπλασία του προστάτη πολύ περισσότερο από το αδενικό στοιχείο και η σχέση επιθηλίου/ στρώματος από 1/2 σε υγιή προστατικό ιστό, στην υπερπλασία γίνεται 1/5. Τα κύτταρα στην καλοήγη υπερπλασία του προστάτη παραμένουν διαφοροποιημένα, παρόλο που έχει διαταραχθεί η διαδικασία φυσιολογικής ανάπτυξης τους.

Οι κυτταρικές αλλαγές που παρατηρούνται είναι αναστρέψιμες μετά από θεραπεία στέρησης ανδρογόνων.

ΧΡΟΝΙΑ ΚΑΙ ΟΞΕΙΑ ΠΡΟΣΤΑΤΙΤΙΔΑ

Η προστατίτιδα χαρακτηρίζεται από φλεγμονή του προστάτη και παρουσιάζεται με οξύ ή χρόνια άλγος στο περίνεο.

Μπορεί να διακριθεί σε τέσσερα κύρια σύνδρομα, την οξεία βακτηριακή προστατίτιδα, την χρόνια βακτηριακή προστατίτιδα, την χρόνια μη βακτηριακή προστατίτιδα και την προστατοδυνία.

Η προστατίτιδα κυρίως αφορά την περιφερική ζώνη του προστάτη και μερικές φορές συνοδεύεται από νέκρωση, αδενική ατροφία και σχηματισμό αποστημάτων. Η οξεία βακτηριακή προστατίτιδα συνήθως προκαλείται από Gram- αρνητικούς κόκκους όπως *Escherichia coli* και *pseudomonas aeruginosa* ενώ σπανιότερα από εντερόκοκκους όπως ο *streptococcus faecalis*.

Η χρόνια βακτηριακή προστατίτιδα οφείλεται σε ποικιλία μικροοργανισμών όπως *Escherichia coli* , *pseudomonas*, *klebsiella*, *mycoplasma*, *Chlamydia* και δεν προϋποθέτει στο ιστορικό του ασθενούς επεισοδίου οξείας προστατίτιδας.

Η ιστολογική εικόνα δείχνει λιγότερο φλεγμονώδη στοιχεία και περισσότερο εστιακές μεταβολές σε σχέση με την οξεία νόσο. Μερικές φορές υπάρχει διήθηση από πλασματοκύτταρα, μακροφάγα και λεμφοκύτταρα.

Στην χρόνια μη βακτηριακή προστατίτιδα δεν ανευρίσκεται μικρόβιο. Μπορεί να οφείλεται σε σπασμό ή σε αυξημένη πίεση στην περιφερική ουρήθρα ή στον έξω σφιγκτήρα με αποτέλεσμα την παλινδρόμηση των ούρων στα προστατικά σωληνάκια και δημιουργία αδενικής και διάμεσης φλεγμονής.

Για την υπερπλασία του προστάτη υπάρχουν δύο υποθέσεις:

Πρώτη υπόθεση: Διαταραχή της σχέσης τεστοστερόνης και οιστρογόνων, καθώς και της σχέσης παραγόντων που διεγείρουν [epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF)] και αναστέλλουν την ανάπτυξη [transforming growth factor-β (TGF-β)]. Από τη μία πλευρά υπερεκφράζονται οι παράγοντες που διεγείρουν την ανάπτυξη, ενώ παράλληλα ελαττώνεται η έκφραση των ανασταλτικών της ανάπτυξης παραγόντων. Τα ανδρογόνα και τα οιστρογόνα δρώντας συνεργικά προωθούν την υπερπλασία του στρώματος.

Ένας παράγοντας όπως ο FGF, ο οποίος εκκρίνεται από το στρώμα θα μπορούσε να ασκεί μια αυτοκρινή διεγερτική επίδραση.

Δεύτερη υπόθεση: Η υπόθεση αυτή βασίζεται στην αλληλεπίδραση επιθηλίου –στρώματος, σύμφωνα με την οποία το στρώμα ευνοεί την ανάπτυξη του επιθηλίου.

Το στρώμα αυξάνει στην υπερπλασία του προστάτη πολύ περισσότερο από το αδενικό στοιχείο και η σχέση επιθηλίου/ στρώματος από 1/2 σε υγιή προστατικό ιστό, στην υπερπλασία γίνεται 1/5.

Τα κύτταρα στην καλοήγη υπερπλασία του προστάτη παραμένουν διαφοροποιημένα, παρόλο που έχει διαταραχθεί η διαδικασία φυσιολογικής ανάπτυξης τους. Οι κυτταρικές αλλαγές που παρατηρούνται είναι αναστρέψιμες μετά από θεραπεία στέρισης ανδρογόνων. Επιπλέον διαταραχές της ρύθμισης της προστατικής ανάπτυξης με πλήρη κατάργηση του ελέγχου ανάπτυξης και αποδιαφοροποίηση των κυττάρων μπορούν να οδηγήσουν σε νεοπλασματική εξαλλαγή και καρκινογένεση.

Η ύπαρξη υπερπλασίας του προστάτη δεν συνοδεύεται πάντοτε από κλινικές εκδηλώσεις. Τα συμπτώματα, τα οποία χαρακτηρίζουν την κλασική υπερτροφία του προστάτη διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα αποφρακτικά και τα ερεθιστικά συμπτώματα.

Τα αποφρακτικά συμπτώματα είναι:

1. Καθυστέρηση της έναρξης της ούρησης
2. Επιμήκυνση του χρόνου της ούρησης
3. Ελάττωση της ακτίνας των ούρων
4. Διακεκομμένη ροή
5. Στάγδην αποβολή ούρων
6. Επίσχεση
7. Ακράτεια από υπερπλήρωση

Τα ερεθιστικά συμπτώματα είναι:

1. Συχνουρία
2. Επιτακτική ούρηση
3. Επιτακτική ακράτεια
4. Καύσος κατά την ούρηση
5. Υπερηβικό άλγος

ΠΡΟΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Ο McNeal περιέγραψε ότι το προστατικό καρκίνωμα μπορεί να εξελιχθεί σταδιακά μέσα από μια σειρά προκαρκινικών βλαβών, οι οποίες καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα 'ατυπίας', από την ήπια στην εκσεσημασμένη και σοβαρή μορφή της. Όλες οι αλλοιώσεις αποτελούν διαβαθμίσεις της επιθηλιακής υπερπλασίας των προστατικών αδένων και η πιθανότητα ανάπτυξης προστατικού καρκινώματος εξαρτάται άμεσα από το βαθμό ατυπίας της αρχικής βλάβης.

ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ

Ως πλακώδης μεταπλασία χαρακτηρίζεται η αντικατάσταση του φυσιολογικού κυλινδρικού επιθηλίου του προστατικού αδένα από πλακώδες επιθήλιο και παρατηρείται συνήθως γειτονικά σε προστατικά έμφρακτα ή μετά από θεραπεία με οιστρογόνα. Σε αντίθεση όμως με το πλακώδες καρκίνωμα του προστάτη, η πλακώδης μεταπλασία στερείται της κυτταρολογικής ατυπίας και αναπλασίας. Στην κεντρική μοίρα του προστάτη παρατηρείται και η μεταβατική μεταπλασία, η οποία χαρακτηρίζεται από αντικατάσταση του κυλινδρικού επιθηλίου του προστατικού αδένα από κυβοειδές ή μεταβατικό ουροθήλιο. Η μεταπλασία μπορεί να αποτελεί μηχανισμό προσαρμογής σε διάφορους παράγοντες και φαίνεται να οφείλεται σε επανενεργοποίηση αρχέγονων πολυδύναμων κυττάρων (stem cells), τα οποία βρίσκονται στο επιθήλιο και διαφοροποιούνται προς διαφορετική κατεύθυνση, σαν αποτέλεσμα της τροποποίησης των σημάτων που δέχεται το επιθήλιο από το κυτταρικό μικροπεριβάλλον και την εξωκυττάρια ουσία. Στην περίπτωση που το ερέθισμα, το οποίο επάγει τη μεταπλασία επιμένει, μπορεί να προκαλέσει και να καταλήξει στον κακοήθη μετασχηματισμό του μεταπλαστικού κυττάρου.

ΔΥΣΠΛΑΣΙΑ

Ως δυσπλασία, ή επιθηλιακή αναπλασία, χαρακτηρίζεται η απουσία διαφοροποίησης και θεωρείται

απαραίτητο στοιχείο του κακοήθου μετασχηματισμού. Οι δυσπλαστικές βλάβες στον προστάτη φέρουν τα παρακάτω χαρακτηριστικά: έναν ασυνήθη ή ‘άτυπο’ τρόπο πολλαπλασιασμού, μια κυτταρολογική ατυπία του επιθηλίου και μια απουσία αρχιτεκτονικής οργάνωσης της μορφολογικής μονάδας του αδενικού επιθηλίου και του στρώματος. Όταν οι δυσπλαστικές αλλοιώσεις αφορούν και καταλαμβάνουν όλο το πάχος του επιθηλίου θεωρούνται προδιηθητικό καρκίνωμα.

ΠΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΕΝΔΟΕΠΙΘΗΛΙΑΚΗ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑ (PIN)

Δύο καταστάσεις έχουν πλέον ταυτοποιηθεί ως προκαρκινικές: η προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (PIN) και η αδένωση ή άτυπη αδενωματώδης υπερπλασία.

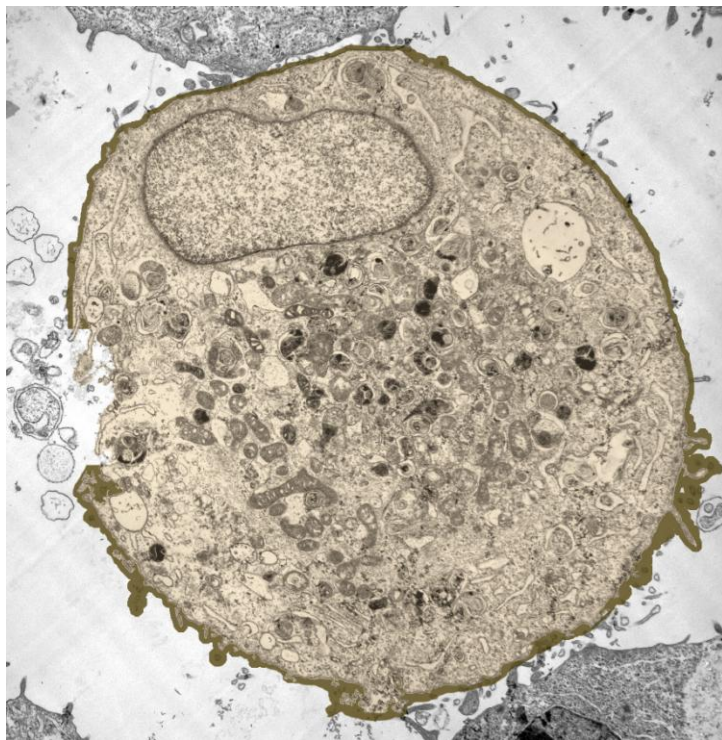
Η υψηλού βαθμού PIN θεωρείται πλέον πρόδρομη βλάβη του καρκίνου του προστάτη και οι ασθενείς με τέτοια ιστολογικά ευρήματα αποτελούν ιδανικούς υποψήφιους για πρωτόκολλα χημειοπροφύλαξης.

Οι βλάβες PIN χαρακτηρίζονται ιστολογικά από προοδευτική κατάτμηση της βασικής κυτταρικής μεμβράνης, απώλεια των δεικτών εκκριτικής διαφοροποίησης, ανωμαλίες στον πυρήνα και τον πυρηνίσκο, ενίσχυση του δυναμικού πολλαπλασιασμού, αύξηση της πυκνότητας της μικροαγγείωσης και ποικιλία στον πλοειδισμό. Ανάλογα με την αρχιτεκτονική διάταξη των κυττάρων του επιθηλίου, τη μορφή του πυρήνα, την περιεκτικότητά του σε χρωματίνη, την ύπαρξη ή όχι και το μέγεθος των πυρηνίων, υπάρχουν 3 βαθμοί PIN: PIN1, PIN2, PIN3. Το PIN3 ταυτίζεται με το καρκίνωμα *in situ*.

Η πεποίθηση ότι η προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία σχετίζεται με τον καρκίνο του προστάτη, προέρχεται από το γεγονός ότι έχουν παρόμοια αρχιτεκτονική και κυτταρική μορφολογία, αναπτύσσονται και οι δύο στην περιφερική ζώνη του προστάτη και προκαλούν αύξηση της τιμής του PSA στο αίμα. Ενίοτε η διάκριση μεταξύ αδενοκαρκινώματος του προστάτη και PIN III μπορεί να είναι δύσκολη· η ανοσοϊστοχημική χρώση με αντίσωμα για την κερατίνη χαμηλού μοριακού βάρους μπορεί να αναδείξει τη βασική κυτταρική μεμβράνη, η οποία διατηρείται σε βλάβες PIN, σε αντίθεση με τις καρκινικές βλάβες. Αλλοιώσεις συμβατές με PIN μπορούν να προηγούνται δεκαετία ή και περισσότερο της εμφάνισης αδενοκαρκινώματος, καθώς επίσης και να συνυπάρχουν με καρκινικές εστίες. Αλλοιώσεις τύπου PIN βρίσκονται στο 60 – 80% των περιπτώσεων προστατικού αδενοκαρκινώματος και στο 20 – 40% των περιπτώσεων καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη.

Η αδένωση διαφέρει σημαντικά από την PIN. Εκφράζει τον δυσπλαστικό αδενικό πολλαπλασιασμό με ηπίου βαθμού πυρηνικό πλειομορφισμό και/ ή ατυπία της αρχιτεκτονικής των προστατικών αδένων. Η αρχιτεκτονική αυτή διάταξη χαρακτηρίζεται ήπια, μέτρια έως και σοβαρή και προσομοιάζει, ορισμένες φορές, με καρκίνωμα προστάτη υψηλής διαφοροποίησης.

Σε αντίθεση με τους μονοκύτταρους οργανισμούς, οι οποίοι ανταγωνίζονται για την επιβίωση τους, τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού όπως το ανθρώπινο σώμα πρέπει να συνεργάζονται αρμονικά μεταξύ τους για να μπορέσουν να λειτουργήσουν σωστά. Σε ένα υγιή άνθρωπο, καθημερινά, εκατομμύρια κύτταρα διαιρούνται, πολλαπλασιάζονται και πεθαίνουν με το μηχανισμό της απόπτωσης. Νέα κύτταρα αντικαθιστούν αυτά που υφίστανται βλάβες και πεθαίνουν. Ο ασταμάτητος αυτός φυσιολογικός μηχανισμός επιτρέπει την επιδιόρθωση και την αναζωογόνηση των ιστών και των οργάνων του σώματος. Η πολύπλοκη, συνεχής λειτουργία του πολλαπλασιασμού και αντικατάστασης των κυττάρων, ελέγχεται πολύ αυστηρά από το γενετικό κώδικα του DNA που περιέχεται στον πυρήνα των κυττάρων. Όμως οποιαδήποτε αλλοίωση ή ζημιά που θα υποστεί το DNA, μπορεί να είναι η αιτία έναρξης της παθολογικής διαδικασίας του ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού καρκινικών κυττάρων. Με δεδομένο το ότι στα σωματικά κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού κανόνας είναι η αυτοθυσία των κυττάρων και όχι ο ανταγωνισμός μεταξύ τους, κάθε μετάλλαξη που προκαλεί μια “εγωιστική” συμπεριφορά ενός κυττάρου μπορεί να προκαλέσει την καταστροφή ολόκληρου του πληθυσμού.



Εικόνα 10. Καρκινικό κύτταρο

ΟΡΙΣΜΟΣ

Νεόπλασμα ονομάζεται μια μάζα κυττάρων τα οποία προέρχονται από τον ίδιο τον ανθρώπινο οργανισμό αλλά των οποίων η ανάπτυξη δεν διέπεται από τους κανόνες που ισχύουν για τα φυσιολογικά κύτταρα και συνεπάγεται διαταραχές στη δομή και λειτουργία του οργανισμού. Ο καρκίνος χαρακτηρίζεται από ένα ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό ανώμαλων κυττάρων. Τα παθολογικά κύτταρα, δεν υπακούουν στους νόμους ελέγχου, ανάπτυξης και θανάτου που ρυθμίζουν τη ζωή των φυσιολογικών κυττάρων του οργανισμού (Εικ.10)

ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ

Ογκογονίδια είναι τα γονίδια εκείνα των οποίων η δράση συνεισφέρει απευθείας στον καρκινικό φαινότυπο. Προέρχονται από φυσιολογικά κυτταρικά ή πρώτο-όγκογονίδια ιών . Όταν κάποιο από αυτά εξαλλαγεί μετατρέπεται σε ενεργοποιημένο ογκογονίδιο. Τα ογκογονίδια δρουν κατά τρόπο επικρατή δηλαδή η ενεργοποίηση ενός αλληλομόρφου αρκεί για την φαινοτυπική έκφραση της κακοήθειας. Ενεργοποιούνται ως επί το πλείστον στα σωματικά κύτταρα των νοσούντων. Η ενεργοποίηση τους αποτελεί επίκτητο εξαλλακτικό συμβάν. (Spandidos 1986)¹ . Την τελευταία δεκαετία έχει αυξηθεί σημαντικά η γνώση πάνω στην μοριακή βάση της καρκινογένεσης και της ρύθμισης της φυσιολογικής και νεοπλασματικής κυτταρικής ανάπτυξης. Επίκτητες ή συγγενείς μεταβολές των πρωτοογκογονιδίων (c-onc) που λειτουργούν ως ρυθμιστές της κυτταρικής ανάπτυξης και διαφοροποίησης θεωρούνται σημαντικά βήματα στην έναρξη και προαγωγή των νεοπλασμάτων ¹. Τα προϊόντα που κωδικοποιούνται από αυτά τα πρωτο-ογκογονίδια καλύπτουν ένα φάσμα κυτταρικών δραστηριοτήτων που περιλαμβάνουν την παραγωγή αυξητικών παραγόντων και υποδοχέων τους, μεταφορά σημάτων από την κυτταρική επιφάνεια μέσα στο κύτταρο και πυρηνικές πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την έκφραση του DNA. Στα κακοήθη κύτταρα μπορούν να ενεργοποιηθούν ορισμένα πρωτο-ογκογονίδια με σημειακή μετάλλαξη "point mutation" (αλλαγή σε μία βάση), με ενίσχυση 'amplification' (πολλαπλά αντίγραφα του γονιδίου), με διαμετάθεση 'translocation' (επαναδιάταξη χρωμοσωμάτων ή τμήματός τους που έχει σαν αποτέλεσμα ένα γονίδιο να τοποθετείται κάτω από διαφορετική ρυθμιστική ακολουθία από την φυσιολογική) και με εισαγωγή ακολουθίας ιών που μπορεί να μεταβάλλει την έκφραση του γονιδίου ή να αυξήσει την πιθανότητα μετάλλαξης. Οι ενεργοποιημένες μορφές όπως προαναφεραμε ονομάζονται ογκογονίδια (c*-onc) και η ενεργοποίησή τους έχει ως αποτέλεσμα την διαταραχή των μηχανισμών που ελέγχουν την φυσιολογική κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση οδηγώντας στην έκφραση του κακοήθους φαινότυπου². Η δεύτερη κατηγορία γονιδίων που έχει διαπιστωθεί να συμμετέχει στην ρύθμιση της φυσιολογικής και της νεοπλασματικής ανάπτυξης είναι τα

κατασταλτικά γονίδια των όγκων (tumor suppressor genes) . Η ακριβής φυσιολογική λειτουργία των περισσότερων ογκοκατασταλτικών γονιδίων δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως. Μερικά από αυτά φαίνεται να λειτουργούν ως ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου ελέγχοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα γονιδιακά τους προϊόντα απουσιάζουν ή αδρανοποιούνται στα καρκινικά κύτταρα. Η παρουσία τέτοιων γονιδίων είχε προταθεί από το 1970 όταν διαπιστώθηκε ότι η συγχώνευση κακοήθων με μη κακοήθη κύτταρα οδηγούσε σε καταστολή του κακοήθους φαινότυπου στις περισσότερες περιπτώσεις, με την προϋπόθεση ότι τα μη κακοήθη κύτταρα είχαν φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων. Ο κακοήθης φαινότυπος επαναμφανιζόταν όταν ειδικά χρωμοσώματα χάνονταν από το υβρίδιο. Ενίσχυση της υπόθεσης για την παρουσία των ογκοκατασταλτικών γονιδίων που εντοπίζονται σε συγκεκριμένα χρωμοσώματα έγινε με την εκτέλεση των ειδικών τεχνικών μελέτης του ανασυνδιασμένου DNA όπου περιγράφηκαν απώλειες φυσιολογικών αλληλίων σε διάφορα νεοπλάσματα. Η απώλεια αλληλίων, γονιδίων ή τμημάτων γονιδίων όπως φαίνεται στην restriction fragment length polymorphism analysis (RFLP) ονομάστηκε απώλεια της ετεροζυγωτίας³. Εκτός από την διαγραφή των αλληλίων αδρανοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων μπορεί να γίνει με σημειακή μετάλλαξη και επαναδιάταξη. Μία από τις πρώτες ομάδες ογκογονιδίων που διαπιστώθηκαν ήταν από τον ιό του σαρκώματος Kirsten και Harvey, που προκαλεί όγκους σε ποντικούς. Η περαιτέρω ανάλυση κατέταξε την οικογένεια των ras ικών ογκογονιδίων που διαπιστώθηκαν και σε ανθρώπινα γονίδια στα πρωτο-ογκογονίδια . Το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (Rb gene) ήταν το πρώτο ογκοκατασταλτικό γονίδιο που απομονώθηκε στο 13q χρωμόσωμα ³³. Κωδικοποιεί μια p110 KD πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη που αλληλεπιδρά με άλλες πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη στην G1/S φάση του κυτταρικού κύκλου και έχει κατασταλτική λειτουργία ³⁴ . Αδρανοποίηση του γονιδίου και αλλαγμένη έκφραση της πρωτεΐνης του συμβαίνει και στον καρκίνου του προστάτη και συνήθως συνοδεύει όγκους προχωρημένου σταδίου . Η σημασία της αδρανοποίησης του γονιδίου του Rb έχει ερευνηθεί σε διάφορες μελέτες. Έχει διαπιστωθεί σημαντικά μικρότερη επιβίωση επί διηθητικού καρκίνου στους ασθενείς με απουσία ή ετερογενή έκφραση της πρωτεΐνης του Rb συγκριτικά με αυτούς που είχαν θετική έκφραση. Η αλλαγμένη έκφραση της πρωτεΐνης ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης επιβίωσης σε μελέτες με πολυπαραγοντική ανάλυση όπου σχετιζόταν με τους καθιερωμένους προγνωστικούς παράγοντες. ^{37,38}. Το γονίδιο p53 που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17p λειτουργεί ως καταστολέας της ογκογένεσης του κυττάρου και ειδικότερα ως ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου και του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση). Η κύρια φυσιολογική δράση της πρωτεΐνης p53 (wild type MB 53 KD, 393 αμινοξέα, χρόνος ημίσειας ζωής 6-20 min) που κωδικοποιεί το γονίδιο είναι η αναστολή της εξέλιξης της κυτταρικής διαίρεσης από την φάση G1 στην φάση S, γεγονός που επιτρέπει στο κύτταρο να επιδιορθώνει τις βλάβες του γονιδιώματος του από εξωγενείς ή ενδογενείς παράγοντες. ³⁹ .

Η αδρανοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου γίνεται με σημειακή μετάλλαξη και/ή απώλεια του ετέρου φυσιολογικού αλληλίου (LOH). Η μεταλλαγμένη p53 πρωτεΐνη έχει πολύ μεγαλύτερο χρόνο ημισείας ζωής από την φυσιολογική και έτσι είναι δυνατή η ανοσοιστοχημική ανιχνεύσή της στους πυρήνες των κυττάρων. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ύπαρξη μεταλλάξεων του p53 όπως εκτιμώνται με τεχνικές μελέτης του ανασυνδυσμένου DNA (RFLP, SSCP) σχετίζονται με την ανοσοιστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης σε ποσοστό 90%⁴⁰. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις μεταλλάξεων χωρίς αυξημένη ανοσοιστοχημική έκφραση πυρηνικής πρωτεΐνης και περιπτώσεις ανοσοιστοχημικής έκφρασης χωρίς μετάλλαξη του γονιδίου⁴¹. Φαίνεται ότι προϊόντα ογκογονιδίων (όπως το MDM2, SV40, E6, T-antigen) μπορούν και συνδέονται μαζί της, αδρανοποιώντας την φυσιολογική πρωτεΐνη που δεν αποδομείται και αθροίζεται στους πυρήνες των κυττάρων. Έτσι λοιπόν η ογκοκατασταλτική της δράση εκτός από την μετάλλαξη μπορεί να παρακαμφθεί με σχηματισμό συμπλόκων της πρωτεΐνης με ικούς και κυτταρικούς ρυθμιστικούς παράγοντες και έτσι η ανοσοιστοχημεία να διαπιστώνει ένα λειτουργικά αδρανοποιημένο γονίδιο. Φαίνεται επίσης ότι η μετάλλαξη του γονιδίου της p53 συνοδεύεται από αυξημένη συχνότητα χρωμοσωμικών ανωμαλιών, ανωμαλιών του περιεχομένου σε DNA και αυξημένου κυτταρικού πολλαπλασιασμού.⁴² . Οι μεταλλάξεις του p53 γονιδίου και η αυξημένη πυρηνική άθροιση της p53 πρωτεΐνης είναι αρκετά συχνή στους όγκους του προστάτη. Είναι πρώιμο συμβάν στην εξέλιξη των διηθητικών όγκων και στο καρκίνωμα *in situ* ενώ είναι λιγότερο συχνή στους επιφανειακούς όγκους^{43,44}. Υπερέκφραση της πρωτεΐνης παρατηρείται συνήθως σε όγκους υψηλού σταδίου και grade⁴⁵. Ασθενείς με επιφανειακούς όγκους (T1) και ανοσοιστοχημική έκφραση μεταλλαγμένης p53 έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα επιδείνωσης της νόσου^{46,47,48} ενώ άλλοι ερευνητές διαπιστώνουν ότι το grade είναι πιο ισχυρός δείκτης προόδου στην επιφανειακή νόσο.⁴⁹ Αντίθετα στη διηθητική νόσο πολλές μελέτες με πολυπαραγοντική ανάλυση προγνωστικών παραγόντων έχουν δείξει ότι οι μεταλλάξεις του γονιδίου p53 και η πυρηνική έκφραση της πρωτεΐνης του αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της επιβίωσης και προτείνουν ότι οι ασθενείς που υποβάλλονται σε ριζική προστατεκτομή με θετική έκφραση χρειάζονται συμπληρωματική θεραπεία^{50,51}. Φαίνεται λοιπόν ότι η p53 είναι σημαντικός παράγοντας πρόγνωσης με δυνατότητα διαστρωμάτωσης των κακοήθων φαινοτύπων για την επιλογή της κατάλληλης θεραπείας. Το γονίδιο bcl-2 κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που εντοπίζεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη,⁵² ευρίσκεται στο 18q χρωμόσωμα και διαπιστώθηκε πρώτα σε λεμφώματα από μετάθεση t(14:18) που έχει ως αποτέλεσμα υπερπαραγωγή της πρωτεΐνης⁵³. Η πρωτεΐνη φυσιολογικά ανιχνεύεται στα πολυδύναμα κύτταρα των ιστών με μεγάλη αναγεννητικότητα, ενώ δεν εκφράζεται στα καλά διαφοροποιημένα κύτταρα. Η κυριότερη λειτουργία της είναι η αρνητική ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Η υπερέκφρασή της αναστέλλει ένα σημαντικό μηχανισμό προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου,

αποκλείοντας την wild type p53 από τον πυρήνα επιτρέποντας στα κύτταρα να συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται, προάγοντας πιθανώς την ογκογένεση⁵⁴.

ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΠΡΩΤΟ-ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΟΥ ΣΕ ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΟ

Τα πρωτο-ογκογονίδια έχουν σημασία στην ανάπτυξη και στη διαφοροποίηση των κυττάρων και αποκωδικοποιούν πρωτεΐνες για την σύνθεση των πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες αυτές λειτουργούν ως επαγωγείς μηνυμάτων (signal transducers), ως υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, ως πρωτεϊνικές κινάσες και ως ογκογονίδια με πυρηνική λειτουργία.

A).Επαγωγείς μηνυμάτων: Τα ογκογονίδια της οικογένειας *ras* κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη που λέγεται p21 (MB21000dl). Η πρωτεΐνη αυτή είναι ομόλογη σε δομή και λειτουργία με τις πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για τη μεταφορά και απόδοση ενός ερεθίσματος από το μεμβρανικό υποδοχέα στο εσωτερικό του κυττάρου. Η διαδικασία της μεταφοράς ενός μηνύματος δια μέσου της πλασματικής μεμβράνης ονομάζεται επαγωγή μηνύματος(signal trasduction) (Lewis Benjamin,1989).

B).Αυξητικοί παράγοντες:Το κυτταρικό ομόλογο του ογκογονιδίου *sis*, που βρέθηκε στον ιό ο οποίος προκαλεί σάρκωμα σε πθήκους, κωδικοποιεί τη μία από τις δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες που αποτελούν τον αυξητικό παράγοντα των αιμοπεταλίων(platelet derived growth factor PDGF). Ο PDGF εκκρίνεται φυσιολογικά από τα αιμοπετάλια και προκαλεί την διαίρεση των ινοβλαστών. Δεν είναι γνωστό ακόμη με ποιο τρόπο συμβάλλει στην καρκινογένεση *in vivo*.

Γ). Υποδοχείς αυξητικών παραγόντων και πρωτεϊνικές κινάσες:Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται τα περισσότερα από τα μέχρι σήμερα γνωστά ογκογονίδια. Τα προϊόντα των ογκογονιδίων αυτών είναι κινάσες και φωσφοκινάσες, οι οποίες προσθέτουν ή αφαιρούν φωσφορικές ρίζες από υπολειμματικά τμήματα τυροσίνης ή σερίνης-θρεονίνης. Η κατηγορία αυτή των ογκογονιδίων αναφέρεται ως οικογένεια *src*, γιατί όλες οι πρωτεΐνες της εμφανίζουν διαφόρου βαθμού αλληλουχία με το καταλυτικό τμήμα της τυροσίνης κινάσης του ογκογονιδίου *src* (Setton,1983). Τρία μέλη της ομάδας αυτής κωδικοποιούν υποδοχείς αυξητικών παραγόντων:το *c-erb B* κωδικοποιεί τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα(EGFR), το *c-fms*, τον *csf-1* υποδοχέα και το *c-kit* τον μεταλλαγμένο W. Επίσης δύο ακόμη μέλη το *c-neu* και το *c-ros* κωδικοποιούν πρωτεΐνες που έχουν τη χαρακτηριστική μεμβρανική δομή των υποδοχέων αυξητικών παραγόντων. Το ογκογονίδιο *c-erb-A* έχει βρεθεί ότι κωδικοποιεί υποδοχείς στεροειδών ορμονών(οιστρογόνων και θυρεοειδικών ορμονών). Αλλαγή στη δομή των παραπάνω υποδοχέων ή πρωτεϊνικών κινασών έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την καρκινογένεση.

Δ). Ογκογονίδια με πυρηνική λειτουργία:Τα ογκογονίδια της κατηγορίας αυτής κωδικοποιούν πρωτεΐνες οι οποίες κατανέμονται στον πυρήνα του κυττάρου και θεωρείται ότι ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση. Στην

ομάδα αυτή ανήκουν τα γονίδια myc (c-myc, N-myc, L-myc, fos, myb, jun, κ.α) Τα πρώτο-ογκογονίδια έχουν σημασία στην ανάπτυξη και στη διαφοροποίηση των κυττάρων και αποκωδικοποιούν πληροφορίες για τη σύνθεση πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες αυτές λειτουργούν ως επαγωγείς μηνυμάτων (signal transducers), ως υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, ως πρωτεϊνικές κινάσες και ως ογκογονίδια με πυρηνική λειτουργία.

Μεταλλάξεις-ανασυνδυασμός ή ενεργοποίηση των πρωτοογκογονιδίων, οδηγούν στο σχηματισμό των ογκογονιδίων. Τα ογκογονίδια είναι γονίδια των οποίων τα προϊόντα συμμετέχουν στην νεοπλασματική εξαλλαγή των φυσιολογικών κυττάρων.

Η έκφρασή τους επιδρά στον κυτταρικό μετασχηματισμό και οδηγεί σε καρκινική εκτροπή.(Perkins, and al.1993). Επίσης, κατά την καρκινογένεση, η υπερέκφραση των αυξητικών παραγόντων ή των υποδοχέων τους, ευνοεί την ταχεία ανάπτυξη των νεοπλασματικών κυττάρων, που δέχονται την επίδρασή τους.(Rajumarr, et al 1994).

ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι ομάδα γονιδίων που ελέγχουν και ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό της κυτταρικής ανάπτυξης. Συμμετέχουν σε ενδοκυτταρικές οδούς μετάδοσης πληροφοριών οι οποίες καθιστούν τα κύτταρα ικανά να αντιλαμβάνονται και να επεξεργάζονται σήματα αναστολής της αύξησής τους. Γνωστά ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι τα γονίδια rb και p53. Η πρωτεΐνη p53 σχετίζεται με τον κυτταρικό μηχανισμό επιδιόρθωσης του DNA και λειτουργεί σαν “επιστάτης” του γονιδιώματος (guardian of the genome). Επισημαίνει την παρουσία κατεστραμμένου DNA και αν η βλάβη δεν επιδέχεται επιδιόρθωση η p53 επάγει την απόπτωση των προσβεβλημένων κυττάρων. Αντιθέτως, εάν η βλάβη είναι περιορισμένη, τότε η p53 ανακόπτει την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και διατηρεί το κύτταρο σε φάση G₁, παρέχοντας στο μηχανισμό επιδιόρθωσης την ευκαιρία και τον χρόνο να λειτουργήσει.

ΓΟΝΙΔΙΑ ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΕΝΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ

Ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή απόπτωση ορίζεται ένας μηχανισμός «αυτοκτονίας των κυττάρων», ο οποίος θεωρείται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση σταθερού αριθμού κυττάρων, σε διάφορους ιστούς με μεγάλη κυτταρική ανανέωση όπως ο αιμοποιητικός ιστός. Στον άνθρωπο σημαντικότερο ρόλο στη ρύθμιση της απόπτωσης διαδραματίζει το πρωτοογκογονίδιο bcl-2 το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που εντοπίζεται, κυρίως, στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και φαίνεται ότι καταστέλλει τη διεργασία της απόπτωσης σε διάφορους ιστούς. Το bcl-2 αναγνωρίστηκε από τη μοριακή ανάλυση της μετάθεσης t που παρατηρείται στο 80-90% των περιπτώσεων οζώδους λεμφώματος. Αποτέλεσμα της συγκεκριμένης μετάθεσης είναι η υπερπαραγωγή της πρωτεΐνης Bcl-2. Κύτταρα στα οποία

υπερεκφράζεται η Bcl-2 ανθίστανται σε ποικίλα ερεθίσματα επαγωγής της απόπτωσης παραμένοντας σε φάση G₀ του κυτταρικού κύκλου. Η παρατεταμένη επιβίωση των κυττάρων συνοδεύεται από μεγαλύτερη πιθανότητα βλαβών σε άλλα γονίδια εμπλεκόμενα στην ογκογένεση, με αποτέλεσμα την εκδήλωση των νεοπλασματικών διεργασιών. Υπερέκφραση του γονιδίου, bcl-2 ανεξάρτητα από την παρουσία της μετάθεσης t , παρατηρείται σε διάφορες λευχαιμίες τόσο της μυελικής όσο και της λεμφικής σειράς και αντιπροσωπεύει μηχανισμό αντοχής στη χημειοθεραπεία. Άλλα γονίδια που συμμετέχουν στην απόπτωση εκτός του bcl-2 και p53 είναι τα bcl-x_L, mcl-1 και A₁ που αναστέλλουν την απόπτωση ενώ τα bcl-x_s, bax, bad, bak και bik την επάγουν.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΙ ΟΡΟΛΟΓΙΑ

Τον κυτταρικό θάνατο, κατά τη φυσιολογική ανάπτυξη των σπονδυλωτών και των ασπόνδυλων, περιέγραψε για πρώτη φορά ο Glucksmann το 1951 και αργότερα το 1966, ο Saunders. Το 1965, ο Kerr παρατήρησε το θάνατο των ηπατοκυττάρων, μετά από απολίνωση κλάδου της πυλαίας φλέβας. Στην αρχή, διέκρινε εστίες νέκρωσης, αλλά τις επόμενες εβδομάδες διαπίστωσε ότι διάσπαρτα μονήρη ηπατοκύτταρα ακολουθούσαν έναν άλλο τύπο κυτταρικού θανάτου και περιείχαν συρρικνωμένους πυρήνες από πυρηνικές μάζες, χωρίς ένδειξη ρήξης των λυσοσωμάτων ή στοιχεία φλεγμονής. Το 1971, ο ίδιος ερευνητής περιέγραψε το φαινόμενο, μετά από παρατηρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, και το αποκάλεσε «νέκρωση εκ συρρικνώσεως». Οι πυρηνικές μάζες αποδείχθηκε ότι είναι σωματίδια περιβαλλόμενα από μεμβράνη και ότι περιέχουν τμήματα συμπυκνωμένης χρωματίνης και κυτταροπλασματικά οργανίδια. Ίδιες μορφολογικές αλλοιώσεις περιγράφηκαν σε αρκετούς ζωικούς ιστούς, μετά από εφαρμογή συγκεκριμένων ερεθισμάτων. Το 1972, οι Kerr και Searle, εμπνευσμένοι από τους στίχους της Ιλιάδας, πρότειναν να ονομαστεί η εκλεκτική και προγραμματισμένη απομάκρυνση των κυττάρων από τον οργανισμό απόπτωση (apoptosis), «ως τα φύλλα που ο άνεμος χαμάδις χέει» και να τονιστεί ότι πρόκειται για ένα φαινόμενο αντίθετο της μίτωσης. Από τότε, ο όρος απόπτωση χρησιμοποιήθηκε πολλές φορές ως συνώνυμος του όρου προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος. Το καλύτερο σύστημα μελέτης της απόπτωσης θεωρείται μέχρι σήμερα αναμφίβολα, ο ερμαφρόδιτος νηματώδης σκόληκας *Caenorhabditis elegans*, μέχρι του σημείου να έχει θεωρηθεί ότι δημιουργήθηκε γι' αυτόν τον σκοπό (για να μελετηθεί δηλαδή σ' αυτόν η αποπτωτική διαδικασία).

ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΝΕΚΡΩΣΗ

Συνήθως η απόπτωση δεν είναι επακόλουθο βλάβης και συνεπώς διαφέρει από τη νέκρωση, η οποία είναι πάντοτε αποτέλεσμα βλαπτικής επίδρασης. Προσβάλλει κυρίως μονήρη κύτταρα ή μικρές ομάδες κυττάρων και, σε αντίθεση προς τη νέκρωση, παρουσιάζει ιδιαίτερα μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά. Θα

πρέπει να τονίσουμε όμως ότι με την ταχεία απομάκρυνση των κυτταρικών υπολειμμάτων αποφεύγεται κάθε φλεγμονώδης αντίδραση από το ανοσοποιητικό σύστημα. Υπενθυμίζεται ότι το DNA και τα άλλα στοιχεία του πυρήνα είναι ισχυρά ανοσογόνα και στα αυτοάνοσα νοσήματα ανιχνεύονται αντισώματα για παρόμοια μόρια. Η νέκρωση αντίθετα είναι μια παθητική, ανεξέλεγκτη μορφή κυτταρικού θανάτου, που προκαλείται μετά από τραυματισμό ή οξεία τοξική βλάβη. Προσβάλλει συνήθως ομάδες κυττάρων και χαρακτηρίζεται από απώλεια της ικανότητας μεταφοράς ιόντων, ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης, διόγκωση και διάσπαση του κυττάρου. Ακολουθείται από φλεγμονώδη αντίδραση και καταστροφή του ιστού που περιβάλλει τη νεκρωτική εστία. Ακόμα μια σημαντική διαφορά μεταξύ απόπτωσης και νέκρωσης είναι ότι, ενώ κάθε τοξική βλάβη οδηγεί αναπόφευκτα και ανεξάρτητα από άλλα ερεθίσματα σε νεκρωτικό κυτταρικό θάνατο, επειδή η απόπτωση είναι ενεργός κυτταρική διεργασία η ευαισθησία του κυττάρου, μετά την εφαρμογή του αποπτωτικού ερεθίσματος, εξαρτάται από ενδοκυττάριους και εξωκυττάριους παράγοντες. Με άλλα λόγια, ο ουδός επαγωγής της απόπτωσης καθορίζεται από την κατάσταση στην οποία βρίσκεται το κύτταρο. Τα φυσιολογικά κύτταρα είναι ανθεκτικά σε ορισμένα ερεθίσματα, όταν αυτά βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ τα παθολογικά κύτταρα παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία και στην ίδια συγκέντρωση ενεργοποιούν την αποπτωτική διεργασία.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Οι πρώτες ενδείξεις που χαρακτηρίζουν την απόπτωση είναι η απώλεια των μεσοκυττάρων συνδέσεων και των εξειδικευμένων δομών της κυτταρικής επιφάνειας και δημιουργία ακανόνιστων κυτταροπλασματικών προσεκβολών. Κατόπιν παρατηρείται πύκνωση της χρωματίνης μέσα στον πυρήνα σε καλά διαμορφωμένα τμήματα, σε ομοιόμορφες λεπτές μάζες χρωματίνης που ακουμπούν στην πυρηνική μεμβράνη, και η συμπύκνωση του κυτταροπλάσματος. Προοδευτικά η συμπύκνωση αυτή ακολουθείται από παραμόρφωση του σχήματος του πυρήνα και συστολή του κυττάρου, ενώ μέχρι το στάδιο αυτό, ο πυρήνας συχνά διασπάται δημιουργώντας ευδιάκριτα θραύσματα. Τα θραύσματα αυτά δημιουργούν, στη συνέχεια, προεξοχές στην κυτταρική μεμβράνη και τελικά απομακρύνονται από το κύτταρο δημιουργώντας σωματίδια διαφόρων μεγεθών, τα «αποπτωτικά σωματίδια». Αυτά περικλείουν συχνά εκτός από τα θραύσματα της χρωματίνης, και άθικτα κυτταρικά οργανίδια. Αναμφισβήτητα το χαρακτηριστικό της απόπτωσης είναι η θράυση του πυρήνα, ενώ τα κυτταρικά οργανίδια παραμένουν άθικτα. Η έκταση της θράυσης του πυρήνα και του κυττάρου ποικίλει ανάλογα με τη μορφολογία του κυττάρου και είναι ιδιαίτερα εμφανής σε κύτταρα με μεγάλη πυρηνοκυτταροπλασματική αναλογία. Δηλαδή όταν η κυτταροπλασματική μάζα των κυττάρων είναι μεγάλη παρατηρούνται προσεκβολές και, αν υπάρχουν μικρολάχνες εξαφανίζονται. Στον επιθηλιακό ιστό μάλιστα έχει περιγραφεί από κάποιους η λεγόμενη φάση της προσυμπύκνωσης, που μπορεί να διαρκέσει από λίγα λεπτά μέχρι αρκετές ώρες και ημέρες.

ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Όταν ολοκληρωθεί η φάση της προσυμπύκνωσης , και το κυτταρόπλασμα συρρικνωθεί, τα κύτταρα αποκολλώνται από τη βασική μεμβράνη και το δίκτυο του κυτταροσκελετού διασπάται. Με αυτόν τον τρόπο, το κύτταρο απομονώνεται από τα γειτονικά του κύτταρα. Τα περιπολούντα ή τα γειτονικά επιθηλιακά κύτταρα, στην περίπτωση του επιθηλιακού ιστού, φαγοκυτταρώνουν τα αποπτωτικά κύτταρα, εκτός αν πρόκειται για μονόστιβο επιθήλιο, οπότε αυτά αποπίπτουν στον αυλό. Η διάθεση των αποπτωτικών καταλοίπων δεν συνεπάγεται διακοπή της συνέχειας του υγιούς ιστού, δεδομένου ότι τα γειτονικά κύτταρα αναδιατάσσονται και γεφυρώνουν το κενό. Θα ήταν σωστό να διευκρινιστεί ότι ο ενεργός κυτταρικός θάνατος αποτελείται από τρεις επιμέρους περιπτώσεις , οι οποίες ακολουθούν. Πρώτον, η διεργασία της φαγοκυττάρωσης των αποπτωτικών κυττάρων αποκαλείται ετεροφαγία ή κυτταρικός θάνατος τύπου 1, επειδή τα αποπίπτοντα κύτταρα φαγοκυτταρώνονται από λυσοσώματα γειτονικών κυττάρων και όχι από τα δικά τους λυσοσώματα. Κατά την ανάπτυξη ορισμένων ιστών έχει παρατηρηθεί ότι όταν απομακρύνονται ορισμένες κυτταρικές ομάδες , η διάλυση των αποπτωτικών σωματίων γίνεται από λυσοσώματα που περιέχονται στα ίδια τα αποπτωτικά κύτταρα. Η διεργασία αυτή ονομάζεται αυτοφαγία ή κυτταρικός θάνατος τύπου 2. Τέλος, όταν η αποπτωτική διεργασία είναι μεγάλης έκτασης , όπως συμβαίνει στους ορμονοεξαρτώμενους ιστούς μετά από την απομάκρυνση του ορμονικού ερεθίσματος , εκτός από τα επιζώντα γειτονικά κύτταρα, συμμετέχουν στη φαγοκυττάρωση και τα μακροφάγα που εισβάλλουν στον εκφυλιζόμενο ιστό. Η περίπτωση αυτή χαρακτηρίζεται ως κυτταρικός θάνατος τύπου 3. Επειδή οι βιοχημικές μεταβολές που προηγούνται της τελικής φαγοκυττάρωσης είναι παρόμοιες και στις τρεις περιπτώσεις, όλες έχουν αποδοθεί με το γενικό όρο ενεργός κυτταρικός θάνατος.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΣΤΟΝ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΟ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Ο Προγραμματισμένος Κυτταρικός Θάνατος , που έχει ως αποτέλεσμα την προγραμματισμένη απομάκρυνση κυτταρικών πληθυσμών, και παρατηρείται κατά την ανάπτυξη του οργανισμού μπορεί να διακριθεί σε τρεις βασικές κατηγορίες :

Α) Το Μορφογενετικό Κυτταρικό Θάνατο : Πρόκειται για την απόσυρση κυττάρων που πλεονάζουν , όταν δημιουργείται το σχήμα των διαφόρων οργάνων. Με τον τρόπο αυτό γίνεται η αυλοποίηση του εντέρου και η αποκόλληση των σωληνωτών δομών από την κυτταρική στιβάδα προέλευσή τους , όπως συμβαίνει κατά

τη συγκλειαση των νευρικών πτυχών και τη δημιουργία του νευρικού σωλήνα , ο οποίος αποκολλάται από το εξώδερμα .

B) Ιστογενετικός Κυτταρικός Θάνατος : Αναφέρεται σε συνδυασμό με τις επαγωγικές αλληλεπιδράσεις κατά την κυτταρική διαφοροποίηση και παρατηρείται όταν αλλάζει ο φαινότυπος στα κύτταρα που σχηματίζουν έναν ιστό ή ένα όργανο, όπως συμβαίνει κατά την ανάπτυξη του μετανέφρου. Η επιθηλιακή ουρητηρική καταβολή επάγει τη μετατροπή των κυττάρων του μετανεφρικού μεσεγγύματος και τη διαφοροποίησή τους στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων. In vivo και in vitro, τα μεσεγγυματικά κύτταρα που περιβάλλουν τα νεφρικά σωληνάκια έχουν μορφολογικά χαρακτηριστικά αποπτωτικών κυττάρων . Αυτό σημαίνει ότι τα κύτταρα του μετανεφρικού μεσεγγύματος έχουν προγραμματιστεί να πεθάνουν , εκτός αν δεχτούν το επαγωγικό σήμα και διαφοροποιηθούν σε άλλο τύπο κυττάρου. Με οργανοτυπικές καλλιέργειες αποδείχθηκε ότι αν λείπει ο επαγωγικός ιστός , δηλαδή η ουρητηρική καταβολή , τα μεσεγγυματικά κύτταρα αποπίπτουν .

Γ) Φυλογενετικός Κυτταρικός Θάνατος : Παρατηρείται κατά την εκφύλιση των πρόσκαιρων εμβρυϊκών οργάνων και την απομάκρυνση των υπολλειμματικών δομών ή κυττάρων . Ως παραδείγματα αναφέρονται η απόπτωση των μεσεγγυματικών κυττάρων των βραγχιικών τόξων , η εκφύλιση του προνέφρου και του μεσονέφρου και η εξάλειψη της ουράς στο ανθρώπινο έμβρυο . Άρα όπως διαφαίνεται και από τα προηγούμενα , κατά την απόπτωση συμβαίνει απομάκρυνση ομάδων κυττάρων- διαδικασία φυσιολογική που συμβάλει στην ανάπτυξη του οργανισμού. Η διαφοροποίηση των αδένων του προστάτη, στο αρσενικό , από το μεσέγγυμα που περιβάλλει την ουρογεννητική οδό , πρωτοεμφανίζεται κατά τον 10η εβδομάδα της κύησης . Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο τμήμα της εργασίας , η ανάπτυξη του προστάτη εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις μεσεγγύματος και επιθηλίου , και την 5α- διυδροτεστοστερόνη, μεταβολίτη της εμβρυϊκής τεστοστερόνης, που παράγεται τοπικά .

Η ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΣΤΟΝ ΩΡΙΜΟ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Η ομοιόσταση στον ώριμο οργανισμό επιτυγχάνεται με δυναμική ισορροπία μεταξύ των διεργασιών του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και του κυτταρικού θανάτου . Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός εξαρτάται από αυξητικούς παράγοντες και ογκογονίδια , τα οποία ευνοούν την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου . Αντίθετα , τα ογκοκατασταλτικά γονίδια αναστέλλουν την δραστηριότητα των ογκογονιδίων , εμποδίζουν την ολοκλήρωση του κυτταρικού κύκλου και συνεπώς τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Ανάλογη πολλαπλή ρύθμιση παρατηρείται και κατά την απόπτωση . Εξωγενή και ενδογενή ερεθίσματα ενεργοποιούν τον αποπτωτικό μηχανισμό, με σκοπό την απομάκρυνση κυττάρων που διανύουν το στάδιο της τελικής διαφοροποίησης ή που έχουν επιζήσει μετά από κάποια γενετική βλάβη . Στον προστάτη

παρατηρείται καθημερινά απόπτωση στα κύτταρά του σε ποσοστό 2 % , ίσως λόγω υπερπαραγωγής ουσιών που σε μεγάλες ποσότητες δύναται να αποβούν βλαβερές για τον οργανισμό του ατόμου. Συγκεκριμένα υπάρχουν υπόνοιες ότι οι ουσίες αυτές είναι πρωτεάσες και πολυαμίνες . Στις εικόνες που ακολουθούν έρχεται η επιβεβαίωση του προηγούμενου ισχυρισμού, δηλαδή της εμφάνισης απόπτωσης ακόμα και στο φυσιολογικό ώριμο προστάτη, στον οποίο ως γνωστόν, επικρατεί κατάσταση ομοιόστασης . Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος TUNEL , μια τεχνική που συνδυάζει το βιοχημικό φαινόμενο του κερματισμού του DNA με τη μορφολογική παρατήρηση της απόπτωσης *in situ* . Η μέθοδος στηρίζεται στην ειδική σύνδεση του ενζύμου τελική δεσοξυνουκλεοτιδυλο τρανσφεράση [TdT (Terminal deoxynucleotidyl transferase)] με τα 3'-OH άκρα των θραυσμάτων του DNA και την ενσωμάτωση τριφωσφορικής δεσοξουριδίνης συνδεδεμένης με βιοτίνη (βιοτινυλιωμένη dUTP) στις εγκοπές του DNA . Η συμπυκνωμένη χρωματίνη στον πυρήνα των αποπτωτικών κυττάρων που περιέχουν κερματισμένο DNA , στο επιθήλιο που καλύπτει τους πόρους του προστάτη αδένου , χρωματίζεται ομοιόμορφα μέλαινα και η αντίδραση αναδεικνύεται μετά από χρώση των πυρήνων των παρακείμενων φυσιολογικών επιθηλιακών κυττάρων με πράσινο του μεθυλίου . Μάλιστα , όπως είχε αναφερθεί και στο αρχικό τμήμα , μερικά TUNEL θετικά κύτταρα αναγνωρίζονται επίσης μέσα στον αυλό , έχοντας αποκολληθεί από το επιθήλιο .

Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Καρκίνος του προστάτη: Εκτιμάται ότι ο καρκίνος του προστάτη είναι ο πιο συχνός στον αντρικό πληθυσμό. Υπολογίζεται ότι, κατά τη διάρκεια της ζωής του, ένας στους δέκα άντρες εμφανίζει αυτή τη μορφή όγκου. Με μελέτες απώλειας ετεροζυγωτίας και με κυτταρογενετικές μελέτες που εφαρμόστηκαν σε καρκινικά κύτταρα προστάτη, φαίνεται ότι η εμφάνιση της νόσου συνοδεύεται από έλλειμα της χρωμοσωμικής περιοχής 10q23-q25. Περίπου 40% των δειγμάτων δείχνει αυτό το έλλειμα. Έχει υποτεθεί ότι η περιοχή αυτή περιέχει ένα, ή περισσότερα, ογκοκατασταλτικά γονίδια.

Πιθανό υπονήφιο ογκοκατασταλτικό γονίδιο που ρυθμίζει αρνητικά τη δράση του Myc και Χαρτογραφείται στην περιοχή 10q25, θεωρήθηκε το Mxi1. Το προϊόν αυτού του γονιδίου ανήκει στην οικογένεια που τα μέλη της φέρουν το μοτίβο έλικα – στροφή – έλικα (Zervos SJ et al, 1993). Όμως μόνο ένας πολύ μικρός αριθμός δειγμάτων καρκίνων του προστάτη παρουσίασε μεταλλάξεις στο Mxi1, μόνο σε σωματικά κύτταρα (Gray IC et al, 1995, Kuczyk MA, 1998). Ένα τέτοιο μικρό ποσοστό μεταλλαγών στο συγκεκριμένο γονίδιο, πιθανώς, εξηγείται ως αποτέλεσμα των πολλαπλών διαιρέσεων που υφίστανται τα κύτταρα του όγκου και όχι σαν πρωταρχική αιτία της πορείας εξέλιξης αυτής της μορφής καρκινογένεσης.

Άλλο πιθανό ογκοκατασταλτικό γονίδιο κλωνοποιημένο πρόσφατα, ταυτόχρονα από δύο ομάδες, είναι το Pten / Mmac1. Σε κυτταρικές σειρές προερχόμενες από όγκο προστάτη και οι οποίες εμφάνιζαν απώλεια

του ενός αλληλομόρφου στην κρίσιμη περιοχή, ανιχνεύθηκαν μεταλλαγές του δεύτερου εναπομείναντος αλληλομόρφου (Li J et al, 1997, Steck et al, 1997).

Το γονίδιο χαρτογραφείται στη χρωμοσωμική περιοχή 10q23.3 και το προβλεπόμενο προϊόν του έχει ενεργότητα ενζύμου φωσφατάσης τυροσίνης και μεγάλη ομολογία με την τενσίνη, μία πρωτεΐνη που αλληλεπιδρά με τα ινίδια της ακτίνης. Η πιθανότητα της ογκοκατασταλτικής δράσης του βασίζεται στις δύο παραπάνω δομικές ομοιότητες που εμφανίζει η νουκλεοτιδική του αλληλουχία.

Επιπλέον, μεταλλαγές του Pten / Mmac1, ανιχνεύθηκαν στη γαμετική κυτταρική σειρά ατόμων και οικογενειών με σύνδρομο Cowden, ένα αυτοσωμικό επικρατές κληρονομήσιμο σύνδρομο, που χαρακτηρίζεται από ανάπτυξη αμαρτωμάτων (συγγενείς δυσπλασίες) σε διάφορους ιστούς και προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού, του θυρεοειδή και άλλων οργάνων (Nelen M.R et al 1997, Liaw D et al, 1997). Επιπλέον, μεταλλαγές του Pten / Mmac1 ανιχνεύθηκαν στη γαμετική κυτταρική σειρά ατόμων με τη νόσο Lhermitte- Duclos και το σύνδρομο Bannayan-Zonana (Eng C et al, 1994, Bannayan GA et al, 1971, Zonana J et al, 1976). Σωματικές μεταλλαγές του γονιδίου έχουν περιγραφεί, εκτός του καρκίνου του προστάτη (Li J et al, 1997), σε σποραδικές μορφές καρκίνου του θυρεοειδή (Dahia PL et al, 1997), του ενδομητρίου (Risinger J.I et al, 1997) και στο πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (Bostrom J et al, 1998, Wang SI et al, 1997). Γενικά φαίνεται ότι ο ρόλος του Pten / Mmac1 στην ανάπτυξη διαφόρων μορφών κακοήθειας στον άνθρωπο, είναι ευρύτερος.

Τελευταία, έγινε knockout του γονιδίου αυτού σε ποντίκι, που είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση θνησιμότητας στα εμβρυονικά στάδια ανάπτυξης (7,5 d.) στα ομόζυγα άτομα, στα δε ετερόζυγα, εμφάνιση συμπτωμάτων που χαρακτηρίζουν τις νόσους Lhermitte-Duclos, Bannayan-Zonana και Cowden (Cristofano A et al, 1998).

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί μείζον ιατροκοινωνικό πρόβλημα εξαιτίας της υψηλής του συχνότητας και της σημαντικής θνητότητας. Αποτελεί την πιο συχνή κακοήθεια και τη δεύτερη αιτία θανάτου από νεοπλασίες στον άνδρα μετά τον καρκίνο του πνεύμονα.

Στις ΗΠΑ αποτελεί τη συχνότερα διαγιγνωσκόμενη μορφή καρκίνου, αφού ανέρχεται στο 33% όλων των νεοδιαγνωσθέντων καρκίνων στους άνδρες. Στις ΗΠΑ το 1999 διεγνώσθησαν 165000 νέες περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη από τις οποίες 38000 αφορούσαν άνδρες ηλικίας μικρότερης των 65 ετών. Κατά το ίδιο έτος αναφέρθηκαν 41800 θάνατοι από την νόσο ενώ το επόμενο έτος ο αριθμός των νέων περιπτώσεων ανέβηκε στις 185000. Από αυτούς 31000 πέθαναν από την νόσο. Το 2002 189000 άνδρες διαγνώστηκαν με καρκίνο του προστάτη ενώ 30200 πέθαναν από την ασθένεια. (Harris and Lohr, 2002). Η αποτυχία στη

θεραπεία ασθενών με μεταστατική νόσο οδηγεί σε ένα θάνατο, σχετιζόμενο με καρκίνο του προστάτη, ανά 15 λεπτά. Ένας στους έξι αμερικανούς εμφανίζει πιθανότητα ανάπτυξης της νόσου (2002).

Οι αριθμοί αυτοί τοποθετούν τον καρκίνο του προστάτη στην δεύτερη θέση όσον αφορά την πιο συχνή αιτία θανάτου από νεοπλάσματα σε άνδρες ηλικίας μεγαλύτερης των 55 ετών. Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί τον πιο συχνό καρκίνο ανάμεσα στον ανδρικό πληθυσμό και στη Ευρώπη. Στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης η επίπτωση του κυμαίνεται μεταξύ 80-100/100.000 άρρενες ετησίως και αντιπροσωπεύει το 23,5% των καρκίνων ανάμεσα στον ανδρικό πληθυσμό των χωρών αυτών⁶. Με βάση τα στοιχεία αυτά ο καρκίνος του προστάτη κατατάσσεται στη δεύτερη θέση, όσον αφορά την συχνότητα εμφάνισης του, μετά τον καρκίνο του πνεύμονος⁴.

Ανά δεκαετία της ζωής η ποσοστιαία αναλογία όσον αφορά την συχνότητα της νόσου σχεδόν διπλασιάζεται και ενώ σε άνδρες ηλικίας 50 ετών η αναλογία αυτή είναι 10%, στην ηλικία των 80 ετών φθάνει το 70%. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο πληθυσμός των ανδρών των άνω των 65 ετών αναμένεται να αυξηθεί κατά περίπου 200% μέχρι το έτος 2020.

Η ηλικία με την μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης της νόσου είναι περίπου τα 70 έτη, με αποτέλεσμα ένα ποσοστό 50% των ασθενών να πεθαίνει από την ίδια τη νόσο, ενώ το υπόλοιπο 50% θα πεθάνει με τη νόσο σε κάποιο στάδιο εξέλιξης της από άλλη αιτία. Επιδημιολογικές μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει μεγάλη συσχέτιση του καρκίνου του προστάτη με τις διαιτητικές συνήθειες, το κάπνισμα, τα αφροδίσια νοσήματα, τις σεξουαλικές συνήθειες και την επαγγελματική δραστηριότητα⁹. Αντίθετα η αυξημένη τιμή της τεστοστερόνης του αίματος φαίνεται ότι αποτελεί ένα καθοριστικό παράγοντα για την εμφάνιση της νόσου¹⁰.

Υπάρχει ένα ευρύ φάσμα γεωγραφικών και φυλετικών διαφορών, όσον αφορά το δείκτη του κλινικά διαγνωσμένου καρκίνου του προστάτη, που κυμαίνεται από 0,8 ανά 100.000 κατοίκων στην Σαγκάη και φθάνει στο 100 ανά 100.000 στους μαύρους που ζουν στο Alamenta Country της California¹⁴. Ο υψηλότερος δείκτης εμφάνισης της νόσου παρατηρείται μεταξύ των μαύρων των ΗΠΑ, ακολουθούν οι λευκοί της Β. Αμερικής και έπονται οι Σκανδιναβοί¹⁹. Οι δείκτες συχνότητας του καρκίνου του προστάτη είναι σχετικά χαμηλοί στους κατοίκους των Ευρωπαϊκών χωρών, με μικρή υπεροχή των Δυτικών έναντι των Ανατολικών και Νοτίων χωρών της ηπείρου⁷. Στην Ελλάδα κατέχουμε μία από τις χαμηλότερες θέσεις σε σχέση με τις υπόλοιπες χώρες με θνητότητα που υπολογίζεται σε 8,7-12 /100.000 κατοίκους¹¹. Μεταξύ των ετών 1973 και 1989 η επίπτωση του καρκίνου της ΗΠΑ παρουσίασε μία συνεχιζόμενη αύξηση της τάξης των 2,7/100000 κατοίκους ανά έτος. Από το 1987 έως και το 1992 παρατηρήθηκε μία απότομη αύξηση της τάξης του 84% (από 102,9 σε 190,1/100000 κατοίκους), την οποία ακολούθησε μία απότομη μείωση της τάξης του 11% μεταξύ των ετών 1992 και 1993.

Αυτή η μείωση συνεχίστηκε και τα επόμενα έτη με αποτέλεσμα στα μέσα του 1997 να επανεκτιμηθεί η επίπτωση του προστατικού καρκίνου σε 210.000 νέες περιπτώσεις για το 1997, σε σχέση με τις αρχικές προβλέψεις όπου υπολογιζόταν άνω των 250.000 νέων περιπτώσεων για το συγκεκριμένο έτος. Το σημαντικότερο ήταν η διαπίστωση ότι το 1997 για πρώτη φορά στην ιστορία του καρκίνου του προστάτη, παρουσιάστηκε μία μείωση της θνητότητας εξαιτίας του στις ΗΠΑ, που υπολογίστηκε στο 1,2% ετησίως. Το παραπάνω αποδόθηκε πρωτίστως στη συστηματική χρήση του PSA σε προγράμματα συμπτωματικού ελέγχου και αποτελεί ένα έμμεσο στοιχείο με ιδιαίτερη βαρύτητα υπέρ της χρήσης του PSA στην πρόωμη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη^{12,19}.

Ο καρκίνος του προστάτη διακρίνεται στις παρακάτω μορφές:

Λανθάνων καρκίνος (latent carcinoma): Είναι ο καρκίνος εκείνος που ανακαλύπτεται σε νεκροτομική μελέτη σε ασθενή που δεν είχε συμπτώματα από τον προστάτη κατά τη διάρκεια της ζωής του. Το 1954 ο Franks ήταν ο πρώτος ο οποίος ανέδειξε το ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό λανθάνοντος προστατικού καρκίνου σε μεγάλη σειρά νεκροτομικού υλικού ασθενών οι οποίοι πέθαναν από άλλες αιτίες.

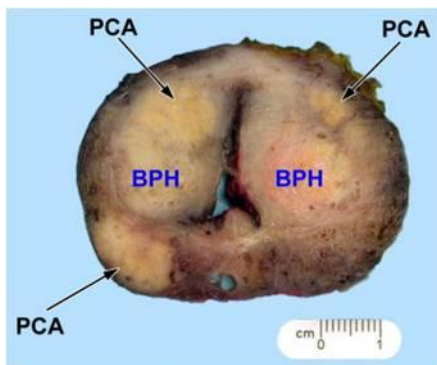
Τυχαίος καρκίνος (incidental carcinoma): Στο 6 – 20% των περιπτώσεων προστατεκτομής λόγω καλοήθους υπερτροφίας, ανευρίσκεται τυχαία στην παθολογοανατομική εξέταση καρκίνος.

Ο καρκίνος αυτός βρίσκεται συνήθως περιουρηθρικά και είναι καλά διαφοροποιημένος.

Κρυφός καρκίνος (occult carcinoma): Σε αυτή την κατηγορία ανήκει ο καρκίνος που προκαλεί μεταστάσεις στα οστά ή στους λεμφαδένες ή έχει προκαλέσει αύξηση της τιμής του PSA στο αίμα, χωρίς ο ασθενής να παρουσιάζει συμπτώματα από τον προστάτη.

Κλινικός καρκίνος (clinical carcinoma): Είναι ο καρκίνος που ανακαλύπτεται λόγω των συμπτωμάτων που εμφανίζονται από τον προστάτη.

Στο 95% των περιπτώσεων ο προστατικός καρκίνος είναι πολυεστιακό αδenoκαρκίνωμα που προέρχεται κυρίως από τα προστατικά επιθηλιακά κύτταρα κυρίως της περιφερικής ζώνης (70%), από τη μεταβατική ζώνη (20%) και από την κεντρική ζώνη (10%), (Εικ.11).



Εικ 11 .Ο προστατικός καρκίνος είναι πολυεστιακό αδενοκαρκίνωμα

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ- ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Πολλοί παράγοντες έχουν κατά καιρούς ενοχοποιηθεί για τον καρκίνο του προστάτη.

Οι κυριότεροι από αυτούς φαίνεται να είναι: η ηλικία – η επίπτωση του καρκίνου του προστάτη αυξάνεται με την ηλικία περισσότερο από οποιονδήποτε άλλον τύπο καρκίνου, το οικογενειακό ιστορικό σε 1ου βαθμού συγγενή με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη τέσσερις έως επτά φορές ανάλογα με την ηλικία εμφάνισης του καρκίνου στον πάσχοντα συγγενή, πιθανή σχέση με μεταλλάξεις στο γονίδιο HPC1 στο χρωμόσωμα 1 και στα γονίδια BRCA1 και 2 και η φυλή, οι εθνικές ομάδες. Είναι πιο συχνός στους έγχρωμους, στους Σκανδιναβούς, στους λευκούς άνδρες των ΗΠΑ και της Δυτικής Ευρώπης, ενώ λιγότερο συχνός στις πληθυσμιακές ομάδες στην Ασία και την Ιαπωνία [Pienta KJ, Esper PS, 1993].

Ως πιθανοί προδιαθεσικοί για τον καρκίνο του προστάτη παράγοντες προτείνονται η αυξημένη κατανάλωση ζωικού λίπους, η μειωμένη πρόσληψη λαχανικών παράλληλα με τη μειωμένη έκθεση στο ηλιακό φως, τη μειωμένη πρόσληψη βιταμίνης D και A και την επαγγελματική έκθεση σε κάδμιο. Πιθανολογείται ότι ο καρκίνος του προστάτη εμφανίζεται συχνότερα σε άνδρες με πρόωμη έναρξη της σεξουαλικής ζωής και με πολλαπλούς συντρόφους, γεγονός που καθιστά πιθανή και την συμμετοχή διαφόρων μικροβιακών παραγόντων στην αιτιοπαθογένεση του καρκίνου του προστάτη.

Λοιμώδεις παράγοντες όπως ο γονόκοκκος, ο ερπητοϊός 2 και διάφοροι RNA ιοί έχουν ενοχοποιηθεί ως πιθανοί προδιαθεσικοί παράγοντες για τον προστατικό καρκίνο. Τέλος, φαίνεται ότι οι προκαρκινικές βλάβες στον προστάτη, όπως η προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (PIN) και ένα ισχυρό ορμονικό/ ανδρογονικό περιβάλλον αυξάνουν σημαντικά την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη.

Ενδεικτικά, σε πληθυσμούς ανδρών με ψευδοερμαφροδιτισμό στους οποίους απουσιάζει το ένζυμο της 5α-αναγωγάσης δεν περιγράφονται περιστατικά καρκίνου του προστάτη.

Η μοριακή βάση του καρκίνου του προστάτη υπήρξε αινιγματική και αδιευκρίνιστη για δεκαετίες. Τα τελευταία χρόνια, όμως, χάρη στην εξέλιξη που έχει πραγματοποιηθεί στον τομέα της μοριακής βιολογίας,

έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό οι μηχανισμοί καρκινογένεσης τόσο στον καρκίνο του προστάτη όσο και σε άλλους καρκίνους. Στον καρκίνο του προστάτη έχει αναδειχθεί ο ρόλος αρκετών πρωτο-ογκογονιδίων, η ενεργοποίηση των οποίων επάγει την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των κυττάρων, προσδίνοντάς τους κακόηθες δυναμικό και συγκριτικό αναπτυξιακό πλεονέκτημα έναντι των φυσιολογικών κυττάρων [McKean-Cowdin R, et al, 2000].

Έχει καταστεί πλέον σαφές ότι η διαδικασία της καρκινογένεσης είναι πολυσταδιακή [Farber E, 1984], κατά την οποία το γονιδίωμα διαδοχικά εκτίθεται σε πολλαπλά αλληπάλληλα 'χτυπήματα'. Η νεοπλασματική εξαλλαγή ξεκινά όταν ένα φυσιολογικό προστατικό κύτταρο υποστεί το 1ο 'χτύπημα', δηλαδή κάποια βλάβη στο DNA. Το κύτταρο μπορεί: α) να καταστραφεί από τη βλάβη ή μέσω της διαδικασίας της απόπτωσης, β) να επιδιορθωθεί, γ) σπανιότερα να επιβιώσει μη επιδιορθωμένο και άρα δυσπλαστικό με ένα αναπτυξιακό πλεονέκτημα. Ένα κύτταρο- απόγονος υφίσταται ένα 2ο 'χτύπημα', με παρόμοιες επιπτώσεις και επιβίωση με σοβαρού βαθμού δυσπλασία. Μεταξύ των απογόνων ένα ή περισσότερα επιπλέον 'χτυπήματα' θα οδηγήσουν το προστατικό κύτταρο σε κακοήθη μετασχηματισμό, καθιστώντας το καρκινικό. Από επιδημιολογικές και στατιστικές αναλύσεις έχει υπολογιστεί ότι ο αριθμός των 'χτυπημάτων' στον καρκίνο του προστάτη κυμαίνεται από τέσσερα έως έξι για το λόγο αυτό καθυστερεί και η κλινική του εμφάνιση, παρέχοντας με τον τρόπο αυτό πολλά χρονικά περιθώρια έγκαιρης διάγνωσης και αποτελεσματικής παρέμβασης.

Η συσσώρευση σωματικών γονιδιακών βλαβών και η επακόλουθη γονιδιακή ετερογένεια χαρακτηρίζουν ίσως την παθογένεση σε μοριακό επίπεδο του αδενοκαρκινώματος του προστάτη.

Μοριακές μελέτες έχουν αποδώσει έναν σημαντικό προστατευτικό ρόλο στο ένζυμο GSTP1 (glutathione S-transferase π 1), το οποίο αποτελεί ένα μείζον ενδοκυττάριο αντιοξειδωτικό που προστατεύει το φυσιολογικό προστατικό κύτταρο από διάφορα καρκινογόνα, τα οποία επάγουν σωματικές μεταλλάξεις. Η υπερμεθυλίωση, η οποία οδηγεί σε μεταγραφική αποσιώπηση (silencing) του γονιδίου, έχει ανιχνευθεί στο γονιδίωμα όλων των καρκινωμάτων του προστάτη καθώς και στην πλειοψηφία των PIN βλαβών. Οι παραπάνω παρατηρήσεις καταδεικνύουν μια καινούρια μηχανιστική υπόθεση για την καρκινογένεση του προστάτη: τα φυσιολογικά προστατικά κύτταρα που χάνουν την προστατευτική λειτουργία του GSTP1 υφίστανται χρόνια ή επαναλαμβανόμενη γονιδιακή βλάβη, η οποία προάγει τον νεοπλασματικό μετασχηματισμό, ενώ τα ήδη νεοπλασματικά κύτταρα του προστάτη, που περιέχουν ανενεργά αλληλόμορφα του GSTP1, παραμένουν ευαίσθητα και ευάλωτα σε περαιτέρω, βλαβερά για το γονιδίωμα, ερεθίσματα, τα οποία προάγουν την εξέλιξη και επέκταση του καρκίνου.

Το μοντέλο αυτό της καρκινογένεσης του προστάτη προσφέρει αρκετά περιθώρια για θεραπευτική παρέμβαση έναντι στην απρόσκοπτη συσσώρευση σωματικών γονιδιακών βλαβών με εναλλακτικά σημεία-στόχους όπως: α) την αποκατάσταση της λειτουργικότητας του GSTP1 ενζύμου στα κύτταρα με αδρανή

αλληλόμορφα, β) την αναπλήρωση της υπολειπόμενης δραστηριότητας του ενζύμου στα προστατικά κύτταρα μέσω της χρήσης επαγωγέων της S- τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST) και γ) την ελάττωση, αν όχι την πλήρη εξαφάνιση, των περιβαλλοντικών στρεσογόνων ερεθισμάτων που ασκούν βλαπτική δράση πάνω στο γονιδίωμα.

Η υπόθεση της εμπλοκής των ορμονικών παραγόντων στην αιτιολογία του καρκίνου του προστάτη βασίστηκε στα εξής: α) στην ανακάλυψη των στεροειδικών ορμονικών υποδοχέων σε αδενοκαρκινώματα του προστάτη, β) στην επιτυχημένη θεραπεία της νόσου μετά από τη χορήγηση ορμονών και γ) στο γεγονός ότι είναι δυνατόν να «προκαλέσουμε» αδενοκαρκίνωμα του προστάτη σε πειραματόζωα μετά από παρατεταμένη χορήγηση ανδρικών γεννητικών ορμονών¹. Η σεξουαλική δραστηριότητα, η οποία αποτελεί ένα δείκτη ή μία έμμεση μέτρηση της ορμονικής κατάστασης ενός ατόμου, έχει συσχετισθεί με περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη. Πολλές έρευνες αναφέρουν σημαντικά αυξημένη συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου του προστάτη μεταξύ των συγγενών¹².

Το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του προστάτη αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη. Η ύπαρξη ενός πρώτου βαθμού συγγενούς (πατέρα ή αδερφού) με καρκίνο προστάτη διπλασιάζει τον κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθειας. στην περίπτωση που υπάρχει και πρώτου και δευτέρου βαθμού συγγένεια με ασθενή με κακοήθεια στον προστάτη τότε ο κίνδυνος αυξάνεται κατά 8.8 φορές (National Prostate Cancer Coalition, 2004). Προσπάθειες μεταξύ των ερευνών για να αποδειχθεί ο συσχετισμός μεταξύ των ομάδων αίματος και του καρκίνου κατέληξαν σε θετικά συμπεράσματα. Ο Jacobi³ βρήκε αυξημένη συχνότητα μεταξύ των ασθενών της ομάδος αίματος A, ενώ ο Wynter⁴ βρήκε αυξημένη εμφάνιση της νόσου και σε ασθενείς άλλων ομάδων αίματος.

