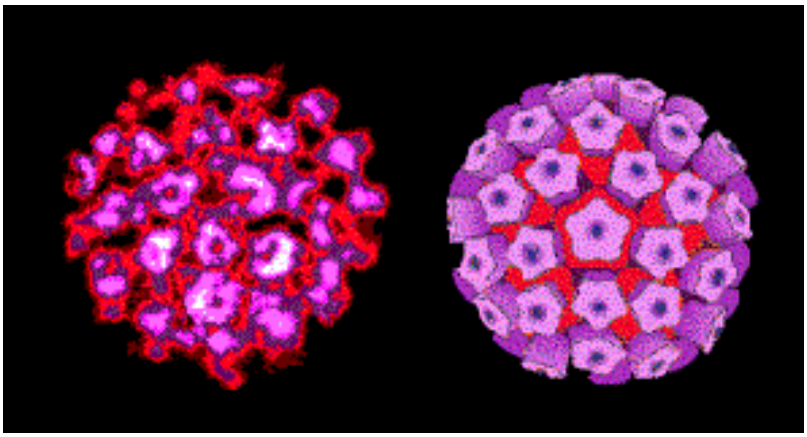
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΙΟΛΟΓΙΑΣ

Διευθυντής: Καθ. Σπαντίδος Α. Δημήτριος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΘΗΛΩΜΑΤΟΣ (HPV) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ (Real-Time Quantitative PCR)



ΠΑΝΑΓΙΩΤΑΚΗΣ Ι. ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2012

Τίτλος Διδακτορικής Διατριβής:
«Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΘΗΛΩΜΑΤΟΣ (HPV) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ (Real-Time Quantitative PCR)»

Επιβλέπων Καθηγητής:

Δ. Α. Σπαντίδος, Καθηγητής Κλινικής Ιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Δ. Α. Σπαντίδος, Καθηγητής Κλινικής Ιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Γ. Σουρβίνος, Αναπλ. Καθηγητής Κλινικής Ιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Χ. Τσατσάνης, Αναπλ. Καθηγητής Κλινικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Δ. Α. Σπαντίδος, Καθηγητής Κλινικής Ιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Γ. Σουρβίνος, Αναπλ. Καθηγητής Κλινικής Ιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Χ. Τσατσάνης, Αναπλ. Καθηγητής Κλινικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Ο. Ζώρας, Καθηγητής Χειρουργικής Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Α. Τσατσάκης, Καθηγητής Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Α. Ζαφειρόπουλος, Επικ. Καθηγητής Ιστολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Χ. Μαμουλάκης, Λέκτορας Ουρολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

© Παναγιωτάκης Ι. Γεώργιος MD,
Εργαστήριο Κλινικής Ιολογίας,
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης,
Ηράκλειο Κρήτης,
Νοέμβριος 2012

Στις μεγάλες αγάπες της ζωής μου,

τη σύζυγό μου Μαρία και το γιο μας Γιάννη,

που με γεμίζουν με δύναμη και υπομονή

και με στηρίζουν σε κάθε μου προσπάθεια.

Στους γονείς μου

Γιάννη & Βικτωρία Παναγιωτάκη,

Αγγέλα Ν. Χατζηϊωάννου,

για ότι μου πρόσφεραν και στερήθηκαν

όλα αυτά τα χρόνια ώστε να φτάσω ως εδώ.

Στον καθηγητή μου

κ. Δημήτριο Α. Σπαντίδο,

ο οποίος πίστεψε στις δυνατότητές μου

και μου έδωσε την ευκαιρία

να παιδευτώ με αυτήν τη διατριβή.

Στην ιερή μνήμη του Δασκάλου μου

στην Ιατρική Επιστήμη και Χειρουργική Τέχνη,

Στυλιανού Εμμ. Κανδυλάκη,

που με έμαθε να αγαπώ το συνάνθρωπο

και να πράττω πάντα το καλό.

ΤΗ ΤΟΥ ΙΗΤΡΟΥ ΕΠΙΕΙΚΕΙΗ ΕΥΔΟΚΕΟΝΤΕΣ

«Έχοντας εμπιστοσύνη στην αγάπη

του Ιατρού για τον Άνθρωπο»

Από το έργο "ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΑΙ"

Ιπποκράτης (Κως 460 π.Χ. - Λάρισα 377 π.Χ.)

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗ ΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΙΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΗΝ ΧΡΗΙΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝ ΜΗ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΙΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α ΔΕ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ xxi

ΠΕΡΙΛΗΨΗ xxiii

ABSTRACT xxv

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Η Ουροδόχος Κύστη – Στοιχεία Ανατομικής & Φυσιολογίας

1.1. Το ουροποιητικό σύστημα 3

1.2. Εξέλιξη του ουροποιητικού συστήματος 3

1.3. Η εμβρυολογική ανάπτυξη της ουρογεννητικής οδού 4

1.4. Εμβρυολογική ανάπτυξη του ουροποιητικού συστήματος 5

1.5. Σχηματισμός του ουρογεννητικού κόλπου και της ουροδόχου κύστεως 6

1.6. Μέρη του ουροποιητικού συστήματος 7

1.6.1. Οι νεφροί 7

1.6.2. Κατασκευή του νεφρού 8

1.6.3. Λειτουργία του νεφρώνα και παραγωγή των ούρων 11

1.6.4. Νεφρικοί κάλυκες και νεφρική πύελος 13

1.6.5. Ουρητήρας 14

1.6.6. Ουροδόχος κύστη 15

1.6.7. Ουρήθρα 17

1.6.8. Γυναικεία ουρήθρα 17

1.6.9. Ανδρική ουρήθρα 18

1.7. Ιστολογία του ουροθηλίου 18

1.8. Η Φυσιολογία του μηχανισμού της ούρησης 19

1.8.1 Λειτουργική Ανατομική της ουροδόχου κύστης 19

1.8.2. Το μυϊκό στρώμα 19

1.8.3. Νεύρωση θόλου και σώματος 20

1.8.4. Ουρητηροκυστική συμβολή και ουρητηρικό τρίγωνο 22

1.8.5. Νεύρωση της ουρητηροκυστικής συμβολής και του τριγώνου 22

1.8.6. Αυχένας της ουροδόχου κύστης 22

1.8.7. Βλεννογόνος της ουροδόχου κύστης 23

1.8.8. Αντανακλαστικά τόξα της ούρησης 23

2ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Ο Καρκίνος της Ουροδόχου Κύστεως

2.1. Επιδημιολογία 25

2.1.1. Συχνότητα 25

2.1.2. Θνησιμότητα 26

2.2. Αιτιολογία 26

2.2.1. Χημικά καρκινογόνα 26

2.2.2. Κάπνισμα 27

2.2.3. Τσάϊ και καφές 28

2.2.4. Κατάχρηση αναλγητικών 28

2.2.5. Χρόνια κυστίτιδα και άλλες λοιμώξεις 29

2.2.6. Κυκλοφωσφαμίδη 30

2.2.7. Ακτινοβολία της πυέλου 30

2.2.8. Κληρονομικότητα 30

2.3. Μοριακή Βιολογία 31

2.3.1. Ογκογονίδια 32

2.3.1.α. H-ras 33

2.3.1.β. c-myc 34

2.3.1.γ. erbB-1, erbB-2 34

2.3.2. Ογκοκατασταλτικά γονίδια (tumour suppressor genes, TSGs) 35

2.3.2.α. p53 γονίδιο 36

2.3.2.β. Rb γονίδιο 37

2.3.3. Άλλες χρωμοσωμικές ανωμαλίες 38

2.4. Ιστολογία του ουροθηλίου και προκαρκινικές καταστάσεις 38

2.4.1. Φυσιολογικό επιθήλιο 38

2.4.2. Υπερπλασία 39

2.4.3. Άτυπη υπερπλασία (ατυπία) 39

2.4.4. Δυσπλασία 39

2.4.5. Μεταπλασία 40

2.4.6. Φωλεές του von Brunn 40

2.4.7. Κυστική κυστίτιδα 40

2.4.8. Αδενική κυστίτιδα 41

2.4.9. Νεφρογενές αδένωμα 41

2.4.10. Λευκοπλακία 41

2.4.11. Μετεγχειρητικό ατρακτοκυτταρικό οζίδιο ή ψευδοσάρκωμα 42

2.4.12. Ανάστροφο θήλωμα 42

2.5. Παθολογική Ανατομική 42

2.5.1.	Καρκίνωμα μεταβατικού επιθηλίου (transitional cell carcinoma, TCC)	42
2.5.1.α.	Ιστολογικός βαθμός κακοήθειας (grade) του TCC	43
2.5.2.	Καρκίνωμα in situ (CIS) μεταβατικού επιθηλίου	45
2.5.3.	Καρκίνωμα πλακώδους επιθηλίου (squamous cell carcinoma, SCC)	46
2.5.4.	Αδενοκαρκίνωμα	47
2.5.5.	Μικροκυτταρικό καρκίνωμα	48
2.5.6.	Άλλοι όγκοι	48
2.6.	Διάγνωση	49
2.6.1.	Κλινική εικόνα	49
2.6.2.	Εργαστηριακή διερεύνηση	49
2.6.2.α.	Υπερηχογράφημα	49
2.6.2.β.	Ενδοφλέβια ουρογραφία	50
2.6.2.γ.	Κυτταρολογική εξέταση ούρων	50
2.6.2.δ.	Κυτταρομετρία ροής	51
2.6.2.ε.	Ανάλυση εικόνας (Image Analysis Cytometry)	52
2.6.2.στ.	BTA test	53
2.6.2.ζ.	NMP22	54
2.6.2.η.	Τελομεράση	54
2.6.2.θ.	Άλλοι δείκτες	55
2.6.2.ι.	Κυστεοσκόπηση	55
2.7.	Σταδιοποίηση	56
2.8.	Επέκταση των όγκων του ουροθηλίου	57
2.8.1.	Τοπική επέκταση – Αγγειογένεση	57
2.8.2.	Λεμφογενής διασπορά	59

2.8.3.	Αιματογενής διασπορά	59
2.8.4.	Εμφύτευση	59
2.9.	Απεικονιστικές τεχνικές	60
2.9.1.	Αξονική τομογραφία (CT scan)	60
2.9.2.	Μαγνητική τομογραφία (MRI)	60
2.9.3.	Ακτινογραφία θώρακος	61
2.9.4.	Σπινθηρογράφημα οστών	61
2.9.5.	Υπερηχογράφημα	61
2.10.	TNM Σύστημα Σταδιοποίησης	62
2.11.	Κλινική πορεία και προγνωστικοί παράγοντες	63
2.11.1.	Κλινική πορεία	63
2.11.2.	Προγνωστικοί παράγοντες	64
2.11.3.	Στάδιο και βάθος διήθησης (stage)	64
2.11.4.	Βαθμός κακοήθειας (grade)	65
2.11.5.	Συνύπαρξη CIS	65
2.11.6.	Αριθμός και μέγεθος	66
2.11.7.	Συχνότητα υποτροπών	66
2.11.8.	Διήθηση αγγείων και λεμφαγγείων	66
2.11.9.	Άλλοι προγνωστικοί παράγοντες	66
2.11.9.α.	Πλοειδικότητα του DNA των καρκινικών κυττάρων	67
2.11.9.β.	Αντιγόνα ομάδων αίματος και άλλα σχετιζόμενα με τον όγκο αντιγόνα	67
2.11.9.γ.	Δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απόπτωσης	68
2.11.9.δ.	Μόρια διακυττάριας προσκόλλησης	69
2.11.9.ε.	Ογκογονίδια και πεπτιδικοί αυξητικοί παράγοντες	69
2.11.9.στ.	Ογκοκατασταλτικά γονίδια	70

2.11.9.ζ. Χρωμοσωμικές ανωμαλίες 70

2.11.9.η. Αγγειογενετικοί παράγοντες 70

2.12. Θεραπεία του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως 71

2.12.1. Θεραπεία του επιφανειακού καρκίνου 72

2.12.1.α. Διουρηθρική εκτομή (TURT) 72

2.12.1.β. Κυστεκτομή 72

2.12.1.γ. Ενδοκυστική θεραπεία 72

2.12.1.δ. Ενδοκυστική χημειοθεραπεία 74

2.12.1.ε. Ενδοκυστική ανοσοθεραπεία 76

2.12.2. Θεραπεία του CIS 78

2.12.3. Θεραπεία του διηθητικού καρκίνου 80

2.12.3.α. Ριζική κυστεκτομή 80

2.12.3.β. Μερική κυστεκτομή 82

2.12.3.γ. Ακτινοθεραπεία 82

2.12.3.δ. Χημειοθεραπεία 83

2.12.3.ε. Συνδυασμένη θεραπεία διατήρησης της ουροδόχου κύστεως 84

3ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Ο ιός του θηλώματος του ανθρώπου (HPV)

3.1. Γενικά στοιχεία 87

3.2. Δομή των ιϊκών σωματιδίων 89

3.2.1. Τα ιϊκά σωματίδια 89

3.2.2. Δομή και ρύθμιση του ιϊκού γονιδιώματος 89

3.3. Λειτουργίες των ιϊκών πρωτεϊνών E6 και E7 92

3.3.1. Η Ε6 πρωτεΐνη 92

3.3.2. Η Ε7 πρωτεΐνη 94

3.3.3. Λειτουργίες των ιϊκών πρωτεϊνών Ε1, Ε2, Ε4 και Ε5 94

3.4. Ονοματολογία και ταξινόμηση 95

3.5. Ο αναπαραγωγικός κύκλος του HPV 97

3.6. Η πορεία της λοίμωξης του HPV 99

3.6.1. Η μετάδοση του ιού HPV στο κύτταρο ξενιστή 99

3.6.2. Η πορεία του HPV από τη μόλυνση στη λοίμωξη 99

3.6.3. Η λανθάνουσα κατάσταση της μόλυνσης του HPV 100

3.6.4. Από τη λανθάνουσα κατάσταση στη φλεγμονή 100

3.6.5. HPV και καρκινογένεση 102

3.6.6. HPV και καρκίνος ουροδόχου κύστεως 103

3.7. Διάγνωση του HPV 104

3.7.1. Έμμεσες και άμεσες τεχνικές διάγνωσης του HPV 104

3.8. Μόλυνση από HPV: θεραπεία και πρόληψη 105

4ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Οι ερπητοϊοί του ανθρώπου (HHV)

4.1. Γενικά στοιχεία 107

4.2. Οι ιοί του απλού έρπητα HSV-1 και HSV-2 (HHV-1 και -2) 112

4.2.1. Γενικά στοιχεία 112

4.2.2. Κλινική εικόνα 114

4.2.3. Διάγνωση και θεραπεία 115

4.2.4. Ανοσοποίηση 116

4.3.	Ο ιός της ανεμευλογιάς (Varicella Zoster Virus ή HHV-3)	116
4.3.1.	Γενικά στοιχεία	116
4.3.2.	Κλινική εικόνα του VZV	117
4.3.2.α.	Ανεμευλογιά	117
4.3.2.β.	Έρπης Ζωστήρας	120
4.3.3.	Διάγνωση	121
4.3.4.	Θεραπεία – Ανοσοποίηση	122
4.4.	Ο Κυτταρομεγαλοϊός (CMV ή HHV-5)	123
4.4.1.	Γενικά στοιχεία	123
4.4.2.	Κλινική εικόνα του CMV	125
4.4.3	Διάγνωση	127
4.4.4.	Θεραπεία – Ανοσοποίηση	128
4.5.	Ο ιός του Έρπητα 6 (Human herpesvirus type 6 ή HHV-6)	129
4.5.1.	Γενικά στοιχεία	129
4.5.2.	Κλινική εικόνα του HHV-6	130
4.5.3.	Διάγνωση	131
4.5.4.	Θεραπεία	131
4.6.	Ο ιός του Έρπητα 7 (Human herpesvirus type 7 ή HHV-7)	132
4.6.1.	Γενικά στοιχεία	132
4.6.2.	Κλινική εικόνα του HHV-7	133
4.6.3.	Θεραπεία	133
4.7.	Ο ιός Epstein-Barr (EBV ή HHV-4)	134
4.7.1.	Γενικά στοιχεία	134
4.7.2.	Κλινική εικόνα του EBV	135
4.7.3.	Θεραπεία – Ανοσοποίηση	136
4.8.	Ο ιός Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus (KSHV ή HHV-8)	137

4.8.1. Γενικά στοιχεία 137

4.8.2. Ιστορική αναδρομή 138

4.8.3. Ιολογικά χαρακτηριστικά 140

4.8.4. Επιδημιολογικά στοιχεία του KSHV 143

4.8.5. Θεραπεία 144

5ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Οι ιοί Polyoma του ανθρώπου (HPyV)

5.1. Γενικά στοιχεία 147

5.2. Ταξινόμηση 149

5.3. Το γονιδίωμα των *Polyomaviridae* 150

5.4. Οι Polyoma ιοί που προσβάλλουν τον άνθρωπο 151

5.5. Αναπαραγωγή των Polyoma ιών 154

5.6. Το μακρύ και το βραχύ Τ-αντιγόνο των Polyoma ιών 157

5.7. Το μεσαίο Τ-αντιγόνο των Polyoma ιών 157

5.8. Η agnoprotein των Polyoma ιών 158

5.9. Η διάγνωση της μόλυνσης από τον Polyoma ιό 158

5.10. Θεραπεία των Polyoma ιών 160

5.11. Ο Polyoma BK ιός 160

5.11.α. Ιστορική αναδρομή 160

5.11.β. Κλινική εικόνα 161

5.11.γ. Μετάδοση του BK Polyoma ιού 161

5.11.δ. Επιπλοκές από τη θεραπεία ανοσοκαταστολής 162

5.11.ε. Διάγνωση 162

5.11.στ. Θεραπεία 162

5.12. Ο Polyoma JC ιός 164

5.12.α. Επιδημιολογία 164

5.12.β. Μετάδοση και παθογένεια του ιού 164

5.12.γ. Φάρμακα που σχετίζονται με την επανενεργοποίηση του JCV 165

5.12.δ. Θεραπεία 166

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Σκοπός της μελέτης 169

7ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Υλικά και Μέθοδοι

7.1. Ασθενείς και ομάδα ελέγχου 171

7.2. Απομόνωση χρωμοσωμικού DNA από συμπαγείς ιστούς 172

7.3. Αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR) 174

7.3.1. Οι βασικές αρχές της λειτουργίας της PCR 174

7.3.2. Σχεδιασμός των εκκινητών 177

7.3.3. Οι συνθήκες αντιδράσεων της PCR και των εκκινητών 182

7.4. Ηλεκτροφόρηση του DNA και των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 182

7.5. Οι συνθήκες αντιδράσεων της ποσοτικής PCR σε πραγματικό χρόνο (Real-Time Quantitative PCR) 184

7.6. Στατιστική ανάλυση 184

7.7. Διαλύματα 185

7.7.1. Διαλύματα απομόνωσης DNA 185

7.7.2. Ηλεκτροφορητικά διαλύματα 185

7.8. Ένζυμα 185

7.9. Υλικά και εταιρείες προέλευσης 185

8ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Αποτελέσματα

8.1. HPV και ασθενείς που μελετήθηκαν 187

8.1.1. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HPV με τη χρήση της PCR 187

8.1.2. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HPV με τη χρήση της nested-PCR 188

8.1.3. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HPV με τη χρήση της Real-Time Quantitative PCR 190

8.2. Ερπητοϊοί (HHV) και ασθενείς που μελετήθηκαν 190

8.2.1. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HSV-1 με τη χρήση της PCR 190

8.2.2. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HSV-2 με τη χρήση της PCR 192

8.2.3. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του VZV με τη χρήση της PCR 192

8.2.4. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του CMV με τη χρήση της PCR 193

8.2.5. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του EBV με τη χρήση της PCR 194

8.2.6. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HHV-6 με τη χρήση της PCR 194

8.2.7. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HHV-7 με τη χρήση της PCR 195

8.2.8. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του KSHV με τη χρήση της PCR 196

8.3. Ιοί Polyoma του ανθρώπου (HPyV) και ασθενείς που μελετήθηκαν 196

8.3.1. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HPyV με τη χρήση της PCR 197

9ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Συμπεράσματα – Συζήτηση

9.1.	Γενικές θεωρήσεις	199
9.2	Συσχέτιση του HPV με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως	200
9.3.	Συσχέτιση των HHV και HPyV με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως	202

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 205

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 207

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ 235

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΗ ΕΡΓΑΣΙΑ 277

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Κλινικής Ιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης, κατά το χρονικό διάστημα 2007 – 2012.

Καταρχήν θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή μου κ. Σπαντίδο Α. Δημήτριο, για τη βοήθεια, την καθοδήγηση και τη στήριξη που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερα γιατί πίστεψε σε εμένα, στις δυνατότητές μου και με στήριξε σε κάθε μου βήμα. Σίγουρα δεν θα είχα φτάσει ως εδώ χωρίς τη βοήθειά του.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στον κ. Σουρβίνο Γεώργιο, Αναπλ. Καθηγητή Κλινικής Ιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης και μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, για τις πολύτιμες συμβουλές του, τη βοήθεια και τη συμπαράστασή του κατά τη διάρκεια ολοκλήρωσης της διατριβής. Ο κ. Σουρβίνος ήταν πάντα δίπλα μου, όποτε τον χρειάστηκα και με βοήθησε να ξεπεράσω σκόπελους και φουρτούνες.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον κ. Τσατσάνη Χρήστο, Αναπλ. Καθηγητή Κλινικής Χημείας, του Πανεπιστημίου Κρήτης, μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής. Η εποικοδομητική συνεργασία μας και οι πολύτιμες συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διατριβής, με βοήθησαν να βελτιωθώ και να ολοκληρώσω την προσπάθειά μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στα υπόλοιπα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής για το χρόνο που διέθεσαν ώστε να μελετήσουν και να αξιολογήσουν την παρούσα επιστημονική μελέτη.

Επιπλέον, ευχαριστώ τον κ. Δελακά Δημήτριο, Καθηγητή Ουρολογίας και Διευθυντή της Ουρολογικής Κλινικής του Ασκληπιείου Βούλας, καθώς και το Διδάκτορα του Πανεπιστημίου Κρήτης και Επιμελητή Β' Ουρολογίας κ. Μπουλαλά Ιωάννη, για τη συμβολή τους στη συλλογή των δειγμάτων ιστών, με τα οποία έγιναν τα πειράματα της παρούσας διατριβής καθώς και την παροχή των επιδημιολογικών στοιχείων των ασθενών.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή δεν θα ολοκληρωνόταν χωρίς την πολύτιμη βοήθεια της κας Παπαδογιάννη Δανάης, Υποψήφια Διδάκτορα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης, η οποία με τις γνώσεις της και την υπομονή της, έκανε τις ατελείωτες ώρες δουλειάς στον εργαστηριακό πάγκο, να περνούν πιο ευχάριστα και αποδοτικά. Την ευχαριστώ από τα βάθη της καρδιάς μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω και την κα. Λασιθιωτάκη Ισμήνη, Υποψήφια Διδάκτορα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης, για την πολύτιμη βοήθειά της στην ανάλυση των στατιστικών δεδομένων και την τελική επεξεργασία του κειμένου της πρωτότυπης εργασίας, που προέκυψε από την παρούσα διατριβή.

Θα ήταν παράληψη να μην ευχαριστήσω όλα τα παιδιά – μεταπτυχιακούς φοιτητές και Διδάκτορες – του Εργαστηρίου Κλινικής Ιολογίας για τη βοήθειά τους και για την πολύ καλή συνεργασία που είχαμε μεταξύ μας όλα αυτά τα χρόνια.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες προς τον κ. Γαρύφαλλο Ιωάννη, Διευθυντή της Ουρολογικής Κλινικής του Γεν. Νοσ. Σάμου, για τις πολύτιμες συμβουλές του, που αφορούσαν την Ανατομική, τη Φυσιολογία και τον Καρκίνο της Ουροδόχου Κύστεως, καθώς και την πολύτιμη βιβλιογραφία που μου προσέφερε.

Από την αρχή της προσπάθειας αυτής, ο άνθρωπος που με παρότρυνε να ξεκινήσω και να συνεχίσω τη διατριβή παρά τις όποιες δυσκολίες και αν παρουσιάστηκαν μέχρι την ολοκλήρωσή της, ήταν ο αείμνηστος Κανδυλάκης Εμμ. Στυλιανός, Δάσκαλός μου στην Ιατρική Επιστήμη και τη Χειρουργική Τέχνη, Συντονιστής Διευθυντής στο Α' Χειρουργικό Τμήμα του «Βενιζέλειου-Πανάνειου» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου. Στο Δάσκαλό μου οφείλω τα πάντα και τον ευχαριστώ που πίστεψε στις δυνατότητές μου, με βοήθησε να γίνω Χειρουργός και καλύτερος άνθρωπος, για να μπορώ να προσφέρω τις υπηρεσίες μου ανιδιοτελώς στους συνανθρώπους μου.

Θα ήθελα, τέλος, να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, τη σύζυγό μου Μαρία Ν. Χατζηϊωάννου, το λατρεμένο μας γιο Γιάννη και τους γονείς μας, Αγγέλα Ν. Χατζηϊωάννου, Γιάννη και Βικτωρία Παναγιωτάκη για τη στήριξη, τη βοήθεια και την κατανόησή τους. Χωρίς αυτούς δεν θα είχα ολοκληρώσει αυτή τη Διδακτορική Διατριβή.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η εκτίμηση της μοριακής ανίχνευσης του ιού του ανθρώπινου θηλώματος (HPV) στην καρκινογένεση της ουροδόχου κύστεως του ανθρώπου, με τη βοήθεια της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση σε πραγματικό χρόνο (Real-Time qPCR), καθώς και η μελέτη της συγκεκριμένης μεθόδου ως προς την αποτελεσματικότητά της, ώστε να μπορέσει μελλοντικά να χρησιμοποιηθεί ως ασφαλές πρωτόκολλο ανίχνευσης του HPV στους καρκίνους της ουροδόχου κύστεως. Επίσης μελετήθηκε η ανίχνευση των ερπητοϊών και των Polyoma (BK και JC) ιών του ανθρώπου στους ίδιους ασθενείς με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση. Για τη διατριβή χρησιμοποιήθηκαν δείγματα χειρουργικώς εξαιρεθέντων ιστοτεμαχίων θηλωμάτων ουροδόχου κύστεως, από 30 ασθενείς, προερχόμενα από ιστό με καρκινική βλάβη (30 τεμάχια) και από παρακείμενο της βλάβης υγιή ιστό (30 τεμάχια). Τα δείγματα αποστάληκαν από την Ουρολογική Κλινική του Γενικού Νοσοκομείου «Ασκληπιείο Βούλας» Αττικής (Διευθυντής Καθ. Δ. Δελακάς). Κάθε δείγμα είχε εξεταστεί παθολογοανατομικά για την επιβεβαίωση της ιστολογίας του.

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του HPV, χρησιμοποιώντας τρεις διαφορετικές μεθόδους ανίχνευσης γενετικού υλικού του ιού με προοδευτικά αυξανόμενη ευαισθησία (PCR, nested PCR και Real Time qPCR), δεν καταφέραμε να ανιχνεύσουμε την παρουσία DNA του ιού του θηλώματος του ανθρώπου (HPV).

Διαφορετικά ήταν τα αποτελέσματα από την προσπάθεια ανίχνευσης γενετικού υλικού από τα προαναφερόμενα δείγματα, για τους ερπητοϊούς και τους Polyoma ιούς του ανθρώπου. Συγκεκριμένα με τη χρήση ειδικών εκκινητών και χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση (PCR), είχαμε τα εξής αποτελέσματα: για τους ερπητοϊούς HSV-1, HSV-2, VZV και HHV-7, τόσο τα καρκινικά δείγματα, όσο και αυτά που προέρχονταν από τον παραπλήσιο φυσιολογικό ιστό, ήταν αρνητικά για την παρουσία γενετικού υλικού αυτών των ιών.

Σε 22 περιπτώσεις καρκινικών δειγμάτων και σε 23 περιπτώσεις δειγμάτων από παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς, είχαμε θετικά αποτελέσματα για CMV μόλυνση, ενώ σε 17 περιπτώσεις είχαμε ζεύγη δειγμάτων που προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή, θετικά για CMV μόλυνση.

Σε 15 περιπτώσεις καρκινικών δειγμάτων και σε 4 περιπτώσεις δειγμάτων από παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς, είχαμε θετικά αποτελέσματα για EBV μόλυνση, ενώ σε μία περίπτωση είχαμε ζεύγος δείγματος που προερχόταν από τον ίδιο ασθενή, θετικό για EBV μόλυνση.

Σε 11 περιπτώσεις καρκινικών δειγμάτων και σε 11 περιπτώσεις δειγμάτων από παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς, είχαμε θετικά αποτελέσματα για HHV-6 μόλυνση, ενώ σε τρεις περιπτώσεις είχαμε ζεύγη δειγμάτων που προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή, θετικά για HHV-6 μόλυνση.

Σε μία περίπτωση καρκινικού δείγματος και σε δύο περιπτώσεις δειγμάτων από παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς, είχαμε θετικά αποτελέσματα για KSHV μόλυνση, ενώ σε καμία περίπτωση δεν είχαμε θετικό ζεύγος δείγματος που προερχόταν από τον ίδιο ασθενή, για KSHV μόλυνση.

Τέλος, όσον αφορά τους Polyoma ιούς του ανθρώπου BKV και JCV, σε τέσσερις περιπτώσεις καρκινικών δειγμάτων είχαμε θετικά αποτελέσματα για HPyV μόλυνση. Δεν είχαμε όμως κανένα θετικό δείγμα προερχόμενο από τους παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς. Επίσης σε καμία περίπτωση δεν είχαμε ζεύγη δειγμάτων που προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή, θετικά για HPyV μόλυνση.

Εν τω μεταξύ η παρουσία DNA του EBV, ήταν άφθονη σε δείγματα όγκων συγκριτικά με το φυσιολογικό ιστό, αποτελώντας στατιστικά σημαντικό εύρημα (p=0,0048). Ένα μικρό αλλά αξιοσημείωτο ποσοστό των δειγμάτων που εξετάστηκαν (10%) περιείχε CMV και HHV-6 (6,7%), CMV και EBV (3,3%) αλληλουχίες, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα της συνεργίας μεταξύ αυτών των ιών στην καρκινογένεση της ουροδόχου κύστης.

ABSTRACT

The aim of the present PhD thesis was to estimate the detection of human papillomavirus (HPV) in tumourigenesis of human urinary bladder, using the Real Time quantitative polymerase chain reaction (Real-Time qPCR) and the effectiveness of this method, in order to be a future safe protocol for the detection of HPV in patients with bladder cancer. Furthermore we studied the detection of human herpesviruses and Polyoma viruses (BK and JC) in the same patients, using the method of polymerase chain reaction. For this PhD thesis we used 30 specimens of tumour tissue and 30 specimens of adjacent healthy bladder tissue, which originated from patients who underwent surgical transurethral resection at the Department of Urology, Asklipeiion General Hospital, Voula, Athens, Greece.

We failed to detect positive samples for HPV infection, not only from cancerous bladder specimens, but also from adjacent healthy bladder tissue, although we used three different methods for detection of genetic material of the virus, with progressively increasing sensitivity (PCR, nested-PCR, RT-qPCR)

We obtained different results trying to detect human herpesvirus and Polyoma virus genome, using the polymerase chain reaction (PCR) technique. For HSV-1, HSV-2, VZV and HHV-7 both tumour and normal specimens, were negative for the detection of the presence of viral specific genome.

Cytomegalovirus DNA was detected in 22 tumour samples and 23 normal samples. 17 paired samples were also detected for CMV DNA.

EBV DNA was detected in 15 tumour samples and 4 normal samples. 1 paired sample was also detected for EBV DNA.

HHV-6 DNA was detected in 11 tumour samples and 1 normal sample. 3 paired samples were also detected for HHV-6 DNA.

KSHV DNA was detected in 1 tumour sample and 2 normal samples. None paired sample was detected for KSHV DNA.

Polyoma BK and JC viral DNA was detected in 4 tumour samples. None normal sample was positive for the detection of Polyoma BK and JC

viral DNA. None paired sample was detected for Polyoma BK and JC viral DNA.

Meanwhile EBV DNA presence was abundant in tumour samples compared to normal tissue with statistical significance (p=0,0048). A small yet notable percentage of samples examined (10%) contained CMV and HHV-6 (6,7%), CMV and EBV (3,3%) sequences raising the possibility of synergism between these viruses in urinary bladder carcinogenesis.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1^{ο} ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Η Ουροδόχος Κύστη – Στοιχεία Ανατομικής & Φυσιολογίας

1.1. Το ουροποιητικό σύστημα

Το ουροποιητικό σύστημα του ανθρώπου αποτελείται από τους *νεφρούς*, τους *ουρητήρες*, την *ουροδόχο κύστη* και την *ουρήθρα*[1,2]. Σκοπός του συστήματος αυτού είναι η παραγωγή και η αποβολή των ούρων και μαζί με αυτά μιας σειράς άχρηστων συστατικών που παράγονται στον οργανισμό από τις καύσεις, καθώς και η διατήρηση του ισοζυγίου ύδατος και ηλεκτρολυτών στο ανθρώπινο σώμα. Το κύριο όργανο του ουροποιητικού συστήματος είναι οι νεφροί (δεξιός και αριστερός) που έχουν ως βασική λειτουργία την παραγωγή των ούρων. Τα υπόλοιπα όργανα που προαναφέρθηκαν αποτελούν την *αποχετευτική μοίρα του ουροποιητικού συστήματος.*

1.2. Εξέλιξη του ουροποιητικού συστήματος

Η ιστορία της εξέλιξης του ουροποιητικού συστήματος των ζωντανών οργανισμών είναι τόσο μεγάλη, όσο και ενδιαφέρουσα και σχετίζεται με τις αλλαγές του περιβάλλοντος στο οποίο ζούσαν οι οργανισμοί αυτοί. Τα ψάρια και τα υπόλοιπα υδρόβια ζώα, επειδή ζουν σε υγρό περιβάλλον δεν αντιμετωπίζουν πρόβλημα στην αποβολή των αζωτούχων καταλοίπων. Στα είδη αυτά το τελικό προϊόν της καύσης των λευκωμάτων είναι η *αμμωνία* (για αυτό ονομάζονται και *αμμωνιοτελικά*), που είναι ουσία ευδιάλυτη στο νερό, διαλύεται στο υγρό τους περιβάλλον και απομακρύνεται από τα κύτταρα πολύ εύκολα και απλά.

