ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ

& ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΑΣ –

ΗΠΑΤΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ

«ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ ΕΠΙ ΗΠΑΤΩΜΑΤΩΝ»

Δημήτρης Ν. Σαμωνάκης

Ηράκλειο 2010

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

(Α) ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

(Β) ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

-Ι- Σωματοστατίνη και υποδοχείς

1. Η Σωματοστατίνη

2. Ανάλογα σωματοστατίνης

3. Υποδοχείς σωματοστατίνης

-Υπότυποι υποδοχέων

-Ανίχνευση υποδοχέων σωματοστατίνης in vitro σε φυσιολογικούς ανθρώπινους ιστούς

-Ανίχνευση υποδοχέων σωματοστατίνης in vitro σε ανθρώπινους όγκους (δέσμευση υποδοχέα, mRNA υποδοχέων, ανοσοϊστοχημεία υποδοχέων, μελέτες δέσμευσης με εκλεκτικά ανάλογα)

4. Έκφραση υποδοχέων σωματοστατίνης σε ανθρώπινους μη νεοπλασματικούς ιστούς

5. Υποδοχείς σωματοστατίνης σε αγγεία πέριξ των όγκων

-ΙΙ- Σωματοστατίνη και Ογκολογία

1. Σωματοστατίνη και νευροενδοκρινείς όγκοι

2. Σωματοστατίνη και μη ενδοκρινείς όγκοι

3. Σπινθηρογράφημα υποδοχέων σωματοστατίνης

4. Ακτινοθεραπευτικές εφαρμογές

5. Κυτταροτοξική θεραπεία

6. Θεραπεία με μη ραδιενεργά, μη κυτταροτοξικά πεπτίδια.

-III- Σωματοστατίνη και Ήπαρ

1. Υποδοχείς σωματοστατίνης σε κυτταρικό επίπεδο

2. Η αντινεοπλασματική δράση της σωματοστατίνης στο ήπαρ:

α) Πειραματικά δεδομένα

β) Κλινικές Μελέτες

-IV- Ηπατοκυτταρικός καρκίνος

1. Εισαγωγή-Επιδημιολογία

2. Παράγοντες κινδύνου

3. Στοιχεία Ηπατοκαρκινογένεσης

4. Παθολογική ανατομία

5. Φυσική ιστορία και πρόγνωση

6. Κλινικά χαρακτηριστικά

7. Ορολογικοί δείκτες

8. Απεικονιστική διερεύνηση

9. Βιοψία ήπατος

10. Διάγνωση

11. Σταδιοποίηση

12. Πρόληψη

13. Μαζικός πληθυσμιακός έλεγχος (screening)

14. Θεραπευτική προσέγγιση:

-Μεταμόσχευση ήπατος

-Ηπατεκτομή

-Μέθοδοι τοπικής καταστροφής όγκου

-Χημειοθεραπεία

-Ακτινοθεραπεία

-Ιντερφερόνη

-Ταμοξιφαίνη

-Ανάλογα σωματοστατίνης

-Άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις

(Γ) ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

<u>Ι. Κλινική μελέτη αναλόγων σωματοστατίνης μακράς δράσης σε ασθενείς με ΗΚΚ</u>

1. Κλινική μελέτη αναλόγων σωματοστατίνης μακράς δράσης επί ανεγχείρητου ΗΚΚ
2. Κλινική μελέτη: αποτελέσματα και καμπύλες επιβίωσης
3. Συζήτηση επί των αποτελεσμάτων της κλινικής μελέτης

<u>ΙΙ. Μελέτη θρομβωτικών παραγόντων σε ασθενείς με ΗΚΚ υπό ανάλογα σωματοστατίνης</u>

1. Μελέτη θρομβωτικών γεγονότων ομάδας με ανεγχείρητο ΗΚΚ υπό ανάλογα σωματοστατίνης
2. Αποτελέσματα μελέτης θρομβώσεων σε ασθενείς με ανεγχείρητο ΗΚΚ υπό ανάλογα σωματοστατίνης
3. Συζήτηση επί της μελέτης θρομβώσεων με ανεγχείρητο ΗΚΚ υπό ανάλογα σωματοστατίνης

<u>ΙΙΙ. Επίδραση αιθανόλης επί των υποδοχέων σωματοστατίνης</u>

1. Μελέτη in vitro έκφρασης υποδοχέων σωματοστατίνης υπό οκτρεοτίδη, αιθανόλη, ακεταλδεϋδη
2. Αποτελέσματα μελέτης in vitro
3. Συζήτηση επί των πειραματικών δεδομένων στην έκφραση SSTR2, SSTR5 στην κυτταρική σειρά HepG2

(Δ) ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ & ΑΓΓΛΙΚΑ

(Ε) ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(ΣΤ) ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

(Ζ) ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ολοκλήρωση της διατριβής αυτής θα ήταν αδύνατη χωρίς τη βοήθεια πολλών ανθρώπων. Καταρχήν θέλω να εκφράσω θερμές ευχαριστίες στους πολλούς ασθενείς που βοήθησαν με την ευγενική διάθεση και συνεργασία τους παρά το σημαντικό πρόβλημα της υγείας τους.

Ευχαριστώ τον επιβλέποντα καθηγητή κο Ηλία Κουρούμαλη που με την εμπνευσμένη καθοδήγηση και την αστείρευτη υπομονή του στήριξε την ερευνητική αυτή προσπάθεια και διόρθωνε αφειδώς τις ανεπάρκειες μου.

Ουσιαστική βοήθεια στην καθοδήγηση και ολοκλήρωση του πειραματικού μέρους προσέφερε ο εκλεκτός συνάδελφος Γιώργος Νότας, λέκτορας Εργαστηριακής Ιατρικής τον οποίον και ευχαριστώ θερμά, όπως και όλους τους συναδέλφους του εργαστηρίου Γαστρεντερολογίας και Ηπατολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης για την ουσιαστική συνεργασία. Πολύτιμη ήταν συμβολή της επίκουρης καθηγήτριας Βιοστατιστικής -Τομέα Κοινωνικής Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης- κας Ιωάννας Μοσχανδρέα στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της κλινικής μελέτης. Στο τμήμα μελέτης των θρομβώσεων βοήθησαν σημαντικά ο επίκουρος καθηγητής Ιωάννης Κουτρουμπάκης, το βιοχημικό εργαστήριο ΠαΓΝΗ και ιδιαίτερα η Δρ Νίκη Μαλλιαράκη και το εργαστήριο αιμόστασης θρόμβωσης του Βενιζελείου ΠΓΝ υπό την κα Κατερίνα Σφυριδάκη

Τέλος ευχαριστώ θερμά την οικογένειά μου για την σταθερή και αμέριστη συμπαράσταση και έμπνευση.

Στα πλαίσια εκπόνησης της διατριβής έλαβα -κατόπιν εξετάσεων- υποτροφία (εσωτερικού) διάρκειας 12 μηνών από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (2002).

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗ ΚΑΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

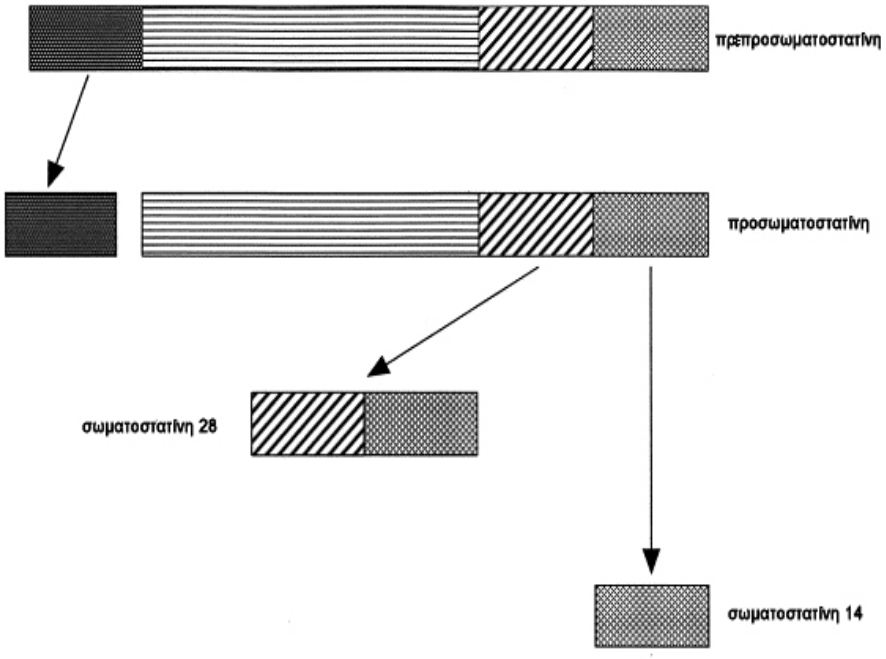
Η ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗ

Στην προσπάθεια απομόνωσης από εκχύλισμα υποθαλάμου μιας ανασταλτικής ορμόνης επί της αυξητικής (GHRH), ανακαλύφθηκε ένας παράγοντας που ανέστελλε την έκλυση της GH από την υπόφυση in vitro (1). Το υπεύθυνο αυτό πεπτίδιο γιά την αναστολή της έκκρισης αυξητικής ορμόνης, αλλά και αναστολή της έκκρισης ινσουλίνης από εκχύλισμα παγκρεατικών νησιδίων, η σωματοστατίνη, απομονώθηκε τελικά από υποθάλαμο και έγινε γνωστή η δομική ακολουθία της, το 1973 από τους Brazeau και συν (2).

Το όνομα σωματοστατίνη αρχικά δόθηκε σ' ένα κυκλικό πεπτίδιο (που ενώνεται με δύο ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς) αποτελούμενο από 14 αμινοξέα (σωματοστατίνη 14-SST14). Ακολούθως ανακαλύφθηκε ένας δεύτερος τύπος, η σωματοστατίνη 28 (N-extended somatostatin 28-SST28) ως εκκριτικό προιόν. Το γονίδιο της σωματοστατίνης εδράζεται στο χρωμόσωμα 3 και κωδικοποιεί την παραγωγή μιας μεγάλης πρόδρομης πρωτεϊνης, της πρεπροσωματοστατίνης η οποία διασπάται αρχικά στην προσωματοστατίνη (92 αμινοξέα) **(Εικόνα 1)**. Η προσωματοστατίνη υφίσταται περαιτέρω επεξεργασία στο καρβοξυτελικό άκρο της για να προκύψουν τελικά οι σωματοστατίνη-14 και σωματοστατίνη-28. Τα τελικά αυτά προϊόντα προσδένονται σε ειδικούς υποδοχείς που ονομάζονται υποδοχείς σωματοστατίνης (ssts) (3).

Η SST-14 είναι προεξάρχουσα στον εγκέφαλο (φλοιό, παρεγκεφαλίδα, υποθάλαμο, επίφυση, νωτιαίο μυελό και αλλού), ενώ η SST-28 είναι η κύρια μορφή σωματοστατίνης στο γαστρεντερικό σωλήνα, ιδιαίτερα σε στόμαχο, δωδεκαδάκτυλο

και νήστιδα (οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σωματοστατίνης έχουν βρεθεί στο στόμαχο και στο πάγκρεας). Παρότι η βιολογική σημασία των δύο μορφών δεν έχει διευκρινησθεί πλήρως η SST-14 θεωρείται ότι λειτουργεί κύρια ως νευροπεπτίδιο ενώ η SST-28 ως κυκλοφορούσα ορμόνη. Κύτταρα που παράγουν σωματοστατίνη έχουν βρεθεί και στο θυρεοειδή, τα επινεφρίδια, τους υπογνάθιους αδένες, το νεφρό, τον προστάτη και τον πλακούντα (4).



Εικόνα 1: Δημιουργία της σωματοστατίνης από πρόδρομες μορφές

Η μεταγραφή και έκκριση της σωματοστατίνης επηρεάζεται από παράγοντες όπως θρεπτικά υλικά (γλυκόζη, αμινοξέα και λιπίδια), νευροδιαβιβαστές, νευροπεπτίδια (γλυκαγόνο, GHRH, μπομπεσίνη κ.α.), ορμόνες (ινσουλίνη, γλυκοκορτικοειδή), κυτταροκίνες (IL-1, IL-6, TGF-β, TNF-α, IFN-γ, λεπτίνη, κ.α.) καθώς και διάφορους ενδοκυττάριους μεσολαβητές (cAMP, cGMP, Ca^{2+}, NO) (5).

Ο όρος σωματοστατίνη είναι περιγραφικά ανεπαρκής διότι η SST αναστελλει την έκλυση θυρεοτροπίνης (TSH) από την υπόφυση, ενώ επίσης έχει δράσεις μη σχετιζόμενες με την υπόφυση, όπως δράση ως νευροδιαβιβαστής (ανασταλτικές και διεγερτικές δράσεις) ή νευροτροποποιητής στο κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα, αλλά και ως ρυθμιστικό πεπτίδιο στο έντερο και στο πάγκρεας (6). Στη ρύθμιση της λειτουργίας της υπόφυσης, η σωματοστατίνη είναι αληθής νευροορμόνη, που σημαίνει ότι το εκκριτικό προιόν των νευρώνων εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος και επηρεάζει κυτταρικές λειτουργίες σε απομακρυσμένες θέσεις. Στους περιφερικούς ιστούς, ο γαστρεντερικός σωλήνας και οι ενδοκρινείς αδένες είναι οι κύριες θέσεις παραγωγής. Στο επίπεδο του εντέρου, η SST είναι παρούσα στο μυεντερικό πλέγμα (όπου δρα ως νευροδιαβιβαστής) και στα επιθηλιακά κύτταρα (όπου επηρεάζει τη λειτουργία παρακειμένων κυττάρων ως παρακρινική δράση).

Η SST μπορεί να επηρεάζει την ίδια την έκκριση της από τα δ κύτταρα (ως αυτοκρινής δράση), επιπροσθέτως της δράσης της ως παρακρινούς παράγοντα στα παγκρεατικά νησίδια. Κι ακόμη, η εξωκρινής λειτουργία του εντέρου μπορεί να τροποποιηθεί με ενδοαυλική δράση (ορμόνη αυλού-lumormone). Η σωματοστατίνη παίζει σημαντικό ανασταλτικό ρόλο σε διάφορες εκκριτικές διεργασίες. Επιπροσθέτως, ολοένα και περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι η σωματοστατίνη ασκεί αντιπολλαπλασιαστική δράση σε ευρύ φάσμα όγκων σε πειραματικά μοντέλα αλλά και σε ανθρώπινους όγκους (6;7). Εξαιτίας της μεγάλης διασποράς, του ευρέως φάσματος των ρυθμιστικών δράσεων αλλά και της εξελικτικής ιστορίας, το πεπτίδιο της σωματοστατίνης μπορεί να θεωρηθεί ως αρχέτυπος ρυθμιστής πολλών συστημάτων (και λόγω της ανασταλτικής δράσης σε ευρύ φάσμα και πολλά οργανικά συστήματα, έχει χαρακτηριστεί ώς ενδοκρινικός διακόπτης -switch off). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τη σωματοστατίνη στους ανθρώπους και σε μεγάλο αριθμό άλλων

ειδών (ακόμη και σε πρωτόγονα ψάρια) παρουσιάζουν εντυπωσιακή ομολογία αλληλουχιών (8). Επιπροσθέτως η αμινοξική αλληλουχία της SST14 είναι πανομοιότυπη σε όλα τα σπονδυλωτά.

Η πρόσφατη κλωνοποίηση ενός γονιδίου που εδράζεται στο χρωμόσωμα 1 και στον τόπο 1p36.3-p36.2 αύξησε την πολυπλοκότητα του σχετικού με τη σωματοστατίνη συτήματος πληροφοριών. Κωδικοποιεί ένα νευροπεπτίδιο που είναι στενά σχετιζόμενο με την σωματοστατίνη, την κορτιστατίνη (9). Η κορτιστατίνη (ή φλοιοστατίνη), πεπτίδιο που ανιχνεύεται ιδιαίτερα στο φλοιό και στον ιππόκαμπο, κωδικοποιείται από γονίδιο που ανακαλύφθηκε πρόσφατα στα θηλαστικά (10;11). Παρότι κορτιστατίνη και σωματοστατίνη είναι παράγωγα διαφορετικών γονιδίων, η κορτιστατίνη 14 διαφέρει από τη σωματοστατίνη 14 σε τρεις αμινοξικές αλληλουχίες, αλλά έχει υψηλή συγγένεια πρός όλους τους γνωστούς υποτύπους υποδοχέων σωματοστατίνης. Όπως και η σωματοστατίνη, η κορτιστατίνη περιέχει τέσσερα αμινοξέα (Phe, Trp, Lys, Thr) που είναι απαραίτητα γιά τη σύνδεση στους υποδοχείς σωματοστατίνης με τους οποίους συνδέεται με υψηλή συγγένεια. Ο ανθρώπινος γενετικός κώδικας προβλέπει την ύπαρξη μιάς κορτιστατίνης 17 με 3 περισσότερα αμινοξέα και μιά κορτιστατίνη 29 με επέκταση του πεπτιδίου από το N τελικό άκρο (12).

Η κορτιστατίνη έχει κοινές λειτουργίες με τη σωματοστατίνη, όπως η καταστολή της νευρωνικής δραστηριότητας. Διαφορές όμως στη φυσιολογία των πεπτιδίων (η κορτιστατίνη επάγει ύπνο βραδέων κυμάτων, μειώνει την κινητική δραστηριότητα, κα.) υποδηλώνουν ότι οι in vivo δράσεις της κορτιστατίνης μπορεί να πραγματοποιούνται από υποδοχείς που είναι διαφορετικοί από αυτούς της σωματοστατίνης (11). Πέραν του εγκεφαλικού φλοιού, πρόσφατες μελέτες έδειξαν έκφραση κορτιστατίνης σε ανθρώπινο νεφρό, στόμαχο, όρχι και λευκά αιμοσφαίρια

(13) πιό ευρέως απ' ό,τι πιστεύονταν και έτσι είναι πιθανό να έχει περισσότερες ρυθμιστικές λειτουργίες από το αναμενόμενο. Η σωματοστατίνη, πέρα από την έκφραση σε νευρώνες του υποθαλάμου και τη συμμετοχή στην έκκριση της αυξητικής ορμόνης, εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό και στο φλοιό, το δικτυωτό σχηματισμό του θαλάμου, τον ιππόκαμπο και αλλού. Η κορτιστατίνη εμφανίζεται στον εγκέφαλο σε μικρό ποσοστό συγκριτικά με τη σωματοστατίνη και πιό περιορισμένη στην κατανομή, κυριότερα εντοπιζόμενη στο φλοιό και τον ιππόκαμπο. Μιά αναθεωρημένη εξελικτική άποψη της οικογένειας των γονιδίων της σωματοστατίνης είναι ότι ένα αρχικό γονίδιο διπλασιάστηκε πρίν ή κατά την έλευση των σπονδυλωτών και τα δύο γονίδια που παρήχθησαν υπέστησαν μεταλλαγή και τελικά απετέλεσαν τα ξεχωριστά γονίδια της πρε-προσωματοστατίνης και πρε-προκορτιστατίνης στα θηλαστικά.

ΑΝΑΛΟΓΑ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ

Η κλινική χρήση της σωματοστατίνης περιορίζεται λόγω της αναγκαιότητας γιά συνεχή ενδοφλέβια έγχυση, εξαιτίας του πολύ μικρού χρόνου ημίσειας ζωής(<3 λεπτά), αλλά και δράσεων όπως η ισχυρή ανασταλτική δράση στη φυσιολογική έκκριση της ινσουλίνης και η αντιρροπιστική (rebound) υπερέκκριση των ορμονών από τους φυσιολογικούς ιστούς μετά την έγχυση της SST14 .Έτσι ένα λογικό βήμα ήταν η δημιουργία αναλόγων σωματοστατίνης, χωρίς τα μειονεκτήματα του φυσικού μορίου. Τα πρώτα ανάλογα που δημιουργήθηκαν, η οκτρεοτίδη, η λανρεοτίδη και η βαπρεοτίδη, είναι γνωστό, ότι συνδέονται με πολύ μεγάλη συγγένεια τον υπότυπο 2, και κάπως μικρότερη τον 3 και 5, αλλά όχι τους 1 και 4 υποδοχείς σωματοστατίνης (14), ενώ άλλα μπορεί να συνδέονται με τους περισσότερους ή όλους τους υποδοχείς

(**Πίνακας 1).** Τα ανάλογα της σωματοστατίνης έχουν ευρύ θεραπευτικό φάσμα και είναι απαλλαγμένα από μείζονες ανεπιθύμητες ενέργειες.

Πίνακας 1: Σύνδεση αναλόγων σωματοστατίνης προς τους υποτύπους υποδοχέων

			IC_{50} (Nm)		
SST/ανάλογο	SST1	SST2	SST3	SST4	SST5
Φυσική SST	2.3	0.2	1.4	1.8	0.9
Οκτρεοτίδη	>1000	0.6	34.5	>1000	7
Λανρεοτίδη	>1000	0.8	107	>1000	5.2
BIM-23244	>1000	0.3	133	>1000	0.7
SOM230	9.3	1.0	1.5	>100	0.2

ΟΚΤΡΕΟΤΙΔΗ (SMS 201-995)

Η οκτρεοτίδη είναι συνθετικό πεπτιδικό ανάλογο που δημιουργήθηκε γιά να ξεπεραστούν οι περιορισμοί της φυσικής σωματοστατίνης (15). Η οκτρεοτίδη διατηρεί το τμήμα Phe-Trp-Lys-Thr του αρχικού μορίου (με την τρυπτοφάνη σε D-διαμόρφωση) που θεωρείται σημαντικό, έχει μεγαλύτερη φαρμακολογική ενεργότητα από το φυσικό μόριο (τουλάχιστο 20 φορές ισχυρότερο στην καταστολή της έκκρισης αυξητικής ορμόνης in vivo) και κατόπιν ενζυματικής δομικής τροποποίησης έχει προκύψει ένα πεπτίδιο πολύ ανθεκτικό στην αποδόμηση, με πιό παρατεταμένη δράση (χρόνος ημισείας ζωής γιά απομάκρυνση από το πλάσμα 90-110 λεπτά έναντι 2-3 λεπτά της φυσικής σωματοστατίνης). Το συνθετικό μόριο είναι επαρκώς σταθερό

ώστε να έχει κάποια δραστικότητα ακόμη και μετά από ρο χορήγηση (αν και η απορρόφηση είναι ατελής). Συνδέεται κυρίως με τους υποτύπους υποδοχέα SSTR2 και 5, δείχνει ενδιάμεση συγγένεια για τον SSTR 3 και χαμηλή γιά τους 1, 4. Διαθέσιμες μορφές χορήγησης της οκτρεοτίδης: iv, im, sc. Όλες οι μορφές είναι καλά ανεκτές με χαμηλό ποσοστό ανεπιθυμήτων ενεργειών. Μέγιστες συγκεντρώσεις στον ορό εμφανίζονται μέσα σε 30 λεπτά από την υποδόρια χορήγηση και 4 λεπτά μετά από βραχεία (3 λεπτών) ενδοφλέβιο έγχυση. Η συγκέντρωση της οκτρεοτίδης στον ορό αυξάνει γραμμικά αυξανομένης της δόσης, ανεξάρτητα αν το φάρμακο δίνεται υποδόρια ή ενδοφλέβια. Η κατανομή είναι ταχεία. Εφόσον βρεθεί στο αίμα η οκτρεοτίδη κυρίως κατανέμεται στο πλάσμα, όπου κατά 65% είναι συνδεδεμένη με πρωτείνες (κυρίως λιποπρωτείνες, και σε μικρότερο βαθμό αλβουμίνη). Ο χρόνος ημίσειας ζωής κάθαρσης της οκτρεοτίδης υπολογίζεται 30 φορές μεγαλύτερος απ' ό,τι της σωματοστατίνης. Σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια η κάθαρση της οκτρεοτίδης πλάσματος μειώνεται κατά 50%.

Συνήθεις ανεπιθύμητες ενέργειες της θεραπείας με οκτρεοτίδη είναι: ναυτία, κράμπες στην κοιλία, διάρροια, στεατόρροια (πιθανώς από παροδική αναστολή στην εξωκρινή παγκρεατική μοίρα και δυσαπορρόφηση λίπους). Τα συμπτώματα αυτά αρχίζουν εντός ωρών μετά την πρώτη ένεση του φαρμάκου και η σοβαρότητά τους συνδέεται με τη δόση και συνήθως υποχωρούν αυτομάτως σε 10-14 μέρες, παρά τη συνέχιση της θεραπείας. Επιπλέον, από τη στιγμή που τα ανάλογα της σωματοστατίνης αναστέλουν την έκκριση της ινσουλίνης, αναμένεται μειωμένη ανοχή γλυκόζης είτε και εμφανής υπεργλυκαιμία, στη διάρκεια της θεραπείας με οκτρεοτίδη. Παρότι το φάρμακο έχει μικρής διάρκειας ανασταλτική δράση επί της έκκρισης ινσουλίνης, η δυνατότητα να επιβραδύνει την απορρόφηση των υδατανθράκων και να αναστέλλει την αυξητική ορμόνη και το γλυκαγόνο,

προφυλλάσει από κλινικά σημαντική δράση επί του μεταβολισμού των υδατανθράκων κατά τη διάρκεια μακράς θεραπευτικής εφαρμογής. Επίσης, η μακροχρόνια (περισσότερο του 1 μήνα) χορήγηση οκτρεοτίδης συνδέεται με αυξημένη επίπτωση χοληστερινικών χολολίθων (περίπου 20-30% των ασθενών) και χολικής λάσπης στο 20-50%. Παρότι ο σχηματισμός των χολολίθων επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, στη συγκεκριμένη περίπτωση σχετίζεται με τη διαταραχή στην κένωση της χοληδόχου κύστεως και με τη δράση επί της εντερικής κινητικότητας, καθώς επίσης την αναστολή της έκκρισης προκινητικών πεπτιδίων όπως η χολοκυστοκινίνη και την αυξημένη παραγωγή δεοξυχολικού οξέος (χολή, έντερο) (16).

Η οκτρεοτίδη είναι εδώ και καιρό διαθέσιμη σε μορφή μακράς δράσης (Sandostatin LAR) σε 20 και 30 mg οκτρεοτίδης αναμιγμένης με μικροσφαιρίδια πολυμερούς DL Lactide co-Glycolide (17). Έχει σχεδιαστεί γιά μηνιαία χορήγηση, και ασκεί παρόμοιες δράσεις με τη φυσική σωματοστατίνη. Το φάσμα των ανεπιθύμητων ενργειών είναι παρόμοιο με της σωματοστατίνης, σε ηπιότερο όμως βαθμό και πολύ καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών.

ΛΑΝΡΕΟΤΙΔΗ (BIM 23014C)

Ανάλογο βραδείας αποδέσμευσης, με παρόμοια δραστικότητα με την οκτρεοτίδη. Επιπροσθέτως της συγγενείας με τον SSTR 2, έχει αξιόλογη συγγένεια και προς τον SSTR 5, που έχει ως πλεονέκτημα τη χρήση σε όγκους που εκφράζουν και τους δύο παραπάνω υποτύπους. Μαζί με την οκτρεοτίδη έχει εγκριθεί από τις περισσότερες χώρες γιά τον έλεγχο των ορμονικών συμπτωμάτων σε ασθενείς με γαστρεντεροπαγκρεατικούς νευροενδοκρινείς όγκους, όπως και σε ασθενείς με μεγαλακρία. Μπορεί να χορηγηθεί υποδορίως με πολλαπλές ενέσεις, με συνεχή

έγχυση υποδορίως ή ενδοφλεβίως, είτε και ως εφάπαξ ένεση. Τα ανάλογα βραδείας αποδέσμευσης μπορούν να χορηγηθούν κάθε 14 ή 28 ημέρες (Lanreotide Autogel) (18).

ΒΑΠΡΕΟΤΙΔΗ (RC 160)

Ανάλογο σωματοστατίνης με αρκετά μεγαλύτερη μεταβολική σταθερότητα συγκριτικά με τη φυσική σωματοστατίνη. Διεγείρει την ενεργότητα της φωσφοτυροσινικής φωσφατάσης και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό κυττάρων που εκφράζουν το γονίδιο γιά SST 2 αλλά και SSTR 5.

(KE 108)

Πρόσφατα περιγράφηκε η σύνθεση νέου αναλόγου με μειωμένο μέγεθος και σταθερή δομή (19). Και οι πέντε υπότυποι υποδοχέων σωματοστατίνης παρουσιάζουν εξαιρετικά υψηλή συγγένεια προς το KE 108, ισοδύναμη της συγγένειας της SST 28 προς τον SSTR1, και 2-4 φορές περισσότερο απ' ό,τι η SST 28 προς τους SSTR2-5. Επιπρόσθετα είναι σταθερό γιά ώρες στον ανθρώπινο ορό. Ενδεχομένως πρόκειται γιά πολλά υποσχόμενο μόριο, που ενδεχομένως στοχεύοντας όλους τους υποτύπους σωματοστατίνης, δυνητικά να αποτελέσει λύση γιά όγκους που εκφράζουν πολλαπλούς υποτύπους υποδοχέων.

ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ

Με τεχνικές γονιδιακής κλωνοποίησης, πέντε υπότυποι υποδοχέων σωματοστατίνης έχουν ανακαλυφθεί (SSTR1-5) (14;20), ενώ μέσω εναλλακτικού διαχωρισμού (alternative splicing) προκύπτουν οι δύο μορφές του υποδοχέα 2, η α και η β (η διαφορά μεταξύ των δύο είναι το μήκος του κυτταροπλασματικού άκρου) (5;21). Οι υποδοχείς σωματοστατίνης είναι γλυκοπρωτείνες (μονήρεις πολυπεπτιδικές αλυσίδες) που βρίσκονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των κυττάρων στόχων και καθένας περιέχει 7 α-ελικοειδή διαμεμβρανικά τμήματα, τυπικό χαρακτηριστικό γιά υποδοχείς που ανήκουν στην οικογένεια των G πρωτεϊνών. Κωδικοποιούνται από διακριτά γονίδια που εδράζονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα (Πίνακας 2), εκφράζονται κατά μοναδική ή μερικώς αλληλοεπικαλυπτόμενη κατανομή σε πολλαπλά όργανα στόχους, και είναι ομόλογοι κατά 40-60% (100 αμινοξικές αλληλουχίες διατηρούνται αυστηρά σε όλους) στη δομική αλληλουχία, ενώ διαφέρουν στη σύζευξη τους με τα μόρια των δευτέρων διαβιβαστών (second messengers) και στο εύρος και το μηχανισμό ενδοκυτταρίων δράσεων (5;22). Οι υπότυποι επίσης διαφέρουν και στο βαθμό που συνδέουν ειδικά ανάλογα της σωματοστατίνης, αλλά και στην μετακίνηση και εσωτερικοποίηση (internalization) εντός των κυττάρων. Αρκετές από τις διαφορές αυτές έχουν σημαντικές επιπτώσεις στη διάγνωση και τη θεραπεία παθήσεων. Έχει δειχτεί ότι οι υποδοχείς σωματοστατίνης σχηματίζουν ομο- και ετεροδιμερή (23-25) και αλληλλεπιδρούν φυσικοχημικά με πρωτείνες που εκφράζουν καθηλωτικές και υποστηρικτικές λειτουργίες (26;27). Βασικές λειτουργίες τους είναι αρχικά να αναγνωρίσουν το ligand και να το δεσμεύσουν με υψηλή συγγένεια και ειδικότητα, και ακολούθως να δημιουργήσουν ένα διαμεμβρανικό σήμα που προκαλεί βιολογική απάντηση.

Πίνακας 2: Υπότυποι υποδοχέων σωματοστατίνης: χρωμοσωμική εντόπιση αντίστοιχων γονιδίων και κατανομή υποδοχέων σε περιφερικούς ιστούς (δεν περιλαμβάνονται πρόσφατα στοιχεία γιά ήπαρ-παρατίθενται στη συνέχεια)

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	***SSTR1***	***SSTR2***	***SSTR3***	***SSTR4***	***SSTR5***
Χρωμόσωμα	14q13	17q24	22q13.1	20p11.2	16p13.3
Κατανομή ιστού	Εγκέφαλος	Εγκέφαλος	Εγκέφαλος	Εγκέφαλος	Εγκέφαλος
	Υπόφυση	Υπόφυση	Υπόφυση	Υπόφυση	Υπόφυση
	Π.Νησίδια	Π.Νησίδια	Π.Νησίδια	Π.Νησίδια	Π.Νησίδια
	Στόμαχος	Στόμαχος	Στόμαχος	Στόμαχος	Στόμαχος
	Νεφρός	Νεφρός		Πνεύμονας	
	Ήπαρ			Πλακούντας	

Όλοι οι υπότυποι της σωματοστατίνης ανήκουν στην ευρύτερη οικογένεια των G-πρωτεινών (ευαίσθητες στην τοξίνη του κοκκύτη) οι οποίες λειτουργικά μπορούν να συνδεθούν με διάφορα δραστικά ενδοκυττάρια συστήματα, ενώ συνδέουν με μεγάλη συγγένεια τις SST 14 και SST 28 (η SST 28 έχει εξαιρετικά υψηλή συγγένεια προς τον SSTR 5). Οι πρωτείνες αυτές, αποτελούν οικογένεια πρωτεινών που δεσμεύει νουκλεοτίδια, αποτελούμενες από 3 υποομάδες, τις α, β και γ. Οι πρωτείνες G ρυθμίζουν τη δραστηριότητα ιοντικών διαύλων (ασβεστίου, καλίου, νατρίου και χλωρίου) και ενζύμων (αδενυλκυκλάση, φωσφολιπάση C, φωσφολιπάση A2, φωσφοινοσιτική κινάση 3 και γουανυλική κινάση) υπεύθυνων γιά τη σύνθεση και την αποδόμηση ενδοκυτταρίων δευτέρων διαβιβαστών όπως το κυκλικό AMP (6;28;29), η τριφωσφο-ινοσιτόλη, η διακυλγλυκερόλη, και το κυκλικό GMP, που ρυθμίζουν κυτταρικές λειτουργίες μέσω πρωτεινικών κινασών και φωσφορυλίωσης ενζύμων και

παραγόντων μεταγραφής. Οι υποδοχείς της οικογένειας των G πρωτεϊνών έχουν ως κοινή ιδιότητα τη δυνατότητα να ρυθμίζουν την απάντησή τους σε έκθεση προς τυχόντα αγωνιστή. Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει 3 βασικά γεγονότα: την απευαισθητοποίηση, την εσωτερίκευση του υποδοχέα και την αποδόμηση του υποδοχέα (30).

Η σύνδεση της σωματοστατίνης στον υποδοχέα οδηγεί στην ενεργοποίηση μιάς ή περισσοτέρων ανασταλτικών G πρωτεινών που εδράζονται στη μεμβράνη, οι οποίες ακολούθως αναστέλλουν την ενεργότητα της αδενυλοκυκλάσης και χαμηλώνουν το ενδοκυττάριο cAMP και την συγκέντρωση Ca^{2+} και τη διέγερση της τυροσινικής φσφατάσης. Οι υποδοχείς σωματοστατίνης είναι συνδεδεμένοι με διαφόρους τύπους διαύλων K^+ των οποίων η ενεργοποίηση προκαλεί υπερπόλωση της μεμβράνης οδηγώντας σε διακοπή της δραστηριότητας του δυναμικού ενεργείας, διευκολύνοντας τη μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{2+} (31). (Άλλες δράσεις μέσω G-πρωτεινών κοινές σε όλους τους υποτύπους σωματοστατίνης είναι η ενεργοποίηση της ευαίσθητης στα βαναδικά ιόντα φωσφοτυροσινικής φωσφατάσης και η επίδραση επί της MAPK).

Ο μηχανισμός και ο τρόπος εσωτερίκευσης (internalization) των συμπλεγμάτων υποδοχέα-αγωνιστή, ακολουθούν αυτά που περιγράφονται γιά πολλούς άλλους υποδοχείς συζευγμένους με πρωτείνη G (32-35), και περιλαμβάνουν συσσώρευση των συμπλεγμάτων των ορμονικών υποδοχέων σε εξειδικευμένες περιοχές της μεμβράνης, ακολουθούμενη από πρόσληψη του συμπλέγματος ορμόνης-υποδοχέα μέσω καλυπτόμενων από κλαθρίνη και μη βοθρίων (36). Μετά την πρόσληψη και το σχηματισμό των βοθρίων, ακολουθεί σύντηξη των κυστιδίων αυτών με τα λυσοσώματα, έχοντας ως αποτέλεσμα την αποδέσμευση της ορμόνης ή την ανακύκλωση του υποδοχέα προς την κυτταρική επιφάνεια (37;38). Πρόσφατες

παρατηρήσεις έδειξαν ότι η εσωτερίκευση των υποτύπων σωματοστατίνης μπορεί να καθοριστεί από ομοδιμερισμό και ετεροδιμερισμό των υποτύπων. Εκτός από αυτό οι υποδοχείς σωματοστατίνης μπορεί να σχηματίζουν ετεροδιμερή με άλλους υποδοχείς (συνδεδεμένους με πρωτείνη G) και συγκεκριμένα ντοπαμίνης και οπιοειδών (25;39). Επιπλέον τέτοια ετεροδιμερή έχουν διαφορετικές ιδιότητες από τους υποδοχείς καθαυτούς.

Ένα από τα πιό καλά μελετημένα συστήματα είναι αυτό της αδενυλοκυκλάσης - cAMP - πρωτεινικής κινάσης A, που αναστέλλεται από τη σωματοστατίνη σε αρκετούς τύπους κυττάρων και της αναστολής των διαύλων ασβεστίου τα οποία συνδέονται με την αναστολή των εκκριτικών διεργασιών, ενώ είναι ευρέως τεκμηριωμένη η δράση της σωματοστατίνης και επί των διαύλων καλίου (5;40). Άλλα συστήματα διαβιβαστών που ρυθμίζονται από τη σωματοστατίνη είναι η sst επαγόμενη διέγερση της φωσφολιπάσης A2 (41) και η ενεργοποίηση των φωσφοτυροσινικών φωσφατασών (42). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει αποκτήσει τα τελευταία χρόνια η ανασταλτική δράση της σωματοστατίνης μέσω MAPK που πιθανώς αποτελεί έναν σημαντικότατο παράγοντα ενδοκυττάριας σηματοδότησης από τη σωματοστατίνη (43). Επειδή η ενεργοποίηση του MAPK έχει σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (αναστολή κυτταρικού κύκλου-SSTR1, SSTR2, SSTR5), η αναστολή των μονοπατιών MAPK είναι πιθανόν ότι συνεισφέρει στην αντιπολλαπλασιαστική δράση της σωματοστατίνης. Ένας άλλος αξιοπρόσεκτος αντιπολλαπλασιαστικός μηχανισμός είναι η επαγωγή αποπτωτικών μηχανισμών σε κύτταρα που εκφράζουν τον SSTR2 ή SSTR3.

Παράλληλα με τη διάχυτη κατανομή υποδοχέων σωματοστατίνης σε κεντρικούς και περιφερικούς ιστούς, η οξεία χορήγηση σωματοστατίνης ή αναλόγων της επάγει μεγάλο αριθμό κυρίως ανασταλτικών δράσεων. Όμως αυτές οι αρχικά

έντονες αντιδράσεις μειώνονται με τη συνεχιζόμενη έκθεση (5;16). Οι διαφορετικοί μηχανισμοί που δυνητικά περιλαμβάνονται σ' αυτήν την προσαρμογή ή ταχυφυλαξία προς τη συνεχή έκθεση στη σωματοστατίνη ή τα ανάλογα της, μπορεί να συνδέεται με διαδικασίες όπως η φωσφορυλίωση υποδοχέων, αποσύζευξη από πρωτείνες G, εσωτερικοποίηση υποδοχέων και αποδόμηση. Η ανταπόκριση όμως των κυττάρων από νευροενδοκρινείς όγκους, είναι διαφορετική από τις φυσιολογικές αντιδράσεις σε συνεχή έκθεση σε σωματοστατίνη. Ασθενείς με συγκεκριμένους όγκους (θετικούς σε υποδοχείς σωματοστατίνης) όπως αδενώματα υπόφυσης που εκκρίνουν αυξητική ορμόνη, νησιδιώματα και καρκινοειδή, μπορούν ν' αντιμετωπιστούν θεραπευτικά μήνες ή έτη με τα υπάρχοντα ανάλογα σωματοστατίνης. Ο έλεγχος σε μακροχρόνια όμως βάση, της ορμονικής υπρέκκρισης και/ή της ανάπτυξης του όγκου από την αντιμετώπιση με ανάλογα σωματοστατίνης μπορεί να διαφέρει σημαντικά μεταξύ ασθενών (21). Η χρόνια διέγερση από αγωνιστές κατά τη διάρκεια κυρίως μακροχρόνιας θεραπείας είτε σχετικά με την κατάσταση της νόσου, μπορούν να παράγουν μιά διαφορετική ρύθμιση του υποδοχέα, επαγόμενη από τον αγωνιστή (receptor up-regulation). Παρότι το φαινόμενο αυτό δεν είναι πλήρως διευκρινισμένο, πιθανά εξηγεί γιατί αυτοί οι υποδοχείς διατηρούν φυσιολογική απάντηση κατά τη διάρκεια μακροχρόνιας θεραπείας (30).

IN VITRO ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Η γνώση πάνω στην κατανομή των υποδοχέων και των υποτύπων τους σε φυσιολογικούς ανθρώπινους ιστούς, είναι ακόμη σχετικώς ατελής ενώ χρειάζεται προσοχή στην μεταφορά δεδομένων από πειραματόζωα στους ανθρώπους λόγω των

διαφορών ανάμεσα στα είδη (44). Μέσω μελετών δέσμευσης του υποδοχέα, προσδιορισμού του mRNA και/ή ανοσοιστοχημείας γιά υποδοχείς αυτοί έχουν εντοπιστεί στον ανθρώπινο εγκέφαλο, όπως και σε σειρά περιφερικών ιστών όπως το πάγκρεας, το έντερο, ο θυρεοειδής αδένας, ο νεφρός, τα επινεφρίδια, το ήπαρ, και το ανοσολογικό σύστημα. Η έκφραση των υποδοχέων είναι συχνά περίπλοκη, περιλαμβάνοντας ταυτόχρονη έκφραση πολλών υποτύπων σε συγκεκριμένο ιστό (22;45;46). Μιά πολύ ενδιαφέρουσα μελέτη εξέτασε την έκφραση σωματοστατίνης και των υποδοχέων της σε ανθρώπινο λιπώδη ιστό μετά από φλεγμονώδη διέγερση in vitro και σε ιστούς από ασθενείς με σήψη. Διαπιστώθηκε ότι ο ανθρώπινος λιπώδης ιστός εκκρίνει σωματοστατίνη στη διάρκεια φλεγμονής και σήψης, εκφράζει δε διάφορους υποδοχείς σωματοστατίνης. Έτσι είναι δελεαστική η υπόθεση ότι σωματοστατίνη εκ του λιπώδους ιστού μπορεί να έχει τροποποιητικό ρόλο στην ανοσολογική και μεταβολική απάντηση στη φλεγμονή (47).

Ο συχνότερα εκφραζόμενος υπότυπος είναι ο 2^A όπως έχει δειχτεί σε ανοσοιστοχημικές και αυτοραδιογραφικές μελέτες, με χρήση ειδικών αντισωμάτων και αναλόγων σωματοστατίνης. Πρόσφατα ανακοινώθηκαν τα αποτελέσματα ενδιαφέρουσας μελέτης σε ανθρώπινους μη νεοπλασματικούς ιστούς γαστρεντερικού, κυτταρικής ανίχνευσης του SSTR2A (48). Με αυτοραδιογραφία υποδοχέως και ανοσοϊστοχημεία με χρήση ειδικού αντισώματος (R2-88) διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές επί των SSTR2A κυττάρων σε διαφορετικές περιοχές του εντέρου. Κατά τους ερευνητές SSTR2A κύτταρα αντιστοιχούν σε καθορισμένους κυτταρικούς πληθυσμούς αλλά όχι κατ' ανάγκη στο νευροενδοκρινή κυτταρικό πληθυσμό. Έτσι, ενώ οι SSTR2A στα γαστρινικά κύτταρα του άντρου πιθανότατα συνεισφέρουν στην αναστολή της γαστρικής έκκρισης από τη σωματοστατίνη, οι δράσεις αυτής επί της κινητικότητας και της μεταφοράς σιδήρου στην κατώτερη γαστρεντερική οδό μπορεί

να διεκπεραιώνονται από SSTR2A στο υποβλεννογόνιο και μυεντερικό πλέγμα. Επιπρόσθετα διαπιστώθηκε διαφορά μεταξύ ειδών αναφορικά προς την εντόπιση SSTR2A στο στόμαχο ανθρώπων και τρωκτικών (48).

Οι κλασικοί ιστοί στόχοι της σωματοστατίνης όπως το κεντρικό νευρικό σύστημα, η πρόσθια υπόφυση και το πάγκρεας εκφράζουν πολλαπλούς υποδοχείς σωματοστατίνης. Η έκφραση των υποτύπων στον εγκέφαλο έχει μελετηθεί εκτεταμένα μόνο σε τρωκτικά. Στον εγκέφαλο τα mRNA που κωδικοποιούν τους πέντε υποτύπους εκφράζονται με εξειδικευμένο τρόπο (40). Η ανθρώπινη υπόφυση εκφράζει mRNA sst1, sst2, sst3 και sst5 αλλά όχι sst4 (5). Επιπρόσθετα τα ανθρώπινα παγκρεατικά νησίδια εκφράζουν και τους πέντε υποτύπους, όπως έχει δειχθεί ανοσοιστοχημικά (44;45). Στα ανθρώπινα νησίδια οι αφθονότερα εκφραζόμενοι υπότυποι είναι οι sst1, sst2 και sst5, με υψηλό ποσοστό β κυττάρων να εκφράζουν sst1 και sst5, α κυττάρων να εκφράζουν sst2 και δ να εκφράζουν sst5.

IN VITRO ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ ΟΓΚΟΥΣ

Όπως είναι ήδη γνωστό, αλλά και ολοένα επιβεβαιούμενο, πλήθος από ανθρώπινους όγκους εκφράζει υποδοχείς σωματοστατίνης.

Α) Δέσμευση υποδοχέα (Receptor binding)

Πρώιμες μελέτες χρησιμοποιώντας in vitro αυτοραδιογραφία υποδοχέων, ταυτοποίησαν όγκους που εξέφραζαν υποδοχείς σωματοστατίνης, χωρίς τότε να παρέχουν πληροφορίες γιά υποτύπους μιά και αρχικά δεν ήταν γνωστοί. Πολύ υψηλή συγκέντρωση υποδοχέων είχε βρεθεί σε νευροενδοκρινείς όγκους, ιδίως αδενώματα

εκκρίνοντα αυξητική ορμόνη, γαστροπαγκρεατικούς όγκους, φαιοχρωμοκυττώματα, νευροβλαστώματα και σε μικρότερο βαθμό μυελοειδή καρκινώματα του θυρεοειδή και μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα. Μη ενδοκρινικοί όγκοι επίσης περιελάμβαναν όγκους όπως μηνιγγιώματα, γλιώματα, αλλά και καρκινώματα μαστού, λεμφώματα, υπερνεφρώματα, προστατικά, γαστρικά, ωοθηκών και ηπατοκυτταρικά (29;49). Εν γένει οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι η έκφραση των υποδοχέων σωματοστατίνης ήταν ποικίλη από άτομο σε άτομο και μεταξύ των τύπων των όγκων. Ενώ κάποιοι όγκοι είχαν υψηλή πυκνότητα υποδοχέων (μηνιγγιώματα, μυελοβλαστώματα κα) άλλοι (λεμφώματα) είχαν αρκετά μικρότερη. Κάποιοι όγκοι είχαν μάλλον ομοιογενή κατανομή στην κατανομή των υποδοχέων (όπως οι νευροενδοκρινείς όγκοι, ιδίως οι γαστροπαγκρεατικοί, άλλοι (όπως τα καρκινώματα του μαστού) είχαν πολύ πιό ανομοιογενή κατανομή, ενώ είναι γεγονός ότι η ομοιογενής κατανομή των υποδοχέων σωματοστατίνης είναι πολύ σημαντική σε σχέση με την εφαρμογή τους στη διάγνωση ή τη θεραπεία.

Ένα βασικό πρόβλημα στην ανάλυση in vitro των υποδοχέων σωματοστατίνης σε δείγματα όγκων, είναι τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα εξαιτίας της ομογενοποίησης των ιστών των όγκων, με μη νεοπλασματικούς ιστούς που εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης (πχ αγγεία, νευρικές ίνες κλπ).

Β) mRNA υποδοχέων

Οι ανθρώπινοι όγκοι συχνά εκφράζουν mRNA πολλαπλών υποτύπων υποδοχέων, όπως έχει δειχθεί σε αδενώματα της υπόφυσης, γαστρεντεροπαγκρεατικούς όγκους και αλλού. Σε αρκετές μελέτες βασισμένες σε RT-PCR, η ανεύρεση mRNA διαφόρων υποτύπων υποδοχέων σωματοστατίνης σε όγκους είναι συχνότερη σε σχέση με την ανίχνευση με αυτοραδιογραφία ή ανοσοιστοχημικές

μελέτες. Επιπλέον, το mRNA διαφόρων υποτύπων υποδοχέων, ανιχνεύεται συχνότερα ταυτόχρονα στον ίδιο όγκο (29). Έτσι, επί του παρόντος δεν είναι ξακάθαρο εάν:

α) τα δεδομένα αυτά από την RT-PCR, αντικατοπτρίζουν μιά υπερεκτίμηση της πραγματικής συμμετοχής των διαφόρων mRNA των υποτύπων υποδοχέων, εξαιτίας της εξαιρετικής ευαισθησίας της μεθόδου

β) αυτά τα mRNA προέρχονται από μη νεοπλασματικούς παρακείμενους ιστούς

γ) είτε αυτά τα mRNA δεν μεταφράζονται πάντα σε σημαντικές ποσότητες της αντίστοιχης πρωτείνης του υποτύπου.