Πολλοί ερευνητές έχουν προσπαθήσει να βρουν κάποια συσχέτιση μεταξύ κληρονομικότητας και καρκίνου του προστάτη. Από διάφορες μελέτες αποδεικνύεται ότι υπάρχει τουλάχιστον δύο φορές μεγαλύτερη πιθανότητα σε κάποιον άνδρα να αναπτύξει καρκίνο του προστάτη, αν ο πατέρας ή ο αδερφός του έπασχαν από την νόσο αυτή⁵. Εάν ένας άνδρας έχει περισσότερους από δύο συγγενείς πρώτου βαθμού, που πάσχουν από καρκίνο του προστάτη ο κίνδυνος να εμφανίσει και αυτός την νόσο είναι κατά εννέα φορές μεγαλύτερος⁶. Περίπου 25% των ανδρών με καρκίνο του προστάτη έχουν γνωστό οικογενειακό ιστορικό, αλλά 9% μόνο έχουν την κληρονομική μορφή της νόσου⁷.

Μια μεγάλη έρευνα στη Βαλτιμόρη των ΗΠΑ και στο Ούμεο της Σουηδίας αναφέρει την ανεύρεση της θέσης του πρώτου ειδικού γονιδίου που προδιαθέτει τους άνδρες να αναπτύξουν καρκίνο του προστάτη και η οποία βρίσκεται στο χρωμόσωμα I (HPC1). Το γονίδιο αυτό βρέθηκε στο 1/3 μελών οικογενειών με γνωστό κληρονομικό καρκίνο του προστάτη στην Β. Αμερική και Σουηδία⁷.

Στατιστικές μελέτες που έγιναν με σκοπό την κατανόηση των ποσοστών του καρκίνου του προστάτη σε όλο τον κόσμο, έχουν συσχετίσει την εμφάνιση του καρκίνου αυτού με λαούς που έχουν διαιτολόγιο

πλούσιο σε λιπαρές τροφές. Αυτό ερμηνεύεται από την αποδεδειγμένη συμμετοχή των λιπαρών ουσιών στον μεταβολισμό και σύσταση των ορμονών. Οι μελέτες αυτές αποδεικνύουν την μεγάλη συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ προστατικού καρκίνου και τροφών πλουσίων σε λιπαρές ουσίες. Είναι επίσης γνωστό και από την διεθνή βιβλιογραφία ότι υπάρχει αυξημένη συχνότητα και άλλων μορφών καρκίνου που επίσης, συνδέονται με διαιτητικούς παράγοντες, όπως ο καρκίνος του ορθού και ο καρκίνος του μαστού^{8,10}.

Η αλληλοεπίδραση των στεροειδών ορμονών με την καρκινογένεση δεν είναι πλήρως κατανοητή. Υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων ανδρογόνων σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη δεν έχουν ανιχνευθεί σε σταθερή βάση, ενώ άλλες ορμόνες, όπως οιστρογόνα και προλακτίνη μπορεί να παίζουν ασαφή ρόλο, προς το παρόν, στον μεταβολισμό του προστάτη¹¹. Έχει δειχθεί ότι μαύροι άνδρες νεαρής ηλικίας έχουν επίπεδα τεστοστερόνης, κατά 15% υψηλότερα από αντίστοιχα επίπεδα λευκών ανδρών. Η διαφορά αυτή θεωρείται αρκετή για να εξηγήσει την αυξημένη επίπτωση του καρκίνου του προστάτη στους άνδρες της μαύρης φυλής¹². Σε μία σχετική μελέτη, οι Αμερικανοί άνδρες είχαν διαφορετικά επίπεδα ενζύμων μεταβολισμού της τεστοστερόνης σε σχέση με Ιάπωνες άνδρες¹³. Είναι εμφανές, ότι οι ορμόνες παίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στον φυσιολογικό προστάτη όσο και στην καρκινογένεση αλλά κατά πόσο αποτελούν παράγοντα κινδύνου είναι προς το παρόν αδιευκρίνιστο^{14,15}.

Σε άλλες έρευνες, που μελέτησαν τη συσχέτιση ορισμένων ιχνοστοιχείων στη διατροφή και τη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, βρέθηκε άμεση σχέση μεταξύ της ύπαρξης αυξημένων ποσοτήτων ιχνοστοιχείων καδμίου και ψευδαργύρου και της θνησιμότητας από καρκίνο του προστάτη, καθώς επίσης και από καρκίνο της μήτρας, του παχέος εντέρου και του δέρματος⁸. Είναι γνωστό ότι τα επίπεδα του ψευδαργύρου στον νεοπλασματικό προστατικό ιστό είναι σημαντικά μειωμένα σε σχέση με το φυσιολογικό προστατικό επιθήλιο, ενώ είναι αυξημένο σε αδένες που παρουσιάζουν καλοήγη υπερπλασία. Τα δύο αυτά ευρήματα, δεν είναι εύκολο να ερμηνευθούν. Η ιδιότητα του καδμίου να ελέγχει την πυκνότητα του ψευδαργύρου μέσα στον προστατικό ιστό πιθανώς να αποτελεί και την ερμηνεία του φαινομένου^{17,18}.

Μελέτες που έγιναν μεταξύ εργατών που δούλευαν σε εργοστάσια καουτσούκ αναφέρουν αυξημένο αριθμό θανάτων από καρκίνο του προστάτη¹⁹. Άλλες μελέτες υποδηλώνουν το γεγονός ότι ο καρκίνος του προστάτη ίσως να οφείλεται στην μετάδοση ενός μολυσματικού μικροβιακού παράγοντα μεταδιδόμενου σεξουαλικά. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών αποδεικνύουν ότι υπάρχουν διάφορες παράμετροι σεξουαλικής δραστηριότητας όπως π.χ ιστορικό αφροδισίων παθήσεων, αριθμός ερωτικών συντρόφων, συχνότητα σεξουαλικών επαφών, οι οποίες σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη^{20,21}.

Ο καρκίνος του προστάτη σπάνια εμφανίζεται πριν την ηλικία των 45 ετών. Η συχνότητα και η θνησιμότητα της νόσου αυξάνουν με την πάροδο της ηλικίας με το μεγαλύτερο ποσοστό να παρουσιάζεται γύρω στην ηλικία των 70 ετών. Η θνησιμότητα ασθενών που η νόσος διεγνώσθη πριν την ηλικία των 55 είναι μεγάλη ενώ μειώνεται στην ηλικία των 80 ετών.

Ανάμεσα στις προκαρκινωμάτωδεις καταστάσεις του προστάτη, η προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (Prostate intra-epithelial neoplasia, PIN) συνοδεύεται από διάφορες μεταβολές της αρχιτεκτονικής των προστατικών κυττάρων που είναι ενδιάμεσες του καλοήθους και του κακοήθους προστάτη. Η PIN αποτελείται από δυσπλαστικές εστίες στα προστατικά σωληνάκια και εμφανίζεται στο 40% των ανδρών ηλικίας πάνω από 50 ετών που δεν έχουν προστατικό καρκίνο, στο 80% όμως των περιπτώσεων ανδρών με καρκίνο προστάτη.

Αν και η ακριβής αιτία του προστατικού καρκίνου δεν είναι γνωστή, πρόσφατες ανακαλύψεις την συνδέουν με μεταβολές στη γενετική κατασκευή των προστατικών κυττάρων. Οι αλληλεπιδράσεις στρώματος –επιθηλίου και οι αυξητικοί παράγοντες ίσως παίζουν κάποιο ρόλο στην παθογένεια του προστατικού καρκίνου. Οι πιο πάνω τοπικοί ρυθμιστικοί παράγοντες εμπλέκονται σε μια λεπτή ισορροπία, όχι μόνο της κυτταρικής ανάπτυξης αλλά και του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Οι αυξητικοί παράγοντες από τα κύτταρα στόχους αλλά και από τα παρακείμενα κύτταρα, μπορούν να προκαλέσουν μια σημαντική διαταραχή της ισορροπίας που αν είναι παρατεταμένη μπορεί να αποτελέσει το πρώτο βήμα στη γένεση διαφόρων μηχανισμών που προκαλούν τον καρκίνο του προστάτη. Είναι σαφές ότι τα ανδρογόνα δίνουν το αρχικό σήμα για την σύνθεση του DNA και την κυτταρική διαίρεση μέσα στον προστάτη. Αυτό προκαλείται μέσω ενός σύνθετου μηχανισμού και συμβαίνει όχι μόνο στο φυσιολογικό προστάτη, αλλά στην ΚΥΠ και στον καρκίνο. Το σήμα δίνεται μέσω διαφόρων αυξητικών παραγόντων που διεγείρουν την αύξηση και τη διαφοροποίηση των προστατικών επιθηλιακών κυττάρων, αλλά μερικές φορές δρουν σαν τροχοπέδη στην παραπέρα ανάπτυξη.

Διέγερση των πρώτο-ογκογονιδίων : Τα πρώτο-Ογκογονίδια είναι φυσιολογικά γονίδια τα οποία είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση της αύξησης και της διαφοροποίησης των κυττάρων. Αυτή η φυσιολογική δραστηριότητα επηρεάζεται κυρίως από τους αυξητικούς παράγοντες και από τους γειτονικούς ιστούς. Τα γειτονικά φυσιολογικά κύτταρα εξασκούν περιοριστική δράση στην ανάπτυξη μη φυσιολογικών κυττάρων στον προστάτη. Η καρκινογένεση πιθανόν να αναπτύσσεται όταν δεν υπάρχει ο πιο πάνω περιορισμός. Αυτό μπορεί να συμβεί όταν αναπτύσσονται ογκογονίδια σαν αποτέλεσμα μεταβολών των φυσιολογικών πρώτο-ογκογονιδίων. Ανώμαλη ενδοκυττάρια συμπεριφορά προκαλείται από την ενεργοποίηση των ογκογονιδίων, είτε λόγω μεταβολής της δραστηριότητας, είτε λόγω μεταβολής του χαρακτήρα των κατασταλτικών γονιδίων του όγκου.

Οι κακοήθεις αλλαγές απαιτούν τη συνύπαρξη ανωμαλιών σε περισσότερα από ένα ογκογονίδια, για παράδειγμα τα C-ras και C-Myc. Η σύγχρονη δραστηριότητα αυτών των ογκογονιδίων μπορεί να ακυρώσει την ανασταλτική ιδιότητα των γειτονικών κυττάρων και να επιτρέψει την ανάπτυξη του όγκου.

Διαγραφή των κατασταλτικών γονιδίων του όγκου: Τα φυσιολογικά κύτταρα περιέχουν γονίδια, που προφυλάσσουν το άτομο από τον καρκίνο, όπως τα γονίδια p53 και το Rb. Είναι γνωστό πως η απώλεια αυτών των γονιδίων μπορεί να προκαλέσει καρκίνο και φαίνεται πως στον καρκίνο του προστάτη που εμφανίζεται σε νεότερα άτομα, πιθανόν να υπάρχει διαγραφή των ειδικών αυτών γονιδίων. Γίνονται πολλές μελέτες για τη διερεύνηση των συνθηκών που απαιτούνται για την εξέλιξη και την πρόοδο του προστατικού καρκίνου.

Η ανάπτυξη νέων τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων (αγγειογένεση) θα μπορούσε να είναι ένα από τα πρώτα βήματα στην εξέλιξη του όγκου και θα μπορούσε να προκληθεί από την παθολογική έκφραση του όγκου και των αυξητικών παραγόντων, για παράδειγμα του FGF. Η μετέπειτα ανάπτυξη του όγκου και οι ενδεχόμενες μεταστάσεις πιθανόν να οφείλονται στο γεγονός ότι τα κακοήθη κύτταρα εμφανίζουν μικρότερη προσκολλητικότητα από ότι τα φυσιολογικά. Οι καντχερίνες είναι γλυκοπρωτείνες της κυτταρικής μεμβράνης που είναι απαραίτητες για την κυτταρική προσκόλληση. Μεταβολές στο γονίδιο που ελέγχει τις καντχερίνες θα μπορούσε να προκαλέσει μεταβολές στην πρόοδο του όγκου και τις μεταστάσεις.

Η επέκταση του όγκου στον εξωκυττάριο χώρο είναι πιθανόν αποτέλεσμα μιας σύνθετης μεταβολής στην οποία εμπλέκονται οι ιντεγκρίνες (ενδιάμεσα μεταξύ των κακοηθών κυττάρων και των προσκολλητικών πρωτεϊνών του εξωκυττάριου χώρου και η φιβρονεκτίνη (η οποία, αποτελεί ένα σημαντικό τμήμα της βασικής μεμβράνης). Αν τα κακοήθη κύτταρα έλθουν σε επαφή, με τη συμβολή των ιντεγκρινών, με το μεταβληθέν μόριο της φιβρονεκτίνης, πιθανόν να υπάρξει εξέλιξη της νόσου.

Οι μιτογενετικές κυτοκίνες είναι παράγοντες που έχουν σχέση με τη μετακίνηση των κυττάρων και αν απορυθμίσουν το φυσιολογικό μηχανισμό της κυτταρικής μετανάστευσης μπορεί να προκαλέσουν μετανάστευση και μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Δεν έχει όμως αποδειχθεί ακόμη ότι τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν τέτοιους παράγοντες. Η γενετική αστάθεια πιθανόν να επιτρέπει την ανάπτυξη ποικιλίας κυττάρων με διάφορο βαθμό ανδρογονοευαισθησίας, μεταβολές που έχουν σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη ανδρογονοάντοχων κυττάρων και το θάνατο των ανδρογονοευαίσθητων.

ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

Εκτός από τα αδενοκαρκίνωμα υπάρχουν και άλλες ιστοπαθολογικές μορφές καρκίνου του προστάτη, οι οποίες συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Είδη προστατικού καρκίνου

A) Προερχόμενα από το επιθήλιο

- 1) Αδενοκαρκίνωμα
- 2) Καρκίνωμα από μεταβατικό επιθήλιο (κακή πρόγνωση)
- 3) Νευροενδοκρινικό καρκίνωμα (μικροκυτταρικό)

B) Προερχόμενα από το στρώμα

- 1) Ραβδομυοσάρκωμα
- 2) Λειομυοσάρκωμα

Γ) Δευτεροπαθή

- 1) Διήθηση από τη ουροδόχο κύστη
- 2) Διήθηση από το παχύ έντερο (σπάνια)
- 3) Μεταστατικό από άλλο όργανο (π.χ. πνεύμονας, μελάνωμα)
- 4) Λέμφωμα

Όπως συμβαίνει σε όλους τους καρκίνους, η οριστική διάγνωση του καρκίνου του προστάτη βασίζεται στα ιστολογικά ευρήματα. Ιστοπαθολογικά ο προστάτης θεωρείται 'δύσκολος' ιστός για διάφορους λόγους όπως η μεγάλη του ποικιλομορφία και οι φυσιολογικές του παραλλαγές, οι αλλαγές που σχετίζονται με συχνότατα ευρήματα, όπως με στοιχεία χρόνιας φλεγμονής και οι επιδράσεις που υφίσταται ο ιστός από τις αλλαγές στο ορμονικό περιβάλλον [Kumar V, et al, 1992].

Γενικά τα περισσότερα αδενοκαρκινώματα του προστάτη μικροσκοπικώς αποτελούνται από επιθηλιακά κύτταρα σε ποικίλους βαθμούς αδενικής αρχιτεκτονικής. Το παθολογικό υπέρ της κακοήθειας ιστοπαθολογικό εύρημα είναι η εξαφάνιση της τυπικής αρχιτεκτονικής δομής της διπλής στιβάδας λόγω της απώλειας της βασικής στιβάδας, η οποία μπορεί να επιβεβαιωθεί και ανοσοϊστοχημικά. Ένα από τα εξίσου χαρακτηριστικά στοιχεία του νεοπλασματικού προστατικού ιστού είναι η ανεύρεση αδενίων 'πλάτη με πλάτη' ('back to back') με την παρεμβολή ελάχιστου στρώματος.

ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ

Εκτός από την ιστοπαθολογική μορφή, σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την πρόγνωση και τη θεραπεία του προστατικού καρκίνου, είναι ο βαθμός διαφοροποίησης (κυρίως του αδενοκαρκινώματος που αποτελεί τη συχνότερη μορφή νεοπλασίας του προστάτη). Το πλέον διαδεδομένο σύστημα αξιολόγησης της

διαφοροποίησης του προστατικού αδενοκαρκινώματος είναι το Gleason score (Εικ.12). Η βαθμολογία κατά Gleason score υπολογίζεται με βάση τη μορφολογία και την αρχιτεκτονική διάταξη των αδενίων του προστάτη. Το Gleason score περιγράφει, στην κλίμακα του 5, το βαθμό στον οποίο οι κακοήθεις αδενικοί μικροσχηματισμοί μοιάζουν στους φυσιολογικούς αδένες – όσο χαμηλότερος ο βαθμός τόσο πιο κοντά στον υγιή προστατικό αδένα και τόσο χαμηλότερο δυναμικό διασποράς και επέκτασης. Το Gleason score αποτελεί το άθροισμα των δύο επικρατέστερων ιστοπαθολογικά αρχιτεκτονικών μορφών των αδενικών σχηματισμών του προστατικού δείγματος και κυμαίνεται από 2 έως 10. Το σύστημα κατά Gleason διαθέτει επιπλέον και σημαντική προγνωστική αξία και λειτουργεί ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας. Ασθενείς με Gleason score πάνω από 7 εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση από τους ασθενείς με χαμηλότερα score.

Οι βαθμοί διαφοροποίησης του αδενοκαρκινώματος κατά Gleason.

Βαθμός διαφοροποίησης κατά Gleason (Εικ12)

Βαθμός διαφοροποίησης παθολογοανατομικά : 2–4

Χαρακτηριστικά νεόπλασματος : Υψηλής διαφοροποίησης

Πιθανότητα εξέλιξης της νόσου σε 10 χρόνια : 25%

Βαθμός διαφοροποίησης παθολογοανατομικά : 5-7

Χαρακτηριστικά νεόπλασματος : Μέσης διαφοροποίησης

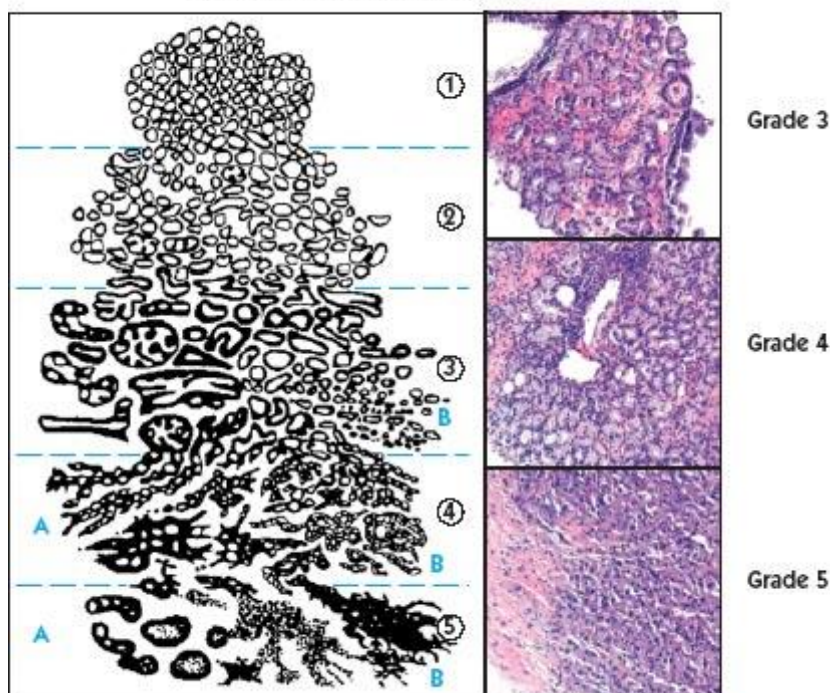
Πιθανότητα εξέλιξης της νόσου σε 10 χρόνια : 50%

Βαθμός διαφοροποίησης παθολογοανατομικά : 8 – 10

Χαρακτηριστικά νεόπλασματος : Χαμηλής διαφοροποίησης

Πιθανότητα εξέλιξης της νόσου σε 10 χρόνια : 75%

FIGURE 1. Gleason Grading System Diagram

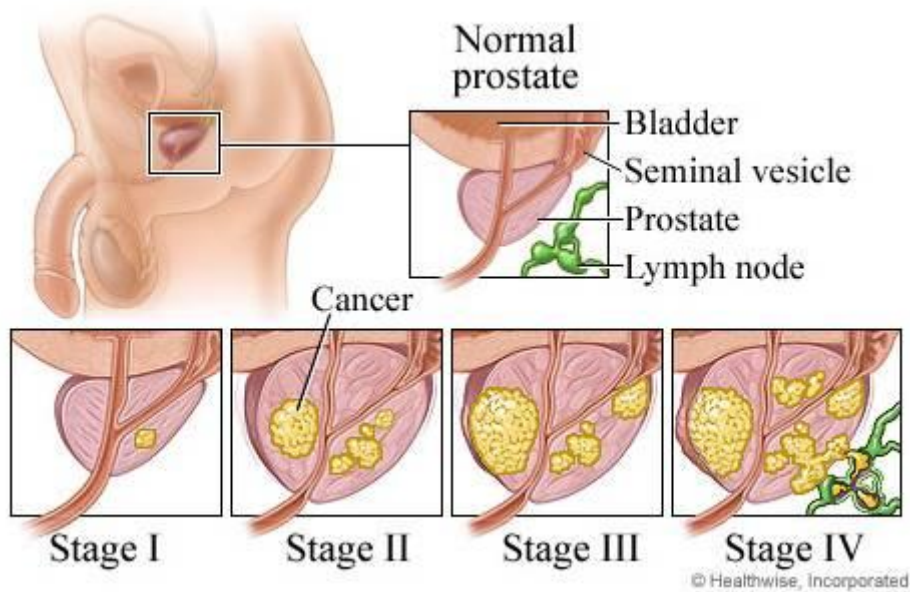


Εικόνα 12. Βαθμός διαφοροποίησης κατά Gleason.

ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Σημαντικότετο ρόλο στην πρόγνωση και τη θεραπεία του προστατικού καρκίνου παίζει η σταδιοποίηση. Η σταδιοποίηση της νόσου μπορεί να είναι κλινική, όταν χρησιμοποιούνται η κλινική εξέταση, το διορθικό υπερηχογράφημα, οι καρκινικοί δείκτες, η αξονική τομογραφία και το σπινθηρογράφημα οστών. Μεγαλύτερη προγνωστική αξία έχει η χειρουργική σταδιοποίηση, η οποία εξαρτάται από το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου, από τη διήθηση λεμφαδένων, της κάψας του προστάτη, των σπερματοδόχων κύστεων και από την ύπαρξη μεταστατικών εστιών.

Στην Ευρώπη χρησιμοποιείται για τη σταδιοποίηση το σύστημα TNM, ενώ στις ΗΠΑ χρησιμοποιείται το αμερικάνικο σύστημα σταδιοποίησης.



Εικόνα 13. TNM σταδιοποίηση

TNM σταδιοποίηση (Εικ.13)

(T) ΤΟΠΙΚΗ ΝΟΣΟΣ

Tx Δεν μπορεί να γίνει εκτίμηση του προστάτη

T0 Δεν υπάρχει όγκος

T1 Όγκος που δεν ψηλαφάται με τη δακτυλική εξέταση και δεν φαίνεται στους υπερήχους

T1a Τυχαία ανακάλυψη του όγκου, καταλαμβάνουσα < 5% του ιστού που εξαιρέθηκε χειρουργικά

T1b Τυχαία ανακάλυψη του όγκου, καταλαμβάνουσα > 5% του ιστού που εξαιρέθηκε χειρουργικά

T1c Διάγνωση που έγινε μετά από βιοψία με βελόνα, λόγω υψηλής τιμής PSA

T2 Ο όγκος περιορίζεται μέσα στον προστάτη

T2a Ο όγκος καταλαμβάνει το μισό ή λιγότερο από τον ένα λοβό

T2b Ο όγκος καταλαμβάνει πάνω από το μισό, αλλά όχι και τους δύο λοβούς

T2c Ο όγκος καταλαμβάνει και τους δύο λοβούς

T3 Ο όγκος εκτείνεται έξω από την κάψα του προστάτη

T3a Ο όγκος εκτείνεται έξω από την κάψα του προστάτη από τη μία πλευρά

T3b Αμφοτερόπλευρη επέκταση έξω από την κάψα

T3c Ο όγκος διηθεί τις σπερματοδόχους κύστες

T4 Ο όγκος διηθεί και άλλα πλην των σπερματοδόχων κύστεων παρακείμενα όργανα

T4a Ο όγκος διηθεί τον αυχένα της κύστης ή τον έξω σφικτήρα

T4b Ο όγκος διηθεί τους μυς ή είναι καθηλωμένος στο πυελικό τοίχωμα

(N) ΠΕΡΙΟΧΙΚΟΙ ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΣ

Nx Περιοχικοί λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν

N0 Δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις

N1 Μετάσταση σε έναν περιοχικό λεμφαδένα <2cm

N2 Μετάσταση σε περιοχικό λεμφαδένα >2cm αλλά <5cm

N3 Μετάσταση σε περιοχικό λεμφαδένα >5cm

(M) ΑΠΟΜΑΚΡΥΣΜΕΝΕΣ ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Mx Απομακρυσμένες μεταστάσεις δεν μπορούν να αξιολογηθούν

M0 Δεν υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις

M1 Απομακρυσμένες μεταστάσεις

M1a Σε μη περιοχικούς λεμφαδένες

M1b Στα οστά

M1c Σε άλλα όργανα (ήπαρ, πνεύμονες κλπ.)

Αμερικάνικο σύστημα σταδιοποίησης (Εικ.14)

ΣΤΑΔΙΟ Α Όγκος δεν ψηλαφάται με δακτυλική εξέταση και ανακαλύπτεται τυχαία μετά προστατεκτομή

A1 Όγκος με εστιακή εντόπιση

A2 Όγκος με διάχυτη εξάπλωση

ΣΤΑΔΙΟ Β Ο όγκος ψηλαφάται με τη δακτυλική εξέταση, αλλά δεν διασπά την κάψα

B1 Ο όγκος καταλαμβάνει ένα λοβό και είναι μικρότερος από 1,5cm

B2 Ο όγκος ανευρίσκεται και στους δύο λοβούς ή όταν ανευρίσκεται στον ένα λοβό είναι μεγαλύτερος από 1,5cm

ΣΤΑΔΙΟ C Ο όγκος διασπά την κάψα

C1 Δεν υπάρχει διήθηση των σπερματοδόχων κύστεων

C2 Υπάρχει διήθηση των σπερματοδόχων κύστεων

ΣΤΑΔΙΟ D Όγκος με μεταστάσεις

D1 Μεταστάσεις σε περιοχικούς λεμφαδένες

D2 Μεταστάσεις σε απομακρυσμένα όργανα (οστά, ήπαρ, πνεύμονες)

Πίνακας 2-1. Σταδιοποίηση του καρκίνου του προστάτη.		
Whitmore-Jewett	TNM	
<i>Τυχαίο εύρημα - όχι ψηλαφητός όγκος</i>		
A1	T1a	Όγκος που βρέθηκε τυχαία σε <5% του εκταμένου ιστού
A2	T1b	Όγκος που βρέθηκε τυχαία σε >5% του εκταμένου ιστού
	T1c	Όγκος που πιστοποιήθηκε με τη βιοψία με βελόνα (↑PSA)
	Tx	Δεν είναι δυνατόν να αποκλεισθεί τοπικός όγκος
	T0	Δεν είναι ανιχνεύσιμος τοπικός όγκος
<i>Ενδοπροστατικός ψηλαφητός όγκος</i>		
B1	T2a	Όγκος που περιορίζεται στο μισό ή λιγότερο του ενός λοβού
B2	T2b	Όγκος που επεκτείνεται στο μισό του ενός λοβού
B3	T2c	Όγκος που επεκτείνεται και στους δύο λοβούς
<i>Εξωκαψική επέκταση του όγκου</i>		
C1	T3a	Ετερόπλευρη εξωκαψική επέκταση
C2	T3b	Αμφοτερόπλευρη εξωκαψική επέκταση
	T3c	Ο όγκος επεκτείνεται σε μια ή και τις δύο σπερματοδόχους κύστες
	T4	Ο όγκος εφάπτεται ή έχει διηθήσει παρακείμενους ιστούς, εκτός από τις σπερματοδόχους κύστες
<i>Διασπορά του όγκου</i>		
D1	Nx	Δεν είναι δυνατόν να αποκλεισθεί η προσβολή των τοπικών λεμφαδένων
	N0	Δεν υπάρχουν μεταστάσεις στους περιοχικούς λεμφαδένες
	N1	Λεμφαδενικές μεταστάσεις ≤2 cm σε διάμετρο
	N2	Ένας λεμφαδένας μόνο >2 cm ή ≤5 cm, πολλαπλοί ≤5 cm
D2	Mx	Δεν είναι δυνατόν να αποκλεισθούν απομακρυσμένες μεταστάσεις
	M1	Απομακρυσμένες μεταστάσεις
	M1a	Λεμφαδένες πλην των περιοχικών
	M1b	Οστά
	M1c	Άλλες θέσεις
D3		Ορμονοάντοχος καρκίνος

Εικόνα 14. Σταδιοποίηση του καρκίνου του προστάτη κατά whitmore-Jewett

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Ιδιαίτερη σημαντική είναι η έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη και αυτό γιατί στα αρχικά στάδια της νόσου, όταν το νεόπλασμα είναι ακόμη εντοπισμένο μέσα στον προστάτη, δεν υπάρχει συμπτωματολογία που να οδηγήσει τον ασθενή στον ιατρό. Σε αυτήν την περίπτωση η διάγνωση γίνεται είτε τυχαία, μετά από μια προστατεκτομή λόγω καλοήθους υπερπλασίας, είτε εξαιτίας μιας ύποπτης

δακτυλικής εξέτασης (DRE: digital rectal examination) ή ενός ύποπτου υπερηχογραφικού ευρήματος σε συνδυασμό ορισμένες φορές με μια αυξημένη τιμή PSA.

Πολλές φορές απαιτείται η λήψη προστατικού υλικού για τη διαφοροδιάγνωση από την καλοήγη υπερπλασία, η οποία πραγματοποιείται είτε υπό την καθοδήγηση διορθικού υπερήχου (TRUS: transrectal ultrasound), είτε διουρηθρικά (TURP: transurethral resection of the prostate).

ΕΞΕΛΙΞΗ ΚΑΙ ΕΠΕΚΤΑΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Σε γενικές γραμμές ο καρκίνος του προστάτη έχει βραδεία φυσική εξέλιξη. Η βιολογική συμπεριφορά του αδενοκαρκινώματος του προστάτη εξαρτάται κυρίως από τη βαθμίδα διαφοροποίησης, έτσι ώστε υψηλής διαφοροποίησης καρκινώματα να παραμένουν εντοπιζόμενα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η τοπική επέκταση της νόσου συνήθως γίνεται με διήθηση των νευρικών ελύτρων και η μετάσταση μέσω λεμφικών πλεγμάτων. Το τοπικά προχωρημένο καρκίνωμα του προστάτη επίσης επεκτείνεται σε συνέχεια ιστού διηθώντας την κάψα και το περιπροστατικό λίπος ή μέσω διασποράς μέσω των εκσπερματικών πόρων στις σπερματοδόχες κύστεις.

Η μετάσταση στους εγχώριους λεμφαδένες είναι επίσης συχνή σε τοπικά προχωρημένη νόσο. Η απευθείας επέκταση στην ουροδόχο κύστη ή στο ορθό είναι σπάνια και παρατηρείται μόνο σε τοπικά εκτεταμένη νόσο. Οι απομακρυσμένες μεταστάσεις σε οστά, κυρίως στην σπονδυλική στήλη και ιδιαίτερα στην οσφυϊέρα μοίρα, είναι οι πιο συχνές και συνήθως είναι βλαστικού τύπου.

ΠΡΩΙΜΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ (ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟ SCREENING) ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Ο πληθυσμιακός έλεγχος για την πρόωμη εντόπιση του καρκίνου του προστάτη πραγματοποιείται με τον συνδυασμό της δακτυλικής εξέτασης, της μέτρησης του προστατικού ειδικού αντιγόνου (PSA) και του διακοιλιακού, ή ακόμα καλύτερα του διορθικού υπερήχου. Το πρόβλημα, όμως, που έχει διχάσει την παγκόσμια ουρολογική κοινότητα προκύπτει από την ανάπτυξη ολοένα και πιο ευαίσθητων μεθόδων ανίχνευσης του προστατικού καρκίνου καθώς και από την συνεχώς αυξανόμενη ευαισθητοποίηση και ανησυχία του πληθυσμού σχετικά με τη νόσο.

Τα προγράμματα αυτά πληθυσμιακού ελέγχου είναι πολυδάπανα και η υπερβολική εφαρμογή τους μπορεί να οδηγήσει σε σημείο να υπερανιχνεύονται (overdetection) και κατ' επέκταση να υπερθεραπεύονται (overtreatment) καρκινώματα με πολύ ήπια βιολογική συμπεριφορά, τα οποία δεν επρόκειτο ποτέ να δώσουν κλινικά συμπτώματα. Σήμερα στα πλαίσια της πρόωμης και έγκαιρης διάγνωσης προτείνεται ο συνδυασμός της δακτυλικής εξέτασης και της μέτρησης του PSA ετησίως μετά την ηλικία των 50, ή

νωρίτερα σε ειδικές περιπτώσεις αυξημένου κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, και η αποφυγή ορμονικών συμπληρωμάτων ανδρογόνων.

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Αμφιγνωμία επικρατεί για το εάν πρέπει να ξεκινήσει θεραπεία ένας ασθενής χωρίς συμπτώματα ή είναι καλύτερα να περιμένει να εμφανιστούν οι πρώτες κλινικές εκδηλώσεις. Για το λόγο αυτό στον καρκίνο του προστάτη έχει προταθεί ο όρος της ‘επιφυλακτικής αναμονής’ (‘watchful waiting’) και κάθε ασθενής κρίνεται και αξιολογείται σαν ξεχωριστή και ιδιαίτερη κάθε φορά περίπτωση [Pienta KJ, et al, 2002 / Zisman A, et al, 2000].

Στην περιορισμένη νόσο (στάδια T1 και T2) η θεραπευτική αντιμετώπιση είναι η ριζική προστατεκτομή, όταν η νόσος κρίνεται χειρουργικά εξαιρέσιμη, με ή χωρίς πυελικό λεμφαδενικό καθαρισμό, σε συνδυασμό με τοπική ακτινοθεραπεία. Η διουρηθρική προσπέλαση (TURP: transurethral resection of the prostate) τις περισσότερες φορές δεν προσφέρεται θεραπευτικά, δεδομένου ότι συνήθως το αδενοκαρκίνωμα εξορμάται από την περιφερική ζώνη του προστάτη και άρα δεν είναι προσπελάσιμο με την τεχνική αυτή. Στην προχωρημένη μεταστατική νόσο οι ορμονικοί χειρισμοί, σε συνδυασμό ή όχι με χημειοθεραπευτικά σχήματα, παραμένουν η μόνη αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση, η οποία ακόμα και εάν δεν παρατείνει την επιβίωση, ανακουφίζει από τα ενοχλητικά συμπτώματα και βελτιώνει την ποιότητα ζωής.

Από την πρώτη παρατήρηση των Huggins και Hodges το 1941, ο ανδρογονικός αποκλεισμός παραμένει ο ακρογωνιαίος λίθος στη θεραπεία του προχωρημένου καρκίνου του προστάτη. Δεδομένου ότι τα καρκινικά κύτταρα του προστάτη εξαρτώνται από τα ανδρογόνα για την επιβίωσή τους, ο στόχος της ορμονικής θεραπείας είναι να τους στερήσει την τεστοστερόνη. Αυτό επιτυγχάνεται με αμφοτερόπλευρη ορχεκτομή, χειρουργική ή φαρμακευτική με την χορήγηση οιστρογόνων ή συνθετικών αγωνιστών της, αντιανδρογόνων ή εκλυτικής της ωχρινοτρόπου ορμόνης, ορμόνης (LHRH). Άλλοι παράγοντες που χρησιμοποιούνται κυρίως παρηγορητικά σε προχωρημένη νόσο είναι: τα προγεστερινοειδή, παράγοντες ανασταλτικοί της σύνθεσης των ανδρογόνων, όπως η αμινογλουτεθιμίδη και η κετοκοναζόλη, τα κορικοστεροειδή και οι αναστολείς της 5α- αναγωγής, όπως η φιναστερίδη. Τα οιστρογόνα καταστέλλουν την έκκριση της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) από την υπόφυση, η οποία στην συνέχεια οδηγεί σε μειωμένη απελευθέρωση τεστοστερόνης από τους όρχεις. Τα συνθετικά ανάλογα της LHRH λειτουργούν κατά ανάλογο τρόπο. Η μακροχρόνια χορήγηση αγωνιστών της LHRH, μετά από μία αρχική παροδική αύξηση στην έκκριση της LH, οδηγεί σε καταστολή της απελευθέρωσης της LH. Τα αντιανδρογόνα μπλοκάρουν την αυξητική επίδραση των ανδρογόνων στο επίπεδο του προστάτη, αναστέλλοντας την σύνδεση του ενεργού μεταβολίτη της τεστοστερόνης, της διωδροτεστοστερόνης, με τον υποδοχέα της εντός του προστατικού αδένα.

Παρά όμως την όποια θεραπεία, οι ασθενείς με εκτεταμένη νόσο εμφανίζουν σε ποσοστό 10% με 40% δεκάχρονη επιβίωση και 50% αυτών θα καταλήξουν από τη νόσο εντός της τριετίας. Δυστυχώς, αναπόφευκτα, η νόσος σε κάποια χρονική στιγμή ξεφεύγει από τον έλεγχο των ορμονικών χειρισμών και ο καρκίνος του προστάτη καθίσταται ορμονικά ανεξάρτητος και άρα ανθιστάμενος σε οποιονδήποτε πλέον θεραπευτικό χειρισμό.