Τα πρώτα ζώα που βγήκαν στη στεριά άρχισαν να αναπτύσσουν ένα μηχανισμό μετατροπής της αμμωνίας σε κάποια άλλη ουσία, επίσης ευδιάλυτη στο νερό, για να μπορούν να την απομακρύνουν από τον

οργανισμό τους σε κατάσταση υδατικών διαλυμάτων. Μερικά από αυτά ζούσαν σε περιόδους ή σε μέρη όπου το νερό ήταν λιγοστό και έπρεπε να κάνουν μεγάλη οικονομία στα υγρά του οργανισμού τους. Εξελίχθηκε λοιπόν ο οργανισμός τους με τέτοιο τρόπο ώστε το τελικό προϊόν της καύσης των λευκωμάτων να είναι το *ουρικό οξύ*, μια κρυσταλλική ουσία που αποβάλλεται από το έντερο μαζί με τα κόπρανα, κάνοντας έτσι μεγάλη εξοικονόμηση νερού στον οργανισμό. Τα ζώα αυτά είναι τα *ουρικοτελικά* και είναι τα πτηνά και μερικά ερπετά και αμφίβια ζώα.

Τρίτη κατηγορία ζώων, στην οποία ανήκουν και τα θηλαστικά όπως και ο άνθρωπος, ζουν σε περιβάλλοντα που δεν υπάρχει σοβαρή έλλειψη νερού, αλλά ταυτόχρονα πρέπει να κάνουν οικονομία στα σωματικά τους υγρά και στο νερό τα ζώα αυτά μετατρέπουν τα προϊόντα καύσης των λευκωμάτων σε *ουρία* (η μετατροπή αυτή γίνεται στο ήπαρ) και λέγονται *ουριοτελικά*. Η ουρία είναι ουσία ευδιάλυτη στο νερό και μεγάλες ποσότητές της μπορούν να διαλυθούν σε μικρές ποσότητες νερού. Τα ζώα αυτά λοιπόν διαμόρφωσαν ένα ουροποιητικό σύστημα που μπορεί να "φιλτράρει" το αίμα όπου περιέχεται η ουρία που παράγεται διαρκώς στο ήπαρ. Το "φιλτράρισμα" αυτό παρασέρνει μεγάλες ποσότητες νερού που περιέχουν την ουρία, αλλά και διάφορα άλλα συστατικά του αίματος χρήσιμα στον οργανισμό, όπως σάκχαρο και λευκώματα. Το ουροποιητικό σύστημα του ανθρώπου είναι σε θέση να επαναρροφά το περισσότερο νερό μαζί με τα χρήσιμα συστατικά, αλλά και να τα επιστρέφει στην κυκλοφορία, ενώ αφήνει την ουρία κι άλλα άχρηστα συστατικά διαλυμένα σε μικρές ποσότητες ύδατος μέσα σε ειδικούς χώρους, απομονωμένους από την κυκλοφορία ("τρίτους" χώρους)· από εκεί παίρνει πίσω λίγο ακόμη νερό κι ότι απομένει, με τα ούρα αποβάλλεται από τον οργανισμό.

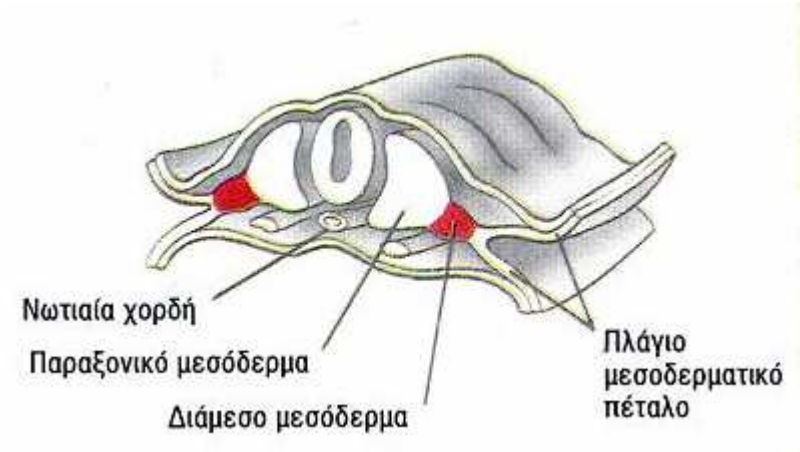
1.3. Η εμβρυολογική ανάπτυξη της ουρογεννητικής οδού

Η ουρογεννητική οδός, από λειτουργική άποψη μπορεί να διαιρεθεί σε δυο τελείως διαφορετικά μέρη, το ουροποιητικό σύστημα και το γεννητικό σύστημα. Τα 2 αυτά συστήματα όμως, από εμβρυολογική και ανατομική άποψη, είναι στενά συνυφασμένα και για αυτό περιγράφονται ως ενιαίο σύστημα, το ουρογεννητικό. Αναπτύσσονται από κοινό μεσοδερμικό όγκωμα,

το *διάμεσο μεσόδερμα* (κοινή μοίρα του μέσου βλαστικού δέρματος), το οποίο πορεύεται κατά μήκος του οπίσθιου τοιχώματος της κοιλιακής κοιλότητας, ενώ οι απεκκριτικοί πόροι και των δυο συστημάτων εκβάλλουν αρχικά σε κοινή κοιλότητα, την *αμάρα*. Κατά την περαιτέρω ανάπτυξη, τα δύο συστήματα καθίστανται αλληλένδετα, κυρίως στους άρρενες.

1.4. Εμβρυολογική ανάπτυξη του ουροποιητικού συστήματος.

Το μεσόδερμα κατά τη διάρκεια της γαστριδίωσης, την 3η εβδομάδα της ανάπτυξης (σχηματισμός τριών βλαστικών στιβάδων) διαφοροποιείται σε 3 μοίρες-περιοχές:

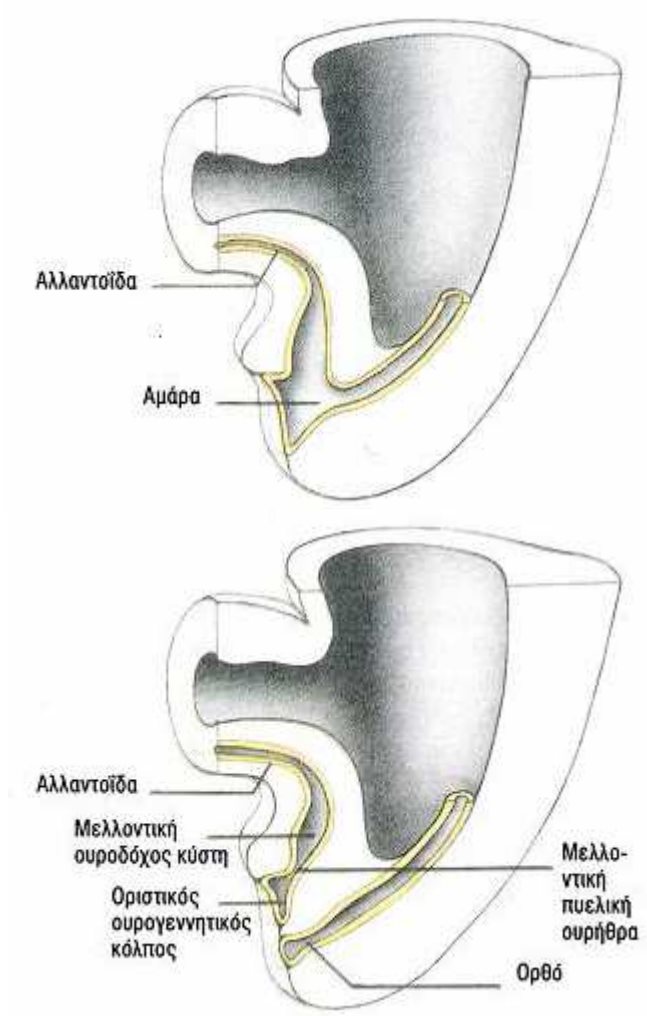


Σχήμα 1.1: Εμβυολογική ανάπτυξη του ουροποιητικού συστήματος.

1. Την οπίσθια, το παραξονικό μεσόδερμα γύρω από την οπίσθια μέση γραμμή του εμβρύου, από το οποίο παράγονται οι σωμίτες, πυκνά κυτταρικά αθροίσματα επιθηλοειδών κυττάρων που αρχικά αφορίζονται σαφώς από το γύρω χαλαρό μεσεγχυματικό ιστό.
2. Το πλάγιο μεσοδερμικό πέταλο που αποσχίζεται σε περίτονο και περισπλάχνιο πέταλο και επαλείφει το έσω εμβρυϊκό κοίλωμα σε άμεση σύνδεση με το εξωεμβρυϊκό μεσόδερμα πέρα από τα χείλη του εμβρυϊκού δίσκου.
3. Την ενδιάμεση μοίρα-περιοχή, το διάμεσο μεσόδερμα που συνδέει αρχικά το παραξονικό με το πλάγιο μεσόδερμα. Μετά το σχηματισμό των σωμιτών, το διάμεσο μεσόδερμα στην αυχενική, ανώτερη θωρακική και εν μέρει οσφυϊκή μοίρα σχηματίζει μεταμερή κυτταρικά αθροίσματα, τα νεφροτόμια, ενώ στο ουραίο τμήμα παραμένει αδιαίρετο και αποτελεί το νεφρογόνο βλάστημα. Το διάμεσο μεσόδερμα παράγει τα νεφρικά στοιχεία του εμβρύου, τμήματα των γονάδων καθώς και τους γεννητικούς πόρους.

1.5. Σχηματισμός του ουρογεννητικού κόλπου και της ουροδόχου κύστεως.

Από την 4η μέχρι και την 7η εβδομάδα της ανάπτυξης το ουροορθικό διάφραγμα διαιρεί την *αμάρα ή κλοάκη* (η τελική διεύρυνση του οπισθίου εντέρου) στο οπισθίως κείμενο ορθό και στον προσθίως κείμενο πρωτογενή ουρογεννητικό κόλπο, ο οποίος προς τα άνω συνέχεται με την αλλαντοΐδα. Το διευρυσμένο ανώτερο τμήμα του πρωτογενούς ουρογεννητικού κόλπου σχηματίζει την ουροδόχο κύστη, ενώ το κατώτερο στον άρρενα σχηματίζει την πυελική και την πεϊκή ουρήθρα και στη θήλυ την πυελική ουρήθρα και τον πρόδρομο του κολεού. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου τα στόμια των μεσονεφρικών πόρων μετατίθενται προς τα κάτω στην πυελική ουρήθρα με μια διαδικασία ενσωμάτωσης, με την οποία επίσης εμφυτεύονται τα στόμια των ουρητήρων στο τοίχωμα της ουροδόχου κύστεως[3-5].



Σχήμα 1.2: Σχηματισμός της ουροδόχου κύστεως.

1.6. Μέρη του ουροποιητικού συστήματος

Στο ουροποιητικό σύστημα του ανθρώπου διακρίνουμε δύο οργανικές ενότητες: τα *όργανα παραγωγής των ούρων,* που είναι οι *νεφροί,* και τα *όργανα αποχέτευσης των ούρων,* που είναι οι *νεφρικοί κάλυκες*, η *νεφρική πύελος*, οι *ουρητήρες*, η *ουροδόχος κύστη* και η *ουρήθρα*. Όλα τα όργανα του ουροποιητικού συστήματος είναι εξωπεριτοναϊκά. Οι νεφροί με τους νεφρικούς κάλυκες και τη νεφρική πύελο (μία για κάθε νεφρό) και οι ουρητήρες (ένας από κάθε νεφρό), βρίσκονται στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο, στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Οι τελικές μοίρες των ουρητήρων κατεβαίνουν στην ελάσσονα πύελο και καταλήγουν στην ουροδόχο κύστη στον υποπεριτοναϊκό χώρο. Η ουρήθρα είναι διαφορετική στους άνδρες και στις γυναίκες και βρίσκεται στα έξω γεννητικά τους όργανα.

1.6.1. Οι νεφροί

Είναι δύο, ένας αριστερός και ένας δεξιός. Έχουν σχήμα κυαμοειδές, βρίσκονται στα πλάγια της σπονδυλικής στήλης, στο ύψος των $Θ_{12}$ - $Ο_3$ σπονδύλων και στηρίζονται στους μεγάλους ψοΐτες μύες, στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Δεν είναι τελείως κατακόρυφοι αλλά οι επιμήκεις άξονές τους συγκλίνουν προς τα επάνω. Έχουν μήκος 11-12cm, πλάτος 6-7cm και πάχος 3-4cm. Το βάρος τους είναι περίπου 150γρ. Ο δεξιός νεφρός βρίσκεται λίγο χαμηλότερα από τον αριστερό διότι πιέζεται από το ήπαρ το οποίο βρίσκεται ακριβώς από επάνω του. Στον κάθε νεφρό διακρίνουμε μια πρόσθια και μια οπίσθια επιφάνεια που είναι υπόκυρτες, ένα έξω χείλος που είναι κυρτό και ένα έσω που είναι κοίλο, έναν άνω κι έναν κάτω πόλο. Στον άνω πόλο του κάθε νεφρού βρίσκεται το σύστοιχο επινεφρίδιο (σημαντικότατος ενδοκρινής αδένας). Στο έσω χείλος του νεφρού υπάρχει μια βαθειά σχισμή, η πύλη του νεφρού, που οδηγεί σε ένα άνοιγμα στο εσωτερικό του οργάνου το οποίο λέγεται *νεφρική κοιλία*. Στη νεφρική κοιλία βρίσκεται η νεφρική πύελος. Από την πύλη του νεφρού μπαίνει η νεφρική αρτηρία (κλάδος της κοιλιακής αορτής) και βγαίνουν η νεφρική φλέβα, τα λεμφαγγεία του νεφρού και η νεφρική πύελος με τον ουρητήρα. Ο νεφρός στηρίζεται (κρέμεται) από τα αγγεία του και από μια ινώδη μεμβράνη, τη θήκη του νεφρού ή νεφρική περιτονία, η οποία τον περιβάλλει σαν τσέπη ανοιχτή στο κάτω της μέρος και

συμφυόμενη με το περιτόναιο εμπρός και με τις περιτονίες των μυών του οπίσθιου κοιλιακού τοιχώματος πίσω, καθηλώνοντάς τον στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Ο ίδιος ο νεφρός περιβάλλεται από έναν ινώδη χιτώνα που κι αυτός συμφύεται με τη θήκη. Μεταξύ θήκης και ινώδη χιτώνα υπάρχει το περινεφρικό λίπος που σχηματίζει μια αρκετά παχιά κάψα γύρω από το νεφρό και συμβάλλει στη στήριξη και στην προστασία του. Οι σχέσεις των νεφρών με τα γύρω όργανα: α) ο δεξιός νεφρός έχει επάνω και μπροστά του το ήπαρ, επάνω και πίσω το διάφραγμα, πίσω του το δεξιό μεγάλο ψοΐτη μυ, μπροστά, κάτω και έξω τη δεξιά κολική καμπή, μπροστά και έσω το δωδεκαδάκτυλο και απέναντι από το έσω χείλος του την κάτω κοίλη φλέβα. β) ο αριστερός νεφρός επάνω και πίσω του έχει το διάφραγμα, πίσω του το σύστοιχο μεγάλο ψοΐτη μυ, επάνω και έξω το σπλήνα, επάνω, έξω και εμπρός την *αριστερή κολική καμπή,* μπροστά του το *πάγκρεας* και απέναντι από το έσω χείλος του την *αορτή.*

1.6.2. Κατασκευή του νεφρού

Ο νεφρός είναι ένα όργανο αποπλατυσμένο από εμπρός προς τα πίσω κι αν κάνουμε μια τομή που να περνά από τα χείλη του, θα δούμε ότι κάτω από τον ινώδη χιτώνα έχει δύο ουσίες[2]: μια εξωτερική που λέγεται *φλοιώδης* και μια εσωτερική που λέγεται *μυελώδης*. Η φλοιώδης έχει σκούρο καφεκόκκινο χρώμα, ενώ η μυελώδης είναι ανοιχτόχρωμη και αποτελείται από 8-12 πυραμιδοειδείς σχηματισμούς που ονομάζονται νεφρικές πυραμίδες κι έχουν τη βάση τους στραμμένη προς τη φλοιώδη ουσία και την κορυφή προς τη νεφρική κοιλία. Στην κορυφή κάθε νεφρικής πυραμίδας υπάρχει μια *θηλή*, γεμάτη μικρά σωληνάρια από τα οποία αναβλύζει το ούρο. Από τη βάση της πυραμίδας προβάλλουν ακτινωτά προς τη φλοιώδη ουσία οι μυελώδεις ακτίνες και ανάμεσά τους προβάλλουν προεξοχές της φλοιώδους ουσίας, οι *νεφρικοί στύλοι*. Η θηλή της νεφρικής πυραμίδας προβάλλει μέσα σ' έναν κυπελλοειδή σχηματισμό από ινώδη ιστό, το *νεφρικό κάλυκα*, όπου συλλέγονται τα ούρα που αναβλύζουν από τα σωληνάρια της θηλής. Όλοι οι κάλυκες εκβάλλουν με μίσχους στη νεφρική πύελο η οποία βρίσκεται στη νεφρική κοιλία. Από εκεί τα ούρα περνούν σ' έναν ινομυώδη σωλήνα, τον *ουρητήρα*, και με αυτόν μεταφέρονται στην ουροδόχο κύστη. Ο νεφρός

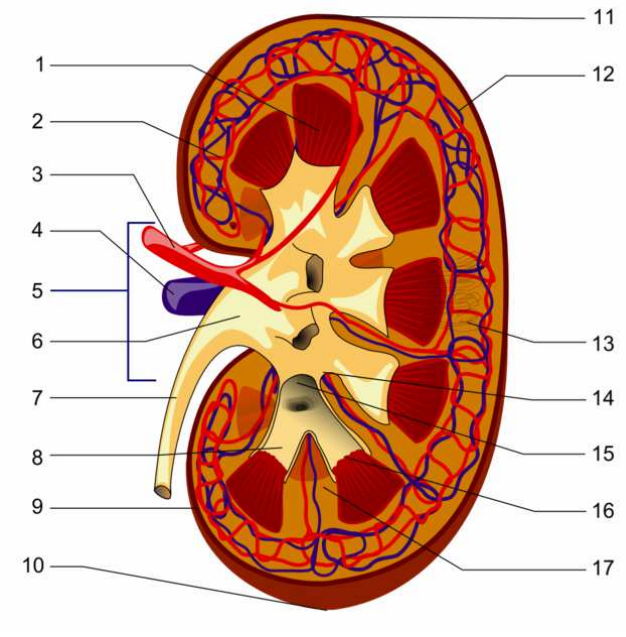
λειτουργεί σαν ένας πολυσύνθετος σωληνοειδής αδένας που τα σωληνάριά του παράγουν το ούρο. Ανατομική και λειτουργική μονάδα του νεφρού θεωρείται ο νεφρώνας, ο οποίος αποτελείται από το νεφρικό σωμάτιο και από το ουροφόρο σωληνάριο. Η κατασκευή του νεφρώνα είναι σύμφυτη με τη λειτουργική του αποστολή και είναι πολύπλοκη. Επειδή η λειτουργία του νεφρώνα στηρίζεται στην αγγείωση του νεφρού, θα αναφέρουμε μερικά γι' αυτήν πριν προχωρήσουμε στην περιγραφή της μικροσκοπικής κατασκευής του νεφρώνα.

Στο Σχήμα 1.3 φαίνεται πώς η νεφρική αρτηρία, που μπαίνει μέσα στο νεφρό από την πύλη, διακλαδίζεται σε μερικούς κλάδους που κατευθύνονται προς την περιφέρεια του οργάνου και δίνουν ευθείς κλάδους, τις μεσολόβιες αρτηρίες του νεφρού. Αυτές, περνώντας ανάμεσα από τους μίσχους των καλύκων, διακλαδίζονται σε μικρότερους κλάδους που έχουν σχήμα τόξου και γι' αυτό λέγονται *τοξοειδείς αρτηρίες*. Οι τοξοειδείς αρτηρίες πηγαίνουν προς την περιφέρεια και δίνουν μικρούς κλάδους από τους οποίους προέρχονται λεπτότατα αρτηριακά στελέχη, τα *προσαγωγά αρτηρίδια* του νεφρικού σωματίου. Αυτά τροφοδοτούν το νεφρικό σωμάτιο με αρτηριακό αίμα που κυκλοφορεί μέσα σε ένα λεπτότατο τριχοειδικό δίκτυο με πολλές σπείρες που ονομάζεται *αγγειώδες σπείραμα* ή *θαυμάσιο δίκτυο*. Την ονομασία "θαυμάσιο ή mirabilis" την πήρε γιατί αντιπροσωπεύει στο ανθρώπινο σώμα την τέλεια εναρμόνιση της ανατομικής κατασκευής με τη λειτουργική αποστολή.

Επειδή το αίμα που φθάνει στο νεφρό από τη νεφρική αρτηρία αναγκάζεται να κυκλοφορήσει σε πολυδαίδαλα και πολύ λεπτά τριχοειδικά δίκτυα, η πίεσή του μέσα στα τριχοειδή αγγεία του *θαυμάσιου σπειράματος* αυξάνεται πολύ, σύμφωνα με τις αρχές της υδροδυναμικής. Τούτο είναι απαραίτητο για τη λειτουργία του νεφρικού σωματίου και την παραγωγή των ούρων, όπως θα δούμε παρακάτω. Ο νεφρώνας αποτελείται από το νεφρικό σωμάτιο και το ουροφόρο σωληνάριο. Το νεφρικό σωμάτιο μοιάζει με ένα "ποτήρι του κονιάκ" που έχει διπλά τοιχώματα και το "ποδαράκι" του είναι σωληνωτό κι επικοινωνεί με την ενδιάμεση κοιλότητα που σχηματίζεται απ' τα διπλά τοιχώματα. Το μέρος αυτό του νεφρικού σωματίου ονομάζεται *κάψα* ή *έλυτρο του Bowman* και η ενδιάμεση κοιλότητά του *ουροφόρος κοιλότητα*. Στο εσωτερικό της κάψας περιέχεται το θαυμάσιο δίκτυο. Το "ποδαράκι" της κάψας είναι η αρχή του ουροφόρου σωληναρίου, το οποίο δεν είναι

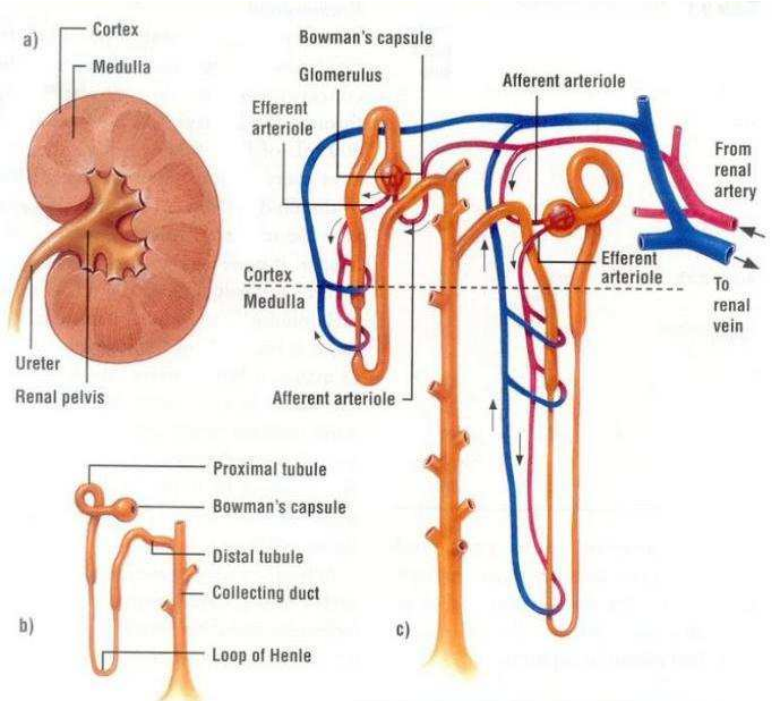
ομοιόμορφο σε όλο του το μήκος· μετά το πρώτο ευθύ τμήμα του αρχίζει να ελίσσεται σε σπείρες και ονομάζεται *εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο* ή *εσπειραμένο σωληνάριο α' τάξης*. Στη συνέχεια μεταπίπτει σε μια αγκυλωτή μοίρα που ονομάζεται *αγκύλη του Henle* κι έχει ένα κατιόν κι ένα ανιόν σκέλος.

Παραπέρα, το ουροφόρο σωληνάριο γίνεται πάλι εσπειραμένο και στη θέση αυτή ονομάζεται *άπω εσπειραμένο σωληνάριο* ή *εσπειραμένο σωληνάριο β' τάξης*. Μετά τη δεύτερη σπειροειδή του πορεία γίνεται ξανά ευθύ κι ονομάζεται *τελικό σωληνάριο*. Τα τελικά σωληνάρια πολλών νεφρώνων καταλήγουν σε ένα φαρδύτερο σωληνάριο που λέγεται *αθροιστικό* και συλλέγει τα ούρα που έρχονται από πολλούς νεφρώνες με τα τελικά τους σωληνάρια. Στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 1.3) απεικονίζεται ο νεφρός και το αγγειακό του δίκτυο.



Σχήμα 1.3: Σχηματική παράσταση του νεφρού και του αγγειακού του δικτύου.

1: νεφρική λειτουργική μονάδα 2: προσαγωγό αρτηρίδιο 3: νεφρική αρτηρία 4: νεφρική φλέβα 5: πύλες του νεφρού 6: νεφρικός κάλυκας 7: ουρητήρας 8: αθροιστική κοιλότητα 9: κάψα του Gerota 10: κάτω πόλος του νεφρού 11: άνω πόλος του νεφρού 12: φλεβίδιο 13: αθροιστικό σωληνάριο 14: αγγειακό δεμάτιο 15: ουροφόρος κοιλότητα 16: μυελώδης μοίρα 17: φλοιώδης μοίρα.



Σχήμα 1.4: Απεικόνιση του θαυμάσιου δικτύου του νεφρώνα.

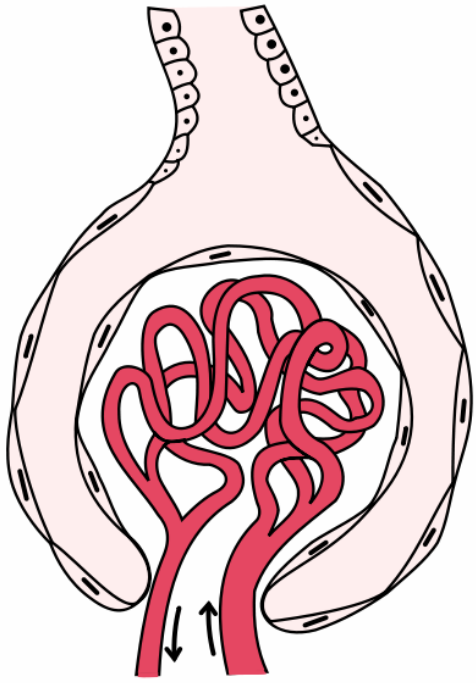
Στο προηγούμενο σχήμα (Σχήμα 1.4) φαίνεται ότι το απαγωγό αρτηρίδιο (afferent arteriole) αναλύεται σε δύο επίσης αρτηριακά τριχοειδικά δίκτυα που φυσικά περιέχουν αίμα "αρτηριακό", αφού στο θαυμάσιο δίκτυο δεν υπάρχει απώλεια οξυγόνου. Η υδροστατική πίεση του αίματος μέσα σε αυτά τα τριχοειδικά δίκτυα είναι χαμηλή, όπως και στο απαγωγό αρτηρίδιο. Τα δίκτυα αυτά αγκαλιάζουν τα εσπειραμένα σωληνάρια και την αγκύλη του Henle και στη συνέχεια ενώνονται και σχηματίζουν ένα λεπτό φλεβικό στέλεχος που καταλήγει στην *τοξοειδή φλέβα* (αντίστοιχη της αρτηρίας). Το αίμα τώρα έχει γίνει φλεβικό γιατί στη δεύτερη διασπορά του στα τριχοειδικά δίκτυα δίνει οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά στα ανατομικά μόρια του νεφρού.

1.6.3. Λειτουργία του νεφρώνα και παραγωγή των ούρων

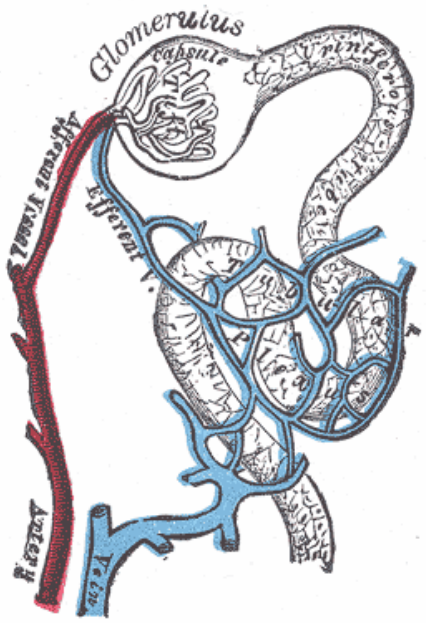
Στην πρώτη φάση το αίμα που έρχεται στο θαυμάσιο δίκτυο με ψηλή πίεση βρίσκει την απέναντί του ουροφόρο κοιλότητα της κάψας του Bowman να έχει χαμηλότερη πίεση[2]. Η διαφορά αυτή των πιέσεων στους δυο χώρους προκαλεί διήθηση (στράγγισμα) του αίματος, περίπου ανάλογα με εκείνο που γίνεται στις συσκευές του στραγγιχτού γαλλικού καφέ (βλέπε σχήματα 1.5 &

1.6). Στη συσκευή του καφέ η δύναμη της βαρύτητας τραβά το νερό προς την κανάτα. Στο νεφρώνα το ρόλο της βαρύτητας παίζει η διαφορά των πιέσεων στους δύο χώρους, που πιέζει το αίμα προς την πλευρά της χαμηλότερης πίεσης, δηλαδή την ουροφόρο κοιλότητα. Η υψηλή οσμωτική πίεση οφείλεται στις ουσίες που βρίσκονται διαλυμένες μέσα στο πρόουρο. Στο πιο κάτω σχήμα απεικονίζεται η σπειραματική συσκευή της κάψας του Bowman και η ανάλογη λειτουργία της που έχει αποτέλεσμα τη διήθηση του αίματος. Η φάση αυτή λέγεται *σπειραματική διήθηση*. Το πρώτο διήθημα λέγεται *πρόουρο*.

Ο οργανισμός μέχρι στιγμής κατάφερε να απομακρύνει την ουρία που πέρασε διαλυμένη μέσα στο πρόουρο, αλλά μαζί μ' αυτήν έχασε σημαντικό όγκο νερού και διάφορα συστατικά που του είναι χρήσιμα (σάκχαρο, λεύκωμα, ηλεκτρολύτες κα.). Το νερό και τα συστατικά αυτά τα παίρνει πάλι πίσω με τη διαδικασία της *επαναρρόφησης* η οποία γίνεται στο ουροφόρο σωληνάριο[2].



Σχήμα 1.5



Σχήμα 1.6

Σχήμα 1.5: Η κάψα του Bowman με τη σπειραματική της συσκευή.

Σχήμα 1.6: Η κάψα του Bowman και το ουροφόρο σωληνάριο περιστοιχισμένο από τα φλεβικά τριχοειδή.

Το πρόουρο, όπως είδαμε, βρίσκεται στο σωληνάριο υπό ψηλή πίεση, ενώ το αίμα ρέει στα τριχοειδικά δίκτυα του απαγωγού αρτηριδίου που περιβάλλουν το σωληνάριο υπό χαμηλή πίεση. Η διαφορά της πίεσης τώρα σπρώχνει το διάλυμα προς τα τριχοειδή των δικτύων (μπλε χρώμα στο Σχήμα 1.6). Το διάλυμα που περνά όμως μέσα στα τριχοειδή δεν περιέχει την ουρία, η οποία αδυνατεί να περάσει την ειδική κατασκευή του τοιχώματος των τριχοειδών και του σωληναρίου· σ' αυτή τη θέση το τοίχωμα συγκρατεί την ουρία (διαλυμένη σε μια μικρή ποσότητα νερού) μέσα στον αυλό του ουροφόρου σωληναρίου και επαναρροφά το μεγαλύτερο όγκο νερού από το πρόουρο μαζί με τα χρήσιμα συστατικά, αποδίδοντάς τα πάλι στην κυκλοφορία (μέσα στα τριχοειδή). Στη φάση αυτή γίνεται και μια ανταλλαγή ηλεκτρολυτικών ιόντων μεταξύ πρόουρου και αίματος και έτσι, ταυτόχρονα με την παραγωγή των ούρων και την αποβολή της ουρίας, διατηρείται η ισορροπία των ηλεκτρολυτών και του όγκου των υγρών του σώματος. Μετά την ολοκλήρωση της επαναρρόφησης τα ούρα περνούν στο τελικό σωληνάριο κι από εκεί στο αθροιστικό. Μικρές ποσότητες νερού επαναρροφώνται και σε αυτά τα τμήματα του ουροφόρου σωληναρίου. Ότι απομένει περνά στη νεφρική θηλή και μετά στο νεφρικό κάλυκα ο οποίος είναι η αρχή της αποχετευτικής μοίρας του ουροποιητικού συστήματος. Κάθε νεφρός έχει περίπου ένα εκατομμύριο νεφρώνες αλλά δεν λειτουργούν διαρκώς όλοι, παρά μόνο οι μισοί· στη διάρκεια του 24ώρου μπαίνουν σε λειτουργία όλοι οι νεφρώνες εκ περιτροπής. Με τα ούρα ο οργανισμός απομακρύνει και μερικές ουσίες που του είναι άχρηστες ή βλαβερές, όπως μεταβολικά κατάλοιπα φαρμάκων και τοξικών ουσιών. Κακή λειτουργία του ουροποιητικού συστήματος συνεπάγεται σοβαρές διαταραχές του οργανισμού από τη συσσώρευση πολλών άχρηστων και βλαβερών ουσιών στο αίμα.