Γ) Ανοσοιστοχημεία των υποδοχέων

Είναι πολύ χρήσιμη τεχνική στην ανίχνευση των υποτύπων υποδοχέων σωματοστατίνης, τα αποτελέσματα όμως της οποίας εξαρτώνται από την ποιότητα, την εκλεκτικότητα και την ειδικότητα των αντισωμάτων. Ακόμη όμως και πολύ ειδικά αντισώματα όπως το R2-88 γιά τον υπότυπο 2^A, μπορεί να έχει διασταυρούμενη αντίδραση με άσχετες πρωτείνες (50). Έως τώρα, έχουν γίνει μόνο λίγες προσεκτικά ελεγχόμενες μελέτες γιά καρκίνο, κυρίως με τα αντισώματα γιά τον SSTR2.

Υψηλή πυκνότητα έχει βρεθεί σε νευροβλαστώματα, μυελοβλαστώματα, παραγαγγλιώματα, μηνιγγιώματα, μικροκυτταρικά καρκινώματα πνεύμονα και καρκίνους μαστού. Σε όγκους πνεύμονα, παγκρέατος και γαστρεντερικού έχει δειχτεί με ανοσοιστοχημικές μεθόδους εκλεκτική σύνδεση με μεμβρανικό SSTR2, ενώ πρόσφατες μελέτες στους γαστρεντεροπαγκρεατικούς όγκους διαπίστωσαν ετερογενή έκφραση και των 5 υποτύπων (ενώ η ανοσοιστοχημεία κρίθηκε αξιόπιστο μέσο ανίχνευσης των υποτύπων 1,2,3 και 5 σε δείγματα βιοψιών) (51;52). Ιδιαίτερο

ενδιαφέρον παρουσιάζει η ενδοκυττάρια εντόπιση των υποδοχέων της σωματοστατίνης σε ορισμένες περιπτώσεις, φαινόμενο που δεν είναι πλήρως κατανοητό. Είναι όμως αξιοσημείωτο ότι στον εγκέφαλο και των πειραματοζώων (αρουραίων) και των ανθρώπων, μπορεί να παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ της τοπικής παρουσίας ενδογενούς σωματοστατίνης και αυξημένης εσωτερίκευσης των SSTR2 (29).

Δ) Μελέτες δέσμευσης με εκλεκτικά γιά τους υποτύπους ανάλογα.

Η πρόσφατη δημιουργία εκλεκτικών αναλόγων -πεπτιδικών και μη πεπτιδικών- γιά τους υποτύπους σωματοστατίνης, αποτελεί σημαντική εξέλιξη που επιτρέπει:

1) τη διερεύνηση της κατανομής των πρωτεινών των διαφόρων υποτύπων υποδοχέων στους ιστούς,

2) τον καθορισμό των διαφόρων βιολογικών δράσεων που σχετίζονται με τους διαφόρους υποτύπους,

3) το σχεδιασμό νέων φαρμάκων γιά θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Μερικά από τα ανάλογα ήδη χρησιμοποιούνται στην ανίχνευση υποτύπων υποδοχέων στους ιστούς (53) ενώ σε μιά μελέτη χρησιμοποιώντας αυτοραδιογραφία με πέντε διαφορετικά ειδικά γιά τους υπότυπος ανάλογα, έχει διερευνηθεί η έκφραση υποτύπων σε καρκίνους (54). Τα δεδομένα από αυτές τις πρώτες μελέτες υποδηλώνουν ότι σε πολλούς όγκους, θετικούς γιά υποδοχείς σωματοστατίνης, υπάρχει επικράτηση των πρωτεινών ενός ή δύο υποτύπων.

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΤΥΠΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ ΜΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Η κατεξοχήν έκφραση του υποτύπου 2 στους ανθρώπινους όγκους, αποτελεί τη βάση της επιτυχούς εφαρμογής οκταπεπτιδικών αναλόγων σωματοστατίνης, όπως η οκτρεοτίδη και η λανρεοτίδη γιά τον έλεγχο των συμπτωμάτων που σχετίζεται με ορμονική υπερέκκριση σε ασθενείς με αδενώματα υπόφυσης που εκκρίνουν αυξητική ορμόνη, όγκους των νησιδίων παγκρέατος, ή καρκινοειδή (29), καθώς και γιά την πιθανή απεικόνιση SST-θετικών όγκων χρησιμοποιώντας ανάλογα σωματοστατίνης.

Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι επιλεγμένες μη νεοπλασματικές βλάβες εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης. Επί παραδείγματι, ενεργά κοκκιώματα στη σαρκοείδωση εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης στα επιθηλιοειδή κύτταρα (55). Αντιθέτως, ανενεργά κοκκιώματα ή επαρκώς θεραπευμένα ινοποιημένα κοκκιώματα στερούμενα επιθηλιοειδών κυττάρων δεν έχουν υποδοχείς σωματοστατίνης. Φλεγμαίνουσες αρθρώσεις στην ενεργό ρευματοειδή αρθρίτιδα εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης, κυρίως εδραζόμενους στα πολλαπλασιαζόμενα αγγεία του αρθρικού υμένα (56). Επιπρόσθετα, οι φλεγμονώδεις εντεροπάθειες χαρακτηρίζονται από υπερέκφραση υποδοχέων σωματοστατίνης στο αγγειακό σύστημα των προσβεβλημένων περιοχών του γαστρεντερικού σωλήνα (57). Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι η έκφραση των υποδοχέων σωματοστατίνης, δεν είναι ειδική γιά τα νεοπλασματικά νοσήματα.

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΓΓΕΙΑ ΠΕΡΙΞ ΤΩΝ ΟΓΚΩΝ

Η αγγειογένεση είναι μιά διαδικασία που χαρακτηρίζεται από ενεργοποίηση, μετανάστευση και πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, που τα τελευταία χρόνια έχει χαρακτηρισθεί ιδιαίτερα σημαντική στην παθολογία του καρκίνου, των καρδιαγγειακών νοσημάτων και της χρόνιας φλεγμονής. Δυναμικές αλλαγές στην έκφραση των υποδοχέων 2 και 5 της σωματοστατίνης κατά τον κυτταρικό κύκλο και η αναστολή του πολλαπλασιασμού με ειδικά ανάλογα δείχνουν ότι οι υποδοχείς αυτοί μπορεί να έχουν ρόλο στην αγγειογένεση (58).

Πρόσφατα το πλέγμα των αγγείων γύρω από δεδομένο όγκο, έχει έλθει στο προσκήνιο ως πιθανός στόχος δράσης της σωματοστατίνης επί της ανάπτυξης του όγκου. Σε σειρά καρκινωμάτων παχέος εντέρου παρατηρήθηκε υψηλή πυκνότητα υποδοχέων σωματοστατίνης στα αγγεία που ήταν περί τον όγκο, ενώ η πυκνότητα των υποδοχέων μειώνονταν όσο μεγάλωνε η απόσταση των αγγείων από τα καρκινώματα, υποδηλώνοντας ότι αντιπροσωπεύει τοπικό φαινόμενο σχετιζόμενο με την παρουσία του όγκου (59). Η παρουσία υποδοχέων σωματοστατίνης φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από την παρουσία ή την απουσία υποδοχέων σωματοστατίνης στον ίδιο τον όγκο, ενώ πρόσφατα μελέτη που αφορούσε μεγάλο αριθμό διαφόρων τύπων ανθρώπινων νεοπλασιών διαπιστώνει ότι η έκφραση υποδοχέων σωματοστατίνης στις φλέβες πέριξ του όγκου, αποτελεί ένα γενικό φαινόμενο (60).

Στην πλειοψηφία τους τα νεόπλαστα αγγεία καθώς και τα περί τον όγκο, εκφράζουν τον SSTR2. Σε ορισμένους όγκους όπως τα μελανώματα, οι υποδοχείς εκφράζονται όχι μόνο στις φλέβες γύρω από τον όγκο αλλά και μέσα σ' αυτόν. Αυτός είναι πιθανόν και ο λόγος γιατί αυτός ο όγκος είναι ορατός in vivo με το

σπινθηρογράφημα υποδοχέων σωματοστατίνης (Octreoscan) παρότι τα κύτταρα του μελανώματος δεν εκφράζουν σημαντικά επίπεδα υποδοχέων σωματοστατίνης.

Ο ρόλος της σωματοστατίνης στην στην περί τον όγκο αγγείωση - που προάγεται από υψηλή πυκνότητα υποδοχέων σωματοστατίνης στα λεία μυικά κύτταρα και πιθανώς και στο ενδοθήλιο (61) - μπορεί να είναι κυρίως αγγειοσυσπαστικός, όπως φαίνεται ιδιαιτέρως στο έντερο (62). Επομένως, αυξημένη πυκνότητα υποδοχέων μπορεί να επιτρέπει ταχεία και ισχυρή τοπική αγγειοσύσπαση, έχοντας ως πιθανό αποτέλεσμα την τοπική υποξία και νέκρωση του όγκου, ή μιά περισσότερο παρατεταμένη αγγειοσύσπαση, στοχεύοντας ενάντια στη μεταστατική διασπορά του όγκου. Είναι άγνωστο εάν αυτός είναι ο μηχανισμός που ευθύνεται γιά την παρατηρούμενη μερικές φορές μείωση του μεγέθους του όγκου σε αθενείς με μακροχρόνια θεραπεία με οκτρεοτίδη.

Στα νεοπλάσματα η σωματοστατίνη μπορεί να δρα τοπικά στην ανάπτυξη του όγκου, με δύο διαφορετικούς μηχανισμούς που σχετίζονται με τοπική έκφραση υποδοχέων σωματοστατίνης, μέσω άμεσης δράσης επί των νεοπλασματικών κυττάρων ή μέσω δράσης επί των αγγείων που βρίσκονται γύρω από τον όγκο, πράγμα που μπορεί ν' αλλάξει τη δυναμική στην κυκλοφορία του αίματος στον όγκο και/ή ν' αναστείλει την αγγειογένεση (63). Επιπρόσθετα, πρόσφατη μελέτη δείχνει ισχυρή αντικαρκινική δράση με μηχανισμό αναστολής της αγγειογένεσης in vivo από τη σωματοστατίνη, μέσω SSTR3- αναστολής της eNOS και MAPK ενεργότητας (64). Είναι γεγονός ότι η η αγγειογένεση μεταξύ άλλων, έχει κεντρικό ρόλο στην παθογένεση και την εξάπλωση του κακοήθους όγκου (65). Παρά ταύτα η πρόοδος στην κατανόηση του ρόλου των υποδοχέων σωματοστατίνης στην αναστολή της αγγείωσης των όγκων, έχει ευρύ πεδίο έρευνας να διανύσει ακόμα.

ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗ ΚΑΙ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ

Εδώ και αρκετά χρόνια, άρχισαν να συσσωρεύονται οι πρώτες ενδείξεις γιά δυνητική χρήση της σωματοστατίνης (και κατ' επέκταση των αναλόγων της) στην ογκολογία, στρέφοντας προοδευτικά ένα ευρύ πεδίο έρευνας και εφαρμογών, σ' ένα πεπτίδιο οικείο και κυρίως αξιοσημείωτης κλινικής ασφάλειας. Ήδη από αρχικές μελέτες, η σωματοστατίνη φάνηκε να έχει αντιπολλαπλασιαστική δράση επί ορισμένων ιστών μέσω αυξητικών παραγόντων, αλλά και στους βασικούς μηχανισμούς της κυτταρικής διαίρεσης, ενώ η χρόνια χρήση του αναλόγου SMS 201-995 (οκτρεοτίδη) ανέστελε την ανάπτυξη ορισμένων όγκων σε πειραματικά ζωικά μοντέλα όγκων και οδηγούσε στη συρρίκνωση ορισμένων τύπων ανθρώπινων όγκων (66).

Τα ανάλογα σωματοστατίνης βρέθηκε να αναστέλλουν την αύξηση, σε πλήθος όγκων σε πειραματικά μοντέλα και γιά τη δράση αυτή έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί (16;67;68):

- αναστολή της έκκρισης αυξητικής ορμόνης, ινσουλίνης, και γαστρεντερικών ορμονών που ενέχονται στη ρύθμιση της αύξησης των όγκων (γαστρίνη και γλουκαγόνη μέσω SSTR2 και ινσουλίνη μέσω SSTR5)
- άμεσα ή έμμεσα -μέσω της αυξητικής ορμόνης- αναστολή του αυξητικού παράγοντα του ινσουλινοειδούς I (IGF-1) (που παράγεται από τα ηπαττοκύτταρα) ή δεσμευτικών πρωτεινών
- άμεση αναστολή της αγγειογένεσης in vitro και in vivo, διαδικασίας θεμελιώδους γιά την ανάπτυξη του όγκου, την επέκταση και τη μετάσταση
- άμεση αντιπολλαπλασιαστική δράση επί των (καρκινικών) κυττάρων-στόχων, μέσω ειδικών υποδοχέων σωματοστατίνης

- επαγωγή απόπτωσης μέσω σχετιζομένων αλλά και ανεξάρτητων μηχανισμών από την επαγωγή p53
- αντινεοπλασματική δράση μέσω ανοσολογικής τροποποίησης

ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΕΝΔΟΚΡΙΝΕΙΣ ΟΓΚΟΙ

Ένας από τους κύριους τομείς εφαρμογής της σωματοστατίνης και των αναλόγων της στην έρευνα αλλά και στην κλινική πράξη, είναι αυτός των όγκων νευροενδοκρινούς προέλευσης. Δεδομένης της διπλής δράσης της σωματοστατίνης στην αναστολή της έκλυσης ορμονών και στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ήταν λογικό να δοκιμαστεί καταρχήν σε νευροενδοκρινείς όγκους. Οι νευροενδοκρινείς όγκοι συνιστούν ετερογενή ομάδα νεοπλασμάτων που χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένα βιολογικά γνωρίσματα, αποτελούν δε το 2.2% του συνόλου των κακοηθειών του ανθρώπου. Προέρχονται από νευροενδοκρινή κύτταρα, έχουν χαρακτηριστικά ορμονικής έκκρισης και συχνά εμφανίζονται με σύνδρομα υπερέκκρισης (69). Οι περισσότεροι ανθρώπινοι νευροενδοκρινείς όγκοι εκφράζουν μεγάλο αριθμό SSTR2, οι οποίοι είναι ομοιογενώς και πυκνά κατανεμημένοι στα νεοπλασματικά κύτταρα (70).

Γιά τον έλεγχο της ορμονικής υπερέκκρισης με τα οκταπεπτιδικά ανάλογα της σωματοστατίνης είναι απαραίτητη η έκφραση υποδοχέων από τους νευροενδοκρινείς όγκους. Σε ασθενείς θετικούς γιά SSTR2 ή SSTR5, η κλινική συμπτωματολογία μπορεί να ελεγχθεί με χρόνια χορήγηση ενός από τα διαθέσιμα ανάλογα. Στους ασθενείς αυτούς, τα φάρμακα αυτά μπορεί να έχουν και κάποιου βαθμού αντιπολλαπλασιαστική δράση με μηχανισμούς που προαναφέρθησαν ήδη.

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ανασταλτική δράση της σωματοστατίνης σε ασθενείς με μεγαλακρία, ενδοκρινικούς παγκρεατικούς όγκους (ινσουλινώματα, γλυκαγονώματα), έκτοπους όγκους όπως γαστρινώματα και όγκους παράγοντες αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο (VIP). Τα ανάλογα σωματοστατίνης είναι πολύ αποτελεσματικά στον έλεγχο των περισσότερων λειτουργικών γαστρεντεροπαγκρεατικών ενδοκρινικών όγκων και παρέχουν προφίλ ανοχής κατάλληλο για μακροχόνιο χορήγηση.

Η θεραπεία με οκτρεοτίδη (μέση δόση 100 μg τρις ημερησίως υποδόρια) σε ασθενείς με μεταστατικά καρκινοειδή είχε ως αποτέλεσμα στη συμπωματική βελτίωση σε πάνω από 90% των ασθενών, βιοχημική απάντηση στο 60-70% αυτών, αντικειμενική υποστροφή όγκων σε λιγότερο από 10% των ασθενών, και προσωρινή σταθεροποίηση της ανάπτυξης των όγκων σε πάνω από το 80% (71). Παρόμοια αποτελέσματα υπήρξαν και με θεραπεία με λανρεοτίδη (72;73). Επιπρόσθετα, αναφέρεται καλύτερο ογκολογικό αποτέλεσμα γιά το συνδυασμό των αναλόγων σωματοστατίνης με άλλους παράγοντες, όπως η ιντερφερόνη-α (74). Οι βραδείας αποδέσμευσης μορφές των αναλόγων σωματοστατίνης (Sandostatin LAR και Somatuline SR) ήταν εξίσου αποτελεσματικά με καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών με καρκινοειδή (75).

Με τα σκευάσματα βραδείας αποδέσμευσης-ενδομυικής χορήγησης- σε καρκινοειδές σύνδρομο (flushing, διάρροια, καρδιαγγειακές διαταραχές) η συμπτωματική βελτίωση, βρέθηκε στο 40-55% των ασθενών, βιοχημική στο 40-50%, αντικειμενική υποστροφή όγκου σε λιγότερο από 10%, και προσωρινή σταθεροποίηση της ανάπτυξης του όγκου σε περισσότερο του 80% (76;77).

Αν και η θεραπεία με ανάλογα σωματοστατίνης δεν θεωρούνταν πρώτης γραμμής γιά ασθενείς με γαστρινώματα (όγκοι προερχόμενοι από το στόμαχο ή το

δωδεκαδάκτυλο), εν τούτοις αυτά βρέθηκε να προκαλούν σημαντική μείωση του επιπέδου γαστρίνης και έκκρισης οξέος, που συνοδεύεται από μείωση των ενοχλημάτων από γαστρική υπερέκκριση σε πάνω από το 90% των ασθενών. Επιπρόσθετα, πρόσφατη μελέτη ασθενών που έλαβαν οκτρεοτίδη (ως μονοθεραπεία είτε εξαρχής, είτε επί αποτυχίας της κλασσικής ως τότε θεραπείας με χημειοθεραπεία και/ή ιντερφερόνη-α) γιά μεταστατικά γαστρινώματα στο ήπαρ, αποδείχτηκε αποτελεσματική παρουσιάζοντας αντιπολλαπλασιαστικό αποτέλεσμα στο 50% περίπου των ασθενών, παράταση επιβίωσης γι' αυτούς που ανταποκρίθηκαν, και ελάχιστες ανεπιθύμητες ενέργειες (78).

Από την άλλη πλευρά,το 50% των ινσουλινοπαραγωγών όγκων δεν εκφράζουν SSTR 2 και 5. Σε ασθενείς με τέτοιους όγκους, η θεραπεία με ανάλογα σωματοστατίνης μπορεί να καταστείλουν τις ορμόνες που αντιρροπούν την υπογλυκαιμία (αυξητική ορμόνη, γλυκαγόνο και IGF 1), κάτι που τελικά μπορεί να επιδεινώσει περαιτέρω την υπογλυκαιμία. Πάντως σε ινσουλινώματα,στους μισούς περίπου από τους ασθενείς, μπορεί να υπάρξει συμπτωματική και βιοχημική ύφεση.

Σε ασθενείς με VIP-ωματα και γλυκαγονώματα, η θεραπεία με τα ανάλογα της σωματοστατίνης μπορεί επίσης να επιφέρει σημαντική βιοχημική βελτίωση στο 80 και 60% των ασθενών αντιστοίχως (79;80). Στους ασθενείς με VIP-ωματα που δεν αντιμετωπίζονται χειρουργικά και που εμφανίζονται χημειοάντοχα, η οκτρεοτίδη είναι θεραπεία εκλογής. Το συμπτωματικό δε αποτέλεσμα, δεν συσχετίζεται πάντα με τα επίπεδα VIP στο πλάσμα, πράγμα που υποδηλώνει ότι μπορεί να υπάρχει δράση της οκτρεοτίδης στο έντερο.

Στο 90% από τους ασθενείς που πάσχουν από εξάνθημα σχετιζόμενο με γλυκαγόνωμα, αυτό εξαφανίζεται μετά από θεραπεία με οκτρεοτίδη, ενώ επίσης αναφέρεται έλεγχος με τη θεραπεία στη διάρροια και την απώλεια βάρους, χωρίς η

επίδραση στο διαβήτη να είναι σταθερή.Το γλυκαγόνο ορού πέφτει στο 60% των ασθενών, αλλά αυτό δεν συσχετίζεται πάντα με τη βελτίωση των συμπτωμάτων (δράση της οκτρεοτίδης στο δέρμα), ενώ επίσης αναστέλεται η μετα-μεταγραφική μετατροπή του προ γλυκαγόνου σε γλυκαγόνο, μειώνοντας έτσι τα κυκλοφορούντα επίπεδα του βιοενεργού γλυκαγόνου (81).

Σε ασθενείς με μεγαλακρία που αρχικά δεν είχαν πάρει θεραπεία, όπως και σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με χειρουργική ή ακτινοθεραπεία ή και τα δύο, η θεραπεία με οκτρεοτίδη επέφερε συμπτωματική αντιμετώπιση, που συνοδεύονταν από ομαλοποίηση των παθολογικά αυξημένων επιπέδων IGF-I στο 60-70% των ασθενών και προκαλούσε σταθεροποίηση ή και μείωση του όγκου (28;67). Παρόμοια αποτελέσματα επετεύχθησαν με τα βραδείας αποδέσμευσης ανάλογα (82;83). Επιπλέον τα ανάλογα της σωματοστατίνης (βραχείας ή μακράς δράσης) ήταν αποτελεσματικά στον έλεγχο της ορμονικής παραγωγής και του μεγέθους του όγκου σε ασθενείς με όγκους υπόφυσης που παράγουν TSH. Επίσης αρχικά αποτελέσματα δείχνουν ότι πολύ υψηλές δόσεις οκτρεοτίδης ή λανρεοτίδης μπορεί να επάγει απόπτωση σε ορισμένους ασθενείς με μεταστατικά καρκινοειδή και παγκρεατικούς νευροενδοκρινεις όγκους (80).

Μιά σημαντική παράμετρος στον επιτυχή μακροχρόνιο έλεγχο της ορμονικής έκκρισης και της ανάπτυξης των νεοπλασματικών κυττάρων κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ανάλογα σωματοστατίνης είναι η απώλεια αποτελεσματικότητας (ταχυφυλαξία). Παρότι η φυσιολογική ορμονική έκκριση δείχνει ταχυφυλαξία μετά από συνεχή διέγερση του υποδοχέα εντός ωρών-ημερών μετά την έναρξη χορήγησης αναλόγων σωματοστατίνης, η ορμονική έκκριση σε νευροενδοκρινείς όγκους θετικούς γιά υποδοχείς σωματοστατίνης μπορεί να ανασταλεί γιά παρατεταμένες περιόδους. Η οκτρεοτίδη ελέγχει αποτελεσματικά την ορμονική έκκριση στους

περισσότερους μεγαλακρικούς γιά πολλά χρόνια, χωρίς να παρατηρείται απώλεια στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας.

Αντιθέτως, σε ασθενείς με γαστρεντεροπαγκρεατικούς νευροενδοκρινείς όγκους η αρχική ταχεία βελτίωση των συμπτωμάτων στις πρώτες εβδομάδες – μήνες θεραπείας με ανάλογα σωματοστατίνης σταδιακά χάνεται, παρά την αύξηση της αυξανόμενης δόσης. Ο υπεύθυνος γι'αυτό μηχανισμός, σε συνδυασμό με τη σημαντική διακύμανση στην διάρκεια ανταπόκρισης στην οκτρεοτίδη, δεν είναι γνωστός. Είναι πιθανό η απώλεια της ευασθησίας νευροενδοκρινών όγκων στην οκτρεοτίδη να συνδέεται με την ανάπτυξη κλώνων των νεοπλασματικών κυττάρων που στερούνται υποδοχείς ή που έχουν αναπτύξει μεταλλαγές (84).

ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗ ΚΑΙ ΜΗ ΝΕΥΡΟΕΝΔΟΚΡΙΝΕΙΣ ΟΓΚΟΙ

Η σωματοστατίνη και τα ανάλογα της έχουν χρησιμοποιηθεί σε αρκετές κατηγορίες ανθρωπίνων νεοπλασιών αξιοποιώντας in vitro δεδομένα από διάφορους όγκους και την κλινική εμπειρία από τους νευροενδοκρινείς.

Σε ασθενείς με λεμφοπολλαπλασιαστικές νόσους, η οκτρεοτίδη έχει δοκιμασθεί χωρίς εντυπωσιακά αποτελέσματα (αναφέρεται κάποια αποτελεσματικότητα σε χαμηλής κακοήθειας non Hodgkin λεμφώματα) (85).

Αυξανόμενες είναι οι αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικά με την ύπαρξη υποδοχέων σωματοστατίνης σε μιάς πολύ σημαντικής γιά την παγκόσμια υγεία κατηγορία νεοπλασιών, των γυναικολογικών. Έτσι, σε πρόσφατη μελέτη περιγράφεται παρουσία υποδοχέων σωματοστατίνης (SSTR) στο 90% κακοήθων και 74% καλοήθων όγκων ωοθηκών-διαφόρων ιστολογικών τύπων-που ελέγχθηκαν με ανοσοιστοχημεία (86), όπου παρατηρήθηκε ποικίλη έκφραση σε όλα τα στοιχεία των

όγκων, το επιθηλιακό, το αγγειακό, και του στρώματος. Ακόμα, με ανοσοιστοχημεία και πάλι, διαπιστώθηκε υψηλή επίπτωση στην έκφραση της πρωτείνης των SSTR 1, 2 και 3 σε ανθρώπινους καρκίνους του ενδομητρίου και του τραχήλου της μήτρας (87).

Σε ό,τι αφορά στον καρκίνο μαστού, μεταανάλυση γιά ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού έδειξε πως η θεραπεία με ανάλογα σωματοστατίνης συνδέεται με ανταπόκριση του όγκου σε πάνω από το 40% των ασθενών με ελάχιστες ανεπιθύμητες ενέργειες, ενώ καλύτερα αποτελέσματα υπήρχαν όταν αυτά χρησιμοποιούνταν ως θεραπεία πρώτης γραμμής (88). Από την άλλη πλευρά όμως, πρόσφατη μελέτη διεπίστωσε ότι δεν υπάρχει ένδειξη γιά χορήγηση αναλόγων σωματοστατίνης μαζί με ταμοξιφαίνη σε προχωρημένο καρκίνο μαστού (89).

Στον καρκίνο του προστάτη, είναι γνωστό ότι υπάρχουν υποδοχείς σωματοστατίνης (90). Οι κλινικές όμως μελέτες, δεν έχουν δείξει αξιοσημείωτη κλινική ανταπόκριση ή παράταση στην επιβίωση. Ομοίως, οι έως τώρα κλινικές μελέτες στο μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και στον καρκίνο του παχέος εντέρου δεν αποδεικνύουν όφελος από τη χρήση αναλόγων σωματοστατίνης (91).

Μελέτη από Cascinu και συνεργάτες σε ασθενείς με προχωρημένο μεταστατικό καρκίνο στομάχου, ανθεκτικό στη χημειοθεραπεία, έδειξε διπλάσια επιβίωση-16 έναντι 8 εβδομάδων-στην ομάδα των ασθενών που έλαβε οκτρεοτίδη. Όμως κανείς ασθενείς δεν έφτασε την καθορισμένη αντικειμενική ανταπόκριση (92). Ομοίως και γιά τον παγκρεατικό καρκίνο, τα αποτελέσματα των μελετών δεν έχουν αποδείξει ξεκάθαρο όφελος από τη χρήση αναλόγων σωματοστατίνης (91).

ΣΠΙΝΘΗΡΟΓΡΑΦΗΜΑ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ

Όγκοι και μεταστάσεις που φέρουν SSTR 2 και 5, μπορεί να γίνουν ορατοί in vivo με τη χρήση γ-κάμερας μετά από ένεση [111 In-DTPA 0- D- Phe1] octreotide- 111 In-pentetreotide (Octreoscan), 111 In-DOTA-lanreotide (111 In-MAURITIOUS) (93-95). Το σπινθηρογράφημα μπορεί να χρησιμεύσει στην ανίχνευση όγκων που δεν θα γίνονταν αντιληπτοί με τις υπάρχουσες απεικονιστικές μεθόδους, στην παρακολούθηση ασθενών που υπεβλήθησαν σε θεραπευτική χειρουργική εξαίρεση, στην ανίχνευση επανεμφάνισης του όγκου ή μεταστάσεων σε πρώιμο στάδιο, την αποφυγή χειρουργικής επέμβασης σε όγκους που είναι περισσότερο εκτεταμένοι απ' ό,τι μπορεί να ανιχνεύσει η κλασική απεικόνιση.

Υπάρχει στενή συσχέτιση μεταξύ της in vitro ανίχνευσης του SSTR 2 στους νευροενδοκρινείς όγκους με αυτοραδιογραφία, τις θετικές εικόνες που ανιχνεύονται με γ-κάμερα μετά από έγχυση οκτρεοτίδης συζευγμένης με ραδιοϊσότοπο in vivo και την ανασταλτική επίδραση της οκτρεοτίδης επί της απελευθέρωσης ορμονών από τους όγκους αυτούς, in vivo και in vitro (84). Έτσι, θετικό σπινθηρογράφημα προβλέπει κατασταλτική δράση της οκτρεοτίδης σε ασθενείς με γαστρεντεροπαγκρεατικούς νευροενδοκρινείς όγκους επί της ορμονικής υπερέκκρισης. Η τεχνική μπορεί να έχει μεγάλη ευαισθησία γιά θετικούς όγκους σε SSTR 2 και 5, έχει όμως χαμηλή ειδικότητα.

Θετικό σπινθηρογράφημα σε ασθενή με νευροενδοκρινή παγκρεατικό όγκο ή καρκινοειδές (όγκοι με συχνά πολύ υψηλή παρουσία και πυκνότητα SSTR 2), είναι θετικό προγνωστικό στοιχείο γιά θεραπευτικό αποτέλεσμα των οκταπεπτιδικών αναλόγων στην ορμονική υπερέκκριση από τους όγκους αυτούς (96). Ψευδώς αρνητικά σπινθηρογραφήματα μπορεί να υπάρξουν σε όγκους με χαμηλή πυκνότητα

σε SSTR 2 και 5 ή σε όγκους με υψηλή ενδογενή παραγωγή σωματοστατίνης. Ψευδώς θετικά, μπορεί να δοθούν από μη νεοπλασματικούς ιστούς που είναι θετικοί γιά τους SSTR 2 και 5, από δέσμευση σε αντισώματα από χρόνια λήψη του αναλόγου, και από δέσμευση σε υποδοχείς σε λεμφοκύτταρα και στο περί τον όγκο αγγειακό δίκτυο.

Ειδικότερα τώρα, σε ό,τι αφορά στους όγκους της υπόφυσης, τα αδενώματα που παράγουν αυξητική ορμόνη χαρακτηρίζονται από πολύ υψηλή έκφραση SSTR 2, και κυριολεκτικά όλα μπορούν να ανιχνευθούν με το Octreoscan. Εντούτοις η μέθοδος έχει περιορισμένη εφαρμογή γιατί υπάρχουν εναλλακτικά πολύ ικανοποιητικές εναλλακτικές μέθοδοι απεικόνισης. Ομοίως και τα μη λειτουργικά αδενώματα και οι όγκοι που εκκρίνουν TSH, μπορούν να εντοπισθούν χρησιμοποιώντας σπινθηρογράφημα οκτρεοτίδης. Παρότι οι όγκοι που εκκρίνουν ACTH συνήθως δεν ανιχνεύονται με το Octreoscan, αντιθέτως όγκοι που προκαλούν έκτοπη παραγωγή ACTH συχνά εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης (μερικές φορές είναι ο μοναδικός τρόπος να ανιχνευθεί ο όγκος αυτός) (97).

Φαιοχρωμοκυττώματα, παραγαγγλιώματα και νευροβλαστώματα χαρακτηρίζονται από υψηλή έκφραση SSTR 2 και ανιχνεύονται στο 90% των περιπτώσεων. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι ενώ το σπινθηρογράφημα με MIBG (μεταιωδο βενζυλ γουανιδίνη) είναι προτιμώτερο του Octreoscan γιά τη διάγνωση του φαιοχρωμοκυττώματος, εξαιτίας της υψηλής πρόσληψης του Octreoscan από τους νεφρούς, τα παραγαγγλιώματα αντιπροσωπεύουν σημαντική ένδειξη γιά εξέταση όλου του σώματος με σπινθηρογράφημα με οκτρεοτίδη. Σε ότι αφορά στα νευροβλαστώματα, είναι γνωστό ότι αυτά που εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης έχουν καλύτερη πρόγνωση από αυτούς που δεν εκφράζουν. Επιπρόσθετα, η παρουσία

υποδοχέων συνδέεται αντιστρόφως ανάλογα με την ύπαρξη του N-myc, που θεωρείται δείκτης κακής πρόγνωσης (28).

Τα μηνιγγιώματα σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις γίνονται ορατά με το Octreoscan, εφαρμογή ιδιαίτερα χρήσιμη στην διαφοροδιάγνωση από νευρινώματα που δεν έχουν υποδοχείς. Τα δε μυελοβλαστώματα, ανήκουν στους όγκους με τη μεγαλύτερη έκφραση SSTR 2.

Ο καρκίνος του μαστού μπορεί να εκφράζει υποδοχείς σωματοστατίνης. Βρίσκονται in vitro στο 50-70% των όγκων, με τον SSTR 2 να προεξάρχει και εδώ.Στο 50% των όγκων παρατηρείται αξιοσημείωτη ετερογένεια, ενώ σε πολλούς υπάρχει χαμηλή ή ενδιάμεση πυκνότητα (28). Σε μιά καλά ελεγχόμενη μελέτη (98) το 70% καρκίνων που διαγνώστηκαν με μαστογραφία ήταν θετικοί γιά υποδοχείς σωματοστατίνης. Όμως η ετερογένεια και η ανεπαρκής ποσότητα των υποδοχέων στους όγκους αυτούς, είναι ανασταλτικοί παράγοντες στη χρήση του σπινθηρογραφήματος υποδοχέων σωματοστατίνης και στη χρήση ακτινοθεραπείας με 90 Y-DOTATOC.

Σε ότι αφορά σε άλλους όγκους, στα λεμφώματα ανευρίσκεται υψηλή συχνότητα αλλά χαμηλή πυκνότητα SSTR, ομοίως και τα υπερνεφρώματα.Τα σαρκώματα μπορεί να εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης και μπορούν τότε να απεικονιστούν in vivo με Octreoscan. Στα μη μικροκυτταρικά καρκινώματα πνεύμονα, υπάρχουν αντικρουόμενα δεδομένα, ενώ στα καρκινώματα παγκρέατος και παχέος εντέρου, καταλυτικό ρόλο επί του παρόντος παίζει η απουσία SSTR 2. Πρόσφατα υπήρξε αναφορά θετικής πρόσληψης από Octreoscan σε ασθενείς με ανεγχείρητα ηπατοκυτταρικά καρκινώματα (99).

Παράλληλα προς την in vivo ανίχνευση με το σπινθηρογράφημα, η ανίχνευση in vitro υποδοχέων σωματοστατίνης σε όγκους, παραμένει μιά σημαντική

διαγνωστική δυνατότητα. Είναι πολύ χρήσιμη όταν ένας όγκος έχει αφαιρεθεί χωρίς προεγχειρητικό Octreoscan, και αυτός κατά την ιστοπαθολογική εκτίμηση αποδεικνύεται να έχει νευροενδοκρινικά χαρακτηριστικά.Αποτελεί σημαντική πληροφορία γιά τον κλινικό το εάν ο όγκος έχει υποδοχείς σωματοστατίνης, ώστε να διερευνηθεί η δυνατότητα εντόπισης μεταστάσεων ή υποτροπών με Octreoscan.

ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Η εκλεκτική ακτινοθεραπεία σε όγκους που εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης σε υψηλή πυκνότητα, έχει έρθει στο προσκήνιο ως υποσχόμενη μέθοδος. Από μελέτες σε πειραματόζωα, κατόπιν χρήσης-του εκλεκτικού γιά τον [SSTR 2]- 90 Y-DOTATOC, επετεύχθη πλήρης καταστροφή των όγκων, ιδιαίτερα των μικρότερων. Επιπρόσθετα, διάφορες πιλοτικές μελέτες σε ανθρώπους, έχουν δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα με ακτινοθεραπεία με 111 In-DTPA-octreotide 90 Y-labeled DOTATOC. Βασικές ενδείξεις είναι οι μεταστατικοί νευροενδοκρινείς όγκοι, ιδιαίτερα τα παγκρεατικά νευροενδοκρινή νεοπλάσματα και τα καρκινοειδή. Παράλληλα, πολλοί άλλοι όγκοι μπορεί να στοχευθούν με ακτινοθεραπεία, μέσω υψηλής συγγένειας δέσμευση με τον υποδοχέα και εσωτερικοποίηση του 90 Y-labeled DOTATOC, εφόσον εκφράζουν υψηλή πυκνότητα υποδοχέων σωματοστατίνης. Είναι αναπάντητο επί του παρόντος, εάν ιδιαίτερα ακτινοευαίσθητα νεοπλάσματα όπως λεμφώματα ή μικροκυτταρικά καρκινώματα, παρά τη χαμηλή έως μέτρια ποσότητα υποδοχέων σωματοστατίνης, μπορεί να είναι κατάλληλα γιά «στοχευμένη» σε υποδοχείς ακτινοθεραπεία (29). Διάφοροι μηχανισμοί μπορεί να καθορίσουν την ποσότητα πρόσληψης των ραδιοσημασμένων αναλόγων σωματοστατίνης (18):

α) Η σταθερότητα του ραδιοϊσοτόπου

β) Η πυκνότητα έκφρασης υποδοχέων σωματοστατίνης στον όγκο

γ) Ο τύπος των υποδοχέων που εκφράζονται από τον όγκο

δ) Η συγγένεια του ισοτόπου προς τους υποδοχείς σωματοστατίνης

ε) Η αποτελεσματικότητα του μηχανισμού εσωτερικοποίησης –μέσω υποδοχέων- και ανακύκλωσης

στ) Η τελική διείσδυση του ραδιοϊσοτόπου εντός των νεοπλασματικών κυττάρων

ζ) Η μάζα του ενιόμενου πεπτιδίου

ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Από τη στιγμή που οι υποδοχείς συνδεθούν στα ανάλογα της σωματοστατίνης, το σύμπλεγμα υποδοχέα-φαρμάκου, προσλαμβάνεται στο (θετικό γιά υποδοχεις) καρκινικό κύτταρο. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό όταν υπάρχει πλάνο γιά χρήση αναλόγων σωματοστατίνης, συνδεδεμένων προς ισότοπα ή χημειοθεραπευτικά γιά την θεραπεία θετικών γιά SSTR 2 και 5, μεταστατικών όγκων. Η διαδικασία αυτή της εσωτερίκευσης, μπορεί να φέρει το ραδιοσύμπλεγμα ή κυτταροτοξικό ανάλογο της σωματοστατίνης πιό κοντά στον πυρήνα και στο DNA. Είναι αναγκαία η υψηλή πρόσληψη του ραδιοφαρμάκου ή του χημειοθεραπευτικού, καθώς πρέπει οι μη νεοπλασματικοί ιστοί να μην εκτεθούν στη δράση τους.

Μιά εναλλακτική προσέγγιση στη «στοχευμένη» ακτινοθεραπεία γιά την καταστροφή όγκων, μπορεί να αποτελέσει η σύζευξη σωματοστατίνης με κυτταροτοξικούς παράγοντες. Από τα πιό αποτελεσματικά συμπλέγματα είναι το AN-238, το οποίο είναι 2 πυρολινοδοξορουμπισίνη με το οκταπεπτιδικό ανάλογο RC-121

(100;101), όπου διατηρείται η δυνατότητα του πεπτιδικού φορέα να συνδέει ειδικά τους υποδοχείς στους ιστούς-στόχους, ενώ διατηρείται η κυτταροτοξικότητα του αντικαρκινικού φαρμάκου. Το AN-238 δόθηκε σε μία δόση σε πειραματόζωα με όγκους που εξέφραζαν υποδοχείς σωματοστατίνης, όπως προστατικά (μη εξαρτώμενα από ανδρογόνα) καρκινώματα, υπερνεφρώματα, καρκινώματα ωοθηκών και πνεύμονα. Στους περισσότερους, το AN-238 προκάλεσε περισσότερο από 80% μείωση στο βάρος και/ή στον όγκο.

Επί του παρόντος δεν είναι ξεκάθαρο, εάν και σε τι έκταση το τοξικό μέρος του συμπλέγματος, απελευθερώνεται πριν την είσοδο στο κύτταρο.Όμως φαίνεται ότι το κυτταροτοξικό ανάλογο σωματοστατίνης AN-238 είναι πιό αποτελεσματικό και λιγότερο τοξικό από το αντίστοιχο δραστικό κυτταροτοξικό, ακόμη και σε πειραματικούς όγκους που έχουν χαμηλή πυκνότητα υποδοχέων. Επιπρόσθετα, το σύμπλοκο αυτό παρουσιάζεται να είναι σε θέση να «στοχεύει» την (θετική γιά υποδοχείς) αγγείωση του όγκου σε ένα μοντέλο, του οποίου τα ίδια τα καρκινικά κύτταρα ήταν αρνητικά γιά υποδοχείς σωματοστατίνης (100). Αυτά όμως τα κυτταροτοξικά ανάλογα σωματοστατίνης, δεν έχουν δοκιμαστεί σε κλινικές δοκιμές.

ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΜΕ ΜΗ ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΑ, ΜΗ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ

Σταθερά ανάλογα σωματοστατίνης όπως η οκτρεοτίδη, η λανρεοτίδη, η η βαπρεοτίδη, τρία οκταπεπτίδια με χρόνο ημίσειας ζωής αποδόμησης επαρκώς μεγάλο, γιά να επιτρέψει μακροχρόνια θεραπεία, έχουν αποτελέσει τη βάση γιά την επιτυχία μακροχρόνιας θεραπείας με σωματοστατίνη. Βασική εφαρμογή τους, η θεραπεία των συμπτωμάτων που προκαλεί η υπερέκκριση ορμονών από νευροενδοκρινείς όγκους.

Μ' αυτήν, έχει βελτιωθεί η ποιότητα ζωής των ασθενών με ορμονοπαραγωγά αδενώματα της υπόφυσης, γαστρεντερικούς νευροενδοκρινείς όγκους όπως μεταστατικοί νησιδιακοί όγκοι και καρκινοειδή. Ακολούθησαν χρονικά τα μακράς δράσης ανάλογα γιά τις ίδιες ενδείξεις, και προοδευτικά έχουν αντικαταστήσει τις ημερήσιες ενέσιμες μορφές. Φαρμακολογικά τα ανάλογα αυτά είναι ειδικά, αλλά με ένα προφίλ συγγένειας προς τους υποδοχείς, διαφορετικό απ' ό,τι στη φυσική σωματοστατίνη και συνδέονται κυρίως προς τον SSTR 2>SSTR 5>SSTR 3 κατά συγγένεια.

Η μακροχρόνια εφαρμογή της σωματοστατίνης ή των αναλόγων σωματοστατίνης αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό φυσιολογικών και νεοπλασματικών κυττάρων (102;103). Τα ανάλογα σωματοστατίνης έχει δειχθεί ό,τι αναστέλλουν την ανάπτυξη όγκων πλήθους πειραματικών μοντέλων σε διάφορα είδη: μεταμοσχευμένα χονδροσαρκώματα, οστεοσαρκώματα, παγκρεατικά καρκινώματα και διάφορους τύπους καρκινωμάτων μαστού και προστάτη σε αρουραίους και ποντικούς. Όγκοι που αναπτύσσονταν από έναν αριθμό ανθρώπινων παγκρεατικών, γαστρικών, κολονικών και μικροκυτταρικού καρκινώματος νεοπλασματικών σειρών αλλομεταμοσχευμένων σε ποντίκια παρουσίαζαν αναστολή της ανάπτυξης με μακροχρόνια θεραπεία με σωματοστατίνη.

Πολλοί από τους πειραματικούς αυτούς όγκους και τις κυτταρικές σειρές , αναστέλλονται από τη σωματοστατίνη κατά ένα άμεσο τρόπο, μέσω πυκνά και ομοιογενώς εκφραζόμενων υποδοχέων σωματοστατίνης στα καρκινικά κύτταρα (104). Παρότι διάφοροι πειραματικοί όγκοι δεν εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης, η ανάπτυξη τους συχνά αναστέλλεται με τη χορήγηση αναλόγων σψματοστατίνης πιθανά μέσω μέσω έμμεσων μηχανισμών, περιλαμβάνοντας ανασταλτικές δράσεις σε αυξητικούς παράγοντες και/ή αγγειογένεση (63). Έτσι,

υπήρξε η μεγάλη ελπίδα ότι τα ανάλογα σωματοστατίνης θα μπορούσαν να αποτελέσουν αντινεοπλασματικούς παράγοντες σε ανθρώπινους όγκους.

Οι ανθρώπινοι καρκίνοι όμως, διαφέρουν από πειραματικά μοντέλα καρκίνου που ανταποκρίνονται τόσο καλά στα ανάλογα της σωματοστατίνης. Έτσι οι περισσότεροι ανθρώπινοι καρκίνοι αποτελούνται από ένα ιστό-στρώμα και διαφορετικούς κλώνους επιθηλιακών κυττάρων, που δεν εκφράζουν ομοιογενώς υποδοχείς σωματοστατίνης. Αυτό προφανώς έρχεται σε αντίθεση με τα -κυρίως- μονοκλωνικά μοντέλα πειραματοζώων, τα οποία τις περισσότερες φορές εκφράζουν ομοιογενώς υποδοχείς σωματοστατίνης, σε όλα τα καρκινικά κύτταρα.

Από την άλλη πλευρά η έκφραση υποδοχέων σωματοστατίνης σε περιοχές καρκινωμάτων μαστού, προστάτη και παχέος εντέρου συχνά δείχνει έλλειψη διαφοροποίησης σ' αυτούς τους όγκους. Γενικά αυτοί οι αδιαφοροποίητοι όγκοι με νευροενδοκρινική διαφοροποίηση κυττάρων, έχουν φτωχή πρόγνωση σε αυτό το στάδιο ανάπτυξης. Επιπρόσθετα, είναι γεγονός ότι ασθενείς που περιελήφθησαν σε τέτοιες μελέτες είναι προχωρημένου σταδίου, ενώ υπάρχουν δεδομένα ότι τυχούσα προηγηθήσα χημειοθεραπεία μειώνει τους υποδοχείς σωματοστατίνης.

Δυστυχώς η αντιπολλαπλασιαστική δράση των αναλόγων της σωματοστατίνης επί των ανθρώπινων όγκων είναι περιορισμένη. Υπάρχουν στοιχεία γιά τον περιορισμό της ανάπτυξης του όγκου και παράταση επιβίωσης σε μεγαλακρικούς ασθενείς και μερικούς με νευροενδοκρινικούς όγκους, κατόπιν θεραπείας με οκτρεοτίδη. Όμως επί του παρόντος δεν υπάρχουν μελέτες-σε ασθενείς με άλλους θετικούς γιά τους υποδοχείς σωματοστατίνης όγκους όπως μαστού, πνεύμονα, προστάτη- που αναμφίβολα να υποδηλώνουν ότι η μακροχρόνια θεραπεία με ανάλογα σωματοστατίνης, προκαλεί μείωση του όγκου ή τουλάχιστον έλεγχο της

ανάπτυξης του. Σχετικά με την εφαρμογή στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, θα γίνει στη συνέχεια εκτενέστερη αναφορά.