Ενώ η ‘gold-standard’ θεραπεία στον καρκίνο του προστάτη παραμένει ο Ανδρογονικός αποκλεισμός, τα περισσότερα προστατικά αδενοκαρκινώματα ανταποκρίνονται αρχικά, η επιλογή κάποιων ανδρογονο-ανεξάρτητων καρκινικών κυττάρων σχεδόν πάντα οδηγεί σε υποτροπή της νόσου. Η ενίσχυση ή η μετάλλαξη του γονιδίου του υποδοχέα των ανδρογόνων τον καθιστά ικανό να ενεργοποιείται από μη ανδρογονικά στεροειδή και/ ή αυξητικούς παράγοντες, ενώ η αυξημένη έκφραση διαφόρων συνενεργοποιητών του ανδρογονικού υποδοχέα επάγει την ενεργοποίησή του σε ένα περιβάλλον χαμηλού ανδρογονικού φορτίου. Η υποτροπή και εξέλιξη του προστατικού καρκίνου στην ορμονο-ανεξάρτητη μορφή κρίνεται ιδιαίτερα δύσκολη στη θεραπευτική της αντιμετώπιση με, τις περισσότερες φορές, περιθώρια μόνο για παρηγορητική και ανακουφιστική από τα συμπτώματα θεραπεία. Το φαινόμενο αυτό έχει καταστήσει επιτακτική την ανάγκη βαθύτερης και πληρέστερης κατανόησης της βιολογικής συμπεριφοράς του προστάτη σε σχέση με τις διάφορες ορμόνες και εύρεση τρόπων παράκαμψης της αντοχής του ορμονο-ανεξάρτητου καρκίνου του προστάτη.

5-ΕΤΗΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

ΟΛΑ ΤΑ ΣΤΑΔΙΑ

78%

ΕΝΤΟΠΙΣΜΕΝΗ ΝΟΣΟΣ

93%

ΤΟΠΙΚΗ ΝΟΣΟΣ

83%

ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΗ ΝΟΣΟΣ

29%

Η χημειοπροφύλαξη αποτελεί ένα σημαντικό και πολλά υποσχόμενο κομμάτι της συνολικής προσπάθειας πρόληψης και αποτελεσματικής θεραπείας του καρκίνου και σαν έννοια πρωτοχρησιμοποιήθηκε το 1976 από τον Sporn. Ως «χημειοπροφύλαξη» ορίζεται η χρήση φυσικών ή συνθετικών χημικών παραγόντων με στόχο την αναστολή, την καταστολή ή ακόμα και την πρόληψη της διαδικασίας της καρκινογένεσης και της εξέλιξης προκαρκινικών βλαβών σε διηθητικό καρκίνωμα [Sporn MB, 2000]. Η αξία της χημειοπροφύλαξης στην αντιμετώπιση του καρκίνου έχει αυξηθεί εντυπωσιακά τα τελευταία χρόνια μετά από τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα τριών τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών στην πρόληψη του καρκίνου του μαστού σε γυναίκες με πολλούς παράγοντες κινδύνου [Sporn MB, Lippman SM, 1999].

Παρόμοιες μεγάλες προοπτικές μελέτες ετών σε πληθυσμό υψηλού κινδύνου ή στον γενικό πληθυσμό με καταληκτικά σημεία την εξέλιξη κάποιων δεικτών, που καθιστούν έναν οργανισμό πιο επιρρεπή στην καρκινογένεση, παρά αυτή καθ' αυτή την ανάπτυξη του καρκίνου, αποτελούν το 'goldstandard' της χημειοπροφύλαξης [Hong WK, Sporn MB, 1997 / Shureiqi I, et al, 2000 / Brenner DE, 2000].

Ο καρκίνος του προστάτη και γενικότερα η καρκινογένεση είναι μια πολυσταδιακή διαδικασία γενετικών αλλοιώσεων και περιβαλλοντικών επιδράσεων, τα επιμέρους στάδια της οποίας μπορούν να παρατηρηθούν, είτε διαδοχικά είτε παράλληλα εφόσον συνυπάρχουν στο ίδιο ιστολογικό παρασκεύασμα βλάβες διαβαθμιζόμενης ατυπίας, τόσο σε ιστολογικό, όσο και σε μοριακό επίπεδο [Alberts DS, 1999]. Το μεγάλο φάσμα των επιθηλιακών αλλοιώσεων που παρατηρείται στον προστάτη, από την καλοήγη υπερπλασία του προστάτη μέχρι την προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία, εξελίσσεται σε βάθος χρόνου, αφήνοντας έτσι τα χρονικά περιθώρια για έγκαιρη διάγνωση, διαστρωμάτωση του κινδύνου και πρόληψη της εμφάνισης του αδενοκαρκινώματος. Ασθενείς υψηλού κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του προστάτη ή ασθενείς με πρόδρομες βλάβες θα πρέπει να αξιολογούνται και να εντάσσονται σε προγράμματα χημειοπροφύλαξης, με απώτερο στόχο αν όχι τη μείωση της επίπτωσης καρκίνου του προστάτη, τον περιορισμό της νόσου σε αρχικά στάδια και την επιβράδυνση της βιολογικής της εξέλιξης [McCaskill-Stevens W, et al, 1999 / Lippman SM, et al, 1994 & 1998].

Στον καρκίνο του προστάτη έχει προταθεί χημειοπροφυλακτικά η δίαιτα "Pritikin"- δίαιτα πολύ χαμηλή σε λιπαρά (10% των ολικών προσλαμβανόμενων θερμίδων) σε συνδυασμό με τακτική αεροβική άσκηση. Η ανωτέρω δίαιτα ευαισθητοποιεί των σκελετικό μυ στην επίδραση της ινσουλίνης. Το επαγόμενο downregulation στην έκκριση της ινσουλίνης με την σειρά του μειώνει την ηπατική παραγωγή του IGF-1 (insulin growth factor) και της IGFBP-1, παράγοντες που λειτουργούν αυξητικά στον καρκίνο του προστάτη. Σε διαγονιδιακό αδενοκαρκίνωμα σε πειραματικό μοντέλο προστάτη ποντικού, η χορήγηση γενιστεΐνης προκαλεί downregulation της έκφρασης του EGFR (epidermal growth factor receptor), με

αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξης του αδενοκαρκινώματος.

Στην χημειοπροφυλακτική προσέγγιση του καρκίνου φαίνεται ότι μπορούν να ενσωματωθούν και διάφορα διατροφικά αντιοξειδωτικά συστατικά και φυτοχημικά, όπως το λυκοπένιο, το σελήνιο, οι πολυφαινόλες στο πράσινο τσάι, το εκχύλισμα από σπόρο σταφυλιού, τα ω-3 λιπαρά οξέα, η γενιστεΐνη και η σιλιμπινίνη [Gescher AJ, et al, 2001]. Τα διάφορα οξειδωτικά ερεθίσματα που απειλούν να επιφέρουν βλάβες στο γονιδίωμα του προστατικού κυττάρου μπορεί να προέρχονται από ποικίλες πηγές όπως μεταβολικές διαδικασίες, έκθεση σε ισχυρό ορμονικό περιβάλλον, φλεγμονή, έκθεση σε ακτινοβολία, διαιτητικές συνήθειες και πρακτικές καθώς επίσης και τη δράση διαφόρων ενζυμικών συστημάτων, όπως του κυτοχρώματος P450, συνθετασών του μονοξειδίου του αζώτου και των κυκλοοξυγενασών.

Στα πλαίσια της χημειοπροφύλαξης στον καρκίνο του προστάτη έχουν Πραγματοποιηθεί από το NCI (National Cancer Institute) δύο μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες φάσης III: η PCPT (Prostate Cancer Prevention Trial) και η SELECT (Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial). Οι φάσης III RCT (Randomised Controlled Trials) μελέτες με πρωτογενές καταληκτικό σημείο την επίπτωση του υπό μελέτη καρκίνου αποτελούν τα μόνα έγκυρα μέσα για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των προτεινόμενων χημειοθεραπευτικών παραγόντων και παρέχουν την απόδειξη της αρχής ('proof of principle') της χημειοπροφύλαξης στον καρκίνο. Από παρόμοιες μελέτες έχουν πάρει έγκριση ως χημειοθεραπευτικοί παράγοντες: η ταμοξιφένη στα πλαίσια πρωτογενούς πρόληψης σε γυναίκες υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού (μελέτη BCPT (Breast Cancer Prevention Trial)) και η σελεσοξίμη σε ασθενείς με οικογενή αδενωματώδη πολυποδίαση (FAP (Familial Adenomatous Polyposis)).

Η PCPT (Prostate Cancer Prevention Trial) είναι μια φάσης III, τυχαιοποιημένη, διπλή- τυφλή, συγκρινόμενη με placebo μελέτη της φιναστερίδης, ενός αναστολέα της 5α- αναγωγάσης, ο οποίος αναστέλλει τη μετατροπή της τεστοστερόνης σε διυδροτεστοστερόνης, στην πρόληψη του καρκίνου του προστάτη (1993-1996). Συνολικά τυχαιοποιήθηκαν 18882 άνδρες ηλικίας ≥ 55 ετών με φυσιολογική δακτυλική εξέταση του προστάτη και PSA ≤ 3 ng/ml σε θεραπεία με φιναστερίδη (5 mgg ημερησίως) ή placebo για διάστημα επτά ετών [Thompson AM, et al, 2003].

Οι συμμετέχοντες στη μελέτη βρίσκονταν υπό τακτική ιατρική παρακολούθηση με συχνή μέτρηση της τιμής του PSA και δακτυλική κλινική εξέταση και σε περίπτωση οποιουδήποτε παθολογικού ευρήματος υποβάλλονταν σε βιοψία προστάτη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η φιναστερίδη μείωσε κατά 25% την εμφάνιση καρκίνου του προστάτη στην επταετία (18,4% vs 24,4%). Ενώ όμως στην ομάδα της φιναστερίδης μειώθηκε σημαντικά η επίπτωση του καρκίνου του προστάτη, στην ομάδα αυτή ήταν πιο συχνά τα αδενοκαρκινώματα χαμηλής διαφοροποίησης με Gleason score ≥ 7 (37% vs 22.2%). Η φιναστερίδη, λοιπόν, εμποδίζει ή καθυστερεί την εμφάνιση καρκίνου του προστάτη, αλλά αυτό το πιθανό πλεονέκτημα οφείλει να συνεκτιμηθεί με τον αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης προστατικού

αδενοκαρκινώματος χαμηλής διαφοροποίησης.

Η SELECT (Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial) είναι η μεγαλύτερη χημειοπροφυλακτική για τον καρκίνο μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί ποτέ σε έναν πληθυσμό 32000 περίπου ανδρών, οι οποίοι θα τυχαιοποιηθούν σε τέσσερις ομάδες: αυτούς που θα λάβουν για διάστημα 7-12 ετών σελήνιο (200μg ημερησίως), σε αυτούς που θα πάρουν βιταμίνη E (400mg ημερησίως), στην ομάδα που θα λαμβάνει και τα δύο συμπληρώματα και στην ομάδα placebo [Hoque A, et al, 2001]. Η μελέτη στηρίζεται στα δευτερεύοντα αποτελέσματα της μελέτης ATBC (Alpha-Tocopherol(=Vit E), Beta-Carotene Cancer Prevention Study) στην πρόληψη του καρκίνου του πνεύμονα σε καπνιστές, η οποία έδειξε μείωση κατά 34% της εμφάνισης καρκίνου του προστάτη στην ομάδα της βιταμίνης E. Το σελήνιο, από την άλλη πλευρά, αποτελεί συστατικό της τρανσφεράσης S της γλουταθειόνης, η οποία αποδομεί και εξουδετερώνει τις ελεύθερες τοξικές ρίζες και λειτουργεί αντιοξειδωτικά και προστατευτικά για το κύτταρο. Όπως προέκυψε από την δευτερογενή ανάλυση 1312 ασθενών με ιστορικό πλακώδους καρκίνου δέρματος, οι οποίοι έλαβαν σελήνιο για δευτερογενή πρόληψη, στην ομάδα που ελάμβανε σελήνιο παρατηρήθηκε μείωση κατά 63% της επίπτωσης του καρκίνου του προστάτη [Clark LC, et al, 1996]. Στα παραπάνω αποτελέσματα των δύο αυτών μελετών στηρίχθηκε η SELECT, η οποία προσφέρει μια εξαιρετική ευκαιρία διεξαγωγής μοριακών επιδημιολογικών ερευνών προκειμένου να εκτιμηθεί η αλληλεπίδραση περιβάλλοντος και γονιδίων και η επίπτωσή της στην καρκινογένεση.

ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης πραγματοποιείται κυρίως στο επίπεδο της μεταγραφής, η οποία αποτελεί στρατηγικό κομβικό σημείο ελέγχου της μετάφρασης της γενετικής πληροφορίας σε πρωτεϊνοσύνθεση. Η διαδικασία αυτή ρυθμίζεται από την συνδυασμένη δράση πολύ εξειδικευμένων πυρηνικών πρωτεϊνών, των μεταγραφικών παραγόντων. Η σημαντική πρόοδος στον τομέα της γενετικής μηχανικής έχει επιτρέψει την ταυτοποίηση τους και τη βαθύτερη κατανόηση της μοριακής ανατομίας τους, καθώς επίσης και των μονοπατιών μετάδοσης σήματος που ρυθμίζουν τη λειτουργία τους [Papavassiliou AG, 1998]. Η μεταγραφή των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες στα ευκαρυωτικά κύτταρα ρυθμίζεται από ένα πολύπλοκο σύμπλεγμα πρωτεϊνών, τη μεταγραφική μηχανή, κεντρικό συστατικό της οποίας είναι το ένζυμο της RNA- πολυμεράσης II (RNA pol II) [Greenblatt J, 1997].

Η RNA pol II προσδένεται πάνω στο TATA box του υποκινητή του γονιδίου μέσω της TBP (TATA box binding protein) και άλλων βασικών ή γενικών μεταγραφικών παραγόντων [Roeder RG, 1996], οι οποίοι σχηματίζουν το σύμπλεγμα προενάρξεως και είναι απαραίτητοι για τη μεταγραφή όλων των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και την σύνθεση όλων των mRNA [Papavassiliou, 1995].

Εκτός όμως από τους βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες υπάρχουν και οι ειδικοί μεταγραφικοί παράγοντες, οι οποίοι συνδέονται σε ειδικές περιοχές DNA (στην περιοχή του υποκινητή ή του επαγωγέα του γονιδίου) και αλληλεπιδρώντας με τη βασική μεταγραφική μηχανή, διεγείρουν ή καταστέλλουν τη μεταγραφική ενεργοποίηση και ρυθμίζουν το ρυθμό έκφρασης του αντίστοιχου γονιδίου [Papavassiliou AG, 1995 / Papavassiliou 1997]. Πολλοί από τους ειδικούς μεταγραφικούς παράγοντες για να συνδεθούν με τις περιοχές αναγνώρισης στο DNA, πρέπει πρώτα να ενεργοποιηθούν είτε με φωσφορυλίωση είτε με πρόσδεση με ειδικά ligands. Συντίθενται και ενεργοποιούνται σε συγκεκριμένες στιγμές και σε ορισμένα μόνο κύτταρα και συνεπώς ρυθμίζουν τη μεταγραφή των γονιδίων ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο, τις ανάγκες και τα ερεθίσματα του κυττάρου. Εδώ ανήκει και η υπερκοχενεϊκή των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων, μέλη της οποίας είναι και οι PPARs υποδοχείς.

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

Οι πυρηνικοί υποδοχείς είναι ειδικοί μεταγραφικοί παράγοντες, οι οποίοι ενεργοποιούνται με την σύνδεση κάποιου ειδικού προσδέτη (ligand) και ρυθμίζουν σημαντικές λειτουργίες του κυττάρου [Mangelsdorf DJ, et al, 1995 / Kumar R, Thompson EB, 1999 / McKenna NJ, 1999]. Οι λιπόφιλες ορμόνες διαχέονται διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης και δυνητικά αποτελούν προσδέτες για τους υποδοχείς αυτούς. Οι πυρηνικοί υποδοχείς συνήθως βρίσκονται σε λανθάνουσα φάση είτε στο κυτταρόπλασμα συνδεδεμένοι με “heat-shock” πρωτεΐνες είτε μέσα στον πυρήνα [Jakob U, Buchner J, 1994]. Όταν συνδεθούν με τον συμπληρωματικό τους προσδέτη, υφίστανται δομικές αλλαγές που ευνοούν τον σχηματισμό δραστικών διμερών και τη μετακίνησή τους στον πυρήνα, όπου συνδέονται με ειδικές αλληλουχίες του DNA και ρυθμίζουν την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων [White R, Parker MG, 1998]. Οι πυρηνικοί υποδοχείς διακρίνονται στους [Tsai MJ, O'Malley BW, 1999] Στεροειδείς υποδοχείς, υποδοχείς των αλατοκορτικοειδών, των γλυκοκορτικοειδών, των οιστρογόνων, των ανδρογόνων και της προγεστερόνης.

Μη στεροειδείς υποδοχείς: υποδοχείς των ρετινοειδών, της βιταμίνης D3, των θυρεοειδικών ορμονών, των φαρνεσοειδών- FXR και των εικοσανοειδών-PPAR. Οι μη στεροειδείς πυρηνικοί υποδοχείς σχηματίζουν κυρίως ετεροδιμερή, με κοινό παράγοντα τον υποδοχέα RXR. Ορφανούς πυρηνικούς υποδοχείς: υποδοχείς των οποίων ο προσδέτης παραμένει ακόμα άγνωστος [Giguere V, 1999].

Βασική διαφορά των στεροειδών από τους μη στεροειδείς πυρηνικούς υποδοχείς είναι το γεγονός ότι ενώ οι στεροειδείς δεν επηρεάζουν τη μεταγραφή όταν απουσιάζει ο προσδέτης τους, οι μη στεροειδείς πυρηνικοί υποδοχείς μπορούν να συνδέονται με το DNA χωρίς την παρουσία του προσδέτη, καταστέλλοντας τη μεταγραφή των γονιδίων στόχων- φαινόμενο γνωστό ως ‘αποσιώπηση’- silencing [Wong CW, Privalsky ML, 1998].

Δεδομένου ότι οι πυρηνικοί υποδοχείς διαδραματίζουν ένα εξαιρετικά σημαντικό ρόλο για το κύτταρο, έχουν σε μεγάλο βαθμό διατηρηθεί εξελικτικά και χαρακτηρίζονται από κοινά δομικά συστατικά [Moras D, Gronemeyer H, 1998 / Darimont BD, et al, 1998]. Αποτελούνται από:

α) μια αμινοξυτελική περιοχή (A/B), η οποία περιέχει μια αυτόνομα λειτουργούσα περιοχή, AF-1 (activation function 1), η οποία σχετίζεται με μεταγραφική ενεργοποίηση που πραγματοποιείται ανεξάρτητα από την σύνδεση του προσδέτη. β) μια πολύ συντηρημένη περιοχή (C), η οποία περιλαμβάνει την περιοχή σύνδεσης με το DNA (DNA binding domain) που αναγνωρίζει ειδικά response elements πάνω στο DNA. Συνήθως αποτελείται από δύο νουκλεοτιδικές αλληλουχίες, οι οποίες στην περίπτωση των μη στεροειδών πυρηνικών υποδοχέων, είναι ίδιες και συνεχείς. Οι δύο αλληλουχίες χωρίζονται από μία ενδιάμεση, μη σταθερού μήκους. Τα ετεροδιμερή του υποδοχέα RXR προτιμούν να συνδέονται με αλληλουχίες του DNA στις οποίες η ενδιάμεση αλληλουχία είναι ένα νουκλεοτίδιο (DR1).

γ) μια περιοχή (D), η οποία συμμετέχει στις λειτουργικές αλλαγές που προκαλούνται με την σύνδεση του προσδέτη στον υποδοχέα και ενέχεται στην αλληλεπίδραση με τους ενδιάμεσους μεταγραφικούς παράγοντες (συν-παράγοντες) [Janknecht R, Hunter T, 1996 / Glass CK, et al, 1997].

δ) μια καρβοξυτελική περιοχή (E/F), η οποία περιέχει αφενός την περιοχή πρόσδεσης του υποδοχέα με τον προσδέτη (ligand binding domain) και την περιοχή σχηματισμού των διμερών (dimerization domain), αφετέρου μια εξαρτώμενη από τον προσδέτη λειτουργούσα περιοχή, την AF-2 (ligand dependent activation function region 2).

Η AF-2 συνδέεται με συνενεργοποιητές και συγκαταστολείς και συμμετέχει στη μεταγραφική ενεργοποίηση, την πυρηνική μετανάστευση και την αλληλεπίδραση με τις heat-shock πρωτεΐνες [Jenster G, 1998]. Φαίνεται ότι η σύνδεση του προσδέτη με την συμμετοχή των ενδιάμεσων μεταγραφικών παραγόντων έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή της στερεοταξικής διαμόρφωσης του υποδοχέα και την αλληλεπίδραση των AF-1 και AF-2 περιοχών, με τελικό αποτέλεσμα τη μεταγραφική ενεργοποίηση των γονιδίων στόχων [Wolffe AP, 1997 / Glass CK, 2000].

Συμπερασματικά, η κυτταρική απάντηση σε έναν ενεργοποιημένο πυρηνικό υποδοχέα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, π.χ. από τα επίπεδα έκφρασης του υποδοχέα στο όργανο στόχο, την αλληλουχία του DNA που αναγνωρίζει η DBD του υποδοχέα, τη χωροδιάταξη κρίσιμων αλληλουχιών ανάμεσα στα HREs, την ικανότητα διμερισμού κ.ά [Westin S, et al, 1998 / Forman BM, Samuels NH, 1990]. Η δυνατότητα αλληλεπίδρασης των πυρηνικών υποδοχέων με άλλα μονοπάτια μεταγωγής σήματος καθώς επίσης και η θετική ή αρνητική επίδραση τους στη δράση και λειτουργία άλλων μεταγραφικών παραγόντων (μεταγραφικό cross-talk) δημιουργεί επιπλέον επίπεδα πολυπλοκότητας και σημαντικότητας της δράσης των πυρηνικών υποδοχέων.

Η ενεργοποίηση της μεταγραφική ρύθμιση από τους πυρηνικούς υποδοχείς απαιτεί την στρατολόγηση

πολλών και διαφορετικών ενζυμικών δράσεων από ακετυλάσες, αποακετυλάσες, κινάσες, φωσφατάσες, ΑΤΡάσες, πρωτεάσες κ.ά.- η συντονισμένη και αρμονική συνεργασία των οποίων θα οδηγήσει στην, ειδική σε κάθε προσδέτη, μεταγραφική απάντηση και απόκριση [Wade PA, Wollfe AP, 1999]. Πρωταγωνιστικό ρόλο στη διαδικασία αυτή παίζουν οι συμπαραγόντες, οι οποίοι όλοι μαζί σχηματίζουν ένα πολύπλοκο πολυπρωτεϊνικό σύμπλοκο, το οποίο αποδιοργανώνει την χρωματίνη από την οργανωμένη της μορφή, το νουκλεόσωμα, και επιτρέπει τον σχηματισμό του προεναρκτήριου συμπλόκου στον υποκινητή του προς μεταγραφή γονιδίου [Rhodes D, 1997].

Συνολικά, λοιπόν, φαίνεται ότι η μεταγραφική ενεργοποίηση από τους πυρηνικούς υποδοχείς είναι μια πολυσταδιακή και αρκετά πολύπλοκη διαδικασία, τόσο ως προς τις δράσεις της, όσο και ως προς τα επίπεδα ρύθμισης.

Μορφές προστατικού καρκίνου:

70 % των καρκίνων προέρχονται από την περιφερική ζώνη

15-20 % προέρχονται από την κεντρική ζώνη.

10-15% προέρχονται από την μεταβατική ζώνη.

Οι ιστολογικοί τύποι καρκίνου του προστάτη περιλαμβάνουν το αδenoκαρκίνωμα, το καρκίνωμα από μεταβατικό επιθήλιο και το σάρκωμα. Το αδenoκαρκίνωμα αποτελεί το 90% των περιπτώσεων και μπορεί να εμφανιστεί σε διάφορες σπάνιες μορφές όπως νευροενδοκρινικό, ενδομητριοειδικό και βλεννώδες.

Η μελέτη καρκίνων που διαγνώστηκαν τυχαία μετά από διουρηθρική προστατεκτομή έδειξε ότι ο χρόνος εξέλιξης για τον T1a μικρού μεγέθους και υψηλής διαφοροποίησης είναι περίπου 13,5 χρόνια ενώ για τον T1b είναι περίπου 5 χρόνια. Σήμερα βρίσκονται σε εξέλιξη έρευνες για την ταυτοποίηση μοριακών δεικτών οι οποίοι με ακρίβεια θα μπορέσουν στο μέλλον να προβλέψουν την πρόοδο της νόσου και την πιθανή της εξέλιξη.

ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

PSA (PROSTATE SPECIFIC ANTIGENE)

Ο ρόλος του ειδικού προστατικού αντιγόνου (PSA) στη μαζική εξέταση του ασυμπτωματικού ανδρικού πληθυσμού άνω των 50 ετών για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη, παραμένει ένα θέμα σημαντικής αντιπαράθεσης. Προς το παρόν, δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία από μεγάλες, καλά σχεδιασμένες, τυχαίοποιημένες μελέτες που να καταδεικνύουν εάν η πρόωμη ανίχνευση του καρκίνου του προστάτη μειώνει τον κίνδυνο θανάτου από τη νόσο. Κατά συνέπεια, η βέλτιστη στρατηγική για την έγκαιρη ανίχνευση του προστατικού καρκίνου με τον προσδιορισμό του PSA παραμένει άγνωστη. Με

βάση τα διαθέσιμα στοιχεία, ο προσδιορισμός του PSA σε ασυμπτωματικούς άνδρες ηλικίας 50-75 ετών θα πρέπει να συστήνεται μετά από ενημέρωση και συγκατάθεση για τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της εξέτασης. Η μέτρηση των PSA στο αίμα και η δακτυλική εξέταση του προστάτη θεωρείται σήμερα ο καλύτερος συνδυασμός εξετάσεων για την προσυμπτωματική διάγνωση (screening test) του προστατικού καρκίνου. Παρά το αυξημένο ενδιαφέρον που υπάρχει για το θέμα του μαζικού έλεγχου του ασυμπτωματικού ανδρικού πληθυσμού, υπάρχουν διαφωνίες σχετικά με την χρησιμότητά του, τη δυνατότητά του να επηρεάσει την ειδική θνητότητα από τη νόσο, τις επιπλοκές του και το υψηλό κόστος του. Ένα πράγματι σοβαρό πρόβλημα με την εφαρμογή ενός τέτοιου προγράμματος είναι η ανακάλυψη του καρκίνου σε πολύ πρώιμο στάδιο. Ο καρκίνος αυτός έχει μικροσκοπικό μέγεθος, εξελίσσεται πολύ αργά (>10 χρόνια), δεν επηρεάζει την επιβίωση σε ορισμένους άνδρες και, συνεπώς, οδηγεί σε θεραπευτικό δίλημμα. Πρέπει να σημειωθεί ότι το PSA δεν αποτελεί ειδικό δείκτη για τον προστατικό καρκίνο, αλλά ειδικό δείκτη για τον προστάτη αδένα (Εικ.15). Το PSA είναι μια ουσία που παράγεται από τον προστάτη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μια ένδειξη για τον καρκίνο όταν είναι ψηλότερο από 4ng/ml. Αυξημένα επίπεδα του PSA μπορεί να βρεθούν σε καλοήγη υπερπλασία του προστάτη ή σε φλεγμονή του αδένα (προστατίτιδα) και η οριστική διάγνωση στις περιπτώσεις αυτές γίνεται με υπερηχογραφικά κατευθυνόμενη βιοψία. Επιπλέον, η διαγνωστική του ειδικότητα είναι χαμηλή στο εύρος τιμών 4-10ng/ml. Άνδρες με τιμές PSA 4-10ng/ml έχουν 75% πιθανότητα διάγνωσης καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη και 25% πιθανότητα ανάδειξης καρκίνου. Από την άλλη πλευρά, άνδρες με παθολογική δακτυλική εξέταση συνιστάται να υποβάλλονται σε βιοψία του προστάτη ανεξάρτητα της τιμής PSA που έχουν, αφού έχει αποδειχθεί ότι μέχρι 20% των ασθενών με προστατικό καρκίνο έχουν φυσιολογικές τιμές PSA (<4ng/ml). Στις Η.Π.Α η ευρεία εφαρμογή του PSA οδήγησε σε αύξηση των νεοδιαγνωσθέντων καρκίνων πρώιμου σταδίου, σε νεότερης ηλικίας άνδρες, παρέχοντας την ευκαιρία της έγκαιρης θεραπείας. Την περίοδο 1988-1998, το ποσοστό των ασθενών με μεταστατική νόσο ελαττώθηκε από 17% σε 4%, ενώ το ποσοστό με κλινικά εντοπισμένη νόσο αυξήθηκε από 14% σε 51%. Οι συνολικοί θάνατοι από τη νόσο έχουν περιοριστεί κατά ένα τρίτο σε άνδρες ηλικίας από 50 έως 74 ετών στις ΗΠΑ την περίοδο 1990-2000 και κατά ένα τέταρτο σε άνδρες μια δεκαετία μεγαλύτερους. Να σημειωθεί, ότι η ελάττωση της συνολικής θνητότητας οφείλεται κυρίως στην ελάττωση των ασθενών που διαγνώστηκαν με μεταστατική νόσο. Αντίθετα, στους ασθενείς που διαγνώστηκαν με κλινικά εντοπισμένη νόσο, η θνητότητα αυξήθηκε από το 1990 έως το 1997 και μειώθηκε πάλι ελαφρά από το 1997 και έπειτα. Σε ό,τι αφορά στη μοριακή δομή, φαίνεται ότι το PSA διαθέτει τουλάχιστον 5 διαφορετικά επίτοκα που δρουν ως αντιγόνα, στα οποία συνδέονται τα αντισώματα που χρησιμοποιούν οι διάφορες δοκιμασίες μέτρησής.

Table 1. Sensitivity and Specificity for Prostate Cancer by Cutpoints of Prostate Specific Antigen (PSA). ²		
PSA, ng/mL	Any Cancer (n=1225) vs. No Cancer (n=4362)	
	Sensitivity	Specificity
1.1	83.4	38.9
1.6	67.0	58.7
2.1	52.6	72.5
2.6	40.5	81.1
3.1	32.2	86.7
4.1	20.5	93.8
6.1	4.6	98.5
8.1	1.7	99.4
10.1	0.9	99.7

Εικόνα 15 . Ευαισθησία και ειδικότητα του PSA

Οι κύριες μορφές του PSA βρίσκονται στη συστηματική κυκλοφορία ως: α) ελεύθερο (free) PSA, που κυκλοφορεί χωρίς να σχηματίζει συμπλέγματα με αντιπρωτεάσες και φαίνεται ότι αποβάλλεται με σπειραματική διήθηση. β) συνδεδεμένο (complexed) PSA, το οποίο κυκλοφορεί στον ορό συνδεδεμένο με τις πρωτεάσες α1-αντιχυμοθρυψίνη (α1-ACT), και α2-μακροσφαιρίνη (α2-MG). Εξ αυτών, μόνο το συνδεδεμένο με α1-ACT μπορεί να ανιχνευθεί με τις υπάρχουσες μεθόδους, ενώ το PSA που συνδέεται με την α2-μακροσφαιρίνη δεν ανιχνεύεται καθώς περικλείεται από αυτήν, ώστε να μην παρουσιάζει αντιγονική ιδιότητα. Το ελεύθερο PSA είναι αυτό που διατηρεί την πρωτεολυτική του ικανότητα, ενώ οι συνδεδεμένες μορφές απενεργοποιούν την πρωτεάση. Το συνδεδεμένο PSA πιστεύεται ότι καθαίρεται από τον ορό μέσω του ήπατος, γιατί (α) το μέγεθός του είναι πολύ μεγάλο για σπειραματική διήθηση, και (β) και άλλα συμπλέγματα πρωτεασών καθαίρονται μέσω ηπατικών μηχανισμών. Η έκφραση του PSA επηρεάζεται από τα ανδρογόνα, και η ανίχνευσή του στον προστατικό ιστό σχετίζεται με τα επίπεδα της τεστοστερόνης. Σε απουσία καρκίνου του προστάτη, τα επίπεδα του PSA στον ορό ποικίλουν με την ηλικία, τη φυλή και το μέγεθος του προστάτη.

Το PSA σε άνδρες χωρίς καλοήγη υπερτροφία προστάτη (ΚΥΠ) αυξάνει με ρυθμό 0.04ng/ml/έτος, ενώ σε ΚΥΠ αυξάνει με ρυθμό μεταξύ 0.07 ως 0.27ng/ml/ έτος σε άνδρες 60-85 ετών. Η αύξηση των επιπέδων του PSA μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα διαταραχής της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής που επιτρέπει στο PSA να διαχυθεί μέσα στον προστατικό ιστό και να φθάσει στην κυκλοφορία. Αυτό μπορεί να συμβεί σε νόσους του προστάτη, όπως η καλοήγη υπερπλασία και ο καρκίνος, αλλά και σε χειρισμούς όπως η μάλαξη του προστάτη και η διορθική βιοψία. Επίσης, η φλεγμονή του προστάτη -οξεία ή χρόνια- και η επίσχεση ούρων μπορεί να αυξήσουν τα επίπεδα του PSA. Μετά από βιοψία, τα επίπεδα του PSA μπορεί να παραμείνουν αυξημένα μέχρι και 4 εβδομάδες. Σε ό,τι αφορά στη δακτυλική εξέταση (DRE), δεν φαίνεται να προκαλεί τέτοια αύξηση του PSA που να οδηγεί σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα, καθώς οι

αλλαγές βρίσκονται στα όρια του λάθους των εργαστηριακών δοκιμασιών. Η εκπερμάτιση δεν φαίνεται να προκαλεί αύξηση των επιπέδων του PSA σε άνδρες 30 ως 40 ετών. Ωστόσο, σε ηλικίες άνω των 50 ετών έχει παρατηρηθεί αύξηση του PSA, και γι' αυτό σε οριακή αύξηση με πρόσφατη σεξουαλική δραστηριότητα συνιστάται αποχή, και επανάληψη της εξέτασης 48 ώρες μετά.

Οι αναστολείς της 5α-αναγωγάσης (φιναστερίδη, ντουταστερίδη) προκαλούν μείωση των επιπέδων του PSA κατά 50% περίπου, μετά από 6-12 μήνες αγωγής. Σε άνδρες που πρόκειται να λάβουν αγωγή με τα σκευάσματα αυτά συνιστάται μέτρηση PSA πριν την έναρξη της αγωγής ώστε να υπάρχει μια τιμή αναφοράς, και παρακολούθηση ανά διαστήματα της πτώσης του PSA ορού. Η μη ελάττωση του PSA κατά 50% ή η αύξησή του επί λήψεως αυτών των ουσιών, θα πρέπει να οδηγεί τη διαγνωστική σκέψη σε πιθανή ύπαρξη λανθάνοντος καρκίνου του προστάτη.

Δείκτες-παράγωγα του PSA. i) PSA density. Πρόκειται για δείκτη που προκύπτει από τη διαίρεση του PSA με τον όγκο του προστάτη (σε ml). Διάφοροι παράγοντες συντελούν στη λογική της χρήσης του PSA density: α) μεγάλοι προστάτες έχουν μεγαλύτερη ποσότητα επιθηλίου που εκκρίνει PSA, β) αλλοιώσεις που σχετίζονται με καταστροφή της αρχιτεκτονικής μεταξύ του προστατικού αυλού και των τριχοειδών είναι συχνότερες σε μεγάλους προστάτες, γ) μελέτες συνδέουν τα επίπεδα PSA στον ορό με το μέγεθος της ΚΥΠ. Επίπεδα PSA density άνω του 0,15 προτάθηκαν ως όριο για τη διενέργεια TRUS-βιοψίας σε άνδρες με PSA από 4 ως 10ng/ml, και αρνητική DRE και TRUS5. Η αξία του PSA density δεν έχει επιβεβαιωθεί σε όλες τις μελέτες.

Πιθανοί λόγοι γι' αυτό είναι 1) οι διαφορές στους πληθυσμούς ασθενών, 2) το γεγονός ότι το PSA density είναι εξέταση εξαρτώμενη από το χειριστή, 3) διαφορές στη μεθοδολογία της βιοψίας, 4) διαφορές στη μέθοδο στατιστικής ανάλυσης, και 5) το ότι η σχέση επιθηλίου/ινώδους διαφέρει από ασθενή σε ασθενή. ii) PSA μεταβατικής ζώνης (PSA-TZ). Πρόσφατες μελέτες από τον Djavan και συνεργάτες (1999) έδειξαν ότι η συσχέτιση του PSA με τον όγκο της μεταβατικής ζώνης (TZ), είναι η καλύτερη παράμετρος με την υψηλότερη συνολική αξία (ειδικότητα και ευαισθησία) για την ανίχνευση CaP σε 974 άνδρες με επίπεδα PSA από 4 ως 10ng/ml⁶. Η μέθοδος εξακολουθεί ωστόσο να βρίσκεται υπό διερεύνηση. Πρόβλημα στη χρήση της μεθόδου αποτελεί η μέτρηση με διορθικό υπέρηχο της μεταβατικής ζώνης, που εξαρτάται από το χειριστή, και συνεπώς αποτελεί υποκειμενική μέθοδο μέτρησης. iii) PSA velocity. Για επίπεδα PSA από 4 ως 10ng/ml, έχει καθορισθεί από το 1992 ότι ρυθμός αύξησης πάνω από 0.75ng/ml /έτος σχετίζεται με αυξημένα ποσοστά ανίχνευσης καρκίνου. Συγκεκριμένα, το 72% των ανδρών με καρκίνο είχαν υψηλό ρυθμό αύξησης PSA, ενώ μόνο 5% των ανδρών χωρίς καρκίνο προστάτη είχαν ρυθμό αύξησης πάνω από 0.75ng/ml/έτος.