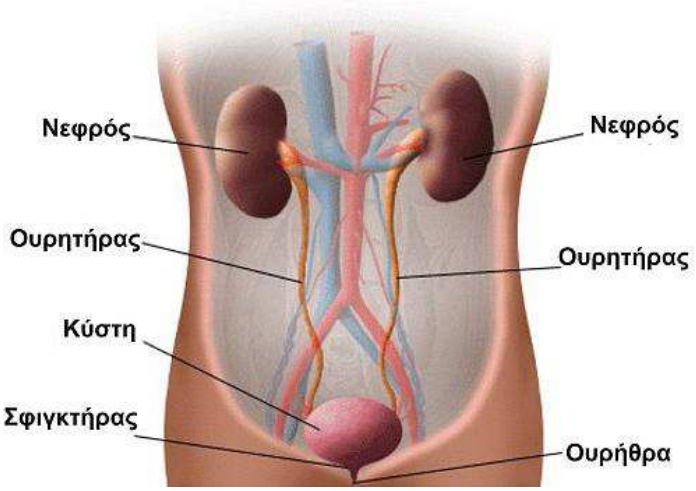
1.6.4. Νεφρικοί κάλυκες και νεφρική πύελος

Αναφέρθηκε ήδη στην περιγραφή της κατασκευής του νεφρού ότι οι νεφρικές θηλές περιβάλλονται από κυπελλοειδή ανατομικά μορφώματα από ινώδη ιστό, τους νεφρικούς κάλυκες, που με μίσχους συνδέονται με έναν ευρύτερο αθροιστικό χώρο ο οποίος βρίσκεται στη νεφρική κοιλία και ονομάζεται *νεφρική πύελος*. Η νεφρική πύελος είναι κατασκευασμένη από

ινώδη ιστό και λίγες λείες μυϊκές ίνες και καλύπτεται εσωτερικώς από βλεννογόνο που έχει μεταβατικό επιθήλιο. Μόλις η νεφρική πύελος βγει από την πύλη του νεφρού στρέφεται προς τα κάτω και μεταπίπτει σε έναν ινομυώδη σωλήνα, τον *ουρητήρα*.

1.6.5. Ουρητήρας

Οι ουρητήρες είναι δυο, ένας από κάθε νεφρό και μεταφέρουν τα ούρα από τους νεφρούς στην κύστη (Σχήμα 1.7). Ο κάθε ουρητήρας[2] έχει μήκος 25 - 30 cm και κατεβαίνει "έρποντας" στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα, επάνω στον ψοΐτη μυ, περνά στη συνέχεια στη λεκάνη, στρέφεται προς τα μέσα και εμπρός, διασταυρώνεται με τα λαγόνια αγγεία και καταλήγει στην ουροδόχο κύστη.



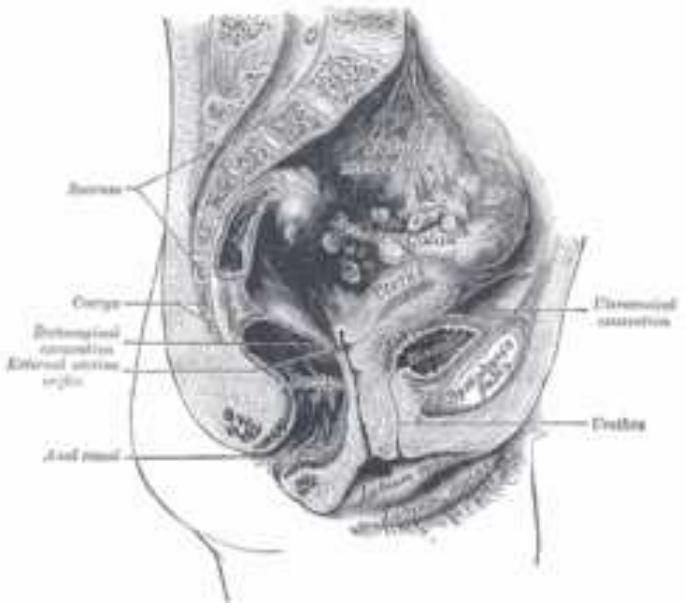
Σχήμα 1.7: Σχηματική παράσταση της πορείας των ουρητήρων και της σχέσης των οργάνων του ουροποιητικού με τα μεγάλα αγγεία της κοιλιάς.

Ο ουρητήρας μπαίνει στο τοίχωμα της ουροδόχου κύστης λοξά κατά την πορεία του μέσα στο τοίχωμά της και σχηματίζει έναν ειδικό βαλβιδικό μηχανισμό που δεν επιτρέπει στα ούρα που έχουν περάσει μέσα στην ουροδόχο κύστη να επιστρέψουν στον ουρητήρα. Τούτο συμβαίνει μόνο σε παθολογικές καταστάσεις, λέγεται *κυστεοουρητηρική παλινδρόμηση* και είναι αιτία μικροβιακών λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος (ουρολοιμώξεων). Το τοίχωμα του ουρητήρα αποτελείται από έναν εξωτερικό ινώδη χιτώνα, ένα μυϊκό χιτώνα αμέσως κάτω απ' τον ινώδη και προς το εσωτερικό του, από το βλεννογόνο χιτώνα που έχει μεταβατικό επιθήλιο. Τα

ούρα παράγονται από τους νεφρούς διαρκώς και κατεβαίνουν από τη νεφρική πύελο και τους ουρητήρες κατά κύματα· η μεταφορά τους γίνεται με τη βαρύτητα αλλά και με περισταλτικά κύματα που κάνουν τα μυϊκά τοιχώματα αυτών των οργάνων. Συλλέγονται στην ουροδόχο κύστη, η οποία είναι κατά κάποιο τρόπο η αποθήκη των ούρων και αποβάλλονται με την ούρηση από την ουρήθρα.

1.6.6. Ουροδόχος κύστη

Είναι ένα κοίλο μυώδες όργανο μεταβλητών διαστάσεων (ανάλογα με το βαθμό πλήρωσής της). Βρίσκεται στο έδαφος της μικρής πυέλου πίσω από την ηβική σύμφυση και μοιάζει με μπαλόνι (Σχήμα 1.8). Είναι υποπεριτοναϊκό όργανο και το επάνω μέρος της καλύπτεται από το περιτόναιο το οποίο την καθηλώνει στο έδαφος της πυέλου[2].



Σχήμα 1.8: Σχηματική παράσταση της μέσης οβελιαίας τομής της γυναικείας πυέλου όπου απεικονίζονται οι σχέσεις των οργάνων με την ουροδόχο κύστη.

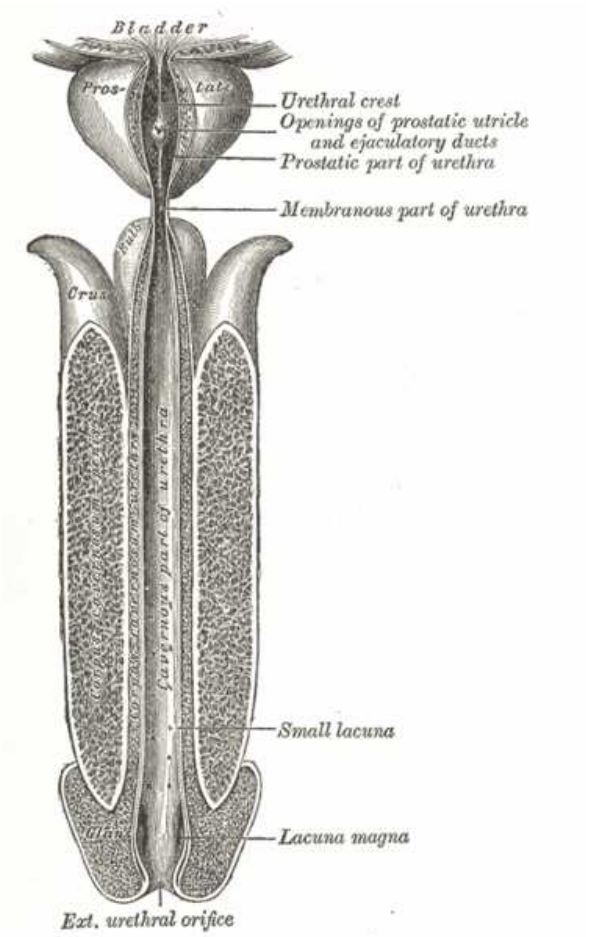
Στηρίζεται και με διάφορους συνδέσμους που την συγκρατούν στο πρόσθιο τοίχωμα της κοιλιάς. Επάνω από την ουροδόχο κύστη βρίσκονται οι έλικες του ειλεού, πίσω της βρίσκονται στους άνδρες το ορθό και οι *σπερματοδόχες λήκυθοι* και στις γυναίκες βρίσκεται η *μήτρα*. Κάτω από την ουροδόχο κύστη

στις γυναίκες βρίσκεται ο *κόλπος* ενώ στους άνδρες ο *προστάτης αδένας*. Στο εσωτερικό του οργάνου διακρίνουμε στο επάνω μέρος το *θόλο* και κάτω το *έδαφος*. Στο έδαφος υπάρχει μια τρίγωνη περιοχή, με τη βάση προς τα πίσω και την κορυφή προς τα εμπρός, η οποία λέγεται *κυστικό τρίγωνο*. Στις κορυφές του κυστικού τριγώνου υπάρχουν στόμια· τα δύο πίσω είναι τα στόμια εισόδου των ουρητήρων και το πρόσθιο (της κορυφής του τριγώνου) είναι το στόμιο εξόδου της ουρήθρας. Η επιφάνεια του κυστικού τριγώνου είναι πάντα λεία και ομαλή ενώ στο θόλο υπάρχουν πτυχές, όταν η κύστη είναι άδεια. Όταν γεμίσει, οι πτυχές αυτές εξαφανίζονται, καθώς το τοίχωμα της κύστης τεντώνεται. Το τοίχωμα της ουροδόχου κύστης αποτελείται από έναν εξωτερικό λεπτό ινώδη ορογόνο χιτώνα, ένα μυϊκό χιτώνα από λείες μυϊκές ίνες και τέλος, στο εσωτερικό από το βλεννογόνο που έχει μεταβατικό επιθήλιο. Ο μυϊκός χιτώνας σχηματίζει τον *εξωστήρα μυ* της κύστης ο οποίος, όταν συσπάται, εξωθεί τα περιεχόμενα ούρα προς την ουρήθρα. Στο στόμιο εξόδου της ουρήθρας υπάρχει ένας σφιγκτηριακός μηχανισμός από λείες μυϊκές ίνες, του οποίου η λειτουργία είναι ακούσια. Ένας δεύτερος σφιγκτήρας από τους μύες του περινέου, περιφερικότερα από τον πρώτο, λειτουργεί με τη θέλησή μας. Μπορούμε να κρατήσουμε τα ούρα στην κύστη μας μέχρι κάποιο όριο χωρίς πρόβλημα. Όταν ο όγκος των ούρων που είναι μέσα στην ουροδόχο κύστη ξεπεράσει τα 400cc, η κύστη συσπάται κι αρχίζουμε να νιώθουμε ένα δυσάρεστο αίσθημα. Αν προσπαθήσουμε να κρατήσουμε τα ούρα περισσότερο, το αίσθημα αυτό επιδεινώνεται και όταν ο όγκος των ούρων φθάσει τα 650-700cc η κύστη συσπάται μόνη της, οι σφιγκτήρες χαλαρώνουν και προκαλείται αυτόματη ούρηση, ανεξάρτητη από τη θέλησή μας, για λόγους προστασίας της ακεραιότητας της ουροδόχου κύστης.

1.6.7. Ουρήθρα

1.6.8. Γυναικεία ουρήθρα

Είναι ένας ινομυώδης σωλήνας, συνέχεια της ουροδόχου κύστης. Αποτελείται από ινώδη και μυϊκό χιτώνα και έχει βλεννογόνο με μεταβατικό επιθήλιο. Το μήκος της είναι βραχύ, περίπου 4cm. Έρχεται λοξά προς τα εμπρός και κάτω και αφού περάσει τους μύες του περινέου εκβάλλει με το έξω στόμιό της κάτω από την κλειτορίδα, ανάμεσα στα μικρά χείλη του αιδοίου, εμπρός από την είσοδο του κόλπου. Η ουρήθρα στη γυναίκα είναι αποκλειστικώς όργανο του ουροποιητικού και χρησιμεύει μόνο για την αποβολή των ούρων, σε αντίθεση με την ανδρική, που χρησιμοποιείται και για την εκσπερμάτωση.



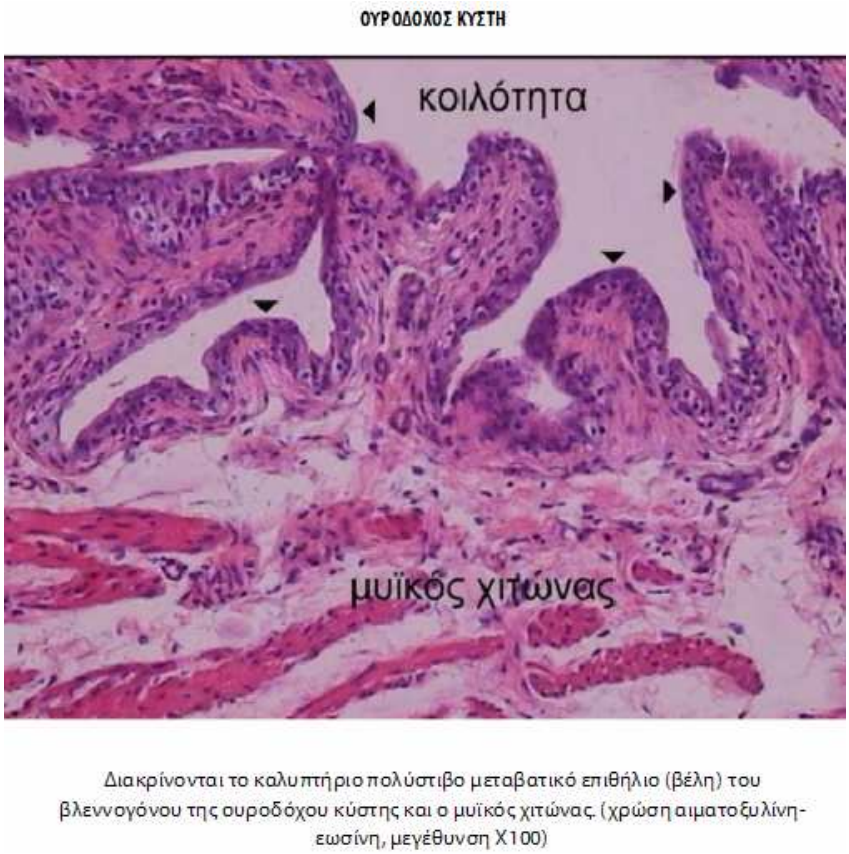
Σχήμα 1.9: Ανατομία της ανδρικής ουρήθρας.

1.6.9. Ανδρική ουρήθρα

Μοιάζει με τη γυναικεία στην κατασκευή αλλά διαφέρει στο μήκος, την πορεία, τις σχέσεις και τη χρησιμότητα. Έχει μήκος 18-20cm. Βγαίνει από την ουροδόχο κύστη προς τα κάτω και περνά μέσα από τον προστάτη αδένα (Σχήμα 1.9). Η πρώτη της αυτή μοίρα λέγεται *προστατική* και δέχεται τις εκβολές των εκσπερματιστικών πόρων. Στη συνέχεια στρέφεται προς τα εμπρός και το τοίχωμά της γίνεται λεπτό· η μοίρα της αυτή λέγεται *υμενώδης*. Ακολουθεί η *σηραγγώδης μοίρα* (μέσα στο μέσο σηραγγώδες σώμα του πέους), η οποία είναι η μακρύτερη από όλες τις μοίρες και είναι εύκαμπτη, με ινομυώδες τοίχωμα. Καταλήγει στη βάλανο του πέους, σε μια διευρυσμένη περιοχή που ονομάζεται σκαφοειδής βόθρος κι από εκεί εκβάλλει με το έξω στόμιό της στην κορυφή της βαλάνου.

1.7. Ιστολογία του ουροθηλίου

Ο βλεννογόνος του ουροποιητικού συστήματος αποτελείται από ένα πολύστιβο επιθήλιο με 7-8 στιβάδες κατά μέσο όρο, που αποτελούνται από εξειδικευμένα κύτταρα τα οποία συνδέονται σε βασική μεμβράνη (Εικόνα 1.1). Το πάχος του βλεννογόνου της ουροδόχου κύστης ποικίλλει και εξαρτάται από την κατάστασή της. Όταν διατείνεται υπάρχουν λίγες μόνο στιβάδες ουροθηλιακών κυττάρων, ενώ όταν αυτή είναι άδεια παρατηρείται ένα παχύ πολύστιβο επιθήλιο. Τα κύτταρα στις κατώτερες στιβάδες είναι μικρά με έναν πυρήνα. Τα επιφανειακά κύτταρα είναι μεγαλύτερα και συχνά πολυπύρηνα με 2 έως και 55 πυρήνες. Κάθε επιφανειακό κύτταρο καλύπτει δύο ή περισσότερα από τα κύτταρα των κατώτερων στιβάδων. Για αυτόν το λόγο ονομάζονται κύτταρα "ομπρέλα". Το ουροθήλιο της φυσιολογικής ουροδόχου κύστης συχνά παρουσιάζει μερικές εμβαθύνσεις που ονομάζονται φωλιές του von Brunn. Συχνά καλύπτονται από βλεννοεκκριτικά κυλινδρικά κύτταρα παρά από ουροθηλιακά κύτταρα. Η ιστολογική εικόνα που παρατηρείται όταν αυτά διατείνονται με βλέννη, ονομάζεται κυστική κυστίτιδα ή αδενική κυστίτιδα (cystitis cystica or cystitis glandularis)[4,5].



Εικόνα 1.1: Ιστολογικό παρασκεύασμα του τοιχώματος της ουροδόχου κύστεως.

1.8. Η Φυσιολογία του μηχανισμού της ούρησης

1.8.1. Λειτουργική Ανατομική της ουροδόχου κύστης

Το τοίχωμα της ουροδόχου κύστης αποτελείται από τρία στρώματα, το έξω το οποίο αποτελείται από συνδετικό ιστό και ονομάζεται *ορογόνος,* το μεσαίο ή *μυϊκό στρώμα* και ένα εσωτερικό το *βλεννογόνο*[6].

1.8.2. Το μυϊκό στρώμα

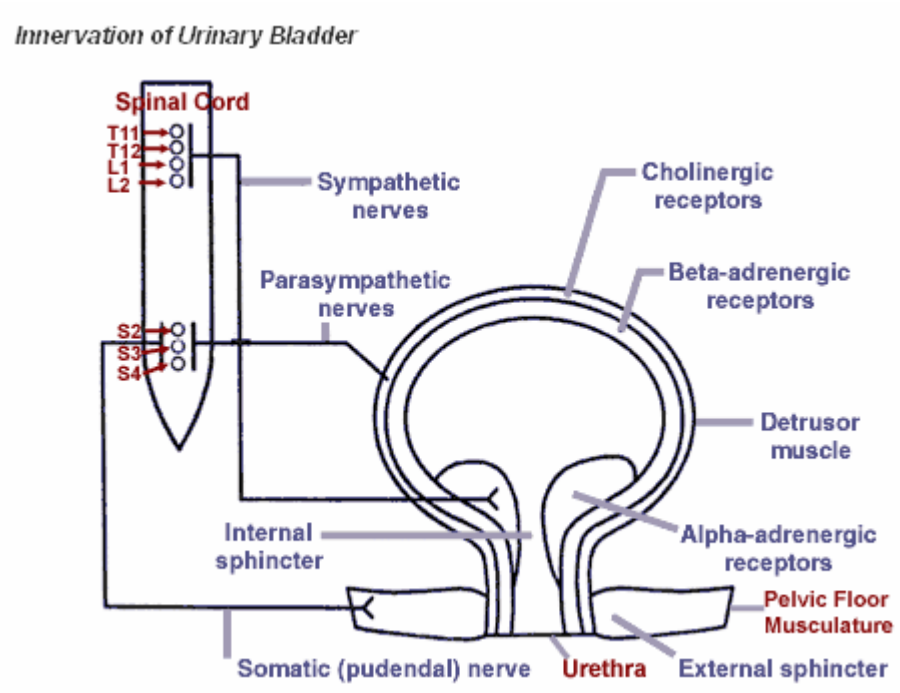
Το μυϊκό στρώμα αποτελείται από διαπλεκόμενες δεσμίδες, μεγάλης διαμέτρου λείων μυϊκών κυττάρων, οι οποίες σχηματίζουν έναν πολύπλοκο δικτυωτό σχηματισμό. Οι μυϊκές ίνες τείνουν να παρουσιάσουν επιμήκη προσανατολισμό στην εξωτερική και εσωτερική μοίρα του μυϊκού στρώματος.

Στην οπίσθια επιφάνεια της ουροδόχου κύστης, ορισμένες από τις εξωτερικές επιμήκεις δεσμίδες, αφού καλύψουν τη βάση του οργάνου, συνέχονται με την κάψα του προστάτη και άλλες με την πρόσθια επιφάνεια του ορθού για να αποτελέσουν τον ορθοκυστικό μυ. Στο πρόσθιο τοίχωμα, ορισμένες από τις προαναφερθείσες επιμήκεις δεσμίδες συνέχονται με τους ηβοπροστατικούς συνδέσμους.

Κατά τη φάση που η ουροδόχος κύστη πληρούται με τα παραγόμενα από τους νεφρούς ούρα, αυξάνεται συνεχώς η χωρητικότητά της, ταυτόχρονα αυξάνεται η ενδοκυστική πίεση. Αυτό οφείλεται σε δύο βασικές ιδιότητες του κυστικού μυός, την *ελαστικότητα* και τη *σπλαγχνοελαστικότητα*. Η ελαστικότητα επιτρέπει τη μέχρι ενός ορίου διάταση της μυϊκής ίνας χωρίς να αυξηθεί η τάση της. Η σπλαγχνοελαστικότητα διαφέρει κατά το ότι η διάταση παράγει μία αρχική αύξηση της τάσης, η οποία φθίνει όταν η ταχύτητα πλήρωσης μειωθεί ή διακοπεί τελείως. Αυτή η μείωση της τάσης καλείται *stress relaxation*[7]. Σύμφωνα με τα ανωτέρω, κατά τη φάση της πλήρωσης η ελαστικότητα έχει ως αποτέλεσμα τη διατήρηση της ενδοκυστικής πίεσης σε σταθερά επίπεδα, ανεξάρτητα από την ταχύτητα πλήρωσης, ενώ η σπλαγχνοελαστικότητα προκαλεί αύξηση της ενδοκυστικής πίεσης όταν ο βαθμός τάσης υπερβεί την τιμή της stress relaxation. Ο λόγος της διαφοράς του όγκου πλήρωσης προς τη διαφορά της ενδοκυστικής πίεσης (ΔV/ΔP) εκφράζει την *προσαρμοστικότητα (compliance)* της ουροδόχου κύστης, η οποία επηρρεάζεται από καταστάσεις που επιδρούν επί της σπλαγχνοελαστικότητας του εξωστήρα μυός όπως πχ. η ίνωση, η υπερτροφία, η διαταραχή της νεύρωσης και η ταχύτητα πλήρωσης κατά τη διάρκεια της κυστεομανομέτρησης.

1.8.3. Νεύρωση θόλου και σώματος

Τα νεύρα τα οποία καταλήγουν στην ουροδόχο κύστη σχηματίζουν το *κυστικό πλέγμα* και προέρχονται από το *συμπαθητικό* και *παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα* (Σχήμα 1.10).



Σχήμα 1.10: Η νεύρωση της ουροδόχου κύστης.

Οι παρασυμπαθητικές ίνες εκπορεύονται από το 2° έως το 4° ιερό μυελοτόμιο (S2 → S4), όπου βρίσκεται ο πυρήνας του αντανακλαστικού τόξου της ούρησης και μέσω των πυελικών νεύρων φέρονται στα πυελικά γάγγλια όπου συνάπτονται με μεταγαγγλιακές ίνες για να καταλήξουν στην ουροδόχο κύστη. Οι συμπαθητικές ίνες προέρχονται από τα δύο κατώτερα θωρακικά και δύο ανώτερα οσφυϊκά μευλοτόμια και μέσω του υπογάστριου νεύρου συνάπτονται με τα παρασπονδυλικά, τα άνω μεσεντέρια και τα πυελικά γάγγλια (Σχήμα 1.10). Ορισμένες ίνες τόσο του παρασυμπαθητικού όσο και του συμπαθητικού καταλήγουν στον τελικό τους προορισμό χωρίς σύναξη με τα προαναφερόμενα γάγγλια. Μικρά αυτόνομα γάγγλια του παρασυμπαθητικού είναι διεσπαρμένα σε όλη την έκταση του μυϊκού τοιχώματος, δεχόμενα ίνες και από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα. Πρόσφατες ανοσοϊστοχημικές μελέτες έχουν αποκαλύψει την ύπαρξη αγγειοενεργών εντερικών πολυπεπτιδίων (vasoactive intestinal polypeptides, VIP) εντός των νευρικών ινών, που καταλήγουν στον εξωστήρα με δράση χαλαρωτική επί των λείων μυϊκών ινών.

1.8.4. Ουρητηροκυστική συμβολή και ουρητηρικό τρίγωνο

Το τελικό άκρο του κάθε ουρητήρα σε έκταση 1cm περιβάλλεται από τη θήκη του Waldayer. Οι ουρητήρες διαπερνούν το οπίσθιο τοίχωμα της ουροδόχου κύστης και μετά από λοξή πορεία 1,5-2cm καταλήγουν στα ουρητηρικά στόμια. Επιμήκεις ίνες της θήκης του Waldayer, αφού ακολουθήσουν την ενδοτοιχωματική πορεία του ουρητήρα, μετά το ουρητηρικό στόμιο συνέχονται μετά του επιπολής τριγώνου. Το ουρητηρικό τρίγωνο αποτελείται από δύο επίπεδα, το επιπολής και το εν τω βάθει, του οποίου οι λείες μυϊκές ίνες δεν διακρίνονται από τις ίνες του εξωστήρα. Οι ίνες του επιπολής τριγώνου διαφέρουν μορφολογικά καθ' ότι είναι μικρότερης διαμέτρου. Η πορεία τους καταλήγει στην ουρηθραία ακρολοφία.

1.8.5. Νεύρωση της ουρητηροκυστικής συμβολής και του τριγώνου

Το ουρητηρικό τμήμα της συμβολής δέχεται παρασυμπαθητική και συμπαθητική νεύρωση. Αντίθετα ο περιβάλλων εξωστήρας δέχεται αποκλειστικά παρασυμπαθητικές ίνες, οι οποίες σχηματίζουν δίκτυο πλουσιότερο από αυτό που σχηματίζει η διπλή νεύρωση του ουρητήρα.

1.8.6. Αυχένας της ουροδόχου κύστης

Ο κυστικός αυχένας αποτελεί ιδιαίτερη λειτουργική μονάδα του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος αποτελούμενος από λείες μυϊκές ίνες με διαφορετικά ιστοχημικά και νεφροφαρμακολογικά χαρακτηριστικά από τον υπόλοιπο εξωστήρα. Στον άνδρα ο κυστικός αυχένας καλείται και *έσω σφικτήρας* καθ' όσον οι κυκλοτερείς ίνες του, καταδυόμενες περιβάλλουν την προ-προστατική μοίρα της ουρήθρας, ενώ οι προς την περιφέρεια ίνες του συνέχονται με τις ίνες του στρώματος και της κάψας του προστάτη. Η νεύρωση του κυστικού αυχένα είναι πλουσιώτατη σε ίνες του συμπαθητικού, ενώ οι παρασυμπαθητικές ίνες είναι ελάχιστες. Αυτή η αναλογία νευρικών ινών παρατηρείται στο λείο μυϊκό ιστό του προστάτη, των σπερματοδόχων κύστεων και των εκφορητικών πόρων. Από λειτουργικής σκοπιάς η διέγερση του συμπαθητικού έχει ως αποτέλεσμα τη σύσπαση του τοιχώματος της

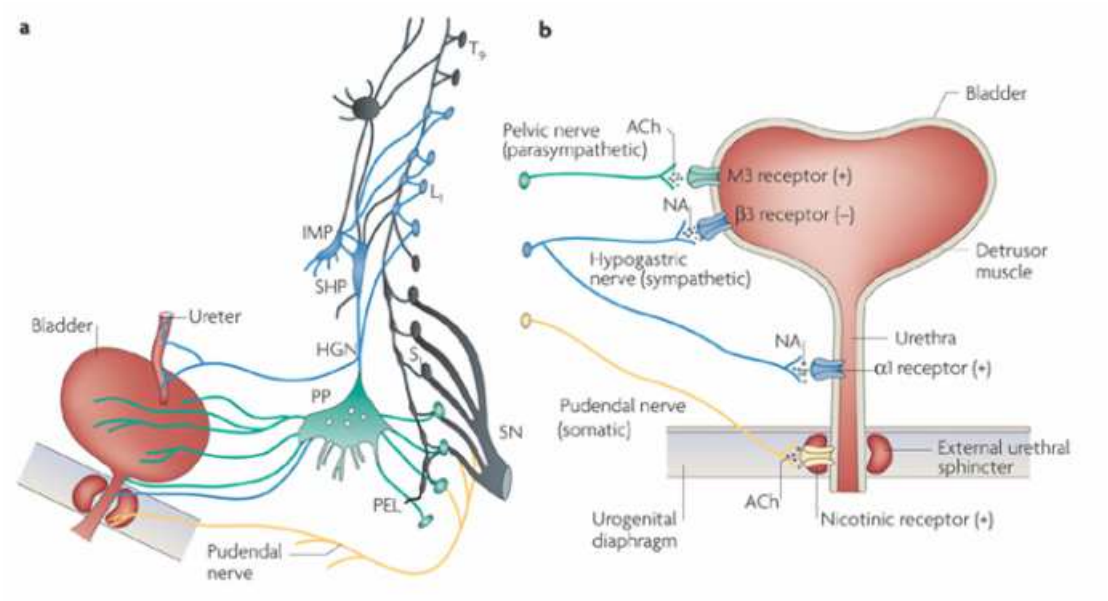
γεννητικής οδού και την έξοδο του σπέρματος, ενώ ταυτόχρονα η σύσπαση των ινών του αυχένα προλαμβάνει την παλίνδρομη εκσπερμάτωση.

1.8.7. Βλεννογόνος της ουροδόχου κύστης

Ο κυστικός βλεννογόνος αποτελείται από τρεις στιβάδες κυττάρων, την *επιπολής* με υψηλής διαφοροποίησης κύτταρα από μεταβατικό επιθήλιο, τη *στιβάδα των διάμεσων κυττάρων* και τη *στιβάδα των αδιαφοροποίητων βασικών κυττάρων*. Το επιθήλιο του τριγώνου αποτελείται από δύο ή τρεις στιβάδες κυττάρων. Μεταξύ των μυϊκών ινών του εξωστήρα και του βλεννογόνου παρεμβάλλεται η *βασική μεμβράνη*, η οποία αποτελείται από χαλαρό ινοελαστικό ιστό.

1.8.8. Αντανακλαστικά τόξα της ούρησης

Τόξο 1: Αισθητικές ώσεις από τους υποδοχείς τάσης που βρίσκονται στο τοίχωμα της ουροδόχου κύστης, ανέρχονται δια της αισθητικής μοίρας των πυελικών νεύρων και των οπισθίων ριζών στις πλάγιες δέσμες της λευκής ουσίας του νωτιαίου μυελού για να καταλήξουν στο κέντρο της ούρησης στη γέφυρα (Σχήμα 1.11).



Σχήμα 1.11: a: ο μηχανισμός ούρησης στη γυναίκα. **b:** ο μηχανισμός ούρησης στον άνδρα.

Κινητικές ώσεις από τον πυρήνα της γέφυρας δια των πλαγίων δεσμών της λευκής ουσίας, καταλήγουν στο νωτιαίο πυρήνα του αντανακλαστικού τόξου της ούρησης που βρίσκεται στα πρόσθια κέρατα αντίστοιχα με τα S2 → S4 μυελοτόμια. Εν συνεχεία με τις πρόσθιες ρίζες και την κινητική μοίρα των πυελικών νεύρων καταλήγουν στις τελικές απολήξεις των μεταγαγγλιακών νευρώνων.

Τόξο 2: Αισθητικοί νευρώνες από τους υποδοχείς τάσης με την αισθητική μοίρα των πυελικών νεύρων και τις οπίσθιες ρίζες, εισέρχονται στο νωτιαίο μυελό και ακολούθως με τις πλάγιες δέσμες της λευκής ουσίας φτάνουν στο ύψος T11 → L2 όπου και συνάπτονται με τον πυρήνα του συμπαθητικού. Κινητικοί νευρώνες από τον ανώτερο πυρήνα μέσω του υπογάστριου νεύρου συνάπτονται με τα πυελικά γάγγλια δρώντας ανασταλτικά επί του παρασυμπαθητικού κατά τη διάρκεια της φάσης πλήρωσης της ουροδόχου κύστης.

Τόξα 3 – 4: Το τόξο 3 προκαλεί αύξηση του τόνου της ουρήθρας κατά τη διάρκεια της φάσης πλήρωσης, ενώ το 4 προκαλεί μείωση του τόνου αμέσως πριν και κατά τη διάρκεια της ούρησης. Και τα δύο τόξα έχουν την ίδια ανιούσα οδό με τα τόξα 1 & 2, αλλά ακόμη δεν έχουν εντοπιστεί τα σημεία σύναψης της ανιούσας με την κατιούσα οδό. Ένα 5^{ο} αντανακλαστικό του οποίου η αισθητική μοίρα ανήκει στο αιδοϊϊκό νεύρο, ευοδώνει τη σύσπαση του εξωστήρα κατά τη διάρκεια της ούρησης (*sustained detrusor contraction*[8-10]).

2° ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Ο Καρκίνος της Ουροδόχου Κύστεως

2.1. Επιδημιολογία

2.1.1. Συχνότητα

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης είναι η δεύτερη σε συχνότητα νεοπλασία του ουροποιητικού συστήματος στον άνθρωπο, μετά από τον καρκίνο του προστάτη. Στο ανδρικό φύλο αποτελεί τον 4° κατά σειρά καρκίνο, μετά από τον καρκίνο του προστάτη, του πνεύμονα και του παχέος εντέρου, ενώ στο γυναικείο φύλο, αποτελεί τον 8° σε συχνότητα καρκίνο[11]. Η αναλογία δε εμφάνισής του μεταξύ ανδρών και γυναικών πασχόντων είναι 3:1. Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μία αυξητική τάση στην εμφάνιση της νόσου, που οφείλεται κυρίως στην προοδευτική αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης του ανθρώπου (όπως άλλωστε συμβαίνει και με τις περισσότερες μορφές καρκίνου που προσβάλλουν ασθενείς μεγάλης ηλικίας). Η νόσος εμφανίζεται σε άνδρες με μέσο όρο ηλικίας τα 69 έτη και σε γυναίκες με μέσο όρο ηλικίας τα 71 έτη. Έχουν δε περιγραφεί και σπάνιες περιπτώσεις εμφάνισης της νόσου σε παιδιά. Ο ιστολογικός τύπος του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως φαίνεται να σχετίζεται με την ηλικία του ασθενή, αφού ευνοϊκότερες ιστολογικές μορφές, εμφανίζονται σε νεαρής κυρίως ηλικίας άτομα (<30 ετών). Παρά ταύτα ο κίνδυνος να εξελιχθεί ένα επιφανειακού τύπου καρκίνωμα ουροδόχου κύστεως σε έναν διηθητικού τύπου καρκίνο, είναι ίδιος σε όλες τις ηλικίες[12]. Οι λευκοί παρουσιάζουν διπλάσια συχνότητα εμφάνισης καρκίνου ουροδόχου κύστης σε σύγκριση με τους μαύρους άνδρες. Η διαφορά όμως αυτή περιορίζεται μόνο στα επιφανειακά καρκινώματα και όχι στα διηθητικά.

2.1.2. Θνησιμότητα

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως ευθύνεται για το 2,6% των θανάτων από καρκίνο στον ανδρικό πληθυσμό και το 1,4% στο γυναικείο πληθυσμό[13]. Η θνητότητα των γυναικών θεωρείται δυσανάλογα μεγάλη, ιδίως αν τη συγκρίνουμε με τις υπόλοιπες παραμέτρους της νόσου. Από το 1975 μέχρι και σήμερα έχει καταγραφεί μείωση της θνητότητας κατά 33% περίπου και αυτή αφορά κυρίως τους άνδρες, οι οποίοι έχουν υψηλότερη 5ετή επιβίωση συγκριτικά με τις γυναίκες ασθενείς[14]. Μία τυχαία διάγνωση της νόσου σε ζώντες ασθενείς είναι αρκετά συχνή (πχ. κατά τη διάρκεια μιας διαγνωστικής κυστεοσκόπησης). Αντιθέτως το φαινόμενο αυτό είναι πρακτικά αδύνατο σε υλικά νεκροτομών. Η διαφορά αυτή υποδηλώνει ότι τα καρκινώματα της ουροδόχου κύστεως διαγιγνώσκονται πριν από το θάνατο του ασθενή, κυρίως επειδή το "υποκλινικό" στάδιο της νόσου είναι σχετικά βραχύ.

2.2. Αιτιολογία

2.2.1. Χημικά καρκινογόνα

Η επαγγελματική έκθεση σε χημικά καρκινογόνα υπολογίζεται ότι ευθύνεται για το 20% περίπου των περιπτώσεων καρκίνου ουροδόχου κύστεως[15]. Αυξημένο κίνδυνο να παρουσιάσουν καρκίνο της ουροδόχου κύστεως έχουν οι εργάτες στην πετρελαϊκή βιομηχανία, στην επεξεργασία δέρματος, ελαστικών, χημικών και βαφών, ενώ υπάρχουν και μελέτες όπου αναφέρονται σε υψηλά ποσοστά εμφάνισης της νόσου σε οδηγούς αυτοκινήτων, υδραυλικούς ή ακόμη και σε τηλεφωνητές. Η συσχέτιση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως με τις χρωστικές ανιλίνης είναι γνωστή ήδη από τις αρχές του 20ου αιώνα. Ο καρκινογενετικός ρόλος της 2-ναφθυλαμίνης έχει καταδειχθεί από το 1938, ενώ μελέτες απέδειξαν την ισχυρή συσχέτιση της νόσου με διάφορες αρωματικές αμίνες, όπως βενζιδίνη, τολουϊδίνη, 4-αμινοδιφαινύλη, 4-νιτροδιφαινύλη κλπ. Η μεγάλη λανθάνουσα περίοδος από την έκθεση στον καρκινογόνο παράγοντα μέχρι και την εμφάνιση της νόσου (μπορεί να φτάσει τα 30 – 50 έτη), ουσιαστικά υποδηλώνει ότι ο αιτιολογικός παράγοντας πρέπει να δράσει αθροιστικά για να εκδηλωθεί η νόσος.

Κατά καιρούς έχουν ενοχοποιηθεί και άλλες ουσίες ως αιτιολογικοί παράγοντες του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως[16] όπως οι μεταβολίτες της τρυπτοφάνης, τα νιτρικά άλατα των τροφίμων, καθώς και διάφορα τεχνητά γλυκαντικά όπως η νατριούχος σακχαρίνη και η κυκλαμάτη, χωρίς όμως να υπάρχει αναμφισβήτητη τεκμηρίωση του καρκινογενετικού τους ρόλου. Ισχυρή υποψία πρόκλησης καρκίνου είχε διατυπωθεί και για τον αλκυλιόντα παράγοντα χλωροναφαζίνη, η χρήση της οποίας όμως εγκαταλείφθηκε γρήγορα.

Υπάρχουν όμως και ουσίες, όπως η βιταμίνη Α και η β-καρωτένη, οι οποίες θεωρούνται προστατευτικές έναντι του καρκίνου της κύστης. Άτομα που προσλαμβάνουν με τη διατροφή μόνο μικρές ποσότητες από τις προαναφερόμενες ουσίες, έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν τη νόσο, ενώ έχει αποδειχθεί και πειραματικά ότι η βιταμίνη Α μπορεί να αποτρέψει την ανάπτυξη του καρκίνου που προκαλείται από τα διάφορα χημικά καρκινογόνα[16]. Όλες αυτές οι προαναφερόμενες παρατηρήσεις, αποτέλεσαν τη βάση πάνω στην οποία στηρίχθηκε η χρήση των ρετινοειδών ως δυνητικών χημειοπροστατευτικών παραγόντων σε ασθενείς με ιστορικό επιφανειακού όγκου της ουροδόχου κύστεως.

2.2.2. Κάπνισμα

Η ισχυρή σχέση του καπνίσματος με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως έχει επιβεβαιωθεί πλήρως[17]. Το κάπνισμα υπολογίζεται ότι ευθύνεται για το 25-60% των περιπτώσεων καρκίνων της ουροδόχου κύστεως. Οι καπνιστές φαίνεται να διατρέχουν τετραπλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου από τους μη καπνιστές, ο δε κίνδυνος φαίνεται να σχετίζεται με τον αριθμό των καπνισμένων τσιγάρων ανά έτος (pack/year), τη διάρκεια του καπνίσματος, καθώς και το βαθμό εισπνοής του καπνού. Ενώ δεν έχει αναγνωριστεί ακόμα η υπεύθυνη ουσία για την ανάπτυξη του καρκίνου στους καπνιστές, εν τούτοις καρκινογενετική δράση φαίνεται ότι ασκούν οι νιτροζαμίνες, η 4-αμινοδιφαινύλη, η ο-τολουϊδίνη, η 2-ναφθυλαμίνη, καθώς και οι μεταβολίτες της τριπτοφάνης, οι οποίοι έχουν ανιχνευθεί σε αυξημένες ποσότητες στα ούρα των καπνιστών. Στον καρκινογενετικό μηχανισμό φαίνεται επίσης να συμμετέχουν διάφορα ένζυμα που εμπλέκονται στα

μεταβολικά μονοπάτια των αρωματικών αμινών, όπως η N-ακετυλοτρανσφεράση 2 (NAT2), το κυτόχρωμα P-450 1A2 (CYP 1A2), καθώς και ένζυμα της οικογένειας των τρανσφερασών της γλουταθειόνης και ιδίως η γλουταθιώνη S τρανσφεράση M1 (GSTM1). Το NAT2 είναι το κύριο ένζυμο ακετυλίωσης των αρωματικών αμινών, ορισμένες δε γενετικές ποικιλίες του οδηγούν σε αργή ακετυλίωση και μεγαλύτερη πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου[15]. Το CYP 1A2 συμμετέχει στην απομεθυλίωση των αρωματικών αμινών, ενεργοποιώντας με τον τρόπο αυτό τα διάφορα δυνητικά καρκινογόνα. Τέλος, το GSTM1 συμμετέχει στη διαδικασία αποδόμησης διαφόρων δυνητικά καρκινογόνων ουσιών, όπως το βενζοπυρένιο, η δε έλλειψή του σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου της κύστεως.

Η διακοπή του καπνίσματος φαίνεται να έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της συχνότητας με την οποία εμφανίζεται ο καρκίνος της κύστεως, μια μείωση που πάντως είναι προοδευτική και μακροχρόνια. Όπως υπολογίζεται, χρειάζονται το λιγότερο 20 περίπου χρόνια από τη διακοπή του καπνίσματος, ώστε ο σχετικός κίνδυνος να μειωθεί στα επίπεδα του μη καπνιστή και η περίοδος αυτή είναι πολύ μεγαλύτερη από την αντίστοιχη για τον καρκίνο του πνεύμονα και τις καρδιαγγειακές νόσους.

2.2.3. Τσάϊ και καφές

Η κατανάλωση καφέ και τσαγιού είχε στο παρελθόν κατηγορηθεί ως ένας από τους αιτιολογικούς παράγοντες ανάπτυξης καρκίνου στην ουροδόχο κύστη. Εν τούτοις μεταγενέστερες πειραματικές μελέτες δεν κατάφεραν να αποδείξουν ότι η καφεΐνη μπορεί να ξεκινήσει ή να συντηρήσει και να επαυξήσει κάποια ογκογενετική διαδικασία στην ουροδόχο κύστη. Σήμερα, επομένως, οφείλουμε να δεχθούμε ότι η κατανάλωση καφέ και τσαγιού δεν αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα του καρκίνου του ουροθηλίου[18-20].

2.2.4. Κατάχρηση αναλγητικών

Η κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων αναλγητικών και κυρίως της φαινακετίνης, η οποία έχει παρόμοια χημική δομή με την ανιλίνη, έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκινώματος μεταβατικού

επιθηλίου τόσο στην ουροδόχο κύστη, όσο και στη νεφρική πύελο[15,21]. Πειραματικές μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι η φαινακετίνη προκαλεί αύξηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων του ουροθηλίου και πιθανόν το ίδιο να συμβαίνει και στον άνθρωπο. Πάντως τα πειραματικά δεδομένα είναι μεν ενδεικτικά, αλλά όχι απολύτως αποδεικτικά της αιτιολογικής σχέσης της φαινακετίνης με τον καρκίνο[22].

2.2.5. Χρόνια κυστίτιδα και άλλες λοιμώξεις

Είναι γενικώς αποδεκτό πως η χρόνια φλεγμονή της ουροδόχου κύστεως, μικροβιακής ή μη αιτιολογίας, μπορεί να προκαλέσει καρκίνο. Ειδικότερα οι ασθενείς που φέρουν μόνιμο καθετήρα έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου ουροδόχου κύστεως. Υπολογίζεται ότι το 2-10% των παραπληγικών ασθενών με μόνιμο καθετήρα, θα αναπτύξουν τη νόσο που στο 80% των περιπτώσεων θα είναι πλακώδους επιθηλίου[23].

Η σχιστοσωμίαση (βιλαρζίαση), η οποία οφείλεται στο παράσιτο Schistosoma haematobium[24] και ενδημεί στις βόρειες ακτές της Αφρικής, θεωρείται αιτιολογικός παράγοντας του καρκινώματος εκ πλακώδους επιθηλίου (SCC) της κύστης. Πράγματι η μεγάλη πλειοψηφία των περιπτώσεων ασθενών με καρκίνο ουροδόχου κύστεως σε πάσχοντες από σχιστοσωμίαση, είναι SCC. Το παράσιτο εναποθέτοντας τα ωάριά του σε υποεπιθηλιακές θέσεις δημιουργείται τοπικο-περιοχική φλεγμονώδης αντίδραση που οδηγεί σε μετατροπή του φυσιολογικού μεταβατικού επιθηλίου σε πλακώδες. Το τελευταίο έχει πολύ μεγαλύτερο ρυθμό πολλαπλασιασμού με αποτέλεσμα να παρέχονται περισσότερες ευκαιρίες για αυτόματο γενετικό λάθος που μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη καρκίνου. Στο μηχανισμό της καρκινογέννεσης πιθανά να συμβάλλει και το γεγονός ότι δημιουργούνται διάφορες μεταλλαξιογόνες ουσίες, όπως οι νιτροζαμίνες, με τις οποίες το ουροθήλιο έρχεται σε επαφή για μεγάλο χρονικό διάστημα[25].

Ένας επιπλέον αιτιολογικός παράγοντας που ευθύνεται για την ανάπτυξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως, κυρίως σε γυναίκες, είναι οι υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις[26]. Η ουρολοίμωξη μπορεί να οδηγήσει σε καρκινογένεση εξ αιτίας της μετατροπής των νιτρικών των ούρων σε νιτροζαμίνες, αντίδραση η οποία καταλύεται από την αναγωγάση των

νιτρικών, ένα ένζυμο που παράγεται από πολλά βακτηρίδια. Εξ άλλου, λίθοι οι οποίοι παραμένουν στο ουροποιητικό για μεγάλο χρονικό διάστημα αναφέρεται ότι μπορεί να προκαλέσουν καρκίνο της κύστης, πιθανά επειδή προκαλούν τραυματισμό του ουροθηλίου[27].

Κατά καιρούς έχουν θεωρηθεί ως αιτιολογικοί παράγοντες της καρκινογένεσης του ουροθηλίου, διάφοροι ιοί (όπως HPV, ρετροϊοί, Polyoma ιοί, ιοί της ομάδας του απλού έρπητα, αδενοϊοί κα.). Εκτενής αναφορά της συσχέτισης των διαφόρων ιών με τη νόσο θα γίνει παρακάτω σε ξεχωριστά κεφάλαια, κύριο θέμα άλλωστε της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

2.2.6. Κυκλοφωσφαμίδη

Η χρήση της κυκλοφωσφαμίδης και των διαφόρων χημειοθεραπευτικών παραγόντων έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη καρκίνου του ουροθηλίου, όπως παρουσιάζουν διάφορες κλινικές και πειραματικές μελέτες[28,29]. Ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με τους παράγοντες αυτούς είναι 9 φορές μεγαλύτερος σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Υπεύθυνη για την καρκινογένεση ουσία θεωρείται ο μεταβολίτης ακρολεΐνη. Έχει προταθεί ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου μειώνεται με τη χρήση της ουσίας *mesna*, η οποία θεωρείται προστατευτικός παράγοντας του ουροθηλίου.

2.2.7. Ακτινοβολία της πυέλου

Γυναίκες που υποβάλλονται σε ακτινοθεραπεία για καρκίνο του τραχήλου της μήτρας έχουν 2-4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν ουροθηλιακό καρκίνο και μάλιστα χαμηλής διαφοροποίησης και τοπικά εκτεταμένο[30].

2.2.8. Κληρονομικότητα

Παρά το γεγονός ότι έχουν αναφερθεί περιπτώσεις "οικογενούς" εμφάνισης καρκίνου της κύστεως, εν τούτοις δεν υπάρχουν επιδημιολογικές αποδείξεις κληρονομικότητας της νόσου. Επιπροσθέτως, δεν έχει

επιβεβαιωθεί η ύπαρξη αυξημένου κινδύνου σε άτομα που ανήκουν σε συγκεκριμένο τύπο αντιγόνων ιστοσυμβατότητας ή συγκεκριμένο φαινότυπο ομάδων αίματος[15].

2.3. Μοριακή Βιολογία

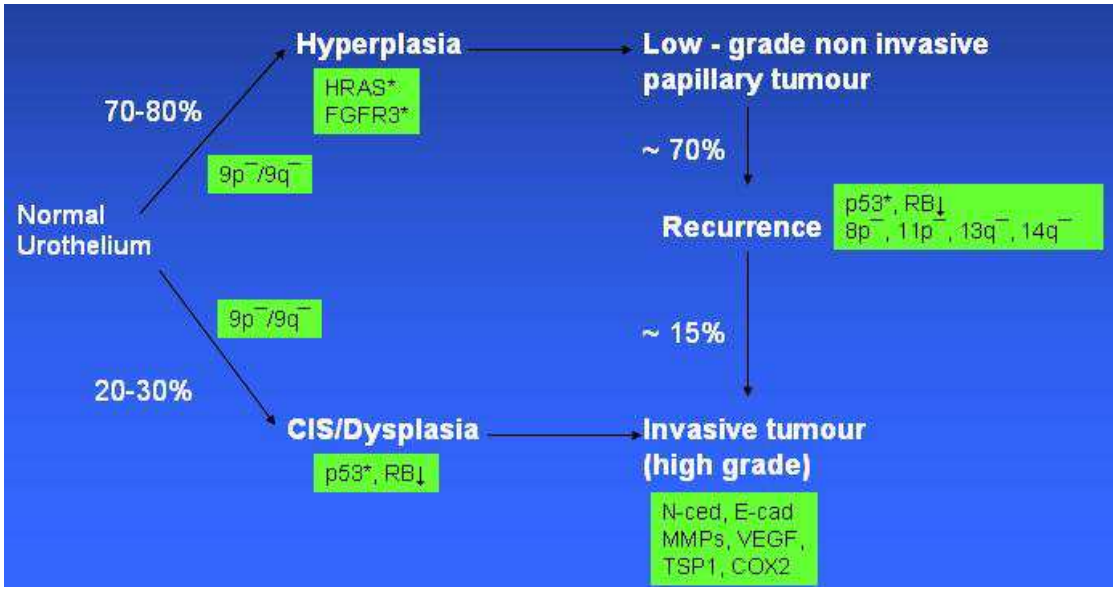
Η διαδικασία μετατροπής ενός φυσιολογικού κυττάρου σε νεοπλασματικό, είναι σύνθετη[15]. Τα τελευταία χρόνια έχει συντελεστεί μεγάλη πρόοδος στην ανάπτυξη διαφόρων διαγνωστικών τεχνικών της μοριακής βιολογίας, πράγμα που οδήγησε στην καλύτερη κατανόηση της γενετικής του καρκίνου και, κατ' επέκταση, παρείχε τη βάση για την όσο το δυνατόν ακριβέστερη πρόβλεψη της κλινικής συμπεριφοράς πολλών νεοπλασμάτων, τα οποία εμφανίζονται στον ανθρώπινο οργανισμό. Η καρκινογένεση του ουροθηλίου καθώς και η εξέλιξή του, όπως συμβαίνει και σε άλλα είδη ιστών, αποτελεί μία πολυπαραγοντική διαδικασία γενετικών μεταβολών των μοριακών μονοπατιών των ρυθμιστικών κυτταρικών λειτουργιών[31]. Επισταμένες έρευνες για αυτό το θέμα (σε πλήρως αναπτυγμένα καρκινώματα), δείχνουν ότι οι κυριώτερες γενετικές μεταβολές συμπεριλαμβάνουν την ενεργοποίηση των ογκογονιδίων και την απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Συνοπτικά, μεταλλάξεις των ογκογονιδίων H-Ras και FGFR3 (fibroplast growth factor receptor 3), ανευρίσκονται στην επιφανειακή μορφή του ουροθηλιακού καρκίνου ενώ απαλείψεις στα ογκοκατασταλτικά γονίδια p53 και RB ανευρίσκονται στη διηθητική μορφή της νόσου. Η απώλεια ετεροζυγωτίας (LOH), στο χρωμόσωμα 9 παρατηρείται και στις δύο μορφές[32,33].

Γενικότερα, στη διαδικασία της καρκινογένεσης εμπλέκονται δύο γενετικοί μηχανισμοί:

1. Ενεργοποίηση ογκογονιδίων.

2. Απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων.

Ως ιδιαίτερος μηχανισμός καρκινογένεσης θεωρείται και η ενίσχυση ή υπερέκφραση ορισμένων φυσιολογικών γονιδίων, τα οποία με τη σειρά τους κωδικοποιούν αυξητικούς παράγοντες (Σχήμα 2.1).



Σχήμα 2.1. Σηματοδοτικό μονοπάτι της καρκινογένεσης του ουροθηλίου.

2.3.1. Ογκογονίδια

Τα ογκογονίδια είναι μεταλλαγμένα φυσιολογικά γονίδια που προάγουν την αύξηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, παρεμβαίνοντας στους φυσιολογικούς μηχανισμούς ελέγχου της ανάπτυξης[34-36]. Τα *πρωτοογκογονίδια* είναι η ανενεργός μορφή των ογκογονιδίων από τα οποία και προέρχονται, μέσα από μια σειρά διεργασιών όπως είναι η μετάλλαξη ή εξάλειψη. Τα πρωτοογκογονίδια κωδικοποιούν μια σειρά προϊόντων που καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα της κυτταρικής δραστηριότητας. Στα προϊόντα αυτά περιλαμβάνονται αυξητικοί παράγοντες και υποδοχείς τους, πρωτεΐνες-διαβιβαστές εξωτερικών σημάτων (P21 ή G), πυρηνικές πρωτεΐνες που ρυθμίζουν το DNA κλπ. Η διαταραχή της πολυγονιδιακής φύσης του καρκίνου της ουροδόχου κύστης μέσω ενεργοποίησης διαφόρων ογκογονιδίων όπως τα c-myc, c-erbB2, H-RAS, κα., έχει μελετηθεί εκτενώς.

2.3.1.α. H-ras

Τα γονίδια της οικογένειας ras (H-ras, K-ras, N-ras), είναι μέρη μιας πολυγονιδιακής οικογένειας που κωδικοποιεί μια ομάδα πρωτεϊνών, γνωστών με το όνομα P21 ή G[15]. Αυτές οι πρωτεΐνες θεωρούνται μεταβιβαστές σημάτων από υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας στο κυτταρόπλασμα, όπου ειδικά ένζυμα (φωσφολιπάσες) παράγουν ένα "δεύτερο μήνυμα" που οδηγεί σε αύξηση του κυττάρου. Σημειακή μετάλλαξη των γονιδίων ras οδηγεί σε υπερπαραγωγή ή αλλαγή της δομής των G πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την υπερδιέγερση των φωσφολιπασών και τελικά την ανεξέλεγκτη κυτταρική αύξηση. Η οικογένεια των ογκογονιδίων RAS[37,38] (H-, K-, και N- RAS) αποτελεί μία από τις πιο συχνά ανιχνεύσιμες οικογένειες που επάγουν την μεταλλαγή γονιδίων σε ανθρώπινους συμπαγείς όγκους. Οι H-ras (Harvey RAS) μεταλλάξεις έχουν αναφερθεί στο μελάνωμα, στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης, του θυρεοειδούς και των μαστών. Οι K-ras (Kristen Ras) μεταλλάξεις έχουν βρεθεί επίσης στον ουροθηλιακό καρκίνο, στον καρκίνο των ωοθηκών, του θυρεοειδούς, του πνεύμονα, του παχέος εντέρου και του ορθού, του παγκρέατος, του νευροβλαστώματος, του ραβδομυοσαρκώματος και στην οξεία μη λεμφοκυτταρική λευχαιμία. Τέλος, οι N-ras (neuroblastoma) μεταλλάξεις περιγράφονται και αυτές στο μελάνωμα, στον καρκίνο του θυρεοειδούς, στα τερατοκαρκινώματα, στα ινοσαρκώματα, στο νευροβλάστωμα, στο ραβδομυοσάρκωμα, στο λέμφωμα Burkitt, στην οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία, στη λευχαιμία Τ κυττάρων και στη χρόνια μυελογενή λευχαιμία[39-44].

Στον ουροθηλιακό καρκίνο τα RAS ογκογονίδια παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνισή του. Όλα τα μέλη της οικογένειας αυτής κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη την p21 με δραστηριότητα GTPάσης. Η πρωτεΐνη p21 εντοπίζεται στην εσωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης και συμμετέχει στη μεταγωγή σημάτων του πυρήνα[53,54]. Οι υπεύθυνες μεταλλάξεις για την ενεργοποίηση του ογκογονιδίου H-RAS περιλαμβάνουν την αντικατάσταση ενός νουκλεοτιδίου συνήθως στα κωδικώνια 12 (54%), 13 (9%) ή 61 (34.5%)[45] και συντελούν στην ενεργοποιημένη σύνθεση της p21 με αποτέλεσμα τη συνεχή μεταβίβαση μηνυμάτων για κυτταρική αύξηση[44,46]. Επιπροσθέτως, η ενεργοποίηση των RAS ογκογονιδίων συμβαίνει και μέσω ποσοτικών αλλαγών, οπώς η υπερέκφρασή τους και ακόμη και η υπερέκφραση σε μία

φυσιολογική p21 RAS μπορεί να θεωρείται καρκινογόνα[47,48]. Σε μοριακό επίπεδο η ενεργοποίηση των RAS ογκογονιδίων πρώτα ανακαλύφθηκε στην ανθρώπινη κυτταρική σειρά της ουροδόχου κύστεως T24 όπου η μόνη μετάλλαξη που βρέθηκε ήταν η υποκατάσταση της γλυκίνης σε βαλίνη (Gly σε Val) στη δεύτερη θέση στο κωδικόνιο 12 του H-RAS στο χρωμόσωμα 11p15.1[49,50].

Υπάρχει στη βιβλιογραφία ένα ευρύ φάσμα όσον αφορά στη συχνότητα των μεταλλάξεων, μόνο του H-RAS στον ουροθηλιακό καρκίνο, που μπορεί να κυμαίνονται από 0 έως το 70%. Η διακύμανση αυτή μπορεί να οφείλεται στη διαφορετικότητα των δειγμάτων των όγκων ή και σε διαφορετικές τεχνικές μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν. Κατά γενική ομολογία υπάρχει συμφωνία μεταξύ των διαφόρων μελετών, ότι η συχνότητα των μεταλλάξεων είναι της τάξης του 10%-20%[51].

2.3.1.β. c-myc

Ο ογκογενετικός ρόλος του c-myc έχει επιβεβαιωθεί σε πολλούς τύπους καρκίνου[15]. Το ογκογονίδιο αυτό προάγει την κυτταρική διαίρεση, αλλά αναστέλλει την κυτταρική διαφοροποίηση. Τελικό αποτέλεσμα είναι ένας μεγάλος πληθυσμός αδιαφοροποίητων κυττάρων με ικανό πολλαπλασιαστικό δυναμικό που είναι ιδιαίτερα ευάλωτος στην επίδραση οποιουδήποτε ογκογόνου παράγοντα. Αυξημένη έκφραση του c-myc έχει συσχετιστεί με υψηλότερο στάδιο και βαθμό κακοήθειας (grade), καθώς και αυξημένη πιθανότητα υποτροπής και διηθητικής εξέλιξης του καρκίνου της κύστεως.

2.3.1.γ. erbB-1, erbB-2

Ιδιαίτερος καρκινογενετικός μηχανισμός θεωρείται η ενίσχυση ή υπερέκφραση ορισμένων φυσιολογικών γονιδίων, τα οποία κωδικοποιούν αυξητικούς παράγοντες ή τους υποδοχείς τους[15]. Οι αυξητικοί παράγοντες είναι πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους που προάγουν την κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό. Ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor receptor, EGF-r), ο οποίος κωδικοποιείται από το πρωτο-ογκογονίδιο c-erbB-1, εκφράζεται φυσιολογικά

μόνο στα κύτταρα της βασικής στιβάδας του ουροθηλίου. Με τον EGF-r συνδέεται ο EGF που εκκρίνεται στα ούρα και με τον τρόπο αυτό η ανάπτυξη του ουροθηλίου είναι κανονική και ελεγχόμενη. Στον καρκίνο αντίθετα, ο EGF-r υπερεκφράζεται σε όλες τις στοιβάδες. Υπάρχουν δηλαδή πολύ περισσότεροι υποδοχείς στο ουροθήλιο για τη σύνδεση του EGF, με τελικό αποτέλεσμα το γρήγορο και ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων και την ανάπτυξη του καρκίνου. Αυξημένη έκφραση του EGF-r έχει συσχετιστεί με υψηλότερο νεοπλασματικό στάδιο και grade, αυξημένη θνητότητα, μικρότερο διάστημα μέχρι την υποτροπή, αλλά και υψηλότερη συχνότητα υποτροπής και διηθητικής εξέλιξης του επιφανειακού καρκίνου. Στο διηθητικό καρκίνο, πάντως, τέτοια συσχέτιση δεν έχει τεκμηριωθεί. Το γονίδιο erbB-2 κωδικοποιεί ένα διαμεμβρανικό υποδοχέα ομόλογο του EGF-r[15]. Σε ορισμένους όγκους της κύστης παρατηρήθηκε ενίσχυση του γονιδίου erbB-2 και υπερέκφραση του πρωτεϊνικού του παραγώγου p-185. Πάντως, υπερέκφραση του p-185 ανιχνεύεται και σε όγκους χωρίς ενίσχυση του erbB-2, χωρίς να έχει διευκρινιστεί ο μοριακός μηχανισμός που προκαλεί αυτό το φαινόμενο.

2.3.2. Ογκοκατασταλτικά γονίδια (tumour suppressor genes, TSGs)

Η λειτουργία των ογκοκατασταλτικών γονιδίων έγκειται στην προάσπιση των φυσιολογικών κυτταρικών λειτουργιών, τα οποία όταν απενεργοποιούνται προάγουν τη διαταραχή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και την ανάπτυξη νεοπλασιών[15]. Πολλά TSGs έχουν αναγνωριστεί ως αναμφισβήτητοι αιτιολογικοί παράγοντες διαφόρων μορφών καρκίνου. Για να προκληθεί καρκίνος από την απενεργοποίηση ενός TSGs θα πρέπει η πρωτεΐνη, την οποία το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί, να καταστεί μη λειτουργική. Αυτό προϋποθέτει την με οποιοδήποτε μηχανισμό αδρανοποίηση και των δύο αλληλιών του γονιδίου. Κυτταρογενετικές μελέτες σε διάφορους τύπους καρκινικών κυττάρων έχουν δείξει έλλειψη του ενός από τα δύο αλλήλια που υπάρχουν σε φυσιολογικά κύτταρα, φαινόμενο που ονομάζεται *απώλεια της ετεροζυγωτίας (loss of heterozygosity, LOH).* Η LOH θεωρείται απόδειξη της απενεργοποίησης ενός TSG, αφού στο απολεσθέν τμήμα του χρωμοσώματος βρίσκεται η θέση εντόπισης αυτού του συγκεκριμένου TSG.

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια που έχουν μελετηθεί στην ουροδόχο κύστη είναι κυρίως το p53 και το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (Rb).

2.3.2.α. p53 γονίδιο

Το γονίδιο p53 εντοπίζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 (17p13.1) και είναι το συχνότερα ανευρισκόμενο μεταλλαγμένο γονίδιο στον ανθρώπινο καρκίνο[15]. Κωδικοποιεί μια πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη, η οποία παρεμβαίνει στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

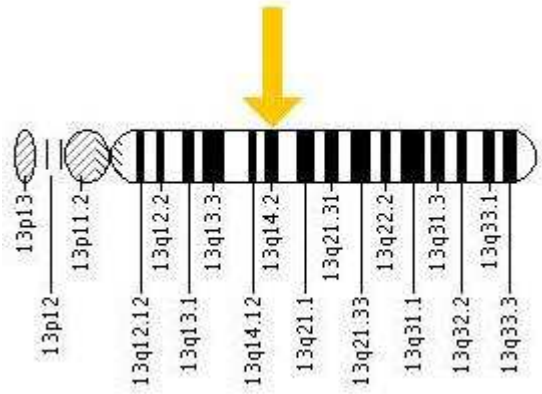
Η φυσιολογική πρωτεΐνη p53 (wild type) στη φάση G1 συσσωρεύεται στο κυτταρόπλασμα, ενώ κατά την έναρξη της φάσης αναδιπλασιασμού του DNA (φάση S) εισέρχεται στον πυρήνα, όπου παραμένει για 3 περίπου ώρες, για να συσσωρευτεί στη συνέχεια εκ νέου στο κυτταρόπλασμα. Με τον τρόπο αυτόν προκαλεί καθήλωση των κυττάρων στη φάση G1, πριν δηλαδή το κύτταρο εισέλθει στη φάση S, παρέχοντας έτσι περισσότερο χρόνο για τη διόρθωση τυχόν γενετικής βλάβης.

Η άγριου τύπου (wild type) p53 πρωτεΐνη υπάρχει στα περισσότερα κύτταρα, αλλά είναι ασταθής και έχει σχετικά μικρό χρόνο ημιζωής (περίπου 20-30 λεπτά), με αποτέλεσμα να μην ανιχνεύεται με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους. Αντιθέτως η μεταλλαγμένη (mutant) p53 έχει παρατεταμένο χρόνο ημιζωής (περίπου 6 ώρες), με αποτέλεσμα τα επίπεδά της στα μεταλλαγμένα κύτταρα να είναι περίπου εκατονταπλάσια και έτσι να καθίσταται ευκολότερη η ανίχνευσή της. Η μεταλλαγμένη p53, όχι μόνο δεν έχει τη φυσιολογική δραστηριότητα της wild type p53, αλλά δρα και ως αναστολέας της. Μελέτες δε έχουν δείξει ότι ο διηθητικός καρκίνος της ουροδόχου κύστεως παρουσιάζει σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα μεταλλάξεων του p53, σε σχέση με τον επιφανειακό. Το εύρημα αυτό τεκμηριώνει το σημαντικό ρόλο της απενεργοποίησης του p53 στην ογκογενετική διαδικασία του διηθητικού καρκίνου. Σε ποσοστό περισσότερο από 40% των διηθητικών όγκων ανευρίσκονται παρανοηματικές μεταλλάξεις (missense mutations) και σχετίζονται με την εξέλιξη της νόσου και την πτωχή επιβίωση των ασθενών[52-54]. Οι Goebell και συν. ανέλυσαν 26 μελέτες από 38 κέντρα όπου διαπίστωσαν ότι η αυξημένη έκφραση του p53 εμφανίζει στενή συσχέτιση με

όγκους υψηλού σταδίου και grade καθώς και με την εξέλιξη της νόσου σε T1 και σε διηθητικούς όγκους[55].