Σε ό,τι αφορά τα πιθανά αίτια γιά τη φτωχή αποτελεσματικότητα της οκτρεοτίδης στην αναστολή αύξησης του όγκου, μπορούν να επισημανθούν τα εξής:

1) Οι ασθενείς που επιλέχθηκαν γιά αντιμετώπιση της ανάπτυξης του όγκου με οκτρεοτίδη, έχουν συχνά νόσο τελικού σταδίου.
2) Η οκτρεοτίδη που είναι το φάρμακο που επελέγη για την θεραπεία, δεν έχει συγγένεια και γιά τους πέντε γνωστούς υποδοχείς της σωματοστατίνης και συνεπώς, μπορεί να μην είναι το ιδανικό φάρμακο γιά τη αντιμετώπιση της αύξησης του όγκου.
3) Δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη η βέλτιστη δόση του φαρμάκου γιά τη συγκεκριμένη ένδειξη.
4) Οι υποδοχείς της σωματοστατίνης δεν εκφράζονται πάντα ομοιογενώς και με υψηλή πυκνότητα στους ανθρώπινους όγκους (π.χ καρκίνος μαστού), ενώ τα πειραματικά μοντέλα που επελέγησαν γιά πειράματα in vivo, συνήθως έχουν υψηλή και ομοιογενή κατανομή των υποδοχέων
5) Η στόχευση των υποδοχέων σωματοστατίνης αγνοεί την ύπαρξη μαζικής υπερέκφρασης άλλων υποδοχέων πεπτιδίων και αυξητικών παραγόντων στον ίδιο όγκο, οι οποίοι μπορεί να έχουν αντίθετη από την ανασταλτική δράση της σωματοστατίνης

Στο κυτταρικό επίπεδο η διαφυγή από την ανασταλτική δράση -γιά την ανάπτυξη των όγκων- των αναλόγων σωματοστατίνης, υποδηλώνει ότι η παρατεταμένη έκθεση στους αγωνιστές μπορεί να συνδέεται με μείωση της έκφρασης (down regulation) των υποδοχέων. Επιπλέον σε μερικά μοντέλα όγκων παρατηρείται αύξηση της έκφρασης (up regulation) υποδοχέων σωματοστατίνης μετά την έκθεση στον αγωνιστή, που

μπορεί να εξηγεί την παρατεταμένη έλλειψη αντίδρασης σε ανάλογα σωματοστατίνης. Αυτά τα αντίθετα δεδομένα δεν ευνοούν την εξαγωγή γενικών συμπερασμάτων αναφορικά με το βέλτιστο τρόπο θεραπείας που είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς με νευροενδοκρινείς όγκους θετικούς γιά υποδοχείς σωματοστατίνης.

Επιπρόσθετα η διαφυγή από την θεραπεία με ανάλογα σωματοστατίνης μπορεί εναλλακτικά να περιλαμβάνει up regulation των δεσμευτικών θέσεων που δεν αναγνωρίζουν την οκτρεοτίδη και/ή διαφυγή καρκινικών κυττάρων που δεν εκφράζουν υποτύπους υποδοχέων σωματοστατίνης (21). Συνεπώς απομένει να καθοριστεί εάν οι αλλαγές στους αριθμούς των υποτύπων υποδοχέων σωματοστατίνης στην κυτταρική επιφάνεια γίνονται μέσω μειωμένης μεταγραφής γονιδίων σωματοστατίνης, μειωμένης σταθερότητας των mRNA των υποτύπων, μέσω αυξημένης ενδοκυττάριας αποδόμησης των προυπαρχόντων κυτταρικών υποδοχέων σωματοστατίνης ή συνδυασμού των γεγονότων αυτών.

Τέλος ειδική αναφορά πρέπει να γίνει γιά τη διαδικασία της αγγειογένεσης και τη δράση της σωματοστατίνης. Η αγγειογένεση είναι η ανάπτυξη νέων αγγείων από υπάρχοντα αιμοφόρα αγγεία. Είναι σημαντική φυσιολογική διεργασία που παρατηρείται στην ανάπτυξη του εμβρύου, την επούλωση των τραυμάτων και το γυναικείο αναπαραγωγικό κύκλο. Η διαδικασία της αγγειογένεσης συνήθως αναστέλλεται στους φυσιολογικούς ιστούς των ενηλίκων, αλλά μπορεί να ενεργοποιηθεί σε παθολογικές καταστάσεις όπως είναι οι νεοπλασίες, η νεοαγγείωση του αμφιβληστροειδούς, η ψωρίαση και η αρθρίτιδα.

Η αγγειογένεση είναι σύνθετη πολυεπίπεδη διαδικασία που περιλαμβάνει μιά ισορροπία ανάμεσα στην επαγωγή διαφόρων προαγγειογενετικών αυξητικών παραγόντων και τη μείωση στους αναστολείς της αγγειογένεσης. Επαγωγείς της

αγγειογένεσης είναι οι: VEGF, basic FGF, TGFa, PDGF, IL-8 HGF. Ενδογενείς αναστολείς έχουν περιγραφεί πρόσφατα. Η αγγειοστατίνη είναι παράγωγο κάθαρσης του πλασμινογόνου, το οποίο αναστέλλει την αγγειογένεση και τη μεταστατική αύξηση in vivo, παρότι το πλασμινογόνο στερείται της ιδιότητας αυτής. Η ενδοστατίνη, πρωτεολυτικό κλάσμα του κολλαγόνου XVIII που δρα ως ενδογενής ανστολέας της αγγειογένεσης και οδηγεί στην αναστολή του πολλαπλασιασμού του ενδοθηλίου,όπως και σε αυξημένη απόπτωση των κυττάρων του όγκου, με τελικό αποτέλεσμα στην μείωση των μεταστάσεων και τον περιορισμό των όγκων.

ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗ ΚΑΙ ΗΠΑΡ

Η σωματοστατίνη έχει τις δύο τελευταίες δεκαετίες λάβει σημαντική θέση στη θεραπευτική παθήσεων του ήπατος, κυρίως σχετιζόμενων με αιμορραγία πεπτικού στα πλαίσια πυλαίας υπέρτασης. Εντούτοις, η κυτταρική και βιοχημική βάση της δράσης επί της πυλαίας υπέρτασης, παραμένει εν πολλοίς μερικώς κατανοητή (105). Οι αιμοδυναμικές επιδράσεις της σωματοστατίνης έχουν μελετηθεί λεπτομερέστερα. Η SST διαπιστώθηκε ότι επάγει σπλαγχνική αγγειοσύσπαση και μειωμένη σπλαγχνική ροή αίματος, ροή αζύγου και μειωμένες πιέσεις στην πυλαία κυκλοφορία, δίχως σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Αυτές οι δράσεις συνοδεύονται από σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκαγόνου (106;107), πράγμα που θεωρείται μείζων μηχανισμός δράσης. Παρότι όμως και η σωματοστατίνη και η οκτρεοτίδη αναστέλλουν την έκκριση γλυκαγόνου μέσω σύζευξης με τον SSTR 2, οι διαφορετικές δράσεις των δύο στη σπλαγχνική αιμοδυναμική, υποδηλώνει ότι υπεισέρχονται και άλλοι μηχανισμοί δράσης. Ξεχωριστό όμως ενδιαφέρον έχει η

δράση της σωματοστατίνης σε κυτταρικό-βιοχημικό επίπεδο, αλλά και η αντινεοπλασματική δράση στο ήπαρ.

Η ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗ ΚΑΙ ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

Σε αντίθεση με την εκτεταμένη έρευνα που έχει γίνει στο κεντρικό νευρικό σύστημα, είναι λίγες αλλά προοδευτικά αυξανόμενες οι μελέτες γιά τη σωματοστατίνη στο ήπαρ. Στο επίπεδο των κολποειδών του ήπατος, μελέτες σε πειραμοτόζωα έδειξαν την παρουσία των υποδοχέων SSTR 1, 2 και 3. Η ενεργοποίηση τους από τη σωματοστατίνη βρέθηκε να προκαλεί μερική αναστολή της επαγόμενης από την ενδοθηλίνη-1 σύσπασης των κολποειδών κυττάρων του ήπατος, δείχνοντας έτσι ότι στα ενεργοποιημένα κύτταρα των κολποειδών των πειραματοζώων, είναι παρόντες λειτουργικά ενεργοί υποδοχείς σωματοστατίνης (106;108). Η ίδια ομάδα, ανακοίνωσε ότι η σωματοστατίνη σε συγκέντρωση 10^{-9} mol/L οδήγησε σε μείωση της σύνθεσης κολλαγόνου I και III, όπως και μείωση στη σύνθεση α-SMA σε ενεργοποιημένα κολποειδή πειραματοζώων (108).

Από άλλους ερευνητές, ανακοινώθηκε ότι η πρώιμη και χρόνια χορήγηση οκτρεοτίδης, εμπόδισε την ανάπτυξη ηπατικής ίνωσης σε μοντέλο με τετραχλωράνθρακα (109). Ξανά σε πειραματικά μοτέλα, δείχτηκε ότι η σωματοστατίνη και η οκτρεοτίδη χορηγούμενες in vivo, τροποποιούν την έκλυση υπεροξειδίου του υδρογόνου, οξειδίου του αζώτου και TNF-a από τα κύτταρα Kupffer σε κιρρωτικό ήπαρ (ανάλογα και με τις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν). Η εξαιρετική ευαισθησία των κυττάρων Kupffer σε διαφορετικές συγκεντρώσεις των ορμονών αυτών in vitro, υποδηλώνουν κατά τους ερευνητές ότι η

σωματοστατίνη μπορεί να τροποποιεί τη λειτουργία των κυττάρων Kupffer in vivo (110). Επιπλέον άλλη μελέτη έδειξε ότι η οκτρεοτίδη διεγείρει τη δραστηριότητα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (111).

Στο επίπεδο των ασθενών ήδη προαναφέρθηκε η σημασία της μείωσης του γλυκογόνου στο αιμοδυναμικό status του ήπατος, δράση που εν μέρει προάγεται μέσω του SSTR 2. Επιπρόσθετα, η μείωση των ενδοηπατικών αντιστάσεων μέσω SSTR 1 επαγόμενης χάλασης των ηπατικών κολποειδών (και ίσως και άλλων τριχοειδών) ενδεχομένως παίζουν ρόλο στις παρατεταμένες δράσεις της σωματοστατίνης επί της πυλαίας πίεσης (107).

Πρόσφατα έχει δειχτεί ότι οι νευράξονες μέσα στο ηπατικό παρέγχυμα, περιέχουν σωματοστατίνη. Οι νευρωνικές αυτές ίνες εντοπίζονται στον κολποειδικό χώρο του Disse σε στενή επαφή με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα λοιπά κύτταρα των κολποειδών. Με τον τρόπο αυτό, οι περιέχουσες σωματοστατίνη νευρικές ίνες μπορεί να έχουν παρακρινική δράση επί των κυττάρων των κολποειδών. Μάλιστα στην αλκοολική κίρρωση, ο αριθμός των νευρικών ινών που περιέχουν SST βρέθηκε μειωμένος στα πυλαία διαστήματα και στα τριχοειδή. Έτσι σε τέτοιες περιπτώσεις, τα ηπατικά κολποειδή μπορεί να είναι λιγότερο εκτεθημένα στη σωματοστατίνη (112).

Στα πλαίσια παλαιότερης κλινικής μελέτης της οκτρεοτίδης, ανακοινώθηκε από το τμήμα μας η παρουσία υποδοχέων σωματοστατίνης σε παθήσεις του ήπατος, με τη χρήση ραδιοανοσολογικής μεθόδου που ανιχνεύει και τους πέντε υποτύπους υποδοχέων σωματοστατίνης (χωρίς όμως ανάλυση γιά κάθε υπότυπο χωριστά) (113). Η παρουσία υποδοχέων σωματοστατίνης στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα σε ανθρώπους, επιβεβαιώθηκε και από τον Reubi και συν (49), με τη χρήση in vitro αυτοραδιογραφίας υποδοχέων. Στη μελέτη αυτή το 41% από τα 59 ηπατοκυτταρικά καρκινώματα που μελετήθηκαν, εξέφραζαν υποδοχείς σωματοστατίνης-κυρίως τον

SSTR 2- παρότι η πυκνότητα αυτών ήταν χαμηλή συγκριτικά με την πυκνότητα που ανευρίσκεται σε μεταστάσεις από νευροενδοκρινείς όγκους.

Τα αποτελέσματα μελέτης από τους Reynaert και συν. (114) επί των υποτύπων υποδοχέων σωματοστατίνης σε φυσιολογικό ήπαρ, κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνο παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Δείγματα ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και πέριξ κιρρωτικού ιστού ελήφθησαν από χειρουργικές βιοψίες. Εφαρμόστηκε ανοσοιστοχημεία με ειδικά αντισώματα γιά τους SSTR, καθώς και αντισώματα α-SMA και PDGFR-β. Στο φυσιολογικό ήπαρ δεν διαπιστώθηκαν SSTR. Τα ηπατοκύτταρα εντός κιρρωτικών όζων και όγκων ήταν θετικά γιά SSTR 1-3, αλλά ο 1 ήταν ο κυρίαρχος. Τα κύτταρα στην επιφάνεια μεταξύ όζων και διαφραγμάτων,ήταν θετικά γιά α-SMA και SSTR1,2 και σε ορισμένες περιπτώσεις και SSTR3. Ορισμένα κύτταρα εντός των κολποειδών ήταν θετικά γιά α-SMA, SSTR1 και PDGFR-β. Οι ερευνητές συμπεραίνουν ότι τα ηπατοκύτταρα σε όζους, τα νεοπλασματικά ηπατοκύτταρα, καθώς και τα ενεργοποιημένα κύτταρα των κολποειδών εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης.

Μελέτη παραγωγής σωματοστατίνης και κορτιστατίνης, έκφρασης και κατανομής υποδοχέων σωματοστατίνης καθώς και πιθανής αντιπολλαπλασιαστική δράση οκτρεοτίδης, σε κυτταρική σειρά ανθρώινου ΗΚΚ (Hep G2) δημοσιεύτηκε πρόσφατα (115). Διαπιστώθηκε (μέσω RT-PCR) στη συγκεκριμένη κυτταρική σειρά, έκφραση SSTR 2, 3 και 5. Ανοσοιστοχημικά προσδιορίστηκε ότι η κατανομή των υποδοχέων ήταν ενδοκυττάρια. Τα κύτταρα της Hep G2 εξέφραζαν κορτιστατίνη που βρέθηκε (πιθανώς με αυτοκρινή τρόπο) να ρυθμίζει τους υποδοχείς σωματοστατίνης. Επιπρόσθετα, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός μειώνονταν από την οκτρεοτίδη μέσω μηχανισμού σχετιζόμενου με τυροσινική φωσφατάση. Οι Li και συν περιέγραψαν

επίσης την έκφραση SSTR2 mRNA στην κυτταρική σειρά HepG2 χρησιμοποιώντας RT-PCR (116).

Αποτελέσματα ανοσοϊστοχημικής μελέτης υποτύπων υποδοχέων σωματοστατίνης, με χρήση ειδικών αντισωμάτων γιά κάθε υπότυπο, δημοσιεύονται από τους Blaker και συν (117), επί 56 ΗΚΚ. Επιπρόσθετα 6 δείγματα μελετήθηκαν και με RT-PCR με χρήση ειδικών primers. Οι ερευνητές διεπίστωσαν ετερογενή και ποικίλλη έκφραση υποτύπων υποδοχέων (SSTR1 46%-SSTR2 41%-SSTR3 64%-SSTR4 0%-SSTR5 75%). Δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ έκφρασης SSTR και σταδίου όγκου, ιστολογικής διαφοροποίησης, και υποκείμενης ηπατικής λειτουργίας.

Η ΑΝΤΙΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΩΜΑΤΟΣΤΑΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΗΠΑΡ

Α) ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Πολλά δεδομένα συσσωρεύονται στον τομέα αυτό και αρκετά έχουν ήδη κλινικές εφαρμογές. Αρχικά υπήρξε ερευνητικό ενδιαφέρον για τη δράση της σωματοστατίνης επί των ηπατικών μεταστάσεων, κυρίως των προερχόμενων από καρκίνο του παχέος εντέρου. Έτσι πειραματικά δεδομένα, έδειχναν κυτταροστατική δράση της βαπρεοτίδης επί των μεταστάσεων αυτών (118), ενώ και γιά την οκτρεοτίδη υπήρξαν στοιχεία ότι αναστέλλει τη δημιουργία και την ανάπτυξη πειραματικών ηπατικών μεταστάσεων από κυτταρικές σειρές ινοσαρκώματος καθώς και κολονικού αδενοκαρκινώματος (119;120).

Ήδη από το 1987 υπάρχουν αναφορές ότι η εκλεκτική από τη σωματοστατίνη, καταστολή της επαγόμενης από την ινσουλίνη κυτταρικής αύξησης,

παρείχε σημαντική προσέγγιση στη μελέτη των δράσεων της ινσουλίνης στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων ανθρώπινου ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (121). Ενδιαφέροντα αποτελέσματα προέκυψαν και όταν, κύτταρα από σειρές ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (Morris hepatoma 3924A) εμφυτεύθηκαν στο ήπαρ και τους υποδόριους ιστούς πειραματοζώων που είχαν υποστεί μερική ηπατεκτομή, και στα οποία χορηγήθηκε οκτρεοτίδη ή placebo. Η μερική ηπατεκτομή αύξησε σημαντικά την ανάπτυξη του όγκου, ενώ η θεραπεία με την οκτρεοτίδη προκάλεσε δεκαπλάσια μείωση στην αύξηση του όγκου στο ήπαρ και τριπλάσια μείωση στους υποδόριους ιστούς (122).

Ακόμη, η ηπατοκαρκινογένεση που προκλήθηκε σε πειραματόζωα από νιτροσομορφολίνη, ήταν σημαντικά μικρότερη σ' αυτά που έλαβαν σωματοστατίνη (123). Η έκθεση σε οκτρεοτίδη της κυτταρικής σειράς ανθρώπινου ηπατοκυτταρικού καρκινώματος BEL-7402, συσχετίστηκε θετικά με το ρυθμό απόπτωσης των νεοπλασματικών κυττάρων (124). Σε παρόμοια μελέτη μελετήθηκε η επίδραση της οκτρεοτίδης σε σειρά ανθρώπινων ηπατοκυττάρων (L-02) και σε δύο σειρές ΗΚΚ (HepG2, SMMC-7721)· διαπιστώθηκε ότι η οκτρεοτίδη ανέστελε άμεσα τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων ΗΚΚ ενώ η επαγόμενη απόπτωση στα ηπατοκύτταρα ήταν ελάχιστη. Τα κύτταρα Kupffer έχουν κεντρικό ρόλο στις φλεγμονώδεις παθήσεις του ήπατος. Η οκτρεοτίδη μέσω της τροποποίησης παραγωγής των φλεγμονωδών μεσολαβητών πιθανόν να έχει αντιφλεγμονώδεις και ανοσοτροποποιητικές δράσεις (125). Μελέτη επί απομονωμένων κυττάρων Kupffer αρουραίου πρότεινε ότι η αντινεοπλασματική δράση της οκτρεοτίδης μπορεί εν μέρει να ερμηνευθεί από αντιαποπτωτική δράση επί των κυττάρων Kupffer (126). Σε παρόμοιο πειραματικό μοντέλο έγινε η υπόθεση ότι η οκτρεοτίδη θα μπορούσε να έχει αντιινωτικές ιδιότητες μέσω δράσης επί των TGF-β1, uPA και MMP-1 (127).

Ο υπότυπος SSTR3 βρέθηκε να εκφράζεται στα κύτταρα ΗΚΚ αλλά όχι στα L-02, ώστε να προταθεί μοριακή βάση γιά τις εκλεκτικές προς το ΗΚΚ δράσεις (128). Πρόσφατη μελέτη του κυτταροτοξικού αναλόγου σωματοστατίνης AN-238 επί των κυτταρικών σειρών ανθρώπινου ηπατοκυτταρικού καρκινώματος Hep G2 και Hep3B, έδειξε ότι είναι ισχυρός παράγοντας επαγωγής απόπτωσης μέσω υποδοχέων σωματοστατίνης, ανεξάρτητα από ογκοκατασταλτικό p53 (129).

Σε ιστούς από χειρουργικά παρασκευάσματα ασθενών με χολαγγειοκαρκίνωμα, αλλά και στην κυτταρική σειρά χολαγγειοκαρκινώματος SK-Cha-1, διαπιστώθηκε η παρουσία του SSTR 2 .Παρατηρήθηκε η ανστολή της in vitro αύξησης των κυττάρων της SK-Cha-1 από τη σωματοστατίνη και την οκτρεοτίδη, ενώ in vivo αναστολή της ανάπτυξης του όγκου από τη λανρεοτίδη, παρατηρήθηκε σε πειραμοατόζωα (χωρίς θύμο) στα οποία είχαν ενοφθαλμιστεί κύτταρα ανθρώπινου χολαγγειοκαρκινώματος (130). Ακόμη, με τη βοήθεια RT-PCR ελέγχθηκε η παρουσία γονιδιακής έκφρασης των πέντε υποτύπων των υποδοχέων σωματοστατίνης, στις εξής κυτταρικές σειρές χολαγγειοκαρκινώματος : RBE, NEC, QBC939, SSP-25. Σ' αυτές διαπιστώθηκε η παρουσία μόνο του SSTR 2. Επιπλέον η οκτρεοτίδη ανέστειλε σημαντικά την αύξηση και στις τέσσερις σειρές των νεοπλασματικών κυττάρων.

Πρόσφατα, διαπιστώθηκε ότι η οκτρεοτίδη ασκεί ανασταλτική δράση στον πολλαπλασιασμό κυττάρων της κυτταρικής σειράς ανθρωπίνου καρκινώματος χοληδόχου κύστης (GBC-SD), προάγοντας τη διαδικασία της απόπτωσης μέσω μείωσης της έκφρασης των μεταλλαγμένων τύπων των p53 και bcl-2 (131).

Β) ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Οι περισσότερες αν όχι όλες οι αναφορές περιστατικών, της χρήσης σωματοστατίνης ή αναλόγων της, αφορούν σε μεταστατική νόσο είτε από πρωτοπαθή νευροενδοκρινή όγκο, είτε από καρκίνο παχέος εντέρου ή ορθού. Έτσι ηπατικές μεταστάσεις από ACTH εκκριτικούς όγκους της υπόφυσης, μεταστατικά αλλά και πρωτοπαθή καρκινοειδή, πρωτοπαθή VIP-ωματα ήπατος, μεταστατικά μυελοειδή καρκινώματα θυρεοειδούς, έχουν αντιμετωπιστεί επιτυχώς με τη χρήση σωματοστατίνης ή παραγώγων (κυρίως οκτρεοτίδης) (132).

Με τα ανωτέρω πειραματικά δεδομένα, αλλά και το προφίλ ασφάλειας της σωματοστατίνης, πραγματοποιήθηκε προοπτική τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη μονοθεραπείας της οκτρεοτίδης σε ανεγχείρητο ηπατοκυτταρικό καρκίνο, μιά νόσο χωρίς ικανοποιητική θεραπευτική αντιμετώπιση. 58 ασθενείς με όγκους Okuda II και III, τυχαιοποιήθηκαν σε οκτρεοτίδη 250 μg sc ή καμία -πλην υποστηρικτικής- θεραπεία. Οι ασθενείς στην ομάδα που έλαβε οκτρεοτίδη, είχαν σημαντικά αυξημένη επιβίωση(13 μήνες), σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (καμία θεραπεία) που είχαν διάμεση επιβίωση 4 μήνες, και σημαντικά αυξημένη αθροιστική πιθανότητα επιβίωσηςστους 6 και 12 μήνες (75% έναντι 36%, και 57% έναντι 13% αντιστοίχως). Επιπλέον, η ποιότητα ζωής στην ομάδα της οκτρεοτίδης ήταν καλύτερη, ενώ σε 5 ασθενείς μικροί δορυφόροι όγκοι-διαμέτρου μικρότερης των 3 εκατοστών- εξαφανίστηκαν 6 με 12 μήνες μετά την έναρξη θεραπείας.Σε άλλους 4 ασθενείς το μέγεθος του όγκου παρέμεινε σταθερό (113).

Ακολούθησε στη βιβλιογραφία, η αναφορά μιάς περίπτωσης επιτυχούς θεραπείας προχωρημένου ηπατοκυτταρικού καρκινώματος με λανρεοτίδη (133), ενώ από την ίδια ομάδα, η λανρεοτίδη βρέθηκε ότι ανέστελλε τον πολλαπλασιασμό των

κυττάρων Hep G2 in vitro, ενώ in vivo σε μελέτη 21 ασθενών με ανεγχείρητο ηπατοκυτταρικό καρκίνο, στο 38% των ασθενών οι όγκοι ήταν σταθεροί και η ποιότητα ζωής των ασθενών βελτιωμένη (134). Σε άλλη αναδρομική αυτή τη φορά μελέτη,η χορήγηση οκτρεοτίδης σε ανεγχείρητο ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ποικίλλη η αιτιολογία της υποκείμενης ηπατοπάθειας), είχε ως αποτέλεσμα στους 3 μήνες μερική ύφεση σε 2 , σταθεροποίηση σε 22 και πρόοδο σε 26 όγκους. Στους έξι μήνες, 11 όγκοι παρέμεναν αμετάβλητοι, ενώ 15 είχαν προχωρήσει. Η διάμεση (median) επιβίωση των ασθενών ήταν 9 μήνες (Okuda I: 16 μήνες, Okuda II : 9 και III: 4 μήνες) (135).

Σημαντικές επιπλέον παρατηρήσεις από τις δύο κλινικές μελέτες που διεξήχθησαν στο κέντρο μας (113;136), αφορούν στο ό,τι το ευνοικό αποτέλεσμα στην επιβίωση, φαίνεται μόνο μετά τους πρώτους 6 μήνες θεραπείας-πράγμα που υποδηλώνει ότι μελέτες στις οποίες οι ασθενείς ζούν λιγότερο από 6 μήνες θεραπείας, δεν είναι πιθανό να δείξουν παράταση επιβίωσης-και επίσης περίπου το 40% των ασθενών βιώνει οφέλη από τη θεραπεία με τα ανάλογα της σωματοστατίνης. Αυτό είναι αξιοπρόσεκτα όμοιο ποσοστό, με το ποσοστό των ηπατωμάτων που διαπιστώνουν οι Reubi και συν, να φέρουν υποδοχείς σωματοστατίνης, πράγμα που δείχνει και από τις μελέτες αυτές τον σημαίνοντα ρόλο του προσδιορισμού των υποδοχέων γιά την ανταπόκριση των ηπατωμάτων στη σωματοστατίνη (137).

Επιπλέον, ευνοικά αποτελέσματα διαπίστωσε άλλη μία ομάδα από τον Ελληνικό χώρο στη χορήγηση Octreotide LAR σε προχωρημένο ηπατοκυτταρικό καρκίνο. Η ομάδα χορήγησε την οκτρεοτίδη μόνο στους ασθενείς αυτούς που είχαν θετικό σπινθηρογράφημα (Octreoscan), και διαπίστωσε παράταση επιβίωσης και βελτίωση στην ποιότητα ζωής (138).

Αντίθετα αποτελέσματα υποστηρίζει μελέτη οκτρεοτίδης έναντι placebo σε ασθενείς με προχωρημένο ηπατοκυτταρικό καρκίνο που δημοσιεύτηκε πρόσφατα (139). Καταυτήν όλοι οι ασθενείς έλαβαν δύο εβδομάδες θεραπεία με υποδόρια οκτρεοτίδη και ακολούθως τυχαιοποιήθηκαν σε Octreotide Lar ή placebo.Οι ερευνητές δεν διαπίστωσαν διαφορά στην επιβίωση, ούτε ύφεση του μεγέθους των όγκων, μείωση στα επίπεδα της α-εμβρυικής σφαιρίνης ή βελτίωση στην ποιότητα ζωής. Πρόκειται όμως γιά μιά μελέτη με προβληματικό σχεδιασμό (21 από τους 35 ασθενείς της «ομάδας ελέγχου» έλαβαν μία ή καμία δόση του φαρμάκου), ενώ και η επιλογή των ασθενών τελικού σταδίου-που φαίνεται και από την επιβίωση των 7 εβδομάδων σε ομάδα ελέγχου και ομάδα θεραπείας-είχαν ως αποτέλεσμα να μην δοθεί η ευκαιρία να φανεί η δυνατότητα δράσης της οκτρεοτίδης (140).

Πρόσφατη αναφορά στη βιβλιογραφία, αφορά σε περίπτωση ασθενούς με ανεγχείρητο (πολυεστιακό) ηπατοκυτταρικό καρκίνο, και α-εβρυική σφαιρίνη 7615 ng/ml. Μετά από χορήγηση οκτρεοτίδης (αρχικά υποδόρια ημερήσια χορήγηση και αργότερα μακράς δράσης), παρατηρήθηκε πλήρης υποστροφή του όγκου, και πτώση της α-FP σε 33 ng/ml, αρνητικό Octreoscan 12 και 19 μήνες μετά την έναρξη θεραπείας, ενώ ο ασθενής παραμένει σε άριστη γενική κατάσταση 22 μήνες από την έναρξη θεραπείας (141). Οι δύο πιό πρόσφατες κλινικές μελέτες έρχονται από διαφορετικές ηπείρους και διαπιστώνουν θετική επίδραση της οκτρεοτίδης μακράς δράσης. Μικρή μελέτη από την Ασία δημοσιεύει αποτελέσματα χορήγησης Octreotide LAR σε 22 ασθενείς με ανεγχείρητο ΗΚΚ. Η σύγκριση με ομάδα ελέγχου 20 ασθενών έδειξε ότι η οκτρεοτίδη προκάλεσε μείωση του μεγέθους του όγκου σε 45% των ασθενών, μείωσε την αFP σε 50% αυτών ενώ βελτίωσε την ποιότητα ζωής σε σημαντικό αριθμό ασθενών (142).

Σε προοπτική μελέτη από τη Γερμανία 41 ασθενών με προχωρημένο ΗΚΚ και κίρρωση χορηγήθηκε Octreotide LAR και συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα με παρόμοια ομάδα 33 ασθενών που είχαν υποβληθεί σε χημειοεμβολισμό του ΗΚΚ διά της ηπατικής αρτηρίας. Η μελέτη έδειξε ότι η θεραπεία με οκτρεοτίδη ήταν ασφαλής και ωφέλιμη στους ασθενείς. Η επιβίωση ήταν όμοια με την ομάδα του χημειοεμβολισμού και οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν ελάχιστες και ήπιες (143).

Σε ό,τι αφορά σε κλινικές μελέτες στο χολαγγειοκαρκίνωμα, τα έως τώρα αποτελέσματα στον καρκίνο των χοληφόρων δεν ήταν πολλά, ούτε ενθαρρυντικά όπως στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο (91;145). Από το τμήμα μας διεξάγεται προοπτική μελέτη της οποίας τα αποτελέσματα δεν έχουν ακόμη δημοσιευθεί.

ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ (ΗΚΚ)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Πρόκειται γιά το συχνότερο πρωτοπαθή όγκο του ήπατος, τον πέμπτο συχνότερο καρκίνο στον κόσμο, και τρίτη κατά σειρά αιτία θανάτου από καρκίνο (146). Η επίπτωση του αυξάνει παγκοσμίως, ενώ στις λεγόμενες αναπτυσσόμενες χώρες είναι δύο με τρεις φορές υψηλότερη (147) απ' ό,τι στις αναπτυγμένες (όπου και εκεί καταγράφεται αυξητική τάση) (148). Σε περιοχές όπως Ευρώπη και ΗΠΑ (κ, η επίπτωση είναι λιγότερες από πέντε περιπτώσεις ανά 100,000 πληθυσμού (κύριοι παράγοντες κινδύνου ο ιός της ηπατίτιδος C και το αλκοόλ), ενώ σε υψηλής ενδημικότητας περιοχές όπως η ΝΑ Ασία και η υποσαχάρια Αφρική (κύριοι παράγοντες κινδύνου η λοίμωξη με τον ιό της ηπατίτιδος Β και η διατροφική έκθεση στην αφλατοξίνη Β), ξεπερνά τις 20 ανά 100,000. Στις περιοχές υψηλού κινδύνου ο ΗΚΚ ανπτύσσεται ήδη πριν την ηλικία των 20 ετών, ενώ στις χώρες χαμηλού κινδύνου είναι ασυνήθιστος πριν τα 50 έτη (149).

Η αύξηση κυρίως συνδέεται με την λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας C (στην Ιαπωνία το 80% των περιπτώσεων ΗΚΚ συνδέονται με τη χρόνια HCV λοίμωξη) (150), και παρότι στο μέλλον ο μαζικός εμβολιασμός εναντίον της ηπατίτιδας Β αναμένεται να συνεισφέρει σε μείωση από τη "δεξαμενή " αυτή, ο ηπατοκυτταρικός καρκίνος θα εξακολουθήσει να αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας (151). Ο ιός HCV συνδέεται με τη μεγαλύτερη επίπτωση σε άτομα με κίρρωση, ακολουθούμενος από την αιμοχρωμάτωση (152).

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΗΚΚ (147;150;153;154)

Φύλο: Οι άνδρες έχουν διπλάσια έως τετραπλάσια επίπτωση από τις γυναίκες. Παρότι δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη η αιτία, οι άνδρες πάσχουν συχνότερα από λοίμωξη με HBV ή/και HCV, καταναλώνουν συχνότερα/περισσότερο αλκοόλ, καπνίζουν περισσότερο, έχουν αυξημένες αποθήκες σιδήρου, ενώ οι ανδρικές ορμόνες και γενετικοί παράγοντες πιθανώς διαδραματίζουν κάποιο ρόλο.

Ηλικία: η επίπτωση αυξάνει με την ηλικία, πιθανά σχετιζόμενη με τη διάρκεια της υποκείμενης ηπατοπάθειας. Οι ηλικιακές διακυμάνσεις που παρατηρούνται σε διαφορετικές περιοχές κυρίως σχετίζονται με τον επικρατώντα ιό ηπατίτιδος που υπάρχει στον συγκεκριμένο πληθυσμό, την ηλικία κατά τη λοίμωξη, και τη συνύπαρξη άλλων παραγόντων.

Γενετική προδιάθεση: Σχετικές μελέτες επικεντρώνονται σε ενζυμικά μονοπάτια κάθαρσης των αφλατοξινών (τρανσφεράσες της γλουταθειόνης, υδρολάσες εποξειδίου), σε πολυμορφισμούς των ενζυμικών οδών γιά το μεταβολισμό της αλκοόλης καθώς και ενζύμων σχετικών με τις ορμόνες. Επίσης υπάρχουν στη βιβλιογραφία αναφορές γιά ύπαρξη μονοωγενών διδύμων με εμφάνιση ΗΚΚ.

Κίρρωση : Είναι ο ισχυρότερος παράγοντας κινδύνου ανεξαρτήτως αιτιολογίας. Μεταξύ των κιρρωτικών, οι ασθενείς με ιογενή και αλκοολική αιτιολογία έχουν το μεγαλύτερο κίνδυνο. Μη κιρρωτικά ΗΚΚ εντοπίζονται σε νέους-παιδιά (ινοπεταλιώδης τύπος-ίδια επίπτωση στα δύο φύλα, μέση ηλικία στη διάγνωση τα 30

χρόνια), ηλικιωμένους (de novo), σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό Β, και σπανιότερα επί λοίμωξης από τον HCV και επί αιμοχρωμάτωσης.

Σχέση με τον HBV: Σε Καυκάσιας φυλής φορείς της ηπατίτιδας Β, το ΗΚΚ ευρίσκεται συνήθως επί κίρρωσης, αλλά στην Αφρική και τη ΝΑ Ασία (όπου η λοίμωξη αποκτάται νωρίς στη ζωή, και μπορεί να συνδυαστεί με άλλους καρκινογόνους παράγοντες πχ αφλατοξίνες), το ΗΚΚ αναπτύσσεται και επί μη κιρρωτικού ήπατος. Σε περιοχές υψηλής ενδημικότητας HBV-ΗΚΚ, σχεδόν ένα 70% της λοίμωξης αποκτάται κατά την περιγεννητική ή πρώτη παιδική ηλικία.

Ο κίνδυνος –εφ'όρου ζωής- γιά ανάπτυξη ΗΚΚ στους άνδρες με Β λοίμωξη εκτιμάται μεταξύ 10-25%, ενώ γιά τις γυναίκες είναι λίγο μικρότερος. Η ετήσια επίπτωση ΗΚΚ σε ασθενείς με Β κίρρωση ξεπερνά το 2%, ενώ σε χρόνιους φορείς χωρίς κίρρωση, η επίπτωση είναι μεταξύ το 0,4-0,6 %.

Σχέση με τον HCV : Στους ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό HCV η ετήσια επίπτωση ΗΚΚ κυμαίνεται στο 2-8 % και σχεδόν πάντοτε κίρρωση προηγείται της διάγνωσης του νεοπλάσματος. Αντιθέτως η επίπτωση μεταξύ ασθενών με ελάχιστη ή μηδαμινή ίνωση εκτιμάται μόλις στο 0.5%. Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν την εξέλιξη της χρόνιας HCV λοίμωξης: το ανδρικό φύλο, η συνλοίμωξη με άλλους ηπατοτρόπους ιούς, η μεγάλη ηλικία κατά τη λοίμωξη (σε αντίθεση με τον HBV), η κατάχρηση αλκοόλ.

Αλκοόλ: Χρόνια χρήση αλκοόλ περισσότερο των 80 γραμμαρίων ημερησίως γιά περισσότερο από 10 χρόνια αυξάνει τον κίνδυνο γιά ΗΚΚ στο πενταπλάσιο, ενώ μικρότερες ποσότητες συνδέονται με μη σημαντική αύξηση. Ο κίνδυνος γιά ανάπτυξη

ΗΚΚ επί μη αντιρροπούμενης αλκοολικής κίρρωσης είναι 1% ετησίως, ενώ ο κίνδυνος δεν μειώνεται με την αποχή (155).

Στη βόρεια Ευρώπη και Αμερική, διαπιστώνεται τετραπλάσιος κίνδυνος ΗΚΚ σε αλκοολικούς, ιδιαίτερα σε μεγαλύτερους σε ηλικία ασθενείς. Ο μηχανισμός δεν είναι απόλυτα κατανοητός, ενώ είναι λίγες οι πληροφορίες από μελέτες σε ζώα και ανθρώπους αναφορικά προς την καρκινογόνο δράση της αιθανόλης. Κάποιοι από τους μηχανισμούς θα μπορούσαν να σχετίζονται με παραγωγή ακεταλδεύδης και ελευθέρων ριζών κατά το μεταβολισμό της αιθανόλης και οξειδωτικό στρες, επαγωγή του κυττοχρώματος ρ450 2 Ε1, τροποποίηση της κυτταρικής ανανέωσης, χρωμοσωμικές απώλειες, τροποποιημένη μεθυλίωση του DNA, επίταση ή επαγωγή διαιτιτικών ελλειμάτων καθώς και μεταβολών του ανοσολογικού συστήματος. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων συνυπάρχει κίρρωση, όμως είναι δυνατό να συμβεί και επί μη κιρρωτικού ήπατος. Εάν το αλκοόλ σχετίζεται με ΗΚΚ ανεξαρτήτως κίρρωσης είναι λιγότερο σαφές.

<u>Μυκοτοξίνες</u> : Η αφλατοξίνη Β1 (η ισχυρότερη μεταξύ των αφλατοξινών) είναι μιά μυκοτοξίνη που παράγεται από στελέχη του Aspergillus (οι μύκητες αναπτύσσονται σε τροφές όπως καλαμπόκι, φυστίκια που αποθηκεύονται σε θερμές και υγρές συνθήκες). Προϊόντα του μεταβολισμού της αφλατοξίνης έχει δειχτεί ότι προσβάλλουν το DNA. Το 1987 καταχωρήθηκε ως ανθρώπινο καρκινογόνο. Θεωρείται ότι σε ασθενείς πάσχοντες από χρόνια Β λοίμωξη, αυξάνει δραματικά τον κίνδυνο ΗΚΚ. Στις περισσότερες περιοχές όπου η έκθεση στην αφλατοξίνη είναι εκτεταμένη, η χρόνια Β λοίμωξη έχει επίσης υψηλή ενδημικότητα.

Παχυσαρκία-Σακχαρώδης Διαβήτης-Μεταβολικό σύνδρομο: Μεγάλος όγκος μελετών τα τελευταία χρόνια έχει καταδείξει τη συσχέτιση των παραγόντων αυτών με ανάπτυξη νεκροφλεγμονώδους και ινωτικής εξεργασίας στο ήπαρ και κατεπέκταση κίρρωσης. Με τον τρόπο αυτό η συγκεκριμένη ομάδα του παγκόσμιου, πληθυσμού που σε προηγμένες χώρες τείνει να πάρει διατάσεις επιδημίας, ευρίσκεται σε αυξημένο κίνδυνο και γιά ανάπτυξη πρωτοπαθούς καρκίνου του ήπατος.

Διάφορες ηπατοπάθειες: Η αιμοχρωμάτωση έχει αυξημένο κίνδυνο (5% ετησίως) με την ανάπτυξη κίρρωσης και ο σχετικό κίνδυνος υπολογίζεται σε 20, και αυξάνεται επί συνυπάρξεως άλλων παραγόντων (ο κίνδυνος είναι αυξημένος και σε ασθενείς με σύνδρομο Αφρικανικής υπερφόρτωσης σιδήρου και πιθανά σε ομόζυγη β-θαλασσαιμία – υπερβολικά αυξημένες αποθήκες σιδήρου στο ήπαρ ενεργοποιούν καρκινογένεση με άμεσους και έμμεσους μηχανισμούς) (156). Οι άνδρες με πρωτογενή χολική κίρρωση, έχουν επίσης αυξημένο κίνδυνο, ενώ η αυτοάνοση κίρρωση και η νόσος Wilson έχουν μάλλον μικρότερη συχνότητα στην εμφάνιση ΗΚΚ. Είναι αυξημένη η επίπτωση σε ασθενείς με ένδεια α1-αντιθρυψίνης, τύπου 1 γλυκογονίαση, porphyria cutanea tarda.

Διάφορα: Ενώ η σχέση των αντισυλληπτικών με τη δημιουργία αδενωμάτων ήπατος είναι καλά τεκμηριωμένη, σχετικά με τον ΗΚΚ τα δεδομένα από τη βιβλιογραφία δεν είναι τόσο σαφή. Με τα υπάρχοντα δεδομένα τα αντισυλληπτικά δεν θεωρούνται ότι συνδέονται με αυξημένη επίπτωση. Ομοίως και γιά τα αναβολικά στεροειδή υπάρχουν περιγραφές περιστατικών με ΗΚΚ, αλλά λείπουν καλά σχεδιασμένες επιδημιολογικές μελέτες. Αναφορικά προς τα ενδογενή ανδρογόνα και την ηπατοκαρκινογένεση, υπάρχουν διάφορα πειραματικά δεδομένα αλλά εάν αποτελούν

σαφή παράγοντα κινδύνου δεν έχει ακόμα διευκρινησθεί. Επίσης συζητείται ο ρόλος των οιστρογόνων, μιά και έχουν ενοχοποιηθεί η νεαρή ηλικία έναρξης εμμηνορρυσίας, η μεγάλη ηλικία γιά την εμμηνόπαυση και η πολλαπλότητα των τοκετών. Η ισχυρή ανοσοκατασταλτική αγωγή σε ασθενείς λ.χ. με μεταμόσχευση νεφρού, μπορεί να επιπλακεί από ΗΚΚ . Επίσης συσχετίσεις υπάρχουν με ουσίες όπως το θοροτράστ, το βινυλοχλωρίδιο, το αρσενικό αλλά και με καταστάσεις όπως η σχιστοσωμίαση. Παρά τις πολλές μελέτες γιά τη σχέση καπνίσματος και ΗΚΚ τα δεδομένα δεν είναι σαφή, και επί του παρόντος μπορεί να προταθεί ασθενής συσχέτιση.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΗΠΑΤΟΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ

Είναι γνωστό ότι η καρκινογένεση είναι μιά πολυεπίπεδη διαδικασία, όπου συμβαίνουν διάφορες γενετικές αλλαγές, όπως ενεργοποίηση ή υπερέκφραση είτε και τα δύο σε προιόντα ογκογονιδίων, και απενεργοποίηση ή απώλεια προιόντων ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Τα ηπατοκύτταρα βεβαίως, έχουν πολλές μεταβολικές λειτουργίες που σχετίζονται με έκφραση πολλών γονιδίων, και συνεπώς αναμένεται να έχουν πολύ συνθετότερες γενετικές αλλαγές στη διαδικασία της καρκινογένεσης συγκριτικά με το παραδεκτό μοντέλο (από τον αδενωματώδη πολύποδα στον καρκίνο) που έχει περιγραφεί στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου (150). Υπάρχουν πολλαπλές διαδικασίες που ρυμθίζουν την κυτταρική αύξηση και επιβίωση, και σχετίζονται με την ανάπτυξη ΗΚΚ. Και παρότι η γνώση είναι ατελής, διαπιστώνονται τα εξής κύρια μονοπάτια να ενέχονται στη γένεση του ΗΚΚ:

α) το μονοπάτι του p53, που σχετίζεται με την αντίδραση στη βλάβη του DNA - 80% των ανθρώπινων ΗΚΚ δείχνει κάποιο έλλειμα στο μονοπάτι του p53

β) το μονοπάτι RB1(retinoblastoma gene), που ενέχεται στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου

γ) το μονοπάτι του TGF-β (transforming growth factor), που σχετίζεται με την αναστολή της αύξησης και την απόπτωση

δ) το μονοπάτι β-καθινίνης/APC(adenomatosis coli gene), που σχετίζεται με τη μεταφορά μοριακών μηνυμάτων.

ε) η βράχυνση του τελομέρους περιορίζει την αναγεννητική ικανότητα των ηπατοκυττάρων στη χρόνια ηπατοπάθεια, εξαντλεί αυτή την ικανότητα και εν τέλει οδηγεί σε κίρρωση. Φαίνεται ότι επάγει χρωμοσωμική αστάθεια πράγμα που ευνοεί τη δημιουργία καρκίνου ενώ παίζει ρόλο και στην εξέλιξη αυτού.

Αυτά τα μονοπάτια δεν πρέπει να θεωρούνται ανεξάρτητα μεταξύ τους, αλλά αλληλοσχετιζόμενα (157;158). Συνολικά, η παθογένεση του ΗΚΚ συνοδεύεται από προοδευτική απώλεια της διαφοροποίησης, απώλεια της ομαλής κυτταρικής προσκόλλησης, απώλεια εξωκυττάρια ουσίας, και ενεργοποίηση επικοινωνιακών σημάτων που προάγουν την κυτταρική αύξηση και επιβίωση, ενώ σημαντικό ρόλο έχει η διαταραγμενη γονιδιακή έκφραση που μπορεί να σχετίζεται με το νεοπλασματικό φαινότυπο (159).

Η μετάβαση από τη λοίμωξη με τον ηπατοτρόπο ιό C, B, (D) προς ΗΚΚ γίνεται μέσω χρόνιας ηπατίτιδας και κίρρωσης. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς με ΗΚΚ σχετιζόμενο με ιούς, έχουν υποκείμενη κίρρωση. Η ηπατοκυτταρική νέκρωση και οι μιτώσεις της χρόνιας ηπατίτιδας, ευνοούν τη αναγέννηση όζων, που υπό τις κατάλληλες προυποθέσεις, ακολουθείται από την ηπατοκυτταρική δυσπλασία και καρκίνωμα. Η μικροσκοπική εστία από μικρά δυσπλαστικά κύτταρα είναι η

μικρότερη δυνατή μορφολογικά ανγνωρίσιμη βλάβη ΗΚΚ. Οι δυσπλαστικοί όζοι είναι μακροσκοπικά ανγνωρίσιμες πρόδρομες μορφές ΗΚΚ και αυτοί με υψηλό βαθμό δυσπλασίας (high grade dysplastic nodules) έχουν κίνδυνο κακοήθους εξαλλαγής (160).

Σε παγκόσμια κλίμακα, η φορεία του HBV συσχετίζεται με τη συχνότητα του ΗΚΚ. Οι χρόνιοι φορείς του ιού Β είναι σε αυξημένο κίνδυνο, συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό. Σημαντικός παράγοντας είναι η χρόνια φλεγμονή και η επίδραση των κυτταροκινών στην ανάπτυξη ίνωσης και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (161). Μελέτες έχουν ταυτοποιήσει την ύπαρξη του HBV DNA εντός του ιστού του ΗΚΚ. Στην πορεία της λοίμωξης HBV, ο ιός ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό του ξενιστή, αλλά ο τρόπος με τον οποίο αυτό οδηγεί σε καρκίνο είναι άγνωστος. Η ενσωμάτωση ακολουθείται από χρωμοσωμικές αποκοπές που επηρεάζουν την κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση. Η πρωτείνη Χ της ηπατίτιδος Β έχει transactivating δράση. Επηρεάζει άλλα γονίδια και συνδέεται στο p53, σημαντικό ογκογονίδιο που συνδέεται με τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο. Έτσι ο ιός HBV μπορεί να επάγει νεοπλασματική εξαλλαγή μέσω ενσωμάτωσης στο γενετικό υλικό και μεταλλαγών σε ογκοκατασταλτικά γονίδια και επίδρασης επί του TGF-α. Λανθάνουσα λοίμωξη με τον ιό της ηπατίτιδος Β έχει επίσης ενοχοποιηθεί γιά ποσοστό ΗΚΚ σε ασθενείς χωρίς θετικούς ιολογικούς δείκτες (161).

Σε αντίθεση με τον HBV, ο HCV είναι ένας RNA ιός που στερείται το ένζυμο της αντίστροφης μεταγραφάσης και δεν ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του ξενιστή. Ο τρόπος επαγωγής της καρκινογένεσης είναι πιθανά μέσω της κίρρωσης, 2-4 δεκαετίες μετά την λοίμωξη (162). Από την άλλη πλευρά, γονιδίωμα του HCV είναι δυνατό να ανιχνευτεί στον όγκο και στον πέριξ ιστό. Ο ιός αλληλεπιδρά με γονίδια που ρυθμίζουν την κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση. Η λειτουργία του p53

καταστέλλεται, κι έτσι εξασθενούν οι ογκοκατασταλτικές δράσεις του.Έχει ακόμη προταθεί ότι οι πυρηνικές πρωτείνες του ιού, είναι πιθανά καρκινογόνες. Είναι ενδιαφέρον ότι μικρές προοπτικές αλλά και αναδρομικές μελέτες με ασθενείς που παρουσίασαν εμμένουσα ιολογική ανταπόκριση σε θεραπεία με ιντερφερόνη-α, παρουσιάζουν μείωση της επίπτωσης ΗΚΚ (162).