Σε PSA κάτω από 4ng/ml, δεν έχουν ακόμη καθορισθεί όρια PSA velocity. Σε σύγκριση με το ολικό PSA προκαλεί μείωση της ευαισθησίας από το 78 στο 72%, αλλά αύξηση της ειδικότητας από 60 στο 90%.

Επίσης, δεν έχει ακόμη πλήρως καθορισθεί το διάστημα παρακολούθησης του PSA που επαρκεί για την τεκμηρίωση της αύξησης.

Μελέτες των Smith & Catalona, Carter και Kadmon θεωρούν ως ελάχιστο διάστημα μέτρησης τους 18 μήνες⁷. Τέλος, τουλάχιστον 3 μετρήσεις για να καθορισθεί ο μέσος ρυθμός μεταβολής του PSA φαίνεται να αρκούν για να μεγιστοποιηθεί η ακρίβεια της μεθόδου, σε διάστημα 2 ή περισσότερων ετών.

iv) Συσχέτιση PSA με την ηλικία (age-specific PSA) Οι λόγοι της χρήσης του age-specific PSA ως παράγοντα βελτίωσης της ικανότητας του PSA στην ανίχνευση καρκίνου είναι:

α) η ενσωμάτωση της παρατήρησης στις τιμές του γεγονότος ότι τα επίπεδα του PSA προοδευτικά αυξάνουν με την ηλικία, πιθανά λόγω αύξησης του αριθμού των αλλοιώσεων στον προστάτη που αυξάνουν τη διαφυγή PSA προς τα τριχοειδή, β) η αύξηση της επίπτωσης του καρκίνου του προστάτη με την ηλικία, και γ) η θεωρία ότι η χρήση χαμηλότερων επιπέδων ορίου PSA σε νέους άνδρες αυξάνει την ευαισθησία, ενώ η χρήση υψηλότερων επιπέδων PSA σε μεγαλύτερες ηλικίες βελτιώνει την ειδικότητα.

Ωστόσο, δεν έχει τεκμηριωθεί η ικανότητα της χρήσης του age-specific PSA να παρέχει συγκρίσιμα αποτελέσματα με τη χρήση των 4ng/ml ως ορίου, ιδίως στον προσυμπτωματικό έλεγχο (screening) και για την έγκαιρη ανίχνευση καρκίνου. Σε σύγκριση με το όριο των 4ng/ml, προκαλεί αύξηση της θετικής προγνωστικής αξίας από 37 σε 42%, με ταυτόχρονη μείωση του ποσοστού ανίχνευσης καρκίνου.

v) Ελεύθερο/ολικό PSA ή Ratio PSA (f/t PSA) Από το 1993 και μετά, πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι σε άνδρες με καρκίνο παρατηρείται αύξηση του κλάσματος του συνδεδεμένου PSA, και μείωση του κλάσματος του ελεύθερου PSA συγκριτικά με άνδρες χωρίς καρκίνο του προστάτη⁹. Η σημαντικότερη αξία της χρήσης του ratio PSA στην ανίχνευση του καρκίνου του προστάτη είναι η συγκριτικά πολύ μεγαλύτερη ειδικότητα της μεθόδου σε δεδομένες σταθερές τιμές ευαισθησίας. Από τον έλεγχο και τη σύγκριση του ratio PSA με το ολικό PSA, δεν παρατηρούμε στατιστικά σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά όλο το εύρος τιμών του PSA. Αν όμως ελέγξουμε το εύρος τιμών από 4-10ng/ml, παρατηρείται μια σαφής υπεροχή προς όφελος του ratio PSA. Εν συντομία, οι κύριες ενδείξεις χρήσης του ratio PSA σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι: α) η μέτρησή του στο εύρος τιμών 4-10ng/ml, β) η αξία του ως ένας επιπρόσθετος παράγων αξιολόγησης για επαναληπτική βιοψία, και γ) η πιθανή χρήση του στο εύρος τιμών <4ng/ml (και ιδίως στο εύρος τιμών από 2.6 ως 4.0ng/ml, σύμφωνα με τα ευρήματα του Catalona)¹⁰. Επίσης, σε μελέτη στο Eur Urol (2002), αναφέρεται ότι η μέτρηση του ratio PSA έχει αξία και στο εύρος τιμών PSA από 10 ως 20ng/ml¹¹.

Οι κυριότεροι προβληματισμοί που σχετίζονται με τη χρήση του ratio PSA αφορούν κατ' αρχήν στη συσχέτιση της τιμής του ratio PSA με το μέγεθος του προστάτη, που δυσχεραίνει τον προσδιορισμό ενός και μοναδικού ορίου. Επίσης, φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση της τιμής του PSA τόσο με την ηλικία, όσο και με την επίπτωση του καρκίνου. Από τη βιβλιογραφία δεν έχει σαφώς προσδιορισθεί ένα ιδανικό όριο

για διάκριση των υποψηφίων ασθενών προς βιοψία, ο προσδιορισμός δε ενός τέτοιου ορίου που να επιτυγχάνει την καλύτερη σχέση ευαισθησίας και ειδικότητας συναρτάται με το μέγεθος του προστάτη, καθώς η επικάλυψη του fPSA είναι μεγαλύτερη ανάμεσα σε άνδρες χωρίς καρκίνο που έχουν μεγάλο προστάτη και σε αυτούς με καρκίνο επί εδάφους μεγάλου προστάτη. Τα όρια που έχουν χρησιμοποιηθεί στις πιο πολλές μελέτες βρίσκονται μεταξύ 0.21 και 0.27 για τιμές PSA από 4 ως 10ng/ml, που επιτυγχάνουν μείωση των αρνητικών βιοψιών κατά 20 έως 31%. Ο κίνδυνος δε για εμφάνιση καρκίνου σε τιμές ratio PSA 0-10% φθάνει το 56%, ενώ σε ratio PSA πάνω από 25% μόνο το 8%.

vi) Νέες ισομορφές του ελεύθερου PSA Είναι σαφές πλέον από την έρευνα των τελευταίων ετών ότι το ελεύθερο PSA δεν αποτελεί ένα ομοιογενές κλάσμα, αλλά ότι υπάρχουν 3 τουλάχιστον διακριτές μορφές ανενεργού PSA¹²: 1) το pPSA (ή πρόδρομο PSA), το οποίο έχει παρατηρηθεί στο επιθήλιο των πόρων του προστάτη ως ανενεργός μορφή με παρουσία ενός πεπτιδίου 7 αμινοξέων πέρα από τα 237 αμινοξέα του ώριμου PSA. Το πεπτίδιο αυτό απομακρύνεται εξωκυτταρικά παράγοντας το ενεργό-ώριμο PSA. Στο σπέρμα δεν έχει ανευρεθεί, που σημαίνει ότι η μετατροπή του είναι πλήρης. Διάφορες μορφές-κλάσματα του pPSA έχουν ανευρεθεί (2,4,5,7 pPSA), η δε παρουσία του pPSA έχει βρεθεί σε έως και 5πλάσια συγκέντρωση στον ορό ασθενών με PSA, συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες. 2) το BPSA, που έχει ανευρεθεί στον προστατικό ιστό της μεταβατικής ζώνης, και έχει βρεθεί σε υψηλές αναλογίες στον ορό ασθενών με αρνητική βιοψία και αυξημένο PSA. 3) η ανενεργός μορφή του PSA (inactive, iPSA), του οποίου η παρουσία δεν έχει ακόμη πλήρως διευκρινισθεί αν σχετίζεται με καλοήγη ή κακοήγη νόσο. Πιθανώς στο κοντινό μέλλον η συνδυασμένη χρήση των ανωτέρω δεικτών να οδηγήσει σε βελτίωση της ικανότητας ανίχνευσης καρκίνου προστάτη.

vii) Συνδεδεμένο PSA (complexed PSA) Πρόσφατα σχετικά παρουσιάστηκε μία νέα εργαστηριακή μέθοδος προσδιορισμού του συνδεδεμένου PSA. Το συνδεδεμένο PSA, ή cPSA, αντιστοιχεί στο κλάσμα εκείνο που είναι ενωμένο με την α 1-ACT, καθώς το κλάσμα που είναι συνδεδεμένο με την α 2-MG δεν μπορεί να ανιχνευθεί με τις υπάρχουσες μεθόδους.

Οι αρχικές μελέτες που εμφανίστηκαν από το 1998 (Brawer et al, 1998) υποστήριζαν ότι το cPSA υπερτερεί των άλλων δεικτών στη διάγνωση¹³. Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η μέτρηση του cPSA ως μία και μοναδική εξέταση στο αίμα έχει την ίδια αξία για την αναγνώριση ανδρών με CaP όπως η μέτρηση του tPSA και του fPSA (2000). Υπάρχουν αρκετές πρόσφατες εργασίες στη διεθνή βιβλιογραφία που δείχνουν ότι το cPSA μόνο του υπερτερεί του tPSA, το c/tPSA είναι περίπου ισάξιο του f/tPSA, ενώ το cPSA είναι ελαφρά υποδεέστερο του ratio PSA. Πρόσφατες εργασίες δείχνουν ότι το ratio PSA υπερέρχει -ελαφρά- τόσο του c/t PSA, όσο και (περισσότερο) του cPSA. Τέλος, στο εύρος τιμών PSA από 2.6 ως 4.0ng/ml φαίνεται σε πρόσφατη μελέτη ότι το cPSA είναι ισάξιο του f/tPSA, και προτείνεται ως μοναδική εξέταση πριν από τη βιοψία, συγκριτικά με τις δύο δοκιμασίες για τον προσδιορισμό του ελεύθερου και του ολικού PSA¹⁴.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καρκίνος του προστάτη αντιπροσωπεύοντας τον πρώτο σε συχνότητα καρκίνο του ουροποιογεννητικού συστήματος, έχει αποτελέσει θέμα πολλών ερευνητικών εργασιών όσο αφορά στην παθογένεση του. Την τελευταία δεκαετία, ιδιαίτερο ενδιαφέρον δόθηκε στη μοριακή βιολογία για την εξήγηση της ανάπτυξης νέου εξεργασίας στον προστάτη.

Η κακοήθης εξαλλαγή του φυσιολογικού κυττάρου προϋποθέτει μια πολύπλοκη, σε πολλά στάδια διαδικασία, που τελικά οδηγεί στη δημιουργία ενός κλώνου κυττάρων με αυτόνομη ανάπτυξη. Η μοριακή βιολογία έφερε στο προσκήνιο τα ογκογονίδια και κυρίως τη συμμετοχή τους στα διάφορα στάδια της καρκινογένεσης. Κυρίως δύο κατηγορίες γονιδίων εμπλέκονται στη καρκινογένεση: τα ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Τα πρώτα έχουν τη δυνατότητα ενεργοποιούμενα να προκαλέσουν κακοήθη εξαλλαγή ενώ αντίθετα η έκφραση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων αναστέλλει την κυτταρική ανάπτυξη και επομένως τον καρκινικό φαινότυπο. Το ογκο-κατασταλτικό γονίδιο p53 είναι το γονίδιο "που ενοχοποιείται" συχνότερα σε όγκους του ανθρώπου ⁽¹⁾. Η πρωτεΐνη p53, δρα ως παράγοντας μεταγραφής, ρυθμίζοντας την έκφραση γονιδίων απαραίτητων για την κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση, την επιδιόρθωση του DNA μετά από βλάβες και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση), με κύριο στόχο δράσης της την καταστολή της ογκογένεσης που προκαλείται από γενοτοξικούς παράγοντες (χημικά, ακτινοβολίες, κτλ). Οι δραστηριότητες αυτές πραγματώνονται από τη μη μεταλλαγμένη πρωτεΐνη, μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλες ρυθμιστικές πρωτεΐνες και πρόσδεσης σε ειδικές αλληλουχίες γονιδίων. Οι μηχανισμοί απενεργοποίησης της p53 πρωτεΐνης κατά την καρκινογένεση περιλαμβάνουν σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου, απενεργοποίηση της πρωτεΐνης από ιικά και κυτταρικά προϊόντα, διαταραχές στη θέση της μέσα στο κύτταρο και αναστολή από κυτταρικά ρυθμιστικά μόρια⁽²⁾ Πρόσφατα, ταυτοποιήθηκε ένα καινούργιο γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη της οποίας η αμινοξική ακολουθία εμφανίζει σημαντική ομοιότητα με την πρωτεΐνη p53 ⁽³⁾. Το γονίδιο της p73 έχει χαρτογραφηθεί στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 1, στη περιοχή 1 p36, μια περιοχή η οποία συχνά υφίσταται χρωμοσωμικές απαλλείψεις σε νεοπλασίες του ανθρώπου. Η πρωτεΐνη p73 εμφανίζει ομοιότητες με τις περιοχές πρόσδεσης στο DNA, trans-ενεργοποίησης και ολιγομερισμού της πρωτεΐνης p53 ⁽⁴⁾. Το γονίδιο p73 κωδικοποιεί δύο ισόμορφες, τις p73α και p73β, οι οποίες αποτελούν το αποτέλεσμα του εναλλακτικού ματίσματος (alternative splicing) στο εξόνιο 13 και ως εκ τούτου διαφέρουν στο καρβόξυ τελικό άκρο. Οι δομικές ομοιότητες της πρωτεΐνης p73 με την πρωτεΐνη p53 οδηγούν στην υπόθεση ότι και η πρωτεΐνη p73 διαθέτει το δυναμικό

ενεργοποίησης γονιδίων στόχων της p53 ή ακόμα και να αλληλεπιδρά με την p53, ρυθμίζοντας κυτταρικές λειτουργίες με τρόπο όμοιο με αυτό της p53^(5,6). Η πρωτεΐνη p53 μπορεί να προσδένεται σε μια σειρά γονιδίων, επάγοντας έτσι τη μεταγραφή τους ή μπορεί να αλληλεπιδρά με τα προϊόντα γονιδίων, στα οποία συμπεριλαμβάνονται παράγοντες αντιγραφής του DNA, ιικά πρωτεϊνικά προϊόντα και προϊόντα ογκογονιδίων^(7,8). Ανάμεσα στα γονίδια στόχους της p53 είναι και το γονίδιο p21, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1, ύστερα από βλάβη του DNA^(9,10)

Υπερέκφραση του p21 (το οποίο αποτελεί προϊόν του ογκογονιδίου c-Ha-Ras) καθώς και απώλεια γενετικού υλικού από το μακρύ βραχίονα του χρωματοσώματος 9 και το βραχύ βραχίονα των χρωματοσωμάτων 11 και 17 έχουν αποδειχθεί σε ένα μεγάλο ποσοστό περιπτώσεων καρκίνου του προστάτη⁽¹¹⁾. Οι αλλοιώσεις όμως αυτές εμφανίζονται σε προχωρημένα στάδια της νόσου ή σε υψηλής κακοήθειας καρκίνους.

Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση του ρόλου των γονιδίων p73, p53 και p21 στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου σε υπερπλασίες και κακοήθειες του προστάτη.

Δεδομένης της δομικής ομοιότητας του γονιδίου p73 με το γονίδιο p53 θα ήταν ενδιαφέρον να συσχετιστούν τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων αυτών, αποκαλύπτοντας έτσι και πιθανή λειτουργική ομοιότητα των δύο αυτών γονιδίων. Με τον τρόπο αυτό, θα μπορέσουμε να αποκαλύψουμε πιθανούς μηχανισμούς που ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων αυτών. Για τη μελέτη θα χρησιμοποιηθούν δείγματα προερχόμενα τόσο από υπερπλασίες, όσο και από καρκινικά δείγματα προερχόμενα από προστάτη για να μπορέσουμε να συγκρίνουμε μοριακές και γενετικές αλλοιώσεις σε γονίδια που εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, σε καλοήθειες και κακοήθειες καταστάσεις και θα αποκαλυφθούν τυχόν ομοιότητες και διαφορές στους διάφορους αυτούς τύπους νεοπλασιών, αναφορικά με το μοριακό "μονοπάτι" που ακολουθείται σε κάθε περίπτωση.

Η κύρια μέθοδος που θα χρησιμοποιηθεί θα είναι η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (Polymerase Chain Reaction – PCR). Η RT-PCR αποτελεί μια εργαστηριακή μέθοδο με την οποία επιτυγχάνεται η σύνθεση ενός μεγάλου αριθμού ανατύπων DNA, χρησιμοποιώντας σαν εκμαγείο λίγα ή ακόμα και ένα μόριο συγκεκριμένου τμήματος DNA με καθορισμένο μέγεθος και αλληλουχία. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία και ταχύτητα. Η αρχή της μεθόδου PCR βασίζεται σε εκλεκτικό ενζυμικό πολλαπλασιασμό ορισμένου τμήματος DNA, που καθορίζεται δεξιά και αριστερά από συγκεκριμένα ολιγονουκλεοτίδια εκκινητές (primers). Ο κάθε εκκινητής έχει συμπληρωματική αλληλουχία με τη μια μόνο από τις δύο αλυσίδες του εκμαγείου του DNA, ενώ ο άλλος με τη συμπληρωματική αλυσίδα.

Κατά το χρονικό διάστημα δυο ετών από τον Σεπτέμβριο του 2000 έως τον Νοέμβριο του 2002, ελήφθησαν τυχαία δείγματα φρέσκου προστατικού ιστού από 44 ασθενείς με υπερπλασία προστάτη που είχαν υποβληθεί σε διακυστική ή διουρηθρική προστατεκτομή και 35 δείγματα καρκίνου του προστάτη από αντιστοίχους ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε ριζική προστατεκτομή για διαφορετικού σταδίου και βαθμού κακοήθειας προστατικό καρκίνο. Παράλληλα ελήφθησαν και 14 δείγματα φρέσκου φυσιολογικού προστατικού ιστού από πτωματικούς δότες νεαρής ηλικίας τα οποία αμέσως μετά την λήψη φυλάσσονταν σε υγρό άζωτο και σε βαθιά κατάψυξη στους -80°C (Πιν.1)

Σε πρώτη φάση έγινε απομόνωση του γενετικού υλικού τόσο από τα δείγματα του υπερπλαστικού όσο και του καρκινικού ιστού. Η απομόνωση του DNA έγινε με χρήση του ενζύμου πρωτεϊνάσης K, φαινόλης-χλωροφορμίου και η κατακρήμνιση του με τη βοήθεια αιθανόλης και χλωριούχου νατρίου. Η απομόνωση του RNA έγινε με τη μέθοδο του RNA solB και η κατακρήμνισή του με τη βοήθεια ισοπροπανόλης και χλωριούχου λιθίου. Αρχικά έγινε απομόνωση του RNA, ακολούθησε μετατροπή του σε cDNA και όλα τα δείγματα στη συνέχεια αποθηκεύθηκαν στους -80°C μέχρι περαιτέρω χρήσης τους.

Σε ένα δεύτερο στάδιο ακολούθησε ενίσχυση των προς μελέτη DNA αλληλουχιών με την εφαρμογή κατάλληλου προγράμματος για την αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση χρησιμοποιώντας β2-μικροσφαιρίνη σαν εσωτερικό μάρτυρα. Στο στάδιο της σύζευξης των εκκινητών με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες στις αλυσίδες του DNA, χρησιμοποιήθηκαν διάφορα ζεύγη εκκινητών μέχρι να επιτευχθεί ικανοποιητικό αποτέλεσμα. Η ανάλυση της κινητικότητας των προϊόντων της PCR, έγινε με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης ή ακριλαμιδίου. Επιπλέον έγινε χρήση ενός επιπλέον σετ εκκινητών για την ανίχνευση των επιπέδων των ισόμορφων p73 με ή χωρίς το εξόνιο 13. Στην φάση αυτήν της έρευνας μελετήθηκαν τα μεταγραφικά επίπεδα των p53, p73, MDM2, και p21WAF1/CIP1 σε 15 προστατικά καρκινώματα (T1a-T2β,N0-1,M0), 21 καλοήθεις υπερτροφίες προστάτου στις οποίες συμπεριλαμβάνονται και δώδεκα ιστολογικά ευρήματα οξείας ή και χρόνιας φλεγμονής και οκτώ φυσιολογικούς ιστούς από πτωματικούς δότες κάτω των 30 ετών. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με χρήση του SPSS statistic software.

Table 1. Clinical profiles of patients

Feature	Prostate Cancer	Benign Prostatic Hyperplasia		
		Non-Acute Inflammatory	Chronic Inflammatory	Acute Inflammatory
Cases	35	44	25	17
Mean Age ± SD (years)	68.9 ± 5.8	72.7 ± 6.8	72.2 ± 7.9	67.6 ± 6.5
PSA ± SD (ng/ml)	54.6 ± 96.8	5.3 ± 4.3	6.2 ± 5.2	11.6 ± 7.2
<4.0	5	18	5	3
4.0-10.0	7	21	16	3
10.1-20.0	5	3	2	8
>20.0	18	2	2	3
Stage				
Low (T1a-T2a)	19			
High (T2b-T3)	16			
Grade (differentiation)				
Well	9			
Moderately	15			
Poorly	11			
Total Gleason score				
2-6	22			
7-10	13			

Πίνακας 1: Κλινικό προφίλ των ασθενών στην μελέτη

ΜΕΘΟΔΟΙ

Συλλογή Δειγμάτων

Η συλλογή των δειγμάτων έγινε από την Ουρολογική Κλινική και το Ιατροδικαστικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου του Ηρακλείου. Συλλέχθηκαν 14 φυσιολογικοί προστάτες από νεκροτομικό υλικό. Η συλλογή των δειγμάτων γινόταν μέχρι 8 ώρες μετά την ώρα θανάτου, ενώ τα άτομα ήταν νεαρής ηλικίας (μέχρι 30 ετών) ώστε να μην υπάρχει πιθανότητα ανάπτυξης υπερπλασίας ή καρκίνου του προστάτη. Επίσης συλλέχθηκαν 44 καλοήθεις υπερπλασίες και 35 αδενοκαρκινώματα προστάτη. Η πιστοποίηση κάθε δείγματος έγινε με εξέταση ιστολογικού παρασκευάσματος στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Τα δείγματα αμέσως μετά τη συλλογή τους φυλάσσονται σε θερμοκρασία -80°C μέχρι την επεξεργασία τους. Εκτός από τους ιστούς, συλλέχθηκε περιφερικό αίμα από όλους τους ασθενείς σε σωληνάκι αιμοδοσίας με αντιπηκτικό (EDTA), για να χρησιμοποιηθεί σε γονοτυπικές μελέτες ως πηγή φυσιολογικού DNA. Το αίμα φυλάσσεται μετά την αιμοληψία στους 4°C . Σε κάθε ασθενή συλλέχθηκαν επίσης διάφορα κλινικοπαθολογικά στοιχεία (ηλικία, επίπεδα PSA στο αίμα, Gleason score και TNM για τα αδενοκαρκινώματα, ύπαρξη ή όχι οξείας ή χρόνιας προστατίτιδας στους ασθενείς με καλοήγη υπερπλασία προστάτη)

Table 2. PCR primers used in this study

Primers	Sequence (5' – 3')	PCR product (bp)
p53-F p53-R	TTT GGG TCT TTG AAC CCT TG CCA CAA CAA AAC ACC AGT GC	117
MDM2-F MDM2-R	TGA AGG TTT CTC TTC CTG AAG C AAG GTG GGA GTG ATC AAA AGG	180
CDKN1A-F CDKN1A-R	ATT CAG CAT TGT GGG AGG AG TGG ACT GTT TTC TCT CGG CT	131
ABL1-F ABL1-R	CAG GGG TCA GGT GTC AGG AAT TCG AGG ACA GAG ACG GA	222
p73-F p73-R	GGA CGT CTT CCA CCT GGA G GTA GTC GGT GTT GGA GGG G	216
p73_exon13-F p73_exon13-R	TTT TAA CAG GAT TGG GGT G CTC AAT GGT CAG GTT CTG C	91
p73_exon2-F p73_exon2-R	CAC CAC GTT TGA GCA CCT C CGC CCA CCA CCT CAT TAT T	96
β2-microglobulin-F β2-microglobulin-R	TCC AAC ATC AAC ATC TTG GT TCC CCC AAA TTC TAA GCA GA	123

Πίνακας 2: Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη

Εκχύλιση RNA από ιστούς

Σε όλους τους ιστούς έγινε εκχύλιση ολικού RNA με τη χρήση του πρωτοκόλλου του TRIzol (Invitrogen Corp). Οι ιστοί ομογενοποιούνται παρουσία του TRIzol και το RNA εκχυλίζεται με τη βοήθεια χλωροφορμίου, κατακρημνίζεται με τη χρήση ισοπροπανόλης, ξεπλένεται με απόλυτη αιθανόλη και επαναδιαλύεται σε 50-100μl DEPC (diethyl pyrocarbonate) treated H₂O.

Εκχύλιση DNA από ιστούς

Αρχικά οι ιστοί επωάζονται σε διάλυμα αλάτων (Reagent B) παρουσία του ενζύμου πρωτεΐνάση K, η οποία και διασπά όλες τις πρωτεΐνες. Το DNA εκχυλίζεται με τη χρήση διαλύματος φαινόλης-χλωροφορμίου,

κατακρημνίζεται με απόλυτη αιθανόλη παρουσία NaCl, ξεπλένεται με 70% αιθανόλη και επαναδιαλύεται σε 100μl δις-απεσταγμένο νερό (ddH₂O).

Έλεγχος της ποιότητας του DNA σε πήκτωμα αγαρόζης

Ο έλεγχος της ποιότητας εκχύλισης του DNA γίνεται με την ανάλυση του σε πήκτωμα αγαρόζης παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου. Το DNA γίνεται ορατό κάτω από λάμπα υπεριώδους φωτός.

Έλεγχος της ποιότητας του RNA σε πήκτωμα αγαρόζης

Προκειμένου να εξετάσουμε την ακεραιότητα του RNA, περίπου 5μg RNA επαναδιαλύονται σε 25μL απιονισμένου φορμαμιδίου 50% (v/v), 1x MOPS διάλυμα (0,02 M MOPS, 50mM οξικό νάτριο και 10μM EDTA , pH 8,0) και 16% φορμαλδεΰδη. Ακολουθεί αποδιάταξη των δειγμάτων στους 65°C για 25 λεπτά και ψύξη σε πάγο. Προστίθενται 2,5μL φόρτωσης (50% γλυκερόλη, 1mM EDTA και 0,25% κυανούν της βρωμοφαινόλης). Τα δείγματα ηλεκτροφορούνται σε πήκτωμα αγαρόζης 1% (σε 1x διάλυμα MOPS και 2,2M φορμαλδεΰδη). Στο τέλος της ηλεκτροφόρησης, το πήκτωμα ανακινείται σε απεσταγμένο νερό για μία ώρα για την απομάκρυνση της φορμαλδεΰδης και βάφεται σε διάλυμα βρωμιούχου αιθιδίου 0,5ng/mL.

Φωτομέτρηση RNA και DNA

Για να προσδιοριστεί η ποσότητα και η καθαρότητα του RNA και του DNA κάθε δείγματος, έγινε φωτομέτρηση τους στα 260 και στα 280nm. Από την απορρόφηση στα 260nm προσδιορίζεται η συγκέντρωσή τους, ενώ ο λόγος 260/280 δίνει την καθαρότητα τους (κατά πόσο υπάρχουν υπολείμματα πρωτεϊνών ή και DNA στην περίπτωση του RNA). Λόγοι από 1.8 έως 2.0 είναι ιδανικοί για το RNA και από 1.5 έως 1.8 για το DNA.

Αντίστροφη Μεταγραφή

3 μg RNA από κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση του cDNA, με τη χρήση τυχαίων εκκινητών (random hexamers) και του ενζύμου της αντίστροφης μεταγραφάσης Thermoscript. Αρχικά το RNA μαζί με τους τυχαίους εκκινητές (Πιν.2) και τα dNTPs θερμαίνονται στους 65°C για 5 λεπτά ώστε να

αποδιαταχθούν οι δευτεροταγείς δομές. Κατόπιν το μείγμα τοποθετείται στον πάγο, όπου προστίθεται η Thermoscript. Στη συνέχεια τα δείγματα επωάζονται στους 25°C για 10 λεπτά ώστε να προσδεθούν οι τυχαίοι εκκινητές στην αλληλουχία στόχο και η αντίστροφη μεταγραφή τελείται στους 55°C για 50 λεπτά. Η αντίδραση τερματίζεται με την απενεργοποίηση του ενζύμου θερμαίνοντας τα δείγματα στους 85°C για 5 λεπτά. Το cDNA αποθηκεύεται στους -20°C μέχρι τη χρήση του.

Αλυσιδωτή αντίδραση Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction)

Αρχή μεθόδου: Η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR) επινοήθηκε το 1985 από τον Mullis και συν. και έφερε πραγματική επανάσταση στην μοριακή βιολογία με εφαρμογές από την μοριακή έρευνα στην κλινική πράξη. Η μέθοδος αυτή επιτυγχάνει σε ελάχιστο χρόνο, που δεν υπερβαίνει τις 2-3 h, την ενίσχυση με εκθετικό τρόπο, συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA, ώστε να είναι δυνατή η μελέτη τους και ο περαιτέρω χειρισμός τους. Η τεράστια απόδοση της αντίδρασης κάνει δυνατή την ενίσχυση αλληλουχιών, ακόμα και όταν αυτές βρίσκονται σε ελάχιστο αριθμό αντιγράφων ή το DNA έχει υποστεί μία σχετική αποδιάταξη.

Το υπόστρωμα DNA επωάζεται σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει την θερμοανθεκτική Taq DNA πολυμεράση που προέρχεται από θερμοφιλά βακτήρια, μίγμα δεσοξυριβονουκλεοτιδίων (dNTPS) και το ζεύγος των εκκινητών (primers). Αρχικά γίνεται θερμική αποδιάταξη του DNA στους 95°C για 5min και ακολουθούν 30-40 κύκλοι 95°C (αποδιάταξη), 55-60°C (υβριδισμός των εκκινητών) και 72°C (πολυμερισμός), διάρκειας περίπου 30sec το κάθε βήμα. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η εκθετική αύξηση του αριθμού των αντιγράφων του DNA σύμφωνα με την εξίσωση $N=N_0(1+e)^n$, όπου N η τελική ποσότητα του προϊόντος, N_0 η αρχική ποσότητα του υποστρώματος, e η απόδοση της αντίδρασης και n ο αριθμός των κύκλων της PCR αντίδρασης.

Παράγοντες που επιδρούν στην PCR:

Οι κυριότεροι παράγοντες που συνεισφέρουν στην επίτευξη ικανοποιητικής αντίδρασης πολυμερισμού όσον αφορά την ευαισθησία, την εξειδίκευση αλλά και την απόδοση, περιγράφονται στην συνέχεια:

Επιλογή κατάλληλων εκκινητών: Η ειδικότητα της PCR αντίδρασης ως προς την αλληλουχία που πρόκειται να ενισχυθεί εξαρτάται από τους εκκινητές. Ο καλός σχεδιασμός για την επιλογή εκκινητών αποτελεί σημαντικότατο παράγοντα για την επιτυχία της PCR. Στατιστικά, έχει βρεθεί ότι όταν μία αλληλουχία DNA έχει μήκος τουλάχιστον 20 bp, τότε είναι μοναδική στο γονιδίωμα και κατά συνέπεια, για να επιτευχθεί

ειδική ενίσχυση αλληλουχιών πρέπει οι εκκινητές να είναι τουλάχιστον 20-μερή. Προτιμούνται εκκινητές που (α) έχουν περιεκτικότητα σε γουανίνη (G) και κυτοσίνη (C) παρόμοια με το τμήμα DNA που θα ενισχυθεί, (β) δεν έχουν σημαντική δευτεροταγή δομή ούτε αλληλεπικάλυψη ειδικά στο 3' άκρο, (γ) δεν έχουν εκτάσεις από πολυπυρίνες ή πολυπυριμιδίνες και (δ) το ζεύγος των εκκινητών δεν εμφανίζει συμπληρωματικότητα και δε σχηματίζει διμερή (primer dimers) με αποτέλεσμα την παραγωγή μη ειδικών προϊόντων.

Επιλογή θερμοκρασίας υβριδοποίησης εκκινητών (annealing temperature): Η θερμοκρασία υβρισμού ποικίλλει ανάλογα με το μήκος και τη σύσταση των εκκινητών σε βάσεις GC, και το είδος του υποστρώματος DNA. Ως ιδανική θερμοκρασία υβριδισμού T_m θεωρείται αυτή στην οποία το 50% των μορίων είναι αποδιατεταγμένο.

Υψηλές θερμοκρασίες επιτυγχάνουν περισσότερο εξειδικευμένο υβριδισμό, χαμηλής όμως απόδοσης. Η επιλογή χαμηλότερης θερμοκρασίας αυξάνει την απόδοση σε βάρος της ειδικότητας, με αποτέλεσμα τον κίνδυνο δημιουργίας παραπροϊόντων της PCR.

Επιλογή συγκέντρωσης δεσόξυριβονουκλεοτιδίων (dNTPs) και ιόντων Mg: Τα ιόντα Mg^{2+} είναι μεταλλικός συμπαράγοντας της Taq πολυμεράσης και η μεν περίσσεια τους μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του μη ειδικού προϊόντος λόγω αύξησης της ενεργότητας της πολυμεράσης, η δε έλλειψή της οδηγεί σε μειωμένη απόδοση προϊόντος. Με δεδομένο ζεύγος εκκινητών, συνήθως η κανονικοποίηση των συνθηκών σε μία αντίδραση PCR, περιλαμβάνει πειράματα όπου σταδιακά μεταβάλλονται ανεξάρτητα μεταξύ τους η θερμοκρασία αναδιάταξης και η συγκέντρωση ιόντων Mg^{2+} .

Αριθμός κύκλων: Συνήθως ο βέλτιστος αριθμός κύκλων είναι 25-30 και προσδιορίζεται πειραματικά με βάση την καλύτερη δυνατή απόδοση προϊόντος με το λιγότερο μη ειδικό προϊόν. Μετά από έναν αριθμό κύκλων η αντίδραση φτάνει σε μια στατική φάση (plateau) κατά την οποία νέα αύξηση του αριθμού των κύκλων δεν οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης. Για ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων της PCR απαραίτητη προϋπόθεση είναι να τερματίσει η αντίδραση, ενώ ακόμα βρίσκεται στην εκθετική της φάση. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να γίνει γραμμική αντιστοιχισή της τελικής ποσότητας προϊόντος στην αρχική ποσότητα υποστρώματος. Συνήθως επιτελούνται προκαταρκτικά πειράματα με διαδοχικές αραιώσεις αρχικού υποστρώματος (δημιουργία πρότυπης καμπύλης), ώστε να βρεθούν οι συνθήκες εκείνες όπου διατηρείται η γραμμική αυτή σχέση. Ακόμα περισσότερο αξιόπιστη είναι η συνενίσχυση με την αλληλουχία στόχο, σταθερής ποσότητας υποστρώματος στο οποίο οι θέσεις αναγνώρισης των εκκινητών ταυτίζονται με αυτή της αλληλουχίας-στόχου. Με τον τρόπο αυτό επιτελείται συναγωνισμός ανάμεσα στις δύο αλληλουχίες που συνενισχύονται, οπότε η αφθονία των αρχικών αντιγραφών της αλληλουχίας στόχου εκφράζεται σαν ο λόγος της ως προς την ένταση της ζώνης που αντιστοιχεί στον συναγωνιστή. Παρουσία ενισχυτών και αναστολέων: Αναστολείς μπορεί να υπάρχουν είτε στα βιολογικά δείγματα είτε στα χημικά αντιδραστήρια.

Παράδειγμα αναστολέων είναι ιοντικά επιφανειοδραστικά όπως το SDS. Ουσίες-ενισχυτές της αντίδρασης αποτελούν το φορμαμίδιο (5%), πολυαιθανογλυκόλη (PEG) (5-15%) κ.α.

Αντίστροφη μεταγραφή–αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (RTPCR)

Είναι μια παραλλαγή της PCR, η οποία χρησιμοποιείται συνήθως για τον ποσοτικό προσδιορισμό της έκφρασης του mRNA των γονιδίων. Ως υπόστρωμα της αντίδρασης χρησιμοποιείται συμπληρωματικό DNA (cDNA), μετά την αντίστροφη μεταγραφή του mRNA στόχου. Μαζί με το γονίδιο στόχο ενισχύεται και ένα γονίδιο αναφοράς, συνήθως ένα γονίδιο βασικής ενδοκυτταρικής λειτουργίας (housekeeping gene), το οποίο εκφράζεται χωρίς μεγάλες αποκλίσεις στον ιστό που εξετάζουμε (π.χ. β2-μικροσφαιρίνη, β-ακτίνη, GAPDH). Ο προσδιορισμός της έκφρασης του γονιδίου στόχου, σε σχέση με το γονίδιο ελέγχου, γίνεται με ημιποσοτικό τρόπο με τη χρήση εκκινητών και για τα δύο γονίδια ταυτόχρονα (Semi-Quantitative Multiplex PCR).

Αρχικά γίνεται προσδιορισμός των βέλτιστων συνθηκών της PCR (συγκέντρωση MgCl₂, σχετική αναλογία εκκινητών, θερμοκρασία πρόσδεσης εκκινητών στο cDNA). Στη συνέχεια προσδιορίζεται η εκθετική φάση αύξησης των δύο γονιδίων, στην οποία πρέπει να βρίσκονται ταυτόχρονα, τερματίζοντας κάθε αντίδραση στον κύκλο επιλογής (π.χ. 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40). Αφού προσδιοριστεί ο κύκλος στον οποίο και τα δύο μόρια βρίσκονται σε εκθετική φάση αύξησης, γίνεται το τελικό PCR για την ποσοτικοποίηση των δειγμάτων. Μετά την ανάλυση των προϊόντων σε πήκτωμα ακρυλαμίδιου και την εμφάνιση των ζωνών των PCR προϊόντων, τα πήκτωμα ψηφιοποιούνται με τη χρήση σαρωτή επιφανείας (scanner), ρυθμίζοντας την ανάλυση του στα 600dpi. Ο προσδιορισμός της έντασης των ζωνών γίνεται σε πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας (Adobe Photoshop).

Για κάθε δείγμα έγινε ο προσδιορισμός του λόγου της έντασης της ζώνης του γονιδίου στόχου προς την ένταση της ζώνης του γονιδίου αναφοράς (θεωρούμε ότι το γονίδιο αναφοράς έχει σταθερή έκφραση μεταξύ φυσιολογικών, υπερπλαστικών και καρκινικών δειγμάτων).