2.3.2.β. Rb γονίδιο

Το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (Rb) βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 13 (13q14.2) και κωδικοποιεί μια πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη που ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο[15] (Σχήμα 2.2). Η πρωτεΐνη αυτή αποτελεί τμήμα του συμπλέγματος E_2F, το οποίο αναστέλλει τη μεταγραφή του DNA, υφίσταται δε κυκλική αλλαγή στη φωσφορυλίωσή της ανάλογα με τη φάση του κυτταρικού κύκλου (υποφωσφορυλίωση στις φάσεις G_0 και G_1, υπερφωσφορυλίωση στις φάσεις S και M)[56,57]. Μετάλλαξη του Rb γονιδίου οδηγεί σε απενεργοποίηση της p110 Rb και επιτρέπει την ευκολότερη είσοδο του κυττάρου στη φάση S, επιτείνοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Απώλεια του Rb γονιδίου παρατηρείται τόσο σε επιφανειακούς, όσο και σε διηθητικούς όγκους της κύστεως. Μελέτες δε έχουν δείξει ότι οι Rb-αρνητικοί επιφανειακοί όγκοι εξελίσσονται συχνότερα σε διηθητικού τύπου καρκίνους, από ότι οι Rb-θετικοί. Εξ άλλου, στο διηθητικό καρκίνο, απώλεια του Rb γονιδίου έχει συσχετιστεί με υψηλότερη συχνότητα υποτροπής μετά την κυστεκτομή, καθώς και μικρότερη επιβίωση[58,59].



Σχήμα 2.2: Το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (Rb).

2.3.3. Άλλες χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Εκτός από τις αλλαγές στην έκφραση των ογκογονιδίων καθώς και των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, στον καρκίνο της κύστης εμπλέκονται και άλλα γενετικά συμβάματα[15]. Η απώλεια της ετεροζυγωτίας και γενικά η απώλεια γενετικού υλικού από το χρωμόσωμα 9, θεωρείται ως η αρχική γενετική βλάβη στην ανάπτυξη των χαμηλής κακοήθειας επιφανειακών όγκων της κύστης[60]. Είναι πιθανό ότι στο χρωμόσωμα 9 βρίσκονται γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες p15 και p16, οι οποίες αναστέλλουν τη φωσφορυλίωση της p110 Rb και, κατ' επέκταση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Αντίθετα, συχνή στο CIS και τους διηθητικούς όγκους είναι η ανεύρεση μεταλλάξεων του p53, ένδειξη ότι υπάρχουν δύο διαφορετικοί μοριακοί-γενετικοί δρόμοι για την ανάπτυξη επιφανειακού ή διηθητικού καρκίνου της ουροδόχου κύστεως[61-62].

2.4. Ιστολογία του ουροθηλίου και προκαρκινικές καταστάσεις

2.4.1. Φυσιολογικό επιθήλιο

Ο βλεννογόνος της ουροδόχου κύστεως αποτελείται από μεταβατικό επιθήλιο (*ουροθήλιο*) και *χόριο*[63,64]. Το ουροθήλιο απαρτίζεται από 3-7 σειρές κυττάρων, ανάλογα με το βαθμό διάτασης της ουροδόχου κύστης. Το κατώτερο στρώμα αποτελείται από τα βασικά κύτταρα, τα οποία άπτονται της βασικής μεμβράνης και έχουν μεγάλη ικανότητα πολλαπλασιασμού. Το κορυφαίο τμήμα αποτελείται από μεγάλα εξαγωνικά κύτταρα (umbrella-like) που είναι ενωμένα μεταξύ τους με ισχυρούς δεσμούς, σχηματίζοντας ένα φραγμό μεταξύ των ούρων και του υγρού των ιστών. Ο φραγμός αυτός φαίνεται ότι αφορά κυρίως το νερό και λιγότερο τα διάφορα ιόντα. Στη δημιουργία του φραγμού συμβάλλει και ένα στρώμα από γλυκοζαμινογλυκάνες (GAG) που καλύπτει ως ένα λεπτό προστατευτικό φιλμ το στρώμα των κορυφαίων κυττάρων. Διακοπή αυτού του στρώματος αυξάνει τη διαβατότητα του ουροθηλίου στην ουρία και σε άλλες ουσίες και έχει συσχετιστεί με διάφορες φλεγμονώδεις παθήσεις, όπως είναι η διάμεση κυστίτιδα.

Τα κύτταρα του ουροθηλίου εμφανίζουν πολικότητα, υπό την έννοια του κάθετου προσανατολισμού των πυρήνων τους προς τη βασική

μεμβράνη[65]. Η απώλεια της πολικότητας των κυττάρων σχετίζεται με δυσπλασία ή καρκίνωμα in situ (CIS).

Ο υποβλεννογόνιος χιτώνας[66] περιέχει μια στιβάδα μυϊκών ινών, την *υποβλεννογόνια μυϊκή στιβάδα,* η διάκριση της οποίας από τον αληθή μυϊκό χιτώνα είναι ιδιαίτερα σημαντική στην ορθή παθολογοανατομική σταδιοποίηση του καρκίνου της κύστεως.

2.4.2. Υπερπλασία

Με τον όρο *υπερπλασία* υποδηλώνεται η αύξηση των κυτταρικών στρωματώσεων του ουροθηλίου, χωρίς όμως να παρατηρείται αλλαγή ή απώλεια του προσανατολισμού των κυττάρων[64]. Σύμφωνα με την ταξινόμηση WHO/ISUP του 1998, η υπερπλασία διακρίνεται σε *επίπεδη* και *θηλώδη.* Η θηλώδης υπερπλασία έχει συσχετιστεί με προηγούμενη ή ταυτόχρονη ανάπτυξη θηλώδους όγκου στην ουροδόχο κύστη, χωρίς όμως να έχει διευκρινιστεί η ακριβής σχέση μεταξύ των δύο αυτών καταστάσεων.

2.4.3. Άτυπη υπερπλασία (ατυπία)

Είναι η επιθηλιακή υπερπλασία που συνοδεύεται από ανωμαλίες του πυρήνα ή και διαταραχή στη διάταξη των κορυφαίων κυττάρων. Ατυπία του ουροθηλίου σε παρακείμενες ενός επιφανειακού όγκου θέσεις αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης διηθητικού όγκου στο μέλλον κατά 35-40%[65].

2.4.4. Δυσπλασία

Το δυσπλαστικό επιθήλιο χαρακτηρίζεται από ιστολογική εικόνα που είναι ενδιάμεση μεταξύ του φυσιολογικού επιθηλίου και του καρκινώματος *in situ*: οι πυρήνες είναι μεγάλοι και στρογγυλοί και τα κύτταρα εμφανίζουν απώλεια του προσανατολισμού τους[15]. Δεν υπάρχουν όμως πολλές μιτώσεις και ο αριθμός των κυτταρικών στρωμάτων του ουροθηλίου είναι φυσιολογικός. Στο παρελθόν, προτάθηκε η διάκριση της δυσπλασίας σε ήπια, μέτρια και σοβαρή, στην ταξινόμηση όμως της WHO/ISUP του 1998 τέτοια διάκριση δεν

προβλέπεται. Στην ταξινόμηση αυτή, ως δυσπλασία και CIS ορίζονται η χαμηλής και υψηλής κακοήθειας ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία αντίστοιχα.

Η συνύπαρξη δυσπλασίας (όπως και ατυπίας) σε παρακείμενες ενός όγκου θέσεις σχετίζεται με αυξημένο ρυθμό υποτροπής της νόσου. Εξ άλλου, συνοδός δυσπλασία ή και CIS αυξάνει την πιθανότητα μετατροπής ενός επιφανειακού όγκου σε διηθητικό.

2.4.5. Μεταπλασία

Ως μεταπλασία ορίζεται η κατάσταση κατά την οποία παρατηρείται κατά τόπους αλλαγή του ουροθηλίου από μεταβατικό σε πλακώδες (*πλακώδης μεταπλασία)* ή σε αδενικό (*αδενική μεταπλασία)*[15]. Πλακώδης μεταπλασία (πιθανά ορμονικής αιτιολογίας) παρατηρείται φυσιολογικά στην περιοχή του κυστικού τριγώνου αρκετών γυναικών, αλλά και στο 10% των υγιών ανδρών. Μολονότι έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η πλακώδης μεταπλασία μπορεί να είναι προκαρκινωματώδης βλάβη, φαίνεται ότι όταν δε συνοδεύεται από κυτταρική ατυπία ή εκσεσημασμένη κερατινοποίηση, αποτελεί καλοήθη κατάσταση και στα δύο φύλα.

2.4.6. Φωλεές του von Brunn

Οι φωλεές του von Brunn αποτελούν νησίδια επιθηλιακών κυττάρων στο χόριο, πιθανόν εξ αιτίας πολλαπλασιασμού και διείσδυσης των βασικών κυττάρων προς τα κάτω[15]. Τα νησίδια μπορεί να συνδέονται με το ουροθήλιο (καταδύσεις) ή να είναι αποσπασμένα από αυτό. Οι φωλεές του von Brunn απαντώνται φυσιολογικά στο 89% των ουροδόχων κύστεων υγιών ατόμων, ενώ υπάρχουν ως φυσιολογική παραλλαγή του επιθηλίου και στην προστατική ουρήθρα. Η κλινική σημασία της ύπαρξής τους παραμένει άγνωστη.

2.4.7. Κυστική κυστίτιδα

Η κατάσταση αυτή μοιάζει με τις φωλέες του von Brunn, με τη διαφορά όμως ότι το επιθήλιο στο κέντρο της φωλέας έχει υποστεί ηωσινοφιλική

νέκρωση[15]. Παρατηρείται στο 60% των φυσιολογικών ουροδόχων κύστεων. Είναι δε τελείως διαφορετική από τη *λεμφοζιδιακή κυστίτιδα*, η οποία χαρακτηρίζεται από την υποβλεννογόνια ανάπτυξη λεμφοζιδίων εξ αιτίας χρόνιας φλεγμονής μικροβιακής αιτιολογίας.

2.4.8. Αδενική κυστίτιδα

Είναι ίδια με την κυστική κυστίτιδα, με τη διαφορά ότι εδώ συνυπάρχει και αδενική μεταπλασία του μεταβατικού επιθηλίου[15,66]. Θεωρείται πρόδρομη μορφή του αδενοκαρκινώματος της κύστεως.

2.4.9. Νεφρογενές αδένωμα

Πρόκειται περί μιας σπάνιας αλλοίωσης, η οποία απαντάται συχνότερα στους άνδρες και που ιστολογικά αποτελείται από στοιχεία που προσομοιάζουν με τα νεφρικά αθροιστικά σωληνάρια[15]. Από τη μικροσκοπική εικόνα ελλείπει η πυρηνική ατυπία ή η έντονη μιτωτική δραστηριότητα. Το νεφρογενές αδένωμα θεωρείται είδος μεταπλασίας του ουροθηλίου ως απάντηση στην επίδραση διαφόρων παραγόντων.

2.4.10. Λευκοπλακία

Ως λευκοπλακία ορίζεται η υπερπαραγωγή κερατίνης ουσίας σε εντοπισμένη περιοχή ενός βλεννογόνου[15]. Στην περιοχή αυτή παρατηρείται όλη η εξέλιξη των πλακωδών κυττάρων, μέχρι του σχηματισμού κερατίνης, όπως ακριβώς συμβαίνει στην επιδερμίδα. Θεωρείται προκαρκινωματώδης κατάσταση. Η ανεύρεσή της στην ουροδόχο κύστη είναι αρκετά συχνή σε περιπτώσεις λιθίασης, σχιστοσωμίασης, μόνιμων καθετήρων ή χρόνιας κυστίτιδας. Η λευκοπλακία της ουροδόχου κύστεως είναι πιθανόν να εξελιχθεί σε καρκίνωμα πλακώδους επιθηλίου στο 20% των ασθενών.

2.4.11. Μετεγχειρητικό ατρακτοκυτταρικό οζίδιο ή ψευδοσάρκωμα

Είναι βλάβη που μπορεί να αναπτυχθεί σε διάστημα αρκετών μηνών, μετά από κάποιο χειρισμό στο κατώτερο ουροποιητικό ή ακόμα και μετά από μία φλεγμονή, εξ αιτίας αντιδραστικού πολλαπλασιασμού μεσεγχυματογενών κυττάρων του υποστρώματος[15]. Η βλάβη αυτή συχνά συγχέεται με κακοήθη νεοπλάσματα του συνδετικού ιστού (πχ. λειομυοσαρκώματα).

2.4.12. Ανάστροφο θήλωμα

Το ανάστροφο θήλωμα αποτελεί καλοήθη βλάβη, η οποία συχνά αναπτύσσεται ως αποτέλεσμα χρόνιας φλεγμονής ή υποκυστικού κωλύματος[15,65,66]. Εντοπίζεται συνήθως στο τρίγωνο ή τον αυχένα της ουροδόχου κύστεως. Δημιουργείται όταν η ανάπτυξη ενός θηλώματος γίνεται ενδοφυτικά (δηλαδή προς το ινομυώδες στρώμα της κύστης). Το υπερκείμενο ουροθήλιο είναι φυσιολογικό και έτσι το ανάστροφο θήλωμα φαίνεται μακροσκοπικά σαν μικρό επηρμένο οζίδιο και όχι σαν εξωφυτικός όγκος. Η κακοήθης εξαλλαγή ενός ανάστροφου θηλώματος είναι σπάνια.

2.5. Παθολογική Ανατομική

Η συντριπτική πλειοψηφία των όγκων της ουροδόχου κύστης είναι επιθηλιακής προέλευσης και η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) συνιστά την κατάταξή τους σε 4 βασικούς ιστολογικούς τύπους: καρκίνωμα μεταβατικού επιθηλίου, καρκίνωμα πλακώδους επιθηλίου, αδενοκαρκίνωμα και αδιαφοροποίητο καρκίνωμα[67]. Σε αυτές θα πρέπει να προστεθούν και οι μικτές μορφές, καθώς επίσης και μια σειρά σπάνιων όγκων επιθηλιακής και μη προέλευσης.

2.5.1. Καρκίνωμα μεταβατικού επιθηλίου (transitional cell carcinoma, TCC)

Περισσότερο από το 90% των καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία. Τα TCC διαφέρουν από το φυσιολογικό ουροθήλιο κατά το ότι έχουν[15,67]:

- αυξημένο αριθμό στιβάδων με θηλώδη πτύχωση του βλεννογόνου
- απώλεια του προσανατολισμού
- διαταραχή της φυσιολογικής κυτταρικής ωρίμανσης από τα βασικά προς τα κορυφαία στρώματα
- παρουσία γιγαντοκυττάρων
- διαταραχή της σχέσης πυρήνας/πρωτόπλασμα
- εμφανές πυρήνιο
- συσσωματώματα (clumping) χρωματίνης
- αυξημένο αριθμό μιτώσεων.

Το TCC ακολουθεί πολλά πρότυπα ανάπτυξης: θηλώδες, μη θηλώδες, μικτό και ενδοεπιθηλιακό (in situ). Συνήθως, οι μη θηλώδεις όγκοι είναι και διηθητικοί. Η ανεύρεση εστιών μετάπλασης δεν είναι σπάνια στα καρκινώματα μεταβατικού επιθηλίου: στο 20% των περιπτώσεων ανευρίσκονται εστίες πλακώδους και στο 7% αδενικής μετάπλασης.

2.5.1.α. Ιστολογικός βαθμός κακοήθειας (grade) του TCC

Για την εκτίμηση του ιστολογικού βαθμού κακοήθειας των όγκων του ουροθηλίου προτάθηκαν στο παρελθόν πολλά συστήματα. Μέχρι και τη δεκαετία του 1960 τα χρησιμοποιούμενα συστήματα ταξινομούσαν τους όγκος σε 4 βαθμούς κακοήθειας. Το 1973 ο Mostofi[68] πρότεινε ένα σύστημα ταξινόμησης σύμφωνα με το οποίο οι όγκοι της ουροδόχου κύστης, ανάλογα με το βαθμό της αναπλαστικότητας των κυττάρων τους, διακρίνονται σε θηλώματα (grade 0) και σε καρκινώματα (grades I, II, III).

Ως *θήλωμα (papilloma)* ορίζεται ένας μονήρης θηλωματώδης όγκος που περιέχει όχι περισσότερα από 7 στρώματα κυττάρων φυσιολογικού μεταβατικού επιθηλίου, τα οποία καλύπτουν έναν ινοαγγειακό μίσχο. Σύμφωνα με αυτόν τον ορισμό, τα θηλώματα είναι καλοήθεις βλάβες, υπάρχει όμως μεγάλη αμφισβήτηση κατά πόσον υφίστανται στην πραγματικότητα ή είναι (τουλάχιστον μερικά από αυτά) TCC grade I. Από κλινική άποψη αυτό

δεν φαίνεται να έχει ιδιαίτερη σημασία, γιατί και τα καρκινώματα grade I (ιδίως τα μονήρη) έχουν καλοήθη συμπεριφορά.

Οι 3 βαθμοί κακοήθειας των TCC είναι οι εξής[67,68]:

Grade I (καλώς διαφοροποιημένα) TCC: η ιστολογική τους εικόνα δεν απέχει και πολύ από αυτή του φυσιολογικού ουροθηλίου. Υπάρχει αύξηση του αριθμού των κυτταρικών στιβάδων (πάνω από 7), μικρή διαταραχή της σχέσης πυρήνας/πρωτόπλασμα, σπάνιες μιτώσεις και μικρή διαταραχή της ωρίμανσης των κυττάρων από τα βασικά προς τα κορυφαία στρώματα.

Grade II (μετρίως διαφοροποιημένα) TCC: ο ινοαγγειακός μίσχος είναι πιο παχύς και η διαταραχή της ωρίμανσης από τη βάση προς την κορυφή πιο έντονη. Υπάρχει απώλεια του προσανατολισμού των κυττάρων, μεγαλύτερη αύξηση της σχέσης πυρήνας/πρωτόπλασμα, εμφανές πυρήνιο και περισσότερες μιτώσεις.

Grade III (κακώς διαφοροποιημένα) TCC: στην κατηγορία αυτή δεν υπάρχει διαφοροποίηση των κυττάρων από τη βασική μεμβράνη προς το κορυφαίο στρώμα, υπάρχουν πολλές μιτώσεις, ενώ μέγιστη είναι και η διαταραχή της σχέσης πυρήνας/πρωτόπλασμα.

Η κατάταξη αυτή βασίζεται σε μορφολογικά χαρακτηριστικά και περιέχει έντονο το στοιχείο της υποκειμενικότητας. Ο χαρακτηρισμός του grade είναι ευκολότερος στις περιπτώσεις grade I και grade III καρκινωμάτων (αφού τα ιστολογικά χαρακτηριστικά των κυττάρων βρίσκονται στις "ακραίες" μορφές τους, είτε προς την καλοήθη είτε προς την κακοήθη πλευρά), αυτό όμως δεν ισχύει για τα καρκινώματα ενδιάμεσης κακοήθειας (grade II), τα οποία αποτελούν ετερογενή ομάδα[69,70]. Επειδή παρατηρήθηκε ότι με το σύστημα ταξινόμησης τριών βαθμών κακοήθειας οι περισσότεροι όγκοι ταξινομούνται ως grade II, η WHO/ISUP πρότεινε το 1998 την ταξινόμηση των όγκων της κύστης σε δύο ιστολογικούς βαθμούς κακοήθειας (high grade και low grade), παρ’ ότι αναγνωρίστηκε ότι ο όρος "high grade" καλύπτει ένα ευρύ φάσμα κυτταρικής ατυπίας. Όμως το σύστημα αυτό δεν έτυχε ευρείας αποδοχής και η σύγχρονη τάση είναι η επάνοδος στο σύστημα ταξινόμησης τριών βαθμών.

Ανεξάρτητα από οποιαδήποτε υποδιαίρεση[67], η πλειοψηφία των συγγραφέων δέχεται ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση του grade, τόσο με το στάδιο του όγκου, όσο και με τη συχνότητα εξέλιξής του σε διηθητικό. Πρόοδος (εξέλιξη) της νόσου εμφανίζεται στο 10-20% των ασθενών με όγκο grade I, στο 19-37% των ασθενών με όγκο grade II και στο 33-64% των ασθενών με όγκο grade III. Ισχυρή συσχέτιση φαίνεται ότι υπάρχει και μεταξύ grade και επιβίωσης. Σε όγκους χαμηλής κακοήθειας, η 10ετής επιβίωση φθάνει μέχρι και το 98%, σε αντίθεση με το 35% που παρατηρείται σε όγκους υψηλής κακοήθειας.

2.5.2. Καρκίνωμα in situ (CIS) μεταβατικού επιθηλίου

Είναι ένα χαμηλής διαφοροποίησης, μη διηθητικό καρκίνωμα που εντοπίζεται στο επιθήλιο (flat carcinoma). Αποτελεί αλλοίωση με απρόβλεπτη συμπεριφορά, αλλά με μεγάλο διηθητικό και μεταστατικό δυναμικό και θεωρείται η αρχική φάση στην εξέλιξη του διηθητικού καρκινώματος[70]. Μπορεί να εμφανίζεται μόνο του ή να συνοδεύει πρωτοπαθείς ή υποτροπιάζοντες όγκους της ουροδόχου κύστεως, οποιουδήποτε βαθμού κακοήθειας. Εντοπίζεται κυρίως στο τρίγωνο και τη βάση της κύστεως, γύρω από τα ουρητηρικά στόμια και στον αυχένα και σπανιότερα στο θόλο. Πολλές φορές, CIS ανευρίσκεται και στις φωλεές του von Brunn και αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία διότι οι ενδοκυστικά χορηγούμενοι αντινεοπλασματικοί παράγοντες, αδυνατούν να εισέλθουν σε αυτές τις θέσεις και να επηρεάσουν αποτελεσματικά τη βλάβη. Ουροθηλιακό καρκίνωμα in situ αναφέρεται και σε θέσεις έξω από την ουροδόχο κύστη, όπως στην ουρήθρα, τις σπερματοδόχους κύστεις κλπ. Η ανεύρεση CIS στην προστατική μοίρα της ουρήθρας αναφέρεται μέχρι και σε ποσοστό που αγγίζει το 36%.

Το CIS σπανίως συνοδεύει καλώς διαφοροποιημένους όγκους. Αντίθετα, είναι συχνό σε όγκους χαμηλής διαφοροποίησης. Οι διηθητικοί όγκοι συνοδεύονται από CIS σε ποσοστό μέχρι και 75%. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι ένα μεγάλο ποσοστό καρκινωμάτων in situ παρουσιάζει (όπως και οι διηθητικοί όγκοι) εξάλειψη ή μετάλλαξη του p53, ένδειξη ότι το CIS αποτελεί πρόδρομη μορφή του διηθητικού καρκίνου. Η πιθανότητα μετατροπής ενός CIS σε διηθητικό καρκίνο υπολογίζεται κατά μέσο όρο σε 54%, είναι δε

σημαντικά μεγαλύτερη στο διάχυτο CIS (78%), σε σύγκριση με το εστιακό (8%).

Κλινικά, το CIS εκδηλώνεται κυρίως με ερεθιστικά φαινόμενα (συχνουρία, νυκτουρία, επιτακτική ούρηση), τα οποία μπορεί να οδηγήσουν τη διαγνωστική σκέψη προς άλλες παθήσεις (καλοήθης υπερπλασία του προστάτη, ουρολοίμωξη, διάμεση κυστίτιτδα, νευρογενή κύστη). Παρ' όλα αυτά, το 25% των ασθενών είναι τελείως ασυμπτωματικοί. Όταν υπάρχουν έντονα ερεθιστικά φαινόμενα, το διάστημα μέχρι την εξέλιξη σε διηθητική νόσο είναι μικρότερο. Η κυστεοσκόπηση μπορεί να αποκαλύψει ερυθρότητα ή αυξημένη αγγείωση του βλεννογόνου, καθώς και οιδηματώδεις περιοχές σαν βελούδο, πολλές φορές όμως αρνητική για ευρήματα. Η κυτταρολογική εξέταση των ούρων αποβαίνει θετική στη μεγάλη πλειοψηφία των περιπτώσεων (90% σε πολυεστιακό CIS) και αυτό οφείλεται στη μειωμένη συνοχή μεταξύ των κυττάρων που οδηγεί σε ευκολότερη αποφολίδωσή τους. Η κυτταρομετρία ροής εκπλυμάτων της ουροδόχου κύστεως είναι ακόμη πιο ευαίσθητη ως δοκιμασία και αποβαίνει θετική μέχρι και το 97% των περιπτώσεων. Σήμερα είναι ευρέως αποδεκτό ότι η ενδοκυστική χορήγηση bacillus Calmette-Guerin (BCG) αποτελεί την αρχική προσέγγιση του CIS.

2.5.3. Καρκίνωμα πλακώδους επιθηλίου (squamous cell carcinoma, SCC)

Το καρκίνωμα του πλακώδους επιθηλίου είναι μια επιθετική μορφή του καρκίνου της κύστης με κακή πρόγνωση, αφού συνήθως τη στιγμή της διάγνωσης η νόσος είναι προχωρημένη. Η συχνότητά του είναι ιδιαίτερα αυξημένη σε χώρες όπου ενδημεί η σχιστοσωμίαση, όπως η Αίγυπτος. Πράγματι, ενώ στις χώρες της Δυτικής Ευρώπης και τις ΗΠΑ οι περιπτώσεις SCC αποτελούν το 1-10% όλων των όγκων της κύστεως, στην Αίγυπτο το ποσοστό αυτό ανέρχεται σε 75%. Εκτός από τη σχιστοσωμίαση, ο χρόνιος ερεθισμός της κύστης (από μόνιμο ουροκαθετήρα, λιθίαση, υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις) έχει ενοχοποιηθεί για την ανάπτυξη SCC. Η μορφή αυτή του καρκίνου έχει γενικά συσχετιστεί περισσότερο με την πλακώδη μεταπλασία του ουροθηλίου παρά με το CIS. Η αναλογία πασχόντων ανδρών προς γυναίκες είναι 1,3-1,7/1, μικρότερη δηλαδή από την αντίστοιχη του TCC.

Η θεραπεία του SCC πρέπει να είναι εξ αρχής επιθετική. Συνιστάται ριζική κυστεκτομή (με ή χωρίς προεγχειρητική ακτινοθεραπεία) που θα πρέπει να συνοδεύεται πάντα από ουρηθρεκτομή, λόγω του μεγάλου κινδύνου υποτροπής του καρκινώματος στην ουρήθρα. Η χημειοθεραπεία δεν είναι αποτελεσματική στο SCC.

2.5.4. Αδενοκαρκίνωμα

Τα αδενοκαρκινώματα αποτελούν το 0,5-2% όλων των πρωτοπαθών όγκων της κύστης. Διακρίνονται σε πρωτοπαθή και μεταστατικά[73]. Στα πρωτοπαθή συμπεριλαμβάνονται και τα αδενοκαρκινώματα του ουραχού, τα οποία αποτελούν το 1/3 όλων των αδενοκαρκινωμάτων της κύστης. Ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος μπορεί να συμβεί και σε εντερικά τμήματα που χρησιμοποιούνται στις εντεροκυστεοπλαστικές ή για τη δημιουργία νεοκύστεων.

Τα πρωτοπαθή αδενοκαρκινώματα έχουν συσχετιστεί τόσο με χρόνια φλεγμονή και ερεθισμό της κύστης, όσο και με τη σχιστοσωμίαση (αν και σε μικρότερο βαθμό από το SCC). Ισχυρή συσχέτιση, επίσης φαίνεται ότι υπάρχει και με την αδενική κυστίτιδα. Πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα αναπτύσσεται σε εκστροφή της κύστης και μάλιστα οι όγκοι αυτού του τύπου αποτελούν το 85% όλων των όγκων που αναπτύσσονται σ' αυτή τη σοβαρή συγγενή ανωμαλία. Η αποβολή βλέννης με τα ούρα αποτελεί συχνό σύμπτωμα του αδενοκαρκινώματος, επειδή ο όγκος είναι βλεννοπαραγωγός. Γενικά, τα αδενοκαρκινώματα έχουν πολύ κακή πρόγνωση. Η ριζική κυστεκτομή αποτελεί την αποτελεσματικότερη μέθοδο θεραπείας, ενώ η ακτινοθεραπεία και η χημειοθεραπεία δεν βοηθούν.

Τα *αδενοκαρκινώματα του ουραχού*[75] είναι εξαιρετικά σπάνιοι όγκοι, οι οποίοι εξορμώνται από υπολείμματα του ουραχού στο τοίχωμα της κύστης, γι' αυτό και κυστεοσκοπικά δίνουν την εικόνα υποβλεννογόνιας μάζας στο θόλο. Αν η διήθηση αφορά και το ουροθήλιο, τίθεται θέμα διαφορικής διάγνωσης από το μη προερχόμενο από τον ουραχό πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα. Η πρόγνωση και σε αυτήν την περίπτωση είναι κακή. Θεραπευτικά, η μερική κυστεκτομή με ταυτόχρονη αφαίρεση του ουραχού, του περιτοναίου, της

εγκάρσιας περιτονίας και του πρόσθιου κοιλιακού τοιχώματος, έχει δώσει καλά αποτελέσματα.

Να επισημανθεί ότι σπάνια στην ουροδόχο κύστη αναπτύσσονται μεταστατικά αδενοκαρκινώματα, των οποίων η πρωτοπαθής εστία εντοπίζεται κυρίως στο ορθό, το στόμαχο, τον προστάτη, το μαστό κλπ.

2.5.5. Μικροκυτταρικό καρκίνωμα

Εμφανίζεται με συχνότητα μικρότερη του 1% όλων των όγκων της κύστης[66]. Ο όγκος θεωρείται ότι προέρχεται είτε από κακοήθη εξαλλαγή νευροενδοκρινών κυττάρων που υπάρχουν φυσιολογικά και στην ουροδόχο κύστη, είτε από κάποιο κοινό αρχέγονο μητρικό κύτταρο που έχει τη δυνατότητα διαφοροποίησης σε διάφορους ιστολογικούς τύπους. Είναι όγκος επιθετικός. Οι περισσότερες περιπτώσεις που έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα ήταν σταδίου Τ3. Ο όγκος συχνότερα εντοπίζεται στα πλάγια τοιχώματα και είναι μεγάλος, συμπαγής, άμισχος ή πολυποειδής, με περιοχές νέκρωσης. Η θεραπεία περιλαμβάνει ριζική κυστεκτομή και επικουρική συστηματική χημειοθεραπεία, λόγω του υψηλού μεταστατικού δυναμικού του όγκου. Η πρόγνωση είναι δυσμενής (πενταετής επιβίωση ~8%).

2.5.6. Άλλοι όγκοι

Στην ουροδόχο κύστη έχουν περιγραφεί διάφοροι όγκοι επιθηλιακής και μη προέλευσης[70,71]. Στην πρώτη κατηγορία ανήκει το λαχνωτό αδένωμα, οι καρκινοειδείς όγκοι, το μελάνωμα και το καρκινοσάρκωμα. Το τελευταίο είναι πολύ επιθετικός όγκος που περιέχει τόσο επιθηλιακά, όσο και μεσεγχυματικά στοιχεία. Η πρόγνωση είναι κακή (πενταετής επιβίωση <20%).

Στους μη επιθηλιακούς όγκους περιλαμβάνεται το φαιοχρωμοκύττωμα, το πρωτοπαθές λέμφωμα, καθώς και διάφοροι μεσεγχυματικοί όγκοι (σάρκωμα, λειομυοσάρκωμα, ραβδομυοσάρκωμα κλπ).

2.6. Διάγνωση

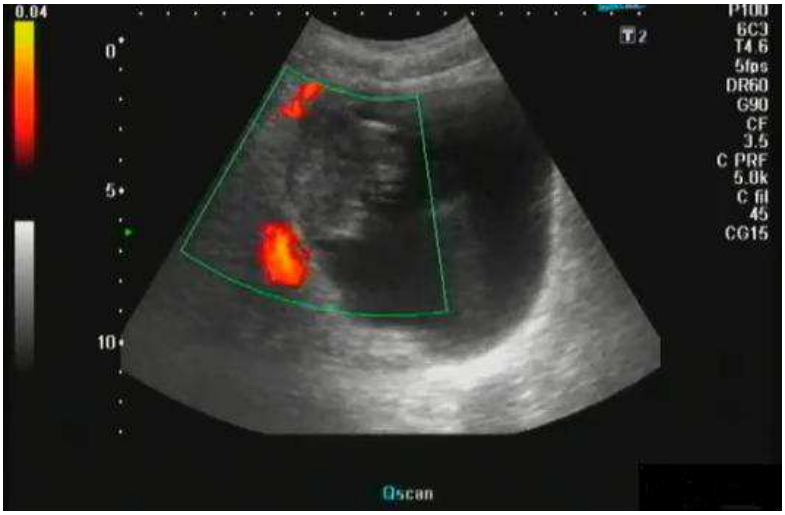
2.6.1. Κλινική εικόνα

Το συχνότερο σύμπτωμα με το οποίο εμφανίζεται το νεόπλασμα της κύστης είναι η *ανώδυνη αιματουρία*, η οποία παρατηρείται στο 85% των ασθενών[15,27]. Η αιματουρία μπορεί να είναι είτε μακροσκοπική, είτε μικροσκοπική, συχνά δε διαλείπουσα, γεγονός που έχει ιδιαίτερη σημασία στη διάγνωση της νόσου, αφού μια αρνητική για αιμοσφαιρίνη γενική εξέταση ούρων, πρακτικά δεν αποκλείει τη νόσο. Συμπτώματα πλήρωσης (ερεθιστικά), όπως *συχνουρία, νυκτουρία ή επιτακτική ούρηση,* είναι συχνότερα σε CIS ή διηθητικό όγκο. Σπανιότερες εκδηλώσεις της νόσου είναι ο *οσφυϊκός πόνος* (είτε από οπισθοπεριτοναϊκές λεμφαδενικές μεταστάσεις, είτε από ουρητηρική απόφραξη), το *οίδημα των κάτω άκρων* και η *ψηλαφητή μάζα* (σε τοπικά προχωρημένη νόσο). Η *απώλεια βάρους* χαρακτηρίζει τα τελικά στάδια της νόσου.

2.6.2. Εργαστηριακή διερεύνηση

2.6.2.α. Υπερηχογράφημα

Ο ρόλος του υπερηχογραφήματος στη διάγνωση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως είναι πολύ σημαντικός, αφού όλοι οι ασθενείς με μακροσκοπική ή μικροσκοπική αιματουρία υποβάλλονται αρχικά σε υπερηχοτομογραφικό έλεγχο[27]. Οι όγκοι της κύστης αναγνωρίζονται σαν υπερηχογενείς μάζες που προβάλλουν στον αυλό (Εικόνα 2.1). Το διακοιλιακό υπερηχογράφημα έχει ευαισθησία 90-92% στη διάγνωση του καρκίνου της κύστεως. Αντίθετα, ο ρόλος του είναι μικρός στη διάγνωση της νόσου στον ουρητήρα. Ακόμη μεγαλύτερη ευαισθησία έχουν το διορθικό και το διουρηθρικό υπερηχογράφημα (91% και 96-100% αντίστοιχα) που όμως δεν χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πράξη[76,77].