Γιά τον παράγοντα αλκοόλ έχει εκφραστεί η άποψη εάν είναι πραγματικά καρκινογόνο. Η κίρρωση και ο ΗΚΚ μπορεί να ακολουθήσουν μετά από πολλά επεισόδια ηπατοκυτταρικής βλάβης και αναγέννησης. Από την άλλη πλευρά, η επαγωγή ενζύμων από το αλκοόλ αυξάνει την μετατροπή προκαρκινογόνων σε καρκινογόνα, ενώ ενέχεται και καταστολή των ανοσολογικών απαντήσεων του οργανισμού (163).

ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ

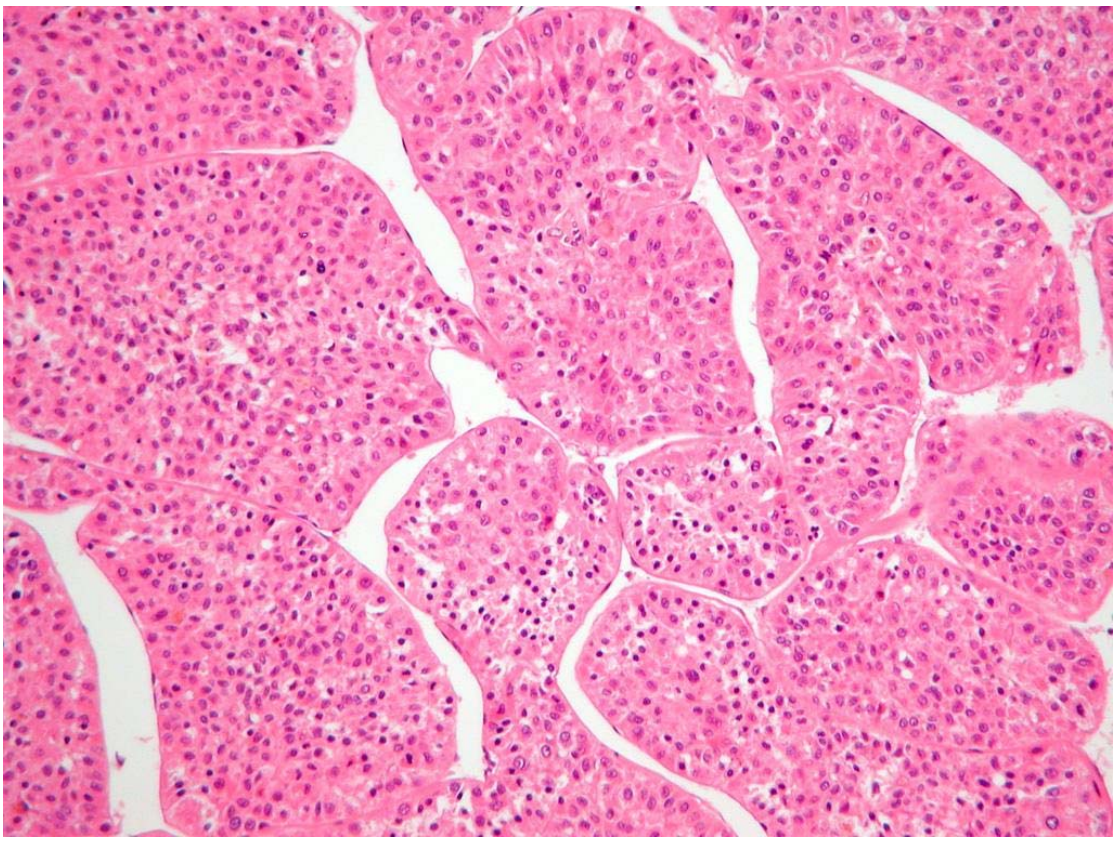
Ο όγκος είναι συνήθως λευκός, μερικές φορές νεκρωτικός, αιμορραγικός ή χολοβαφής. Μεγάλες φλέβες του ήπατος ή κλάδοι της πυλαίας εντός αυτού, συχνά είναι θρομβωμένες και ενίοτε περιέχουν νεοπλασματικά κύτταρα. Μακροσκοπικά διακρίνεται σε οζώδη, διάχυτο και σε εκτεταμένο, ενώ ως προς τον τρόπο ανάπτυξης σε επεκτεινόμενο με διακριτά όρια, διηθητικό και πολυεστιακό. Η σωστή προσέγγιση στον ΗΚΚ απαιτεί ακριβή διάγνωση, πράγμα που δεν είναι πάντοτε εφικτό όπως γιά παράδειγμα επί μικρών ΗΚΚ τα οποία είναι καλά διαφοροποιημένα (164).

Εικόνα δύο εστιών ΗΚΚ διαμέτρου 2 και 1 εκ. στον αριστερό ηπατικό λοβό, σε εγκάρσια τομή από ήπαρ αφαιρεθέν κατά τη μεταμόσχευση ασθενούς με κίρρωση HBV *(ευγενική προσφορά Prof AP Dhillon, παθολογοανατομικό εργαστήριο Royal Free Hospital, NHS trust, London UK)*

Στο μικροσκοπικό επίπεδο, τα κύτταρα ομοιάζουν στο φυσιολογικό ήπαρ (με διαφορετική κατά περίπτωση επιτυχία) με δακτυλιοειδείς προσεκβολές ή δοκίδες (trabeculae).Τα κύτταρα συχνά παράγουν χολή και περιέχουν γλυκογόνο, ενώ δεν υπάρχει στρώμα ανάμεσα στα κύτταρα, και τα νεοπλασματικά κύτταρα επενδύουν τος αιμοφόρους σχηματισμούς. Τα κύτταρα του ΗΚΚ είναι συνήθως μικρότερα, πολυγωνικά με κοκκιώδες κυτταρόπλασμα, ενώ το κυτταρόπλασμα είναι ηωσινόφιλο και γίνεται περισσότερο βασεόφιλο αυξανομένης της κακοήθειας.Οι πυρήνες είναι υπερχρωματικοί και ποικίλου μεγέθους. Αρκετές φορές το κέντρο των όγκων είναι νεκρωτικό, ενώ η περιπυλαία λεμφική διήθηση είναι πρώιμο χαρακτηριστικό. Στο μικροσκοπικό επίπεδο μπορεί να διακριθούν σε καλά, μέτρια και φτωχά

διαφοροποιημένους όγκους. Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι δεν είναι σπάνια η παρουσία κυττάρων με καθαρό (μη προσλαμβάνον χρωστικές) κυτταρόπλασμα, ενώ αναφέρονται και περιπτώσεις παρουσίας γιγαντοκυττάρων (163).

Παραλλαγή του κλασσικού ΗΚΚ αποτελεί ο ινοπεταλιώδης τύπος (fibrolamellar carcinoma), ο οποίος συνήθως αναπτύσσεται σε μη κιρρωτικό ήπαρ, σε μεγαλύτερα παιδιά και νεαρούς ενήλικες. Μακροσκοπικά οι βλάβες είναι μονήρεις ή πολλαπλές, σαφώς αφοριζόμενες ή με λοβώδη παρυφή, με συχνή συμμετοχή του αριστερού ηπατικού λοβού και συχνά μοιάζουν με εστιακή οζώδη υπερπλασία έχοντας κεντρική ινωτική περιοχή.



Μικροσκοπικό παρασκεύασμα ΗΚΚ: συμπαγείς αθροίσεις νεοπλασματικών κυττάρων με ηωσινόφιλο πρωτόπλασμα και μέτριο πολυμορφισμό *(ευγενική προσφορά Prof AP Dhillon, παθολογοανατομικό εργαστήριο Royal Free Hospital, NHS trust, London UK).*

Μικροσκοπικά, παρατηρείται διάχυτο στρώμα από ινοπεταλιώδεις μπάντες κολλαγόνου, ηωσινοφιλικά (λόγω αφθόνων μιτοχονδρίων) νεοπλασματικά κύτταρα, με PAS διαστάση αρνητικά κοκκία. Ακόμα παρατηρείται παραγωγή χολής, χαλκού και πρωτείνης σχετιζόμενης με το χαλκό από τα κύτταρα του όγκου, ενώ είναι θετική η χρώση των χοληφόρων τριχοειδών με καρκινοεμβρυικό αντιγόνο. Μερικά ινοπεταλιώδη καρκινώματα παρουσιάζουν νευροενδοκρινή χαρακτηριστικά, ενώ σε άλλες περιπτώσεις ο όγκος παρουσιάζει μικτά χαρακτηριστικά ινοπεταλιώδους και ηπατοκυτταρικού (165). ΄Αλλοι ασυνήθιστοι τύποι ΗΚΚ είναι το ενκαψωμένο ΗΚΚ, το μεγάλο ΗΚΚ που υποστρέφει, το ΗΚΚ με λεμφοειδές στώμα, το ΗΚΚ με γιγαντοκύτταρα.

ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΟΥ ΗΚΚ-ΠΡΟΓΝΩΣΗ (166)

Το μεγαλύτερο μέρος από την ανάπτυξη του όγκου συμβαίνει κατά την ασυμπτωματική φάση, που μπορεί να έχει διάρκεια έως και έτη. Ο εκτιμώμενος χρόνος διπλασιασμού του ΗΚΚ ποικίλλει μεταξύ ενός και 19 μηνών (167), με διάμεσο χρόνο 6 μήνες. Υπήρξε η υπόθεση ότι τα σχετιζόμενα με ορισμένες αιτιολογίες ΗΚΚ έχουν πιό επιθετική συμπεριφορά, αλλά δεν έχει τεκμηριωθεί αυτό. Από την άλλη μεριά, ο χρόνος από την αρχική λοίμωξη λ.χ. από τον HBV ή τον HCV έως την ανάπτυξη του ΗΚΚ μπρεί να είναι από δύο έως οκτώ δεκαετίες. Κατά το μακρό αυτό χρονικό διάστημα πολλές αλλαγές μπορεί να γίνουν στο ήπαρ όπως χρόνια φλεγμονή, ίνωση, κίρρωση, αυξημένος θάνατος ηπατοκυττάρων, και αναγένησης (154). Τα στοιχεία γιά την επιβίωση ασθενών που δεν έλαβαν καμιά θεραπεία, δείχνουν ότι οι σημαντικότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την τελική επιβίωση, είναι η σοβαρότητα της υποκείμενης ηπατικής δυσλειτουργίας και το

μέγεθος του όγκου κατά την αρχική διάγνωση. Το 50-90 % των ασθενών με Child-Pugh A, θα επιβιώσει ένα χρόνο χωρίς θεραπεία, συγκρινόμενοι με 20 % γιά τους ασθενείς με Child-Pugh C. Μικρά ΗΚΚ κατά τη διάγνωση, έχουν σχετικά μεγάλους χρόνους διπλασιασμού, και επιβίωση γιά όγκους κάτω των 5 εκατοστών σε διάμετρο, βρέθηκε 80-100 % γιά ένα χρόνο, και 17-21 % στα τρία χρόνια χωρίς θεραπεία. Αυτό σημαίνει ότι εάν γίνει πρωιμότερη διάγνωση, η ευκαιρίες γιά θεραπευτική παρέμβαση είναι μεγαλύτερες.

Παλαιότερα η πρόγνωση του ΗΚΚ θεωρούνταν χείριστη, και κλασικές σειρές αναφέρουν επιβίωση λιγότερη από 1 χρόνο σχεδόν σε όλους τους ασθενείς (168). Όμως, τουλάχιστον γιά τις χώρες του λεγόμενου δυτικού κόσμου, η πραγματικότητα είναι διαφορετική με ασθενείς που αντιμετωπίζονται χειρουργικά να φτάνουν πενταετή επιβίωση 70%. Η διαφορά, αντικατοπτρίζει την βελτίωση στα διαγνωστικά μέσα και την πρωιμότερη διάγνωση. Επακόλουθο είναι η πρόγνωση να σχετίζεται με το στάδιο στο οποίο διαγιγνώσκεται το ΗΚΚ.

-**Πρώιμο ΗΚΚ**: αρχικά πρόκειται γιά καλά διαφοροποιημένο νεόπλασμα με σχεδόν οζώδη εμφάνιση.Όταν ο όγκος φτάσει 1-1,5 εκ. σε διάμετρο,λιγότερο διαφοροποιημένος νεοπλασματικός ιστός μεγαλύτερης δυναμικής αύξησης, αναπτύσσεται εντός του αρχικού. Νεοπλασματική διήθηση-είτε ως μεταστάσεις είτε ως διήθηση της πυλαίας φλέβας-μπορεί να εμφανιστεί από διάμετρο 2 εκ. και πλέον.Ακολούθως, μέτρια διαφοροποιημένος ιστός ΗΚΚ σταδιακά αντικαθιστά το αρχικά περιβάλλον ΗΚΚ, ένα φαινόμενο που ολοκληρώνεται όταν ο όγκος φτάσει διάμετρο 3εκ (169). Το 20-60% των ασθενών που διαγιγνώσκονται σε προγράμματα πρώιμης ανίχνευσης παρουσιάζει μικρούς πολυκεντρικούς όγκους (170). Διεγχειρητικά επί ηπατεκτομών περίπου 15% περισσότεροι όζοι, ανακαλύπτονται με US, ενώ παθολογοανατομικές μελέτες αφαιρεθέντων οργάνων μετά από

μεταμόσχευση, δείχνουν ότι το 50% παρουσιάζει πολυκεντρικούς όγκους (τουλάχιστον οι μισοί από αυτούς μη αναγνωρίσιμοι από προηγμένες απεικονιστικές τεχνικές). Επίσης το 25% από αυτούς εμφανίζουν σύγχρονες προνεοπλασματικές βλάβες όταν μελετούσαν το όργανο με τομές 5 χιλιοστών.Πολυοζώδες ΗΚΚ μπορεί να είναι αποτέλεσμα ενδοηπατική μετάσταση ενός αρχικού όζου, ή να ανταποκρίνεται σε πολυκεντρική εντόπιση.

-**Ενδιάμεσου σταδίου/Προχωρημένο ΗΚΚ**: παλαιότερα αναφέρονταν να έχει πρόγνωση λιγότερο από 1 χρόνο, εφόσον δεν ήταν δυνατές θεραπευτικές παρεμβάσεις.Όμως η βελτίωση αφενός της φροντίδας των κιρρωτικών ασθενών καθώς και των απεικονιστικών τεχνικών, έχουν αλλάξει δραματικά το τοπίο.Ταυτόχρονα σημαντικοί παράγοντες που σχετίζονταν με την εξέλιξη και την πρόγνωση, το διηθητικό προφίλ του όγκου (αγγειακή διήθηση είτε εξωηπατική επέκταση) και τα συμπτώματα που έχουν σχέση με τον καρκίνο, έδωσαν αφορμή γιά διάκριση σε ασθενείς με πραγματικά ενδιάμεσο στάδιο (ασυμπτωματικοί χωρίς διηθητική συμπεριφορά) με ασφαλώς καλύτερη επιβίωση και σ' αυτούς με προχωρημένο στάδιο και χειρότερη πρόγνωση.

-**Τελικού σταδίου**: αφορά σε πολύ προχωρημένους όγκους, σχετίζεται με συμπτώματα που προκαλεί ο όγκος και έχει φτωχή επιβίωση(λιγότερο από τρεις μήνες) Είναι η κατηγορία ασθενών που δεν πρέπει να συμπεριλαμβάνονται σε κλινικές μελέτες διότι κανένα όφελος δεν αναμένεται (171).

Οι τέσσερις βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την πρόγνωση (152) είναι:

-Το στάδιο, η επιθετικότητα, ο ρυθμός ανάπτυξης και η επιθετικότητα του όγκου.

-Η ηλικία, το φύλο, η γενική κατάσταση της υγείας του ασθενούς, και τα συνοδά προβλήματα.

-Η ηπατική λειτουργία του ασθενούς (σοβαρότητα της ηπατικής δυσλειτουργίας κατά τη διάγνωση, ενεργότητα ηπατικής νόσου)

-Οι ειδικές παρεμβάσεις που γίνονται

ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Οι κλινικά εκδηλώσεις του ΗΚΚ ποικίλλουν ανάμεσα στους ασθενείς και θα μπορούσαν να ταξινομηθούν σε: ασυμπτωματικό ΗΚΚ, εκδηλώσεις από ηπατική δυσλειτουργία, επιπλοκές από την ανάπτυξη του όγκου, παρανεοπλασματικά σύνδρομα και εκδηλώσεις από μεταστάσεις (172). Τα κλασικά χαρακτηριστικά είναι άλγος δεξιού υποχονδρίου και απώλεια βάρους. Άλλο συχνό κλινικό σενάριο αφορά σε χειροτέρευση της ηπατικής λειτουργίας σε κιρρωτικό ασθενή, ενώ λιγότερο συχνά οξύ καταστροφικό συμβάν ενδοκοιλιακά, συνήθως επί ρήξης ήπατος και ενδοκοιλιακής αιμορραγίας. Συχνά παρατηρούνται πυρετός, γαστρεντερικά συμπτώματα (ανορεξία, μετεωρισμός, διάρροια) αλλά και δύσπνοια (συνήθως επί προχωρημένης νόσου), ίκτερος, ασκίτης, ήχος τριβής (σπανιότερα), θρόμβωση πυλαίας φλέβας και αιμορραγία πεπτικού (173).

Ο ίδιος ο όγκος μπορεί να προκαλέσει τοπικά συμπτώματα κατά την ανάπτυξη του,όπως διηθώντας την κάψα του ήπατος,αποφράσσοντας την κάτω κοίλη φλέβα, διηθώντας το δωδεκαδάκτυλο κλπ. Πέρα από την κατά συνέχεια επέκταση, ο ηπατοκυτταρικός καρκίνος διασπείρεται λεμφογενώς (λεμφαδενικές διηθήσεις) και συχνότερα αιματογενώς (πνεύμονες συχνότερα, αλλά και οστά, εγκέφαλο και αλλού)

Οι συχνότερες συστηματικές δράσεις:

-επώδυνη γυναικομαστία

-υπερασβεστιαιμία (ψευδουπερπαραθερεοειδισμός, οστικές μεταστάσεις)

-Υπογλυκαιμία (μεταβολικές απαιτήσεις αναπτυσσόμενων όγκων, διαταραχή μεταβολισμού γλυκογόνου)

-Υπερθυρεοιδισμός, υπερλιπιδαιμία, ψευδοπορφυρία (λιγότερο συχνά)

ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ (153;173;174)

Οι ορολογικοί δείκτες είναι σημαντικοί τόσο γιά την πρώιμη διάγνωση, όσο και γιά την εκτίμηση της επιθετικότητας του όγκου, την ανταπόκριση στη θεραπεία, την υποτροπή και την επιβίωση. Στην προσπάθεια σωστής και συχνά πρώιμης διάγνωσης, έχει γίνει προσπάθεια γιά ανάπτυξη ορολογικών δεικτών στο ΗΚΚ.Οι μετρήσεις της α εμβρυικής σφαιρίνης (aFP) (φυσιολογική πρωτείνη που συντίθεται από τα εμβρυικά κύτταρα του ήπατος και του λεκιθικού ασκού), του πιό διαδεδομένου δείκτη από τους υπάρχοντες, έχουν βρεθεί πάνω από 20 ng/ml στο 70% των ασθενών με ΗΚΚ. Τιμές όμως μεταξύ 10-500 ng/ml, σπάνια και 1000, είναι δυνατό να παρατηρηθεί σε ασθενείς με σοβαρή νεκρωτική φλεγμονώδη δραστηριότητα του ήπατος, χωρίς να έχουν ΗΚΚ. Είναι παραδεκτό ότι η θετική προγνωστική αξία του δείκτη αυξάνει σημαντικά όταν η aFP>400 ng/ml. Η ολική aFP έχει ευαισθησία 60% και ειδικότητα 90% γιά την ανίχνευση ΗΚΚ. Στα πλεονεκτήματα είναι η υπάρχουσα εμπειρία, γρήγορη, αλλά μειονεκτεί σε ευαισθσία και σχετικό κόστος. Η aFP-L3 είναι παρόμοιος δείκτης του οποίου η αύξηση πάνω από την ολική aFP (>10%) είναι πολύ ειδική γιά μικρά ΗΚΚ. Η Δες-γ-καρβοξυ προθρομβίνη, έχει χρησιμοποιηθεί εναλλακτικά στην aFP. Έχει διαπιστωθεί να είναι αυξημένη στο 67 % των ΗΚΚ, αλλά μόνο 8 % των όγκων κάτω των 2 εκατοστών έχει παθολογικές τιμές.Έχει ικανοποιητική ειδικότητα, αλλά είναι πολύ ακριβή. Άλλοι δείκτες (α-φουκοσιδάση και ισοένζυμα γ-γλουταμυλτρανσφεράση) έχουν δοκιμαστεί

αλλά δεν είναι καθιερωμένες λύσεις. Διάφορα εργαστήρια έχουν πρόσφατα ανακοινώσει ότι η γλυπικάνη 3 (GPC3), μιά πρωτεογλυκάνη, εκφράζεται από μεγάλο μέρος των ΗΚΚ αλλά όχι μη ανιχνεύσιμη στα φυσιολογικά ηπατοκύτταρα και τις μη νεοπλασματικές ηπατοπάθειες. Παρότι η ειδικότητα του GPC3 ήταν πολύ μεγάλη σε πληθυσμό με χρόνια ηπατική νόσο, η ευαισθησία ήταν πιό περιορισμένη και στο εύρος της α-εμβρυϊκής σφαιρίνης. Προτάθηκε ότι ό συνδυασμός της GPC3 και της aFP θα μπορούσε να ενισχύσει σημαντικά τη διαγνωστική δυνατότητα γιά ΗΚΚ (175). Αυτό χρήζει περαιτέρω επιβεβαίωσης σε καλά σχεδιασμένες μελέτες ασθενών με χρόνιες ηπατοπάθειες.

ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

Η απεικόνιση με την εξέλιξη της, έχει προσφέρει τα μέγιστα στη διάγνωση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, σε σημείο να έχει κεντρική θέση στα διαγνωστικά κριτήρια που προτείνει η πανευρωπαική εταιρεία ήπατος (147).

Στο υπερηχογράφημα η απεικόνιση είναι ποικίλλη, διαφορετικής ηχογένειας από το περιβάλλον ήπαρ. Στα μεγάλα ΗΚΚ η εμφάνιση μπορεί να είναι ετερογενής λόγω αιμορραγίας ή νέκρωσης. Οι μικρότεροι όγκοι είναι τυπικά υπόηχοι, αλλά καθώς μεγαλώνουν μπορεί να παρουσιάσουν υπερηχογενή εμφάνιση. Μπορεί να εντοπιστεί η κάψα, και να μελετηθεί η βατότητα της πυλαίας φλεβας και των ηπατικών φλεβών. Εξέλιξη που αυξάνει τη διαγνωστική ακρίβεια στην υπερηχογραφική μελέτη του ΗΚΚ αποτελεί η χρήση ενδοφλεβίων σκιαγραφικών (Levovist, Sonoview) με μικροφυσαλίδες και τα οποία είναι εύκολα στη χορήγηση, δίδονται ενδοφλέβια και είναι καλά ανεκτά. Τα σκιαγραφικά αυτά μαζί με ειδικές υπερηχογραφικές τεχνικές, επιτρέπουν τη διάγνωση των ηπατικών βλαβών βασιζόμενη στη μορφολογική

εκτίμηση της αγγεοβρίθειας του όγκου και στην άμεση εκτίμηση χαρακτηριστικών ενίσχυσης (176).

Σημαντική εξέλιξη αποτέλεσε η ελικοειδής υπολογιστική τομογραφία [ΥΤ], που επιτρέπει πολύ γρήγορη απεικόνιση του ήπατος μετά από χορήγηση (εφ) σκιαγραφικών, όπως επίσης η υιοθέτηση πρωτοκόλλων που εκμεταλλεύονται την αγγειοβρίθεια του όγκου αλλά και τεχνικών εξελίξεων όπως η multislice spiral CT. Το ΗΚΚ είναι γνωστό ότι λαμβάνει την αγγείωση του κυρίως από την ηπατική αρτηρία, ενώ το λοιπό ήπαρ παίρνει κυρίως από την πυλαία φλέβα (το ηπατικό παρέγχυμα σκιαγραφείαται κατά την πυλαία φλεβική φάση) αλλά και από την ηπατική αρτηρία. Συνεπώς τα ΗΚΚ σκιαγραφούνται πρώιμα κατά την έγχυση του σκιαγραφικού στην αρτηριακή φάση (τα πρώτα 2-40 δευτερόλεπτα μετά την εφ έγχυση σκιαγραφικού). Ο όρος τριπλής φάσης ΥΤ, έχει βασιστεί σε αυτήν την αρχή με ύπαρξη: φάσης χωρίς σκιαγραφικό, αρτηριακής και πυλαίας φλεβικής φάσης.

Η μαγνητική τομογραφία έχει καλύτερη διακριτική ευχέρεια από την ΥΤ σε κάποιες περιπτώσεις. Το ΗΚΚ εμφανίζεται υπόπυκνο σε Τ-1 ακολουθία, υπέρπυκνο σε Τ-2, όμως υπάρχει σημαντική ποικιλομορφία στην εμφάνιση (που αποδίδεται σε παράγοντες όπως αιμορραγία εντός του όγκου, περιοχές λιπώδους εκφύλισης, συσσώρευση χαλκού, γλυκογόνου κλπ) (173). Παρότι η μαγνητική τομογραφία φαίνεται -σε εξειδικευμένα χέρια και με νέα ιστοειδικά σκιαγραφικά- να παίρνει προβάδισμα στο χαρακτηρισμό ΗΚΚ επί κιρρώσεως, εντούτοις υπάρχει ανάγκη τεκμηρίωσης της υπεροχής μέσα από μεγάλες πολυκεντρικές μελέτες (177). Επιπρόσθετα το βασικό πρόβλημα είναι στη διάγνωση μικρών όγκων (<2 εκ) εξαιτίας σημαντικής αλληλεπικάλυψης μεταξύ καλοήθων (αναγεννητικοί), οριακών βλαβών (δυσπλαστικοί) και κακοήθων όζων. Με αυξανόμενο το βαθμό ιστολογικής

κακοήθειας αυξάνεται και η αρτηριακή αγγείωση του όγκου με ταυτόχρονη απώλεια της πυλαίας τροφοδοσίας αίματος (178).

Η αγγειογραφία είναι σημαντική αρκετές φορές μέθοδος στη διρεύνηση του ΗΚΚ. Καθώς ο όγκος αιματώνεται από την ηπατική αρτηρία, η εκλεκτική αγγειογραφία κοιλιακού άξονα και άνω μεσεντέριας αρτηρίας μπορεί να αναδείξει τη βλάβη. Η υπερεκλεκτική αγγειογραφία έχει ιδιαίτερη αξία στην ανάδειξη μικρών όγκων. Λόγω του επεμβατικού της μεθόδου και της βοήθειας από CT και MRI, κυρίως χρησιμοποιείται σε (χημειο)εμβολισμούς και προεγχειρητικά, είτε πρόκειται γιά ηπατεκτομή είτε γιά μεταμόσχευση ήπατος. Το αγγειογραφικό μοτίβο μπορεί να είναι ιδιότυπο με συνάθροιση, παρεκτόπιση ή παραμόρφωση των αγγείων. Μπορεί να υπάρξουν αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις, ενώ η πυλαία φλέβα μπορεί να είναι παραμορφωμένη εφόσον έχει προσβληθεί. Η αγγειογραφία με λιπιοδόλη, βασίζεται στη σχεδόν μόνιμη καθήλωσή της στον όγκο, ενώ καθαίρεται από το μη καρκινικό ιστό, διευκολύνοντας την εντόπιση ακόμη και μικρών βλαβών από την CT λίγες ημέρες αργότερα. Η μέθοδος χρησιμοποιείται κυρίως στην εντόπιση πολλαπλών μικρών όγκων και την υποβοήθηση εφαρμογής θεραπεία με ισότοπα (I-131). Εφαρμογές της πυρηνικής ιατρικής μπορεί να βοηθήσουν σε ορισμένες περιπτώσεις. Τα ισότοπα ^{99m}Tc Sulfur Colloid, Gallium 67, ^{99m}Tc iminodiacetate acid είχαν χρησιμοποιηθεί παλαιότερα. Η τομογραφία εκπομπής ποζοτρονίων (PET) χησιμοποιεί φλουοροδεοξυγλυκόζη, αλλά η χρήση ^{11}C acetate δίνει βελτιωμένη ειδικότητα και ευαισθησία γιά τον ΗΚΚ.Επίσης η χρήση οξυγόνου-15 PET δίνει πληροφορίες γιά τη μέτρηση της ροής στο ήπαρ και στον όγκο. Παρά τις προόδους, δεν υπάρχει επί του παρόντος μέθοδος μοριακής απεικόνισης που με ακρίβεια να ανιχνεύει, να ταυτοποιεί και να παρακολουθεί το ΗΚΚ in vivo (179).

ΒΙΟΨΙΑ ΗΠΑΤΟΣ

Η βιοψία του ήπατος είναι σημαντικό βοήθημα στη θεραπευτική προσέγγιση το ΗΚΚ. Όμως, η γενικευμένη χρήση της είναι αμφιλεγόμενη, ιδιαίτερα σε ασθενείς με όγκους δυνητικά θεραπεύσιμους με χειρουργική εκτομή ή μεταμόσχευση ήπατος. Ένας πιθανός κίνδυνος από τη διαδερμική προσπέλαση είναι η διασπορά κατά μήκος του περάσματος της βελόνας βιοψίας, εκτιμάται περί το 3% και δεν σχετίζεται με το μέγεθος του όγκου (180). Ειδικοί εκτιμούν ότι ότι η βιοψία ήπατος σε όζο πριν τη μεταμόσχευση ήπατος πρέπει να θεωρείται δυνητικά επιβλαβής εξαιτίας του κινδύνου διασποράς και της μειωμένης διαγνωστικής ακρίβειας, ιδιαίτερα όταν ο όγκος είναι μικρότερος των 2 εκατοστών σε διάμετρο (181).

Τυπικά πραγματοποιείται κατευθυνόμενη υπό υπερήχους ή ΥΤ, ενώ επί μεγάλου ή διάσπαρτου νεοπλάσματος μπορεί να γίνει με ψηλάφηση είτε τυφλά, ενώ λίγες φορές μπορεί να απαιτηθεί χειρουργική βιοψία.Οι επιπλοκές της βιοψίας περιλαμβάνουν αιμορραγία (το ΗΚΚ είναι υπεράγγειος όγκος), διασπορά στη διαδρομή της βελόνης, άλγος τοπικά, σπανιότερα επιπλοκές από χολήφόρα, χοληδόχο,υπεζωκότα,νεφρό.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Το συνηθέστερο κλινικό σενάριο είναι ένας ασθενής στον οποίο ανακαλύπτεται μιά μάζα στο υπερηχογράφημα και η αFP είναι ή όχι αυξημένη. Εάν ο ασθενής έχει κίρρωση και η μάζα είναι μεγαλύτερη από 2 εκατοστά σε διάμετρο,υπάρχει πιθανότητα 95% αυτή να είναι ΗΚΚ (182). Αν η αFP είναι αυξημένη (ιδιαίτερα > 400ng/ml) επιβεβαιώνεται η διάγνωση και περαιτέρω

διερεύνηση έχει νόημα μόνο γιά το σχεδιασμό της θεραπευτικής προσέγγισης. Αν η αFP είναι φυσιολογική, πρέπει να γίνουν περισσότερες απεικονιστικές εξετάσεις , ενώ στις περιπτώσεις που υπάρχει πραγματικά διαγνωστική αμφιβολία απαιτείται ιστολογική επιβεβαίωση. Επί ανεύρεσης μάζας μικρότερης από 2 εκατοστά στο υπερηχογράφημα,η διαγνωστική βεβαιότητα είναι χαμηλότερη (το 75% των όζων αυτών φαίνεται να είναι ΗΚΚ) (183). Και εδώ η προσέγγιση θα είναι με τις κατάλληλες και μεγαλύτερης διακριτικής ευχέρειας απεικονιστικές εξετάσεις. Διαφορετικά η παρακολούθηση του όζου θα δείξει αύξηση μεγέθους είτε και πάλι θα απιτηθεί βιοψία ήπατος.

Από κλινική σκοπιά σε εστιακές αλλοιώσεις που είναι δύσκολο να χαρακτηριστούν λόγω μικρού μεγέθους, είναι λογική η παρακολούθηση ανά 3 μήνες με υπερηχογράφημα μέχρι η βλάβη να αυξηθεί πάνω από 1 εκατοστό, οπότε μπορεί να εφαρμοστούν και άλλες απεικονίσεις. Όμως η απουσία ανάπτυξης κατά την περίοδο παρακολούθησης, δεν αποκλείει την κακοήθη φύση ενός όζου, επειδή ακόμη και ένα πρώιμο ΗΚΚ, μπορεί να πάρει πάνω από ένα χρόνο γιά αύξηση μεγέθους.Όταν ο όζος>1 εκ. σε μέγεθος, είναι πιό πιθανό να είναι ΗΚΚ.Αν ο όζος είναι <2 εκ. συνιστάται βιοψία, διότι οι απεικονιστικές τεχνικές δεν έχουν ικανοποιητική ακρίβεια. Πρέπει να σημειωθεί ότι η αρνητική βιοψία όζου ορατού σε απεικονιστικές μεθόδους σε κιρρωτικό ήπαρ, δεν πρέπει να λαμβάνεται ως κριτήριο να αποκλειστεί κακοήθεια.

Στην περίπτωση που ο ασθενής δεν είναι κιρρωτικός, η παρουσία της μάζας με αυξημένη αFP , επί απουσίας πρωτοπαθούς νεοπλασίας του όρχι, επιβεβαιιώνει τη διάγνωση. Εάν η βλάβη είναι δυνητικά χειρουργήσιμη, μπορεί να απιτηθεί η βιοψία μη νεοπλασματικού ήπατος γιά να καθοριστεί το είδος της θεραπείας (πχ εκτομή ή μεταμόσχευση ήπατος). Στην περίπτωση που η αFP είναι φυσιολογική, εκτός από την

πλήρη απεικονιστική διερεύνηση, απαιτείται και ο διεξοδικός αποκλεισμός άλλων νεοπλασιών πλην του ΗΚΚ.

Σύμφωνα με τις οδηγίες της Πανευρωπαικής εταιρείας ήπατος (147) τα διαγνωστικά κριτήρια που έχουν προταθεί γιά τη διάγνωση του ΗΚΚ είναι:

-Ιστολογικά/ κυτταρολογικά κριτήρια

-Μη επεμβατικά κριτήρια (μόνο επί κιρρωτικών ασθενών):

1.Ακτινολογικά κριτήρια: σε δύο παράλληλα απεικονίσεις (υπερηχογράφημα, ελικοειδής υπολογιστική τομογραφία, μαγνητική τομογραφία, αγγειογραφία), εστιακή βλάβη μεγαλύτερη των 2 εκατοστών σε κιρρωτικό ήπαρ, με ενίσχυση της σκιαγράφησης σε CT, MRI ή αγγειογραφία.

2.Συνδυασμένα κριτήρια: μία απεικονιστική τεχνική σε συνδυασμό με αυξημένη αFP Εστιακή βλάβη>2 εκατοστά με αρτηριακή υπεραγγείωση, αFP> >400ng/ml.

Γιά βλάβες μικρότερες των 2 εκατοστών απαιτείται ιστολογική τεκμηρίωση αν και αυτό δεν είναι πάντα εφικτό ενώ επί του παρόντος δεν υπάρχουν διαθέσιμοι ορολογικοί δείκτες που να αφορουν σε αυτά τα πρώιμα ΗΚΚ.

Ένα πολύ πρόσφατο πεδίο εντατικής έρευνας αφορά στη χρήση «πρωτεωμικής». Η πρωτεωμική στον καρκίνο αποσκοπεί στην ανίχνευση αλλαγών στην πρωτεινική έκφραση, δομή, μετα-μεταγραφική τροποποίηση και εντόπιση στο κυτταρικό επίπεδο. Το νέο αυτό πεδίο υπόσχεται πολλά στην ανακάλυψη βιοδεικτών γιά την πρώιμη ανίχνευση και διάγνωση του ΗΚΚ. Σχετικά με τον ΗΚΚ έχει

ανακαλυφθεί ευρύ φάσμα πρωτεϊνικών δεικτών, κάποιοι επαρκώς μελετημένοι ώστε να είναι ελκυστικοί γιά μελέτες κλινικής αξιολόγησης. Κρίσμο στοιχείο των μελετών αυτών είναι η εκτίμηση του αποτελέσματος, δηλαδή εάν η χρήση των νέων αυτών μοριακών δεικτών ανιχνεύει τον ΗΚΚ τόσο πρώιμα ώστε η θεραπεία να μπορεί να προσφέρει παράταση ζωής (184).

ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα αποτελεί ιδιαίτερο νεόπλασμα, μιά και η πλειψηφία των ασθενών έχει κίρρωση ως υποκείμενη νόσο, και συχνότατα η εφαρμογή θεραπείας και η πρόγνωση έχουν άμεση σχέση με αυτήν.Διάφορα συστήματα έχουν προταθεί, αντικατοπτρίζοντας αμιγώς παθολογοανατομικά κριτήρια (pTNM), είτε παίρνοντας υπόψη την υποκείμενη ηπατιή λειτουργία (OKUDA, CLIP, BCLC)

Το *pTNM (pathologic Tumour Nodes Metastasis)* (185) είναι αυτό που χρησιμοποιείται γενικά στους συμπαγείς όγκους, αλλά δεν λαμβάνει υπόψη την υποκείμενη ηπατική λειτουργία κι έτσι αποτυγχάνει να προβλέψει σωστά την επιβίωση σε ασθενείς που υποβάλονται σε ηπατεκτομή γιά ΗΚΚ.

Η *ταξινόμηση κατά OKUDA* (168) ήταν το πρώτο που χρησιμοποιήθηκε ευρέως και περιελάμβανε παραμέτρους οι οποίες αντικατόπτριζαν τη βιολογία του όγκου και την υποκείμενη ηπατοπάθεια.Είναι ιδαίτερα αποτελεσματικό στο να προσδιορίζει την κατηγορία εκείνη των ασθενών (στάδιο ΙΙΙ) με φτωχή πρόγνωση, ώστε να λάβουν υποστηρικτική μόνο θεραπεία.Όμως τα στάδια Ι και ΙΙ είναι ετερογενή, και συμπεριλαμβάνουν ασθενείς με καλή πρόγνωση ιδαίτερα με μεταμόσχευση ήπατος, αλλά και αυτούς με φτωχή πρόγνωση ανεξαρτήτως θεραπείας.

Η *ταξινόμηση CLIP* (Cancer of the Liver Italian Program) (186) αναπτύχθηκε επί τη βάσει στατιστικού μοντέλου σε μιά αναδρομική μελέτη 435 ασθενών με ΗΚΚ, ενώ εφαρμόστηκε και σε επόμενες αναδρομικές και προοπτικές μελέτες..Το σύστημα αυτό φάνηκε να υπερτερεί του OKUDA, επειδή μπορούσε να εξηγήσει καλύτερα την ποικιλία στην επιβίωση τόσο σε στάδιο ΙΙ αλλά και Ι. Μειονέκτημα του CLIP ότι δεν έχει δοκιμαστεί σε ασθενείς που οδηγούνται προς ριζική θεραπεία (χειρουργική εκτομή ή μεταμόσχευση).

Το *BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer)* (187) έχει βασιστεί στη σύνθεση από τους ερευνητές διαφόρων μελετών που έγιναν σε ασθενείς με όμοια χαρακτηριστικά του όγκου, υποκείμενη ηπατική λειτουργία και θεραπευτικές προσεγγίσεις. Είναι χρήσιμο στην κλινική πράξη διότι εντοπίζει αποτελεσματικά το πρώιμο ΗΚΚ-που είναι επιδεκτικό σε ριζικές θεραπείες-όμως λείπει η τεκμηριωμένη επαλήθευση. Επίσης δεν υποδηλώνει ότι ασθενείς με Child Pugh-C είναι υποψήφιοι γιά μεταμόσχευση.

Το *Ιαπωνικό σύστημα σταδιοποίησης* (188) βασίζεται στο σύστημα TNM με διαφορετική βαθμολόγηση του Τ. Συγκριτικά όμως με το CLIP έχει λιγότερη δυνατότερη κατηγοριοποίησης των ασθενών εξαιτίας έλλειψης παραμέτρων ηπατικής λειτουργίας.

Συνολικά έχουν προταθεί 9 συστήματα ταξινόμησης γιά το ΗΚΚ. Κανένα όμως δεν έχει αποδειχτεί ιδανικό ώστε να προταθεί γιά σταδιοποίηση του ΗΚΚ παγκοσμίως. Εξακολουθεί να είναι απαραίτητη μιά διεθνής συνεργασία και αποδοχή συγκεκριμένου συστήματος, γεγονός που θα επιτρέψει τη σύγκριση των διαφόρων κλινικών μελετών στο ΗΚΚ (189). Πολύ πρόσφατα ανακοίνωση από τους Marrero και συν μετά από μελέτη 239 ασθενών με κίρρωση και ΗΚΚ, αναφέρει ότι στη συγκεκριμένη κατηγορία ασθενών η γενική κατάσταση-η έκταση του όγκου-η ηπατική λειτουργία-και τυχούσα θεραπευτική αντιμετώπιση ήταν οι σημαντικότεροι

προγνωστικοί παράγοντες γιά επιβίωση, ενώ διαπίστωσαν ότι το σύστημα BCLC περιελάμβανε τους πιό πάνω παράγοντες και κατεπέκτασιν παρείχε την καλύτερη προγνωστική κατηγοριοποίηση (190).

ΠΡΟΛΗΨΗ

Η πρόληψη του ΗΚΚ μπορεί να προσεγγισθεί με τρεις τρόπους:

-Η πρωτογενής πρόληψη αφορά στην αποφυγή έκθεσης στα καρκινογόνα (λχ αφλατοξίνες, κατάχρηση αλκοόλ κλπ) και πρόληψη λοίμωξης από τους ιούς Β και C.

-Η δευτερογενής αφορά λ.χ. στην πρόληψη της ιογενούς ηπατίτιδας να μεταπέσει σε κίρρωση.

-Η τριτογενής αφορά στην πρόληψη ανάπτυξης ΗΚΚ από ένα ήδη κιρρωτικό ήπαρ.

Η πρωτογενής έχει κατά κάποιο βαθμό επιτευχθεί με τα προγράμματα εμβολιασμού γιά την ηπατίτιδα Β. Το πιό αποτελεσματικό μέτρο αντιμετώπισης του σχετιζόμενου με ηπατίτιδα Β ΗΚΚ είναι ο εμβολιασμός των νεογέννητων σε παγκόσμια κλίμακα (191). Επίσης η πρόληψη μετάδοσης των ιών Β και C με τον έλεγχο των μεταγγίσεων και η προώθηση προγραμμάτων ενημέρωσης προφύλαξης κατά τη σεξουαλική επαφή από τη μιά, αλλά και η εφαρμογή περισσότερο επιτυχημένης αντιικής θεραπείας με την έλευση νέων φαρμάκων τα τελευταία χρόνια (λαμιβουδίνη, αδεφοβίρη γιά την ηπατίτιδα Β, και PEG ιντερφερόνη και ριμπαβιρίνη γιά την C) έχουν συντελέσει σημαντικά στην προσπάθεια πρόληψης του ΗΚΚ (150). Μετααναλύσεις μελετών μονοθεραπείας σε ασθενείς με HCV κίρρωση έδειξαν μικρό αλλά σημαντικό όφελος μειώνοντας τον κίνδυνο γιά ΗΚΚ, ενώ άλλες έδειξαν ότι η μείωση ήταν μεγαλύτερη όταν η ανταπόκριση στη θεραπεία συνέβαινε προτού αναπτυχθεί κίρρωση (192). Επιπρόσθετα υπάρχει δυνατότητα παρέμβασης σε άλλους

τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου όπως το αλκοόλ, η υπερφόρτωση με σίδηρο, ο διαβήτης, η παχυσαρκία. Ενδιαφέρον έχουν και πρόσφατες αναφορές σχετικά με τον προστατευτικό ρόλο της κατανάλωσης καφέ στην ανάπτυξη ΗΚΚ (193) (ενώ ήδη υπάρχουν αναφορές γιά προστατευτική επίδραση σε άλλα νεοπλάσματα της πεπτικής οδού όπως στοματοφάρυγγα, οισοφάγου και παχέος εντέρου (194) αλλά και μελέτης της επίδρασης ουσιών όπως oltipraz και chlorophyllin σε πληθυσμούς εκτεθημένους διαιτητικά σε αφλατοξίνες- και οι δύο βρέθηκαν σε πρόσφατη μελέτη να έχουν προστατευτική επίδραση (195).

ΜΑΖΙΚΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ (SCREENING)

Είναι γεγονός ότι το ΗΚΚ εμφανίζεται συχνά σε ορισμένους πληθυσμούς «υψηλού κινδύνου» και έχει ως αποτέλεσμα υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα. Στο δυτικό κόσμο υπάρχει–στη βάση του δεδομένου αυτού-η πρόθεση από τους ιατρούς αλλά και η διάθεση από τους ασθενείς γιά screening γιά ΗΚΚ. Όμως τα μέσα γι' αυτό δεν είναι αλάνθαστα και η διαδικασία όχι καλά τεκμηριωμένη. Από την άλλη, παρότι συχνά η θεραπεία δεν είναι πολλές φορές αποτελεσματική, συχνά είναι θεραπευτική γιά ορισμένους ασθενείς. Ο μαζικός πληθυσμιακός έλεγχος των ασθενών σε κίνδυνο, αποσκοπεί στην ελάττωση της θνησιμότητας από τον ΗΚΚ, αλλά αυτό δεν έχει αποδειχτεί μέχρι σήμερα σε τυχαιοποιημένες ελέγχόμενες μελέτες. Επιπλέον τέτοιου τύπου μελέτες απαιτούν χιλιάδες ασθενείς.

Εφόσον λοιπόν ο σκοπός είναι η ανίχνευση του ΗΚΚ σε δυνητικά αντιμετωπίσιμο στάδιο, τότε οι ασθενείς που πρέπει να τεθούν υπό επιτήρηση είναι οι κιρρωτικοί στους οποίους υπολογίζεται ότι θα λάβουν θεραπεία εφόσον διαγνωστούν. Οι ασθενείς που δεν κρίνονται εξαρχής κατάλληλοι γιά ριζική θεραπεία, δεν πρέπει

να μπαίνουν σε ανάλογα προγράμματα. Ο ιδεώδης πληθυσμός γιά το screening είναι αυτοί με Child Pugh A χωρίς σοβαρές συνυπάρχουσες νόσους, ενώ αυτοί με Child Pugh C πρέπει να εκτιμώνται γιά πιθανότητα μεταμόσχευσης ήπατος. Γιά αυτούς που ανήκουν στο στάδιο B είναι αμφιλεγόμενο το θέμα επιτήρησης, ιδίως επί έλλειψης δυνατότητας μεταμόσχευσης ήπατος (147). Υποστηρίζεται ότι σε χώρες με χαμηλό επιπολασμό ΗΚΚ το screening δεν είναι αποδοτικό ως προς τη σχέση κόστος-ώφελος. Όμως σε χώρες με υψηλό επιπολασμό, ιδιαίτερα όταν το screening κατευθύνεται σε ασθενείς υψηλού κινδύνου και μεγάλης ηλικίας, τότε είναι αποδοτικό (196). Πληθυσμός γιά μαζικό έλεγχο προτείνονται οι ασθενείς με Child Pugh A ή B, άρρενος κυρίως φύλου, μεγαλύτερης ηλικίας, με κίρρωση ιογενούς αιτιολογίας ή αλκοολικής ή από αιμοχρωμάτωση ή PBC, και ασθενείς με δυπλασία στη βιοψία ήπατος (197), ενώ άλλοι ειδικοί στο χώρο δεν εξειδικεύουν την αιτιολογία της κίρρωσης θεωρώντας ως πληθυσμό στόχο ασθενείς με επιβεβαιωμένη κίρρωση (198).

Η αFP, ο πρώτος και πολύ δημοφιλής καρκινικός δείκτης γιά το ΗΚΚ, δυστυχώς φαίνεται να έχει περιορισμένη ευαισθησία και ειδικότητα, ώστε πρακτικά να είναι άχρηστο ως εργαλείο πρώιμης ανίχνευσης (199). Είναι αρκετές φορές διαλειπόντως αυξημένη σε κιρρωτικούς ασθενείς αλλά σπανίως ιδαίτερα αυξημένη σε μικρούς όγκους. Από την άλλη πλευρά, της απεικόνισης, η ελικοειδής υπολογιστική τομογραφία και η μαγνητική, έχουν περιορισμούς λόγω υψηλού κόστους και επεμβατικού χαρακτήρα (χορήγηση σκιαγραφικών) και μόνον το υπερηχογράφημα είναι βολικό μέσο. Όμως είναι άμεσα εξαρτώμενο από τον εξεταστή και την εμπειρία του, ενώ εμφανίζει και τεχνικές δυσκολίες σε ιδιαίτερες περιπτώσεις όπως: παχύσαρκοι ασθενείς, ισόηχοι όγκοι, υποδιαφραγματική εντόπιση, παρέγχυμα με στεάτωση ή μακροοζώδης κίρρωση. Παρολαυτά, το υπερηχογράφημα είναι σε θέση

ν' αναγνωρίζει το ΗΚΚ στο 85% των περιπτώσεων (169). Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν δεδομένα που να τεκμηριώνουν αλλαγή των υπαρχόντων μέσων, δηλαδή υπερηχογραφήματος και aFP (198), παρότι από κάποιους ερευνητές υποστηρίζεται ότι το υπερηχογράφημα είναι πιό αποτελεσματικό και προτείνουν τη χρήση aFP μόνο αν το υπερηχογράφημα είτε είναι χαμηλής ποιότητας ή μη διαθέσιμο (200).