Στη συνέχεια προσδιορίζεται ο μέσος όρος των λόγων για τα φυσιολογικά δείγματα και με βάση αυτή την τιμή πραγματοποιείται η ποσοτικοποίηση των υπερπλαστικών και καρκινικών δειγμάτων. Αναλογίες δειγμάτων ασθενών προς τα φυσιολογικά δείγματα μεγαλύτερες από 2 θεωρούνται ως υπερέκφραση του γονιδίου στόχου, ενώ μικρότερες του 0.5 θεωρούνται ως υποέκφραση.

Ηλεκτροφόρηση νουκλεϊκών οξέων σε πήκτωμα αγαρόζης και ακρυλαμιδίου

Το DNA ηλεκτροφορείται σε πήκτωμα αγαρόζης ή ακρυλαμιδίου, ανάλογα με το μέγεθος του DNA που πρόκειται να ηλεκτροφορηθεί και τη διακριτική ικανότητα που προσδοκάται να επιτευχθεί. Το πήκτωμα ακρυλαμιδίου (συνήθως 8-10% με 29:1 μίγμα ακρυλαμιδίου/bis-ακρυλαμιδίου) επιλέγεται για μικρότερα τμήματα DNA και για μικρές διαφορές μεγέθους ανάμεσά τους. Η πήξη επιτυγχάνεται για την αγαρόζη με στερεοποίησή της με την πτώση θερμοκρασίας, ενώ για το ακρυλαμίδιο με την προσθήκη 50μl τετραμεθυλαιθυλενο-διαμίνης (TEMED) και 600μl υπερθεικού αμμωνίου 10% για κάθε 60ml διαλύματος ακρυλαμιδίου. Το δείγμα DNA που πρόκειται να ηλεκτροφορηθεί, επαναιωρείται σε διάλυμα φόρτωσης που περιέχει 0.25% μπλε της βρωμοφαινόλης, 0.25% κυανό του ξυλενίου και 40% γλυκερόλη. Και στις δύο περιπτώσεις η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται σε υδατικό μέσο με ρυθμιστικό διάλυμα 0.5× TBE (0.09 Tris-HCl, 0.09M Βορικό οξύ, 2.5mM EDTA, pH 8.3).

Χρώση νουκλεϊκών οξέων με βρωμιούχο αιθίδιο

Η χρώση του DNA σε πήκτωμα αγαρόζης πραγματοποιείται με την προσθήκη βρωμιούχου αιθιδίου σε συγκέντρωση 10ng/mL κατά την παρασκευή του πηκτώματος. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης οι ζώνες του DNA γίνονται ορατές κατόπιν έκθεσης του πηκτώματος σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV).

Χρώση νουκλεϊκών οξέων με νιτρικό άργυρο

Η μέθοδος αυτή (silver staining), η οποία χαρακτηρίζεται για τη μεγάλη ευαισθησία της, εφαρμόζεται όταν το DNA έχει ηλεκτροφορηθεί σε πήκτωμα ακρυλαμιδίου. Το πήκτωμα ακρυλαμιδίου τοποθετείται αρχικά υπό ανάδευση για 10-15 min σε μονιμοποιητικό διάλυμα που περιέχει 10% απόλυτη αιθανόλη και 5% οξικό οξύ. Ακολουθεί η προσθήκη διαλύματος νιτρικού αργύρου 0.1% (w/v) για 15-20 min σε ημίφως, πλύσιμο με νερό και κατόπιν προσθήκη του διαλύματος εμφάνισης που περιέχει 0.4 N NaOH και 0.15% (v/v) φορμαλδεΰδη. Η αντίδραση τερματίζεται με την προσθήκη διαλύματος ανθρακικού νατρίου 0.75% (w/v).

Στατιστική SPSS V 11.5

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων σε σχέση με τα κλινικοπαθολογικά στοιχεία των ασθενών έγινε με τη χρήση του προγράμματος SPSS 11.5. Τα στατιστικά τεστ που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα Chi-

square, Fisher's exact, Student's T, Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis H, Spearman's rho και Kaplan-Meier. Η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε όταν $P < 0.05$.

ΥΛΙΚΑ

Διαλύματα

Διαλύματα απομόνωσης DNA και RNA

- Φαινολικό διάλυμα απομόνωσης RNA : TRIzol (Invitrogen)
- Ισοπροπανόλη 100% (Merck)
- EtOH 70% και 100% (Merck)
- dH₂O κατεργασμένο με DEPC (Invitrogen)
- Reagent A: Tris-base (10mM), Sucrose (320mM), MgCl₂·6H₂O (5mM), Triton-X-100 (1% v/v). Ρύθμιση pH=8.0 χρησιμοποιώντας HCl 37%
- Reagent B: Tris-base (400mM), NaCl (150mM), EDTA (60mM), SDS (1% w/v). Ρύθμιση pH=8.0 χρησιμοποιώντας HCl 37%. Το SDS προστίθεται μετά την αποστείρωση του διαλύματος.

Ηλεκτροφορητικά διαλύματα

- Διάλυμα ηλεκτροφόρησης DNA σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου (0.5× TBE): 0.09 TrisHCl, 0.09M Βορικό οξύ, 2.5mM EDTA, pH 8.3
- Διάλυμα φόρτωσης DNA: 0.25% κυανού της βρωμοφαινόλης, 0.25% κυανού του ξυλενίου και 40% γλυκερόλη

Διαλύματα χρώσης νιτρικού αργύρου

- Διάλυμα μονιμοποίησης (Fixer): EtOH [10% (v/v)], CH₃COOH [5% (v/v)]
- Διάλυμα νιτρικού αργύρου: AgNO₃ [0.1% (w/v)]
- Διάλυμα εμφάνισης: 0.4 N NaOH και 0.15 (v/v) HCHO (φορμαλδεΰδη)
- Διάλυμα τερματισμού αντίδρασης: NaCO₃ 0.75% (w/v).

Ένζυμα

- Platinum Taq DNA πολυμεράση (Invitrogen)
- Thermoscript αντίστροφη μεταγραφάση (Invitrogen)
- Rnase free Dnase I (Invitrogen)
- Rnase OUT (Invitrogen)
- Πρωτεϊνάση K (Invitrogen)

Υλικά και εταιρείες προέλευσης

Υλικό Εταιρία Υλικό Εταιρία

Αγαρόζη Invitrogen Μεθανόλη Fluka

Αιθανόλη Merck MOPS Sigma

Ακρυλαμίδιο BDH Οξεϊκό οξύ BDH

Ανθρακικό νάτριο Sigma SDS BDH

Βορικό οξύ BDH TEMED Sigma

Bromophenol blue Sigma Tris base BDH

Βρωμιούχο αιθίδιο BDH Tween 20 Sigma

Υδροξείδιο του Νατρίου Sigma

Γλυκερόλη Invitrogen Υδροχλωρικό οξύ BDH

Διθειοθρεϊτόλη Sigma

dNTPS Invitrogen Φαινόλη BDH

EDTA BDH Φορμαλδεύδη BDH

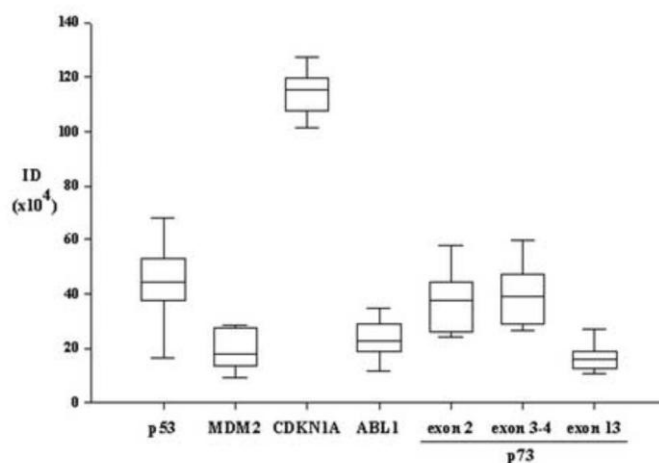
Ισοπροπανόλη BDH Χλωριούχο νάτριο Sigma

Κιτρικό νάτριο BDH Χλωροφόρμιο Fluka

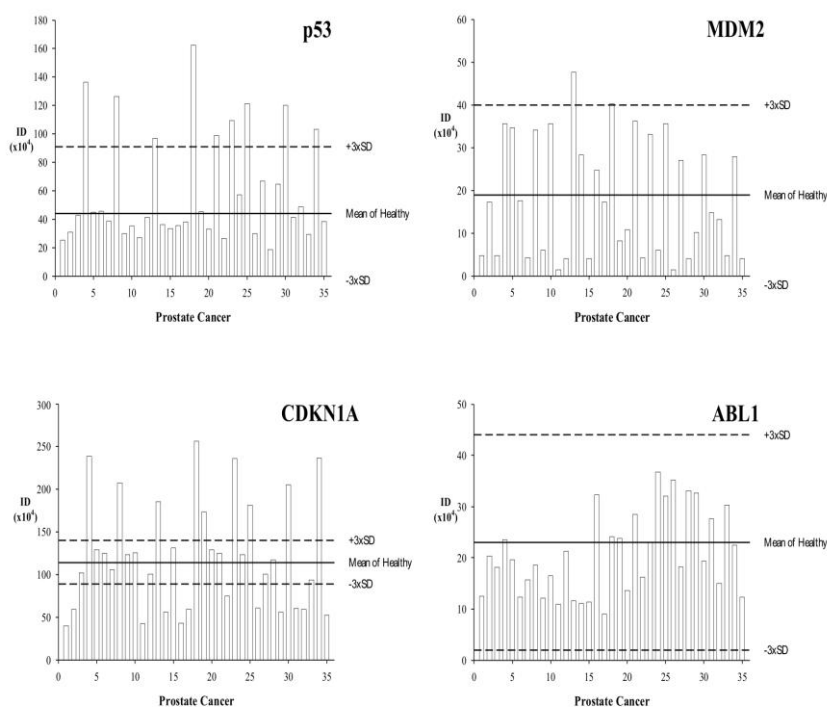
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το μεταγραφικό προφίλ των δειγμάτων από φυσιολογικό προστατικό ιστό για κάθε γονίδιο που ελέγχθηκε ήταν, όπως αναμενόταν, παρόμοιο με το αναμενόμενο πρότυπο για ένα πληθυσμό με κανονική κατανομή (Kolmogorov-Smirnov, διάστημα εμπιστοσύνης μεταξύ 0.121 και 0.168 με $p > 0.2$)

Καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε μεταξύ κλινικό-παθολογικών παραμέτρων και επιπέδου μεταγραφών ανάμεσα στις τρεις ομάδες εργασίας (προστατικός καρκίνος, καλοήθης υπερτροφία και φυσιολογικά δείγματα) για κανένα από τα γονίδια που ερευνήθηκαν. Σημαντικού βαθμού συσχέτιση όμως παρατηρήθηκε στα επίπεδα του mRNA των δειγμάτων σε σχέση με την ομάδα έλεγχου (Σχ.1) μεταξύ p53 και MDM2 (Σχ.2) με συντελεστή συσχέτισης (Σ.Σ.) 0.656 και $p < 0.001$, μεταξύ p53 και CDKN1A (Σ.Σ. 0.679, $p < 0.001$), μεταξύ του p53 και του εξονίου 13 του p73 (Σ.Σ. -0.319, $p = 0.001$), μεταξύ του p53 και του εξονίου 2 του p73 (Σ.Σ. 0.216, $p = 0.023$), μεταξύ MDM2 και CDKN1A (Σ.Σ. 0.671, $p < 0.001$), μεταξύ MDM2 και p73 εξονιο 13 (Σ.Σ. -0.321, $p = 0.001$), (Σχ.3), μεταξύ MDM2 και p73 εξονιο 2 (Σ.Σ. 0.236, $p = 0.013$), μεταξύ CDKN1A και p73 εξονιο 13 (Σ.Σ. -0.346, $p < 0.001$), μεταξύ CDKN1A και p73 εξονιο 2 (Σ.Σ. 0.257, $p = 0.007$) και τέλος μεταξύ p73 εξόνιο 13 και p73 εξόνιο 2 (Σ.Σ. -0.535, $p < 0.001$). Ζεύγη μεταβλητών με θετικό συντελεστή συσχέτισης αυξάνονται ή μειώνονται ταυτόχρονα, ενώ στις περιπτώσεις όπου υπάρχει αρνητικός συντελεστής συσχέτισης όταν η μια μεταβλητή αυξάνει η άλλη μειώνεται, και αντίστροφα. (Σχ.1-3)



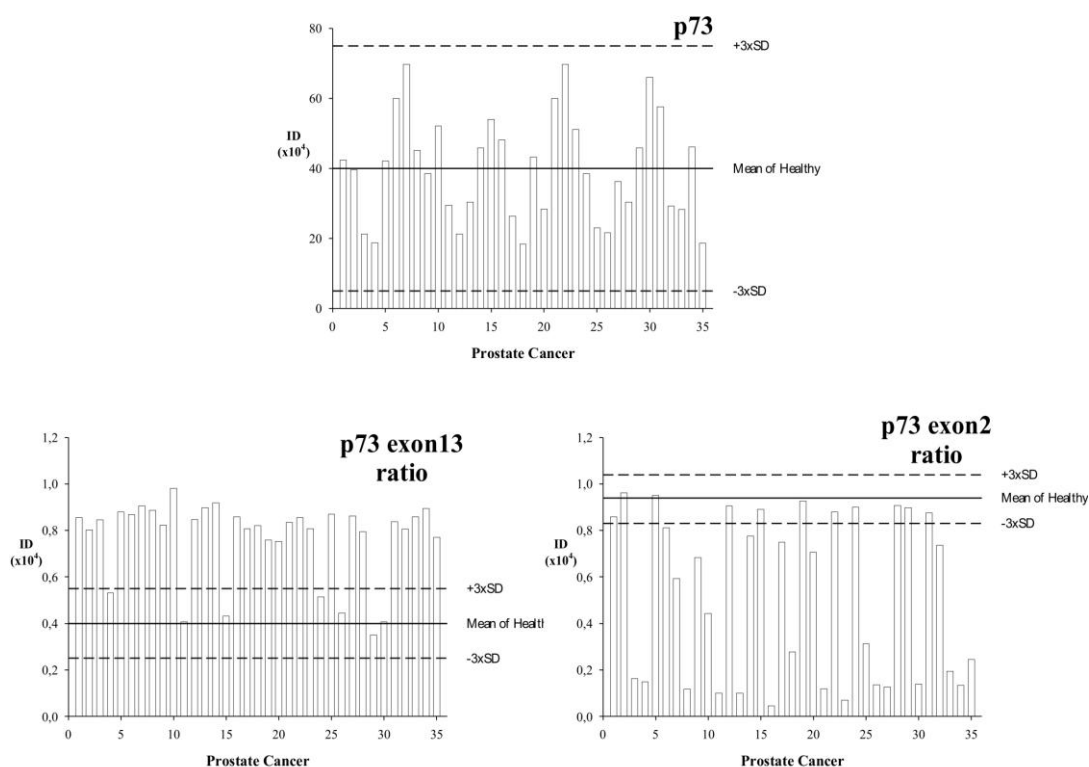
Σχήμα 1. Πλαίσιο επιφάνειες των επιπέδων του mRNA που δοκιμάστηκαν στον πληθυσμό ελέγχου. Το όριο της θέση που βρίσκεται πλησιέστερα στο μηδέν δείχνει το 25ο εκατοστό. Η γραμμή εντός των κουτιών είναι η διάμεσος. Τα όρια του κουτιού που είναι πιο απομακρυσμένα από το μηδέν δείχνουν το 75ο εκατοστό. Οι γραμμές (error bars) πάνω και κάτω από το κάθε κουτί αναφέρονται στο 90ο και 10ο εκατοστό. ID: Ολοκληρωμένη πυκνότητα.



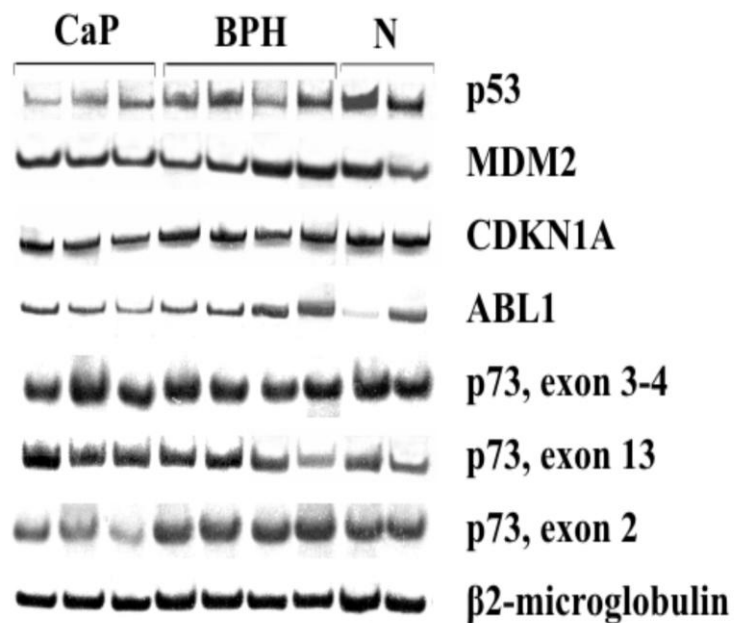
Σχήμα 2 : Μεμονωμένα προφίλ των επιπέδων mRNA για P53, MDM2, CDKN1A και ABL1 στην ομάδα του καρκίνου του προστάτη. Σταθερή γραμμή αναφοράς: μέση τιμή στην ομάδα των υγείων περιστατικών. Διακεκομμένη γραμμή αναφοράς: $\pm 3xSD$ της ομάδας των υγείων ατόμων. ID: Ολοκληρωμένη πυκνότητα. Οι αριθμοί για τον άξονα x αναφέρονται στη ταυτότητα των δειγμάτων.

Η σύγκριση των μεταγραφικών επιπέδων για κάθε παράμετρο που ελέγχθηκε ανέδειξε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση στην αναλογία των εξωνίων 2 και 13 σε σχέση με το επίπεδο μεταγραφών του ολικού p73 ανάμεσα σε περιπτώσεις κακοήθειας, καλοήθους υπερτροφίας και φυσιολογικού προστατικού ιστού. ($p < 0.001$) Το μεταγραφικό προφίλ του p73 εκθέτει μία μεταβολή, από ισόμορφες που παρουσιάζουν απώλεια του εξωνίου 13 στην ομάδα ελέγχου (αναλογία εξωνίου 13 προς ολικό p73: 41.59%) σε ζεύγη που περιέχουν το εξώνιο 13 στο 80% των περιπτώσεων προστατικού καρκίνου (αναλογία 84.65%) καθώς επίσης και στο 52.3% των περιπτώσεων καλοήθους υπερτροφίας (αναλογία 87.1%). Η αναλογία των μεταγραφών του εξωνίου 13 ως προς το ολικό p73 mRNA ήταν σημαντικά αυξημένη από 6 έως και 8 φορές παράλληλα και στους όγκους (80% των περιπτώσεων), και στις υπερπλασίες (52 % των περιπτώσεων). Στις περιπτώσεις καλοήθους υπερτροφίας του προστάτη με στοιχεία οξείας φλεγμονής παρατηρήθηκε μείωση της αναλογίας μεταγραφών του εξωνίου 13. (Σχ.4-12)

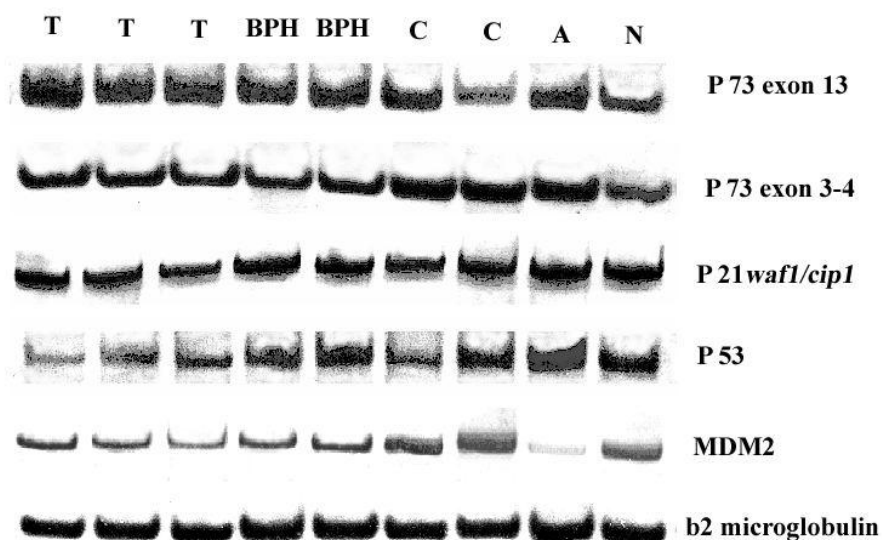
Τα μεταγραφικά επίπεδα των MDM2 και p53 μειώθηκαν κατά 4 φορές στο 67% των καρκίνων και στο 45% των περιπτώσεων καλοήθους υπερτροφίας χωρίς σημεία φλεγμονής, ενώ αντίθετα αυξήθηκαν κατά το 75% σε φλεγμονώδεις καταστάσεις. Τα επίπεδα της p21^{WAF1/CIP1} διατηρήθηκαν σχετικά σταθερά.



Σχήμα 3: Μεμονωμένα προφίλ των επιπέδων mRNA για P73, exon 13 και exon 2 isoforms στην ομάδα του καρκίνου του προστάτη. Σταθερή γραμμή αναφοράς: μέση τιμή στην ομάδα των υγιών περιστατικών. Διακεκομμένη γραμμή αναφοράς: $\pm 3xSD$ της ομάδας των υγιών ατόμων. ID: Ολοκληρωμένη πυκνότητα. Οι αριθμοί για τον άξονα x αναφέρονται στη ταυτότητα των δειγμάτων.

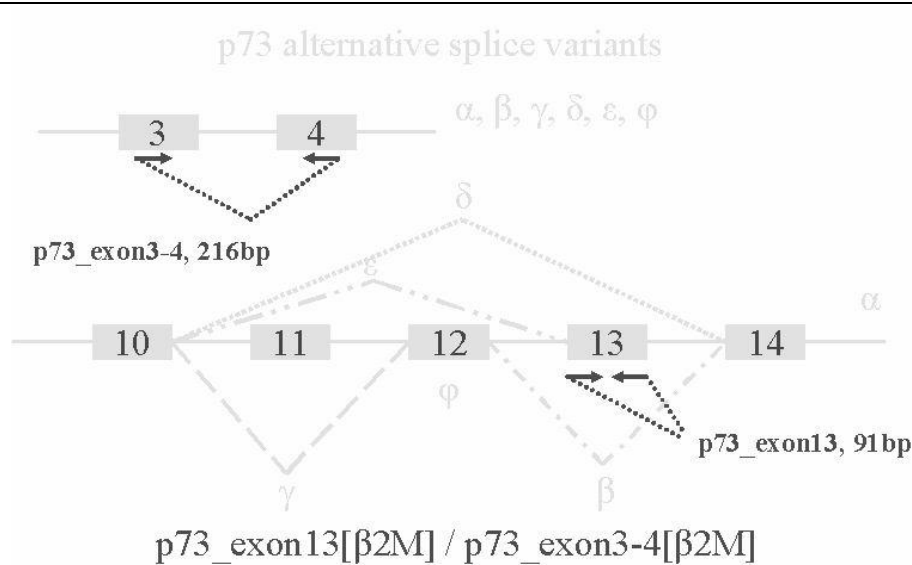


Σχήμα 4: Αντιπροσωπευτικά δείγματα της RT-PCR ανάλυσης. CaP: καρκίνος του προστάτη, BPH: Καλοήθης υπερπλασία. Τα τελευταία δείγμα από αριστερά προς τα δεξιά της ομάδος της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη αναφέρονται στην ομάδα με οξεία φλεγμονή. N: υγιείς προστάτες

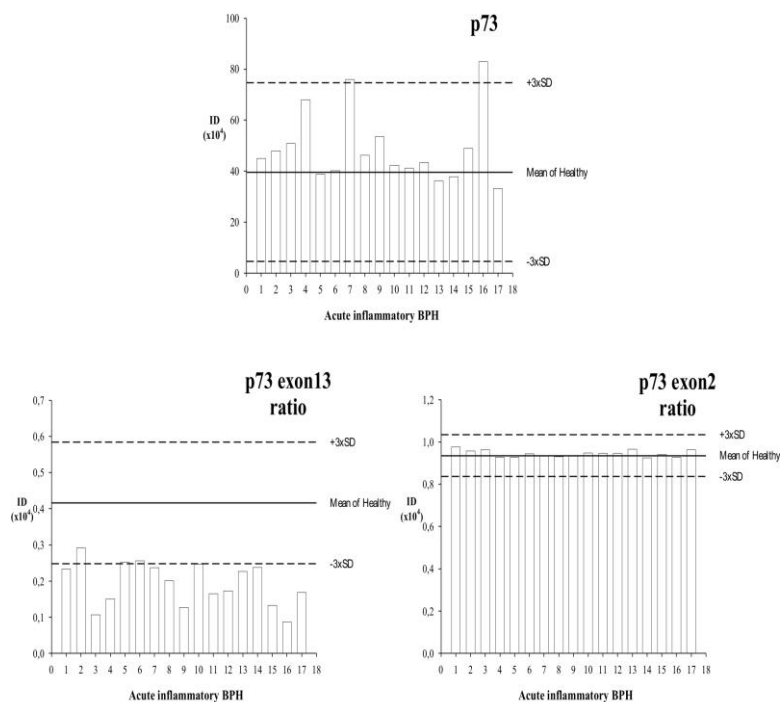


Σχήμα 5: Αντιπροσωπευτικά δείγματα της RT-PCR ανάλυσης. T: καρκίνος του προστάτη, BPH: Καλοήθης υπερπλασία. C : χρόνια φλεγμονή, A: οξεία φλεγμονή.

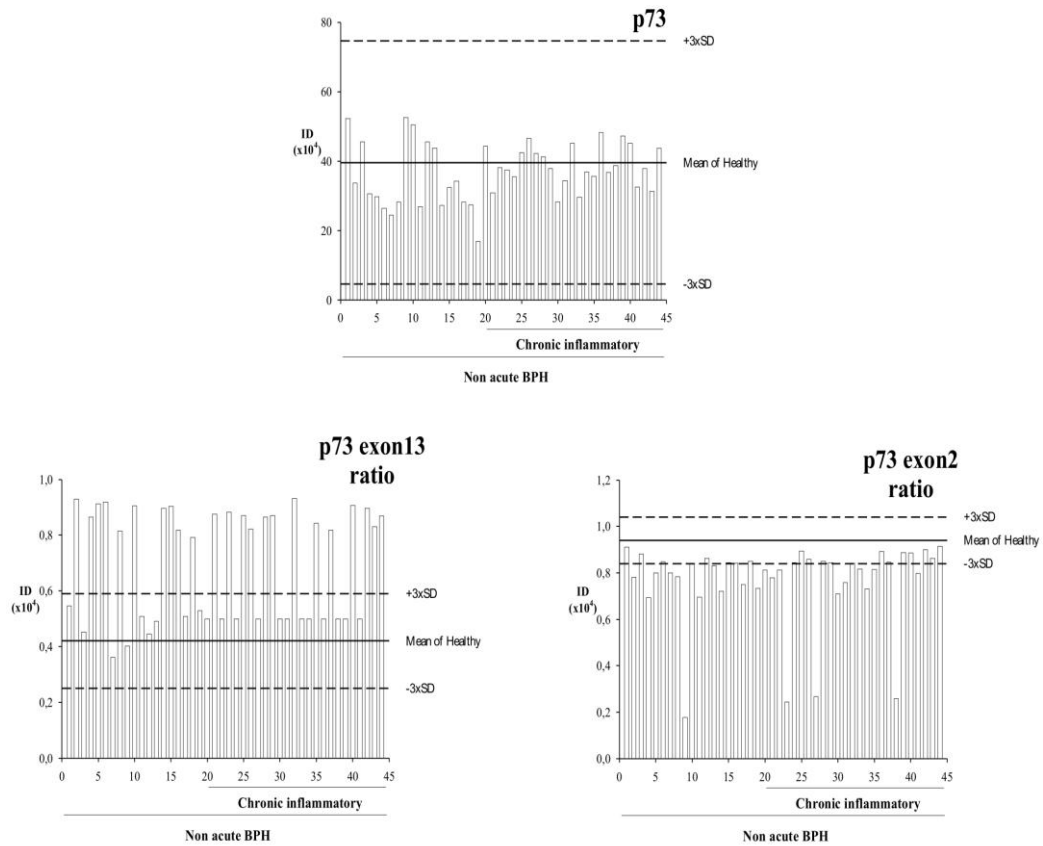
N: υγιείς προστάτες



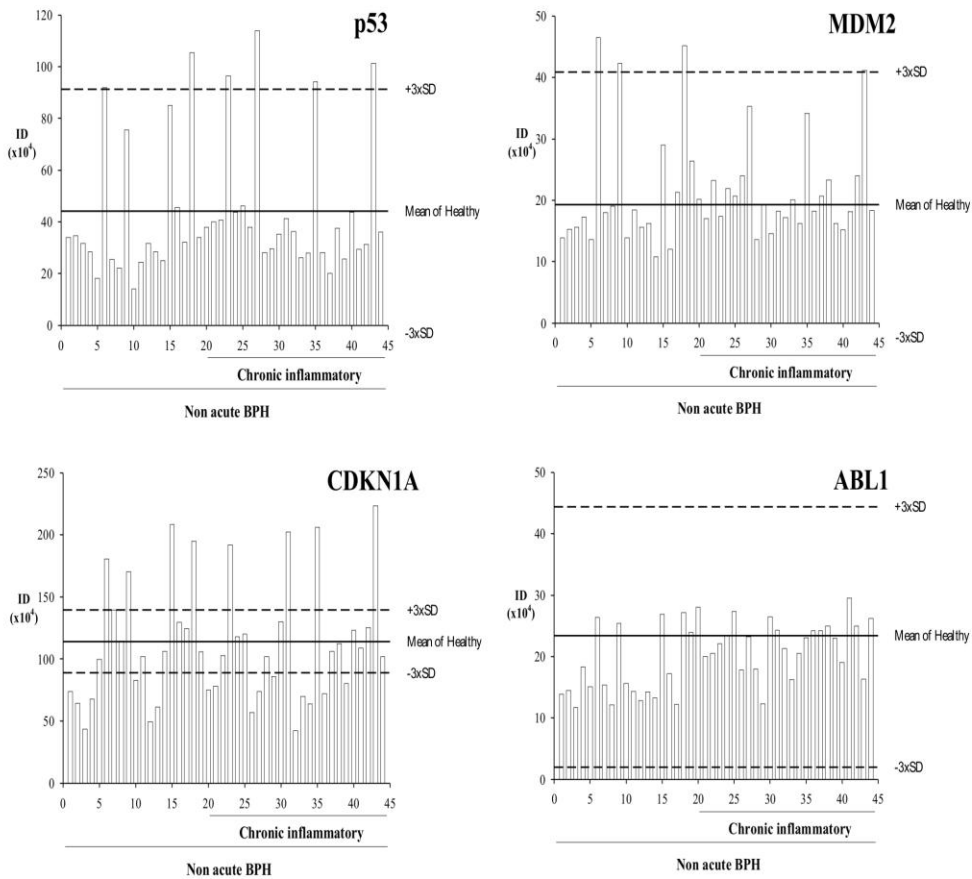
Σχήμα 6: Εναλλακτικές παραλλαγές του συμπλέγματος της πρωτεΐνης P73



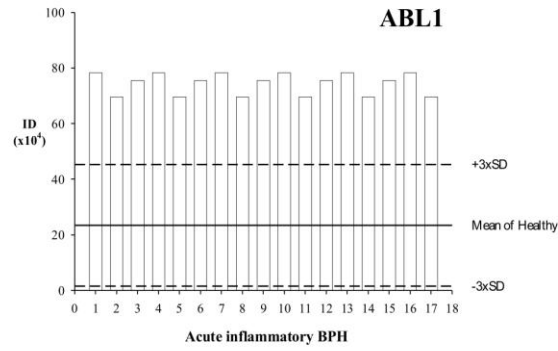
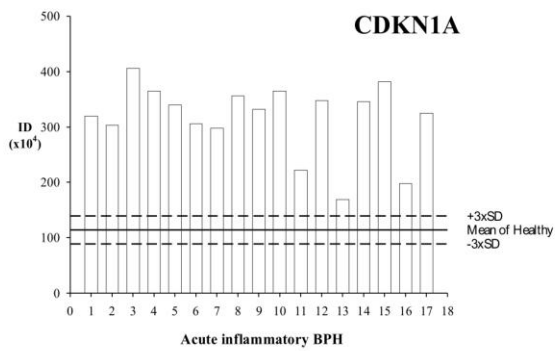
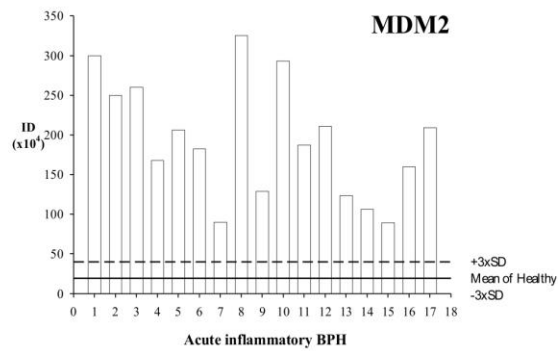
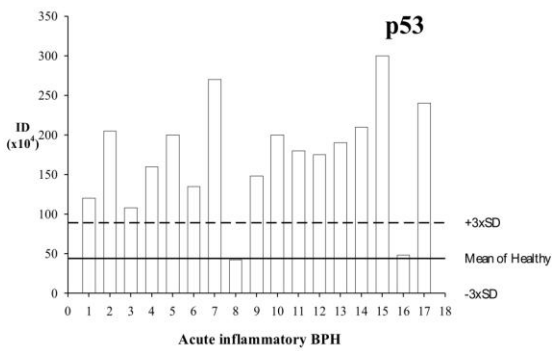
Σχήμα 7: Μεμονωμένα προφίλ των επιπέδων mRNA για P73, exon 13 και exon 2 isoforms στην ομάδα της οξείας φλεγμονής του προστάτη. Σταθερή γραμμή αναφοράς: μέση τιμή στην ομάδα των υγιών περιστατικών. Διακεκομμένη γραμμή αναφοράς: $\pm 3xSD$ της ομάδας των υγιών ατόμων. ID: Ολοκληρωμένη πυκνότητα. Οι αριθμοί για τον άξονα x αναφέρονται στη ταυτότητα των δειγμάτων.



Σχήμα 8: Μεμονωμένα προφίλ των επιπέδων mRNA για P73, exon 13 και exon 2 isoforms στην ομάδα της μη φλεγμονώδους υπερτοφίας του προστάτη και στην ομάδα της χρόνιας φλεγμονής του προστάτη. Σταθερή γραμμή αναφοράς: μέση τιμή στην ομάδα των υγείων περιστατικών. Διακεκομμένη γραμμή αναφοράς: $\pm 3xSD$ της ομάδας των υγείων ατόμων. ID: Ολοκληρωμένη πυκνότητα. Οι αριθμοί για τον άξονα x αναφέρονται στη ταυτότητα των δειγμάτων.



Σχήμα 9: Μεμονωμένα προφίλ των επιπέδων mRNA για P53, MDM2, CDKN1A και ABL1 στην ομάδα της μη φλεγμονώδους υπερτροφίας του προστάτη και στην ομάδα της χρόνιας φλεγμονής του προστάτη. Σταθερή γραμμή αναφοράς: μέση τιμή στην ομάδα των υγείων περιστατικών. Διακεκομμένη γραμμή αναφοράς: ± 3 SD της ομάδας των υγείων ατόμων. ID: Ολοκληρωμένη πυκνότητα. Οι αριθμοί για τον άξονα x αναφέρονται στη ταυτότητα των δειγμάτων.



Σχήμα 10: Μεμονωμένα προφίλ των επιπέδων mRNA για P53, MDM2, CDKN1A και ABL1 στην ομάδα της οξείας φλεγμονής του προστάτη. Σταθερή γραμμή αναφοράς: μέση τιμή στην ομάδα των υγιών περιστατικών. Διακεκομμένη γραμμή αναφοράς: $\pm 3xSD$ της ομάδας των υγιών ατόμων. ID: Ολοκληρωμένη πυκνότητα. Οι αριθμοί για τον άξονα x αναφέρονται στη ταυτότητα των δειγμάτων.