Εικόνα 2.1: Διακοιλιακό υπερηχογράφημα όπου εντοπίζεται ο όγκος ουροδόχου κύστεως.

2.6.2.β. Ενδοφλέβια ουρογραφία

Αποτελεί αναντικατάστατη εξέταση στην εκτίμηση ενός ασθενούς με αιματουρία[27]. Η αξία της έγκειται κυρίως στη μελέτη του ανώτερου ουροποιητικού, όπου μπορεί να αποκαλύψει κάποια απόφραξη ή ένα έλλειμμα σκιαγράφησης που είναι δυνατό να οφείλεται σε όγκο. Η ευαισθησία της είναι μικρότερη από αυτήν του υπερηχογραφήματος στη διάγνωση των όγκων της κύστεως. Έλλειμμα σκιαγράφησης ή ασύμμετρη διάταση της κύστης αποτελούν εικόνες ενδεικτικές επιφανειακού ή διηθητικού όγκου, αντίστοιχα. Η ενδοφλέβια ουρογραφία μπορεί ίσως να παραληφθεί σε ασθενείς με πρωτοεμφανιζόμενο όγκο της κύστης, επειδή η πιθανότητα ύπαρξης όγκου στο ανώτερο ουροποιητικό είναι πολύ μικρή. Η εξέταση, όμως, έχει απόλυτη ένδειξη σε περιπτώσεις υποτροπής, αφού τα νεοπλάσματα της νεφρικής πυέλου και του ουρητήρα μπορούν να προκαλέσουν την ανάπτυξη όγκου στην κύστη σε ποσοστό 30-50%.

2.6.2.γ. Κυτταρολογική εξέταση ούρων

Αποτελεί χρήσιμη διαγνωστική μέθοδο κυρίως για την ανίχνευση εκείνων των όγκων της ουροδόχου κύστης που δεν αναγνωρίζονται κυστεοσκοπικά[27]. Βασίζεται στο γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα εμφανίζουν μειωμένη συνοχή και, κατά συνέπεια, αποφολιδώνονται εύκολα με αποτέλεσμα να αναγνωρίζονται στα ούρα από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά

τους (αυξημένο μέγεθος πυρήνα, εμφανές πυρήνιο, αθροίσεις χρωματίνης κλπ.). Η διαγνωστική ικανότητα της κυτταρολογικής εξέτασης των ούρων επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Όγκοι χαμηλής κακοήθειας (καλώς διαφοροποιημένοι), των οποίων τα κύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με ισχυρούς δεσμούς και άρα αποφολιδώνονται λιγότερο, ανιχνεύονται σε σαφώς μικρότερο ποσοστό από ότι οι κακώς διαφοροποιημένοι. Και στους τελευταίους όμως, τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα ανέρχονται σε ποσοστό μέχρι και 20%. Εξ άλλου, η διαγνωστική αξία της εξέτασης αυξάνεται στους μεγάλους όγκους, επειδή αυτοί περιέχουν μεγάλο αριθμό αποφολιδούμενων νεοπλασματικών κυττάρων. Σημειώνεται, ότι η παραμονή των κυττάρων στα ούρα για μεγάλο χρονικό διάστημα οδηγεί στην εκφύλισή τους και, επομένως, τα πρώτα πρωϊνά ούρα δεν αποτελούν κατάλληλο δείγμα για την πραγματοποίηση της εξέτασης.

Η διαγνωστική ακρίβεια της κυτταρολογικής ούρων αυξάνεται από 65% σε 87% όταν, αντί για ένα, εξετασθούν τα τρία δείγματα ούρων. Ψευδώς θετικά αποτελέσματα αναφέρονται σε ποσοστό 1-12% και οφείλονται σε λιθίαση, φλεγμονή, τραύμα ή εξέλκωση του βλεννογόνου της κύστης, χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία, ενδοκυστικές εγχύσεις BCG κλπ. Η αναζήτηση νεοπλασματικών κυττάρων μεταβατικού επιθηλίου μπορεί να γίνει και σε εκπλύματα της κύστης και μάλιστα με πλέον αξιόπιστα αποτελέσματα. Αυτό, γιατί μηχανικοί χειρισμοί που γίνονται για την ανάκτηση των εκπλυμάτων οδηγούν σε αποφολίδωση περισσοτέρων κυττάρων, γεγονός που διευκολύνει την αναγνώριση των νεοπλασματικών.

2.6.2.δ. Κυτταρομετρία ροής

Με τη μέθοδο αυτή μετράται το ποσό του DNA που περιέχεται σε έναν κυτταρικό πλυθησμό. Έτσι, μπορεί να υπολογιστεί η πλοειδικότητα αυτού του πληθυσμού, καθώς και η πολλαπλασιαστική δραστηριότητα των κυττάρων του. Τα κύτταρα βάφονται με μία χρωστική που συνδέεται με το DNA του πυρήνα. Η πρόσπτωση ακτίνας laser έχει ως αποτέλεσμα την εκπομπή φθορισμού, η ένταση του οποίου είναι ανάλογη με το περιεχόμενο ποσό του DNA των κυττάρων. Τα φυσιολογικά κύτταρα περιέχουν σταθερό ποσό DNA στον πυρήνα τους, επειδή έχουν ορισμένο αριθμό χρωματοσωμάτων, είναι

δηλαδή *ευπλοειδικά*. Αντίθετα, τα κύτταρα ενός όγκου μπορεί να είναι είτε ευπλοειδικά (διπλοειδικά ή πολυπλοειδικά), είτε *ανευπλοειδικά* (όταν περιέχουν παθολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων και άρα και μη κανονικό ποσό DNA). Κατ' επέκταση και οι όγκοι χαρακτηρίζονται ως διπλοειδικοί, πολυπλοειδικοί και ανευπλοειδικοί. Η πλοειδικότητα ενός όγκου σχετίζεται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, τόσο με την πιθανότητα υποτροπής και εξέλιξής του, όσο και με την επιβίωση του ασθενούς, αφού οι διπλοειδικοί όγκοι είναι συνήθως καλά διαφοροποιημένοι και άρα έχουν καλή πρόγνωση, σε αντίθεση με τους ανευπλοειδικούς που έχουν συνήθως δυσμενή. Οι τετραπλοειδικοί όγκοι έχουν ενδιάμεση πρόγνωση.

Εκτός από την ανίχνευση ενός ανευπλοειδικού πληθυσμού, με την κυτταρομετρία ροής μπορεί να υπολογιστεί το ποσό των κυττάρων που βρίσκονται στη φάση της σύνθεσης του DNA (φάση S), η οποία αντανακλά την πολλαπλασιαστική δραστηριότητα του κυττάρου. Σε ένα φυσιολογικό κυτταρικό πλυθησμό, τα κύτταρα που βρίσκονται στη φάση S δεν ξεπερνούν το 10%. Η ανεύρεση, επομένως, τέτοιων κυττάρων σε ποσοστό μεγαλύτερο του 10-15% υποδηλώνει την ύπαρξη καρκίνου, αν και πολλές φορές το εύρημα αυτό δεν καταδεικνύεται, ακόμη και σε επιθετικούς όγκους.

Η διαγνωστική ακρίβεια της κυτταρομετρίας ροής είναι περίπου 80%. Το ποσοστό αυτό είναι χαμηλότερο σε όγκους χαμηλής κακοήθειας που συνήθως είναι διπλοειδικοί και συχνά δίνουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Αντίθετα, το CIS και οι υψηλής κακοήθειας όγκοι ανιχνεύονται σε ποσοστό 80-90%. Επομένως, η χρησιμότητα της μεθόδου αφορά κυρίως την ανίχνευση αυτών των όγκων.

2.6.2.ε. Ανάλυση εικόνας (Image Analysis Cytometry)

Με τη μέθοδο αυτή, όπως και με την κυτταρομετρία ροής, ανιχνεύεται η πλοειδικότητα των κυττάρων ενός όγκου[78]. Η ανάλυση εικόνας όμως, θεωρείται πιο ευαίσθητη διαγνωστική μέθοδος και αυτό ισχύει κυρίως για την ανίχνευση όγκων που περιέχουν μικρό αριθμό ανευπλοειδικών κυττάρων ανάμεσα σε μεγάλο αριθμό διπλοειδικών[79-80]. Η κυτταρομετρία ροής ανιχνεύει αυτούς τους όγκους ως διπλοειδικούς (χαμηλή ευαισθησία). Με την ανάλυση της εικόνας όμως, το κάθε κύτταρο εξετάζεται χωριστά και υπολογίζεται η

πλοειδικότητά του ανεξάρτητα από τα άλλα, με τελικό αποτέλεσμα την ακριβέστερη διάγνωση ενός όγκου[81-82]. Παρά ταύτα και η μέθοδος αυτή στερείται ευαισθησίας στους όγκους χαμηλής κακοήθειας.

2.6.2.στ. BTA test

Το BTA test είναι μια δοκιμασία συγκόλλησης (latex agglutination assay), με την οποία είναι δυνατή η ποιοτική ανίχνευση στα ούρα του λεγόμενου "αντιγόνου του όγκου" (bladder tumour antigen) που αποτελείται από συμπλέγματα της βασικής μεμβράνης του ουροθηλίου. Κατά τη φάση της προσκόλλησης ενός όγκου στη βασική μεμβράνη, τα νεοπλασματικά κύτταρα εκκρίνουν πρωτεολυτικά ένζυμα (κολλαγενάσες και λαμινάσες), τα οποία διασπούν τη βασική μεμβράνη σε πολυπεπτιδικά συμπλέγματα μοριακού βάρους 16-165kD που απεκκρίνονται στα ούρα και μπορούν να ανιχνευτούν με το BTA test[83]. Οι αρχικές μελέτες έδειξαν ότι η μέθοδος έχει υψηλή ειδικότητα (96%), αλλά χαμηλή ευαισθησία (40%). Πολυκεντρικές μελέτες έδειξαν ότι η μέθοδος είναι ανώτερη της κυτταρολογικής ούρων. Σε μία από αυτές, η συνολική ευαισθησία του BTA test ήταν 54% (έναντι 28% της κυτταρολογικής ούρων), αλλά στους Ta όγκους, τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 33% και 20%, ενώ στους grade I όγκους ήταν 30% και 20%[83]. Οι προσπάθειες βελτίωσης του test[84,85] οδήγησαν στη δημιουργία των BTA stat και BTA TRAK, τα οποία ανιχνεύουν ένα διαφορετικό αντιγόνο, την πρωτεϊνη *human complement factor-H-related protein (hCFHrp)* που έχει παρόμοια δομή και λειτουργία με τον *human complement factor-H*, αλλά παράγεται μόνο από τα καρκινικά και όχι από τα φυσιολογικά κύτταρα. Το BTA stat[86-88] είναι ποιοτική, ενώ το BTA TRAK είναι ποσοτική μέθοδος (ELISA) ανίχνευσης αυτής της πρωτεϊνης. Η ευαισθησία του BTA stat κυμαίνεται από 65-67% και η ειδικότητά του από 64-72%, ενώ οι αντίστοιχες τιμές για το BTA TRAK είναι 66-72% και 69-75%. Και εδώ όμως, οι καλώς διαφοροποιημένοι όγκοι ανιχνεύονται σε σαφώς μικρότερο ποσοστό[89,90].

2.6.2.ζ. NMP22

Οι NMPs (nuclear matrix proteins) είναι τμήματα του σκελετού του πυρήνα του κυττάρου που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιγραφή και μεταγραφή του DNA, καθώς και στη ρύθμιση της έκφρασης διαφόρων γονιδίων[91]. Η NMP22, ειδικότερα, είναι μία "μιτωτική" πρωτεΐνη που εμπλέκεται στη ρύθμιση της σωστής κατανομής των χρωματιδών στα θυγατρικά κύτταρα. Βρίσκεται τόσο στα φυσιολογικά, όσο και στα καρκινικά κύτταρα του ουροθηλίου, αλλά η ενδοκυττάρια συγκέντρωσή της είναι τουλάχιστον 25πλάσια στα δεύτερα. Με τον κυτταρικό θάνατο, η πρωτεΐνη απελευθερώνεται στα ούρα, όπου μπορεί να ανιχνευτεί ποσοτικά με ELISA. Η χρησιμότητά της ως καρκινικού δείκτη έχει μελετηθεί σε διάφορες ερευνητικές εργασίες[92,93]. Σε πολυκεντρική μελέτη στις ΗΠΑ βρέθηκε, ότι η NMP22 είναι ισχυρός προγνωστικός δείκτης υποτροπής ενός όγκου μετά τη διουρηθρική εκτομή (TURT) με ευαισθησία 100% για τους διηθητικούς και 70% για τους επιφανειακούς όγκους. Αλλά και ως διαγνωστικός δείκτης, η NMP22 παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία (68-91% σε διάφορες μελέτες), η οποία είναι ανώτερη της κυτταρολογικής ούρων[94].

2.6.2.η. Τελομεράση

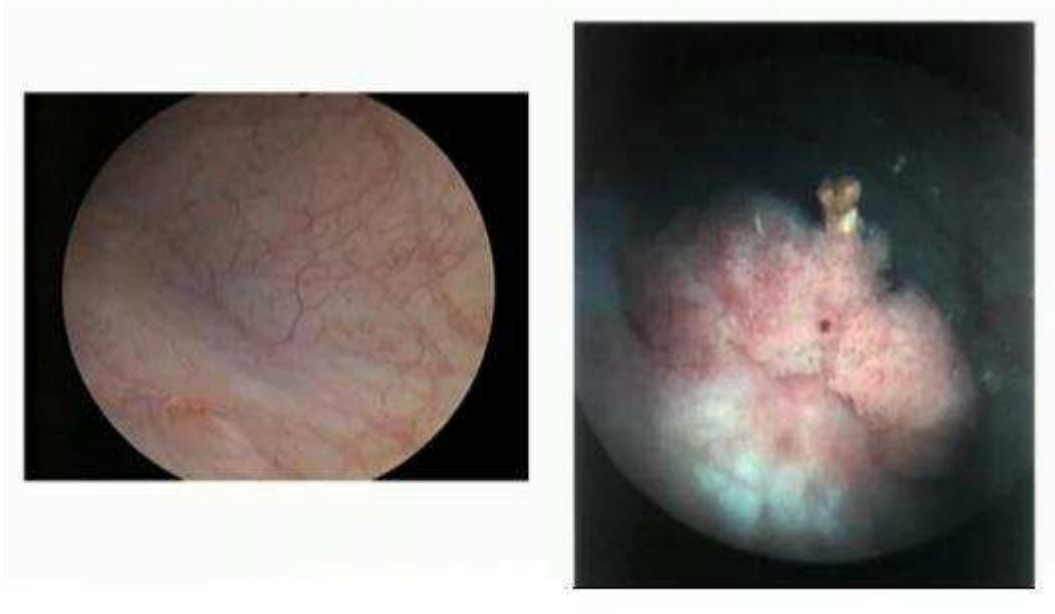
Η *τελομεράση* είναι ένα ένζυμο, η κύρια δράση του οποίου είναι να προσθέτει εξαμερή TTAGGG σε ειδικές δομές που εντοπίζονται στα άκρα των χρωμοσωμάτων, τα *τελομερή*, αποτρέποντας με τον τρόπο αυτόν την κυτταρική γήρανση[95-97]. Αυτό φυσιολογικά δεν συμβαίνει στα σωματικά κύτταρα, στα οποία με την πάροδο του χρόνου παρατηρείται μία προοδευτική αποδόμηση των τελομερών. Η τελομεράση ανιχνεύεται φυσιολογικά μόνο στα γεννητικά κύτταρα, εκφράζεται όμως και σε πολλούς όγκους. Μελέτες με PCR έδειξαν ότι σε ασθενείς με καλοήθεις παθήσεις του ουροποιητικού, δεν ανιχνεύεται δραστηριότητα τελομεράσης. Επιπροσθέτως, βρέθηκε ότι τα grade I και II TCC ανιχνεύονται σε στατιστικά σημαντικότερο βαθμό με τη μέθοδο αυτή, σε σύγκριση με τις ήδη χρησιμοποιούμενες. Η τελομεράση δεν χρησιμοποιείται ακόμη ευρέως στην κλινική πράξη[98,99].

2.6.2.θ. Άλλοι δείκτες

Τα τελευταία χρόνια έχει ενταθεί η ερευνητική προσπάθεια ανεύρεσης ουσιών που να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αξιόπιστοι διαγνωστικοί και προγνωστικοί δείκτες στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως[84]. Οι ουσίες αυτές πιθανόν θα μπορούσαν να υποκαταστήσουν σε μεγάλο βαθμό τη διαγνωστική κυστεοσκόπηση ή τουλάχιστον να αυξήσουν το μεταξύ των δύο κυστεοσκοπήσεων διάστημα. Εκτός από τις προαναφερθείσες ουσίες, υπάρχουν και άλλες όπως οι *κυτοκερατίνες,* τα *microsatellites,* το *υαλουρονικό οξύ* και η *υαλουρονιδάση,* τα *FDA* κλπ., που προς το παρόν είναι υπό διερεύνηση η διαγνωστική τους αξία από διάφορες μελέτες[100,101]. Ειδικότερα η κυτοκερατίνη 19 ανιχνεύεται με τη μέθοδο CYFRA 21-1, ενώ οι κυτοκερατίνες 8 και 18 με το UBC. Και με τις δύο μεθόδους έχει αναφερθεί υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Τα αμέσως προσεχή χρόνια, όταν θα έχουν ολοκληρωθεί και άλλες μελέτες αξιολόγησής τους, είναι πιθανόν ότι κάποιοι από τους δείκτες αυτούς θα παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στη διάγνωση και παρακολούθηση του καρκινώματος της ουροδόχου κύστεως. Προς το παρόν όμως, η κυστεοσκόπηση παραμένει ο χρυσός κανόνας για την παρακολούθηση του καρκίνου της κύστης, αφού ιδανικός καρκινικός δείκτης δεν προβλέπεται να ανακαλυφθεί στο άμεσο μέλλον.

2.6.2.ι. Κυστεοσκόπηση

Αποτελεί την τελική εξέταση με την οποία επιβεβαιώνεται η διάγνωση (Εικόνα 2.2)[102]. Συνήθως οι επιφανειακοί όγκοι αναγνωρίζονται ως μισχωτές, θηλωματώδεις προσεκβολές του τοιχώματος της κύστεως, σε αντίθεση με τους διηθητικούς που είναι, στην πλειοψηφία τους, συμπαγείς όγκοι με ευρεία βάση. Θα πρέπει να τονιστεί όμως, ότι τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά ενός όγκου δεν μπορούν με ακρίβεια να διαχωρίσουν αυτούς τους δύο τύπους νεοπλάσματος της κύστης[103,104].



Εικόνα 2.2: Εικόνες κυστεοσκόπησης. **Δεξιά**: φυσιολογικό ουροθήλιο. **Αριστερά**: εικόνα με επιφανειακό όγκο ουροδόχου κύστεως.

2.7. Σταδιοποίηση

Η σταδιοποίηση περιλαμβάνει το σύνολο των διαγνωστικών τεχνικών με τις οποίες εκτιμάται τόσο η τοπική επέκταση ενός νεοπλάσματος, όσο και η συστηματική διασπορά του[105,106]. Διακρίνεται δε σε *κλινική* και *παθολογοανατομική.* Στον καρκίνο της κύστης, το κλινικό στάδιο προκύπτει από το συνδυασμό της φυσικής εξέτασης, του απεικονιστικού ελέγχου, της αμφίχειρης υπό νάρκωση εξέτασης και της ιστολογικής εξέτασης του όγκου μετά τη διουρηθρική εξαίρεσή του. Το παθολογοανατομικό (ή χειρουργικό) στάδιο προκύπτει από τον ακριβή καθορισμό των ανατομικών ορίων του όγκου μετά τη χειρουργική αφαίρεση της κύστης[107]. Να σημειωθεί, ότι στην παθολογοανατομική σταδιοποίηση δεν περιλαμβάνεται αναγκαστικά και η ιστολογική εξέταση των λαμφαδενικών ή σπλαγχνικών μεταστάσεων.

Ιδανική θα ήταν η σταδιοποίηση ενός όγκου αν το κλινικό στάδιο συνέπιπτε με το παθολογοανατομικό[108-110]. Αυτό είναι εξαιρετικά δύσκολο με τις υπάρχουσες τεχνικές, γι' αυτό και δεν είναι σπάνια η υποσταδιοποίηση, η οποία σε όγκους χαμηλής ή μέσης διαφοροποίησης φτάνει μέχρι και σε ποσοστό 33%. Η κλινική σταδιοποίηση, αν και συχνά παρέχει ανακριβή

αποτελέσματα, είναι εκείνη η οποία καθορίζει το είδος της θεραπείας σε κάθε περίπτωση (συντηρητική ή χειρουργική).

2.8. Επέκταση των όγκων του ουροθηλίου

2.8.1. Τοπική επέκταση – Αγγειογένεση

Τα κύτταρα του φυσιολογικού ουροθηλίου συνδέονται τόσο μεταξύ τους, όσο και με την υποκείμενη βασική μεμβράνη με ισχυρούς δεσμούς. Υπεύθυνα γι' αυτό είναι τα λεγόμενα "Μόρια Διακυττάριας Προσκόλλησης" (intracellular adhesion molecules, ICAM), όπως οι καντχερίνες (cadherins) και οι ιντεγκρίνες (integrins)[111-114]. Οι ουσίες αυτές φαίνεται ότι εμπλέκονται τόσο στη διακυττάρια επικοινωνία, όσο και στην έκφραση και λειτουργία των υποδοχέων διάφορων αυξητικών παραγόντων. Ταυτόχρονα, αποτελούν φραγμό στην επέκταση των όγκων του ουροθηλίου και τη διήθηση των υποκείμενων στρωμάτων. Μεταβολή της έκφρασης των ICAM δεν είναι σπάνια κατά την ανάπτυξη των όγκων. Στην ουροδόχο κύστη λχ., έχει παρατηρηθεί μείωση της έκφρασης της E-cadherin, αλλά και της ιντεγκρίνης α6β4 σε επιθετικότερους όγκους που επιφέρουν μειωμένη επιβίωση. Φαίνεται, ότι κατά τη διαδικασία επέκτασης των όγκων διαταράσσεται η λειτουργία των ICAM και διευκολύνεται η διήθηση του στρώματος.

Η τοπική επέκταση ενός όγκου διευκολύνεται από μια ποικιλία βιολογικών μηχανισμών, όπως η αγγειογένεση, η λύση του στρώματος από πρωτεολυτικά ένζυμα, η αύξηση του πολλαπλασιασμού και της κινητικότητας των καρκινικών κυττάρων, καθώς και η διαφυγή τους από τους τοπικούς μηχανισμούς ανοσίας. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, αγγειογένεση παρατηρείται σπάνια και μόνο σε ιδιαίτερες περιπτώσεις (επούλωση τραυμάτων, κυκλικές αλλαγές ενδομητρίου, πλακούντας)[115,116]. Η διαδικασία προάγεται από ειδικούς αγγειογενετικούς παράγοντες που εκκρίνονται είτε από τον ίδιο τον όγκο, είτε από διάφορα μαστοκύτταρα ή μακροφάγα που τον διηθούν μετά από χημειοτακτική έλξη, είτε ακόμη και από το εξωκυττάριο στρώμα. Τέτοιοι παράγοντες είναι ο *αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (vascular endothelial growth factor, VEGF)*[89], ο *ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας (fibroblast growth factor, FGF),* τόσο ο *βασικός (bFGF)*

όσο και ο *όξινος (aFGF),* ο *αιμοπεταλιακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (plateled-derived endothelial cell growth factor, PDECGF),* ο *παράγοντας νέκρωσης του όγκου (tumour necrosis factor-a, TNFa),* ο *πλακουντιακός αυξητικός παράγοντας (placental growth factor),* ο *επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (epidermal growth factor, EGF)* κλπ. Υπό την επίδραση των αυξητικών παραγόντων, τα γειτονικά αγγεία διατείνονται, ενώ τα κύτταρα του ενδοθηλίου τους μεταναστεύουν προς το αγγειογενετικό ερέθισμα[117,118]. Η μετακίνηση διευκολύνεται τόσο από την καταστροφή της βασική τους μεμβράνης, όσο και από τη λύση του γειτονικού στρώματος από πρωτεολυτικά ένζυμα που παράγονται από τους ινοβλάστες (όπως η κολλαγενάση τύπου IV). Ακολουθεί πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων και διαμόρφωση νέων τριχοειδών.

Από τους μέχρι τώρα αναγνωρισθέντες αγγειογενετικούς παράγοντες, έχουν μελετηθεί επαρκώς οι VEGF, aFGF, bFGF και PDECGF. Ο VEGF προκαλεί πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων (στη θέση αυτή ανιχνεύεται και ο υποδοχέας του). Ο bFGF, ο οποίος είναι ο ισχυρότερος αγγειογενετικός παράγοντας που έχει αναγνωριστεί μέχρι σήμερα, βρίσκεται συνδεδεμένος με τις θειϊκές ηπαρίνες του εξωκυττάριου στρώματος και απελευθερώνεται υπό την επίδραση διαφόρων ηπαρινασών ή πρωτεασών. Ο PDECGF, που είναι ένα ένζυμο ομόλογο της φωσφορυλάσης της θυμιδίνης, έχει αναγνωριστεί σε πολλούς ιστούς, αλλά ο μηχανισμός δράσης του παραμένει εν πολλοίς άγνωστος.

Μελέτες για τη συμβολή των αγγειογενετικών παραγόντων στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως, έδειξαν ότι η έκφραση του VEGF στους επιφανειακούς όγκους είναι 4πλάσια από εκείνη στους διηθητικούς και 10πλάσια απ’ ότι στη φυσιολογική κύστη. Αντίθετα, η έκφραση του PDECGF στους διηθητικούς καρκίνους είναι 30 φορές μεγαλύτερη από ότι στους επιφανειακούς όγκους και 260 φορές μεγαλύτερη απ’ ότι στη φυσιολογική κύστη[89]. Αυτό δείχνει ότι πιθανότατα υπάρχουν διαφορετικοί αγγειογενετικοί δρόμοι στον επιφανειακό και διηθητικό καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Άλλες μελέτες βρήκαν σημαντικά αυξημένη την τιμή των a και bFGF στα ούρα των ασθενών με νεόπλασμα κύστης[119,120].

Η καλύτερη κατανόηση της αγγειογένεσης θέτει τις βάσεις για την εφαρμογή της αντι-αγγειογένεσης στη θεραπεία του καρκίνου. Πράγματι,

παρεμβαίνοντας σε διάφορα επίπεδα της αγγειογενετικής διαδικασίας, είναι δυνατόν να αναστείλουμε την επέκταση ενός όγκου. Το ίδιο μπορεί να επιτευχθεί και με τη χορήγηση ουσιών που είναι γνωστοί αναστολείς της αγγειογένεσης, όπως η *αγγειοστατίνη* και η *θρομβοσπονδίνη*[120].

Η τοπική επέκταση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως στο 60% των περιπτώσεων γίνεται προς τον υποκείμενο μυ, παρ' όλο που υπάρχουν και μορφές πλάγιας επέκτασης. Σημειώνεται δε, ότι ο όγκος που αναπτύσσεται σε εκκόλπωμα μπορεί να διηθήσει απ' ευθείας γειτονικά όργανα, αφού το επίκτητο εκκόλπωμα στερείται μυϊκού τοιχώματος (επέκταση κατά συνέχεια ιστού)[121-123].

2.8.2. Λεμφογενής διασπορά

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως μεθίσταται λεμφογενώς στους επιχώριους λεμφαδένες της πυέλου[27] (έσω και έξω λαγόνιους, κοινούς λαγόνιους, θυροειδείς, προϊερούς). Σημειώνεται ότι η λεμφογενής διασπορά είναι ανεξάρτητη από την αιματογενή.

2.8.3. Αιματογενής διασπορά

Θεωρητικά ο καρκίνος της κύστης μπορεί να επεκταθεί αιματογενώς σε οποιοδήποτε όργανο[27]. Στην πράξη μεθίσταται κυρίως στο ήπαρ, τους πνεύμονες, τα οστά και τα επινεφρίδια, ενώ σπανιότερα μεθίσταται στον εγκέφαλο. Η ύπαρξη αιματογενών ή λεμφογενών μεταστάσεων κατά τη στιγμή της διάγνωσης επιβαρύνει σημαντικά την πρόγνωση.

2.8.4. Εμφύτευση

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως θεωρείται ότι έχει την τάση να εμφυτεύεται σε τραχείες επιφάνειες, όπως κοιλιακά τραύματα ή θέσεις του ουροθηλίου που έχουν υποστεί λύση της συνέχειας (πχ. από τη χρήση ηλεκτροτόμου)[27]. Αν και παλαιότερα το ενδεχόμενο αυτό είχε αμφισβητηθεί, σήμερα ενδείκνυται η λήψη προφυλακτικών μέτρων ώστε να αποφεύγεται η διασπορά[124]. Έτσι, πολλοί συνιστούν τη χορήγηση χαμηλών δόσεων

ακτινοβολίας πριν την πραγματοποίηση μερικής ή ολικής κυστεκτομής. Μελέτες της Ευρωπαϊκής Οργάνωσης για τη Διάγνωση και Θεραπεία του Καρκίνου (EORTC), έδειξαν ότι η εφάπαξ ενδοκυστική έγχυση επιρουμπικίνης ή μιτομυκίνης κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο (το πρώτο 6ωρο μετά τη διουρηθρική εκτομή) μπορεί να μειώσει περίπου στο μισό το ρυθμό υποτροπής της νόσου[125,126]. Το φαινόμενο πιστεύεται ότι οφείλεται στην αδρανοποίηση από το φάρμακο των υπολειμματικών καρκινικών κυττάρων, τα οποία θα μπορούσαν να εμφυτευθούν στις θέσεις του τραυματισμένου ουροθηλίου.

2.9. Απεικονιστικές τεχνικές

2.9.1. Αξονική τομογραφία (CT scan)

Η αξονική τομογραφία χρησιμοποιείται τόσο για την εκτίμηση της τοπικής επέκτασης της νόσου, όσο και για την ανίχνευση των πιθανών μεταστάσεων[127-130]. Στην πρώτη περίπτωση, η CT θα πρέπει να γίνεται πριν τη διουρηθρική εκτομή (TURT), οπότε είναι πιθανό να αποκαλύψει πάχυνση του τοιχώματος ή και ασάφεια του περικυστικού λίπους, ένδειξη εξωκυστικής επέκτασης της νόσου. Παρ' όλα αυτά, η διαγνωστική της ακρίβεια είναι περιορισμένη επειδή αδυνατεί να ανιχνεύσει τυχόν μικροσκοπική εξωκυστική διήθηση ή να διαφοροδιαγνώσει με ακρίβεια τους επιφανειακούς από τους διηθητικούς όγκους. Διηθημένοι λεμφαδένες ανιχνεύονται με CT μόνο όταν το μέγεθός τους είναι μεγαλύτερο από 1cm, ενώ ηπατικές μεταστάσεις ανιχνεύονται μόνο όταν έχουν μέγεθος μεγαλύτερο των 2cm.

2.9.2. Μαγνητική τομογραφία (MRI)

Με εξαίρεση τις οστικές μεταστάσεις, η MRI δεν φαίνεται να πλεονεκτεί της CT στη διάγνωση και σταδιοποίηση του καρκινώματος της κύστης, έχει δε επιπλέον και το μειονέκτημα του αυξημένου κόστους[128].

2.9.3. Ακτινογραφία θώρακος

Η απλή ακτινογραφία θώρακος μπορεί να βοηθήσει στην εντόπιση τυχόν πνευμονικών μεταστάσεων[128].

2.9.4. Σπινθηρογράφημα οστών

Συνήθως δεν χρησιμοποιείται για τη διερεύνηση μεταστάσεων του καρκίνου της κύστης, εκτός και αν ο ασθενής είναι συμπτωματικός, ή η αλκαλική φωσφατάση του ορού είναι αυξημένη[128].

2.9.5. Υπερηχογράφημα

Ενώ ο ρόλος του υπερηχογραφήματος στη διάγνωση του καρκίνου της κύστεως είναι πολύ σημαντικός, στη σταδιοποίηση της νόσου φαίνεται ότι έχει μικρή αξία. Σε πρόσφατη μελέτη, το διουρηθρικό υπερηχογράφημα αποδείχθηκε χρήσιμο στο διαχωρισμό επιφανειακών από διηθητικούς όγκους, στον υπολογισμό του βάθους διήθησης του τοιχώματος, καθώς και στην ανακάλυψη τυχόν εξωκυστικής επέκτασης της νόσου. Παρ' όλα αυτά, η μέθοδος αυτή δεν έχει γίνει ευρέως αποδεκτή[128].