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΗΚΚ

Η ύπαρξη πολλών και διαφορετικών επιλογών στην αντιμετώπιση του ΗΚΚ, υποδηλώνει ότι δεν υπάρχει οριστική θεραπεία. Η αντιμετώπιση του νεοπλάσματος όπως έχει ήδη αναφερθεί, έχει πολλές ιδιαιτερότητες.Καταρχήν οι περισσότεροι ασθενείς έχουν δύο νόσους, την κίρρωση και τον ΗΚΚ. Η συνύπαρξη συνδέεται με ποικίλες αλληλεπιδράσεις, που μπορούν να αποβούν καθοριστικές στη διάγνωση, την πρόγνωση και την αντιμετώπιση. Κι ακόμα, η συχνότατη αυτή νεοπλασία, έχει μεγάλη επίπτωση σε χώρες του κόσμου, όπου δεν υπάρχει υποδομή γιά διεξαγωγή αξιόπιστων κλινικών μελετών επί του παρόντος, ενώ και η αιτιολογία της υποκείμενης ηπατοπάθειας ποικίλει κατά περιοχές, χωρίς να είναι ξεκάθαρο εάν υπάρχει πάντα η ίδια πρόγνωση.

Μεταμόσχευση ήπατος

Αποτελεί θεωρητικά την καλύτερη θεραπεία γιά τον ΗΚΚ, επειδή έχει τα ευρύτερα δυνατά όρια εκτομής, απομακρύνει το λοιπό κιρρωτικό ήπαρ (που υπάρχει κίνδυνος να δημιουργήσει de novo καρκίνο), και αποκαθιστά τα όρια εκτομής. Είναι δυνητικά θεραπευτική επέμβαση. Δυστυχώς υπάρχει περιορισμένη επάρκεια δωρητών οργάνων, με επακόλουθο την καθυστέρηση στη μεταμόσχευση. Η

μεταμόσχευση από ζώντα δότη μπορεί να εξαλείψει αρκετά από τα εμπόδια αυτά, εφόσον βρεθεί κατάλληλος δότης και φαντάζει ως δυνατή εναλλακτική λύση στην πτωματική. Πρέπει όμως να σημειωθεί το όχι ευκαταφρόνητο ποσοστό 0,5% θνησιμότητας και 20% νοσηρότητας στο δότη. Επιπρόσθετα, είναι μικρές οι σειρές των ασθενών με ΗΚΚ που μεταμοσχεύθηκαν από ζώντα δότη και το μακροχρόνιο αποτέλεσμα δεν είναι γνωστό. Σε κάποιες επιλεγμένες περιπτώσεις υπάρχει και η μεταμόσχευση domino (μεταμοσχεύεται ήπαρ από άτομα με πολυνευροπάθεια στα πλαίσια οικογενούς αμυλοείδωσης, που μεταμοσχεύονται με πτωματικό μόσχευμα) είτε η τμηματική (split) μεταμόσχευση, χωρίς όμως και οι δύο να λύνουν σε πολλούς ασθενείς το πρόβλημα (173;201).

Τα υψηλά ποσοστά υποτροπής (30-52%) και η φτωχή πενταετής επιβίωση(<40%) από την πρώτη περίοδο των μεταμοσχεύσεων, συνδέθηκαν με ευρεία αποδοχή ασθενών με ΗΚΚ, όπως μακροσκοπική αγγειακή διήθηση, λεμφαδενική προσβολή και εξωηπατική επέκταση (169;173;202). Ο προβληματισμός που υπήρξε οδήγησε στη δεύτερη περίοδο που σηματοδοτείται από τα κριτήρια του Μιλάνου (203) όπου η επιλογή ασθενών προς μεταμόσχευση με έναν όζο < 5 εκατοστά σε διάμετρο ή τριών όζων ≤ 3 εκατοστά, οδήγησε σε 70% πενταετή επιβίωση και υποτροπή κάτω του 15%. Ένα ακόμη πλεονέκτημα στην επιλογή αυτή ήταν ο χρόνος στη λίστα αναμονής που ήταν λιγότερος από 6 μήνες (204;205). Η επιλογή ασθενών με σημαντικά λιγότερο σε σχέση με το παρελθόν νεοπλασματικό φορτίο αύξησε σημαντικά την επιβίωση και μείωσε την υποτροπή μετά τη μεταμόσχευση, ενώ είναι παραδεκτό ότι η εξωηπατική επέκταση πρέπει να θεωρείται η ισχυρότερη αντένδειξη στη μεταμόσχευση, γιατί οι πιθανότητες γιά ίαση είναι πραγματικά μηδαμινές. Το κλειδί στην επιλογή είναι η σωστή σταδιοποίηση. Επιπρόσθετα, η βελτίωση στην επιβίωση είναι ιδιαίτερα εμφανής σε ασθενής όπου

το ΗΚΚ απετέλεσε τυχαίο εύρημα (διάμετρος<1 εκατοστό) μετά τη μεταμόσχευση στο αφαιρεθέν ήπαρ (206).

Η παρούσα περίοδος χαρακτηρίζεται από την ολοένα μεγαλύτερη ζήτηση γιά μοσχεύματα (καθώς με τη βελτίωση των απεικονιστικών μέσων εντοπίζονται περισσότερα δυνητικά θεραπεύσιμα ΗΚΚ, ενώ και η επίπτωση του ΗΚΚ έχει αυξηθεί όπως ήδη έχει τονιστεί). Στις ΗΠΑ έχει υιοθετηθεί το μοντέλο MELD (model for end stage liver disease), το οποίο χρησιμοποιώντας δείκτες όπως η χολερυθρίνη, η κρεατινίνη, ο χρόνος προθρομβίνης (INR), η αιτιολογία της υποκείμενης ηπατοπάθειας, υποθέτοντας μιά πιθανότητα 40% γιά θάνατο μέσα σε διάστημα 3 μηνών, υπόθεση βασιζόμενη στο χρόνο διπλασιασμού του όγκου (207). Το πρόβλημα όμως εξακολουθεί να είναι η ακριβής εκτίμηση της βιολογικής συμπεριφοράς του ΗΚΚ σε δεδομένη χρονική στιγμή (206).

Σε ό,τι αφορά στην αντιμετώπιση της εξέλιξης του όγκου κατά την αναμονή στη λίστα γιά μεταμόσχευση, έχουν δοκιμαστεί διάφορες βοηθητικές θεραπείες όπως χημειοθεραπεία, χημειοεμβολισμός, διαδερμική καταστροφή. Όμως δεν υπάρχουν τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες που να αποδεικνύουν παράταση επιβίωσης. Η μεταμόσχευση «ντόμινο», μοσχεύματα από ζώντα δότη και αυξημένη εμπειρία από το ΗΚΚ μεταξύ άλλων μπορούν να βελτιώσουν την προσέγγιση μας στην κατηγορία αυτή των ασθενών.

Ηπατεκτομή

Η ηπατεκτομή θεραπεύει εξαιρώντας χειρουργικά το τμήμα του ήπατος που περιέχει τη νεοπλασματική εστία. Θεωρείται η αποτελεσματικότερη θεραπευτική παρέμβαση μετά τη μεταμόσχευση, όμως έχει το μειονέκτημα να μην απομακρύνει - στην πλειοψηφία των περιπτώσεων που υπάρχει κιρρωτικό ήπαρ- την προκαρκινική

κατάσταση του παρεγχύματος και να μην βελτιώνει την ηπατική λειτουργία. Η εγχειρητική θνητότητα έχει μειωθεί από 10-20% που ήταν στη δεκαετία του 1980, σε λιγότερο από 5% σε εξειδικευμένα κέντρα σήμερα (208).

Το πρόβλημα είναι κατά πόσον είναι χειρουργήσιμος ένας όγκος. Η χειρουργική εξαίρεση μπορεί να μην πραγματοποιείται είτε γιά τεχνικούς λόγους (δύσκολη προσπέλαση ή κοντά σε ζωτικές δομές) είτε λόγω εξωηπατικών μεταστάσεων,είτε λόγω ύπαρξης σοβαρών συνυπαρχουσών νόσων, είτε τέλος λόγω ηπατικής ανεπάρκειας. Το φυσιολογικό ήπαρ αναγεννάται γρήγορα, ακόμη και μετά από απομάκρυνση του 75% του παρεγχύματος. Όμως το κιρρωτικό ήπαρ δεν έχει τη δυναμική να αναγεννάται κατά τον τρόπο αυτό και η ηπατική ανεπάρκεια είναι ένας κίνδυνος που πάντα υπάρχει στην μετεγχειρητική περίοδο γιά ένα κιρρωτικό ήπαρ. Ένας άλλος μεγάλος κίνδυνος είναι η υποτροπή μετά την χειρουργική εξαίρεση του όγκου. Υπολογίζεται ότι το 50-60% των ΗΚΚ υποτροπιάζουν την πενταετία μετά την εκτομή και στην πλειοψηφία των περιπτώσεων η υποτροπή είναι ενδοηπατική, είτε από δορυφόρο όζο είτε de novo ανάπτυξη δεύτερου όγκου. Ένας απλός κανόνας σχετικά με το ποιός κιρρωτικός μπορεί να υποβληθεί σε ηπατεκτομή, είναι ότι οι ασθενείς με Child Pugh A είναι κατάλληλοι, οι σταδίου C είναι ακατάλληλοι, ενώ δεν υπάρχει ξεκάθαρη άποψη γιά τους Child Pugh B. Αναφορικά προς τον κίνδυνο ρήξης της αντιρρόπησης έχει προταθεί από Bruix και συν ότι οι κιρρωτικοί με αυξημένη HVPG βρίσκονται σε κίνδυνο ρήξης της αντιστάθμισης, κι επομένως η χειρουργική θεραπεία θα πρέπει να κατευθύνεται προς ασθενείς χωρίς πυλαία υπέρταση (209). Γιά το μη κιρρωτικό ήπαρ δίχως εξωηπατική επέκταση, η χειρουργική εκτομή είναι η θεραπεία πρώτης γραμμής, εφόσον αυτό είναι ανατομικά δυνατό. Σχετικά με μεγάλα (διάμετρος> 5 εματοστά) ή πολυεστιακά ΗΚΚ, μπορεί να

πραγματοποιηθεί χειρουργική εκτομή σε επιλεγμένους όμως ασθενείς (210) με την 5ετή πειβίωση να φτάνει στο 39%.

Η επιλογή της κατάλληλης θεραπείας σε ασθενή με ανατομικά εξαιρέσιμο ΗΚΚ και συνυπάρχουσα κίρρωση, είναι συζητήσιμη. Η επιλογή μεταξύ μεταμόσχευσης και ηπατεκτομής πρέπει να λαμβάνει υπόψη την εμπειρία του ιατρικού προσωπικού και τη διαθεσιμότητα των οργάνων. Η μεταμόσχευση συγκρινόμενη με την εκτομή, έχει μεγαλύτερη περιεγχειρητική θνησιμότητα, και συνδέεται με τους κινδύνους και τις μακροχρόνιες συνέπειες της συνεχούς ανοσοκαταστολής. Από την άλλη πλευρά, εξαλείφει την κίρρωση με τις επιπλοκές της και απομακρύνει τη νεοπλασματική δυναμική του κιρρωτικού ήπατος (173;211).

Μέθοδοι τοπικής καταστροφής (ablation therapies)

Σε επιλεγμένους ασθενείς, οι μέθοδοι αυτές μπορούν να δώσουν καλά αποτελέσματα αλλά όπως και μετά τη χειρουργική εκτομή (όχι όμως και τη μεταμόσχευση), δεν παρεμβαίνουν στο ενδεχόμενο επανεμφάνισης ΗΚΚ στο εναπομένον κιρρωτικό παρέγχυμα. Η καταστροφή αυτή μπορεί να γίνει με διάφορα χημικά μέσα (απόλυτη αλκοόλη, ακετοξεικό οξύ), φυσικά μέσα (κρυοθεραπεία, ραδιοσυχνότητες, μικροκύματα). Οι διαδερμικές τεχνικές θεωρούνται περιορισμένα επεμβατικές, και θεωρούνται οι καλύτερες επιλογές γιά το μη χειρουργικό, μη εκτεταμένο ΗΚΚ (212).

Γιά την διαδερμική έγχυση αιθανόλης (percutaneous ethanol injection) υπό άσηπτες συνθήκες και τοπική αναισθησία, μέσω ειδικής βελόνης που εισάγεται διαδερμικά υπό την καθοδήγηση υπερήχων (σπανιότερα ΥΤ), χορηγείται αργά, απόλυτη αλκοόλη (99,5%) εναντίον εστίας ΗΚΚ κατά προτίμηση μικρότερης των 3 εκ, αλλά μπορεί να επιχειρηθεί και σε μάζα 5 εκατοστών. Η αιθανόλη διαχέεται

εύκολα και σχετικά ομοιογενώς, και προκαλεί τοπική νέκρωση του όγκου ως αποτέλεσμα καταστροφής πρωτεινών, ενδοκυττάριας αφυδάτωσης, τήξης ίνωσης και αγγειακής απόφραξης. Επί μεγάλων ΗΚΚ μπορεί να πραγματοποιηθεί σε μιά συνεδρία υπό γενική αναισθησία. Ανεπιθύμητες ενέργειες κατά τη μέθοδο καταγράφονται το τοπικό-στο σημείο έγχυσης-άλγος, «δηλητηρίαση» από αλκοόλ, πυρετός από τη νέκρωση του όγκου, καθώς και τοπική διασπορά κατά την πορεία της βελόνης (0,2-1,4%). Συνηθέστερη αιτία θανάτου μετά από τη έγχυση της αιθανόλης, είναι η ηπατική ανεπάρκεια σε έδαφος υποκείμενης κίρρωσης (151).

Η διαδερματική έγχυση αιθανόλης πετυχαίνει πλήρη ανταπόκριση από τον όγκο στο 70% σε ΗΚΚ<3 εκατοστά (213). Ασθενείς με μονήρη όγκο<3 εκατοστά σε διάμετρο με κίρρωση Α ή Β κατά Child που αντιμετωπίζονται με έγχυση αιθανόλης , μπορεί να έχουν επιβίωση ίση ή και καλύτερη από αυτού που οδηγούνται σε χειρουργική εκτομή. Η ασφάλεια, η αποτελεσματικότητα και το χαμηλό κόστος, αλλά και η ευκολία και η αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου, έχει κάνει τη διαδερμική έγχυση αιθανόλης ελκυστική λύση γιά όγκους μικρότερους από 5 εκ, καθώς μπορεί να είναι τόσο αποτελεσματική όσο η χειρουργική εκτομή, και με παρόμοια ποσοστά υποτροπών και νοσηρότητας. Επιπρόσθετα παραμένει πολύτιμη θεραπεία όταν οι όγκοι βρίσκονται κοντά σε μεγάλους κλάδους του χοληφόρου δένδρου ή σε μεγάλα αγγεία (214).

Η θεραπεία με ραδιοσυχνότητες (radiofrequency ablation) αποτελεί την ευρύτερα διαδεδομένη εναλλακτική λύση στην έγχυση αιθανόλης. Εφαρμόζεται διαδερματικά, λαπαροσκοπικά αλλά και κατα λαπαροτομία, ενώ υποστηρίζεται ότι έχει το ίδιο θεραπευτικό αποτέλεσμα με την αιθανόλη σε λιγότερες συνεδρίες. Κατά τη μέθοδο δημιουργείται εναλλασσόμενο ρεύμα εντός του ηπατικού ιστού από βελόνη-ηλεκτρόδιο, που δημιουργεί τοπικά νέκρωση. Το αποτέλεσμα μπορεί να

ελεγχθεί αμέσω με αξονική, μανγητική ή US/Doppler, και η θεραπεία μπορεί να επαναληφθεί την επόμενη μέρα αν δε γίνει πλήρης νέκρωση. Η μέθοδος συστήνεται σε κιρρωτικούς ασθενείς με όγκους μικρότερους από 5 εκατοστά σε διάμετρο (με την εξαίρεση ύπαρξης εξωηπατικής επέκτασης, βαριάς γενικής κατάστασης), και γίνεται υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση με τοπική ή γενική αναισθησία.

Γιά όγκο μικρότερο από 3 εκατοστά σε διάμετρο, μπορεί να καταστραφεί μαζί με 15 χιλιοστά περιβάλλοντος ηπατικού ιστού,σε μιά ή δυό συνεδρίες. Όμως γιά μεγαλύτερες βλάβες μπορεί να χρειαστούν πολλαπλές συνεδρίες και είναι οριακά τα οφέλη γιά όγκους μεγαλύτερους των 3 εκατοστών σε διάμετρο(ενώ σε αντίθεση με την έγχυση αιθανόλης, είναι σε θέση να καταστρέφει τα διαφράγματα που υπάρχουν εντός του όγκου) (169). Επί του παρόντος η πενταετής επιβίωση έχει υπολογιστεί από μιά σειρά 88 ασθενών, με όγκους κάτω από 3,5 εκατοστά που αντιμετωπίστηκαν με ραδιοσυχνότητες, εκτιμήθηκε στο 33% (215). Οι περισσότερες από τις μελέτες είναι μελέτες περιπτώσεων (case control studies).

Σε μιά προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη, οι Livraghi και συνεργάτες, συνέκριναν τη διαδερμική έγχυση αιθανόλης έναντι της θεραπείας με ραδιοσυχνότητες σε κιρρωτικούς Child A (216). Διαπίστωσαν πλήρη νέκρωση στο 90% με τις ραδιοσυχνότητες και 80% με την αιθανόλη. Οι συνεδρίες ήταν λιγότερες στην ομάδα των ραδιοσυχνοτήτων, αλλά υπήρχε μεγαλύτερο ποσοστό επιπλοκών. Σε άλλη σειρά radiofrequency ablation από την ίδια ομάδα, επί ασθενών με μεγαλύτερους όγκους (μέση διάμετρος 5,4 εκατοστά), ανακοινώθηκε νέκρωση του όγκου μόνο στο 47% των περιπτώσεων (217). Οι επιπλοκές της μεθόδου: θάνατος, διασπορά όγκου κατά τη διαδρομή της βελόνης καθετηριασμού, και αιμορραγία. Τα δεδομένα σήμερα παρουσιάζουν τη radiofrequency ablation ως αποτελεσματική θεραπεία πρώτης γραμμής γιά ΗΚΚ αρχικού σταδίου, γιά το οποίο έχει αποκλεισθεί η

χειρουργική θεραπεία (218). Η πλήρης ανταπόκριση μετά τη radiofrequency ablation παρατείνει την επιβίωση των ασθενών, με θετικού προγνωστικούς παράγοντες τη διάμετρο ΗΚΚ μικρότερη των 3 εκατοστών και με υψηλότερες τιμές αλβουμίνης και αιμοπεταλίων (219;219). Συκριτικά με τη διαδερμική έγχυση αιθανόλης βρέθηκε να υπερτερεί σε πρόσφατες μελέτες αναφορικά προς την επιβίωση, την τοπική υποτροπή και το διάστημα ελεύθερο νεοπλάσματος, συνδέεται όμως με μεγαλύτερο αριθμό παρενεργειών (220;221).

Η κρυοθεραπεία (cryoablation) καταστρέφει με εφαρμογή ψύχους (κυριότερα χρησιμοποιούμενος παράγοντας το υγρό άζωτο). Τοπικά θερμοκρασιές < -20 βαθμών Κελσίου οδηγούν στη νέκρωση νεοπλασματικού και μη ιστού.Ως μέθοδος έχει προταθεί σε μονήρεις όγκους μικρότερων από 6 εκατοστά σε διάμετρο, σε ασθενείς με οριακές λειτουργικές εφεδρείες και στους οποίους η μείζων χειρουργική εκτομή, αντενδείκνυται. Όμως η κρυοθεραπεία απαιτεί λαπαροτομία, αν και σε επιλεγμένους ασθενείς μπορεί να γίνει και με λαπαροσκόπηση. Ανεπιθύμητες ενέργειες είναι πυρετός, λοίμωξη, μυοσφαιρινουρία, πλευριτική συλλογή, υπογλυκαιμία, διαταραχή νεφρικής λειτουργίας, ισχαιμία μυοκαρδίου.Ευκαιριακά μπορεί να παρατηρηθούν και ενδοπεριτοναική αιμορραγία, υποφρενικό απόστημα, και καταπληξία-ψύχους.Η εμπειρία σε παγκόσμια κλίμακα είναι περιορισμένη και συμπεράσματα γιά την επίπτωση στην επιβίωση δεν υπάρχουν επί του παρόντος (151).

Άλλες τεχνικές τοπικής καταστροφής ΗΚΚ, είναι μέσω εφαρμογής μικροκυμάτων –microwave thermal ablation- που έχει εφαρμογή σε μικρούς ξανά όγκους και ελάχιστες ανεπιθύμητες ενέργειες(αιμορραγία και διασπορά κατά τη διαδρομή της βελόνης), εφαρμογής laser thermal ablation, σε επιλεγμένους ξανά ασθενείς.

Εμβολισμός/Χημειοεμβολισμός/Περιοχικές θεραπείες

Είναι γνωστό ότι το φυσιολογικό ηπατικό παρέγχυμα αιματώνεται και από την πυλαία φλέβα και από την ηπατική αρτηρία, ενώ τα ΗΚΚ εξαρτώνται από την ηπατική αρτηρία. Έτσι, τα ΗΚΚ μπορεί να νεκρωθούν μετά από εμβολισμό της ηπατικής αρτηρίας, ιδιαίτερα εάν έχουν κάψα, ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο στο φυσιολογικό παρέγχυμα. Ο αρτηριακός εμβολισμός αντενδείκνυται αν η ροή στην πυλαία είναι σημαντικά μειωμένη, πχ επί απόφραξης μερικής ή πλήρους, ενώ είναι σημαντικό ότι και στην κίρρωση η πυλαία ροή είναι διαταραγμένη και ο κίνδυνος γιά ισχαιμική βλάβη γιά τις μη νεοπλασματικές περιοχές, είναι υπαρκτός. Είναι απαραίτητο να υπάρχει σημαντική ηπατική εφεδρεία, ώστε ο ασθενής να ανανήψει από την ηπατοκυτταρική βλάβη που θα υποστεί από τον εμβολισμό.

Ο καθετηριασμός της ηπατικής αρτηρίας μέσω της μηριαίας αρτηρίας και του κοιλιακού άξονα, επιτρέπει τον εμβολισμό του όγκου. Υλικά εμβολισμού μπορεί να αποτελέσουν σπόγγοι γελατίνης, αφρός πολυβινυλ-αλκοόλ, μεταλλικά σπειράματα κλπ. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες που συνοδεύουν την επέμβαση είναι ναυτία, έμετος, κοιλιακό άλγος, πυρετός και επιβάρυνση της ηπατικής λειτουργίας (αύξηση τρανσαμινασών, χολερυθρίνης, μείωση αλβουμίνης). Ο εμβολισμός παρουσία κίρρωσης, συνδέεται με σημαντικό κίνδυνο ρήξης της αντιρρόπησης, οπότε είναι επιθυμητός ο τμηματικός ή υποτμηματικός εμβολισμός. Γιά να εκτιμηθεί το αποτέλεσμα πολύ χρήσιμα είναι η aFP και η απεικόνιση (αξονική τομοφραφία με σκιαφραφικό ενδοφλεβίως), μία βδομάδα και ένα μήνα μετά την επέμβαση. Έχει προταθεί επανάληψη του εμβολισμού μετά από 2-3 μήνες, και περαιτέρω ανάλογα με το κλινικό αποτέλεσμα. Η σωστή χρήση της μεθόδου, είναι ασφαλής και αποτελεσματική.

Στο χημειοεμβολισμό συνδυάζεται ο εμβολισμός σωματιδίων με ενδαρτηριακή έγχυση χημειοθεραπευτικού φαρμάκου, προκαλώντας έτσι εκλεκτική ισχαιμία και στοχευμένη χημειοθεραπευτική δράση. Στα προβλήματα της μεθόδου η ναυτία, ο πυρετός και ο κοιλιακός πόνος, αλλά και ο σχηματισμός αποστήματος, ενίοτε δε θανατηφόρος επιβάρυνση της ηπατικής λειτουργίας. Η επέμβαση επίσης έχει τον κίνδυνο αλλερικών αντιδράσεων ή νεφροπάθειας από σκιαγραφικό. Από την άλλη πλευρά τα χημειοθεραπευτικά μπορεί να παλινδρομήσει στον κοιλιακό άξονα ή την αορτή και να προκαλέσει ισχαιμία, σπληνικό έμφρακτο, παγκρεατίτιδα και έλκη πεπτικού.

Ο χημειοεμβολισμός έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως αρχική θεραπεία σε ανεγχείρητο ΗΚΚ, αλλά και προεγχειρητικά στην αναμονή γιά μεταμόσχευση ήπατος, όπως και επί υποτροπής μετά από ηπατεκτομή ή γιά συρρίκνωση του όγκου κι έτσι να χαρακτηριστεί χειρουργήσιμο ένα καταρχήν ανεγχείρητο ΗΚΚ. Η διαφορετική κλινική ερμηνεία που μπορεί να δοθεί σε διαφορετικούς ασθενείς με «ανεγχείρητο» ΗΚΚ, αλλά και τα διαφορετικά πρωτόκολλα που είχαν χρησιμοποιηθεί σε διάφορες μελέτες κατά το παρελθόν, δυσκόλευε την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων περί της αποτελεσματικότητας της θεραπείας, ενώ δεν ήταν ξεκάθαρο αν υπήρχε παράταση επιβίωσης των ασθενών που λάμβαναν τη θεραπεία αυτή μόνο (151).

Πρόσφατα μόνο, και αφού μελετήθηκαν επιλεγμένες ομάδες ασθενών με ανεγχείρητο ΗΚΚ, δείχτηκε παράταση επιβίωσης των ασθενών. Έτσι στη μελέτη από Llovet και συν (222), μόνο το 12% από τους ασθενείς που διαγιγνώσθησαν με ΗΚΚ (37% από αυτούς σε ενδιάμεσο ή προχωρημένο στάδιο) κρίθηκαν ότι πληρούσαν τα κριτήρια της μελέτης. Από τον εξαιρετικά επιλεγμένο αυτό πληθυσμό είχαν αποκλειστεί οι ασθενείς που είχαν στοιχεία πιθανής μη ανοχής της θεραπείας, όπως

διάχυτο νεόπλασμα, νεφρική ανεπάρκεια, θρόμβωση πυλαίας φλέβας, Child Pugh C. Οι ερευνητές επέλεξαν τους ασθενείς με ενδιάμεσο στάδιο, και καλή ηπατική λειτουργία Από αυτή την αυστηρά επιλεγμένη ομάδα ασθενών, ο χημειοεμβολισμός (και όχι ο εμβολισμός) βελτίωσε την επιβίωση των ασθενών. Επιπρόσθετα προς τα παραπάνω αποτελέσματα, οι Ebied και συν διαπίστωσαν παράταση επιβίωσης ασθενών με το χημειοεμβολισμό, σε όγκους με ΗΚΚ που ήταν υπεράγγειοι, ενώ τελευταίες ανασκοπήσεις προηγουμένων μελετών συμφωνούν με τα ανωτέρω (223;224). Ιδανικοί ασθενείς γι' αυτή τη θεραπευτική προσέγγιση είναι αυτοί με καλά διατηρημένη ηπατική εφεδρεία (Child Pugh A) και πολυεστιακούς όγκους χωρίς αγγειακή διήθηση. Τα κριτήρια αυτά πληρούν λιγότερο από το 15% των ασθενών με ΗΚΚ, ενώ η θνησιμότητα που σχετίζεται με την θεραπεία εκτιμάται περίπου στο 4% (225).

Πρόσφατα ανακοινώθηκαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα από χορήγηση μικροσφαιρών Yttrium-90 μετά από καθετηριασμό της ηπατικής αρτηρίας, η οποία ήταν ασφαλής και καλά ανεκτή. Περαιτέρω τυχαιοποιημένες μελέτες είναι απαραίτητες γιά την αξιολόγηση της μεθόδου (226).

Χημειοθεραπεία

Είναι ευρέως διαδεδομένη η αντίληψη ότι το ΗΚΚ είναι ανθεκτικό στη χημειοθεραπεία (147). Το ποσοστό απάντησης σε ένα χημειοθεραπευτικό παράγοντα (συνήθως δοξορουμπικίνη) είναι κοντά στο 20% (227). Χημειοθεραπεία με περισσότερους παράγοντες, έχει ελαφρά μεγαλύτερη ανταπόκριση (20-30%). Όμως και στις δύο παραπάνω περιπτώσεις η ύφεση είναι συνήθως βραχεία και η παράταση στην επιβίωση δεν έχει τεκμηριωθεί.Από την άλλη πλευρά, ο ρυθμός απάντησης του ΗΚΚ στη δοξορουμπικίνη, είναι στα ίδια επίπεδα με αυτόν που διαπιστώνεται σε

ευρύτατα διαδεδομένα χημειοθεραπευτικά(5-φλουορο-ουρακίλη) στο μεταστατικό καρκίνο του στομάχου και τις ηπατικές μεταστάσεις.

Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι σε αρκετές περιπτώσεις ασθενών που θεωρήθηκαν πως είχαν μερική απάντηση στη χημειοθεραπεία, αυτοί πληρούσαν τα κριτήρια να υποβληθούν σε χειρουργική επέμβαση, και η παθολογοανατομική εξέταση του αφαιρεθέντος ιστού έδειξε πλήρη ύφεση μικροσκοπικά. Ο υπολοιπόμενος όγκος που ήταν ορατός στην αξονική τομογραφία, στην πραγματικότητα αποτελούσε νεκρωμένο ινώδη ιστό (228). Η εμπειρία αυτή δείχνει ότι είναι δυνατή η μετατροπή σε χειρουργήσιμη νόσο και η πλήρης ιστολογική ύφεση, μετά από συδυασμένη χημειοθεραπεία, ακόμη και στις περιπτώσεις μεγάλων «ανεγχείρητων» ΗΚΚ. Επίσης δείχνει ότι η απεικονιστική εκτίμηση της απάντησης , δεν αντικατοπτρίζει απαραίτητα την έκταση νέκρωσης του όγκου. Η ομαλοποίηση της αFP μετά τη θεραπεία ίσως είναι καλύτερος δείκτης ανταπόκρισης, και πρέπει να έχει τη δική της θέση σε μελλοντικές κλινικές δοκιμές.

Καθώς μόνο μειοψηφία των ασθενών ανταποκρίνονται στη συστηματική θεραπεία, μιά θεραπεία τοξική, θα ήταν πολύ χρήσιμο να μπορούσε να προβλεφθεί ποιοί από τους ασθενείς θα απαντήσουν στη θεραπεία. Σε μιά πολυπαραγοντική ανάλυση 149 ασθενών με ανεγχείρητο ΗΚΚ που έλαβαν συδυασμένη χημειοθεραπεία, διαπιστώθηκε ότι η καλή ηπατική λειτουργία (χαμηλή χολερυθρίνη ορού) και η απουσία κίρρωσης ήταν ισχυροί προγνωστικοί δείκτες γιά ανταπόκριση στη θεραπεία (229).Γίνεται αντιληπτό πως καθώς η χημειοθεραπεία χρησιμοποιείται μόνο σε ασθενείς με προχωρημένη νόσο, και ενώ οι τοπικές θεραπείες καταστροφής έχουν αποτύχει είτε είναι ακατάλληλες, μπορεί να γίνει αντιληπτό γιατί η απάντηση στη χημειοθεραπεία είναι τόσο φτωχή.

Η χημειοθεραπεία ενδείκνυται όταν οι καθιερωμένες λίγο πολύ θεραπείες-χειρουργική εκτομή, καταστροφή με αιθανόλη, χημειοεμβολισμός-αντενδείκνυνται, και εφόσον απουσιάζει αιμορραγική διάθεση, ίκτερος και κίνδυνος ηπατικού κώματος. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν εξωηπατική νόσο, ενώ ως ελάχιστα κριτήρια καταλληλότητας είναι μετρήσιμες βλάβες ΗΚΚ, καλή γενική κατάσταση, όχι άλλο νεόπλασμα, όχι σοβαρές επιπλοκές, και προσδόκιμο ζωής τουλάχιστον 2 μήνες (151). Συμπερασματικά η συστηματική χημειοθεραπεία είναι ελάχιστα αποτελεσματική και φτωχά ανεκτή, όμως οι περισσότερες μελέτες είχαν λίγους ασθενείς και σημαντική ετερογένεια. Η σωστή επιλογή ασθενών και κλινικές μελέτες ικανής έκτασης είναι απαραίτητες γιά να εκτιμήσουν σωστά τη θεραπευτική αυτή προσέγγιση. Είναι άλλωστε ενθαρρυντικά τα αποτελέσματα σε επιλεγμένες ομάδες ασθενών από το χημειοεμβολισμό, ενώ νέες μελέτες βρίσκονται επί θύραις χρησιμοποιώντας αντιαγγειογενετικούς παράγοντες ή αναστολείς αγγελειοφόρων οδών (signal transduction) (206).

Ακτινοθεραπεία

Ο ρόλος της ακτινοθεραπείας στον ΗΚΚ είναι περιορισμένος, λόγω αδυναμίας του ήπατος να αντέξει θεραπευτικές δόσεις και ενίοτε δυσκολία να εντοπιστεί σωστά ο όγκος. Ακτινοβολία στα επίπεδα που μπορεί να ανεχθεί το ήπαρ, δεν επιβραδύνει σημαντικά την αύξηση του όγκου. Επιπλέον οι κιρρρωτικοί ασθενείς έχουν ελαττωμένη ανοχή στην ακτιβολία. Ο συνδυασμός ακτινοθεραπείας με χημειοθεραπεία, δεν είχε όφελος γιά τους ασθενείς ενώ αύξησε την τοξικότητα της θεραπείας (151). Παρόλα αυτά η εξελίξεις στη σύγχρονη ακτινοθεραπευτική με τη στόχευση του όγκου προφυλάσσοντας το μη νεοπλασματικό γύρω ιστό, θεραπεία με τροποποιημένη ένταση ακτινοβολίας, ακτινοβολία καθοδηγούμενη από απεικόνηση

και στερεοτακτικές μέθοδοι εντόπισης και χορήγησης ακτινοβολίας μπορεί να αλλάξουν τον ως τώρα περιορισμένο ρόλο της ακτινοθεραπευτικής στην αντιμετώπιση του ΗΚΚ (230).

Ιντερφερόνη και ανοσολογικές θεραπείες

Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη έδειξε ότι δεν προσφέρει στην ύφεση του όγκου και την επιβίωση των ασθενών με ΗΚΚ, ενώ ήταν δύσκολη η ανοχή της θεραπείας (231).Ο ρόλος της ιντερφερόνης επικεντρώνεται στον τομέα της πρόληψης ανάπτυξης ΗΚΚ, μέσω δράσης επί της χρόνιας φλεγμονής και ελάττωσης της αναγέννησης του ηπατικού ιστού (232;233).

Ένα ενδιαφέρον πεδίο έρευνας σχετίζεται με αντισώματα κατευθυνόμενα στα κύτταρα του ΗΚΚ. Τα αντιγόνα που σχετίζονται με τον όγκο είναι πολύ καλοί στόχοι γιά στόχευση με φάρμακα και γονίδια, προσφέροντας υψηλή κυτταρική ειδικότητα. Μελέτες δείχνουν ότι είναι δυνατή η δημιουργία τμημάτων μονοκλωνικών αντισωμάτων υψηλής συγγένειας, τα οποία μπορεί να επιτρέπουν ειδική στόχευση όγκων από αδενοϊούς περιέχοντες γονίδια-αυτοκτονίας (suicide genes), χημειοθεραπευτικούς παράγοντες όπως η μεθοτρεξάτη και κυτταροτοξικά πεπτίδια ώστε να υπάρξουν αντινεοπλασματικές δράσεις. Σχετικές θεραπευτικές εφαρμογές αναμένονται με ενδιαφέρον (234).

Η ανοσοθεραπεία του καρκίνου είναι ελκυστική προσέγγιση λόγω μεγάλης ειδικότητας της ανοσολογικής απάντησης. Η ενεργοποίηση ειδικής απάντησης προς τον ΗΚΚ μπορεί να επιτευχθεί μέσω μεθόδων στόχευσης αυτοαντιγόνων σχετιζόμενων με τον όγκο. Επίσης το ανοσολογικό σύστημα μπορεί να στοχεύσει εναντίον ιικών αντισωμάτων σε ασθενείς με HBV, HCV χρόνια ηπατοπάθεια. Επίσης με ειδικές τεχνικές εμβολιασμού μπορεί να καταστεί ο όγκος ανοσογενετικός,

επιτρέποντας στον οργανισμό να επιτεθεί ανοσολογικά ενεντίον αντιγόνων στόχων. Τα μέχρι τώρα δημοσιευμένα δεδομένα δείχνουν ότι σχετικές προσεγγίσεις μπορεί να επηρεάσουν την υποτροπή και την επιβίωση σε ασθενείς με ΗΚΚ. Η κατάλληλη θέση γιά τις ανοσολογικές θεραπείες επί του παρόντος είναι μετά από ηπατεκτομή και στα πλαίσια συμπληρωματικής θεραπείας (235).

Ταμοξιφαίνη

Στη βάση κλινικών και πειραματικών δεδομένων, ότι τα οιστρογόνα ενδέχεται να έχουν ρόλο στον πολλαπλασιασμό των ηπατοκυττάρων σε φυσιολογικές και νεοπλασματικές καταστάσεις, δοκιμάστηκε η ταμοξιφαίνη γνωστό αντιοιστρογόνο φάρμακο από τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού, στη θεραπεία ανεγχείρητου ΗΚΚ. Παρά τις αρχικά θετικές μελέτες (2 προοπτικά ελεγχόμενες και 1 τυχαιοποιημένη) (236-238) και μία οριακά θετική πρόσφατη τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη {Barbare, 2005 334 /id επαναλαμβανόμενες - τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες και διπλή τυφλή placebo ελεγχόμενη-μελέτες έδειξαν ότι δεν υπάρχει παράταση επιβίωσης και βελτίωση της ποιότητας ζωής ασθενών με προχωρημένο ΗΚΚ (239-242), (243).

Σωματοστατίνη

Στη βάση των αντιπολλαπλασιαστικών ενδείξεων που εμφάνιζε η σωματοστατίνη στους νευροενδοκρινείς όγκους, αλλά και πλήθους πειραματικών δεδομένων, οι Κουρούμαλης και συν (113) έδειξαν σε προοπτική τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη ότι η χορήγηση οκτρεοτίδης σε ανεγχείρητο ΗΚΚ, οδηγούσε σε παράταση της επιβίωσης και βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. Έκτοτε

υπήρξε ιδαίτερο ενδιαφέρον στο θέμα και ακολούθησαν ανακοινώσεις με διαφορετικά συμπεράσματα:

-αναφορές περιπτώσεων πλήρους ύφεσης ανεγχείρητου ΗΚΚ με χορήγηση λανρεοτίδης (133) και οκτρεοτίδης (141) μακράς δράσης.

-αναφορές από μικρές σειρές, μερικής ανταπόκρισης ή σταθεροποίησης στο 43% των ασθενών που αντιμετωπίστηκαν με λανρεοτίδη μακράς δράσης και είχαν αρνητικό σπινθηρογράφημα οκτρεοτίδης (134), παράτασης επιβίωσης και βελτίωσης στην ποιότητα ζωής σε 40% των ασθενών με ανεγχείρητο ΗΚΚ που έλαβαν θεραπεία με μακρά ανάλογα σωματοστατίνης (136) και παράτασης επιβίωσης χωρίς μείωση μεγέθους του όγκου ή της αFP (138).

-αναφορά από τυχαιοποιημένη προοπτική μελέτη 70 ασθενών που δεν διαπιστώνει παράταση επιβίωσης (139), όπου όμως οι ασθενείς της ομάδας μελέτης κατά τα δύο τρίτα δεν πρόλαβαν ουσιαστικά να λάβουν τη θεραπεία, ενώ πολλοί από αυτούς ήταν τελικού σταδίου (140) .

-διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη placebo ελεγχόμενη μελέτη με οκτρεοτίδη μακράς δράσης, τα αποτελέσματα της οποίας ανακοινώνονται προσεχώς (144).

<u>Σοραφενίμπη</u>

Πρόκειται για αναστολέα πολλών κινασών με per os χορήγηση. Αρχικά έχει χρησιμοποιηθεί στον καρκίνο του νεφρού, ενώ τα τελευταία χρόνια διεξήχθησαν μελέτες στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο. Η πρώτη μελέτη που ήταν αφορμή να λάβει άδεια κυκλοφορίας για τη συγκεκριμένη ένδειξη ήταν η μελέτη SHARP (244). Πρόκειται για διπλή τυφλή μελέτη φάσης ΙΙΙ, όπου 602 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε σοραφενίμπη ή placebo. Η διάμεση επιβίωση στην ομάδα της σοραφενίμπης ήταν

10.7 μήνες έναντι 7.9 στο εικονικό φάρμακο, ενώ οι ανεπιθύμητες ενέργειες αφορούσαν κυρίως σε διάρροια και σύνδρομο χεριών-ποδιών.

Η ανάγκη να αναπαραχθούν σε πληθυσμό της ΝΑ Ασίας διεξήχθη η Asian Pacific trial (245). 271 ασθενείς από την Κίνα, τη Ν. Κορέα και την Ταϊβάν τυχαιοποιήθηκαν σε σοραφενίμπη (N=150) ή placebo (N=76). Η διάμεση επιβίωση ήταν 6.5 μήνες στο φάρμακο μελέτης έναντι 4.2 μηνών στο εικονικό φάρμακο, με παρόμοιες ανεπιθύμητες ενέργειες.

Είναι ενδιαφέρον ότι και στις δύο μελέτες η παράταση επιβίωσης δεν ξεπερνούσε τους 3 μήνες, ενώ δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ φαρμάκου και placeboστο διάμεσο χρόνο για συμπτωματική εξέλιξη των ασθενών. Επιπρόσθετα η μεγάλη πλειοψηφία αφορούσε ασθενείς με Child-Pugh score A, όπου σε αρκετές μελέτες έχει περιγραφεί επιβίωση καλύτερη από τις προαναφερόμενες, ακόμα και σε μη θεραπευμένους ασθενείς, καταδεικνύοντας έτσι την ετερογένεια του ΗΚΚ (246). Ακόμα το ποσοστό των αλκοολικών ασθενών στις ομάδες μελέτης, η παρουσία θρομβώσεων ή μεταστάσεων αλλά και το προφίλ των παρενεργειών αποτελούν σημεία που χρήζουν ιδιαίτερης ανάλυσης.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Α. Κλινική μελέτη αναλόγων σωματοστατίνης μακράς δράσης σε ασθενείς με ΗΚΚ

1. Κλινική μελέτη αναλόγων σωματοστατίνης μακράς δράσης επί ανεγχείρητου ΗΚΚ
2. Κλινική μελέτη: αποτελέσματα και καμπύλες επιβίωσης
3. Συζήτηση επί των αποτελεσμάτων της κλινικής μελέτης

Β. Μελέτη θρομβωτικών παραγόντων σε ασθενείς με ΗΚΚ υπό ανάλογα σωματοστατίνης

1. Μελέτη θρομβωτικών γεγονότων ομάδας με ανεγχείρητο ΗΚΚ υπό ανάλογα σωματοστατίνης
2. Αποτελέσματα μελέτης θρομβώσεων σε ασθενείς με ανεγχείρητο ΗΚΚ υπό ανάλογα σωματοστατίνης
3. Συζήτηση επί της μελέτης θρομβώσεων με ανεγχείρητο ΗΚΚ υπό ανάλογα σωματοστατίνης

Γ. Επίδραση αιθανόλης επί των υποδοχέων σωματοστατίνης

1. Το πρόβλημα με την αλκοολική νόσο και η in vitro μελέτη
2. Μέθοδοι in vitro έκφρασης υποδοχέων σωματοστατίνης υπό οκτρεοτίδη, αιθανόλη, ακεταλδεϋδη
3. Αποτελέσματα πειραμάτων και επίκριση

Α. ΑΣΘΕΝΕΙΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ

Α1. Κλινική μελέτη αναλόγων σωματοστατίνης μακράς δράσης επί ανεγχείρητου ΗΚΚ

Η εμπειρία στο τμήμα μας από την προηγηθείσα τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη σε ασθενείς με μη χειρουργικό ΗΚΚ, έδειξε ότι η χορήγηση υποδόριας οκτρεοτίδης στην ομάδα μελέτης έδωσε πλεονέκτημα στην επιβίωση και καλύτερη ποιότητα ζωής συγκριτικά προς την ομάδα ελέγχου (113). Η πρόοδος στη φαρμακευτική τεχνολογία έδωσε τη δυνατότητα ύπαρξης αναλόγων σωματοστατίνης με ελεγχόμενη αποδέσμευση και κατεπέκτασιν μακρά δράση – ανάγκη χορήγησης κάθε 2-4 βδομάδες. Οι μορφές αυτές βοήθησαν σημαντικά στη βελτίωση της ποιότητας ζωής, καλύτερη συμμόρφωση, αλλά και εφάμιλλη ή ανώτερη αποτελεσματικότητα συγκριτικά προς τα ανάλογα βραχείας δράσης (69).

Παράλληλα προς την εργαστηριακή μελέτη και με την εμπειρία στο τμήμα μας αλλά και παίρνοντας υπόψη τις διεθνείς σχετικές μελέτες και το ασφαλές προφίλ των αναλόγων σωματοστατίνης, σχεδιάσαμε μιά προοπτική μελέτη χορήγησης οκτρεοτίδης ή λανρεοτίδης σε ασθενείς με ΗΚΚ.

Κριτήρια εισόδου των ασθενών στη μελέτη ήταν: ηλικία μεγαλύτερη των 18 ετών, διάγνωση ΗΚΚ με βιοψία είτε βάσει των κριτηρίων της πανευρωπαϊκής εταιρείας ήπατος (147), ΗΚΚ μη επιδεχόμενο ριζικής θεραπείας (ηπατεκτομής, μεταμόσχευσης ήπατος), συγκατάθεση ασθενούς και οικείων.

Χαρακτηριστικά Ομάδων Ασθενών

Η προϋπάρχουσα εμπειρία της αποτελεσματικότητας της οκτρεοτίδης σε ασθενείς με ανεγχείρητο ΗΚΚ (113) κατέστησε αναγκαία τη χρησιμοποίηση ιστορικής ομάδας ελέγχου, μιά και δεν θα ήταν ηθικά θεμιτό να μην προσφερθεί θεραπεία σε όσους ασθενείς είχαν ανεγχείρητο ΗΚΚ και βεβαίως δεν ήταν σε προθανάτια κατάσταση. Οι δύο ομάδες ήταν συγκρίσιμες ως προς το φύλο, την παρουσία ή όχι κίρρωσης και το ιολογικό status. Από την άλλη πλευρά μόνο ασθενείς με κατάταξη Okuda I ή II που γιά διάφορους λόγους δεν είχαν πάρει θεραπεία περιελήφθησαν στην ομάδα ελέγχου, η οποία όμως είχε περισσότερους ασθενείς με κακή ηπατική εφεδρεία (Child Pugh C 26% στην ομάδα ελέγχου έναντι 6% στην ομάδα μελέτης). Τα χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης –αλλά και αντίστοιχων ασθενών με ΗΚΚ που χρησιμοποιήθηκαν ως ιστορική ομάδα ελέγχου- που περιελήφθησαν στη μελέτη παρατίθενται στον πίνακα 1:

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά ασθενών στις δύο ομάδες

	ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕΛΕΤΗΣ *Αριθμός ασθενών - %*	**ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ** *Αριθμός ασθενών - %*
ΦΥΛΟ *(♂ / ♀)*	26/6 (81/19 %)	25/2 (93/7 %)
ΣΤΑΔΙΟ OKUDA: ***I-II-III***	10/20/2 (31/63/6 %)	7/20/0 (26/74 %)
ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΤΑ ***Child-Pugh A/ B/ C***	24/6/2 (75/19/6 %)	8/12/7 (30/44/26 %)
ΚΙΡΡΩΣΗ ***ΠΑΡΟΥΣΑ/ΑΠΟΥΣΑ***	26/6 (81/19 %)	26/1 (96/5 %)
ΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ***HBV-HCV-ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ***	9/9/13 (29/29/42 %)	9/10/8 (33/37/30 %)

Καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν ο θάνατος του ασθενούς. Κατά τη διάρκεια της μελέτης όλοι οι ασθενείς της ομάδας ελέγχου είχαν αποβιώσει ενώ από την ομάδα μελέτης απεβίωσε το 53%.