PtNo	Age	p53	p73	p21	mdm2	Prostate Cancer						
Benign Prostate Hyperplasia						Pt No	Age	Grade	p53	p73	p21	mdm2
Benign Prostate Hyperplasia						1	70	VII	↓ 0.13	1.44	↓ 0.50	0.91
1	71	↓ 0.39	1.30	↓ 0.61	↓ 0.51	2	71	V	↑ 1.99	↓ 0.44	↓ 0.49	↓ 0.63
2	62	↓ 0.44	↓ 0.34	↓ 0.58	↓ 0.31	3	72	IV-V	↑ 1.78	↓ 0.19	0.78	↓ 0.18
3	78	1.15	1.13	↓ 0.36	↓ 0.20	4	67	IV-V	↑ 2.30	1.15	1.44	↓ 0.43
4	74	0.82	↓ 0.09	↓ 0.56	↓ 0.27	5	64	IV-V	↑ 1.92	1.05	1.07	1.27
5	74	↓ 0.50	0.67	0.83	↓ 0.13	6	72	IV	↓ 0.26	1.49	1.04	↓ 0.64
6	72	↑ 3.62	↓ 0.56	0.67	↓ 0.03	7	71	III	↓ 0.27	1.74	1.45	↓ 0.15
7	84	1.51	↓ 0.36	1.16	↑ 2.27	8	56	IV-V	↑ 2.14	1.27	0.89	↓ 0.05
8	76	↓ 0.22	↓ 0.20	0.95	↑ 2.93	9	58	III	0.77	0.96	1.03	↓ 0.22
9	72	↑ 7.40	1.31	↓ 0.58	↑ 2.98	10	72	II-III	↓ 0.14	↓ 0.57	1.04	1.30
Benign Prostate Hyperplasia with Chronic Inflammation						11	78	II-III	↓ 0.58	↓ 0.07	↓ 0.51	↓ 0.06
1	61	0.79	1.10	0.85	↑ 3.30	12	73	I-II	1.36	↓ 0.11	0.83	↓ 0.15
2	76	↑ 1.96	0.77	↓ 0.62	↓ 0.01	13	70	VI	↓ 0.86	0.76	0.97	1.75
3	73	↑ 3.97	0.70	1.26	1.59	14	73	VII	1.09	1.14	↑ 2.13	1.04
4	65	↑ 9.04	↑ 1.93	1.33	↓ 0.30	15	65	I-II	↓ 0.05	1.64	1.09	↓ 0.15
5	75	↑ 4.28	1.38	0.98	1.17							
6	89	↓ 0.61	1.44	1.83	↑ 2.95							
7	81	↓ 0.08	↓ 0.17	0.82	↓ 0.15							
8	73	↑ 11.17	↑ 2.61	1.05	↑ 4.18							
Benign Prostate Hyperplasia with Acute Inflammation												
1	70	↑ 7.03	1.95	0.84	↑ 8.43							
2	75	↑ 7.68	1.89	0.92	↑ 2.49							
3	72	↑ 6.84	1.71	0.79	↑ 4.01							
4	56	↑ 7.41	1.27	↓ 0.63	↓ 0.46							

Σχήμα 11. Διαταραχές στα επίπεδα έκφρασης upregulation-downregulation των γονιδίων p53, p73, και p21 σε καρκίνο προστάτη, υπερτροφία, χρόνια και οξεία φλεγμονή του αδένα.

Pt No	p73 α,γ,ε,φ (%)	p73 β,δ (%)	p73
Prostate Cancer			
1	↑ 70.4	↓ 29.6	1.44
2	↑ 64.1	↓ 35.9	↓ 0.44
3	↑ 82.4	↓ 17.6	↓ 0.19
4	↑ 66.8	↓ 33.2	1.15
5	↑ 72.6	↓ 27.4	1.05
6	↑ 72.8	↓ 27.2	1.49
7	↑ 59.7	↓ 40.3	1.74
8	↑ 62.0	↓ 38.0	1.27
9	40.9	59.1	0.96
10	↑ 69.5	↓ 30.5	↓ 0.57
11	↑ 62.4	↓ 37.6	↓ 0.07
12	↑ 79.8	↓ 20.2	↓ 0.11
13	↑ 94.1	↓ 5.9	0.76
14	26.0	74.0	1.14
15	↓ 10.2	↑ 90.8	1.64
Healthy Prostate Tissues (age 21-25 years)			
mean	29.9	70.1	1.00
SD	2.8	2.8	0.07

Σχήμα 12. Διαταραχές στα επίπεδα έκφρασης upregulation-downregulation των ισομορφών του γονιδίου p73 στον καρκίνο προστάτη.

Κλινικές έρευνες συνδέουν την καρκινογένεση του προστάτη με τη χρόνια ή υποτροπιάζουσα φλεγμονή (προστατίτιδα) ⁽¹²⁾ και με σεξουαλικά μεταδιδόμενες νόσους, άσχετα με την παθογένεσή τους. ⁽¹³⁾

Η καλοήθης υπερπλασία του προστάτη (BPH), η συχνότερη μορφή καλοήθους όγκου στους άνδρες 60 ετών και άνω, αντιπροσωπεύει μια διαφορετική νοσολογική οντότητα, όπου τα επιθηλιακά στρωματικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται με έντονους ρυθμούς. Ενώ πιστεύεται ότι η καλοήθης υπερπλασία του προστάτη (BPH) δεν εξελίσσεται σε κακοήθεια, υπάρχουν αναφορές οι οποίες συνδέουν αυτήν την κατάσταση με τους όγκους που εμφανίζονται στην μεταβατική ζώνη μέσω βλάβης της μορφολογίας, η αποκαλούμενη άτυπη αδеноματοσική υπερπλασία (AAH) ^(14,15). Καθώς υπάρχει υψηλή συχνότητα καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη (BPH), η οποία επηρεάζει έντονα την ποιότητα ζωής των ασθενών ⁽¹⁶⁾, η παθογένεσή της όπως και η κλινική αντιμετώπισή της καθίστανται επιτακτική ανάγκη, αφού ο μέσος όρος ζωής αυξάνεται.

Στη μελέτη αυτή, ερευνήσαμε εάν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στα μεταγραφικά επίπεδα των στοιχείων στο μοριακό «μονοπάτι» των p53 και p73, καθώς και στο μηχανισμό «εναλλακτικού ματίσματος» του p73, μεταξύ καλοήθων και κακοήθων επιθηλιακών προστατικών κυττάρων σε σύγκριση με φυσιολογικούς προστάτες που ελήφθησαν μετά θάνατο από άτομα νεαρής ηλικίας. Η επιλογή αυτής της ομάδας ελέγχου πραγματοποιήθηκε επειδή ήταν αδύνατον να ληφθεί ο αντίστοιχος γειτονικός φυσιολογικός ιστός, στις καλοήθεις και στις νεοπλαστικές βλάβες, λόγω της μορφολογίας της αλλά και λόγω της υψηλής πιθανότητας μικροσκοπικών δυσλειτουργιών στις ηλικιακές ομάδες ελέγχου.

Η στατιστική αξιολόγηση των επιπέδων mRNA που ερευνήθηκε, έδειξαν ότι τα p53, MDM2 και CDKN1A τείνουν να αυξάνονται ή να μειώνονται ταυτόχρονα, όπως αναμενόταν ⁽¹⁷⁾, πιθανότατα εξαιτίας της βλάβης του DNA ⁽¹⁸⁾ όπως και το εξόνιο 2 των p53 και p73, ως αποτέλεσμα συνήθους αντίδρασης στην κυτταρική δυσλειτουργία που οδεύει σε απόπτωση. Έχει αναφερθεί ότι το p73 χρειάζεται μια λειτουργική αμινοτελική trans-ενεργοποιητική περιοχή, εν μέρει κωδικοποιημένη από το εξόνιο 2, προκειμένου να έχει παρόμοια με το p53 δράση ⁽²²⁾. Αντίθετα, το ποσοστό μεταγραφών του εξωνίου 13 των p53 και p73 τείνει να αυξάνεται ή να μειώνεται με αντίθετο τρόπο.

Τα συνολικά επίπεδα mRNA του p73 παραμένουν σχετικά σταθερά στην κακοήθεια, στην καλοήθεια και την ομάδα ελέγχου, όπως περιγράφεται παραπάνω. Τα ποσοστά μεταγραφών της p53 αυξήθηκαν ελάχιστα, το CDKN1A παρουσίασε μια σχετική απορρυθμίστη στην λειτουργία του, ενώ τα επίπεδα MDM2 παρέμειναν σταθερά.

Η σύγκριση του καρκίνου του προστάτη και της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη με φυσιολογικές προστατικές ομάδες, σε ατομικό ή συνολικό επίπεδο, αποκάλυψαν σημαντικές στατιστικές εξαλλαγές των ισόμορφων mRNA του p73 σχετικά με το καθεστώς του εξωνίου 2 και του εξωνίου 13. Στην κακοήθεια, το

εξώνιο 13 που περιείχε μεταγραφικά στοιχεία αυξήθηκε στο 80% των περιστατικών, συγκριτικά με φυσιολογικά δείγματα, ενώ το εξώνιο 2 που περιείχε mRNA μειώθηκε στο 45.7 % των δειγμάτων. Το Δέλτα-εξώνιο 2 του p73 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη χωρίς αμινο-τελική trans-ενεργοποιητική περιοχή, που θα μπορούσε να εξουδετερώνει φυσιολογικά μεταγραφικά στοιχεία μέσω του ομο-ολιγομερισμού, αλλά διαμορφώνει επίσης ετεροτετραμερή με ορισμένα στοιχεία πολυμορφισμού και μετάλλαξης της p53^(19,20). Στην καλοήγη υπερπλασία του προστάτη (BPH), το 52.3% των δειγμάτων είχαν αυξημένη έκφραση ζευγών εξωνίου 13 του p73, σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς ελέγχους, ενώ το εξώνιο 2 που περιείχε μεταγραφικά στοιχεία μειώθηκε στο 9.1 των δειγμάτων.

Η ανισορροπία των ισόμορφων του p73 θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι αποτελεί ένα μηχανισμό για να παρακάμπτονται τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και ο μηχανισμός απόπτωσης στον καρκίνο του προστάτη. Η ανεξάρτητη από το μηχανισμό της απόπτωσης πρωτεΐνη p53 προσβάλλεται άμεσα⁽²²⁾, ενώ το κυρίως αποπτωτικό μοριακό «μονοπάτι» θα μπορούσε να καλυφθεί μέσω της διαμόρφωσης ετεροτετραμερών μεταξύ p53 και p73⁽²¹⁾.

Η έκταση των αλλοιώσεων στις αναλογίες του εξωνίου 13 και εξωνίου 2 στους ασθενείς με προστατικό καρκίνο υπογραμμίζει το πόσο σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν στην εξέλιξη της νόσου. Η υψηλότερη έκφραση του εξωνίου 2 του p73 στον καρκίνο του προστάτη, σε σχέση με την καλοήγη υπερπλασία του προστάτη, πιθανότατα υποδεικνύει στενότερη σχέση με το φαινότυπο της κακοήθειας. Οι αναλογίες και στις δύο περιπτώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για την ανίχνευση όγκου ή στον χαρακτηρισμό της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη με τεχνικές μοριακής βιολογίας. Αν και το p73 σπάνια μεταλλάσσεται ή απορρυθμίζεται στο επίπεδο της μεταγραφής στον καρκίνο του προστάτη⁽¹⁵⁾, τα ευρήματά μας υποδεικνύουν ότι ενδεχομένως εμπλέκεται στην εξέλιξη τόσο του καρκίνου του προστάτη όσο και της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη μέσω της απορρύθμισης του μηχανισμού «εναλλακτικού ματίσματος».

Κατά την διάρκεια της διαμόρφωσης των διαφόρων ιστών, που απαρτίζουν τον ανθρώπινο οργανισμό, οι κυτταρικοί πληθυσμοί που συμμετέχουν στην διαδικασία αυτή υφίστανται έλεγχο της διαφοροποίησης και του πολλαπλασιασμού τους. Στον μηχανισμό ελέγχου βασικό ρόλο παίζει η ύπαρξη μιας ευαίσθητης και δυναμικής ισορροπίας, που σε βιοχημικό επίπεδο αντανακλάται από την συγκέντρωση πρωτεϊνικών μορίων και σε μοριακό-γενετικό από την κάθε φορά διαφορετικού βαθμού ενεργοποίηση ή μη, συγκεκριμένων γονιδίων. Η επίδραση εξωτερικών (περιβαλλοντικών) όπως για παράδειγμα ακτινοβολία ή εσωτερικών (κληρονομικών) παραγόντων, μπορεί να διαταράξει την παραπάνω ισορροπία και υπερνικώντας τους κυτταρικούς-προστατευτικούς μηχανισμούς να οδηγήσει σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και σε ανάπτυξη καρκίνου .

Ο καρκίνος είναι μια νοσολογική οντότητα κατά την οποία οι κανόνες της φυσιολογικής συμπεριφοράς

παύουν να ισχύουν, ή ισχύουν μερικώς. Ως νόσος περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Ιπποκράτη και από την εποχή εκείνη ως σήμερα αποτελεί ένα από τα βασικότερα αντικείμενα της ιατρικής έρευνας.

Σημαντική ώθηση στην διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών της καρκινογένεσης προσέδωσε η μελέτη της βιολογίας του κυττάρου σε επίπεδο βασικής έρευνας. Χαρακτηριστικά αναφέρει ο J.D.Watson, ερευνητής που πρώτος ανακάλυψε την δομή του DNA, το καρκινικό κύτταρο αποτελεί για την σύγχρονη βιολογία το βασικό σύστημα-μοντέλο έρευνας, σε αντιδιαστολή με το βακτηρίδιο E. Coli που κατείχε τον ρόλο αυτό παλαιότερα.

Η έρευνα για την κατανόηση των μηχανισμών προέλευσης και ανάπτυξης του καρκίνου οριοθετήθηκε σε κάθε χρονική περίοδο από την διαθέσιμη τεχνολογία. Αρχικά η μελέτη του καρκίνου εστιάσθηκε σε επίπεδο πάσχοντος συστήματος, κατόπιν σε επίπεδο πάσχοντος ιστού και οργάνου και μόνο τα τελευταία χρόνια με την ραγδαία ανάπτυξη της τεχνολογίας σε κυτταρικό, βιοχημικό και μοριακό επίπεδο. Η συλλογή επιστημονικών πληροφοριών από την προαναφερόμενη ερευνητική δραστηριότητα, οδήγησε στη διατύπωση της άποψης ότι ο καρκίνος είναι μια γενετική νόσος, αφού για την ανάπτυξη του ευθύνονται αλλοιώσεις του κυτταρικού DNA, δηλαδή του γενετικού κώδικα που φέρει το κύτταρο.

Οι αλλοιώσεις αυτές των γενετικών πληροφοριών σε κυτταρικό επίπεδο, διαταράσσουν την ισορροπία των διαφόρων ρυθμιστικών μηχανισμών, που ευθύνονται για τον φυσιολογικό κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση, προκαλώντας ανεξέλεγκτη ανάπτυξη κάποιων κυτταρικών πληθυσμών σε βάρος των υπολοίπων. Η γενετική προέλευση των νεοπλασμάτων δεν αφορά μόνο τις κληρονομικές τους μορφές, που οι αλλοιώσεις του DNA εντοπίζονται στα κύτταρα της γενετικής σειράς και συνεπώς κληρονομούνται, αλλά και τις σποραδικές μορφές της νόσου, όπου οι αλλοιώσεις του γενετικού κώδικα αφορούν, κύρια, τα σωματικά κύτταρα. Την άποψη αυτή ενισχύει σημαντικά η παρατήρηση ότι τα διάφορα κληρονομικά σύνδρομα καρκίνου, πλήττουν περισσότερα του ενός όργανα πρωτοπαθώς, χωρίς να πρόκειται για εντοπίσεις μεταστάσεων (δευτεροπαθείς εντοπίσεις) ενός πρωτοπαθούς νεοπλάσματος (Σπαντίδος ΔΑ, 1992). Πειραματικά δεδομένα (Σπαντίδος ΔΑ, 1977), τεκμηρίωσαν την μοριακή βάση του καρκίνου, ως ενός φαινότυπου που αντιστοιχεί σε συγκεκριμένα χρωμοσώματα και μπορεί να μεταβιβασθεί με την μεταφορά των χρωμοσωμάτων αυτών. Πειραματικές μελέτες σε καλλιέργειες κυττάρων έδειξαν ότι, τα βασικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων μπορούν να μεταβιβασθούν σε φυσιολογικά κύτταρα με την παράλληλη μεταφορά ενός μόνο χρωμοσώματος που έχει απομονωθεί από καρκινικά κύτταρα (Spandidos and Siminovitch 1977). Στο πλαίσιο αυτό αναπτύχθηκε η τεχνολογία της μεταφοράς χρωμοσωμάτων με προεκτάσεις στην γενετική έρευνα γενικότερα.

Τέλος, είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι η καρκινογένεση παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες σε μοριακό επίπεδο, στους διάφορους ανθρώπινους ιστούς, παρατήρηση που συμβαδίζει με την ενεργοποίηση, των εμπλεκόμενων στην διαδικασία αυτή, γονιδίων στους αντίστοιχους ιστούς.

Η διελεύκανση του ρόλου των εμπλεκόμενων στην καρκινογένεση γονιδίων αποτελεί κομβικό σημείο για την κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την δημιουργία και ανάπτυξη των νεοπλασμάτων.

Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή περιγράφει μια συγκριτική ανάλυση των p53, MDM2, CDKN1A, εξωνίου 13 του p73, εξωνίου 2 του p73 και των συνολικών επιπέδων mRNA του p73 μεταξύ κακοήθειας, καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη (BPH) και φυσιολογικών προστατικών δειγμάτων. Η έκφραση του ισόμορφου mRNA του p73 αποκλίνει από το κλασικό προστατικό μοντέλο, υπερ του εξωνίου 13 που εμπεριέχεται και του Δέλτα-εξωνίου 2 του p73 με μεταγραφικά στοιχεία στον καρκίνο του προστάτη και σε μικρότερο βαθμό την καλοήγη υπερπλασία του προστάτη. Διαφοροποιήσεις στο εναλλακτικό μάτισμα της p73 και στην αναλογία μεταγραφών του εξωνίου 13 συμβαίνουν και στην καλοήγη υπερτροφία του προστάτη καθώς και στην κακοήθεια του αδένου όταν συγκρίνονται με φυσιολογικό ιστό ελέγχου. Αυτή η διαφοροποίηση θα μπορούσε να αποτελέσει ένα κλειδί στην θεωρία του μηχανισμού λειτουργίας της πρωτεΐνης p73 σε συσχέτιση και με τον μηχανισμό ανάπτυξης και εξέλιξης της καλοήθους και κακοήθους νόσου του προστάτη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ :

1. Levine AJ, et al. The role of p53 tumour-suppressor gene in tumorigenesis. *Br J Cancer* 69: 409-416, 1994.
2. Zambeti GP and Levine AJ: A comparison of the biological activities of wild-type and mutant p53. *FASEB J* 7: 855-865, 1993.
3. Sidransky D: Advances in cancer detection. *Sci Am* 1996 Sep;275(3):104-109
4. Takahashi H, Fukutome K, Watanabe M, Furusato M, Shiraishi T, Ito H, Suzuki H, Ikawa S, Hano. Mutation analysis of the p51 gene and correlation between p53, p73, and p51 expressions in prostatic carcinoma. *Prostate* 2001 May 1;47(2):85-90
5. Burton JL, Oakley N, Anderson JB. Recent advances in the histopathology and molecular biology of prostate cancer *BJU Int* 2000 Jan;85(1):87-94
6. Yokomizo A, Mai M, Bostwick DG, Tindall DJ, Qian J, Cheng L, Jenkins RB, Smith DI, Liu W. Mutation and expression analysis of the p73 gene in prostate cancer. *Prostate* 1999 May;39(2):94-100.
7. Takahashi H, Ichimiya S, Nimura Y, Watanabe M, Furusato M, Wakui S, Yatani R, Aizawa S, Nakagawara A. Mutation, allelotyping, and transcription analyses of the p73 gene in prostatic carcinoma. *Cancer Res* 1998 May 15;58(10):2076-7
8. Peters MA, Janer M, Kolb S, Jarvik GP, Ostrander EA, Stanford JL. Germline mutations in the p73 gene do not predispose to familial prostate-brain cancer. *Prostate* 2001 Sep 15;48(4):292-6
9. Kwak C, Jin RJ, Lee C, Park MS, Lee SE. Thrombospondin-1, vascular endothelial growth factor expression and their relationship with p53 status in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *BJU Int* 2002 Feb;89(3):303-9
10. Qian J, Hirasawa K, Bostwick DG, Bergstralh EJ, Slezak JM, Anderl KL, Borell TJ, Lieber MM, Jenkins RB. Loss of p53 and c-myc overrepresentation in stage T(2-3)N(1-3)M(0) prostate cancer are potential markers

for cancer progression.

Mod Pathol 2002 Jan;15(1):35-44

11. Omar EA, Behloul H, Chevalier S, Aprikian AG.

Relationship of p21(WAF-I) protein expression with prognosis in advanced prostate cancer treated by androgen ablation.

Prostate 2001 Nov 1;49(3):191-9

12. Gardner WA Jr and Bennett BD: The prostate - overview: recent insights and speculations. Monogr Pathol pp129-148, 1992.

13. Dennis LK and Dawson DV: Meta-analysis of measures of sexual activity and prostate cancer. Epidemiology 13: 72-79, 2002.

14. Grignon D and Sakr W: Benign prostatic hyperplasia: Is it a premalignant lesion? In Vivo 8: 415-418, 1994.

15. Bostwick DG: Prospective origins of prostate carcinoma. Prostatic intraepithelial neoplasia and atypical adenomatous hyperplasia. Cancer 78: 330-336, 1996.

16. Roberts RO, Jacobsen SJ, Rhodes T, Girman CJ, Guess HA and Lieber MM: Natural history of prostatism: impaired health states in men with lower urinary tract symptoms. J Urol 157: 1711-1717, 1997.

17. Yu J, Zhang L, Hwang PM, Rago C, Kinzler KW and Vogelstein B: Identification and classification of p53-regulated genes. Proc Natl Acad Sci USA 96: 14517-14522, 1999.

18. Tsai KK and Yuan ZM: c-Abl stabilizes p73 by a phosphorylationaugmented interaction. Cancer Res 63: 3418-3424, 2003.

19. Marin MC, Jost CA, Brooks LA, Irwin MS, O'Nions J, Tidy JA, James N, McGregor JM, Harwood CA, Yulug IG, Vousden KH, Allday MJ, Gusterson B, Ikawa S, Hinds PW, Crook T and Kaelin WG Jr: A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour. Nat Genet 25: 47-54, 2000.

20. Moll UM, Erster S and Zaika A: p53, p63 and p73 - solos, alliances and feuds among family members. Biochim Biophys Acta 1552: 47-59, 2001.

21. Kaelin WG Jr: The emerging p53 gene family. J Natl Cancer Inst 91: 594-598, 1999.

22. Stiewe T and Putzer BM: p73 in apoptosis. Apoptosis 6: 447-452, 2001.

-
23. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. *JAMA* 1995; 273:289-94.
 24. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: Results of a multicenter clinical trial of 6.630 men. *J Urol* 1994; 151:1283-90.
 25. Carter HB, Epstein JI, Partin AW. Influence of age and prostate-specific antigen on the chance of curable prostate cancer among men with nonpalpable disease. *Urology* 1999; 53:126-30.
 26. . Ross KS, Carter HB, Pearson JD, Guess HA. Comparative efficiency of prostate-specific antigen screening strategies for prostate cancer detection. *JAMA* 2000; 284:1399-405.
 27. Seaman E, Whang M, Olsson CA, et al. PSA density (PSAD). Role in patient evaluation and management. *Urol Clin North Am* 1993; 20:653-63.
 28. Djavan B, Zlotta AR, Remzi M, et al. Total and transition zone prostate volume and age: How do they affect the utility of PSA-based diagnostic parameters for early prostate cancer detection? *Urology* 1999; 54:846-52.
 29. Smith DS, Catalona WJ. Rate of change in serum prostate specific antigen levels as a method for prostate cancer detection. *J Urol* 1994; 152:1163-7.
 30. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, et al. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges. *JAMA* 1993; 270: 860-4.
 31. Christensson A, Bjork T, Nilsson O, et al. Serum prostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urol* 1993;150:100-5.
 32. Catalona WJ, Smith DS, Wolfert RL, et al. Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening. *JAMA* 1995;274:1214-20.
 33. . Morote J, Trilla E, Esquena S, et al. The percentage of free prostatic-specific antigen is also useful in men with normal digital rectal examination and serum prostatic-specific antigen between 10.1 and 20ng/ml. *Eur Urol* 2002; 42:333-7.
 34. Hilz H, Noldus J, Hammerer P, et al. Molecular heterogeneity of free PSA in sera of patients with benign and malignant prostate tumors. *Eur Urol* 1999; 36:286-92.
 35. Brawer MK, Meyer GE, Letran JL, et al. Measurement of complexed PSA improves specificity for early detection of prostate cancer. *Urology* 1998; 52:372-8.
 36. Parsons JK, Brawer MK, Cheli CD, et al. Complexed prostate specific antigen (PSA) reduces unnecessary prostate biopsies in the 2.6-4.0ng/mL range of total PSA. *BJU int* 2004; 94:47-50.
 37. Partin AW, Mangold LA, Lamm DM, et al. Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin Tables) for the new millennium. *Urology* 2001; 58:843-8.

-
38. Oesterling JE. Using PSA to eliminate the staging radionuclide bone scan. Significant economic implications. *Urol Clin North Am* 1993; 20:705-11.
 39. Albertsen PC, Hanley JA, Harlan LC, et al. The positive yield of imaging studies in the evaluation of men with newly diagnosed prostate cancer: A population based analysis. *J Urol* 2000; 163: 1138-43.
 40. Kattan MW, Eastham JA, Stapleton AM, et al. A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:766-71.
 41. Kattan MW, Wheeler TM, Scardino PT. Postoperative nomogram for disease recurrence after radical prostatectomy for prostate cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17:1499-507.
 42. Cannon GM Jr, Walsh PC, Partin AW, Pound CR. Prostate-specific antigen doubling time in the identification of patients at risk for progression after treatment and biochemical recurrence for prostate cancer. *Urology* 2003; 62(1):2-8.
 43. Buckley I. : Oncogenes and the nature of malignancy. *Adv. Cancer Res.* 50:71-90,1988.
 44. Russell PJ, Brown JL, Grimmond SM and Raghavan D. : Molecular Biology of Urological tumours Br. *J.Urol.* 65:121,1990.
 45. Strohmeier TG and Slamon DJ. : Proto-oncogenes and Tumor Suppressor Genes in Human Urological Malignancies. *J. Urol.*151 : 1479, 1994.
 46. Sidransky D and Messing E.: Molecular genetics and biochemical mechanisms in Bladder Cancer. *Urol.Cl. N. Amer.* 19:4,629,1992.
 47. Theodorescu D.:Commentary on genetic prognostic marker for transitional cell carcinoma of the bladder: from microscope to molecules. *J. Urol.*155:2,1996.
 48. Parada LF , Tabin CJ , Shih,C and Weinberg RA. : Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene, *Nature*,297 :474, 1982.
 49. McCormick F.: Oncogenes.In Weinberg RA (ed) : *Oncogenes and the Molecular origins of Cancer*.Cold Spring Harbor, New York,Cold Spring Harbor Laboratory, 1989, pp 125-145.
 50. Reddy EP, Reynolds RK, Santos E and Barbacid M . :A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature*, 300:149,1982.
 51. Feinberg AP,Vogelstein B, Droner MJ, et al. : Mutation affecting the 12th aminoacid of the c-Ha-ras oncogene product occurs frequently in human cancer. *Science* 220:1175,1983.
 52. Fujita J,Srivastava SK, Kraus MH.: Frequency of molecular alterations affecting ras protooncogenes in human urinary tract tumors. *Proc Natl Acad Sci Usa* 82: 3849,1985.
 53. Raghavan D and Russell PJ . : Detection of a rare point mutation in Ki-ras of a human bladder cancer xenograft by polymerase chain reaction and direct sequencing *Urol.Res*, 20:121,1992.
 54. Viola Mv , Fromowitz F , Ovarez S. et al . :ras oncogene p21 expression is increased in premalignant

lesions and high grade bladder carcinoma. *J. Exp. Med.*, 161:1213, 1985.

55. Malone Pr, Visvanathan KV, Ponder BA et al. : oncogenes and bladder cancer. *Br. J. Urol.* 57,664, 1985.

56. Stock LM, Brossman SA, Fahey JL and Liu BCS. : Ras related oncogene protein as a tumor marker in transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol.* 137 :789, 1987.

57. Theodorescu D, Comil I, Femantez BJ and Kerbel RS. : Overexpression of normal and mutated form of HRAS induces orthotopic bladder invasion in a human transitional cell carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:9047, 1990.

58. Knowles MA and Winiamson M.: Mutation of H-ras is infrequent in bladder cancer. Confirmation of single-strand conformation polymorphism analysis designed restriction fragment length polymorphism and direct sequencing. *Cancer Res.* 53:133, 1993.

59. Fearon ER, Feinberg A, Hamilton SH, et al. : Loss of gene on the short arm of chromosome 11 in bladder cancer. *Nature* 318:377, 1985.

60. Kirschenbaum A and Droner M. : Update on oncogenes and relevance in Urology. *Urology*, 14:121, 1987.

61. Fanning P, Bulona K, Saini K et al. : Elevated expression of pp60 c-src in low grade human bladder carcinoma. *Cancer Res.* 52: 1457, 1992.

62. Yokota J, Yamamoto T, Toyoshima K et al. : Amplification of c-erbB-2 oncogene in human adenocarcinoma in vivo. *Lancet* 1:765, 1986.

63. Slamon D, Clark G, Wong S et al. : Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 231:261, 1987.

64. Zhou HE, Zhang X, Von Eschenbach AC et al. : Amplification and expression of the c-erbB-2/neu oncogene in human bladder cancer. *Mol. Carcinogens* 3:254, 1990.

65. Myriyama M, Akiyama T, Yamamoto T et al. : Expression of c-erbB-2 gene product in urinary bladder cancer. *J Urol.* 145:423, 1991,

66. Underwood M, Bartlett J, Reeves J et al. : C-erbB-2 gene amplification. A molecular marker in recurrent bladder tumors? *Can. Res.* 55:2422, 1995

67. Mellon JK, Lunec J, Wright C et al. : C-erbB-2 in bladder cancer: molecular biology, correlation with EGF-R and prognostic value. *J Urol.* 155:321, 1996.

68. Thompson DM, Gill GN. The EGF receptor: structure, regulation and potential role in malignancy. *Cancer Surv.* 4:768, 1985.

69. Messing EM, Hanson P, Ullrich P et al. Epidermal growth factor interactions with normal and malignant urothelium: In vivo and in situ studies. *J Urol* 138: 1329, 1987.

70. Messing EM, Reznikoff CA.: Binding and responsiveness to Epidermal growth factor by in vitro transformants of normal human urothelial cells. *J. Urol.* 143 : 272 A, 1990.

-
71. Smith K, Fennelly JA, Neal DE et al. : Characterization and quantitation of the epidermal growth factor receptor in invasive and superficial bladder tumors. *Cancer Res.*49:5810,1989.
 72. Lipponen P and Eskelinen M. : Expression of EGF-R in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (c-erbB-2,p53) expression and long term prognosis. *Br. J. Cancer*,69:1120, 1994.
 73. N guen PL, Swanson PE, Jaszcz W et al. : Expression of epidermal growth factor receptor in invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder .A multivariate survival analysis. *Am. J .Clin.Pathol*, 101 : 166, 1994.
 74. Neal DE, Sharples C, Smith K et al. :The Epidermal growth factor receptor and the prognosis of bladder cancer. *Cancer* 65:1619,1990.
 75. Friend SH, Bernards R, Rogeli S et al. :A human DNA fragment with properties of the gene that predispose to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 323:436, 1986.
 76. Mihara K,Cao XR, Y en A et al. :Cell cycle-depended regulation of phosphorylation of human Rb gene product. *Science* 246: 1300, 1987 .
 77. Goodrich DW, Chen Y, Scully P et al. : Expression of the retinoblastoma gene product in bladder carcinoma cells associates with a low frequency of tumor formation.*Cancer Res* 52: 1968, 1992.
 78. Cairns P , Proctor AJ and Knowles MA. : Loss of heterozygosity at the RB locus is frequent and correlates with muscle invasion in bladder carcinoma.*Oncogene*, 6:2305,1991.
 79. Cordon-Cardo C, Wartinger D, Petrylak D. et al. :Altered expression of the retinoblastoma gene product: prognostic indicator in bladder cancer. *J. Natl.Cancer Inst.* 84: 1251 , 1992.
 80. Logothetis CJ, Xu HJ, Ro J et al. : Altered expression of retinoblastoma protein and known prognostic variables in locally advanced bladder cancer .*J Natl. Cancer Inst.*84: 1256, 1992.
 81. Levin AJ , Momand J , Finley CA. : The p53 tumor supressor gene. *Nature* , 351 : 453,1 991.
 82. Cordon-Cardo C, Dalbagni G , Saez GJ . : p53 mutations in human bladder cancer Genotypic versus phenotypic patterns.*Int J .Cancer* 56 :347 , 1994.
 83. Esrig D, Spruck HH III, Nichols PW et al. :p53 nuclear protein. Accumulation correlates with mutations in the p53 genes, tumor grade and stage in bladder cancer. *Amer. J. Path.*143:1399,1993.
 84. Mellon K, Wilkinson S, Vickers J et al. :Abnormalities in p53 and DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder.*Br.J.Urol*1.73:522,1994.
 85. Sakrs A, Dalbagni C, Cordon-Cardo C et al. :Association of the p53 nuclear overexpression and tumor progression in carcinoma in situ of the bladder . *J Urol.*152:388,1994
 86. Vet JAM, Bringuier PP , Poddighe PJ : p53 mutations have no additional prognostic value over stage in bladder cancer. *Br.J. Cancer* 70:496,1994.

-
87. Habuchi T , Ogawa O, Kakehi Y et al. :Allelic loss of chromosome 17p in urothelial cancer: strong association with invasive phenotype. *J.Urol.*148 :1595,1992.
 88. Gardiner RA, Walsh MD, Allen V et al. : Immunohistochemical expression of p53 in primary T1 transitional cell bladder cancer in relation to tumor progression. *Br.J.Urol.* 73:526,1994.
 89. Sakris AS, Dalbagni G, Cordon-Cardo C et al. :Nuclear overexpression of p53 in transitional cell bladder cancer: A marker for disease progression. *J Natl. Cancer Inst.* 85:53, 1993.
 90. Yoshimura I, Kudoh J, Saito S et al. :p53 gene mutation in recurrent superficial bladder cancer. *J Urol.*153:1711,1995.
 91. Thomas DJ, Robinson MC, Charlton R et al. :p53 expression ploidy and progression in pT1 TCC of the bladder. *Br.J.Urol.* 73,533,1993
 92. Sakris AJ, BajoM DF, Reuter VE et al. : Prognostic value of p53 nuclear overexpression in patients with invasive bladder cancer treated with Neo-Adjuvant M-VAC. *J Clin Oncol*, 13:1384,1995.
 93. Esrig D, Elmasian D, Croshen S et al.: Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *New Engl. J. Med* 331:1259,1994.
 94. Hockenber D, Nunez G, Milliman C et al. : Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature*, 348:334, 1990.
 95. Ngan BY, Chen-Lev Z, Weiss L et al: Expression in non-Hodgkin lymphoma of the bcl-2 protein associated with t(14:18) translocation. *N . Engl. J. Med.*318: 1638,1988.
 96. Ryan JS, Prochowik E, Gottlieb CA et al. : c-myc and bcl-2 modulate p53 function by altering p53 subcellular trafficking during the cell cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*,91 :5878, 1994.
 97. Hockenber DM, Zutter M, Hickey W et al. :Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*, 88:6961 , 1991.
 98. King ED, Matteson J, Jacobs SC et al. : Incidence of apoptosis, cell proliferation and bcl-2 expression in transitional cell carcinoma of the bladder: association with tumor progression. *J.Urol.* 155:316,1996.
 99. Click SH, Howell LP and Devene White R W . : Relationship of p53 and bcl-2 to prognosis in muscle invasive transitional cell carcinoma of the bladder . *J Urol.*155:1754,1996.
 100. Miyashi LT and Reed JC. :Bcl-2 oncoprotein blocks chemotherapy-induced apoptosis in a human leukemia cell line. *Blood*, 81 : 151 , 1993.
 101. Messing EM and Murphy-Brooks N. :Recovery of Epidermal growth factor in voided urine of patients with bladder cancer . *Urology* 44:502, 1994.
 102. Eder IE, Stenze A, Hobish A et al. :Transforming growth factor β 1 and β 2 in serum and urine from patients with bladder carcinoma. *J Urol.*156:953,1996.
 103. Fitzgerald JM, Ramchurren N , Rieger K et al. :Identification of H-ras mutations in urine sediments

complements cytology in the detection of bladder tumors. J. Natl.Cancer Inst. 87:129,1995.

104. SjdranSky D, von Eschenbach A, Tsai YC et al. : Identification of p53 gene mutations in bladder cancer and urine samples. Science 252:706,1991.

105. Meloni A, Peier AM, Haddad FS et al. : A new approach in the diagnosis and follow-up of bladder cancer .FISH analysis of urine, bladder washings and tumors:Cancer Genet. Cytogenet. 71 : 1, 1994.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Deregulation of p73 isoform equilibrium in benign prostate hyperplasia and prostate cancer

DEMETRIOS A. ARVANITIS¹, EMMANOUEL LIANOS², NIKOLAOS SOULITZIS¹,
DEMETRIOS DELAKAS² and DEMETRIOS A. SPANDIDOS¹

¹Laboratory of Clinical Virology, Medical School, University of Crete;

²Department of Urology, University General Hospital of Heraklion, Heraklion, Crete, Greece

Received August 16, 2004; Accepted September 27, 2004

Abstract. p73, a p53 homologue important for growth suppression, differentiation and induction of apoptosis, utilizes different promoters and undergoes alternative splicing to produce several isoforms differing in their ability to overlap p53 functions. Using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) to assess the mRNA levels of p53, p73 (total and isoforms specific for exons 2 and 13), MDM2, CDKN1A and β 2-microglobulin as internal control, we analyzed 35 prostate carcinomas and 44 benign prostate hyperplasias (BPH) compared to 14 normal prostates. Shift of p73 isoform mRNA levels from exon 13 lacking to exon 13 containing copies was observed in 80% of prostate cancer cases and in 52.3% of BPH specimens, and from exon 2 containing to exon 2 lacking (p73Deltaexon2) transcripts in 45.7% of cancer cases, but only in 9.1% of BPH samples. From these findings we deduce that p73 isoform balance is disrupted in prostate cancer and BPH, suggesting that this disequilibrium could play an important role in both prostate hyperplasia and malignancy.

Introduction

Prostate cancer is the most common cancer diagnosed in men. Its initiation, as the formation of a histologically identifiable lesion, is a very frequent event, occurring in nearly one-third of men over the age of 45. However, the majority of such lesions do not progress to clinically detectable tumors (1). Disease occurrence exhibits association with age, race and geographical location, being mostly diagnosed in older men, with variable biological aggressiveness. Several genetic and

environmental factors have been proposed as risk factors for prostate cancer. In the majority of cases, the disease is a result of their interaction (2).