2.10. TNM Σύστημα Σταδιοποίησης

Κατά καιρούς έχουν προταθεί διάφορα συστήματα σταδιοποίησης του καρκίνου της ουροδόχου κύστης, εκείνο όμως που χρησιμοποιείται σήμερα ευρέως είναι το TNM (Tumour, Nodes, Metastases). Η πιο πρόσφατη (Εικόνα 2.3) τροποποίηση (2002) είναι η εξής[106]:

T_x: Ο όγκος δεν μπορεί να εκτιμηθεί

T_0: Δεν υπάρχει ένδειξη πρωτοπαθούς όγκου

T_a: Θηλώδες καρκίνωμα που δεν διηθεί πέραν του βλεννογόνου

T_{is}: Καρκίνωμα in situ (CIS)

T_1: Ο όγκος διηθεί το χόριο (lamina propria)

T_{1a}: Ο όγκος δεν διηθεί την υποβλεννογόνια μυϊκή στιβάδα

T_{1b}: Ο όγκος διηθεί την υποβλεννογόνια μυϊκή στιβάδα

T_{1c}: Ο όγκος διηθεί πέρα από την υποβλεννογόνια μυϊκή στιβάδα

T_{2a}: Ο όγκος διηθεί τον επιπολής μυϊκό χιτώνα (έσω ήμισυ)

T_{2b}: Ο όγκος διηθεί τον εν τω βάθει μυϊκό χιτώνα (έξω ήμισυ)

T_3: Ο όγκος επεκτείνεται στο περικυστικό λίπος

T_{3a}: Μικροσκοπική διήθηση

T_{3b}: Μακροσκοπική διήθηση (εξωκυστική μάζα)

T_4: Ο όγκος διηθεί είτε κάποιο από τα παρακείμενα όργανα (T_{4a}: προστάτη, μήτρα, κόλπο), είτε το πυελικό ή κοιλιακό τοίχωμα (T_{4b})

N_x: Οι επιχώριοι λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν

N_0: Δεν υπάρχει μετάσταση στους επιχώριους λεμφαδένες

N_1: Μετάσταση σε ένα λεμφαδένα μέγιστης διαμέτρου <2cm

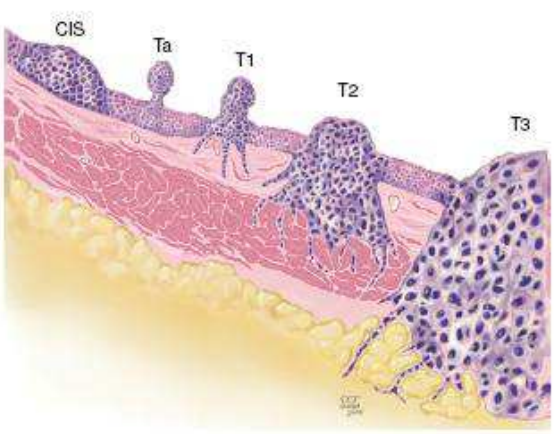
N_2: Μετάσταση σε ένα λεμφαδένα μέγιστης διαμέτρου >2, αλλά <5cm, ή μεταστάσεις σε πολλούς λεμφαδένες κανένας εκ των οποίων δεν έχει διάμετρο >5cm

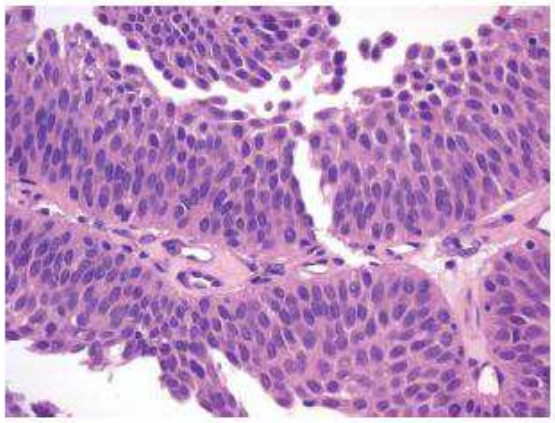
N_3: Μετάσταση σε ένα λεμφαδένα μέγιστης διαμέτρου >5cm

M_x: Η ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων δεν μπορεί να εκτιμηθεί

M_0: Δεν υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις

M_1: Υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις





Εικόνα 2.3: Δεξιά: αναπαρίσταται η σταδιοποίηση κατά TNM. **Αριστερά:** τυπική ιστολογική εικόνα καρκίνου του ουροθηλίου χαμηλού βαθμού διήθησης (CIS).

2.11. Κλινική πορεία και προγνωστικοί παράγοντες

2.11.1. Κλινική πορεία

Οι πρωτοεμφανιζόμενοι όγκοι της ουροδόχου κύστεως είναι *επιφανειακοί* (δηλαδή T_a ή T_1) σε ποσοστό 75-85%[131-133]. Οι υπόλοιποι εμφανίζονται εξ αρχής ως *διηθητικοί* (δηλαδή T_2, T_3, T_4) και μάλιστα στο 50% από αυτούς υπάρχουν ήδη λανθάνουσες μεταστάσεις, οι οποίες θα γίνουν εμφανείς σε διάστημα ενός έτους από τη διάγνωση. Αξιοσημείωτο είναι ότι από τους ασθενείς με διηθητικό όγκο, το 80% έχει ελεύθερο ιστορικό για νεόπλασμα της κύστης. Όσον αφορά τον ιστολογικό βαθμό κακοήθειας, το 60-65% των πρωτοεμφανιζόμενων όγκων είναι grade I και II, ενώ το υπόλοιπο 35-40% είναι grade III.

Σημαντικό και δύσκολο στην επίλυση πρόβλημα των επιφανειακών όγκων, είναι οι πολλές υποτροπές[134-136]. Υπολογίζεται ότι το 40-80% των όγκων αυτών υποτροπιάζουν μετά την αρχική διουρηθρική εκτομή (TURT). Οι πλείστες των υποτροπών φαίνεται ότι παριστάνουν νέους όγκους, μολονότι δεν είναι σπάνια η επανεμφάνιση ενός όγκου στην ίδια θέση εξ αιτίας ανεπαρκούς εξαίρεσης. Οι υποτροπές, όπως είναι ευνόητο, επιβαρύνουν τον ασθενή με σημαντική νοσηρότητα. Συνήθως οι όγκοι της κύστεως υποτροπιάζουν τους πρώτους 12 μήνες μετά την TURT, ενώ οι ασθενείς που

υποτροπίασαν μία φορά, βρίσκονται σε κίνδυνο και άλλης υποτροπής. Γενικά, ο ρυθμός υποτροπής (όπως άλλωστε και ο ρυθμός διηθητικής εξέλιξης) επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως το μέγεθος του όγκου, το grade κλπ. Είναι ευρέως αποδεκτό ότι οι μικρότεροι όγκοι έχουν μικρότερο ρυθμό υποτροπής και εξέλιξης, αν και υπάρχουν μελέτες που καταλήγουν σε διαφορετικό συμπέρασμα. Εξ άλλου οι T_1, όπως και οι grade III όγκοι υποτροπιάζουν πολύ συχνότερα, ενώ η συνύπαρξη δυσπλασίας ή CIS, εκτός από το ότι είναι δυσμενής παράγοντας για την εξέλιξη ενός όγκου σε διηθητικό, αυξάνει και το ποσοστό υποτροπής από 43% σε 73%. Η ενδοκυστική χορήγηση διαφόρων χημειο- και ανοσοθεραπευτικών παραγόντων, μειώνει το ρυθμό υποτροπής των επιφανειακών όγκων της ουροδόχου κύστεως.

Αν και οι γενετικοί και αγγειογενετικοί δρόμοι ανάπτυξης των επιφανειακών και διηθητικών όγκων είναι διαφορετικοί, εν τούτοις οι πρώτοι έχουν τη δυνατότητα να εξελιχθούν και να διηθήσουν τη μυϊκή στιβάδα[137,138]. Περίπου το 6% των T_a και το 46% των T_1 όγκων εξελίσσονται σε διηθητικούς. Εξ άλλου και η επιβίωση των ασθενών με νεόπλασμα της κύστης, σχετίζεται άμεσα με το στάδιο και είναι βέβαια μικρότερη σε όγκους T_4 (25%), T_3 (39%) και T_2 (53%), σε σύγκριση με τους επιφανειακούς (81%).

2.11.2. Προγνωστικοί παράγοντες

Η εξέλιξη ενός επιφανειακού καρκινώματος σε διηθητικό καθορίζεται από μια σειρά προγνωστικών παραγόντων-δεικτών που είναι ως επί το πλείστον μορφολογικοί[133,136]. Οι συνηθέστεροι χρησιμοποιούμενοι από αυτούς είναι το *στάδιο*, ο *ιστολογικός βαθμός κακοήθειας (grade)*, η *συνύπαρξη CIS*, το *μέγεθος* και η *πολλαπλότητα του όγκου*, καθώς και η *συχνότητα των υποτροπών*.

2.11.3. Στάδιο και βάθος διήθησης (stage)

Το στάδιο αντανακλά το βάθος της διήθησης και έχει αναγνωριστεί ως ένας από τους σημαντικότερους προγνωστικούς παράγοντες για την υποτροπή και εξέλιξη ενός όγκου σε διηθητικό[139-142]. Όπως τονίστηκε και

προηγούμενα, η πιθανότητα διηθητικής εξέλιξης ενός T_1 όγκου είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτήν ενός T_a. Εξ άλλου, η διήθηση της υποβλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας (*muscularis mucosae*) αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα, αφού έχει δειχθεί ότι η πιθανότητα διηθητικής εξέλιξης είναι σημαντικά μεγαλύτερη σε επιφανειακούς όγκους που διηθούν την υποβλεννογόνια μυϊκή στιβάδα ή και πέρα από αυτήν, η δε επιβίωση των ασθενών είναι σημαντικά μικρότερη. Η εκτίμηση πάντως της διήθησης της στιβάδας αυτής είναι δύσκολη, δεδομένου ότι η αναγνώρισή της είναι δυνατή σε λιγότερο από το 40% των τεμαχιδίων μιας διουρηθρικής εκτομής. Σε πρόσφατη μελέτη βρέθηκε ότι η μέτρηση του βάθους διήθησης του χωρίου, αποτελεί σημαντικό βοήθημα προς την κατεύθυνση της πρόγνωσης: οι όγκοι T_1 που διηθούν σε βάθος μεγαλύτερο του 1,5μm, εξελίσσονται ταχύτερα σε διηθητικούς συγκριτικά με εκείνους στους οποίους η διήθηση του χορίου είναι μέχρι 1,5μm.

2.11.4. Βαθμός κακοήθειας (grade)

Όγκοι χαμηλής διαφοροποίησης (υψηλού ιστολογικού βαθμού κακοήθειας) εξελίσσονται συχνότερα σε διηθητικούς από ότι οι μέτρια και καλά διαφοροποιημένοι[139,140]. Τα ποσοστά διηθητικής εξέλιξης που αναφέρονται για όγκους grade I, II και III είναι 10-20%, 19-37% και 33-64% αντίστοιχα.

2.11.5. Συνύπαρξη CIS

Πλήθος μελετών έχουν δείξει ότι συνοδός δυσπλασία ή CIS αυξάνει το ποσοστό εξέλιξης ενός επιφανειακού καρκίνου σε διηθητικό[139,140]. Εξ άλλου, όπως έχει ήδη αναφερθεί, σε ασθενείς με CIS η έκταση του προσβληθέντος ουροθηλίου φαίνεται ότι αποτελεί επιπρόσθετο δυσμενή προγνωστικό παράγοντα, αφού η διάχυτη μορφή του CIS συμπεριφέρεται πιο επιθετικά από την εστιακή. Επιπροσθέτως, ασθενείς με διάχυτο CIS και ερεθιστικά συμπτώματα αναπτύσσουν διηθητικό όγκο συχνότερα από αυτούς στους οποίους τα συμπτώματα ελλείπουν.

2.11.6. Αριθμός και μέγεθος

Η ύπαρξη πολλαπλών όγκων σχετίζεται κυρίως με αυξημένο αριθμό υποτροπών, αλλά σύμφωνα με μερικούς ερευνητές και με αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης διηθητικού καρκίνου[15,27]. Όσον αφορά το μέγεθος, έχει παρατηρηθεί ότι όγκοι με μέγεθος μεγαλύτερο των 5cm εξελίσσονται συχνότερα σε διηθητικούς από ότι εκείνοι με μικρότερο μέγεθος των 5cm.

2.11.7. Συχνότητα υποτροπών

Η πιθανότητα υποτροπής ενός μονήρους ή πρωτοεμφανιζόμενου όγκου είναι περίπου η μισή εκείνης που παρατηρείται σε πολλαπλούς ή σε όγκους που έχουν ήδη υποτροπιάσει[15,27]. Εξ άλλου, η πιθανότητα υποτροπής σε ασθενείς που είχαν στο παρελθόν μία μόνον υποτροπή το χρόνο, είναι μικρότερη από τη μισή εκείνης που παρατηρείται σε ασθενείς με περισσότερες της μίας υποτροπές το χρόνο.

2.11.8. Διήθηση αγγείων και λεμφαγγείων

Οι επιφανειακοί όγκοι διηθούν τα αγγεία σε ποσοστό 2,5-7%[15,27]. Η είσοδος καρκινικών κυττάρων σε αγγειακούς ή λεμφαγγειακούς χώρους επηρεάζει αρνητικά τη βιολογική συμπεριφορά ενός επιφανειακού όγκου: η πενταετής επιβίωση ασθενών με λεμφαγγειακή διήθηση είναι σαφώς μικρότερης εκείνης των ασθενών με νεοπλάσματα χωρίς το χαρακτηριστικό αυτό (44% έναντι 81% αντίστοιχα).

2.11.9. Άλλοι προγνωστικοί παράγοντες

Οι περισσότεροι από τους προγνωστικούς παράγοντες που προαναφέρθηκαν, βασίζονται κυρίως σε μορφολογικά κριτήρια[15,27]. Όμως, αν και τα νεοπλάσματα της κύστης έχουν κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά, η βιολογική τους συμπεριφορά είναι συχνά απρόβλεπτη. Το γεγονός αυτό οδήγησε τα τελευταία χρόνια την έρευνα προς την κατεύθυνση της ανάπτυξης μη μορφολογικών δεικτών για τον ακριβέστερο καθορισμό της κλινικής

πορείας και πρόγνωσης των όγκων της κύστης. Ανάμεσα στους δείκτες αυτούς περιλαμβάνονται οι εξής παρακάτω[143-150]:

2.11.9.α. Πλοειδικότητα του DNA των καρκινικών κυττάρων

Αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό παράγοντα, αφού οι ανευπλοειδικοί όγκοι χαρακτηρίζονται από επιθετικότερη βιολογική συμπεριφορά συγκρινόμενοι με τους ευπλοϊδικούς[15,27]. Έχει ήδη αναφερθεί ότι η ανεύρεση με κυτταρομετρία ροής αυξημένου ποσοστού κυττάρων στη φάση της σύνθεσης του DNA (S-phase fraction, S-PF) σχετίζεται με το στάδιο και το βαθμό κακοήθειας, αλλά πιθανόν και με μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής και εξέλιξης ενός επιφανειακού όγκου σε διηθητικό και άρα με μειωμένη επιβίωση.

2.11.9.β. Αντιγόνα ομάδων αίματος και άλλα σχετιζόμενα με τον όγκο αντιγόνα

Η ομάδα των αντιγόνων ΑΒΗ περιλαμβάνει αντιγόνα που βρίσκονται συνδεδεμένα με γλυκοπρωτεΐνες ή γλυκολιπίδια στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων και διαφόρων επιθηλιακών κυττάρων, μεταξύ των οποίων και αυτά του ουροθηλίου[15,27]. Έχει βρεθεί ότι η απώλεια της έκφρασης των αντιγόνων ΑΒΗ από τους όγκους του ουροθηλίου, είναι προγνωστικός παράγοντας επιθετικής συμπεριφοράς και διήθησης: επιφανειακοί όγκοι που διατηρούν τα αντιγόνα αυτά έχουν μικρότερη πιθανότητα μετατροπής σε διηθητικούς, ενώ αντίθετα η μείωση των επιπέδων των αντιγόνων σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, οδηγεί σε ανάπτυξη διηθητικού καρκίνου σε ποσοστό 62-66%. Από τα αντιγόνα Lewis[151-154], η ανίχνευση του Lewis X σε αποπίπτοντα στα ούρα ουροθηλιακά κύτταρα, μπορεί να είναι ένας χρήσιμος κλινικός δείκτης για την πρόγνωση υποτροπής ή διηθητικής εξέλιξης ενός όγκου, δεδομένου ότι το αντιγόνο αυτό ανιχνεύεται στο 90% των καρκινικών κυττάρων του ουροθηλίου και όχι στα φυσιολογικά κύτταρα. Υψηλά επίπεδα του πολυπεπτιδικού αντιγόνου των ιστών (tissue polypeptide antigen, TPA) στον ορό ασθενών με επιφανειακό καρκίνο, φαίνεται ότι σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής της νόσου, ενώ αυξημένη έκφραση του T

(Thomsen-Friedenreich) αντιγόνου έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με διηθητική εξέλιξη και πτωχή πρόγνωση.

Άλλα αντιγόνα, τα οποία δεν ανιχνεύονται σε φυσιολογικά αλλά μόνο σε καρκινικά ουροθηλιακά κύτταρα και τα οποία μελετώνται ως προγνωστικοί δείκτες, είναι τα M344, 19A211 και T138. Τα M344 και 19A211 εκφράζονται στο 70-90% των επιφανειακών, αλλά και σε πολύ χαμηλότερο ποσοστό διηθητικών όγκων. Και τα δύο αυτά αντιγόνα βρέθηκε ότι σχετίζονται με αυξημένη συχνότητα υποτροπής των επιφανειακών όγκων. Αντίθετα, το T138 εκφράζεται κυρίως σε διηθητικούς όγκους, η δε έκφρασή του έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη μεταστατικής νόσου.

Τέλος, το επιθηλιακό αντιγόνο της μεμβράνης[155] (epithelial membrane antigene, EMA) σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση όταν εκφράζεται ομοιογενώς στα επιφανειακά νεοπλάσματα της κύστης, αλλά με καλύτερη επιβίωση όταν εκφράζεται με περισσότερη ετερογένεια.

2.11.9.γ. Δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απόπτωσης

Η έκφραση ορισμένων αντιγόνων που εντοπίζονται στον πυρήνα, αντανακλά την πολλαπλασιαστική δραστηριότητα ενός κυττάρου[15,27]. Αυξημένη έκφραση των αντιγόνων αυτών υποδηλώνει έντονη πολλαπλασιαστική δραστηριότητα, γεγονός που συμβαίνει κυρίως στα κακοήθη κύτταρα. Όγκοι στους οποίους τα πυρηνικά αντιγόνα υπερεκφράζονται, συμπεριφέρονται επιθετικότερα, στη δε ουροδόχο κύστη έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα μετατροπής σε διηθητικούς. Τέτοια αντιγόνα είναι το PCNA (proliferating cell nuclear antigen) και το Ki-67, η αξία όμως των αντιγόνων αυτών ως προγνωστικών δεικτών δεν έχει τεκμηριωθεί απόλυτα[156-158].

Η διαδικασία απόπτωσης, δηλαδή του προγραμματισμένου θανάτου του κυττάρου, καθορίζεται από διάφορες πρωτεΐνες, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και αυτές που κωδικοποιούνται από τα γονίδια bcl-2 και bax[159,160]. Το bcl-2 προωθεί την ογκογένεση καταστέλλοντας τα κυτταρικά σήματα που ευοδώνουν την απόπτωση, ενώ το bax αναστέλλει τη δραστηριότητα του bcl-2. Έχει διατυπωθεί η άποψη, ότι ο λόγος των εκφράσεων των δύο αυτών μορίων (bcl-2/bax ratio) πιθανά να αποτελεί

ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη υποτροπής και εξέλιξης σε όγκους χαμηλής κακοήθειας.

2.11.9.δ. Μόρια διακυττάριας προσκόλλησης

Τα μόρια διακυττάριας προσκόλλησης αποτελούν φραγμό στην επέκταση των όγκων του ουροθηλίου και τη διήθηση των υποκείμενων στρωμάτων[15,27]. Σε επιφανειακούς όγκους της κύστης που συμπεριφέρονται επιθετικότερα, έχει παρατηρηθεί μείωση της έκφρασης της E-cadherin[161,162] καθώς και της ιντεγκρίνης α6β4. Οι όγκοι αυτοί κατά κανόνα σχετίζονται με μειωμένη επιβίωση. Εκτός από τα μόρια διακυττάριας προσκόλλησης, προγνωστική σημασία φαίνεται ότι πιθανόν έχει και η έκφραση διαφόρων παραγόντων που εμπλέκονται στην αποδόμηση της θεμέλιας ουσίας (extracellular matrix, ECM), όπως και η καθεψίνη-D, το u-PA και κυρίως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της θεμέλιας ουσίας (MMPs) και οι αναστολείς τους. Τέλος, διηθητική εξέλιξη παρατηρείται συχνότερα σε επιφανειακούς όγκους που παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση του υποδοχέα του αυτοκρινούς κινητικού παράγοντα (μιας κυτοκίνης του όγκου η οποία προάγει την άμεση και τυχαία μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων) ή σε εκείνους με διακοπή της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της λαμινίνης στα βασικά στρώματα (αποτελεί ένδειξη αρχόμενης διήθησης του χορίου)[163,164].

2.11.9.ε. Ογκογονίδια και πεπτιδικοί αυξητικοί παράγοντες

Η προγνωστική αξία των ογκογονιδίων της οικογένειας ras, του c-myc και του c-erbB-2, στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως έχει τεκμηριωθεί μέσα από διάφορες μελέτες[165-169]. Η αυξημένη δε, έκφραση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF-r), ο οποίος αποτελεί το πρωτεϊνικό παράγωγο του πρωτοογκογονιδίου c-erbB-1, έχει συσχετιστεί με υψηλότερο νεοπλασματικό στάδιο και grade, αυξημένη θνητότητα, μικρότερο διάστημα μέχρι την υποτροπή, αλλά και υψηλότερη συχνότητα υποτροπής και προόδου της επιφανειακής νεοπλασματικής νόσου. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι οι παράγοντες της κατηγορίας του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα β (TGF-

b) υπερεκφράζονται σε όγκους χαμηλής κακοήθειας, ως αναστολείς του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

2.11.9.στ. Ογκοκατασταλτικά γονίδια

Όπως έχει ήδη προαναφερθεί, το γονίδιο p53[170-172] παρουσιάζει αυξημένη συχνότητα μεταλλάξεων στους διηθητικούς όγκους. Στα επιφανειακά νεοπλάσματα, η ανοσοϊστοχημική έκφραση του p53 σχετίζεται με υψηλότερο στάδιο και grade, αυξημένη συχνότητα διηθητικής εξέλιξης, καθώς και μειωμένη επιβίωση. Αντίθετα, ο ρυθμός των υποτροπών δεν φαίνεται να έχει σχέση με την έκφραση του p53. Τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών για την προγνωστική αξία του γονιδίου του ρετινοβλαστώματος (Rb), ενισχύουν την άποψη ότι η απώλειά του έχει συσχετιστεί με δυσμενή εξέλιξη της νόσου[173-176].

2.11.9.ζ. Χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Ένα πολύ συχνό γενετικό σύμβαμα στον επιφανειακό καρκίνο της κύστης, είναι η απώλεια της ετεροζυγωτίας (LOH)[177-180] του χρωμοσώματος 9, η οποία σχετίζεται και με αυξημένη συχνότητα υποτροπής. Αντίθετα, στο CIS παρατηρείται συχνά LOH στα χρωμοσώματα 17 και 14q, ενώ στους διηθητικούς όγκους οι μεταλλάξεις του p53 αντιπροσωπεύουν την κύρια γενετική βλάβη. Άλλα γονίδια τα οποία δεν ανιχνεύονται φυσιολογικά, αλλά υπερεκφράζονται σε διηθητικούς όγκους είναι τα MAGE και H19 (το δεύτερο εντοπίζεται όταν υπάρχει CIS).

2.11.9.η. Αγγειογενετικοί παράγοντες

Όσον αφορά την προγνωστική σημασία της αγγειογένεσης στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως, έχει αποδειχθεί από μελέτες ότι σε επιθετικότερους όγκους (T_1G_3) παρατηρείται μεγαλύτερη αγγειογενετική δραστηριότητα και υψηλότερη συχνότητα υποτροπής και διήθησης[181-183]. Εξ άλλου, η παρατήρηση ότι ο VEGF εκφράζεται κυρίως σε επιφανειακά, ενώ ο PDECGF κυρίως σε διηθητικά νεοπλάσματα, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι

αγγειογενετικοί δρόμοι αυτών των δύο μορφών καρκίνου είναι διαφορετικοί. Η μέτρηση των μικροαγγείων ενός όγκου (microvessel count) αποτελεί χρήσιμο προγνωστικό δείκτη σε ένα πλήθος νεοπλασμάτων, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως. Στο διηθητικό δε καρκίνο, αυξημένη πυκνότητα μικροαγγείων έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης λεμφαδενικών μεταστάσεων και μείωση της πενταετούς επιβίωσης. Είναι αξιοσημείωτο επίσης να αναφερθεί ότι χαμηλή έκφραση του αντιαγγειογενετικού παράγοντα *θρομβοσπονδίνη-1*, αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα που επιφέρει μειωμένη επιβίωση[184,185].

2.12. Θεραπεία του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως

Η επιλεγόμενη θεραπευτική προσέγγιση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως, καθορίζεται από το κλινικό στάδιο της νόσου[27]. Ασθενείς με επιφανειακό νεόπλασμα, αρχικά υποβάλλονται σε διουρηθρική εξαίρεση του όγκου (TURT) και στη συνέχεια, ανάλογα με το στάδιο ή το βαθμό κακοήθειας, είτε εντάσσονται σε πρόγραμμα συστηματικής παρακολούθησης, είτε υποβάλλονται σε επικουρική ενδοκυστική θεραπεία. Παρακολούθηση ενδείκνυται σε μικρούς, πρωτοεμφανιζόμενους επιφανειακούς όγκους χαμηλής κακοήθειας (T_a grade I), στους οποίους ο κίνδυνος υποτροπής ή και διηθητικής εξέλιξης θεωρείται μικρός. Αντίθετα, σε ασθενείς με πολλαπλούς, μεγάλους και υποτροπιάζοντες όγκους, καθώς και σε εκείνους με όγκους T_1 ή συνοδό CIS (που θεωρούνται υψηλού κινδύνου), χορηγείται επικουρική ενδοκυστική θεραπεία. Ασθενείς με διηθητικούς όγκους T_2 ή T_3 είναι υποψήφιοι για ριζική κυστεκτομή, που μπορεί να συνοδευτεί από συστηματική χημειοθεραπεία ανάλογα με τα παθολογοανατομικά ευρήματα. Τοπικά εκτεταμένοι ή ανεγχείρητοι όγκοι (T_4) μπορούν να αντιμετωπιστούν αρχικά με συστηματική χημειοθεραπεία σε μια προσπάθεια μείωσης της νεοπλασματικής μάζας και στη συνέχεια με ακτινοθεραπεία ή χειρουργική επέμβαση, ανάλογα πάντα με την ανταπόκριση της νόσου στις εφαρμοζόμενες θεραπείες. Τέλος, οι ασθενείς με μεταστατική νόσο αντιμετωπίζονται με χημειοθεραπεία.

2.12.1. Θεραπεία του επιφανειακού καρκίνου

2.12.1.α. Διουρηθρική εκτομή (TURT)

Η διουρηθρική εκτομή αποτελεί την αρχική αντιμετώπιση οποιουδήποτε όγκου της ουροδόχου κύστεως[27]. Στο αποσταλόμενο προς βιοψία υλικό που προκύπτει από τη διουρηθρική εκτομή, θα πρέπει να περιλαμβάνεται και μυϊκός ιστός, ώστε να είναι δυνατός ο ακριβής καθορισμός του σταδίου. Όταν υπάρχει υπόνοια CIS ή θετική κυτταρολογική εξέταση ούρων, η TURT πρέπει να συνδυάζεται με τυχαίες βιοψίες της κύστης. Η υπό νάρκωση αμφίχειρη εξέταση πριν και μετά την TURT είναι σε θέση να αποκαλύψει υπολειμματική νόσο που μπορεί να οφείλεται σε ανεπαρκή εκτομή επιφανειακού όγκου ή σε διήθηση της μυϊκής στιβάδας. Η χρήση διαφόρων τύπων laser για την εκτομή του όγκου, φαίνεται ότι έχει ορισμένα πλεονεκτήματα σε σχέση με την κλασσική εκτομή με ηλεκτροτόμο (μικρότερη αιμορραγία, επέμβαση υπό τοπική αναισθησία και με εύκαμπτο κυστεοσκόπιο, μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην εκτομή όγκου που εντοπίζεται σε εκκολπώματα, πολύ μικρή πιθανότητα διάτρησης της κύστης, σπάνια ερεθισμός του θυροειδούς νεύρου κλπ.). Μειονέκτημα της χρήσης των laser θεωρείται η αδυναμία λήψης ιστού για σταδιοποίηση.

2.12.1.β. Κυστεκτομή

Η ριζική κυστεκτομή δεν έχει ένδειξη σε περιπτώσεις επιφανειακού καρκίνου της ουροδόχου κύστεως[27,186]. Εξαίρεση αποτελούν οι περιπτώσεις πολλαπλών, συμπτωματικών όγκων που είναι δυνατόν να εξαιρεθούν διουρηθρικά, καθώς και το CIS σε περιπτώσεις αποτυχίας της συντηρητικής θεραπείας με BCG.

2.12.1.γ. Ενδοκυστική θεραπεία

Η ενδοκυστική χορήγηση χημειοθεραπευτικών και ανοσοθεραπευτικών παραγόντων, αν και πρωτοπεριγράφτηκε το 1903, έγινε ιδιαίτερα δημοφιλής τη δεκαετία του 1980, ενώ έλαβε μεγάλες διαστάσεις τη δεκαετία του 1990[27]. Η μετεγχειρητική ενδοκυστική θεραπεία χορηγείται για τους εξής λόγους:

α) *Προφυλακτικά,* μετά από μια φαινομενικά πλήρη διουρηθρική εκτομή ενός όγκου με σκοπό την πρόληψη των υποτροπών

β) *Θεραπευτικά,* μετά από μια ατελή διουρηθρική εκτομή, με σκοπό την αντιμετώπιση του υπολειπόμενου όγκου ή τυχόν συνυπάρχοντος CIS.

γ) *Συμπληρωματικά,* μετά μια φαινομενικά πλήρη TURT, για την πρόληψη υποτροπής λόγω εμφύτευσης εναπομεινάντων νεοπλασματικών κυττάρων. Για το σκοπό αυτό χορηγείται, κατά τη μέση μετεγχειρητική περίοδο, μία εφάπαξ δόση ενός χημειοθεραπευτικού παράγοντα.

Προϋπόθεση για την αποτελεσματική δράση των χορηγούμενων παραγόντων είναι η ικανοποιητική συγκέντρωσή τους μέσα στην ουροδόχο κύστη, καθώς και η επαφή τους με το μη φυσιολογικό επιθήλιο[187]. Για αυτό το λόγο είναι απαραίτητο οι ασθενείς να περιορίζουν την ημερήσια λήψη υγρών πριν από την έγχυση και να αποφεύγουν την ούρηση για 1-2 ώρες μετά από αυτήν. Η κατάκληση σε διαφορετικές θέσεις κατά τη διάρκεια της θεραπείας, διευκολύνει την επαφή του φαρμάκου με όλη την επιφάνεια του κυστικού βλεννογόνου και πιθανόν αυξάνει την αποτελεσματικότητά του.

Πολλές προοπτικές μελέτες έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητα της ενδοκυστικής θεραπείας στην πρόληψη των υποτροπών των επιφανειακών όγκων της ουροδόχου κύστεως[188,189]. Θα πρέπει, σε αυτό το σημείο, να τονιστεί ότι κανείς από τους παράγοντες που χρησιμοποιούνται για ενδοκυστικές εγχύσεις δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως ιδανικός. Ιδανικό για ενδοκυστικές εγχύσεις θα ήταν ένα φάρμακο το οποίο με εφάπαξ χορήγηση, θα παρείχε απόλυτη προστασία τόσο από τις υποτροπές, όσο και από την εξέλιξη του όγκου σε διηθητικό, ενώ ταυτόχρονα θα είχε χαμηλή τοξικότητα αλλά και χαμηλό κόστος.

Η διάρκεια της ενδοκυστικής θεραπείας αποτελεί αντικείμενο εκτενών συζητήσεων[187-189]. Συνήθως, η αρχική φάση εφόδου ακολουθείται από μακρά περίοδο θεραπείας συντήρησης, στις περισσότερες δε περιπτώσεις, σε μηνιαία βάση. Παρόλα αυτά, η προφυλακτική αξία της θεραπείας συντήρησης για διάστημα μεγαλύτερο των έξι μηνών δεν έχει αποδειχθεί, τουλάχιστον σε όγκους ενδιάμεσου κινδύνου. Η πρακτική αυτή ενδείκνυται σε όγκους υψηλού κινδύνου για υποτροπή ή διηθητική εξέλιξη.

2.12.1.δ. Ενδοκυστική χημειοθεραπεία

Χημειοθεραπευτικοί παράγοντες που χορηγούνται ενδοκυστικά στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως είναι:

►**Thiotepa:** Είναι το παλαιότερο φάρμακο της κατηγορίας του[190-194]. Ανήκει στους αλκυλιούντες παράγοντες και δρα αναστέλλοντας τη σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων και, κατ' επέκταση, την πρωτεϊνοσύνθεση στα καρκινικά κύτταρα. Οι συνήθεις δόσεις είναι 30mg ή 60mg σε 30ml ή 60ml αντίστοιχα. Η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου, όταν χορηγείται θεραπευτικά, είναι περίπου 38%. Λόγω του χαμηλού μοριακού του βάρους (Μ.Β.=189), το φάρμακο μπορεί να απορροφηθεί με ευκολία από το ουροθήλιο, να εισέλθει στην κυκλοφορία και να προκαλέσει καταστολή του μυελού των οστών, η οποία εκδηλώνεται με τη μορφή λευκοπενίας (8-54%) ή θρομβοπενίας (3-31%). Η Thiotepa δεν είναι αποτελεσματική όσον αφορά την αντιμετώπιση του CIS.

►**Ethoglucid:** Το συγκεκριμένο χημειοθεραπευτικό, δεν προκαλεί καταστολή του μυελού, διότι δεν απορροφάται[195-197]. Η θεραπευτική του χορήγηση προκαλεί πλήρη ανταπόκριση στο 42% των περιπτώσεων. Όσον αφορά τις παρενέργειες του φαρμάκου, έχουν αναφερθεί ήπιες παροδικές παρενέργειες, οι οποίες βέβαια εξαφανίζονται με τη διακοπή της χορήγησής του.

►**Αδριαμυκίνη (Doxorubicin):** Πρόκειται για αντιβιοτικό, ιδιαίτερα τοξικό στη φάση S του κυτταρικού κύκλου[198-201]. Έχει υψηλό μοριακό βάρος (580Da) και για το λόγο αυτόν δεν απορροφάται συστηματικά. Η χρησιμοποιούμενη δόση κυμαίνεται από 30-100mg. Η δε αποτελεσματικότητα του φαρμάκου για τη θεραπεία υπολειμματικού όγκου είναι περίπου 38%. Η χρήση της αδριαμυκίνης για προφύλαξη έναντι των υποτροπών, δε φαίνεται να προσφέρει σημαντικό πλεονέκτημα. Περιπτώσεις χημικής κυστίτιδας αναφέρονται σε ποσοστό 25% των περιπτώσεων, μετά τη λήψη του φαρμάκου.