Χορήγηση Φαρμάκου μελέτης

Η χορήγηση οκτρεοτίδης ή λανρεοτίδης έγινε χωρίς τυχαιοποίηση και με βάσει τη διαθεσιμότητα του φαρμάκου, είτε τη συμμόρφωση των ασθενών στη φαρμακοτεχνική του εκάστοτε σκευάσματος (υπάρχουν διαφορές στο μέγεθος της

βελόνας έγχυσης, στο διάστημα μεταξύ των ενέσεων), θεωρώντας εφάμιλλη τη δραστικότητα των δύο αναλόγων σωματοστατίνης· στο τέλος 50% έλαβαν οκτρεοτίδη και ομοίως λανρεοτίδη. Η οκτρεοτίδη χορηγήθηκε εξαρχής ως ενέσιμο σκεύασμα 30mg im κάθε μήνα, ενώ η λανρεοτίδη ως σκεύασμα 15 mg δις μηνιαίως και αργότερα όταν έγινε διαθέσιμη η μηνιαία μορφή 30 mg ενδομυϊκά. Στη μελέτη μας χρησιμοποιήσαμε εξαρχής τα μακράς δράσης ανάλογα σωματοστατίνης, ενώ η πρακτική πρόσφατων μελετών περιλαμβάνει χορήγηση υποδόριας οκτρεοτίδης γιά 2 εβδομάδες (ώστε να δημιουργηθούν επίπεδα του φαρμάκου στους ασθενείς) και ακολούθως η θεραπεία συνεχίζεται με τα μακράς δράσης ανάλογα (138;139;247).

Στατιστική επεξεργασία:

Η προγνωστική ομοιογένεια των δύο ομάδων εξετάστηκε με Mann Whitney test γιά συνεχείς παραμέτρους (ηλικία) και με Chi-squared test ή Fisher's exact test αναλόγως, γιά τις διακριτές μεταβλητές. Οι κατηγορίες Okuda II και III θεωρήθηκαν μαζί γιά την πραγματοποίηση της ανάλυσης. Η μέθοδος Bonferroni χρησιμοποιήθηκε γιά πολλαπλές συγκρίσεις-όρια σημαντικότητας. Έγινε μη παραμετρική Kaplan Meier εκτίμηση της επιβίωσης και στις δύο ομάδες. Εφαρμόστηκε log rank test υπό την υπόθεση ότι ο κίνδυνος θανάτου και στις δύο ομάδες είναι ίδιος. Ακολούθως, πολυπαραγοντικό μοντέλο κινδύνου (Cox proportional) εφαρμόστηκε γιά την ανέρευση στατιστικώς σημαντικών προγνωστικών παραμέτρων (γιά τυχούσα παράμετρο είσοδος επί $p< 0,05$ και απαλειφή επί $p<0,1$).

Γιά μεγιστοποίηση της ομοιογένειας μεταξύ των δύο ομάδων ως προς την σοβαρότητα της νόσου κατά τη διάγνωση, επιλέχθηκαν μόνο Okuda I και II ασθενείς στην ομάδα ελέγχου και μάλιστα από αυτούς που κατετάχθησαν ως Child Pugh C,

μόνο όσοι ήταν Okuda I περιελήφθησαν. Με τον τρόπο αυτό πιστεύουμε ότι οποιοδήποτε bias ως προς τη σοβαρότητα της νόσου προς όφελος της ομάδας μελέτης (γνωστό πρόβλημα σε ιστορικές ομάδες ελέγχου) θα ελαχιστοποιούνταν. Έτσι υπό τις αυστηρές αυτές προϋποθέσεις στην ομάδα ελέγχου παρέμειναν 20 ασθενείς.

Α2. Παρουσίαση αποτελεσμάτων κλινικής μελέτης

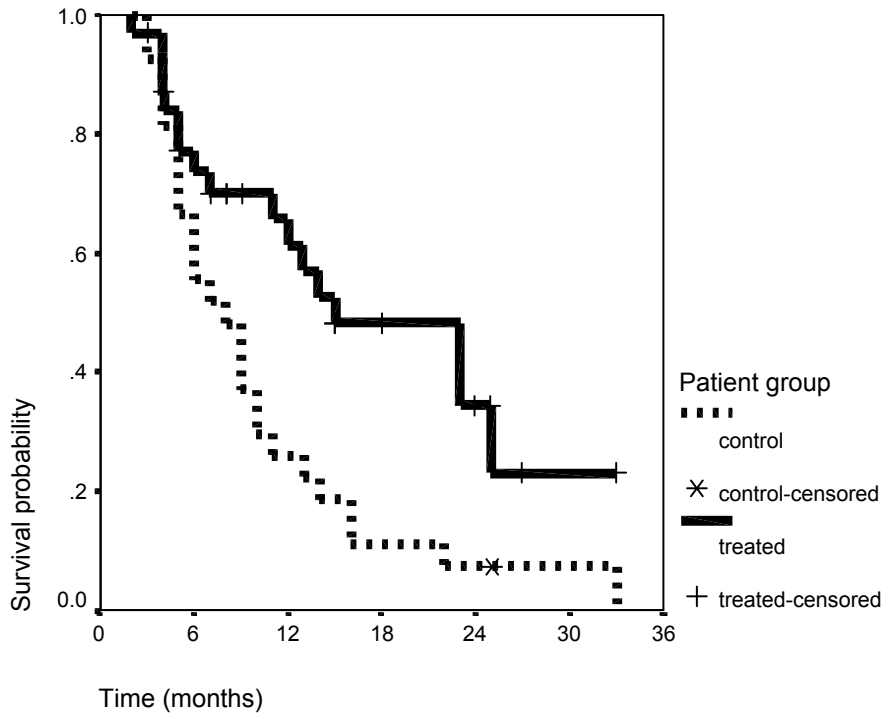
Το συνολικό διάστημα παρακολούθησης ήταν (διάμεση τιμή, median) 25 μήνες (εύρος 2-33 μήνες). Η επιβίωση στους 12 μήνες γιά τους 32 ασθενείς της ομάδας θεραπείας ήταν 61% (95% CI 43-80%) και 26% (95% CI 9-43%) γιά τους 27 αθενείς της ομάδας ελέγχου. Επιβεβαιώθηκε ότι δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ των δύο σκευασμάτων (οκτρεοτίδη, λανρεοτίδη μακράς δράσης) που χρησιμοποιήθηκαν στην ομάδα μελέτης. Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται οι επιβιώσεις 6 και 12 μηνών στην ομάδα μελέτης, σε σχέση με διάφορους προγνωστικούς παράγοντες. Η διάμεση ηλικία των ασθενών αυτών ήταν 71 έτη.

Πίνακας 2: Επιβιώσεις 6 και 12 μηνών στην ομάδα μελέτης βάσει προγνωστικών παραγόντων

	Ποσοστό ασθενών που επιβίωσαν 6 μήνες, 95% CI	***Ποσοστό ασθενών που επιβίωσαν 12 μήνες, 95% CI***
ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗ	74 (58-89)	61 (43-80)
ΦΥΛΟ		
♂	71 (53-89)	56 (36-77)
♀	83 (54-100)	83 (54-100)
OKUDA		
I	100	90 (71-100)
II, III	60 (39-82)	46 (21-71)
CHILD PUGH ***A***	82 (67-98)	67 (47-87)
B,C	50 (15-85)	50 (15-85)
ΚΙΡΡΩΣΗ: ***ΝΑΙ***	71 (53-89)	67 (47-87)
ΚΙΡΡΩΣΗ: ***ΟΧΙ***	83 (54-100)	83 (54-100)
HCV	75 (45-100)	56 (17-95)
HBV	76 (47-100)	76 (47-100)
ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	69 (44-94)	52 (24-80)
ΗΛΙΚΙΑ		
<71 ΕΤΗ	72 (48-95)	48 (14-81)
≥71 ΕΤΗ	75 (54-96)	69 (46-91)

Από την καμπύλη επιβίωσης (Kaplan-Meier) γιά την ομάδα ασθενών και ολόκληρη την ομάδα ελέγχου φαίνεται (Διάγραμμα 1) ότι υπάρχει διαφορά στην επιβίωση, με την ομάδα ελέγχου να έχει μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου σε κάθε χρονική στιγμή ($p<0.01$).

Διάγραμμα 1: Καμπύλη επιβίωσης Kaplan Meier γιά την ομάδα μελέτης (n=32) και την ομάδα ελέγχου (n=27)



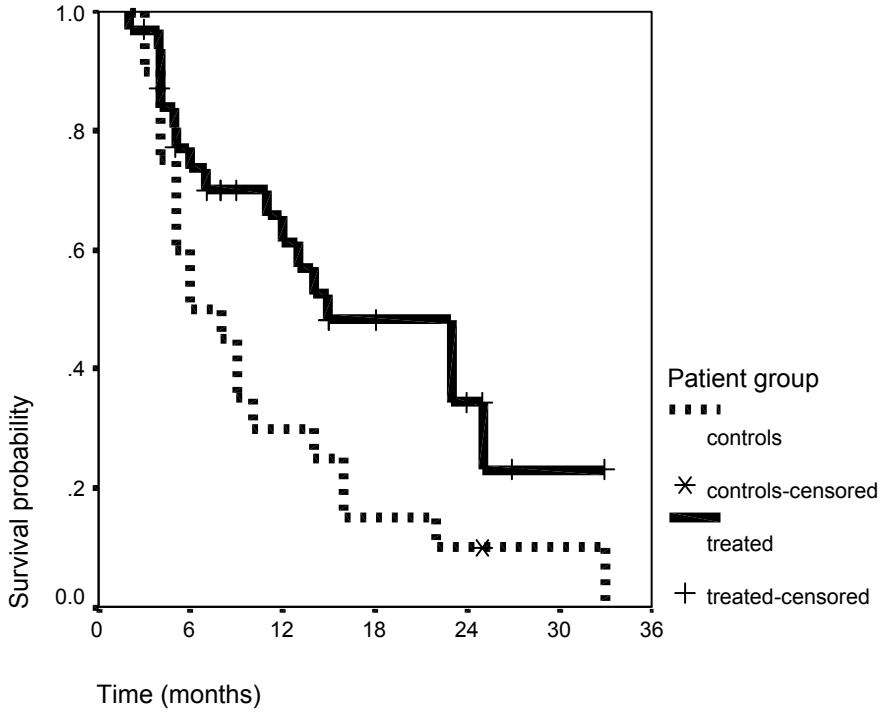
Η εκτιμώμενη επιβίωση γιά την ομάδα μελέτης ήταν 15 μήνες (95% CI, 6-24) ενώ 8 μήνες γιά την ομάδα ελέγχου (95% CI, 5-11). Ο αριθμός των ασθενών που απαιτείται να λάβουν θεραπεία στους 12 μήνες ώστε να υπάρξει όφελος επιβίωσης ενός επιπλέον ασθενούς μετά από ένα χρόνο ήταν 2.8 (NNT=2.8). Ο σχετικός κίνδυνος θανάτου γιά τους ασθενείς της ομάδας ελέγχου ήταν 2.7 (95% CI, 1.4-5.3), με τον κίνδυνο αυτό να είναι ακόμα μεγαλύτερος (5 φορές της ομάδας

μελέτης/θεραπείας) γιά τους ασθενείς με Okuda II (συμπεριλαμβανομένων και 2 ασθενών Okuda III στην ομάδα μελέτης/θεραπείας).

Επιπρόσθετα, επαναλαμβάνοντας την ανάλυση κατόπιν εξαίρεσης από την ομάδα ελέγχου ασθενών με Child Pugh C (έμειναν 20 ασθενείς με A και B), τα αποτελέσματα ήταν τα ίδια. Η ομάδα που έλαβε θαραπεία είχε καλύτερη επιβίωση από την ομάδα ελέγχου, και αυτό ήταν στατιστικά σημαντικό (p=0.032). Στη συγκεκριμένη περίπτωση, ο σχετικός κίνδυνος θανάτου γιά την ομάδα ελέγχου ήταν 3.1 και ο αριθμός NNT ήταν 3.2 (95% CI, 1.5-6.4).

Οι καμπύλες επιβίωσης γιά την ομάδα μελέτης/θεραπείας και την ομάδα των 20 επιλεγμένων ασθενών με Child Pugh A και B παρουσιάζονται στο διάγραμμα 2:

Διάγραμμα 2: Καμπύλες επιβίωσης (Kaplan Meier) γιά την ομάδα μελέτης (n=32) και την επιλεγμένη ομάδα ελέγχου(n=20)



Σε ό,τι αφορούσε στην εξέλιξη των όγκων, περίπου το 40% από τους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία έδειξαν είτε σταθεροποίηση του όγκου (30%) είτε μείωση του μεγέθους (10%) κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης. Αναφορικά προς την ποιότητα ζωής, έγινε προσπάθεια να προσδιοριστεί με βάση την κλίμακα Karnofsky (249) μέσω τακτικής παρακολούθησης των ασθενών αλλά και με συνεντεύξεις με τους οικείους τους επί ασθενών που ήταν κλινήρεις κατ'οίκον.

Οι ασθενείς που έλαβαν αγωγή με τα μακράς δράσης ανάλογα σωματοστατίνης είχαν σημαντικά βελτιωμένη ποιότητα ζωής στο περίπου 70% του συνόλου. Πάνω από το 40% διατήρησαν σταθερό Karnofsky score και ένα 25% είχε περεταίρω βελτίωση στη διάρκεια της αγωγής. Αντιθέτως, οι ασθενείς της ομάδας ελέγχου παρουσίασαν στην συντριπτική πλειοψηφία τους επιδείνωση του δείκτη κατά το διάστημα της παρακολούθησης.

Α3. Συζήτηση επί των αποτελεσμάτων της κλινικής μελέτης

Είναι κοινός τόπος ότι η μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών με ΗΚΚ δεν επιδέχεται ριζικής θεραπείας (ηπατεκτομή, μεταμόσχευση ήπατος, ακόμα και καυτηριασμό με ραδιοσυχνότητες) εξαιτίας της επέκτασης του όγκου είτε της υποκείμενης κακής ηπατικής εφεδρείας είτε και των δύο (206;250). Ανάμεσα στις μη ριζικές θεραπευτικές προσεγγίσεις που υπάρχουν, πρόσφατα έγινε αποδεκτό ότι ο εμβολισμός (± χημεοεμβολισμό) της ηπατικής αρτηρίας προσφέρει ανακούφιση συμπτωμάτων, περιορισμό μεγέθους όγκου, αντιμετώπιση στη λίστα αναμονής γιά μεταμόσχευση και σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών παράταση επιβίωσης (166;222-225). Το πρόβλημα είναι ότι το παρατηρούμενο όφελος αφορά σε επιλεγμένους

ασθενείς με ΗΚΚ οι οποίοι συνήθως παρουσιάζουν ευνοϊκά κλινικά - ογκολογικά χαρακτηριστικά, έτσι εξαιρώντας πλήθος άλλων είτε με ιδιαίτερα επιβαρυμένη ηπατική λειτουργία και στους οποίους ο εμβολισμός θα ήταν επιβλαβής, είτε άλλους με διήθηση μεγάλων φλεβικών στελεχών, είτε με σύγχρονες λεμφαδενικές ή άλλες εξωηπατικές μεταστάσεις, είτε τέλος με πολλαπλά συνοδά ιατρικά προβλήματα λ.χ. καρδιοαναπνευστικά.

Έχουν γίνει επανειλημμένως προσπάθειες στη διεθνή ιατρική κοινότητα να καλυφθεί ακριβώς αυτό το κενό γιά τους ασθενείς με μη χειρουργικό ΗΚΚ. Τα αποτελέσματα από τις υπάρχουσες μελέτες γιά προσεγγίσεις όπως η συστηματική χημειοθεραπεία, η ακτινοβολία, η χορήγηση ιντερφερόνης ή ταμοξιφαίνης ήταν απογοητευτικά (206;250). Η αρχική σε παγκόσμια κλίμακα τυχαιοποιημένη μελέτη από Κουρούμαλη και συν. (113) έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα και ήταν απαρχή πολλών μελετών σε διάφορες χώρες, προσφέροντας διαφορετικές προσεγγίσεις αλλά και χρήσιμες πληροφορίες γιά διαφορετικούς πληθυσμούς αναφορικά προς την καταγωγή, τον τρόπο ζωής αλλά και την αιτιολογία της ηπατοπάθειας που οδήγησε στον ΗΚΚ.

Η παρούσα κλινική μελέτη πραγματοποιήθηκε προοπτικά, χρησιμοποιώντας τα διαθέσιμα στη δεδομένη χρονική περίοδο ανάλογα μακράς δράσης σωματοστατίνης, την οκτρεοτίδη (20 ή 30 mg μηνιαίως) και την λανρεοτίδη 30 mg ανά 15 ημέρες και αργότερα με τη νέα μορφή ανά 28 ημέρες. Οι ασθενείς είχαν πολύ καλή συμμόρφωση στην θεραπεία και δεν υπήρξε αποχώρηση ασθενών από τη μελέτη. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν λίγες και ήπιες. Σε πολλές περιπτώσεις, στην αρχική χορήγηση και των δύο ουσιών αναφέρονταν ήπιο επιγαστρικό άλγο συνήθως αυτοπεριοριζόμενο, ενώ ήταν συχνή η αναφορά σε ήπια διαρροϊκή συνδρομή (30-40%). Άλλα προβλήματα που παρετηρήθησαν ήταν σχετικά με δυχέρεια στη ρύθμιση

γλυκόζης αίματος σε γνωστούς διαβητικούς που σε λίγες περιπτώσεις (2 ασθενείς) απαιτήθηκε αναπροσαρμογή της αντιδιαβητικής αγωγής. Επί χολολιθίασης επιλέξαμε να συγχορηγήσουμε στους ασθενείς ουρσοδεοξυχολικό οξύ λόγω της γνωστής δράσης των αναλόγων σωματοστατίνης στην κινητικότητα της χοληδόχου και στην αυξημένη επίπτωση της λιθίασης. Σε μία περίπτωση υπήρξε σοβαρή χολοκυστίτις με συνοδό ρήξη της αντιρρόπησης της ηπατικής εφεδρείας που αντιμετωπίστηκε συντηρητικά, χωρίς ουσιαστικά διακοπη της θεραπείας.

Στη μελέτη δεν έγινε τυχαιοποίηση ασθενών ούτε χορήγηση εικονικού φαρμάκου διότι θεωρήθηκε ότι όλοι οι ασθενείς ήταν σε θέση να λάβουν θεραπεία και να έχουν δυνητικό όφελος. Έτσι, στην ομάδα των ασθενών συμπεριελήφθησαν ασθενείς με μεταστατική νόσο (πνεύμονες, λεμφαδένες), με διήθηση πυλαίας φλέβας και ανεξάρτητα ηπατικής εφεδρείας. Στη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών συνυπήρχε κίρρωση (81%) και η αιτιολογία αυτής ήταν ιογενούς (ίδια συμμετοχή HBV και HCV) ή αλκοολικής αιτιολογίας. Οι περισσότεροι ασθενείς ήταν Okuda II 63% ενώ III ήταν μόνο το 6%, παρότι μόνο το 25% ήταν Child Pugh B ή C. Πρέπει όμως να ληφθεί υπόψη ότι δεν υπήρξε αποκλεισμός λόγω ηλικίας, καρδιοαναπνευστικών νοσημάτων ή εξωηπατικής νόσου, παραγόντων που θα αποτελούσαν κριτήρια αποκλεισμού γιά ριζικές θεραπείες (ηπατεκτομή/ μεταμόσχευση) ή για θεραπείες τοπικής καταστροφής (εμβολισμός, ραδιοσυχνότητες, αιθανόλη).

Η μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση αναλόγων σωματοστατίνης (οκτρεοτίδης και λανρεοτίδης) μακράς δράσης προσέφερε παράταση επιβίωσης στην ομάδα των ασθενών σε σύγκριση με ιστορική ομάδα ελέγχου. Η τελευταία αυτή ομάδα αφορούσε ασθενείς που δεν έλαβαν καμιά θεραπεία κατά τη διεξαγωγή της τυχαιοποιημένης ελεγχόμενης μελέτης που ανακοινώθηκε το 1998 από Κουρούμαλη

και συν. Υπήρξε στατιστικώς σημαντική διαφορά στην επιβίωση ενός έτους, καθώς 61% της ομάδας θεραπείας έναντι 26% της ομάδας ελέγχου ($p<0.01$), ενώ η διάμεση επιβίωση ήταν 15 έναντι 8 μηνών αντιστοίχως. Ο αριθμός ασθενών που ήταν απαραίτητο να λάβουν θεραπεία ώστε να υπάρξει ένας επιπλέον επιζών στους 12 μήνες ήταν 2.8. Επιπρόσθετα γιά να αποφευχθεί κατά τον δυνατόν σύγκριση με ασθενείς της ομάδας ελέγχου που είχαν χειρότερη ηπατική λειτουργία και έτσι να δοθεί πλεονέκτημα επιβίωσης στην ομάδα μελέτης, έγινε επανάληψη της ανάλυσης αφού εξαιρέθηκαν οι ασθενείς με Child Pugh C. Σε ό,τι αφορά στα επιμέρους χαρακτηριστικά, υπήρξαν ασθενείς με υποστροφή του όγκου γιά ικανό χρονικό διάστημα και ταυτόχρονα σημαντική μείωση της α- εμβρυϊκής σφαιρίνης. Οι περισσότεροι όμως ασθενείς παρουσίασαν αναστολή αύξησης-σταθεροποίηση τοης νεοπλασματικής μάζας (στην ομάδα αυτή χωρίς αξιόλογες μεταβολές στην α εμβρυϊκή σφαιρίνη) με πολύ καλή ποιότητα ζωής και φυσιολογική δραστηριότητα οι περισσότεροι.

Προφανώς υπάρχουν αδύναμα σημεία στην κλινική αυτή μελέτη. Είναι γεγονός ότι δεν ήταν τυχαιοποιημένη και η ομάδα ελέγχου ήταν ιστορική και όχι σύγχρονη. Επίσης παρότι οι περισσότερες μελέτες θεωρούν εφάμιλλες την οκτρεοτίδη και τη λανρεοτίδη, η χρήση των δύο διαφορετικών σκευασμάτων χωρίς τυχαιοποίηση είναι σημείο κριτικής. Το μέγεθος του δείγματος ασθενών της μελέτης ήταν περιορισμένο, πράγμα που καθιστά ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα τη διεξαγωγή παρόμοιας κλινικής μελέτης προτιμητέον σε πολυκεντρική βάση. Η συσχέτιση επιπλέον του κλινικού αποτελέσματος με το φαινότυπο υποδοχέων σωματοστατίνης στον εκάστοτε ασθενή είναι ένα βασικό βήμα στην μελλοντική αξιολόγηση της δυναμικής της ενδιαφέρουσας αυτής θεραπευτικής προσέγγισης.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αλλά και της τυχαιοποιημένης υπό Κουρούμαλη και συν. αναπαρήχθησαν και από άλλους ερευνητές σε διάφορες χώρες. Η ομάδα του Πανεπιστημίου της Βιέννης ανακοίνωσε περίπτωση ασθενούς με καλή μεν ηπατική εφεδρεία αλλά λίαν δυσμενή ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά ενός ΗΚΚ 4^{ου} σταδίου, που παρουσίασε εντυπωσιακή απάντηση στη χορήγηση λανρεοτίδης μακράς δράσης (133). Η ίδιοι ερευνητές μελέτησαν 21 ασθενείς με μη χειρουργικό ΗΚΚ, ενώ υπέβαλαν 15 από αυτούς σε σπινθηρογράφημα οκτρεοτίδης (αρνητικό), και βρήκαν ότι 43% των ασθενών παρουσίασαν θετική απάντηση στη λανρεοτίδη 30mg υπό την έννοια της ανταπόκρισης ή της σταθεροποίησης του όγκου (134). Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία τόσο με τις δικές μας σειρές ασθενών όσο και με την πειραματική μελέτη από Reubi και συν (49) που διεπίστωσαν ότι το 41% των ΗΚΚ ήταν θετικά σε υποδοχείς σωματοστατίνης.

Πρόσφατα δημοσιεύθηκε ενδιαφέρουσα προοπτική μελέτη από τα Πανεπιστήμια Αννόβερου και Λειψίας, επί 41 ασθενών με προχωρημένο ΗΚΚ και προχωρημένη κίρρωση (143). Η ομάδα της οκτρεοτίδης (41 ασθενείς) συγκρίθηκε με ομάδα 33 ασθενών που υποβλήθηκαν χημειοεμβολισμό. Ο όγκος παρέμεινε σταθερός σε 26 ασθενείς σε (διάμεσο) διάστημα παρακολούθησης 21 μηνών και επιδεινώθηκε σε 14, ενώ ένας ασθενής παρουσίασε μερική ανταπόκριση. Δεν υπήρξαν σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες στην ομάδα της οκτρεοτίδης. Οι ερευνητές διεπίστωσαν ότι η θεραπεία ήταν ασφαλής και επωφελής γιά τους ασθενείς αυτούς με προχωρημένο ΗΚΚ επίεδάφους κιρρώσεως. Δεδομένου του επιβαρυμένου προφίλ των ασθενών έκριναν ότι η συνολική επιβίωση 571 ήταν μάλλον πέραν του αναμενομένου, πράγμα που ενδεχομένως υποδήλωνε ότι γιά την ομάδα αυτή των ασθενών η οκτρεοτίδη πιθανά βελτίωσε την επιβίωση και προκάλεσε καθυστέρηση της αύξησης του όγκου (143). Περίπτωση ασθενούς με πλήρη υποστροφή πολυεστιακού ΗΚΚ (όζοι μέγιστης

διαμέτρου 5 εκ.) και άριστη γενική κατάσταση μετά από 22 μήνες θεραπείας (οκτρεοτίδη μακράς δράσης) περιγράφηκε πρόσφατα από το Πανεπιστήμιο του Μονάχου (141).

Στη χώρα μας υπήρξε αρχική μελέτη 28 ασθενών με προχωρημένο ΗΚΚ που συγκρίθηκαν με 13 ασθενείς που δεν ήταν δυνατό να λάβουν θεραπεία με προσπάθεια προσδιορισμού υποδοχέων με σπινθηρογράφημα οκτρεοτίδης. Τα αποτελέσματα που ανακοινώθηκαν από τους Δημητρουλόπουλο και συν. (Αθήνα) έδειξαν παράταση επιβίωσης στην ομάδα θεραπείας και βελτίωση ποιότητας ζωής (138), ενώ 2 χρόνια αργότερα η ίδια ομάδα ανακοίνωσε τα αποτελέσματα τυχαιοποιημένης ελεγχόμενης μελέτης μεγαλύτερης ομάδας, 127 ασθενών όπου επιβεβαιώνονται τα προηγούμενα αποτελέσματα (251). Στη μελέτη αυτή μελετήθηκαν ασθενείς με μη χειρουργήσιμο ΗΚΚ, με μεταστατική νόσο, που δεν ήταν υποψήφιοι γιά χημειοεμβολισμό. Βασίστηκε σε σπινθηρογράφημα υποδοχέων σωματοστατίνης και οι περισσότεροι (80%) ήταν σταδίου C κατά BCLC. Οι ασθενείς με αρνητικό σπινθηρογράφημα (N=66) αντιπροσώπευσαν την ομάδα ελέγχου, ενώ από τους έχοντες θετικό σπινθηρογράφημα 31 τυχαιοποιήθηκαν σε οκτρεοτίδη μακράς δράσης και 30 σε εικονικό φάρμακο. Οι ερευνητές διεπίστωσαν ότι η ομάδα της οκτρεοτίδης είχε σημαντικά μεγαλύτερη επιβίωση και μικρότερο κίνδυνο θανάτου σε σχέση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (251). Σε συμφωνία προς τις προηγούμενες μελέτες, ποσοστό 48% των ασθενών με ΗΚΚ βρέθηκαν θετικοί σε υποδοχείς σωματοστατίνης.

Μιά άλλη ομάδα ερευνητών (όπως και η προηγούμενη από αντικαρκινικό τμήμα) μελέτησε αυτή τη φορά μιά ομάδα 16 ασθενών με συμπτωματικές ηπατικές μεταστάσεις από διάφορα συμπαγή μη νευροενδοκρινικά νεοπλάσματα (πνεύμονος, παχέος εντέρου, παγκρέατος, στομάχου) ως προς την ανταπόκριση στην οκτρεοτίδη μακράς δράσης. Οι ερευνητές έκριναν ότι η θεραπεία ήταν αποτελεσματική καθώς

βελτίωσε σημαντικά την ποιότητα ζωής και συνεισέφερε στη μη πρόοδο του νεοπλασματικού φορτίου γιά ικανό χρονικό διάστημα, αποτελώντας ικανοποιητική εναλλακτική θεραπευτική λύση στις συγκεκριμένες προχωρημένες καταστάσεις (252). Περαιτέρω μελέτες μεγαλυτέρου αριθμού ασθενών και κατηγοριοποιημένων ανά είδος πρωτοπαθούς νεοεξεργασίας αναμένονται με ενδιαφέρον.

Από την περιοχή του Hong Kong μιά τυχαιοποιημένη μελέτη με χρήση εικονικού φαρμάκου από τους Yuen και συν (139) της οκτρεοτίδης μακράς δράσης επί ασθενών με προχωρημένο ΗΚΚ. Κατ' αυτήν 70 ασθενείς αφού έλαβαν γιά 2 εβδομάδες 250mcg οκτρεοτίδης sc τυχαιοποιήθηκαν ώστε 35 από αυτούς να πάρουν θεραπεία με οκτρεοτίδη LAR 30 mg και 35 να πάρουν εικονικό φάρμακο. Οι ερευνητές δεν διεπίστωσαν καμιά παράταση επιβίωσης στην ομάδα της οκτρεοτίδης (διάμεση επιβίωση 1.9 μήνες), όπως επίσης καμιά μείωση του μεγέθους του όγκου, πτώση της α εμβρυϊκής σφαιρίνης ή βελτίωση στην ποιότητα ζωής. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής άφησαν σημαντικά ερωτηματικά σε διάφορα επίπεδα. Έτσι παρότι το 82% των ασθενών της μελέτης ήταν Okuda I, II, θα περιμέναμε μεγαλύτερη επιβίωση σύμφωνα με την αρχική αναφορά από Okuda (168). Σοβαρό πρόβλημα στη μελέτη κατά τη γνώμη μας απετέλεσε και το γεγονός ότι οι 21 από τους 35 ασθενείς της ομάδας της οκτρεοτίδης έλαβαν μία ή καμία δόση του φαρμάκου, ενώ από τη δική μας εμπειρία το αποτέλεσμα στην επιβίωση απαιτεί κάποιο διάστημα λήψης της θεραπείας, κατ' ελάχιστο 6 μήνες. Οι καμπύλες επιβίωσης της συγκεκριμένης μελέτης μετά τους 6 μήνες είναι όμοιες με αυτές που περιγράφονται στις δικές μας σειρές ασθενών. Ασθενείς με πολύ μικρό προσδόκιμο επιβίωσης όπως στη μελέτη από τους Yuen και συν δεν είναι ιδανικοί γιά να κριθεί το όποιο όφελος μιας θεραπείας, όπως εν προκειμένω της οκτρεοτίδης (140).

Πίνακας 3: Τυχαιποιημένες ελεγχόμενες μελέτες Οκτρεοτίδης επί μη χειρουργικού ΗΚΚ

Μελέτη	Θεραπεία	Τυχαιοποίηση	Έκβαση	Σχόλια
Kouroumalis 1998	Octreotide sc	Θεραπεία 28	↑ επιβίωσης, ↓aFP	SSTR: μόνο επί 23 ασθενών
	250μg x2	Ομ. Ελέγχου 30	↑ ποιότητα ζωής (QoL)	
Yuen 2002	Octreotide LAR	Θεραπεία 35	Αρνητική γιά παράταση	60% ομάδας θεραπείας ≤ 1ένεση
	30mg/μήνα	Placebo 35	επιβίωσης, γιά ↑ QoL, aFP	απρόσμενα ↓ επιβίωση παρότι
				Okuda I, II σε 83%
Dimitroulopoulos 2007	Octreotide LAR	Θεραπεία 31	↑ επιβίωσης, QoL	Μόνο ασθενείς με
	30mg/ μήνα	Placebo 30		σπινθηρογράφημα + σε SSTR, ενώ
		Ομ. Ελέγχου 66		αρνητικοί σε σπι/μα 66
Becker 2007	Octreotide LAR	Θεραπεία 60	Καμία διαφορά στην	55% αλκοολικοί
	30mg/ μήνα	Placebo 59	επιβίωση	>80% θρόμβωση πυλαίας
				μόνο 29% θεραπεύθηκε > 6 μήνες
Barbare 2009	Octreotide LAR	Θεραπεία 135	Όχι παράταση	75% αλκοολικοί
	30mg/ μήνα	Placebo 137	επιβίωσης	1/3 στην ομάδα οκτρεοτίδης
				σταθεροποίηση

Όπου SSTR: υποδοχείς σωματοστατίνης, LAR: μακράς δράσης

Τυχαιοποιημένη μελέτη ελεγχόμενη από εικονικό φάρμακο από τη Γερμανία δεν κατέδειξε κλινικό όφελος γιά τους 60 ασθενείς που έλαβαν οκτρεοτίδη σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (253). Σημαντικά στοιχεία της μελέτης είναι ότι περισσότεροι από 50% των ασθενών ήταν αλκοολικοί και πάνω από το 80% παρουσίαζαν κάποιου βαθμού θρόμβωση πυλαίας φλέβας. Εντυπωσιακό ήταν δε ότι παρότι περί το 90% ήταν Child Pugh score A & B και Okuda I, II σε > 90%, και εντούτοις μόλις μετά βίας έφτασαν επιβίωση 5 μηνών.

Από την Κίνα δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα μιάς μικρής τυχαιοποιημένης μελέτης επί ανεγχείρητου ηπατοκυτταρικού καρκίνου. 39 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν συνδυασμό ταμοξιφαίνης και οκτρεοτίδης (24 ασθενείς) έναντι χημειοθεραπείας (5 φλουορουακίλλης με μιτομυσίνη). Η ομάδα της οκτρεοτίδης είχε 4 περιπτώσεις με πλήρη ανταπόκριση έναντι καμιάς, 7 μερικής ανταπόκρισης έναντι καμιάς και σταθερής νόσου σε 9 έναντι 4. Παρά το μικρό μέγεθος και τα προβλήματα στο σχεδιασμό της συγκεκριμένης μελέτης, η ομάδα της οκτρεοτίδης είχε διάμεση επιβίωση 12.8 μήνες έναντι 5.5 με σαφώς μικρότερες ανεπιθύμητες ενέργειες (254).

Παρόμοια θετική εμπειρία αναφέρει μιά ομάδα από το Πακιστάν σε μιά ομάδα 22 ασθενών με ανεγχείρητο ΗΚΚ μετά από χορήγηση οκτρεοτίδης μακράς δράσης. Οι ερευνητές αναφέρουν ότι το 45% των ασθενών παρουσίασαν μείωση του μεγέθους του ΗΚΚ, 50% είχε μείωση της α εμβρυϊκής σφαιρίνης και αντίστοιχα ποσοστά ασθενών ανέφεραν βελτίωση στην ποιότητα ζωής. Η ομάδα της οκτρεοτίδης σε αυτή τη μελέτη είχε το 64% των ασθενών εν ζωή στους 6 μήνες ενώ στην ομάδα ελέγχου ήταν το 50%(142).

Από τις ΗΠΑ υπήρξε αναφορά γιά χρήση εκτός μελέτης, οκτρεοτίδης σε προχωρημένα, πολυεστιακά ΗΚΚ (255). Μιά μικρή προοπτική μελέτη 2 ετών από τους Slijkhuis και συν (247), εξέτασε την επίδραση οκτρεοτίδης σε ομάδα 30 ασθενών με προχωρημένο ΗΚΚ . Οι ερευνητές ανέφεραν ότι η θεραπεία ήταν καλά ανεκτή (πλην ήπιας διάρροιας), αλλά η διάμεση επιβίωση ήταν μόλις 5.1 μήνες και αν υπήρξε κάποιο πλεονέκτημα επιβίωσης αυτό ήταν οριακό (247). Η μελέτη αυτή δέχτηκε έντονη κριτική ως προς διάφορα σημεία: ήταν μη τυχαιοποιημένη, δεν υπήρξε ομάδα ελέγχου, ενώ επιπλέον 20% των ασθενών δεν έλαβαν καθόλου οκτρεοτίδη μακράς δράσης λόγω δυσανεξίας στην δοκιμαστική δόση και 40% από τους απομένοντες δεν έλαβε θεραπεία πέραν των 3 μηνών· επιπλέον θεωρήθηκε

προβληματική η επιλογή των ασθενών καθώς περιέλαβε ανθρώπους με άγνωστης έκτασης θρομβώσεις ή μεταστατική νόσο (256).

Δημοσιεύτηκε περίπτωση ασθενούς με ευμέγεθες ΗΚΚ και μεταστατική νόσο σε λεμφαδένες και πνεύμονες, ο οποίος μετά από θεραπεία με οκτρεοτίδη μακράς δράσης παρουσίασε εντυπωσιακή μείωση του μεγέθους του όγκου και κατακρήμνιση της α-εμβρυϊκής σφαιρίνης γιά 9 μήνες. Ακολούθως παρότι υπήρξαν σημεία εξέλιξης της νόσου, ο ασθενής εξακολούθησε να είναι ασυμπτωματικός γιά το διάστημα παρακολούθησης του (257). Προοπτική μελέτη (258) από τις ΗΠΑ από 22 ασθενείς παρότι δεν κατέδειξε για το σύνολο των ασθενών παράταση επιβίωσης, εντούτοις περίπου το 30% εξ' αυτών είχαν διάμεση επιβίωση περισσότερο των 10 μηνών. Πρέπει να συνεκτιμηθεί ότι επρόκειτο για ασθενείς σε προχωρημένο στάδιο όπως υποδηλώνεται από το Clip score ≥3. Επιπρόσθετα όλοι οι ασθενείς ανεξαρτήτως επιβίωσης είχαν άριστη ανοχή στο φάρμακο.

Η τελευταία πολυκετρική τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο δημοσιεύθηκε πρόσφατα από πολλά Γαλλικά κέντρα. Οι Barbare και συν (259) τυχαιοποίησαν 272 ασθενείς με ΗΚΚ μη επιδεκτικό σε ριζικές θεραπείες ή έχοντες υποτροπιάσει μετά από ανάλογες θεραπείες, 135 σε οκτρεοτίδη και 137 σε εικονικό φάρμακο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι περισσότερο από 75% και στις δύο ομάδες είχαν αλκοολικής αιτιολογίας ΗΚΚ, 21% είχαν μεταστατική νόσο και 22% θρόμβωση πυλαίας φλέβας. Ο διάμεσος αριθμός μηνιαίων χορηγήσεων ήταν 5 στην ομάδα της οκτρεοτίδης και 6 στο εικονικό φάρμακο (ξανά δεν υπερέβησαν το σημαντικό διάστημα των 6 μηνών που έχουμε τονίσει για να γίνει εμφανές το κλινικό αποτέλεσμα). Οι ερευνητές παρά την άριστη ανοχή του φαρμάκου δεν διεπίστωσαν παράταση επιβίωσης με διάμεση επιβίωση στην ομάδα της οκτρεοτίδης 6.7 μήνες.

Παρότι δεν διεπίστωσαν υποχώρηση σε όγκους, εντούτοις το 1/3 των ασθενών πέτυχε σταθεροποίηση της νόσου στη διάρκεια της θεραπείας.

Πίνακας 4: Μη τυχαιοποιημένες μελέτες και αναφορές περιπτώσεων θεραπείας ΗΚΚ με μακράς δράσης ανάλογα σωματοστατίνης

Δημοσίευση	Είδος Δημοσίευσης	Αρ. Ασθενών/ θεραπεία	Ανταπόκριση
Raderer 1999	αναφορά περίπτωσης	1 (Λανρεοτίδη)	Παράταση επιβίωσης
Raderer 2000	προοπτική	21 (Λανρεοτίδη)	43% βελτίωση/ σταθεροποίηση με θεραπεία
Samonakis 2002	προοπτική	32 (Οκτρεοτίδη/ Λανρεοτίδη)	Παράταση επιβίωσης Βελτίωση QoL
Dimitroulopoulos 2002	προοπτική	28 (Οκτρεοτίδη)	Παράταση επιβίωσης,↑QoL
Siveke 2003	αναφορά περίπτωσης	1 (Οκτρεοτίδη)	↑ επιβίωσης,↑QoL, ↓ aFP
Gill 2005	προοπτική	22 (Οκτρεοτίδη)	↑ επιβίωσης,↑QoL, ↓ aFP
Plentz 2005	προοπτική	41 (Οκτρεοτίδη)	Ασφαλής θεραπεία - επιβίωση συγκρίσιμη με TACE
Slijkhuis 2005	προοπτική	30 (Οκτρεοτίδη)	Οριακό όφελος -50% θρομβώσεις 60% ασθενών έλαβαν θεραπεία < 3 μήνες
Deming 2005	αναφορά περίπτωσης	1 (Οκτρεοτίδη)	↑ επιβίωσης,↑QoL, ↓ aFP
Shah 2009	προοπτική	22 (Οκτρεοτίδη)	Ασθενείς με προχωρημένο ΗΚΚ (CLIP≥3) – Το 1/3 παράταση επιβιωσης

Όπου QoL: ποιότητα ζωής, TACE: χημειοεμβολισμός, aFP: α – εμβρυϊκή σφαιρίνη

Σε πρόσφατη κριτική δημοσίευσή μας (260) επί των ανωτέρω μελετών παρουσιάζουμε τη συντριπτική πλειοψηφία από τις δημοσιευμένες μελέτες - τυχαιοποιημένες και μη- δίνοντας έμφαση στην ετερογένεια τόσο του σχεδιασμού

όσο και των ιδιαιτέρων χαρακτηριστικών στους ασθενείς που εντάχθηκαν στις συγκεκριμένες μελέτες (πίνακες 3 & 4). Προσεκτική μελέτη των ασθενών που ανταποκρίνονται στην οκτρεοτίδη δείχνει ότι στην πλειοψηφία των σειρών, αυτοί αποτελούν ένα 40% του συνολικού αριθμού αυτών που λαμβάνουν θεραπεία. Τούτο φαίνεται να αντιστοιχεί με το ποσοστό των ΗΚΚ που εκφράζουν υποδοχείς σωματοστατίνης (49;113;136).

Επιπρόσθετα τα υπάρχοντα προς κλινική εφαρμογή ανάλογα σωματοστατίνης έχουν δράση μόνο επί των υποτύπων (κυρίως) 2 αλλά και 5, 3 κάτι που δεν προεξοφλεί ότι ένα δεδομένο νεόπλασμα μπορεί να έχει κάποιον από τους λοιπούς υποτύπους. Επιπλέον, οι κλινικές μελέτες έχουν δείξει (113;136) ότι γιά να διαπιστωθεί η επίδραση της οκτρεοτίδης απαιτείται χορήγηση της θεραπείας τουλάχιστον γιά 6 μήνες, «κατώφλι» μετά το οποίο γίνεται εμφανής η παράταση της επιβίωσης και η ανασταλτική δράση επί του όγκου. Προφανώς στις μελέτες που συμπεριέλαβαν ετοιμοθάνατους ασθενείς ή που δεν μπόρεσαν να λάβουν παρά μιά ή καμία δόση του φαρμάκου, ήταν εύλογο να έχουν δυσμενή έκβαση με τη συγκεκριμένη θεραπεία.

Ανασκοπώντας τα δεδομένα της βιβλιογραφίας διαπιστώνουμε ότι **η ανασταλτική δράση των αναλόγων σωματοστατίνης επί του ΗΚΚ** είναι δυνατό να πραγματοποιείται μέσω των κάτωθι μηχανισμών:

- Αναστολή έκκρισης αυξητικής ορμόνης, ινσουλίνης και γαστρεντερικών ορμονών (γαστρίνη, γλυκαγόνο) που μπορεί να σχετίζονται με την ανάπτυξη του όγκου
- Άμεσα ή έμμεσα (μέσω αυξητικής ορμόνης) αναστολή του IGF-I και IGF-II (που παράγονται από φυσιολογικά ηπατοκύτταρα και κύτταρα του ΗΚΚ) ή δεσμευτικών του IGF πρωτεϊνών

- Άμεση αναστολή in vivo/ in vitro αγγειογένεσης, κυρίαρχης διαδικασίας στην ανάπτυξη και μετάσταση του όγκου
- Άμεση αντιπολλαπλασιαστική δράση έναντι των καρκινικών κυττάρων μέσω ειδικών υποδοχέων σωματοστατίνης
- Επαγωγή της απόπτωσης (σχετιζόμενη ή όχι με το p53)
- Αντιπολλαπλασιαστική δράση μέσω ανοσολογικής τροποποίησης

Είναι εύλογο ότι τα ανθρώπινα νεοπλάσματα διαφέρουν από τους πειραματικούς όγκους, άρα η απευθείας αναγωγή παρατηρήσεων συχνά δεν είναι ακριβής. Πάντως στο κυτταρικό επίπεδο, πέραν των προαναφερθέντων μηχανισμών πιθανής δράσης των αναλόγων σωματοστατίνης στο ΗΚΚ, υπάρχουν και ερμηνείες **ως προς τη μη ανταπόκριση ή τη διαφυγή των νεοπλασματικών κυττάρων** από την ανασταλτική δράση του φαρμάκου. Έτσι, διακρίνονται:

- Μείωση του αριθμού/ της συγγένειας των υποδοχέων (downregulation) κατόπιν συνεχούς έκθεσης στον αγνωνιστή (ταχυφύλαξη)
- Απευαισθητοποίηση (μείωση απάντησης) μέσω αποσύζευξης από το δεύτερο διαβιβαστή
- Μη ομοιογενής έκφραση υποδοχέων στους όγκους
- Υπερέκφραση δεσμευτικών θέσεων που δεν αναγνωρίζουν τα ειδικά ανάλογα
- Μεταλλαγές στα γονίδια των υποδοχέων μπορεί να οδηγήσουν σε απώλεια λειτουργικών πρωτεϊνών των υποδοχέων
- Παραγωγή ενδογενών πεπτιδίων (κορτιστατίνη) που επηρεάζουν την έκφραση και την εσωτερίκευση των υποδοχέων σωματοστατίνης
- Επίδραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών στηνς έκφραση υποδοχέων σωματοστατίνης, τουλάχιστον στο επίπεδο κυτταρικών σειρών

Σε κλινικό επίπεδο διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των αναλόγων σωματοστατίνης στο ΗΚΚ. Η ακριβής δοσολογία δεν είναι ενιαία γιά όλους τους ασθενείς (με διαφορετικά φυλετικά, σωματομετρικά, μεταβολικά χαρακτηριστικά) καθώς και η γενικευμένη χορήγηση ενός μόνο αναλόγου σωματοστατίνης που δεσμεύεται σε συγκεκριμένους υποδοχείς, σε όγκους που μπορεί να παρουσιάζουν ετερογένεια στην ύπαρξη υποδοχέων. Επιπρόσθετα παράγοντες όπως το ιστορικό κατάχρησης αλκοόλ, η ταυτόχρονη χορήγηση οπιοειδών αναλγητικών αλλά και η ίδια η εξέλιξη της κίρρωσης μπορεί να καθορίσουν το τελικό αποτέλεσμα.

Β1. Ασθενείς – Μέθοδοι μελέτης θρομβώσεων επί ομάδας ασθενών ΗΚΚ

Επιπρόσθετα, μέρος των ασθενών της μελέτης συμπεριελήφθη σε ομάδα 31 ασθενών με ΗΚΚ στους οποίους μελετήθηκαν συγγενείς και επίκτητοι θρομβωτικοί παράγοντες και αυτοί συγκρίθηκαν με ομάδα 30 ασθενών με κίρρωση χωρίς ΗΚΚ ή εμφανή θρόμβωση και με 48 αντίστοιχης ηλικίας και φύλου υγιών ενηλίκων (248) – Πίνακας 5:

Πίνακας 5: Κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών της μελέτης επί των θρομβώσεων

Παράμετρος	Ασθενείς ΗΚΚ	Κιρρωτικοί	Μάρτυρες
Αριθμός	31	30	48
Διάμεση ηλικία, έτη	64 (46-85)	57 (35-81)	59 (36-77)
Φύλο (♂/♀)	24/6	23/7	29/19
Αιτιολογία			
Ιογενής Ηπατίτις	18	15	-
Αλκοολικοί	7	9	-
Άλλη	6	6	-
Στάδιο κατά Okuda			
I	13 (43.3%)		
II	14 (46.7%)		
III	3 (10%)		

Πειραματικά δεδομένα

Ελήφθη φλεβικό αίμα νηστείας από ασθενείς με ΗΚΚ και την ομάδα ελέγχου και αποθηκεύθηκε σε -80°C έως την ανάλυση, πλάσμα και αίμα σε EDTA. Η πρωτεϊνη C προσδιορίστηκε με ELISA (Biochem Diagnostics, France; φυσιολογικές τιμές, 65–140%) και η πρωτεϊνη S (ολική & ελεύθερη) επίσης με ELISA (Biochem Diagnostics; Φυσιολογικές τιμές για την ελεύθερη S, 70–140%). Η δραστηριότητα της αντιθρομβίνης με διαθέσιμο kit (Organon Technica, USA; Φυσιολογικές τιμές, 85–111%) και η APCR μετρήθηκε προσδιορίζοντας την (αPTT) παρουσία και απουσία της APC (Coatest activated protein C resistance kit; Chromogenix, Sweden) (Φυσιολογικές τιμές 1.8–5 sec). Η λιποπρωτεϊνη (a) ορού μετρήθηκε με νεφελομετρία (LPA test; Beckman Instruments Inc., Galway, Ireland) και η ομοκυστεϊνη με IMX homocysteine assay (AbbotLaboratories). Απομόνωση DNA από αίμα με EDTA, PCR, ανίχνευση μεταλλαγής FVL και 20210A προθρομβίνης και ο πολυμορφισμός C677T (MTHFR) έγιναν με Factor V Gene Mutation Assay (VIENNA LAB; Austria), Prothombin Gene Mutation Assay (VIENNA LAB), και MTHFR Mutation Assay (VIENNA LAB). Η μεταλλαγή FVL προσδιορίστηκε σε ασθενείς και ομάδα ελέγχου με παθολογική APCR, ενώ οι δύο άλλες σε όλες τις περιπτώσεις.