Prostate cancer initiates from two regions of the gland, with the majority of lesions (75-80%) developing in the periphery, while the remaining in a periurethral region, termed transition zone (3). In this region benign prostate hyperplasia (BPH) occurs, a non-malignant lesion characterized by stromal cell proliferation, which is not believed to be the precursor of prostate invasive adenocarcinoma (4). Noteworthy, the number of males with histologically diagnosed prostate hyperplasia, who seek and receive treatment, is even less, due to variation in the perceived symptoms. BPH may be either symptomatic or asymptomatic, with a strong association between inflammation and symptomatic BPH (5).

p53 is a sequence-specific transcription factor that regulates the expression of genes involved in cell cycle arrest and apoptosis in response to genotoxic damage or cellular stress, whilst it is the most frequently mutated gene in human cancer, being mutated or lost in 50% of tumors (6). Failure of p53 function leads to uncontrolled cell growth, which is a striking feature of cancer cells (7). Prostate cancers also exhibit this characteristic along with a remarkable apoptotic resistance, but only a subset of them harbor p53 aberrations, usually those of advanced stage (8-10). Although mutations of p53 and other tumor suppressor genes or oncogenes have been detected in prostate cancer, no single gene has a high mutation rate in this malignancy.

TP73, one of the two p53 homologues, can be divided into similar to p53 functional domains, an amino-terminal transactivation (TA), a central DNA binding (DBD) and a homo-oligomerization (OD) domain. However, it differs in the extended, compared to p53, carboxy-terminal, where two additional domains exist, a secondary transactivation (TA2) and a sterile α motif (SAM) domain (11). TP73 shares, to some extent, overlapping functions with p53, such as MDM2 and CDKN1A transcriptional activation, but has a unique role in p53-independent apoptosis through E2F1 (7,12,13). The gene encoding for this protein is located in 1p36, a chromosomal region frequently deleted in a variety of cancers (14). Therefore, it was initially hypothesized that p73 was a tumor suppressor gene. However, mutations of p73 appear to be very rare in human tumors, including prostate cancer (11,15).

Correspondence to: Professor D.A. Spandidos, Laboratory of Clinical Virology, Medical School, University of Crete, P.O. Box 2208, Heraklion 71003, Crete, Greece
E-mail: spandidos@spandidos.gr

Key words: p73 exon 13, p73Deltaexon2, cell cycle, apoptosis

Table I. Patients' clinical and histological characteristics.

	Prostate cancer (%)	Benign prostate hyperplasia (%)
Cases, n	35	44
Age (mean \pm SD, years)	68.9 \pm 5.8	72.7 \pm 6.8
PSA (mean \pm SD, ng/ml)	29.4 \pm 26.8	5.3 \pm 4.4
<4.0	5 (14.3)	18 (40.9)
4.0-10.0	7 (20.0)	21 (47.7)
>10.0	23 (65.7)	5 (11.4)
TNM		
T1a-T2a	19 (54.3)	-
T2b-T4	16 (45.7)	-
Gleason score		
2-4	8 (22.9)	-
5-7	18 (51.4)	-
8-10	9 (25.7)	-
Inflammation		
Yes	-	25 (56.8)
No	-	19 (43.2)

In addition, p/3 utilizes different promoters for transcription and undergoes alternative splicing to produce a set of variant proteins (16-18). The various p73 isoforms not only have different transactivation efficacies, but are also capable of homo- and hetero-oligomerizing with each other, with p63 isoforms and p53 mutants, forming tetramers with variable ability to activate and antagonize p53-responsive promoters (11,18).

MDM2 can inhibit the transcriptional activity of p53, shuttle p53 out of the nucleus and target p53 for degradation through ubiquitin-mediated proteolysis (19). After DNA damage, phosphorylation of p53 at N-terminal serine residues by protein kinases, such as ATM, ATR or DNAPK, inhibits the binding of MDM2 to p53, leading to an increase in p53 levels, activity, and nuclear localization (20,21).

CDKN1A, also termed p21^{WAF1/CIP1}, is a member of the cyclin dependent kinase inhibitor family (Cdk inhibitors, CKIs). It blocks the cyclin B-Cdc2 complex, which is responsible for cell cycle progression into G2-phase and its entrance into mitosis, in order to achieve G2 cell cycle arrest (22,23). This procedure occurs either in cells with damaged DNA, or in cells undergoing terminal differentiation that withdraw from the cell cycle, through transcriptional activation of CDKN1A by either p53 or p73 (24,25).

In order to examine the role of p73 isoform expression in prostate cancer and benign prostate hyperplasia compared to normal controls, we used the validated RT-PCR method to assess their mRNA levels, as well as those of p53, MDM2 and CDKN1A, using β 2-microglobulin as internal control.

Materials and methods

Specimens. Over a 2-year period, between September 2000 and November 2002, 35 prostate cancer specimens were obtained with radical prostatectomy and 44 BPH specimens with suprapubic or transurethral prostatectomy from randomly selected patients at the Department of Urology, University General Hospital of Heraklion, Crete. Disease stage and grade (Gleason score) were determined by histological examination. Patients' clinicopathological characteristics are shown in Table I. In addition, 14 normal prostates were obtained post mortem from subjects aged 20-28 (mean \pm SD, 23.8 \pm 2.4 years) at the same hospital. All specimens were snap-frozen and stored at -75°C until further examination. For post mortem specimens, tissue samples were obtained within 8 h after death. The study protocol was approved by the University General Hospital of Heraklion and the University of Crete Ethics Committees and all patients or their relatives gave written informed consent.

RNA preparation. Total RNA was extracted using the TRIzol reagent (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions, followed by digestion with RNase-free DNase I, purification with phenol-chloroform and precipitation with ethanol. RNA concentration and purity was determined on a UV/Vis spectrophotometer (Hitachi Instruments Inc., San Jose, CA, USA) by its 260 nm absorbance and 260/280 nm absorbance ratio respectively. 1% agarose gel electrophoresis and ethidium bromide staining were used to examine RNA integrity.

Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) method. Reverse transcription reactions, for the preparation of first-strand cDNA from 3 μ g of total RNA, were performed for 1 h at 52°C, using 1X first-strand cDNA synthesis buffer, 5 mM dithiothreitol (DTT), 50 ng of random hexamers, 1.0 mM of each dNTP, 40 U RNaseOut and 15 U ThermoScript reverse transcriptase, in a total volume of 20 μ l, followed by incubation for 20 min at 37°C with 2 U of *E. coli* RNaseH to avoid cDNA contamination with RNA, according to the manufacturer's protocol (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA). Multiplex PCR assays, using primers for both the target cDNA and β 2-microglobulin reference gene, were carried out in a PTC-200 programmable thermal controller (MJ Research Inc., Waltham, MA, USA). Two μ l of cDNA was amplified in a total volume of 10 μ l containing 1X PCR reaction buffer, 2.5 mM MgCl₂, 0.4 mM dNTPs, 30 pmol of each primer set and 0.6 U Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen Corp.). Kinetic analysis was performed using a representative pool of all samples as a template, in order to achieve contemporary entrance of product amplification in the logarithmic phase (reaction synchronization) and to eliminate the competition between different primer sets in multiplex PCR assays. Cycling parameters were as follows: initial denaturation at 94°C for 3 min, 30 cycles of amplification at 94°C for 30 sec, 55°C for 30 sec and 72°C for 40 sec, followed by a final extension step at 72°C for 10 min. The oligonucleotide primers used in this study are listed in Table II. In Fig. 1 the location of the designed p73 primers is presented.

Table II. PCR primers used in this study.

Primers	Sequence (5'-3')	PCR product (bp)
p53-F p53-R	TTT GGG TCT TTG AAC CCT TG CCA CAA CAA AAC ACC AGT GC	117
MDM2-F MDM2-R	TGA AGG TTT CTC TTC CTG AAG C AAG GTG GGA GTG ATC AAA AGG	180
CDKN1A-F CDKN1A-R	ATT CAG CAT TGT GGG AGG AG TGG ACT GTT TTC TCT CGG CT	131
p73-F p73-R	GGA CGT CTT CCA CCT GGA G GTA GTC GGT GTT GGA GGG G	216
p73 exon 13-F p73 exon 13-R	TTT TAA CAG GAT TGG GGT G CTC AAT GGT CAG GTT CTG C	91
p73 exon 2-F p73 exon 2-R	CAC CAC GTT TGA GCA CCT C CGC CCA CCA CCT CAT TAT T	96
β 2-microglobulin-F β 2-microglobulin-R	TCC AAC ATC AAC ATC TTG GT TCC CCC AAA TTC TAA GCA GA	123

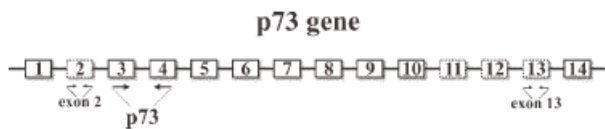


Figure 1. Design of the p73 primers.

Electrophoresis. PCR products were analyzed by electrophoresis in 8% polyacrylamide gels (acrylamide/bis-acrylamide ratio, 29:1) and silver stained. Gels were scanned on an Agfa SnapScan 1212u (Agfa-Gevaert N.V., Mortsel, Belgium). Band integrated density was used as quantitative parameter and was calculated by digital imaging using the Adobe Photoshop 7.0 software (Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA).

Statistics. Quantification accuracy was established via multiple comparison analysis of β 2-microglobulin estimated expression from different, independent RT-PCR reactions. Differences in the mean values of quantitative measurements were examined using either Student's t-test or Mann-Whitney U test, according to Kolmogorov-Smirnov goodness of fit and Levene median test for the examination of normality and equivalency of variances, respectively. The Spearman rank order correlation, a non-parametric test, was performed in order to determine whether there was an association between p53, MDM2, CDKN1A and p73 isoform mRNA expressions with disease-specific clinicopathological characteristics, such as tumor stage, Gleason score and serum PSA levels. The 99% reference range for normal specimens was constructed conservatively as mean \pm 3SD. A p-value <0.05 was considered

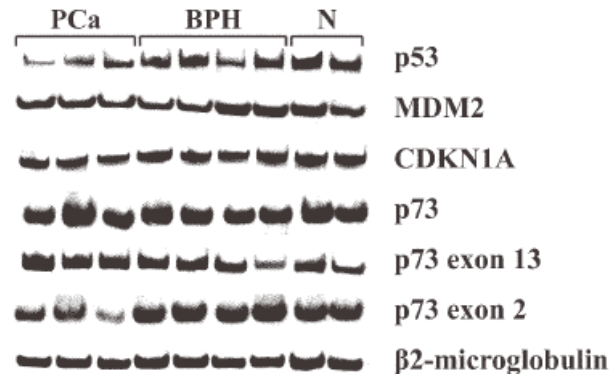


Figure 2. Representative examples of RT-PCR analysis. PCa, prostate cancer; BPH, benign prostate hyperplasia; N, normal prostates.

statistically significant. All statistical calculations were carried out using the SPSS 10.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

This study assessed the mRNA levels of p53, MDM2, CDKN1A and p73 isoforms in 35 prostate cancer, 44 BPH and 14 normal prostate specimens. Representative examples of these analyses are illustrated in Fig. 2. Transcriptional profiles of normal prostates for each gene tested matched the pattern expected for a population with normal distribution (Kolmogorov-Smirnov distance between 0.121 and 0.168,

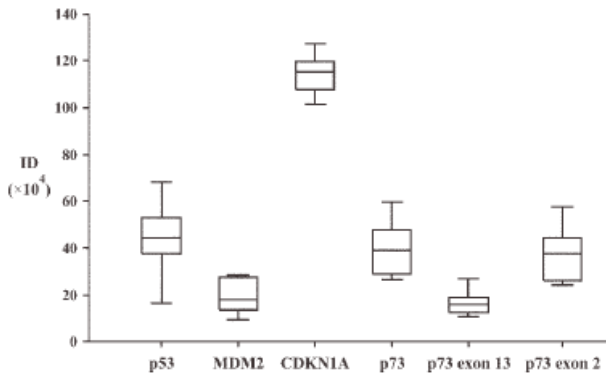


Figure 3. Box-plots of mRNA levels for all loci tested in the normal control group. The boundary of the box closest to zero indicates the 25th percentile, a line within the box marks the median and the boundary of the box farthest from zero indicates the 75th percentile. Whiskers (error bars) above and below the box indicate the 90th and 10th percentiles. ID, integrated density.

with $p > 0.2$) and cluster box-plots were designed from these data sets (Fig. 3). mRNA levels of tumor specimens for all loci tested are depicted in Figs. 4 and 5, while those of BPH samples in Figs. 6 and 7.

No statistically significant association between clinicopathological parameters and transcriptional profiles within the 3 study groups (prostate cancer, BPH and normal controls) was observed for any of the genes tested. However, there were significant correlations between p53 and MDM2 [correlation coefficient (CC): 0.656, $p < 0.001$], p53 and CDKN1A (CC: 0.679, $p < 0.001$), p53 and p73 exon 13 (CC: -0.319, $p = 0.001$), p53 and p73 exon 2 (CC: 0.216, $p = 0.023$), MDM2 and CDKN1A (CC: 0.671, $p < 0.001$), MDM2 and p73 exon 13 (CC: -0.321, $p = 0.001$), MDM2 and p73 exon 2 (CC: 0.236, $p = 0.013$), CDKN1A and p73 exon 13 (CC: -0.346, $p < 0.001$), CDKN1A and p73 exon 2 (CC: 0.257, $p = 0.007$) and p73 exon 13 and p73 exon 2 (CC: -0.535, $p < 0.001$) mRNA levels among cases and controls. Variable pairs with positive correlation coefficients increased or decreased together, whereas in those with negative correlation, one variable increased while the other decreased and vice versa.

Comparison of transcriptional levels in each locus tested revealed a statistically significant association in exon 13 and exon 2 ratios to total p73 transcripts between cancer or BPH cases and controls ($p < 0.001$). p73 transcriptional profile exhibited a shift from exon 13 lacking isoforms in controls (exon 13/total p73 ratio: 41.59%) to exon 13 containing copies in 80% of prostate cancer cases (ratio 84.65%) and in 52.3% of BPH specimens (ratio 87.1%); and from exon 2 containing transcripts (exon 2/total p73 ratio: 93.55%) to exon 2 lacking (p73Deltaexon2) copies in 45.7% of cancer cases (ratio 14.13%), but only in 9.1% of BPH samples (ratio 22.2%).

Discussion

Clinical investigations associate prostate carcinogenesis with chronic or recurrent inflammation (prostatitis) (26) and sexually transmitted infections, regardless of the pathogen (27).

BPH, the most common benign tumor in men aged over 60, represents a different nosologic entity, where epithelial stromal cells actively proliferate. While it is believed that BPH does not progress to malignancy, there are reports implicating this condition with tumors arising in the transition zone, through a morphologic lesion called atypical adenomatous hyperplasia (AAH) (28,29). Since the incidence of BPH is very high and its impact on patients' quality of life severe (30), its pathogenesis and clinical management becomes very important, as life expectancy increases.

In this study, we investigated whether there are any significant differences in the transcriptional levels of p53 and p73 pathway components, as well as in the splicing machinery of p73, between benign and malignant prostate epithelial cells compared to normal prostates obtained post mortem from young subjects. The selection of such a control group was made because of the inability to obtain correspondent adjacent normal tissue, in both benign and neoplastic lesions, due to their morphology and the high possibility of microscopic disorders in an age-matched control group.

Statistical evaluation of the detected mRNA levels for each locus tested in both cases and controls demonstrated that p53, MDM2 and CDKN1A tend to increase or decrease together, as expected (31), possibly because of DNA damage (32); as well as p53 and p73 exon 2, as a result of common response to cell dysfunction towards apoptosis. It has been reported that p73 needs a functional amino-terminal transactivation (TA) domain, partly encoded by exon 2, to act in a similar to p53 way (7). In contrast, p53 and p73 exon 13 transcripts tend to increase or decrease in an opposite manner. This could be the consequence of p73 isoforms increased functional resemblance to p53, when the carboxy-terminal, such as in p73 β , is extended (33,34).

Total p73 mRNA levels remained relatively constant in malignancy, benign cases and controls, as previously described (15). p53 transcripts were moderately increased, CDKN1A was deregulated, while MDM2 levels remained unchanged.

Comparison of prostate cancer and BPH with the normal prostate group, individually or in aggregation, revealed statistically significant shifts of p73 isoform mRNA with respect to exon 2 and exon 13 status. In malignancy, exon 13 containing p73 transcripts increased in 80% of cases, compared to normal subjects, while exon 2 containing mRNAs decreased in 45.7% of specimens. p73Deltaexon2 encodes a protein without amino-terminal transactivation domain, that could neutralize normal transcripts through homo-oligomerization, but also forms heterotetramers with certain p53 polymorphisms and mutations (35,36). In BPH, 52.3% of cases had increased p73 exon 13 copies, compared to normal controls, while exon 2 containing transcripts decreased in 9.1% of samples.

p73 isoform imbalance could be a candidate mechanism to overcome cell cycle control checkpoints and apoptosis in prostate cancer. The p53-independent apoptosis pathway is directly affected (7), while the principal apoptotic pathway could be masked through the formation of heterotetramers between p53 and p73 (6). The role of p73 in the E2F1 pathway may also affect the cell cycle regulation.

The extent of alterations in exon 13 and exon 2 ratios among prostate cancer patients suggests their importance in disease development. The higher expression of p73Deltaexon2

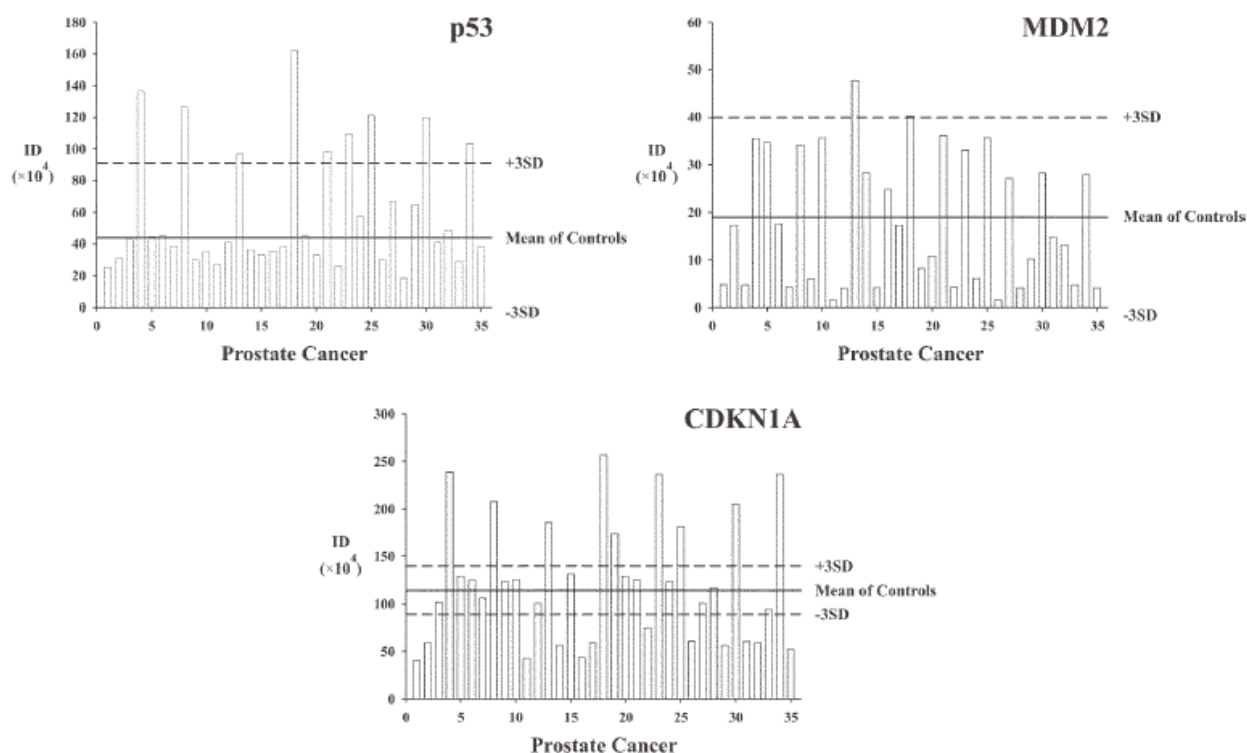


Figure 4. p53, MDM2 and CDKN1A mRNA levels in prostate cancer specimens. Solid reference line, mean value of the normal prostate group; dash reference lines, $\pm 3SD$ of the normal prostate group; ID, integrated density; the numbers on the X axis indicate specimen identity.

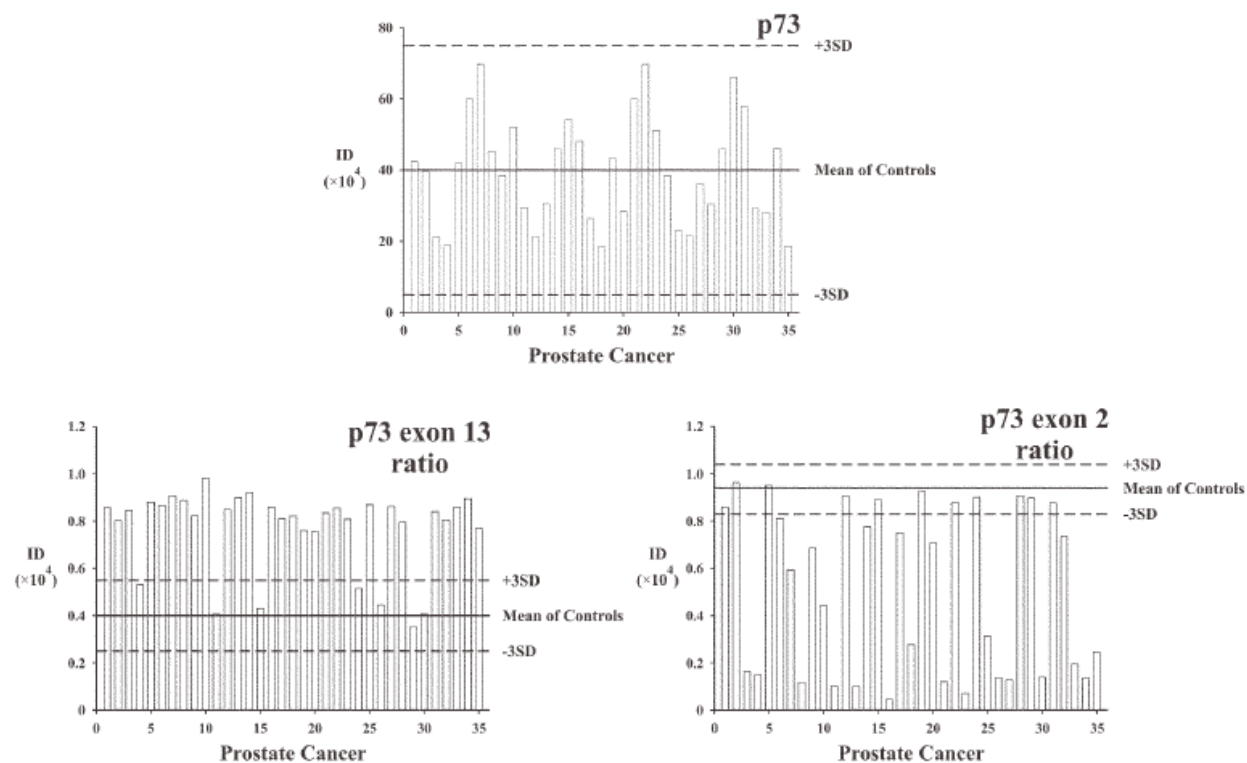


Figure 5. p73, p73 exon 13 and p73 exon 2 mRNA levels in prostate cancer specimens. Solid reference line, mean value of the normal prostate group; dash reference lines, $\pm 3SD$ of the normal prostate group; ID, integrated density; the numbers on the X axis indicate specimen identity.

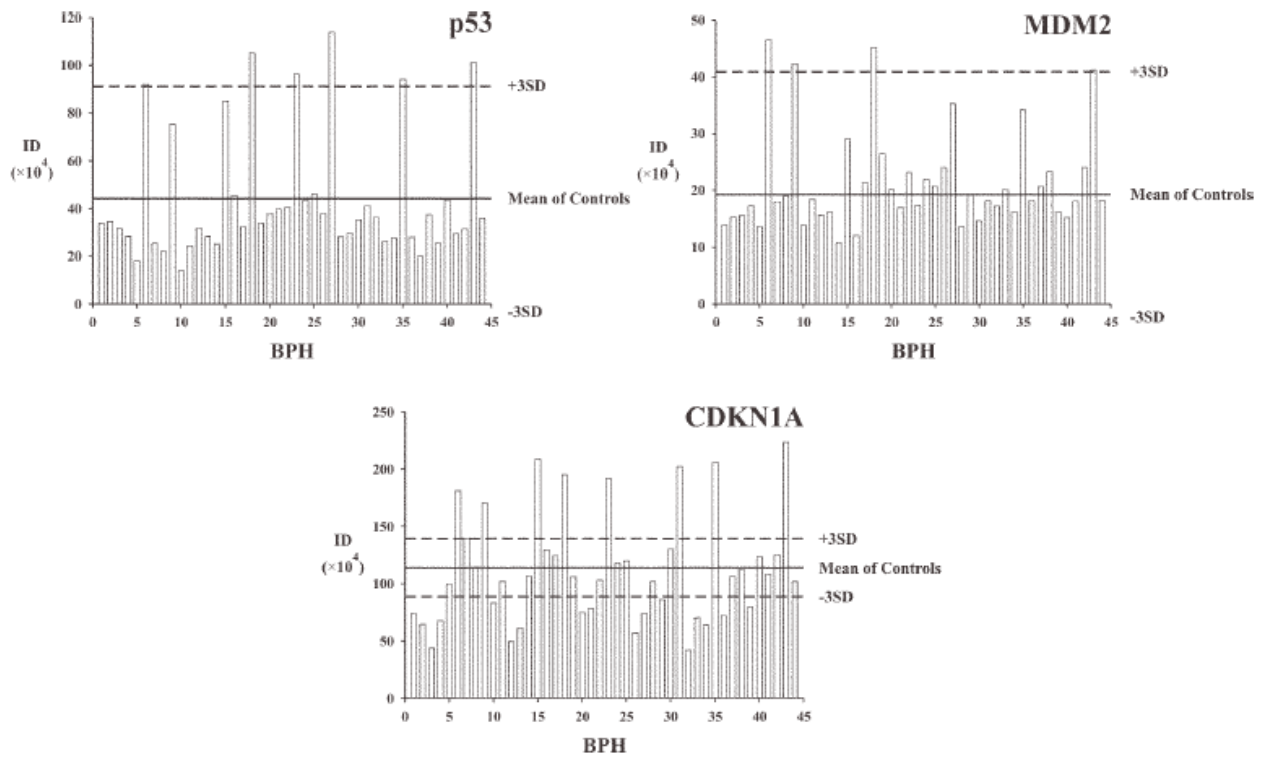


Figure 6. p53, MDM2 and CDKN1A mRNA levels in BPH specimens. Solid reference line, mean value of the normal prostate group; dash reference lines, $\pm 3SD$ of the normal prostate group; ID, integrated density; the numbers on the X axis indicate specimen identity.

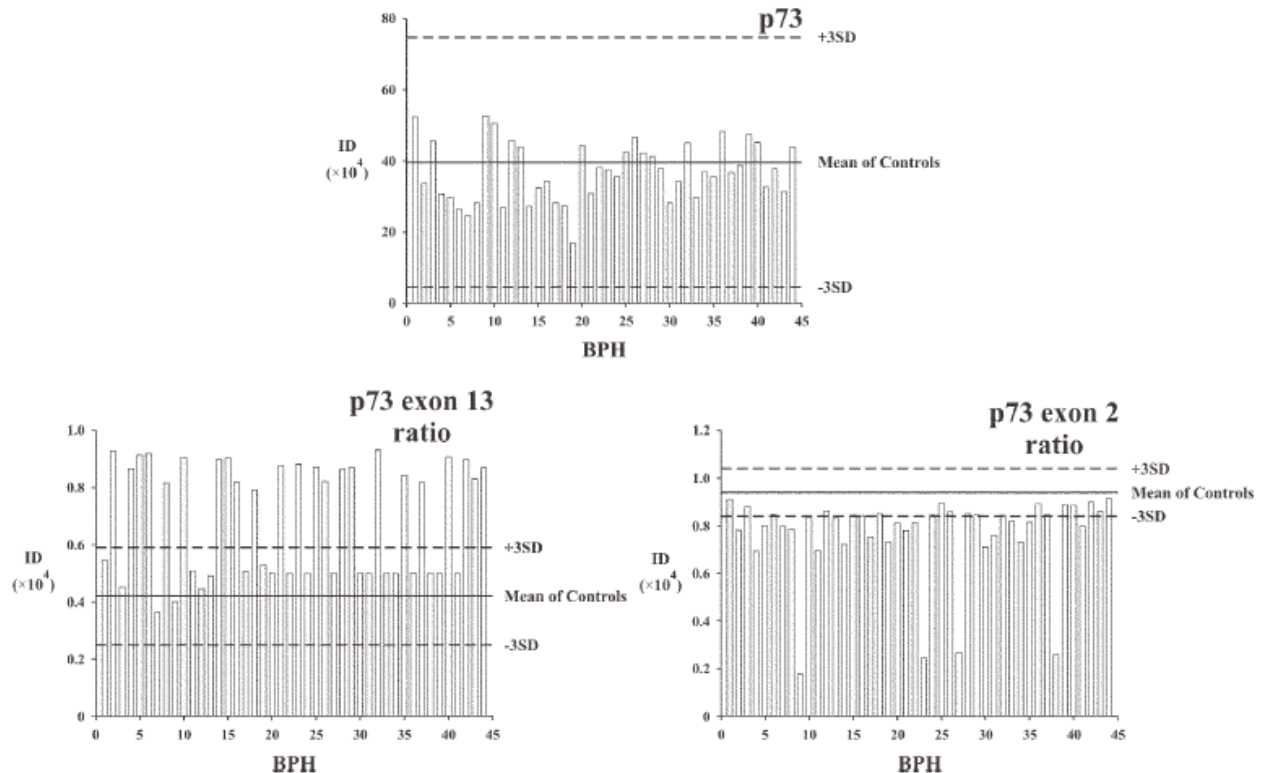


Figure 7. p73, p73 exon 13 and p73 exon 2 mRNA levels in BPH specimens. Solid reference line, mean value of the normal prostate group; dash reference lines, $\pm 3SD$ of the normal prostate group; ID, integrated density; the numbers on the X axis indicate specimen identity.

in prostate cancer, than in BPH, possibly indicates a closer relation to the malignant phenotype. Both ratios could be used as markers for tumor detection or BPH characterization with molecular biology techniques. Although p73 is rarely mutated or transcriptionally deregulated in prostate cancer (15), our findings suggest that it could be involved in the development of both prostate cancer and BPH through splicing deregulation.

In conclusion, this report describes a comparative analysis of p53, MDM2, CDKN1A, p73 exon 13, p73 exon 2 and total p73 mRNA levels between malignant, BPH and normal prostate specimens. p73 isoform mRNA expression deviates from the normal prostate pattern, in favor of exon 13 containing and p73Deltaexon2 transcripts in prostate cancer and to a lesser extent in BPH, while the total p73 mRNA abundance remains approximately the same. These findings suggest that p73 isoform imbalance could play an important role in prostate malignancy and benign hyperplasia.

References

- Novelli G, Margiotti K, Chiocca AM, Spera E, Micali F and Reichardt JK: Pharmacogenetics of human androgens and prostate cancer - an update. *Pharmacogenomics* 5: 283-294, 2004.
- Pienta KJ, Goodson JA and Esper PS: Epidemiology of prostate cancer: molecular and environmental clues. *Urology* 48: 676-683, 1996.
- Oliai BR, Kahane H and Epstein JI: Can basal cells be seen in adenocarcinoma of the prostate? An immunohistochemical study using high molecular weight cytokeratin (clone 34betaE12) antibody. *Am J Surg Pathol* 26: 1151-1160, 2002.
- Grossfeld GD and Coakley FV: Benign prostatic hyperplasia: clinical overview and value of diagnostic imaging. *Radiol Clin North Am* 38: 31-47, 2000.
- Elsasser-Beile U, Przytulski B, Gierschner D, Grussenmeyer T, Katzenwadel A, Leiber C, Deckart A and Wetterauer U: Comparison of the activation status of tumor infiltrating and peripheral lymphocytes of patients with adenocarcinomas and benign hyperplasia of the prostate. *Prostate* 45: 1-7, 2000.
- Kaelin WG Jr: The emerging p53 gene family. *J Natl Cancer Inst* 91: 594-598, 1999.
- Stiewe T and Putzer BM: p73 in apoptosis. *Apoptosis* 6: 447-452, 2001.
- MacGrogan D and Bookstein R: Tumour suppressor genes in prostate cancer. *Semin Cancer Biol* 8: 11-19, 1997.
- Crundwell MC, Arkell DG, Gearty J and Phillips SM: Genetic alterations in incidentally diagnosed, transitional zone prostate cancer: a seven-year follow-up. *J Urol* 158: 1568-1575, 1997.
- Schlechte HH, Schnorr D, Loning T, Rudolph BD, Pohrt UM and Loening SA: Mutation of the tumor suppressor gene p53 in human prostate and bladder cancers - investigation by temperature gradient gel electrophoresis (TGGE). *J Urol* 157: 1049-1053, 1997.
- Marin MC and Kaelin WG Jr: p63 and p73: old members of a new family. *Biochim Biophys Acta* 1470: M93-M100, 2000.
- Stanelle J, Stiewe T, Theseling CC, Peter M and Putzer BM: Gene expression changes in response to E2F1 activation. *Nucleic Acids Res* 30: 1859-1867, 2002.
- Stiewe T and Putzer BM: Role of the p53-homologue p73 in E2F1-induced apoptosis. *Nat Genet* 26: 464-469, 2000.
- Kaghad M, Bonnet H, Yang A, Creancier L, Biscan JC, Valent A, Minty A, Chalou P, Lelias JM, Dumont X, Ferrara P, McKeon F and Caput D: Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers. *Cell* 90: 809-819, 1997.
- Yokomizo A, Mai M, Bostwick DG, Tindall DJ, Qian J, Cheng L, Jenkins RB, Smith DI and Liu W: Mutation and expression analysis of the p73 gene in prostate cancer. *Prostate* 39: 94-100, 1999.
- Zaika AI, Kovalev S, Marchenko ND and Moll UM: Over-expression of the wild-type p73 gene in breast cancer tissues and cell lines. *Cancer Res* 59: 3257-3263, 1999.
- Sayan AE, Rossi M, Melino G and Knight RA: p73: *in silico* evidence for a putative third promoter region. *Biochem Biophys Res Commun* 313: 765-770, 2004.
- Courtois S, De Fromental CC and Hainaut P: p53 protein variants: structural and functional similarities with p63 and p73 isoforms. *Oncogene* 23: 631-638, 2004.
- Wang X, Arooz T, Siu WY, Chiu CH, Lau A, Yamashita K and Poon RY: MDM2 and MDMX can interact differently with ARF and members of the p53 family. *FEBS Lett* 490: 202-208, 2001.
- Banin S, Moyal L, Shieh S, Taya Y, Anderson CW, Chessa L, Smorodinsky NI, Prives C, Reiss Y, Shiloh Y and Ziv Y: Enhanced phosphorylation of p53 by ATM in response to DNA damage. *Science* 281: 1674-1677, 1998.
- Canman CE, Lim DS, Cimprich KA, Taya Y, Tamai K, Sakaguchi K, Appella E, Kastan MB and Siliciano JD: Activation of the ATM kinase by ionizing radiation and phosphorylation of p53. *Science* 281: 1677-1679, 1998.
- Sherr CJ: Cancer cell cycles. *Science* 274: 1672-1677, 1996.
- Morgan DO: Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors. *Ann Rev Cell Dev Biol* 13: 261-291, 1997.
- Winters ZE: P53 pathways involving G2 checkpoint regulators and the role of their subcellular localisation. *J R Coll Surg Edinburgh* 47: 591-598, 2002.
- Melino G, De Laurenzi V and Vousden KH: p73: Friend or foe in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2: 605-615, 2002.
- Gardner WA Jr and Bennett BD: The prostate - overview: recent insights and speculations. *Monogr Pathol* pp129-148, 1992.
- Dennis LK and Dawson DV: Meta-analysis of measures of sexual activity and prostate cancer. *Epidemiology* 13: 72-79, 2002.
- Grignon D and Sakr W: Benign prostatic hyperplasia: Is it a premalignant lesion? *In Vivo* 8: 415-418, 1994.
- Bostwick DG: Prospective origins of prostate carcinoma. Prostatic intraepithelial neoplasia and atypical adenomatous hyperplasia. *Cancer* 78: 330-336, 1996.
- Roberts RO, Jacobsen SJ, Rhodes T, Girman CJ, Guess HA and Lieber MM: Natural history of prostatism: impaired health states in men with lower urinary tract symptoms. *J Urol* 157: 1711-1717, 1997.
- Yu J, Zhang L, Hwang PM, Rago C, Kinzler KW and Vogelstein B: Identification and classification of p53-regulated genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 14517-14522, 1999.
- Tsai KK and Yuan ZM: c-Abl stabilizes p73 by a phosphorylation-augmented interaction. *Cancer Res* 63: 3418-3424, 2003.
- Prabhu NS, Somasundaram K, Satyamoorthy K, Herlyn M and El-Deiry WS: p73beta, unlike p53, suppresses growth and induces apoptosis of human papillomavirus E6-expressing cancer cells. *Int J Oncol* 13: 5-9, 1998.
- Moll UM, Erster S and Zaika A: p53, p63 and p73 - solos, alliances and feuds among family members. *Biochim Biophys Acta* 1552: 47-59, 2001.
- Marin MC, Jost CA, Brooks LA, Irwin MS, O'Nions J, Tidy JA, James N, McGregor JM, Harwood CA, Yulug IG, Vousden KH, Allday MJ, Gusterson B, Ikawa S, Hinds PW, Crook T and Kaelin WG Jr: A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour. *Nat Genet* 25: 47-54, 2000.
- Fillippovich I, Sorokina N, Gatei M, Haupt Y, Hobson K, Moallem E, Spring K, Mould M, McGuckin MA, Lavin MF and Khanna KK: Transactivation-deficient p73alpha (p73Deltaexon2) inhibits apoptosis and competes with p53. *Oncogene* 20: 514-522, 2001.