Στατιστική ανάλυση

Συγκρίσεις μεταξύ των 3 ομάδων ως προς τις συνεχείς μετρήσεις έγιναν με ανάλυση one-way ANOVA). Πολλαπλές συγκρίσεις με least squares difference (LSD) και Newman–Keuls test. Η διαφορά στον επιπολασμό επίκτητων και γενετικών θρομβοφιλικών δεικτών μεταξύ ασθενών ΗΚΚ και ομάδας ελέγχου αναλύθηκε με Fisher's exact test (5% όριο σημαντικότητας). Επίσης

χρησιμοποιήθηκαν για την παρουσίαση των συσχετίσεων τιμές *P*, odds ratios (ORs), και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης.

Β2. Αποτελέσματα μελέτης θρομβώσεων

Βρέθηκε ότι οι ασθενείς με ΗΚΚ και αυτοί με κίρρωση (χωρίς ΗΚΚ) είχαν χαμηλότερα συγκριτικά προς τους υγιείς διάμεσα επίπεδα πρωτεϊνης C και S, αντιθρομβίνης και λιποπρωτεϊνης -α ορού (Πίνακας 6). Τα επίπεδα της ομοκυστεϊνης βρέθηκαν ψηλότερα στους ασθενείς με ΗΚΚ σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες.

Πίνακας 6: Θρομβοφιλικοί παράγοντες στο πλάσμα και τον ορό σε ασθενείς με ΗΚΚ σε σύγκριση με κιρωτικούς και υγιείς μάρτυρες

Παράμετρος	ΗΚΚ	Κιρρωτικοί	Μάρτυρες
Πρωτεϊνη C (%, mean ± SD)	63.5±25.2	41.9±21.6	108.5±36.1
Πρωτεϊνη S (%, mean ± SD)	69.5±28.7	72.6±19.2	95.7±29.3
Αντιθρομβίνη (%, mean ± SD)	62.2±18.6	40.8±19	98±18.4
Λιποπρωτεϊνη (a) (mg/dl, mean ± SD)	12.8±12.2	8.1±7.1	22.7±21.3
Ομοκυστεϊνη (μM, mean ± SD)	19.5±10.5	13.1±7.8	9.7±3.5
APCR (N, %)	3 (10.3)	2 (7.1)	1 (2.1)

Ο επιπολασμός της APC-Resistance, της μετάλλαξης του παράγοντα V-Leiden ή του γονιδίου της προθρομβίνης (G20210GA), και ο πολυμορφισμός στη

μεθυλεντετραϋδρογυλλική αναγωγάση (C677T) δεν είχε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών ομάδων (248) Πίνακας 7:

Πίνακας 7: Γενετικοί θρομβοφιλικοί δείκτες σε ασθενείς με ΗΚΚ σε σύκριση με κιρρωτικούς και υγιείς μάρτυρες

Παράμετρος	ΗΚΚ	Κιρρωτικοί	Μάρτυρες
Μεταλλαγή FVL (N, %)	1 (3.4)	1 (3.6)	1 (2.1)
Μεταλλαγή Προθρομβίνης 20210A (N, %)	3 (10.3)	1 (3.6)	0 (0)
C677T MTHFR (N, %)	6 (19.4)	4 (13.3)	6 (12.5)

Η μελέτη μας έδειξε ότι οι θρομβοφιλικές διαταραχές είναι συχνές σε ασθενείς με ΗΚΚ (Πίνακας 8) και μπορεί να αποτελούν επιπρόσθετο μηχανισμό (πέραν μηχανικών αιτίων, λ.χ. θρόμβωση πυλαίας φλέβας από πίεση ή διήθηση) υπεύθυνο γιά τις θρομβωτικές επιπλοκές που εμφανίζονται σ' αυτούς.

Πίνακας 8: Χαρακτηριστικά & παράγοντες κινδύνου γιά θρόμβωση σε ασθενείς με ΗΚΚ και θρομβοεμβολικές εκδηλώσεις

No	Φύλο	Ηλικία	Εκδήλωση Θρόμβωσης	Παράγοντας κινδύνου
1	Θ	63	Πνευμονική εμβολή	↑ ομοκυστεϊνη, λιποπρωτεϊνη-α
2	Α	76	Θρόμβωση Πυλαίας Φλέβας	-
3	Α	68	Θρόμβωση Πυλαίας Φλέβας	Ετερόζυγος στη μεταλλαγή 20210A
4	Α	57	Θρόμβωση Πυλαίας Φλέβας	Υπερομοκυστεϊναιμία, Ετερόζυγος FVL ομόζυγος C677T MTHFR
5	Α	81	Θρόμβωση ε.τ.β φλεβών	-
6	Α	72	Θρόμβωση Πυλαίας Φλέβας	Ετερόζυγος στη μεταλλαγή 20210A

Β3. Συζήτηση στη μελέτη επί των θρομβώσεων

Η μελέτη μας έδειξε ότι οι θρομβοφιλικές διαταραχές είναι συχνές σε ασθενείς με ΗΚΚ και μπορεί να σχετίζονται με θρομβοεμβολικές επιπλοκές. Συχνά δε οι ασθενείς αυτοί εμφανίζονται να έχουν συνδυασμό θρομβωτικών παραγόντων κινδύνου. Βρήκαμε μειωμένα επίπεδα πρωτεϊνών C, S, αντιθρομβίνης και λιποπρωτεϊνης-α σε ασθενείς με κίρρωση ή ΗΚΚ. Βεβαίως οι πρωτεϊνες αυτές παράγονται από τον ήπαρ και αναμένεται να είναι επηρεασμένες σε χρόνιες ηπατοπάθειες. Βρέθηκαν όμως αυξημένα επίπεδα ομοκυστείνης (αναγνωρισμένος παράγοντας θρόμβωσης στο γενικό πληθυσμό) σε ασθενείς με ΗΚΚ σε σχέση με κιρρωτικούς ή υγιείς μάρτυρες.

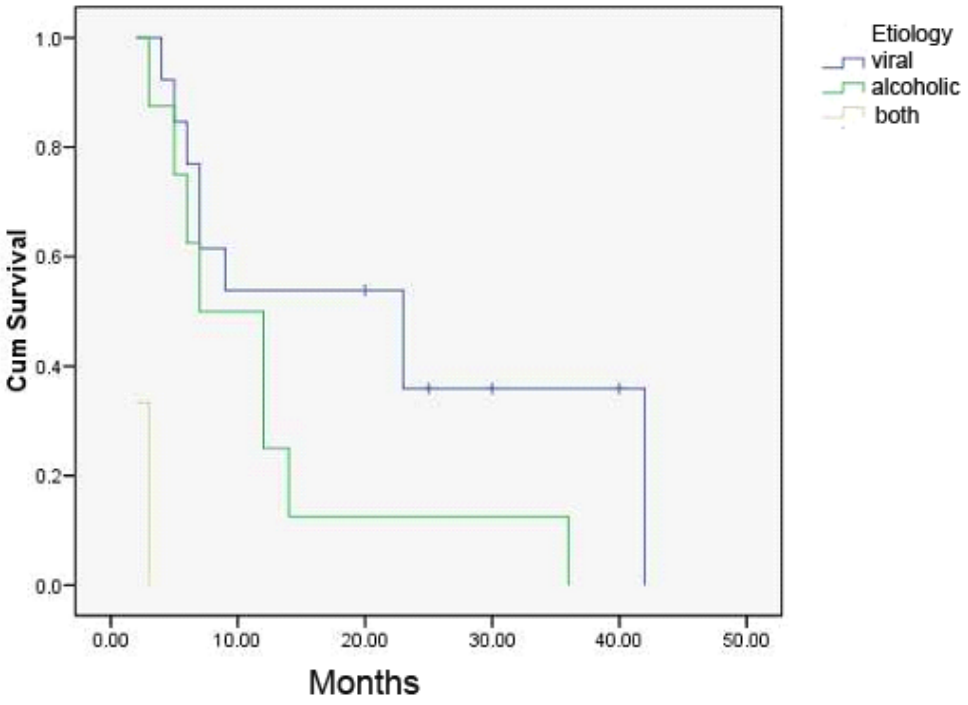
Οι γενετικοί θρομβωτικοί παράγοντες κινδύνου δεν είχαν διαφορές στην παρούσα μελέτη για τις τρεις ομάδες ασθενών. Υπήρξε βέβαια μια «τάση» για συσχέτιση της ομάδας με ΗΚΚ και της μεταλλαγής στο γονίδιο της προθρομβίνης 20210A. Επίσης η φορεία του πολυμορφισμού C677T MTHFR ήταν υψηλότερη, όχι όμως στατιστικώς σημαντικά.

Σημαντικότερος θρομβωτικός παράγοντας στη μελέτη βρέθηκε η υπερομοκυστεϊναιμία, αποδιδόμενη σε γενετικούς, διατροφικούς και άλλους παράγοντες. Η κίρρωση καθαυτή αλλά και η ιογενής ηπατίτιδα έχουν συσχετισθεί με θρομβωτικούς παράγοντες κινδύνου.

Γ1. Το πρόβλημα με την αλκοολική νόσο και In vitro μελέτη

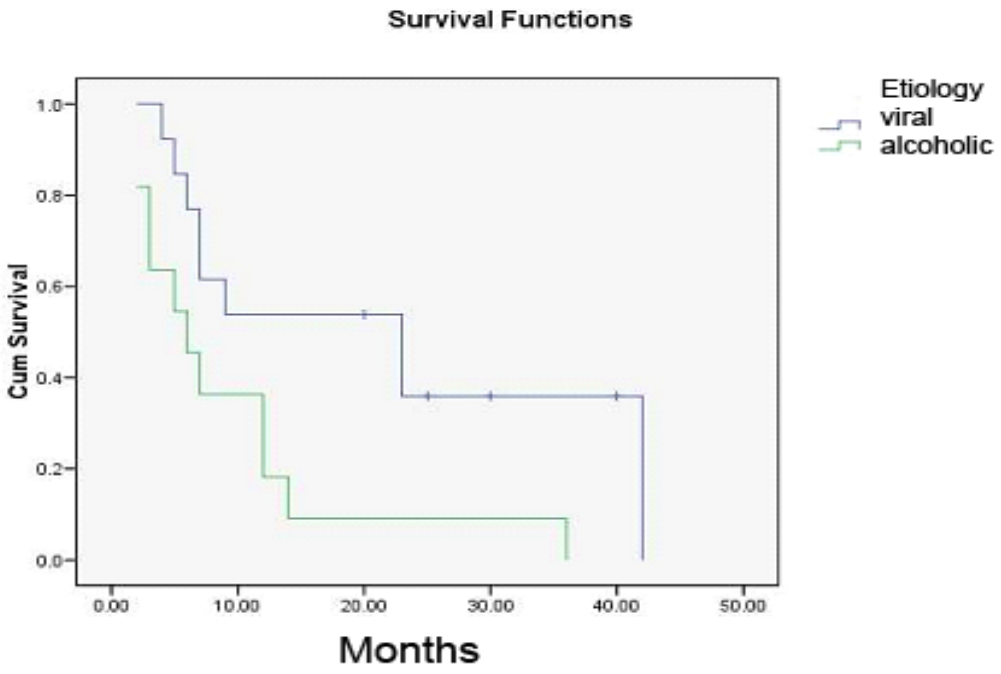
Στην προσπάθεια ερμηνείας του κλινικού οφέλους σε μέρος μόνο των ασθενών της μελέτης και λαμβάνοντας υπόψη αποτελέσματα από προοπτική μελέτη της φυσικής πορείας της κίρρωσης (μειωμένη επιβίωση σε αλκοολική κίρρωση, Samonakis DN et al -Natural History of Compensated and Decompensated Cirrhosis-submitted) αναλύθηκαν ξεχωριστά οι ασθενείς με αλκοολικής αιτιολογίας ηπατοπάθεια. Έτσι, στην ομάδα των 32 ασθενών της κλινικής μελέτης μελετήσαμε ως ομάδα (1) αυτούς που είχαν (α) αμιγώς ιογενή αιτιολογία υποκείμενης ηπατοπάθειας (β) «κρυψιγενή» κίρρωση, ως ομάδα (2) αυτούς με αμιγώς αλκοολική αιτιολογία και ως τρίτη ομάδα (3) μικτή ιογενή και αλκοολική αιτιολογία. Από τις καμπύλες Kaplan-Meier διαπιστώνεται σημαντικά μειωμένη επιβίωση στους ασθενείς με αλκοολικής αιτιολογίας ΗΚΚ. Συγκεκριμένα οι ασθενείς με ΗΚΚ μη αλκοολικής αιτιολογίας είχαν μέση επιβίωση περι τους 12 μήνες ενώ οι ασθενείς με αλκοολικής αιτιολογίας ΗΚΚ είχαν μέση επιβίωση τους 5 μήνες.

Διάγραμμα Γ1α: Καμπύλες επιβίωσης σε ασθενείς με ΗΚΚ ανάλογα με την αιτιολογία



Όταν θεωρήσαμε ως μια ομάδα όσους είχαν αλκοολική αιτιολογία (2) (ανεξαρτήτως αν συνυπήρχε ιογενής ή άλλη αιτιολογία) έναντι ασθενών χωρίς ιστορική χρήσης αλκοόλ (1) η διαφορά στην επιβίωση ήταν ακόμα εμφανέστερη:

Διάγραμμα Γ1β: Καμπύλες επιβίωσης σε αλκοολική έναντι μη-αλκοολικής αιτιολογίας ΗΚΚ



Οι ανωτέρω καμπύλες επιβίωσης παρουσιάζουν εμφανώς ότι οι ασθενείς με ιστορικό χρήσης αλκοόλ έχουν μειωμένη πιθανότητα επιβίωσης σε σχέση με αυτούς που έχουν αρνητικό ανάλογο ιστορικό. Αποφασίστηκε να διερευνηθεί περαιτέρω σε πειραματικό επίπεδο κατά πόσον το αλκοόλ σχετίζεται με την ανταπόκριση ή μη στη θεραπεία.

Ως συνέχεια της παρατήρησης της κλινικής πορείας των ασθενών με αλκοολική αιτιολογία και ΗΚΚ, μελετήθηκε σε πειραματικό επίπεδο η επίδραση αιθανόλης και ακεταλδεϋδης στην έκφραση των υποδοχέων SSTR2 και SSTR5 της σωματοστατίνης στην κυτταρική σειρά ΗΚΚ HepG2.

Γ2. Μέθοδοι in vitro έκφρασης υποδοχέων σωματοστατίνης υπό οκτρεοτίδη, αιθανόλη, ακεταλδεϋδη

1. Απομόνωση RNA από τα κύτταρα HepG2

Υλικά και συσκευές

Κυτταρική σειρά HepG2 (ACC 180 DSMZ Germany)

Πλάκες κυτταροκαλλιεργειών με 6 βοθρία καλλιέργειας (Nunc, USA)

Φαινολικό διάλυμα ομογενοποίησης Trizol (Invitrogen, Carisband CA, USA)

Αποστειρωμένο νερό άνευ RNAασών – RNase Free Water

Φυγόκεντρος

Χλωροφόρμιο (Sigma, USA)

Ισοπροπανόλη (Sigma, USA)

Αιθανόλη (Sigma, USA)

Φωτόμετρο (Hitatsi, Japan)

NaOH (Sigma, USA)

Διαλύματα

0,1N NaOH σε RNase Free Water

Μέθοδος

Για την λήψη RNA από κύτταρα HepG2, τα κύτταρα αυτά καλλιεργήθηκαν για 24 ώρες σε θρεπτικό υλικό δίχως ορό εμβρύου βοός σε πλάκες με έξι βοθρία καλλιέργειας. Το θρεπτικό υλικό στη συνέχεια αφαιρείται και σε κάθε βοθρίο προστίθεται 1ml του φαινολικού διαλύματος ομογενοποίησης Trizol το οποίο αφήνεται να δράσει για 1-2 λεπτά. Στη συνέχεια γίνεται μια ελαφρά απόξεση των κυττάρων και το ομογενοποιημένο δείγμα τοποθετείται σε αποστειρωμένο μικροσωληνάριο eppendorf στους -80^{0}C μέχρι να γίνει το επόμενο στάδιο. Τα ομογενοποιημένα σε Trizol δείγματα αποψύχονται σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 15 min. Προστίθεται χλωροφόρμιο υπό στείρες συνθήκες σε αναλογία 0,1ml/ml Trizol και στη συνέχεια το δείγμα υφίσταται ισχυρή ανάδευση (~30 sec) και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για άλλα 5 λεπτά περίπου. Ακολουθεί φυγοκέντρηση υπό 12000g για 15 λεπτά σε θερμοκρασία 4°C. Η φυγοκέντρηση

βοηθά τα βαρέα συστατικά να καθιζάνουν (πρωτεΐνες, DNA) με τη φαινόλη, ενώ το RNA παραμένει διαλυμένο στο χλωροφόρμιο, το οποίο σχηματίζει άχρωμο υπερκείμενο (άνω φάση) και μεταφέρεται σε νέο αποστειρωμένο μικροσωληνάριο eppendorf. Στο διάλυμα αυτό προστίθεται ίσος όγκος ισοπροπανόλης και το μίγμα αναδεύεται ισχυρά για σύντομο χρονικό διάστημα (~10sec) και αφήνεται να σχηματίσει ίζημα (15 min, θερμοκρασία δωματίου). Ακολουθεί φυγοκέντρηση στα 12000g για 15 λεπτά σε θερμοκρασία 4^oC, μετά από την οποία είναι ορατός ο σχηματισμός ιζήματος. Το υπερκείμενο απομακρύνεται προσεκτικά και ακολουθεί έκπλυση με 1ml κρύας (4^oC) αιθανόλης 75% (v/v) σε RNAse Free H_2O. Ακολουθεί φυγοκέντριση στα 7000g για 8 λεπτά σε θερμοκρασία 4^oC, αφαίρεση του υπερκειμένου και επανάληψη. Μετά από την απομάκρυνση του υπερκειμένου, το σχηματισμένο λευκόφαιο ίζημα αφήνεται να στεγνώσει σε απαγωγό και επαναδιαλύεται σε RNAse Free H_2O.

Ακολουθεί η μέτρηση καθαρότητας του RNA στο δείγμα με τη χρήση φωτομέτρου το οποίο έχει ρυθμιστεί να μετρά σε δύο μήκη κύματος το λόγο 260/280nm. Ο λόγος αυτός προσδιορίζει την περιεκτικότητα του δείγματος σε RNA (260nm) και πρωτεΐνης (280nm) με ιδανική τιμή το λόγο 2. Δύο μl RNA του προς εξέταση δείγματος διαλύεται σε 0.1M NaOH. Η απορρόφηση του δείγματος μετράται και το αποτέλεσμα αντιστοιχίζεται στο μαθηματικό τύπο υπολογισμού του βάρους του RNA:

$$RNA(\mu g) = A_{260nm} \times \Phi \times V$$

Όπου:

A_{260nm} η απορρόφηση του δείγματος στα 260nm

Φ ο συντελεστής αραίωσης [= 500 (2μl δείγματος σε 1000μl NaOH)]

V ο όγκος του εναπομείναντος διαλύματος RNA σε ml

2. Επίδραση με DNάση, ανάστροφη μεταγραφή και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης.

Υλικά και συσκευές

DNase I (Gibco BRL, Paisley, UK)

Θερμικός κυκλοποιητής

Ολιγονουκλεοτίδια θυμιδίνης 12-18 - Oligo $d(T)_{12-18}$ ή $Pd(T)_{12-18}$ ομο-ολιγομερές (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden)

Ανάστροφη μεταγραφάση – Superscript II™ RNase H^- (Gibco BRL, Paisley, UK)

Αναστολέας ριβονουκλεασών – RNAsin® (Promega, Madison, Wisconsin, USA)

Δεοξυνουκλεοτίδια dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) (Roche, Mannheim, Germany)

Πολυμεράση – Taq DNA Polymerase (Roche, Mannheim, Germany)

100 bp DNA Ladder (Gibco BRL, Paisley, UK)

Αποστειρωμένο νερό άνευ ριβονουκλεασών - RNAse-free H_2O (USB, Cleveland Ohio, USA)

Ολιγονουκλεοτίδια έναρξης αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης – primers MWG (Ebersberg, Germany)

Αγαρόζη (Sigma, USA)

Tris Base (Sigma, USA)

Boric Acid (Sigma, USA)

EDTA (Sigma, USA)

Bromophenol blue

Ficoll (Type 400)

Ethidium bromide (Sigma, USA)

Συσκευή οριζόντιας ηλεκτροφόρησης (Bio-Rad, USA)

Συσκευή και λογισμικό ανάγνωσης πηκτωμάτων (Molecular Analyst Software, BioRad).

Διαλύματα

5x TBE (ανά 1L: 54g Tris Base, 27,5g Boric Acid, 20ml 0,5M EDTA, συμπλήρωση με απιονισμένο νερό μέχρι τον όγκο του 1L, pH 8)

Διάλυμα ανάμειξης δείγματος (Loading Buffer) (0,25% Bromophenol blue, 15% Ficoll (Type 400) σε νερό)

Διάλυμα κλίμακας μοριακού βάρους DNA (100bp) (1μl stock 100bp ladder, 7μl 1xTBE, 3μl Loading Buffer)

Μέθοδοι

Α. Επίδραση με DNAse

Η επεξεργασία με DNAse για την αποδόμηση του DNA που εμπεριέχεται στα δείγματα ήταν ένα απαραίτητο στάδιο στην μελέτη των υποδοχέων σωματοστατίνης διότι με εξαίρεση τον sst_2 δεν έχουν ιντρόνια και ο κίνδυνος εσφαλμένων αποτελεσμάτων από επιμόλυνση από γενομικό DNA είναι σημαντικός (243).

Σε προσημειωμένα μικροσωληνάρια όγκου 0,2ml (microeppendorfs) με την ένδειξη (+ =με μεταγραφάση) και (- =χωρίς μεταγραφάση), εισάγεται όγκος δείγματος που αντιστοιχεί σε 1μg RNA και ο όγκος του συμπληρώνεται στα 8μl με RNAse Free H_2O. Σε κάθε δείγμα (+ και -) προστίθενται αρχικά 1μl 10xDNAse I Reaction Buffer και έπειτα 1μl DNAse. Τα δείγματα αφήνονται για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα προστίθεται 1μl διαλύματος 25mM EDTA. Ακολουθεί τοποθέτηση των microeppendorfs στο θερμικό κυκλοποιητή και υφίστανται θερμική επεξεργασία για 10 λεπτά στους 65°C, με τη λήξη της οποίας τοποθετούνται σε πάγο (4^oC).

Β. Ανάστροφη Μεταγραφή

Ακολούθως προστίθενται σε κάθε δείγμα 2μl ολιγονουκλεοτιδίων με 12 έως 18 μόρια Θυμίνης ($Pd(T)_{12-18}$) το οποίο δρα δημιουργώντας πλαίσια έναρξης της διαδικασίας ανάστροφης μεταγραφής (reverse transcription) σε αντίστοιχα πολυαδενυλιωμένα τμήματα RNA του δείγματος. Τα δείγματα επανατοποθετούνται στο θερμικό κυκλοποιητή και θερμαίνονται στους 70^oC για 10 λεπτά για να προκληθεί το ξεδίπλωμα των αλύσων του RNA και καλύτερη εφαρμογή των ολιγονουκλεοτιδίων. Ακολούθως τα δείγματα τοποθετούνται σε πάγο (4^oC) και ακολουθεί η προσθήκη σε κάθε δείγμα: 4μl 5x RT-buffer, 1μl DTT, 1μl dNTPs, 1μl RNAsin. Τέλος, στο δείγμα με την ένδειξη (+) προστίθεται 1μl ενζύμου (reverse transcriptase), ενώ στο δείγμα (-) προστίθεται ίσος όγκος RNAse Free H_2O, ελέγχοντας μ' αυτόν τον τρόπο τυχόν μόλυνση των υπό διερεύνηση δειγμάτων. Τα δείγματα τοποθετούνται στον κυκλοποιητή και ξεκινά η διαδικασία της ανάστροφης

μεταγραφής σε θερμοκρασία 42°C για 60 min, έπειτα στους 95°C για 5 min και τέλος στους 4°C. Τα δείγματα cDNA αποθηκεύονται στη συνέχεια στους -20^{0}C μέχρι την εκτέλεση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης.

Γ. Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)

Για κάθε γονίδιο που μελετήθηκε ένα μικρόλιτρο cDNA υποβλήθηκε σε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης τελικού όγκου 25μL, στον οποίο περιλαμβάνονταν 1X ρυθμιστικό διάλυμα pcr, 0,2 mM dNTPs, 0,5 mM forward και reverse primers, και 0,05 U/μl Taq DNA πολυμεράση. Η αλληλουχίες των primers, οι θερμοκρασίες ζέσεως (Tm), οι κύκλοι και το μέγεθος προϊόντων για κάθε ζευγάρι primers που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα Χ. Οι primers για τους ssts επιλέχτηκαν από την τράπεζα δεδομένων NCBI UNISTS. http://www-genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html). Οι συνθήκες της αντίδρασης ήταν: 5 λεπτά στους 94°C, 35 κύκλοι (30 δευτερολέπτων στους 94°C, 30 δευτερόλεπτων στους 56°-60°C και 30 δευτερόλεπτων στους 72°C) που ακολουθούνται από επιμήκυνση του προϊόντος για 7 λεπτά σε 72°C. Επειδή τα γονίδια των ssts (με εξαίρεση τον sst_2) δεν περιέχουν ιντρόνια και προκειμένου να ελέγχονται τα υλικά για επιμόλυνση μόλυνση, μια ίδια παράλληλη PCR αντίδραση εκτελείται περιέχοντας αρχικό υλικό στο οποίο δεν είχε γίνει αντίστροφη μεταγραφή (το προαναφερθέν αρνητικό δείγμα(-)).

Δ. Ανίχνευση των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αγαρόζης.

Παρασκευάζεται 2% πηκτή αγαρόζης σε 0,5x TBE (2g αγαρόζης σε 100ml για μεσαίου μεγέθους πήκτωμα). Το μείγμα τοποθετείται σε φούρνο μικροκυμάτων για να επιτευχθεί η ομοιογενής διάλυσή του και προ της έγχυσης στο ειδικό δοχείο πήξεως (με χτένι) προστίθενται 40μl διαλύματος ethidium bromide (1mg/ml). Μετά την πήξη του, αφαιρείται από το πήκτωμα το χτένι, έχοντας σχηματίσει βοθρία / θέσεις όπου θα τοποθετηθούν τα προς διερεύνηση δείγματα, και το σύστημα τοποθετείται στη συσκευή οριζόντιας ηλεκτροφόρησης. Σε καθένα εκ των προϊόντων της PCR προστίθεται διάλυμα ανάμειξης δείγματος σε αναλογία 5:1 και 10μl από το καθένα εισέρχεται στο βοθρίο που έχει σχηματιστεί από το χτένι στο πήκτωμα της αγαρόζης. Το gel ηλεκτροφορείται σε 0.5x TBE στα 100V για 45-60min. Η ανίχνευση των δεσμών γονιδιακού σήματος (bands) είναι εφικτή υπό υπεριώδη ακτινοβολία (UV). Σε αυτό το σημείο το πήκτωμα φωτογραφίζεται ηλεκτρονικά και

οι δέσμες αντιστοιχίζονται στο ανάλογο γονίδιο με τη βοήθεια της κλίμακας μοριακού βάρους ενώ ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε γενομικό DNA. Η ποσοτικοποίηση έγινε με το πρόγραμμα ImageJ (NCBI)

Πίνακας 9: Οι primers που χρησιμοποιήθηκαν για της μελέτες PCR, οι θερμοκρασίες τύξης του και το μέγεθος του προϊόντος της αντίδρασης.

Primer		Primer	Tm	Product size
β-actin	F	GGTGGCTTTTAGGATGGCAAG	62.9	161bp
	R	ACTGGAACGGTGAAGGTGACAG	63.6	
sst_2	F	CATCTTCTGCCTGACAGTC	56.7	509bp
	R	CCACCACAAAGTCAAACAT	52.4	
sst_5	F	GCTTCCAGAAGGTTCTGTGC	59.4	145bp
	R	TTGCTGGTCTGCATAAGCC	56.7	

Γ3. Αποτελέσματα πειραμάτων in vitro στην έκφραση SSTR2 και 5 επί σειράς HepG2 και επίκριση

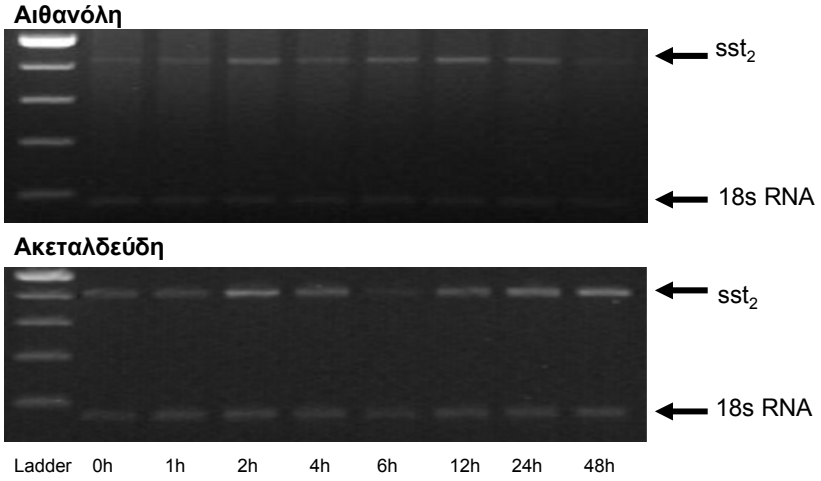
Μελετήθηκε in vitro η επίδραση της αιθανόλης και της ακεταλδεϋδης στην έκφραση των υποδοχέων SSTR2 και SSTR5 της σωματοστατίνης στην κυτταρική σειρά ΗΚΚ HepG2. Η επιλογή των συγκεκριμένων υποδοχέων έγινε λόγω του ότι είναι αυτοί με στους οποίους τα ανάλογα οκτρεοτίδη και λανρεοτίδη εμφανίζουν καλύτερη ικανότητα προσκόλησης και ενεργοποίησης ενδοκυττάριων σημάτων.

Η οκτρεοτίδη προκάλεσε ισχυρή επαγωγή των SSTR2 και SSTR5 στα κύτταρα της σειράς HepG2. Η αιθανόλη και ο μεταβολίτης της, η ακεταλδεϋδη, επάγουν επίσης τον υποδοχέα SSTR2, εντονότερα στις 2, 12, και 24 ώρες ενώ για τον υποδοχεα SSTR5 η επαγωγή ήταν εντονότερη στις 2 και στις 6 ώρες (εικόνες Γ1α και Γ1γ).

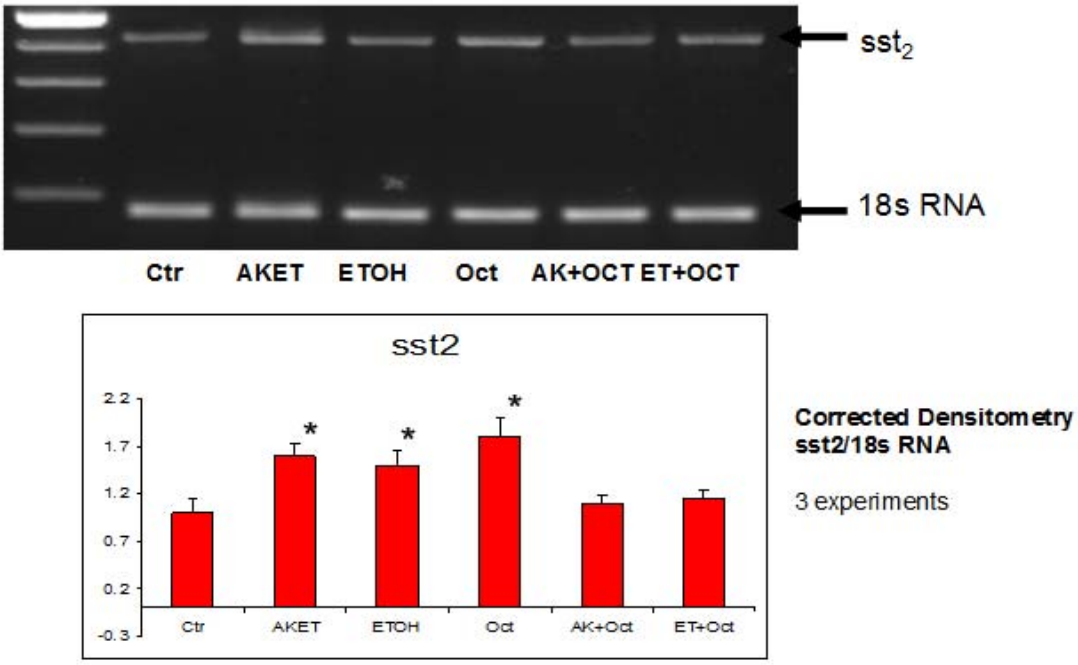
Ωστόσο, όταν τα κύτταρα επωάστηκαν ταυτόχρονα με αιθανόλη, οκτρεοτίδη αλλά και με ακεταλδεϋδη και οκτρεοτίδη υπήρχε εμφανής καταστολή της επαγωγής τόσο του SSTR2 όσο SSTR5 (εικόνες Γ1β και Γ1δ). Η καταστολή αυτή επιβεβαιώθηκε σε τρία διαφορετικά πειράματα.

Αν και η μοριακή βάση αυτού του φαινομένου δεν είναι γνωστή θα μπορούσε να αποτελεί ένα πιθανό μηχανισμό αντοχής στην θεραπεία με ανάλογα σωματοστατίνης των ασθενών με ΗΚΚ αλκοολικής αιτιολογίας λόγω καταστολής της επαγωγής έκφρασης των SSTR2 και SSTR5 από την αιθανόλη. Επιπλέον σημειώνεται ότι στην αλκοολική κίρρωση παρατηρείται μειωμένος αριθμός νευρικών ινών που περιέχουν σωματοστατίνη στα πυλαία διαστήματα και στα τριχοειδή, όπως ήδη έχει περιγραφεί στο γενικό μέρος, με προφανείς παθοφυσιολογικές συσχετίσεις.

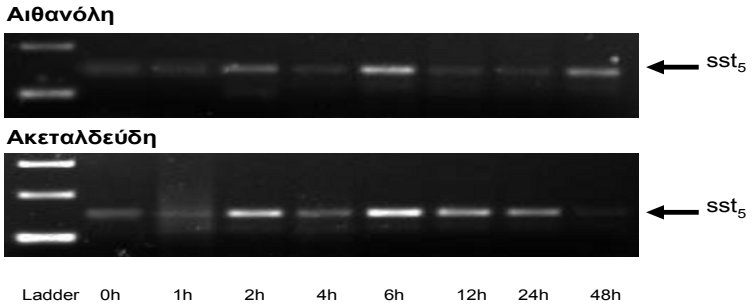
Τα δεδομένα αυτά δίνουν μια πιθανή ερμηνεία σε μοριακό-βιοχημικό επίπεδο της ανεπαρκούς ανταπόκρισης των ασθενών με αλκοολικής αιτιολογίας ΗΚΚ στους οποίους χορηγήθηκαν ανάλογα σωματοστατίνης, και κατ' επέκταση της μειωμένης επιβίωσης που καταγράφεται στις καμπύλες επιβίωσης.



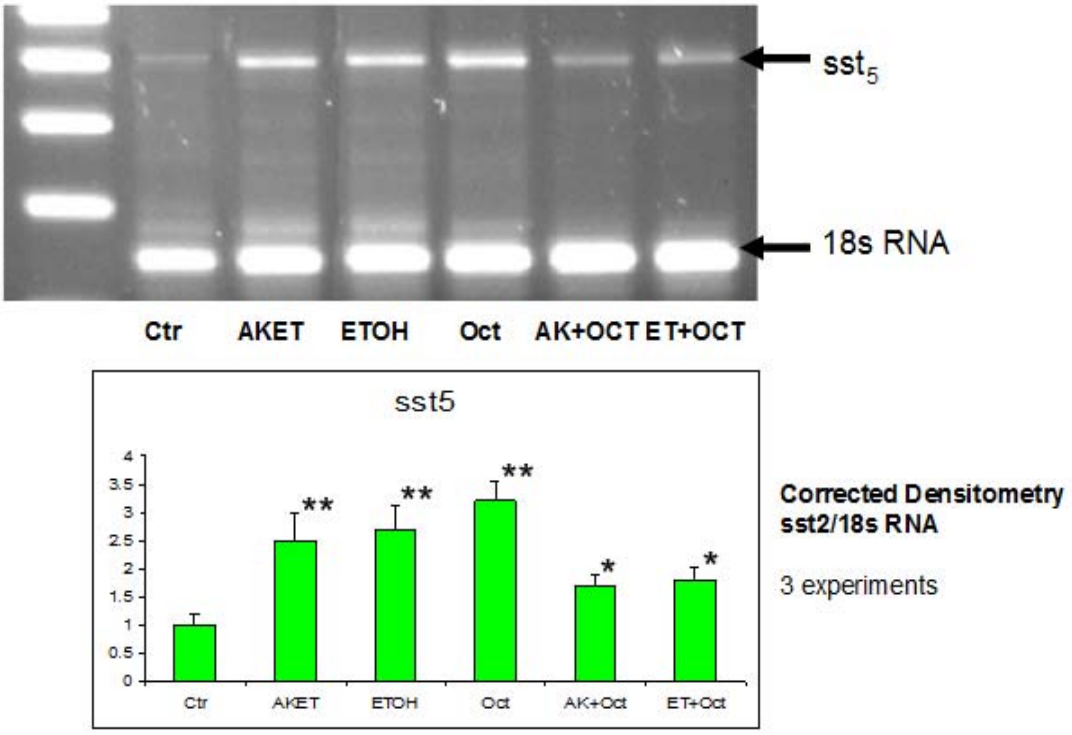
Εικόνα Γ1α: Επαγωγή του SSTR2 από την αιθανόλη & την ακεταλδεϋδη



Εικόνα Γ1β: Μετά από ταυτόχρονη επώαση με αιθανόλη-οκτρεοτίδη, ακεταλδεϋδη-οκτρεοτίδη υπάρχει καταστολή του SSTR2 (* : $p<0.05$)



Εικόνα Γ1γ: Επαγωγή του SSTR5 από την αιθανόλη & την ακεταλδεϋδη



Εικόνα Γ1δ: Μετά από ταυτόχρονη επώαση με αιθανόλη-οκτρεοτίδη, ακεταλδεϋδη-οκτρεοτίδη υπάρχει καταστολή του SSTR5 (: $p<0.01$)**

Περίληψη

Η σωματοστατίνη (sst) είναι ορμόνη – ρυθμιστικό πεπτίδιο με πολλαπλές δράσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στο γαστρεντερικό και σε άλλους περιφερικούς ιστούς. Δρά ανασταλτικά σε ποικίλλες εκκριτικές δράσεις και διαδικασίες αύξησης - πολλαπλασιασμού. Οι δράσεις της πραγματοποιούνται μέσω οικογένειας υποδοχέων που συνδέονται με πρωτείνες G. Οι υποδοχείς (sstr1-5) συνδέονται με μεγάλη συγγένεια με τη φυσική σωματοστατίνη, ενώ τα συνθετικά ανάλογα που δημιουργήθηκαν για να ξεπεραστεί το πρόβλημα της βραχείας ημίσειας ζωής της φυσικής sst συνδέονται κυρίως με τους υποδοχείς sstr 2, 3 και 5. Η έκφραση των υποδοχέων σε ανθρώπινους όγκους in vivo & in vitro, σε μη νεοπλασματικούς ιστούς, καθώς και σε αγγεία έδωσαν τη βάση για εντατική έρευνα και σημαντικές εφαρμογές στη διάγνωση και τη θεραπεία ανθρώπινων όγκων, με προεξάρχοντες τους νευροενδοκρινείς. Η ύπαρξη υποδοχέων στο ήπαρ (σε κύτταρα των κολποειδών, σε κύτταρα Kupffer, κύτταρα χρονίων ηπατοπαθειών και ηπατοκυτταρικού καρκίνου - ΗΚΚ) σε συνδυασμό με την σαφή θέση της σωματοστατίνης στη θεραπευτική της πυλαίας υπέρτασης έδωσε το έρεισμα για την εφαρμογή της στον ΗΚΚ.

Το ΗΚΚ αποτελεί ιδιαίτερα σημαντική κακοήθεια καθώς αποτελεί την τρίτη αιτία θανάτου από καρκίνο με αυξανόμενη επίπτωση παγκοσμίως. Οι υπαρκτές ριζικές θεραπευτικές επιλογές (μεταμόσχευση ήπατος, ηπατεκτομή, καυτηριασμός με ραδιοσυχνότητες σε μικρό ΗΚΚ) είναι δυνατό να εφαρμοστούν σε μια μειοψηφία των ασθενών καθώς τα προγράμματα πρόληψης δεν έχουν ιδιαίτερη επιτυχία. Οι παρηγορητικές θεραπείες (καυτηριασμός με ραδιοσυχνότητες, χημειοεμβολισμός) μπορούν να βοηθήσουν ουσιαστικά υποομάδα επιλεγμένων ασθενών, ενώ αρκετοί δεν είναι υποψήφιοι για καμία από τις ανωτέρω. Η εμπειρία από τα πειραματικά

μοντέλα και η επιτυχία των αναλόγων σωματοστατίνης σε νευροενδοκρινείς όγκους, καθώς και η ύπαρξη υποδοχέων sstr σε δομές του ήπατος έδωσαν το έναυσμα για την εφαρμογή των αναλόγων σωματοστατίνης σε ανεγχείρητο ΗΚΚ και τη μελέτη παραμέτρων που σχετίζονται με το αποτέλεσμα της θεραπείας.

Ως συνέχεια τυχαιοποιημένης μελέτης από το τμήμα μας οκτρεοτίδης έναντι εικονικού φαρμάκου για ανεγχείρητο ΗΚΚ, πραγματοποιήθηκε ανοικτή προοπτική μελέτη αναλόγων σωματοστατίνης μακράς δράσης (οκτρεοτίδη, λανρεοτίδη) σε 32 ασθενείς με ανεγχείρητο ΗΚΚ. Η μελέτη έδειξε καλύτερη επιβίωση στην ομάδα θεραπείας σε σχέση με ιστορικούς μάρτυρες (διάμεση επιβίωση 15 μήνες έναντι 8 μηνών, $p<0.01$) με σχετικό κίνδυνο θανάτου 2.7 σε μη θεραπευόμενους ασθενείς. Διαπιστώθηκε σταθεροποίηση ή μείωση του όγκου στο 40% των ασθενών, ενώ στην πλειοψηφία υπήρξε βελτιωμένη ποιότητα ζωής (Karnofsky scale). Το ποσοστό ανταπόκρισης βρέθηκε αξιοπρόσεκτα ανάλογο με το ποσοστό των ΗΚΚ όπου ανιχνεύονται υποδοχείς (sstr), ενώ οι θετικές συνέπειες της θεραπείας διαπιστώνονταν μετά από τουλάχιστον εξάμηνη θεραπεία.

Η πλειοψηφία των ασθενών με το ΗΚΚ, μαζί με ομάδα 30 κιρρωτικών χωρίς ΗΚΚ και 48 υγιών μαρτύρων μελετήθηκαν για μια σημαντική κλινική παράμετρο, τις θρομβωτικές - θρομβοεμβολικές επιπλοκές. Εξετάστηκε ο ρόλος επίκτητων και γενετικών θρομβωτικών παραγόντων κινδύνου. Διαπιστώθηκαν χαμηλά επίπεδα πρωτεϊνών C, S, αντιθρομβίνης και λιποπρωτείνης α στον ορό των ασθενών με κίρρωση και ΗΚΚ. Οι ασθενείς με ΗΚΚ είχαν στατιστικά υψηλότερη ομοκυστεϊνη έναντι των δύο άλλων ομάδων. Αντιθέτως ο επιπολασμός της APC resistance, παράγοντα V Leiden , μεταλλαγής G20210GA στο γονίδιο της προθρομβίνης και ο πολυμορφισμός C677T της μεθυλεντετραϋδροφυλλικής αναγωγάσης δεν διέφερε στατιστικά μεταξύ των τριών ομάδων.

Μελετήθηκαν συγκριτικά όλες οι κλινικές αναφορές αναλόγων σωματοστατίνης σε ΗΚΚ είτε ως τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες είτε ως αναφορές περιπτώσεων ή ως μελέτες σειρών ασθενών. Διαπιστώθηκαν σημαντικά προβλήματα και ετερογένεια στο σχεδιασμό των μελετών. Μείζονες κλινικές δοκιμές περιέλαβαν ετοιμοθανάτους ασθενείς που συχνά δεν ελάμβαναν παρά 1 μήνα θεραπείας, αποτυγχάνοντας έτσι να δουν σε προοπτική τουλάχιστον εξαμήνου -όπως έχουμε δείξει στις μελέτες μας- τη δράση των αναλόγων σωματοστατίνης. Έτσι και ενώ υπάρχει καθολική αποδοχή για την καλή ανοχή της θεραπείας και την καλή ποιότητα ζωής, τα αποτελέσματα ποικίλλουν από εντυπωσιακά έως φτωχά, σε διαδοχικές αναφορές από διάφορες χώρες του κόσμου. Επιβεβαιώνεται δε ότι στις θετικές μελέτες περί το 40% των ασθενών έχουν εμφανές κλινικό όφελος, παραπέμποντας στη σχέση με τους υποδοχείς, ενδεχομένως καταδεικνύοντας ανεπάρκειες στη δράση των υπαρχόντων κυκλοφορούντων αναλόγων σωματοστατίνης. Αναλύονται δε οι προτεινόμενοι μηχανισμοί που σε κυτταρικό είπεδο σχετίζονται με τη δράση ή την αντοχή των ΗΚΚ στα ανάλογα της σωματοστατίνης.

Τα φτωχά αποτελέσματα των αναλόγων σωματοστατίνης επί ΗΚΚ σε μελέτες που περιελάμβαναν μεγάλο ποσοστό αλκοολικών ασθενών, επιβεβαιώθηκαν και σε ανάλυση των ασθενών της αρχικής κλινικής μελέτης. Έτσι ασθενείς με ΗΚΚ μη αλκκολικής αιτιολογίας είχαν μέση επιβίωση 12 μήνες έναντι αυτών με αλκοολική αιτιολογία που είχαν 5 μήνες. Για την περαιτέρω ερμηνεία του φαινομένου, μελετήθηκε σε πειραματικό επίπεδο σε κυτταρική σειρά Hep G2 η επίδραση της αιθανόλης και του μεταβολίτη της (ακεταλδεϋδη) στην έκφραση των sstr2 και sstr5. Διαπιστώθηκε επαγωγή των υποδοχέων από την οκτρεοτίδη, την αιθανόλη και την ακεταλδεϋδη χωριστά. Όταν επωάστηκαν μαζί αιθανόλη και οκτρεοτίδη αλλά και

ακεταλδεϋδη και οκτρεοτίδη βρέθηκε καταστολή της έκφρασης των υποδοχέων. Θεωρούμε ότι ο μηχανισμός αυτός παίζει σημαντικό ρόλο στο παρατηρούμενο κλινικό αποτέλεσμα στη θεραπεία των ασθενών αλκοολική αιτιολογίας με ανάλογα σωματοστατίνης σε ΗΚΚ.

Summary

Somatostatin (sst) is a hormone - regulatory peptide with multiple and diverse role in the central nervous system, the gastrointestinal tract and other peripheral tissues. SST has inhibitory actions on various secretory and growth processes. Its actions are implemented via G-protein bound receptor family. The receptors (sstr1-5) bound with high afinity with natural sst, whereas synthetic analogues (created to overcome the limitation of short half-life of the natural sst) bound mainly to sstr 2, 3, and 5.

Somatostatin receptors' expression in human tumours in vivo & in vitro, in non-tumoural tissues and in vessels, provided the ground for intense research and important applications in the diagnosis and treatment, most characteristically in neuroendocrine tumours. The identification of somatostatin receptors in the liver experimentally (sinusoidal cells, Kupffer cells), in chronic liver diseases and in hepatocellular carcinoma – HCC) together with the clear value of sst in the treatment of portal hypertension, gave the evidence for the use of sst in the treatment of HCC.

HCC is an important neoplasm as it represents the third cause of death from cancer. Its incidence rises worldwide. The radical therapeutic options (liver transplantation, resection or radiofrequency ablation in small HCC) are possible for a minority of HCC patients as screening is far from ideal. Palliative treatments

(radiofrequency ablation, transarterial chemoembolisation) can prolong life in selected patients. Nevertheless many people are not candidates for any of the abovementioned treatments. The experience from the experimental models, the identification of sstr in liver strctures and the success of somatostatin analogues in neuroendocrine tumours gave the evidence to treat inoperable HCC with these regimens and study the factors related to the response and the outcome.

After the original randomised study of octreotide in HCC, we conducted an open prospective study of long acting somatostatin analogues (octreotide, lanreotide) in 32 patients with inoperable HCC. The study showed better survival in the study group versus historic controls (median 15 months vs. 8, $p<0.01$) with relative risk for death in untreated patients 2.7. There has been a stabilisaton or reduction of the tumour in 40% of patients, almost all with good or improving quality of life (Karnofsky Performance Scale). The percentage of patients that responded was remarkably analogous with the percentage of HCCs that express sstr. Additionally, the positive effect of the treatment regimen was identified after 6 months treatment.

The majority of HCC patients of the previous clinical study, together with a group of 30 cirrhotics and 48 healthy controls were studied regarding a significant clinical parameter, the thrombotic complications. We studied the role of acquired and genetic risk factors. In serum of patients with cirrhosis and HCC, low levels of protein C, S, antithrombin and lipoprotein (a) has been found. HCC patients had statistically higher homocystein levels compared to the other two groups. On the contrary the prevalence of APC resistance, factor V Leiden, G20210GA mutation in prothrombin gene and C677T polymorphism of methylentrahydrofolate reuctase had no statistical significant differences.

We further studied comparativelly all the clinical reports of somatostatin analogues' treatment for HCC, either randomised trials, case control studies, or case reports. Various problems and significant heterogeneity in the design of such trials was identified. Major clinical trials included moribund patients, frequently receiving 1 month treatment at most, thus failing to subject the patients into the critical 6 months therapeutic period, as shown in our studies. Thus, despite the good tolerance of the regimen and the excellent quality of life, the results vary significantly from impressive to poor. The "rule" of 40% of patients who benefit from such treatment is again confirmed, implying the relation with sstr. On the other hand this might reveals the insufficient targeting of implicated sstr from the available sst analogues. We analyze the potential mechanisms of action and resistance of HCC in this drug.

Furthermore, the poor results of somatostatin analogues on HCC in studies including big numbers of alcoholics were confirmed in an analysis of the patients in our clinical study. Thus, patients with non alcoholic aetiology had mean survival 12 months vs. 5 months of patients with alcoholic aetiology. Trying to explore further this phenomenon, we studied experimentally in HepG2 cell line the effect of ethanol and its metabolite (acetaldehyde) in the expression of sstr2 and sstr5. SSTR induction was identified from octreotide, ethanol and acetaldehyde separately. When octreotide and ethanol were incubated together, as well as acetaldehyde and octreotide, we found suppression of the expression of sstr. We propose that this mechanism has important role in the clinical result of alcoholic patients treated with long acting somatostatin analogues.

Reference List

(1) Krulich L, Dhariwal AP, McCann SM. Stimulatory and inhibitory effects of purified hypothalamic extracts on growth hormone release from rat pituitary in vitro. *Endocrinology* 1968;**83**(4):783-90.

(2) Brazeau P, Vale W, Burgus R *et al*. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 1973;**179**(68):77-9.

(3) Galanopoulou AS, Kent G, Rabbani SN *et al*. Heterologous processing of prosomatostatin in constitutive and regulated secretory pathways. Putative role of the endoproteases furin, PC1, and PC2. *J Biol Chem* 1993;**268**(8):6041-9.

(4) Froidevaux S, Eberle AN. Somatostatin analogs and radiopeptides in cancer therapy. *Biopolymers* 2002;**66**(3):161-83.

(5) Patel YC. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol* 1999;**20**(3):157-98.

(6) Cone R, Low MEJ, Cameron J. Neuroendocrinology. In: Larsen P, Kronenberg H, Melmed S, Polonsky K, editors. Williams Textbook of Endocrinology. Saunders, 2002: 121-5.

(7) Harris AG. Somatostatin and somatostatin analogues: pharmacokinetics and pharmacodynamic effects. *Gut* 1994;**35**(3 Suppl):S1-S4.

(8) Shen LP, Rutter WJ. Sequence of the human somatostatin I gene. *Science* 1984;**224**(4645):168-71.

(9) Olias G, Viollet C, Kusserow H *et al*. Regulation and function of somatostatin receptors. *J Neurochem* 2004;**89**(5):1057-91.

(10) de Lecea L, Criado JR, Prospero-Garcia O *et al*. A cortical neuropeptide with neuronal depressant and sleep-modulating properties. *Nature* 1996;**381**(6579):242-5.

(11) Spier AD, de Lecea L. Cortistatin: a member of the somatostatin neuropeptide family with distinct physiological functions. *Brain Res Brain Res Rev* 2000;**33**(2-3):228-41.

(12) Fukusumi S, Kitada C, Takekawa S *et al*. Identification and characterization of a novel human cortistatin-like peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;**232**(1):157-63.

(13) Dalm VA, Van Hagen PM, de Krijger RR *et al*. Distribution pattern of somatostatin and cortistatin mRNA in human central and peripheral tissues. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;**60**(5):625-9.

(14) Hoyer D, Bell GI, Berelowitz M *et al*. Classification and nomenclature of somatostatin receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1995;**16**(3):86-8.

(15) Bauer W, Briner U, Doepfner W *et al*. SMS 201-995: a very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. *Life Sci* 1982;**31**(11):1133-40.

(16) Lamberts SW, van der Lely AJ, de Herder WW *et al*. Octreotide. *N Engl J Med* 1996;**334**(4):246-54.

(17) Flogstad AK, Halse J, Haldorsen T *et al*. Sandostatin LAR in acromegalic patients: a dose-range study. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;**80**(12):3601-7.

(18) de Herder WW, Hofland LJ, van der Lely AJ *et al*. Somatostatin receptors in gastroentero-pancreatic neuroendocrine tumours. *Endocr Relat Cancer* 2003;**10**(4):451-8.

(19) Reubi JC, Eisenwiener KP, Rink H *et al*. A new peptidic somatostatin agonist with high affinity to all five somatostatin receptors. *Eur J Pharmacol* 2002;**456**(1-3):45-9.

(20) Reisine T, Bell GI. Molecular biology of somatostatin receptors. *Endocr Rev* 1995;**16**(4):427-42.

(21) Hofland LJ, Lamberts SW. The pathophysiological consequences of somatostatin receptor internalization and resistance. *Endocr Rev* 2003;**24**(1):28-47.

(22) Thoss VS, Perez J, Probst A *et al*. Expression of five somatostatin receptor mRNAs in the human brain and pituitary. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1996;**354**(4):411-9.

(23) Pfeiffer M, Koch T, Schroder H *et al*. Homo- and heterodimerization of somatostatin receptor subtypes. Inactivation of sst(3) receptor function by heterodimerization with sst(2A). *J Biol Chem* 2001;**276**(17):14027-36.

(24) Rocheville M, Lange DC, Kumar U *et al*. Subtypes of the somatostatin receptor assemble as functional homo- and heterodimers. *J Biol Chem* 2000;**275**(11):7862-9.

(25) Rocheville M, Lange DC, Kumar U *et al*. Receptors for dopamine and somatostatin: formation of hetero-oligomers with enhanced functional activity. *Science* 2000;**288**(5463):154-7.

(26) Schwarzler A, Kreienkamp HJ, Richter D. Interaction of the somatostatin receptor subtype 1 with the human homolog of the Shk1 kinase-binding protein from yeast. *J Biol Chem* 2000;**275**(13):9557-62.

(27) Zitzer H, Honck HH, Bachner D *et al*. Somatostatin receptor interacting protein defines a novel family of multidomain proteins present in human and rodent brain. *J Biol Chem* 1999;**274**(46):32997-3001.

(28) de Herder WW, Lamberts SW. Somatostatin and somatostatin analogues: diagnostic and therapeutic uses. *Curr Opin Oncol* 2002;**14**(1):53-7.

(29) Reubi JC. Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. *Endocr Rev* 2003;**24**(4):389-427.

(30) Corleto VD, Nasoni S, Panzuto F *et al*. Somatostatin receptor subtypes: basic pharmacology and tissue distribution. *Dig Liver Dis* 2004;**36 Suppl 1**:S8-16.

(31) Yang SK, Parkington HC, Blake AD *et al*. Somatostatin increases voltage-gated K+ currents in GH3 cells through activation of multiple somatostatin receptors. *Endocrinology* 2005.

(32) Ferguson SS, Barak LS, Zhang J *et al*. G-protein-coupled receptor regulation: role of G-protein-coupled receptor kinases and arrestins. *Can J Physiol Pharmacol* 1996;**74**(10):1095-110.

(33) Hausdorff WP, Caron MG, Lefkowitz RJ. Turning off the signal: desensitization of beta-adrenergic receptor function. *FASEB J* 1990;**4**(11):2881-9.

(34) Koenig JA, Edwardson JM. Endocytosis and recycling of G protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1997;**18**(8):276-87.

(35) Yu SS, Lefkowitz RJ, Hausdorff WP. Beta-adrenergic receptor sequestration. A potential mechanism of receptor resensitization. *J Biol Chem* 1993;**268**(1):337-41.

(36) Roettger BF, Rentsch RU, Pinon D *et al*. Dual pathways of internalization of the cholecystokinin receptor. *J Cell Biol* 1995;**128**(6):1029-41.

(37) Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;**232**(4746):34-47.

(38) Steinman RM, Mellman IS, Muller WA *et al*. Endocytosis and the recycling of plasma membrane. *J Cell Biol* 1983;**96**(1):1-27.

(39) Pfeiffer M, Koch T, Schroder H *et al*. Heterodimerization of somatostatin and opioid receptors cross-modulates phosphorylation, internalization, and desensitization. *J Biol Chem* 2002;**277**(22):19762-72.

(40) Patel YC. Molecular pharmacology of somatostatin receptor subtypes. *J Endocrinol Invest* 1997;**20**(6):348-67.

(41) Schweitzer P, Madamba S, Siggins GR. Arachidonic acid metabolites as mediators of somatostatin-induced increase of neuronal M-current. *Nature* 1990;**346**(6283):464-7.

(42) Colas B, Cambillau C, Buscail L *et al*. Stimulation of a membrane tyrosine phosphatase activity by somatostatin analogues in rat pancreatic acinar cells. *Eur J Biochem* 1992;**207**(3):1017-24.

(43) Cattaneo MG, Amoroso D, Gussoni G *et al*. A somatostatin analogue inhibits MAP kinase activation and cell proliferation in human neuroblastoma and in human small cell lung carcinoma cell lines. *FEBS Lett* 1996;**397**(2-3):164-8.

(44) Reubi JC, Kappeler A, Waser B *et al*. Immunohistochemical localization of somatostatin receptor sst2A in human pancreatic islets. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;**83**(10):3746-9.

(45) Kumar U, Sasi R, Suresh S *et al*. Subtype-selective expression of the five somatostatin receptors (hSSTR1-5) in human pancreatic islet cells: a quantitative double-label immunohistochemical analysis. *Diabetes* 1999;**48**(1):77-85.

(46) Le Romancer M, Cherifi Y, Levasseur S *et al*. Messenger RNA expression of somatostatin receptor subtypes in human and rat gastric mucosae. *Life Sci* 1996;**58**(13):1091-8.

(47) Seboek D, Linscheid P, Zulewski H *et al*. Somatostatin is expressed and secreted by human adipose tissue upon infection and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;**89**(10):4833-9.

(48) Gugger M, Waser B, Kappeler A *et al*. Cellular detection of sst2A receptors in human gastrointestinal tissue. *Gut* 2004;**53**(10):1431-6.

(49) Reubi JC, Zimmermann A, Jonas S *et al*. Regulatory peptide receptors in human hepatocellular carcinomas. *Gut* 1999;**45**(5):766-74.

(50) Reubi JC, Laissue JA, Waser B *et al*. Immunohistochemical detection of somatostatin sst2a receptors in the lymphatic, smooth muscular, and peripheral nervous systems of the human gastrointestinal tract: facts and artifacts. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;**84**(8):2942-50.

(51) Kulaksiz H, Eissele R, Rossler D *et al*. Identification of somatostatin receptor subtypes 1, 2A, 3, and 5 in neuroendocrine tumours with subtype specific antibodies. *Gut* 2002;**50**(1):52-60.

(52) Papotti M, Bongiovanni M, Volante M *et al*. Expression of somatostatin receptor types 1-5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis. *Virchows Arch* 2002;**440**(5):461-75.

(53) Reubi JC, Schaer JC, Waser B *et al*. A selective analog for the somatostatin sst1-receptor subtype expressed by human tumors. *Eur J Pharmacol* 1998;**345**(1):103-10.

(54) Reubi JC, Waser B. Concomitant expression of several peptide receptors in neuroendocrine tumours: molecular basis for in vivo multireceptor tumour targeting. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;**30**(5):781-93.

(55) Vanhagen PM, Krenning EP, Reubi JC *et al*. Somatostatin analogue scintigraphy in granulomatous diseases. *Eur J Nucl Med* 1994;**21**(6):497-502.

(56) Vanhagen PM, Markusse HM, Lamberts SW *et al*. Somatostatin receptor imaging. The presence of somatostatin receptors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994;**37**(10):1521-7.

(57) Reubi JC, Mazzucchelli L, Laissue JA. Intestinal vessels express a high density of somatostatin receptors in human inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1994;**106**(4):951-9.

(58) Adams RL, Adams IP, Lindow SW *et al*. Somatostatin receptors 2 and 5 are preferentially expressed in proliferating endothelium. *Br J Cancer* 2005;**92**(8):1493-8.

(59) Reubi JC, Mazzucchelli L, Hennig I *et al*. Local up-regulation of neuropeptide receptors in host blood vessels around human colorectal cancers. *Gastroenterology* 1996;**110**(6):1719-26.

(60) Denzler B, Reubi JC. Expression of somatostatin receptors in peritumoral veins of human tumors. *Cancer* 1999;**85**(1):188-98.

(61) Watson JC, Balster DA, Gebhardt BM *et al*. Growing vascular endothelial cells express somatostatin subtype 2 receptors. *Br J Cancer* 2001;**85**(2):266-72.

(62) Sonnenberg GE, Keller U, Perruchoud A *et al*. Effect of somatostatin on splanchnic hemodynamics in patients with cirrhosis of the liver and in normal subjects. *Gastroenterology* 1981;**80**(3):526-32.

(63) Garcia dlT, Wass JA, Turner HE. Antiangiogenic effects of somatostatin analogues. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;**57**(4):425-41.

(64) Florio T, Morini M, Villa V *et al*. Somatostatin inhibits tumor angiogenesis and growth via somatostatin receptor-3-mediated regulation of endothelial nitric oxide synthase and mitogen-activated protein kinase activities. *Endocrinology* 2003;**144**(4):1574-84.

(65) O'Byrne KJ, Dalgleish AG, Browning MJ *et al*. The relationship between angiogenesis and the immune response in carcinogenesis and the progression of malignant disease. *Eur J Cancer* 2000;**36**(2):151-69.

(66) Reubi JC, Lamberts SW, Maurer R. Somatostatin receptors in normal and tumoral tissue. *Horm Res* 1988;**29**(2-3):65-9.

(67) Lamberts SW, Reubi JC, Krenning EP. The role of somatostatin analogs in the control of tumor growth. *Semin Oncol* 1994;**21**(5 Suppl 13):61-4.

(68) Bousquet C, Guillermet J, Vernejoul F *et al*. Somatostatin receptors and regulation of cell proliferation. *Dig Liver Dis* 2004;**36 Suppl 1**:S2-S7.

(69) Ramage JK, Davies AH, Ardill J *et al*. Guidelines for the management of gastroenteropancreatic neuroendocrine (including carcinoid) tumours. *Gut* 2005;**54 Suppl 4**:iv1-16.

(70) Lamberts SW, Bakker WH, Reubi JC *et al*. Treatment with Sandostatin and in vivo localization of tumors with radiolabeled somatostatin analogs. *Metabolism* 1990;**39**(9 Suppl 2):152-5.

(71) Caplin ME, Buscombe JR, Hilson AJ *et al*. Carcinoid tumour. *Lancet* 1998;**352**(9130):799-805.

(72) Arnold R, Simon B, Wied M. Treatment of neuroendocrine GEP tumours with somatostatin analogues: a review. *Digestion* 2000;**62 Suppl 1**:84-91.

(73) Kvols LK, Moertel CG, O'Connell MJ *et al*. Treatment of the malignant carcinoid syndrome. Evaluation of a long-acting somatostatin analogue. *N Engl J Med* 1986;**315**(11):663-6.

(74) Frank M, Klose KJ, Wied M *et al*. Combination therapy with octreotide and alpha-interferon: effect on tumor growth in metastatic endocrine gastroenteropancreatic tumors. *Am J Gastroenterol* 1999;**94**(5):1381-7.

(75) Anthony LB. Long-acting formulations of somatostatin analogues. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999;**31 Suppl 2**:S216-S218.

(76) Bruns C, Weckbecker G, Raulf F *et al*. Molecular pharmacology of somatostatin-receptor subtypes. *Ann N Y Acad Sci* 1994;**733**:138-46.

(77) Patel YC, Srikant CB. Subtype selectivity of peptide analogs for all five cloned human somatostatin receptors (hsstr 1-5). *Endocrinology* 1994;**135**(6):2814-7.

(78) Shojamanesh H, Gibril F, Louie A *et al*. Prospective study of the antitumor efficacy of long-term octreotide treatment in patients with progressive metastatic gastrinoma. *Cancer* 2002;**94**(2):331-43.

(79) de Herder WW, van der Lely AJ, Lamberts SW. Somatostatin analogue treatment of neuroendocrine tumours. *Postgrad Med J* 1996;**72**(849):403-8.

(80) Oberg K. Established clinical use of octreotide and lanreotide in oncology. *Chemotherapy* 2001;**47 Suppl 2**:40-53.

(81) Jockenhovel F, Lederbogen S, Olbricht T *et al*. The long-acting somatostatin analogue octreotide alleviates symptoms by reducing posttranslational conversion of prepro-glucagon to glucagon in a patient with malignant glucagonoma, but does not prevent tumor growth. *Clin Investig* 1994;**72**(2):127-33.

(82) Chanson P, Boerlin V, Ajzenberg C *et al*. Comparison of octreotide acetate LAR and lanreotide SR in patients with acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000;**53**(5):577-86.

(83) Verhelst JA, Pedroncelli AM, Abs R *et al*. Slow-release lanreotide in the treatment of acromegaly: a study in 66 patients. *Eur J Endocrinol* 2000;**143**(5):577-84.

(84) Lamberts SW, de Herder WW, Hofland LJ. Somatostatin analogs in the diagnosis and treatment of cancer. *Trends Endocrinol Metab* 2002;**13**(10):451-7.

(85) Witzig TE, Letendre L, Gerstner J *et al*. Evaluation of a somatostatin analog in the treatment of lymphoproliferative disorders: results of a phase II North Central Cancer Treatment Group trial. *J Clin Oncol* 1995;**13**(8):2012-5.

(86) Hall GH, Turnbull LW, Richmond I *et al*. Localisation of somatostatin and somatostatin receptors in benign and malignant ovarian tumours. *Br J Cancer* 2002;**87**(1):86-90.

(87) Schulz S, Schmitt J, Weise W. Frequent expression of immunoreactive somatostatin receptors in cervical and endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2003;**89**(3):385-90.

(88) Dolan JT, Miltenburg DM, Granchi TS *et al*. Treatment of metastatic breast cancer with somatostatin analogues--a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2001;**8**(3):227-33.

(89) Bajetta E, Procopio G, Ferrari L *et al*. A randomized, multicenter prospective trial assessing long-acting release octreotide pamoate plus tamoxifen as a first line therapy for advanced breast carcinoma. *Cancer* 2002;**94**(2):299-304.

(90) Dizeyi N, Konrad L, Bjartell A *et al*. Localization and mRNA expression of somatostatin receptor subtypes in human prostatic tissue and prostate cancer cell lines. *Urol Oncol* 2002;**7**(3):91-8.

(91) Hejna M, Schmidinger M, Raderer M. The clinical role of somatostatin analogues as antineoplastic agents: much ado about nothing? *Ann Oncol* 2002;**13**(5):653-68.

(92) Cascinu S, Del Ferro E, Catalano G. A randomised trial of octreotide vs best supportive care only in advanced gastrointestinal cancer patients refractory to chemotherapy. *Br J Cancer* 1995;**71**(1):97-101.

(93) Krenning EP, Kwekkeboom DJ, Bakker WH *et al*. Somatostatin receptor scintigraphy with [111In-DTPA-D-Phe1]- and [123I-Tyr3]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients. *Eur J Nucl Med* 1993;**20**(8):716-31.

(94) Kwekkeboom D, Krenning EP, de Jong M. Peptide receptor imaging and therapy. *J Nucl Med* 2000;**41**(10):1704-13.

(95) Virgolini I, Traub T, Leimer M *et al*. New radiopharmaceuticals for receptor scintigraphy and radionuclide therapy. *Q J Nucl Med* 2000;**44**(1):50-8.

(96) Janson ET, Westlin JE, Eriksson B *et al*. [111In-DTPA-D-Phe1]octreotide scintigraphy in patients with carcinoid tumours: the predictive value for somatostatin analogue treatment. *Eur J Endocrinol* 1994;**131**(6):577-81.

(97) de Herder WW, Krenning EP, Malchoff CD *et al*. Somatostatin receptor scintigraphy: its value in tumor localization in patients with Cushing's syndrome caused by ectopic corticotropin or corticotropin-releasing hormone secretion. *Am J Med* 1994;**96**(4):305-12.

(98) Bussolati G, Cassoni P, Ghisolfi G *et al*. Immunolocalization and gene expression of oxytocin receptors in carcinomas and non-neoplastic tissues of the breast. *Am J Pathol* 1996;**148**(6):1895-903.

(99) Rabinowitz I, Telepak R, Lee FC. Octreotide scans are positive in a subset of patients with hepatocellular carcinoma. *Clin Nucl Med* 2002;**27**(7):499-502.

(100) Kiaris H, Schally AV, Nagy A *et al*. A targeted cytotoxic somatostatin (SST) analogue, AN-238, inhibits the growth of H-69 small-cell lung carcinoma (SCLC) and H-157 non-SCLC in nude mice. *Eur J Cancer* 2001;**37**(5):620-8.

(101) Szepeshazi K, Schally AV, Halmos G *et al*. Targeting of cytotoxic somatostatin analog AN-238 to somatostatin receptor subtypes 5 and/or 3 in experimental pancreatic cancers. *Clin Cancer Res* 2001;**7**(9):2854-61.

(102) Hofland LJ, van Koetsveld PM, Wouters N *et al*. Dissociation of antiproliferative and antihormonal effects of the somatostatin analog octreotide on 7315b pituitary tumor cells. *Endocrinology* 1992;**131**(2):571-7.

(103) Schally AV. Oncological applications of somatostatin analogues. *Cancer Res* 1988;**48**(24 Pt 1):6977-85.

(104) Reubi JC. A somatostatin analogue inhibits chondrosarcoma and insulinoma tumour growth. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1985;**109**(1):108-14.

(105) Sanyal AJ. Octreotide and its effects on portal circulation. *Gastroenterology* 2001;**120**(1):303-5.

(106) Reynaert H, Vaeyens F, Qin H *et al*. Somatostatin suppresses endothelin-1-induced rat hepatic stellate cell contraction via somatostatin receptor subtype 1. *Gastroenterology* 2001;**121**(4):915-30.

(107) Reynaert H, Geerts A. Pharmacological rationale for the use of somatostatin and analogues in portal hypertension. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;**18**(4):375-86.

(108) Reynaert H, Vaeyens F, Qin H *et al*. Functionally active somatostatin receptor subtypes 1,2 and 3 on activated rat hepatic stellate cells. In: Wisse E, Knook D, de Zanger R, Arthur M, editors. Cells of the Hepatic Sinusoid. Leiden: Kupffer cell foundation, 2001: 187-90.

(109) Fort J, Oberti F, Pilette C *et al*. Antifibrotic and hemodynamic effects of the early and chronic administration of octreotide in two models of liver fibrosis in rats. *Hepatology* 1998;**28**(6):1525-31.

(110) Chao TC, Chao HH, Lin JD *et al*. Somatostatin and octreotide modulate the function of Kupffer cells in liver cirrhosis. *Regul Pept* 1999;**79**(2-3):117-24.

(111) Davies N, Kynaston H, Yates J *et al*. Octreotide, the reticuloendothelial system, and experimental liver tumour. *Gut* 1995;**36**(4):610-4.

(112) Stoyanova II, Gulubova MV. Immunocytochemical study on the liver innervation in patients with cirrhosis. *Acta Histochem* 2000;**102**(4):391-402.

(113) Kouroumalis E, Skordilis P, Thermos K *et al*. Treatment of hepatocellular carcinoma with octreotide: a randomised controlled study. *Gut* 1998;**42**(3):442-7.

(114) Reynaert H, Rombouts K, Vandermonde A *et al*. Expression of somatostatin receptors in normal and cirrhotic human liver and in hepatocellular carcinoma. *Gut* 2004;**53**(8):1180-9.

(115) Notas G, Kolios G, Mastrodimou N *et al*. Cortistatin production by HepG2 human hepatocellular carcinoma cell line and distribution of somatostatin receptors. *J Hepatol* 2004;**40**(5):792-8.

(116) Li Y, Si JM, Zhang J *et al*. Somatostatin receptor subtype 2-mediated scintigraphy and localization using (99m)Tc-HYNIC-Tyr(3)-octreotide in human hepatocellular carcinoma-bearing nude mice. *World J Gastroenterol* 2005;**11**(25):3953-7.

(117) Blaker M, Schmitz M, Gocht A *et al*. Differential expression of somatostatin receptor subtypes in hepatocellular carcinomas. *J Hepatol* 2004;**41**(1):112-8.

(118) Qin Y, Schally AV, Willems G. Treatment of liver metastases of human colon cancers in nude mice with somatostatin analogue RC-160. *Int J Cancer* 1992;**52**(5):791-6.

(119) Davies N, Kynaston H, Yates J *et al*. Octreotide inhibits the growth and development of three types of experimental liver metastases. *Br J Surg* 1995;**82**(6):840-3.

(120) van Eijck CH, Slooter GD, Hofland LJ *et al*. Somatostatin receptor-dependent growth inhibition of liver metastases by octreotide. *Br J Surg* 1994;**81**(9):1333-7.

(121) Chou CK, Ho LT, Ting LP *et al*. Selective suppression of insulin-induced proliferation of cultured human hepatoma cells by somatostatin. *J Clin Invest* 1987;**79**(1):175-8.

(122) Schindel DT, Grosfeld JL. Hepatic resection enhances growth of residual intrahepatic and subcutaneous hepatoma, which is inhibited by octreotide. *J Pediatr Surg* 1997;**32**(7):995-7.

(123) Nakaizumi A, Uehara H, Baba M *et al*. Inhibition by somatostatin of hepatocarcinogenesis induced by N-nitrosomorpholine in Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis* 1993;**14**(12):2601-4.

(124) Chen X, Liu Z, Ai Z. Antineoplastic mechanism of Octreotide action in human hepatoma. *Chin Med J (Engl)* 2001;**114**(11):1167-70.

(125) Valatas V, Kolios G, Manousou P *et al*. Secretion of inflammatory mediators by isolated rat Kupffer cells: the effect of octreotide. *Regul Pept* 2004;**120**(1-3):215-25.

(126) Xidakis C, Kolios G, Valatas V *et al*. Effect of octreotide on apoptosis-related proteins in rat Kupffer cells: a possible anti-tumour mechanism. *Anticancer Res* 2004;**24**(2B):833-41.

(127) Xidakis C, Ljumovic D, Manousou P *et al*. Production of pro- and anti-fibrotic agents by rat Kupffer cells; the effect of octreotide. *Dig Dis Sci* 2005;**50**(5):935-41.

(128) Liu HL, Huo L, Wang L. Octreotide inhibits proliferation and induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. *Acta Pharmacol Sin* 2004;**25**(10):1380-6.

(129) Lasfer M, Vadrot N, Schally AV *et al*. Potent induction of apoptosis in human hepatoma cell lines by targeted cytotoxic somatostatin analogue AN-238. *J Hepatol* 2005;**42**(2):230-7.

(130) Tan CK, Podila PV, Taylor JE *et al*. Human cholangiocarcinomas express somatostatin receptors and respond to somatostatin with growth inhibition. *Gastroenterology* 1995;**108**(6):1908-16.

(131) Wang JH, Xing QT, Yuan MB. Antineoplastic effects of octreotide on human gallbladder cancer cells in vitro. *World J Gastroenterol* 2004;**10**(7):1043-6.

(132) Garland J, Buscombe JR, Bouvier C *et al*. Sandostatin LAR (long-acting octreotide acetate) for malignant carcinoid syndrome: a 3-year experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;**17**(3):437-44.

(133) Raderer M, Hejna MH, Kurtaran A *et al*. Successful treatment of an advanced hepatocellular carcinoma with the long-acting somatostatin analog lanreotide. *Am J Gastroenterol* 1999;**94**(1):278-9.

(134) Raderer M, Hejna MH, Muller C *et al*. Treatment of hepatocellular cancer with the long acting somatostatin analog lanreotide in vitro and in vivo. *Int J Oncol* 2000;**16**(6):1197-201.

(135) Rabe C, Pilz T, Allgaier HP *et al*. [Clinical outcome of a cohort of 63 patients with hepatocellular carcinoma treated with octreotide.]. *Z Gastroenterol* 2002;**40**(6):395-400.

(136) Samonakis DN, Moschandreas J, Arnaoutis T *et al*. Treatment of hepatocellular carcinoma with long acting somatostatin analogues. *Oncol Rep* 2002;**9**(4):903-7.

(137) Kouroumalis E. Somatostatin receptors in Hepatocellular Carcinoma and Cholangiocarcinoma: treatment with somatostatin analogues. In: Lamberts SW, Dogliotti L, editors. The expandin role of Octreotide I: Advances in Oncology. Bristol: Bioscientifica Ltd, 2002: 181-8.

(138) Dimitroulopoulos D, Xinopoulos D, Tsamakidis K *et al*. The role of sandostatin LAR in treating patients with advanced hepatocellular cancer. *Hepatogastroenterology* 2002;**49**(47):1245-50.

(139) Yuen MF, Poon RT, Lai CL *et al*. A randomized placebo-controlled study of long-acting octreotide for the treatment of advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002;**36**(3):687-91.

(140) Kouroumalis E, Samonakis D, Skordilis P. Octreotide treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2003;**37**(2):477.

(141) Siveke JT, Herberhold C, Folwaczny C. Complete regression of advanced HCC with long acting octreotide. *Gut* 2003;**52**(10):1531.

(142) Gill ML, Atiq M, Sattar S *et al*. Treatment outcomes with long acting octreotide in inoperable hepatocellular carcinoma: a local experience and review of literature. *J Pak Med Assoc* 2005;**55**(4):135-8.

(143) Plentz RR, Tillmann HL, Kubicka S *et al*. Hepatocellular carcinoma and octreotide: Treatment results in prospectively assigned patients with advanced tumor and cirrhosis stage. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;**20**(9):1422-8.

(144) Allgaier HP, Becker G, Blum HE. [A therapeutic study of hepatocellular carcinoma using octreotide (HECTOR). Hepatocellular Carcinoma: Treatment with Octreotide]. *Dtsch Med Wochenschr* 2000;**125**(11):320.

(145) Fiebiger WC, Scheithauer W, Traub T *et al*. Absence of therapeutic efficacy of the somatostatin analogue lanreotide in advanced primary hepatic cholangiocellular cancer and adenocarcinoma of the gallbladder despite in vivo somatostatin-receptor expression. *Scand J Gastroenterol* 2002;**37**(2):222-5.

(146) Parkin DM, Bray F, Ferlay J *et al*. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001;**94**(2):153-6.

(147) Bruix J, Sherman M, Llovet JM *et al*. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001;**35**(3):421-30.

(148) El Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999;**340**(10):745-50.

(149) Bosch FX, Ribes J, Diaz M *et al*. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S5-S16.

(150) Okuda K. Hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2000;**32**(1 Suppl):225-37.

(151) Alsowmely AM, Hodgson HJ. Non-surgical treatment of hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;**16**(1):1-15.

(152) Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I *et al*. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S35-S50.

(153) Ryder SD. Guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) in adults. *Gut* 2003;**52 Suppl 3**:iii1-iii8.

(154) McGlynn KA, London WT. Epidemiology and natural history of hepatocellular carcinoma. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;**19**(1):3-23.

(155) Morgan TR, Mandayam S, Jamal MM. Alcohol and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S87-S96.

(156) Kowdley KV. Iron, hemochromatosis, and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S79-S86.

(157) Ozturk M. Genetic aspects of hepatocellular carcinogenesis. *Semin Liver Dis* 1999;**19**(3):235-42.

(158) Satyanarayana A, Manns MP, Rudolph KL. Telomeres and telomerase: a dual role in hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2004;**40**(2):276-83.

(159) Feitelson MA, Pan J, Lian Z. Early molecular and genetic determinants of primary liver malignancy. *Surg Clin North Am* 2004;**84**(2):339-54.

(160) Libbrecht L, Desmet V, Roskams T. Preneoplastic lesions in human hepatocarcinogenesis. *Liver Int* 2005;**25**(1):16-27.

(161) Brechot C. Pathogenesis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: old and new paradigms. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S56-S61.

(162) Liang TJ, Heller T. Pathogenesis of hepatitis C-associated hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S62-S71.

(163) Sherlock S, Dooley J. Malignant Liver Tumours. Diseases of the Liver and the Biliary system. Blackwell Publishing Ltd, 2002: 537-53.

(164) Quaglia A, Bhattacharjya S, Dhillon AP. Limitations of the histopathological diagnosis and prognostic assessment of hepatocellular carcinoma. *Histopathology* 2001;**38**(2):167-74.

(165) Scheuer P, Lefkowitch J. Neoplasms and nodules. Liver Biopsy Interpretation. W.B.Saunders, 2000: 191-227.

(166) Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003;**362**(9399):1907-17.

(167) Barbara L, Benzi G, Gaiani S *et al*. Natural history of small untreated hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a multivariate analysis of prognostic factors of tumor growth rate and patient survival. *Hepatology* 1992;**16**(1):132-7.

(168) Okuda K, Ohtsuki T, Obata H *et al*. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. *Cancer* 1985;**56**(4):918-28.

(169) Llovet JM, Beaugrand M. Hepatocellular carcinoma: present status and future prospects. *J Hepatol* 2003;**38 Suppl 1**:S136-S149.

(170) Bolondi L, Sofia S, Siringo S *et al*. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost effectiveness analysis. *Gut* 2001;**48**(2):251-9.

(171) Varela M, Sala M, Llovet JM *et al*. Review article: natural history and prognostic prediction of patients with hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;**17 Suppl 2**:98-102.

(172) Bialecki ES, Di Bisceglie AM. Clinical presentation and natural course of hepatocellular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;**17**(5):485-9.

(173) Befeler AS, Di Bisceglie AM. Hepatocellular carcinoma: diagnosis and treatment. *Gastroenterology* 2002;**122**(6):1609-19.

(174) Yuen MF, Lai CL. Serological markers of liver cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;**19**(1):91-9.

(175) Filmus J, Capurro M. Glypican-3 and alphafetoprotein as diagnostic tests for hepatocellular carcinoma. *Mol Diagn* 2004;**8**(4):207-12.

(176) Brannigan M, Burns PN, Wilson SR. Blood flow patterns in focal liver lesions at microbubble-enhanced US. *Radiographics* 2004;**24**(4):921-35.

(177) Fung KT, Li FT, Raimondo ML *et al*. Systematic review of radiological imaging for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *Br J Radiol* 2004;**77**(920):633-40.

(178) Taouli B, Losada M, Holland A *et al*. Magnetic resonance imaging of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S144-S152.

(179) Gharib AM, Thomasson D, Li KC. Molecular imaging of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S153-S158.

(180) Huang GT, Sheu JC, Yang PM *et al*. Ultrasound-guided cutting biopsy for the diagnosis of hepatocellular carcinoma--a study based on 420 patients. *J Hepatol* 1996;**25**(3):334-8.

(181) Stigliano R, Burroughs AK. Should we biopsy each liver mass suspicious for HCC before liver transplantation?--no, please don't. *J Hepatol* 2005;**43**(4):563-8.

(182) Frazer C. Imaging of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;**14**(8):750-6.

(183) Horigome H, Nomura T, Saso K *et al*. Limitations of imaging diagnosis for small hepatocellular carcinoma: comparison with histological findings. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;**14**(6):559-65.

(184) Chignard N, Beretta L. Proteomics for hepatocellular carcinoma marker discovery. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S120-S125.

(185) Sobin LH, Fleming ID. TNM Classification of Malignant Tumors, fifth edition (1997). Union Internationale Contre le Cancer and the American Joint Committee on Cancer. *Cancer* 1997;**80**(9):1803-4.

(186) A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients: the Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) investigators. *Hepatology* 1998;**28**(3):751-5.

(187) Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999;**19**(3):329-38.

(188) Liver Cancer Study Group of Japan. The general rules for the Clinical and Pathological study of primary Liver Cancer. Tokyo: Kanehara, 2000.

(189) Wildi S, Pestalozzi BC, McCormack L *et al*. Critical evaluation of the different staging systems for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2004;**91**(4):400-8.

(190) Marrero JA, Fontana RJ, Barrat A *et al*. Prognosis of hepatocellular carcinoma: comparison of 7 staging systems in an American cohort. *Hepatology* 2005;**41**(4):707-16.

(191) Lok AS. Prevention of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S303-S309.

(192) Heathcote EJ. Prevention of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S294-S302.

(193) Gelatti U, Covolo L, Franceschini M *et al*. Coffee consumption reduces the risk of hepatocellular carcinoma independently of its aetiology: a case-control study. *J Hepatol* 2005;**42**(4):528-34.

(194) La Vecchia C. Coffee, liver enzymes, cirrhosis and liver cancer. *J Hepatol* 2005;**42**(4):444-6.

(195) Kensler TW, Egner PA, Wang JB *et al*. Chemoprevention of hepatocellular carcinoma in aflatoxin endemic areas. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S310-S318.

(196) Yuen MF, Lai CL. Screening for hepatocellular carcinoma: survival benefit and cost-effectiveness. *Ann Oncol* 2003;**14**(10):1463-7.

(197) Danta M, Barnes E, Dusheiko G. The surveillance and diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;**17**(5):491-6.

(198) Bolondi L. Screening for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *J Hepatol* 2003;**39**(6):1076-84.

(199) Sherman M. Alphafetoprotein: an obituary. *J Hepatol* 2001;**34**(4):603-5.

(200) Daniele B, Bencivenga A, Megna AS *et al*. Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S108-S112.

(201) Suehiro T, Terashi T, Shiotani S *et al*. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2002;**131**(1 Suppl):S190-S194.

(202) Esquivel CO. Is liver transplantation justified for the treatment of HCC in Child's A patients? Not always. *Liver Transpl* 2003;**9**(5):521-2.

(203) Mazzaferro V, Regalia E, Doci R *et al*. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996;**334**(11):693-9.

(204) Bismuth H, Majno PE, Adam R. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 1999;**19**(3):311-22.

(205) Llovet JM, Mas X, Aponte JJ *et al*. Cost effectiveness of adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma during the waiting list for liver transplantation. *Gut* 2002;**50**(1):123-8.

(206) Burroughs A, Hochhauser D, Meyer T. Systemic treatment and liver transplantation for hepatocellular carcinoma: two ends of the therapeutic spectrum. *Lancet Oncol* 2004;**5**(7):409-18.

(207) Yao FY, Bass NM, Nikolai B *et al*. A follow-up analysis of the pattern and predictors of dropout from the waiting list for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma: implications for the current organ allocation policy. *Liver Transpl* 2003;**9**(7):684-92.

(208) Song TJ, Ip EW, Fong Y. Hepatocellular carcinoma: current surgical management. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S248-S260.

(209) Bruix J, Castells A, Bosch J *et al*. Surgical resection of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: prognostic value of preoperative portal pressure. *Gastroenterology* 1996;**111**(4):1018-22.

(210) Ng KK, Vauthey JN, Pawlik TM *et al*. Is hepatic resection for large or multinodular hepatocellular carcinoma justified? Results from a multi-institutional database. *Ann Surg Oncol* 2005;**12**(5):364-73.

(211) Johnson PJ. Hepatocellular carcinoma: is current therapy really altering outcome? *Gut* 2002;**51**(4):459-62.

(212) Lencioni R, Cioni D, Crocetti L *et al*. Percutaneous ablation of hepatocellular carcinoma: state-of-the-art. *Liver Transpl* 2004;**10**(2 Suppl 1):S91-S97.

(213) Livraghi T, Giorgio A, Marin G *et al*. Hepatocellular carcinoma and cirrhosis in 746 patients: long-term results of percutaneous ethanol injection. *Radiology* 1995;**197**(1):101-8.

(214) Jansen M, van Hillegersberg R, Chamuleau R *et al*. Outcome of regional and local ablative therapies for hepatocellular carcinoma: a collective review. *Eur J Surg Oncol* 2005;**31**(4):331-47.

(215) Buscarini L, Buscarini E, Di Stasi M *et al*. Percutaneous radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma: long-term results. *Eur Radiol* 2001;**11**(6):914-21.

(216) Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S *et al*. Small hepatocellular carcinoma: treatment with radio-frequency ablation versus ethanol injection. *Radiology* 1999;**210**(3):655-61.

(217) Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S *et al*. Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of medium and large lesions. *Radiology* 2000;**214**(3):761-8.

(218) Lencioni R, Cioni D, Crocetti L *et al*. Early-stage hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: long-term results of percutaneous image-guided radiofrequency ablation. *Radiology* 2005;**234**(3):961-7.

(219) Camma C, Di M, V, Orlando A *et al*. Treatment of hepatocellular carcinoma in compensated cirrhosis with radio-frequency thermal ablation (RFTA): a prospective study. *J Hepatol* 2005;**42**(4):535-40.

(220) Lin SM, Lin CJ, Lin CC *et al*. Randomised controlled trial comparing percutaneous radiofrequency thermal ablation, percutaneous ethanol injection, and percutaneous acetic acid injection to treat hepatocellular carcinoma of 3 cm or less. *Gut* 2005;**54**(8):1151-6.

(221) Lin SM, Lin CJ, Lin CC *et al*. Radiofrequency ablation improves prognosis compared with ethanol injection for hepatocellular carcinoma < or =4 cm. *Gastroenterology* 2004;**127**(6):1714-23.

(222) Llovet JM, Real MI, Montana X *et al*. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;**359**(9319):1734-9.

(223) Camma C, Schepis F, Orlando A *et al*. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials. *Radiology* 2002;**224**(1):47-54.

(224) Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003;**37**(2):429-42.

(225) Bruix J, Sala M, Llovet JM. Chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S179-S188.

(226) Geschwind JF, Salem R, Carr BI *et al*. Yttrium-90 microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S194-S205.

(227) Lai CL, Wu PC, Chan GC *et al*. Doxorubicin versus no antitumor therapy in inoperable hepatocellular carcinoma. A prospective randomized trial. *Cancer* 1988;**62**(3):479-83.

(228) Lau WY, Leung TW, Lai BS *et al*. Preoperative systemic chemoimmunotherapy and sequential resection for unresectable hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2001;**233**(2):236-41.

(229) Leung TW, Tang AM, Zee B *et al*. Factors predicting response and survival in 149 patients with unresectable hepatocellular carcinoma treated by combination cisplatin, interferon-alpha, doxorubicin and 5-fluorouracil chemotherapy. *Cancer* 2002;**94**(2):421-7.

(230) Fuss M, Salter BJ, Herman TS *et al*. External beam radiation therapy for hepatocellular carcinoma: potential of intensity-modulated and image-guided radiation therapy. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S206-S217.

(231) Llovet JM, Sala M, Castells L *et al*. Randomized controlled trial of interferon treatment for advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000;**31**(1):54-8.

(232) Nishiguchi S, Shiomi S, Nakatani S *et al*. Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic active hepatitis C and cirrhosis. *Lancet* 2001;**357**(9251):196-7.

(233) Toyoda H, Kumada T, Nakano S *et al*. The effect of retreatment with interferon-alpha on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Cancer* 2000;**88**(1):58-65.

(234) Mohr L, Yeung A, Aloman C *et al*. Antibody-directed therapy for human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S225-S231.

(235) Butterfield LH. Immunotherapeutic strategies for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;**127**(5 Suppl 1):S232-S241.

(236) Farinati F, Salvagnini M, de Maria N *et al*. Unresectable hepatocellular carcinoma: a prospective controlled trial with tamoxifen. *J Hepatol* 1990;**11**(3):297-301.

(237) Farinati F, de Maria N, Fornasiero A *et al*. Prospective controlled trial with antiestrogen drug tamoxifen in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci* 1992;**37**(5):659-62.

(238) Manesis EK, Giannoulis G, Zoumboulis P *et al*. Treatment of hepatocellular carcinoma with combined suppression and inhibition of sex hormones: a randomized, controlled trial. *Hepatology* 1995;**21**(6):1535-42.

(239) Tamoxifen in treatment of hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. CLIP Group (Cancer of the Liver Italian Programme). *Lancet* 1998;**352**(9121):17-20.

(240) Castells A, Bruix J, Bru C *et al*. Treatment of hepatocellular carcinoma with tamoxifen: a double-blind placebo-controlled trial in 120 patients. *Gastroenterology* 1995;**109**(3):917-22.

(241) Chow PK, Tai BC, Tan CK *et al*. High-dose tamoxifen in the treatment of inoperable hepatocellular carcinoma: A multicenter randomized controlled trial. *Hepatology* 2002;**36**(5):1221-6.

(242) Liu CL, Fan ST, Ng IO *et al*. Treatment of advanced hepatocellular carcinoma with tamoxifen and the correlation with expression of hormone receptors: a prospective randomized study. *Am J Gastroenterol* 2000;**95**(1):218-22.

(243) Nowak A, Stockler M, Chow P *et al*. Use of tamoxifen in advanced-stage hepatocellular carcinoma. A systematic review. *Cancer* 2005;**103**(7):1408-14.

(244) Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V *et al*. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2009;**359**(4):378-90.

(245) Cheng A, Kang Y, Chen , Z, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol* 2009;**10**(1):25-34.

(246) Keating DJ, Santoro A. Sorafenib: a review of its use in advanced hepatocellular carcinoma. *Drugs* 2009;**69**(2):223-40.

(247) Slijkhuis WA, Stadheim L, Hassoun ZM *et al*. Octreotide therapy for advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2005;**39**(4):333-8.

(248) Samonakis DN, Koutroubakis IE, Sfiridaki A *et al*. Hypercoagulable states in patients with hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci* 2004;**49**(5):854-8.

(249) Yates JW, Chalmer B, McKegney FP. Evaluation of patients with advanced cancer using the Karnofsky performance status. *Cancer* 1980;**45**(8):2220-4.

(250) Schwartz JD, Beutler A. Therapy for unresectable hepatocellular carcinoma: review of the randomized clinical trials-II: systemic and local non-embolization-based therapies in unresectable and advanced hepatocellular carcinoma. *Anti-Cancer Drugs* 2004;**15**:439-52.

(251) Dimitroulopoulos, D., Xinopoulos, D., Tsamakidis, K., Zisimopoulos, A., Andriotis, E., Panagiotakos, D., Fotopoulou, A, Chrysohoou, C., Bazinis, A., Daskalopoulou, D, and Paraskevas, E. Lond-acting Octreotide in the treatment of advanced Hepatocellular Cancer and overexpression of Somatostatin Receptors. A randomized placebo controlled trial. World J Gastroenterol. 13[23], 3164-3170. 2007.
Ref Type: Journal (Full)

(252) Pistevou-Gombaki K, Eleftheriadis N, Plataniotis G *et al*. Octreotide for palliative treatment of hepatic metastases from non-neuroendocrine primary tumours: evaluation of quality of life using the EORTC QLQ-C30 questionnaire. *Palliat Med* 2003;**17**(3):257-62.

(253) Becker G, Allgaier HP, Olschewski M *et al*. Long-acting octreotide versus placebo for treatment of advanced HCC: a randomized controlled double-blind study. *Hepatology* 2007;**45**(1):9-15.

(254) Pan DY, Qiao JG, Chen JW *et al*. Tamoxifen combined with octreotide or regular chemotherapeutic agents in treatment of primary liver cancer: a randomized controlled trial. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003;**2**(2):211-5.

(255) Schwartz JM, Ham JM. Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2003;**6**(6):465-72.

(256) Samonakis DN, Christodoulakis N, Kouroumalis EA. Octreotide for unresectable Hepatocellular Carcinoma: beyond the first sight. *J Clin Gastroenterol* 2006;**40**(1):86-7.

(257) Deming D, Stella A, Holen K. A dramatic response to long-acting octreotide in metastatic Hepatocellular Carcinoma. *Clinical Advances in Hematology & Oncology* 2005;**3**(6):468-74.

(258) Shah U, O'Neil B, Goldberg RM *et al*. A phase II study of long-acting Octreotide in patients with advanced hepatocellular carcinoma and CLIP score of 3 or higher. *Gastrointest Cancer Res* 2009;**3**(2):45-8.

(259) Barbare JC, Bouche O, Bonnetain F *et al*. Treatment of advanced hepatocellular carcinoma with long-acting octreotide: A phase III multicentre, radomised, double blind placebo-controlled study. *Eur J Cancer* 2009;**45**:1788-97.

(260) Samonakis DN, Notas G, Christodoulakis N *et al*. Mechanisms of action and resistance of somatostatin analogues for the treatment of hepatocellular carcinoma: a message not well taken. *Dig Dis Sci* 2008;**53**:2359-65.