►**Epirubicin:** Πρόκειται για παράγωγη ουσία της αδριαμυκίνης, με σαφώς μικρότερη τοξικότητα[202,203]. Περιπτώσεις ασθενών με χημική κυστίτιδα αναφέρονται σε ποσοστό 7-14%. Μελέτη της EORTC έδειξε ότι η εφάπαξ ενδοκυστική χορήγηση 80mg επιρουμπικίνης κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο μειώνει το ρυθμό υποτροπής της νόσου κατά 50% περίπου. Είναι πιθανόν ότι το φάρμακο δρα έναντι μη εμφανούς υπολειπόμενου όγκου, αλλά

και αποτρέποντας την εμφύτευση καρκινικών κυττάρων. Στην ίδια μελέτη[202] δείχθηκε ότι η επιρουμπικίνη δεν επηρεάζει τη διηθητική εξέλιξη του όγκου ούτε αυξάνει την επιβίωση. Η αποτελεσματικότητα της επιρουμπικίνης είναι παραπλήσια με εκείνη της μιτομυκίνης.

►**Mitoxantrone:** Πρόκειται για συνθετικό χημειοθεραπευτικό παράγοντα με δομή και λειτουργία παρόμοια με αυτή της δοξορουβικίνης[204-206]. Έχει χορηγηθεί προφυλακτικά μετά από διουρηθρική εκτομή όγκων T_a και T_1, σε δόσεις που κυμαίνονται από 5-20mg. Η αποτελεσματικότητά της είναι περίπου στο 64%. Σε γενικές γραμμές μπορούμε να πούμε ότι η μιτοξαντρόνη είναι καλά ανεκτή με δοσοεξαρτόμενη τοξικότητα.

►**Mitomycin C (MMC):** Πρόκειται για ένα αντιβιοτικό που δρα αναστέλλοντας τη σύνθεση του DNA[207-210]. Λόγω του υψηλού μοριακού της βάρους (334Da), η απορρόφησή της στις συνήθως χρησιμοποιούμενες δόσεις (20-60mg) είναι ασήμαντη. Κατ' επέκταση, η συστηματική τοξικότητά της είναι ελάχιστη. Πλήρης ανταπόκριση μετά τη χορήγηση MMC παρατηρείται στο 40% των όγκων, ενώ μερική στο 35% περίπου. Το φάρμακο αυτό έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό και στην πρόληψη των υποτροπών των επιφανειακών όγκων. Η εφάπαξ έγχυση μιας δόσης MMC κατά την περιεγχειρητική περίοδο υπερέχει της απλής παρακολούθησης για αυτό και συνιστάται. Σε ασθενείς υψηλού κινδύνου, εκτός του σχήματος εφόδου, ενδείκνυται και η συνέχιση της θεραπείας με σχήματα συντήρησης. Ο συνδυασμός της MMC με άλλα χημειοθεραπευτικά ή ανοσοθεραπευτικά φάρμακα έχει δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην πρόληψη των υποτροπών των επιφανειακών όγκων και του CIS. Ανεπιθύμητες ενέργειες αναφέρονται βιβλιογραφικά σε ποσοστό 10-45% και είναι κυρίως τοπικές. Συνηθέστερη είναι η χημική κυστίτιδα (5-40%), ενώ σπανίως έχουν αναφερθεί ίνωση και αποτιτανώσεις του τοιχώματος της ουροδόχου κύστεως και ηωσινοφιλική κυστίτιδα. Διάφορες δερματικές αντιδράσεις όπως εξάνθημα στην περιοχή των γεννητικών οργάνων, απολέπιση των παλαμών αλλά και γενικευμένο εξάνθημα, δεν είναι σπάνια και έχουν αποδοθεί είτε σε δερματίτιδα εξ επαφής, είτε σε επιβραδυνόμενη αντίδραση υπερευαισθησίας. Προληπτικά συνιστάται ο προσεκτικός καθαρισμός των χεριών καθώς και των γεννητικών οργάνων.

2.12.1.ε. Ενδοκυστική ανοσοθεραπεία

Ουσιαστικά πρόκειται για ενδοκυστική θεραπεία χορήγησης παραγόντων-τροποποιητών της βιολογικής απάντησης (*biological response modifiers*), οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να προκαλούν αλλαγές στην τοπικο-περιοχική ανοσολογική απάντηση του οργανισμού απέναντι στο νεόπλασμα. Οι αλλαγές αυτές περιλαμβάνουν διαφοροποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που διηθούν έναν όγκο, αύξηση της έκφρασης διαφόρων κυτοκινών ή άλλων παραγόντων κα., με τελικό αποτέλεσμα την καταστροφή των νεοπλασματικών κυττάρων.

►**Bacillus Calmette-Guerin (BCG):** Το αντιφυματικό εμβόλιο BCG αποτελείται από εξασθενημένα στελέχη του Mycobacterium bovis, η δε ενδοκυστική χορήγησή του αποτελεί μορφή της ονομαζόμενης «ενεργητικής μη ειδικής ανοσοθεραπείας»[211-213]. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης του BCG στους επιφανειακούς όγκους της ουροδόχου κύστεως δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Η αρχική αντίληψη ότι η αποτελεσματικότητά του οφείλεται σε μη ειδικά φαινόμενα (λχ. διαβρωτική κυστίτιδα) δεν φαίνεται να ισχύει και όλες οι υπάρχουσες ενδείξεις (πειραματικές και κλινικές) προσανατολίζουν προς το σημαντικό ρόλο που παίζει το ανοσολογικό σύστημα. Αρχικά το BCG προσκολλάται στο τοίχωμα της κύστης και μάλιστα σε θέσεις με λύση της συνέχειας του ουροθηλίου (αυτό προκαλείται από χημικό ή ηλεκτρικό ερεθισμό). Η σύνδεση του μορίου του BCG γίνεται με μια γλυκοπρωτεϊνική ουσία μοριακού βάρους 440Kda, τη φιμπρονεκτίνη, η οποία εκφράζεται κυρίως στη βασική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων. Η σύνδεση αυτή με τη φιμπρονεκτίνη επάγει μια ανοσολογική απάντηση εκ μέρους του οργανισμού, τόσο σε τοπικό όσο και σε συστηματικό επίπεδο. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της τοπικής ανοσολογικής διέγερσης είναι η διήθηση του τοιχώματος της κύστης από ανοσοϊκανά κύτταρα (λεμφοκύτταρα, μονοπύρηνα), τα οποία και συναθροίζονται σε κοκκιώματα (BCG-induced granulomas) και παραμένουν σε ενεργή κατάσταση για μακρό χρονικό διάστημα. Η αύξηση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας τάξης ΙΙ (MCH class II), τόσο στα φυσιολογικά όσο και στα νεοπλασματικά κύτταρα, καθώς και η ανίχνευση κυτοκινών (IL-1, IL-2, TNF) στο τοίχωμα της κύστης, θεωρούνται επιπρόσθετα χαρακτηριστικά της τοπικής ανοσολογικής απάντησης. Εξ άλλου, η ενδοκυστική χορήγηση BCG προκαλεί σημαντική αύξηση διαφόρων

κυτοκινών που εκκρίνονται στα ούρα, όπως οι IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α και β, και IFN-γ. Όπως είναι γνωστό, οι κυτοκίνες είναι ιδιαίτερα τοξικές έναντι των νεοπλασματικών κυττάρων, πολλές δε από αυτές έχουν και αγγειογενετική δράση.

Η ενδοκυστική χορήγηση BCG ενδείκνυται κυρίως σε νεοπλάσματα υψηλής επικινδυνότητας, όπως οι T_1G_3 όγκοι και το CIS. Στη διεθνή βιβλιογραφία[214,215], η αποτελεσματικότητα του BCG στην πρόληψη των υποτροπών, κυμαίνεται από 58 έως και 90%, ενώ η θεραπευτική του χορήγηση για την αποτελεσματική εκρίζωση του υπολειμματικού όγκου, έχει ποσοστό επιτυχίας 60-70%. Εξ άλλου το BCG αποτελεί πλέον την πρώτη θεραπευτική επιλογή του CIS, με αποτελεσματικότητα περίπου 70% μετά από ένα κύκλο και 82% μετά από ένα δεύτερο. Η χορήγηση ενός δεύτερου κύκλου 6 εβδομαδιαίων εγχύσεων BCG σε ασθενείς που υποτροπίασαν μετά τον πρώτο, φαίνεται ότι αυξάνει το ποσοστό ανταπόκρισης χωρίς σημαντική αύξηση τοξικότητας.

Παρενέργειες από τη χρήση του BCG αναφέρονται σχετικά συχνά, πιθανόν επειδή ο βάκιλος Calmette-Guerin[207] είναι ζωντανός μικροοργανισμός που μπορεί να προκαλέσει τοπική, περιοχική ή ακόμη και συστηματική φλεγμονή, ανάλογα με τις ιδιαίτερες συνθήκες και την ανοσολογική επάρκεια του ξενιστή. Σοβαρές παρενέργειες από την ενδοκυστική χορήγηση BCG θεωρούνται οι αλλεργικές αντιδράσεις και η γενικευμένη λοίμωξη (“generalized BCGitis” ή BCG sepsis). Οι αλλεργικές αντιδράσεις (~1%) μπορεί να εκδηλωθούν με δερματικά εξανθήματα ή με αρθρίτιδα και μεταναστεύουσα αρθραλγία.

►**Ιντερφερόνες:** Πρόκειται για ουσίες με αντινεοπλασματικές και ανοσοδιεγερτικές ιδιότητες, οι οποίες εκκρίνονται από διάφορα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού, ως τελικό αποτέλεσμα διαφόρων ερεθισμάτων[216-220]. Μέχρι τώρα έχουν αναγνωριστεί 3 κλάσεις ιντερφερονών, οι IFNα, IFNβ και IFNγ που παράγονται από τα λευκοκύτταρα, τους ινοβλάστες και τα Τ λεμφοκύτταρα, αντίστοιχα. Στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης έχει μελετηθεί και χρησιμοποιείται στην καθημερινή κλινική πράξη, η IFNα. Η ουσία αυτή, εκτός από τη μείωση του πολλαπλασιασμού των νεοπλασματικών κυττάρων που προκαλεί, φαίνεται ότι διεγείρει τα NK (natural killer) κύτταρα και αυξάνει την έκφραση των αντιγόνων MHC στα καρκινικά κύτταρα, γεγονός που

διευκολύνει την καταστροφή τους. Χορηγούμενη θεραπευτικά, η IFNα προκαλεί εξάλειψη του υπολειπόμενου όγκου στο 25% των περιπτώσεων. Η προφυλακτική χορήγηση δε της IFNα μετά την πλήρη εκτομή ενός όγκου, είναι λιγότερο αποτελεσματική σε σύγκριση με εκείνη του BCG, η τοξικότητα της οποίας είναι σαφώς μικρότερη. Η IFNα μπορεί να προκαλέσει γριπποειδή συνδρομή σε ποσοστό 18%. Η αποτελεσματικότητα της IFNα προς το παρόν ερευνάται σε διάφορες μελέτες.

►**Ιντερλευκίνες:** Ανήκουν στις λεμφοκίνες (όπως άλλωστε και οι ιντερφερόνες) και θεωρούνται ενδογενείς ουσίες με νεοπλασματική δράση. Έχει αποδειχθεί ότι η ενδοκυστική χορήγηση BCG αυξάνει το επίπεδο των εκκρινόμενων στα ούρα ιντερλευκινών και αυτό είναι ένδειξη ότι αυτές οι ουσίες ίσως να ενισχύουν την αντινεοπλασματική δράση του BCG. Η απ' ευθείας ενδοκυστική έγχυση ιντερλευκινών βρίσκεται ακόμα σε πειραματικό στάδιο[221-225].

►**Bropirimine:** Πρόκειται για ουσία που ανήκει στην κατηγορία εκείνων των παραγόντων που επηρεάζουν την ανοσολογική απάντηση του οργανισμού (*biological response modifiers*)[226-230]. Όπως έχει δειχθεί σε μοντέλα (υπάρχουν ενδείξεις για παρόμοια δράση και στον άνθρωπο), η bropirimine προάγει την έκκριση ιντερφερόνης, τροποποιεί την έκκριση άλλων λεμφοκινών και ασκεί αντιϊική και αντικαρκινική δράση. Η bropirimine χορηγείται από το στόμα και φαίνεται να είναι δραστική στο CIS της κύστης και του ανώτερου ουροποιητικού συστήματος. Στις παρενέργειες του φαρμάκου έχουν αναφερθεί η γριπποειδής συνδρομή (εμπύρετο, κεφαλαλγία, ρίγος, αδυναμία – καταβολή, μυοαρθραλγίες) και η καρδιακή αρρυθμία.

2.12.2. Θεραπεία του CIS

Ενώ μέχρι και τη δεκαετία του 1970 η κυστεκτομή αποτελούσε την αρχική (ίσως και τη μοναδική) θεραπεία για το CIS ουροδόχου κύστεως, η έναρξη της χρήσης του BCG υπό τη μορφή ενδοκυστικών εγχύσεων, άλλαξε τη θεραπευτική προσέγγιση σε αυτή τη μορφή του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως[207]. Η αποτελεσματικότητα του BCG στο CIS είναι περίπου στο 70%. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ασθενείς στους οποίους ο πρώτος κύκλος BCG δεν είχε τα επιθυμητά αποτελέσματα, είναι πολύ πιθανό οι ίδιοι ασθενείς

να ανταποκριθούν σε ένα δεύτερο κύκλο χορήγησης του φαρμάκου. Η πιθανότητα υποτροπής της νόσου μειώνεται αν χορηγηθεί και θεραπεία συντήρησης. Η πρώιμη υποτροπή μετά τον πρώτο κύκλο BCG πρέπει να ακολουθείται από επανεκτίμηση του ασθενή για τον αποκλεισμό διηθητικής νόσου ή εξωκυστικού CIS (προστατικής ουρήθρας ή αποχετευτικής μοίρας). Το CIS της προστατικής ουρήθρας μπορεί επίσης να αντιμετωπιστεί με BCG (με πιθανότητα ανταπόκρισης που κυμαίνεται μεταξύ 45-80%), ενώ μερικοί προτείνουν την πραγματοποίηση και διουρηθρικής προστατεκτομής πριν από τις εγχύσεις. Πάντως, οι ασθενείς με CIS που δεν ανταποκρίθηκαν στο BCG θα πρέπει γενικά να θεωρούνται υποψήφιοι για κυστεκτομή. Να σημειωθεί ότι το 10% από αυτούς τους ασθενείς, έχει ήδη λεμφαδενικές ή συστηματικές μεταστάσεις τη στιγμή της διάγνωσης[231,232].

Εναλλακτικές μορφές θεραπείας του CIS θεωρούνται η από του στόματος χορήγηση bropirimine καθώς και η φωτοδυναμική θεραπεία. Είναι ενδιαφέρον ότι η θεραπεία με bropirimine μπορεί να είναι αποτελεσματική ακόμη και στους μη ανταποκριθέντες στο BCG, αν και ελλείπουν ακόμη μακροχρόνια αποτελέσματα. Η φωτοδυναμική θεραπεία περιλαμβάνει την ενδοφλέβια χορήγηση ενός μίγματος πορφυρινών, όπως είναι το HPD (hematoporphyrin derivate), το οποίο έχει την ιδιότητα να συγκεντρώνεται κατά προτίμηση σε νεοπλασματικές και δυσπλαστικές περιοχές και να καθίσταται κυτταροτοξικό όταν ενεργοποιηθεί από το φως (όπως πχ. συμβαίνει με τις ακτίνες laser). Πιστεύεται δε ότι η παρατηρούμενη κυτταροτοξικότητα οφείλεται στη δημιουργία στοιχειακού οξυγόνου, το οποίο με τη σειρά του προκαλεί καταστροφή των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων των καρκινικών κυττάρων. Η θεραπεία αυτή έχει το θεωρητικό πλεονέκτημα ότι είναι εκλεκτική, είναι σε θέση όμως να προκαλέσει βλάβη στο μυϊκό τοίχωμα της ουροδόχου κύστεως με τελικό αποτέλεσμα την ίνωση και ρίκνωσή της. Η δερματική φωτοευαισθησία αποτελεί μια άλλη επιπλοκή της φωτοδυναμικής θεραπείας[233-235].

2.12.3. Θεραπεία του διηθητικού καρκίνου

Η θεραπευτική αντιμετώπιση των διηθητικών όγκων T_2-T_4 περιλαμβάνει την κυστεκτομή (ριζική ή μερική), την ακτινοβολία, τη χημειοθεραπεία ή συνδυασμό όλων των προαναφερόμενων θεραπειών[236-240]. Η πραγματοποίηση μόνο διουρηθρικής εκτομής είναι, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, ανεπαρκής μέθοδος ριζικής αντιμετώπισης αυτών των όγκων. Εξαίρεση στον κανόνα αποτελούν οι μικροί, καλώς διαφοροποιημένοι όγκοι που διηθούν μόνο επιφανειακά τη μυϊκή στιβάδα (T_2), καθώς και εκείνοι σε ασθενείς ακατάλληλους για χειρουργική επέμβαση. Σε αυτές τις περιπτώσεις πρέπει μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα, να ακολουθεί μια δεύτερη χειρουργική επέμβαση ("second look") ώστε να αυξηθεί, με αυτόν τον τρόπο, η πιθανότητα ριζικής εξαίρεσης του όγκου.

2.12.3.α. Ριζική κυστεκτομή

Αποτελεί το χρυσό κανόνα (*gold standard)* στην αντιμετώπιση της μη μεταστατικής διηθητικής νόσου[241,242]. Η πραγματοποίησή της ενδείκνυται σε τοπικο-περιοχικά εντοπισμένους όγκους (T_2-T_{4a}, N_0-N_x, M_0), ενώ μπορεί να εφαρμοστεί και ως θεραπεία διάσωσης *(salvage cystectomy)* σε ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν σε συντηρητικές μεθόδους ή υποτροπίασαν μετά από αυτές. Εξ άλλου, η ριζική κυστεκτομή αποτελεί την αποτελεσματικότερη μέθοδο αντιμετώπισης και των καρκινωμάτων που δεν εξορμώνται από το μεταβατικό επιθήλιο (αδενοκαρκίνωμα, καρκίνωμα εκ πλακώδους επιθηλίου). Αντένδειξη για την εκτέλεση της κυστεκτομής αποτελεί η συνύπαρξη σοβαρών ιατρικών προβλημάτων που ενδέχεται να μειώσουν το προσδόκιμο επιβίωσης του ασθενή. Η ριζική κυστεκτομή στον άνδρα, περιλαμβάνει την en block αφαίρεση της κύστης, του προστάτη αδένα και των σπερματοδόχων κύστεων *(ριζική κυστεο-προστατεκτομή)*, ενώ στη γυναίκα η κύστη αφαιρείται μαζί με τη μήτρα, τα εξαρτήματα, την ουρήθρα και το πρόσθιο τοίχωμα του κόλπου *(πρόσθια εξεντέρωση)*. Κατά τη διάρκεια της επέμβασης, τα τελικά άκρα των ουρητήρων αποστέλλονται για ταχεία βιοψία, ώστε να αποκλειστεί η πιθανότητα διήθησής τους από τον όγκο ή από συνυπάρχον CIS. Αναπόσπαστο τμήμα της κυστεκτομής παραμένει η πυελική λεμφαδενεκτομή, ο ρόλος της οποίας έχει αποτελέσει αντικείμενο αντιπαράθεσης.

Αναμφισβήτητα, η αφαίρεση των πυελικών λεμφαδένων έχει προγνωστική σημασία, αφού λεμφαδενικές μεταστάσεις (οι οποίες παρατηρούνται στο 10-30% των T_2 και το 30-65% των T_3-T_4 όγκων) συνεπάγονται με κακή πρόγνωση. Η θεραπευτική αξία της λεμφαδενεκτομής όμως, δεν έχει τεκμηριωθεί απόλυτα, παρόλο που κάποιοι συγγραφείς αναφέρουν αυξημένη επιβίωση μετά από εκτεταμένο (μέχρι και το διχασμό της αορτής) λεμφαδενικό καθαρισμό, σε ασθενείς με διηθητικό καρκίνο. Η ουρηθρεκτομή αποτελούσε μέχρι πρόσφατα αναπόσπαστο τμήμα της κυστεκτομής, ιδίως στη γυναίκα, στην οποία η διατήρηση της ουρήθρας δεν αποτελούσε πρώτη προτεραιότητα για το χειρουργό, επειδή η κατασκευή ορθοτοπικής νεοκύστης θεωρούνταν αδύνατη. Η σύγχρονη άποψη όμως, είναι ότι η ουρηθρεκτομή θα πρέπει να γίνεται μόνο όταν ο όγκος επεκτείνεται στην προστατική ουρήθρα (στον άνδρα) ή στο τρίγωνο (στη γυναίκα), περιπτώσεις στις οποίες ο κίνδυνος υποτροπής της νόσου μετά την κυστεκτομή είναι πολύ μεγάλος.

Επιπλοκές της ριζικής κυστεκτομής αναφέρονται σε ποσοστό 25% και σχετίζονται τόσο με την επέμβαση αυτή καθ' αυτή, όσο και με συμπαρομαρτούσες παθολογικές καταστάσεις[243]. Η θνητότητα της επέμβασης υπολογίζεται σε 1-2%. Καρδιοαναπνευστική ανεπάρκεια παρατηρείται αρκετά συχνά σε ασθενείς με διηθητικό καρκίνο της ουροδόχου κύστης, γεγονός που αποτελεί επιπλέον επιβαρυντικό παράγοντα για τη χειρουργική επέμβαση. Η πνευμονική εμβολή είναι σπάνια (2%), όπως και η τρώση του ορθού (<1%). Μεγάλη αιμορραγία είναι πολύ σπάνια, είναι όμως δυνατόν να εμφανιστεί κατά τη διάρκεια της επέμβασης. Άλλες επιπλοκές που μπορεί να παρουσιαστούν είναι ο αποφρακτικός ειλεός, το στένωμα της ουρητηρο-εντερικής αναστόμωσης, καθώς και άλλες διαταραχές όπως μεταβολικές διαταραχές, ουρολοιμώξεις κ.α.

Η κυστεκτομή θα πρέπει να ακολουθείται από συστηματική περιοδική παρακολούθηση των ασθενών, ώστε να διαγνωσθεί τυχόν υποτροπή της νόσου και να αναγνωριστούν έγκαιρα οι πιθανές μεταβολικές διαταραχές[244]. Η πενταετής επιβίωση των ασθενών που υποβάλλονται σε κυστεκτομή αναφέρεται περίπου στο 40-60%, ανάλογα με το στάδιο. Το ποσοστό αυτό δεν έχει βελτιωθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια, παρά τη χρήση προεγχειρητικής ακτινο- ή χημειοθεραπείας. Είναι άξιο λόγου ότι σε ένα ποσοστό 10% των χειρουργικών παρασκευασμάτων μετά από κυστεκτομή

δεν μπορεί να αναγνωριστεί ο όγκος (στάδιο pT_0), προφανώς λόγω της ριζικής TURT που προηγήθηκε[245]. Το εύρημα αυτό όμως, δεν συνεπάγεται κατ'ανάγκη και αυξημένη επιβίωση.

2.12.3.β. Μερική κυστεκτομή

Ο ρόλος της μερικής κυστεκτομής στην αντιμετώπιση του διηθητικού καρκίνου είναι σήμερα περιορισμένος[246,247]. Μερική κυστεκτομή μπορεί να εφαρμοστεί σε περιπτώσεις μονήρους όγκου εντοπιζόμενου σε περιοχή της κύστης που να επιτρέπει τη χειρουργική εξαίρεση του όγκου επί υγιών ορίων, όπως είναι ο θόλος, καθώς και σε όγκους που εντοπίζονται σε εκκολπώματα της ουροδόχου κύστεως. Ασφαλής θεωρείται η εξαίρεση 2cm φυσιολογικού τοιχώματος της κύστης περιμετρικά του όγκου. Επιπρόσθετες προϋποθέσεις είναι η καλή λειτουργικότητα και η επαρκής χωρητικότητα της κύστης. Η συνύπαρξη CIS αποτελεί απόλυτη αντένδειξη για την πραγματοποίηση της επέμβασης[248-250].

2.12.3.γ. Ακτινοθεραπεία

Σε περιπτώσεις ασθενών με όγκους T_2-T_3, N_0, M_0, η ακτινοθεραπεία αποτελεί εναλλακτική της κυστεκτομής, θεραπευτική μέθοδο[251]. Εφαρμόζεται συνήθως με τη μορφή εξωτερικής ακτινοβολίας (30-40 συνεδρίες μέχρι συνολικής δόσης 68Gy). Εναλλακτικός τρόπος μεταφοράς της ακτινοβολίας σε μικρούς (<5cm) όγκους είναι η βραχυθεραπεία με ιρίδιο, ταντάλιο ή καίσιο, η οποία εφαρμόζεται σε ορισμένα κέντρα. Η πενταετής επιβίωση των ασθενών που υποβάλλονται σε εξωτερική ακτινοβολία είναι 25-60% για το στάδιο T_2 και 20-40% για το στάδιο T_3. Τα ποσοστά αυτά θεωρούνται ικανοποιητικά, όμως στο 50% των περιπτώσεων η νόσος υποτροπιάζει τοπικά, άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα μετά τη θεραπεία. Πρέπει δε να σημειωθεί ότι προς το παρόν, δεν υπάρχουν προοπτικές τυχαιοποιημένες μελέτες, που να συγκρίνουν την αποτελεσματικότητα της ριζικής κυστεκτομής με εκείνη της εξωτερικής ακτινοβολίας[252].

Η ακτινοθεραπεία είναι αποτελεσματικότερη σε μονήρεις, μικρού μεγέθους και χαμηλού σταδίου όγκους, ενώ η συνύπαρξη CIS φαίνεται να

αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα. Συμπτώματα ερεθισμού της κύστεως, πρωκτίτιδα καθώς και εντερίτιδα, παρατηρούνται συχνά μετά την εφαρμογή της ακτινοβολίας, συνήθως όμως οι παρενέργειες αυτές είναι παροδικές και εύκολα ελεγχόμενες. Παρ' όλα αυτά, επιμονή των επιπλοκών παρατηρείται σε ποσοστό ~5% των ασθενών. Τέλος, μετακτινική στυτική δυσλειτουργία εμφανίζουν τα 2/3 των ανδρών ασθενών[253].

Εκτός από τη χρήση της ως ριζικής θεραπευτικής μεθόδου, η ακτινοβολία έχει εφαρμοστεί σε διάφορα θεραπευτικά πρωτόκολλα πριν από την πραγματοποίηση κυστεκτομής, με σκοπό την αντιμετώπιση τυχόν τοπικής επέκτασης του όγκου και με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται και σημαντική μείωση της πιθανής τοπικής υποτροπής. Ενώ όμως αυτή η θεραπευτική πρακτική αποδείχθηκε, σε ορισμένες κλινικές μελέτες, πολύ αποτελεσματική, η επιβίωση των ασθενών δε φαίνεται να βελτιώνεται[254,255].

2.12.3.δ. Χημειοθεραπεία

Απόλυτη ένδειξη για τη χορήγηση χημειοθεραπείας, αποτελεί ο μεταστατικός καρκίνος της ουροδόχου κύστεως[143,144]. Έχει υπολογιστεί ότι το 30-40% των ασθενών με διηθητικό καρκίνο θα αναπτύξουν τελικά μεταστάσεις, ανεξάρτητα αν υποβληθούν σε κυστεκτομή ή ριζική ακτινοθεραπεία. Τα νέα σχήματα πολυδύναμης χημειοθεραπείας, έχουν αποδειχθεί περισσότερο δραστικά από τη μονοθεραπεία. Εκτός όμως από το μεταστατικό νεόπλασμα, χημειοθεραπεία μπορεί να χορηγηθεί και στις εξής περιπτώσεις[256,257]: 1) προεγχειρητικά (εισαγωγική ή νέο-επικουρική χημειοθεραπεία, *neoadjuvant chemotherapy*), 2) περιεγχειρητικά και 3) μετεγχειρητικά (συμπληρωματική χημειοθεραπεία, *adjuvant chemotherapy*). Η χημειοθεραπεία στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως έχει αποκτήσει τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερη σημασία, λόγω της ανάπτυξης και της εφαρμογής διαφόρων πρωτοκόλλων διατήρησης της κύστεως (*bladder preservation protocols)*, τα οποία στοχεύουν μεταξύ των άλλων και στη βελτίωση της ποιότητας της ζωής των ασθενών.

Παράγοντες που θεωρούνται προγνωστικοί ευνοϊκού αποτελέσματος στους ασθενείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία, είναι η ηλικία κάτω των 60 ετών, η καλή φυσική κατάσταση, η μικρού βαθμού λεμφαδενική νόσος, η

μη απώλεια βάρους πριν την έναρξη της θεραπείας και τέλος τα χαμηλά επίπεδα αλκαλικής φωσφατάσης στον ορό. Οι παράγοντες αυτοί θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψη όταν αποφασίζεται η χορήγηση χημειοθεραπείας σε ασθενείς με μεταστατικό νεόπλασμα της κύστης[258].

Εκτός από τις περιπτώσεις μεταστατικής νόσου, χημειοθεραπευτικά σχήματα χορηγούνται και προεγχειρητικά *(neoadjuvant chemotherapy)*, με σκοπό την εκρίζωση τυχόν μικρομεταστάσεων ή τη συρρίκνωση ενός τοπικά εκτεταμένου όγκου, με την ελπίδα ότι αυτός μπορεί να καταστεί εξαιρέσιμος *(tumour downstaging)*. Η χορήγηση δε προεγχειρητικής χημειοθεραπείας, καταδεικνύει και τη «χημειοευαισθησία» ενός όγκου, γεγονός που έχει προγνωστική αξία, αφού η απουσία ανταπόκρισης μειώνει τις πιθανότητες αποτελεσματικής αντιμετώπισης τυχόν μεταστατικών εστιών. Μειονέκτημα της προεγχειρητικής χημειοθεραπείας θεωρείται η καθυστέρηση στη χορήγηση οριστικής θεραπείας σε περίπτωση που ο όγκος είναι χημειοανθεκτικός. Γενικά πάντως, η χρησιμότητα της χορήγησης προεγχειρητικής χημειοθεραπείας (τουλάχιστον όσον αφορά την επιβίωση των ασθενών) δεν έχει πλήρως επιβεβαιωθεί σε προοπτικές τυχαιοποιημένες μελέτες. Εξ ίσου αμφίβολη παραμένει και η χρησιμότητα προληπτικής ή συμπληρωματικής χορήγησης χημειοθεραπείας μετά την κυστεκτομή *(adjuvant chemotherapy).* Υπάρχουν ενδείξεις ότι από τη χορήγηση μετεγχειρητικής χημειοθεραπείας πιθανόν ωφελούνται περισσότερο οι ασθενείς με pT_3 νόσο και ίσως και εκείνοι με pT_4 ή με μικροσκοπικές λεμφαδενικές μεταστάσεις. Πάντως, η απόφαση για χορήγηση ή μη συμπληρωματικής χημειοθεραπείας μετά την κυστεκτομή θα πρέπει, σε κάθε περίπτωση, να εξατομικεύεται[259,260].

2.12.3.ε. Συνδυασμένη θεραπεία διατήρησης της ουροδόχου κύστεως

Η ελκυστική προοπτική της διατήρησης της ουροδόχου κύστεως σε ασθενείς με διηθητικό καρκίνο, οδήγησε στην ανάπτυξη διαφόρων θεραπευτικών συνδυασμών χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας[261]. Η θεραπευτική αυτή προσέγγιση έχει αποτελέσει αντικείμενο έντονης κριτικής και προς το παρόν θεωρείται ερευνητική. Οι ασθενείς τίθενται σε πρωτόκολλα εντατικής παρακολούθησης με κυστεοσκοπήσεις και πολλαπλές βιοψίες, ώστε να είμαστε σε θέση να διαγνώσουμε έγκαιρα τυχόν υποτροπές του όγκου.

Διατήρηση της κύστης επιτυγχάνεται στο 40% των περιπτώσεων, ενώ ευνοϊκοί προγνωστικοί παράγοντες θεωρούνται το μικρό μέγεθος του όγκου, η απουσία υδρονέφρωσης, η μακροσκοπική εξαίρεση όλου του όγκου, καθώς και η πλήρης ύφεση μετά από τη χημειοθεραπεία. Η θεραπευτική αυτή προσέγγιση έχει ήδη εφαρμοστεί σε κάποιες περιπτώσεις ασθενών με μονήρη, διηθητικό καρκίνο σταδίου T_2, στον οποίο προηγήθηκε προσπάθεια πλήρους αφαίρεσής του διουρηθρικά *("ριζική TURT")*[262].

3ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Ο ιός του θηλώματος του ανθρώπου (HPV)

3.1. Γενικά στοιχεία

Οι μυρμηγκιές (warts) είναι ακίνδυνα δερματικά εξογκώματα, που εμφανίζονται συνήθως στα χέρια και τα πόδια. Οι συνηθισμένες μυρμηγκιές έχουν όψη "κουνουπιδιού" ή μοιάζουν με μαύρες κουκίδες μέσα σε ένα λευκό πυρήνα. Προκαλούνται από τον ιό του θηλώματος του ανθρώπου (HPV). Η μόλυνση από αυτόν τον ιό προκαλεί σε επίπεδο δέρματος, ταχύ πολλαπλασιασμό των κυττάρων των διαφόρων δερματικών στιβάδων, με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται καλοήθη εξογκώματα που είναι περισσότερο ενοχλητικά, αλλά και ιδιαίτερα μεταδοτικά. Υπάρχουν πάνω από 130 διαφορετικοί υποτύποι του ιού HPV. Οι μυρμηγκιές εμφανίζονται συνήθως όταν υπάρχει μια μεγάλη σχισμή στο δέρμα τη στιγμή που το άτομο μολύνεται με τον ιό του HPV ή σε περιοχές όπου το δέρμα εκτίθεται σε υπερβολική υγρασία.

Από τις αρχές του 20ού αιώνα, υπήρξαν οι πρώτες ενδείξεις για τη μολυσματική φύση των ανθρώπινων αλλά και των ζωϊκών περιοχών με μυρμηγκιές[263]. Ο Rous και συν. προσπάθησαν μέσα από διάφορα πειραματικά μοντέλα ήδη από τη δεκαετία του ’30 και για τα επόμενα είκοσι χρόνια, να συσχετίσουν τις μολύνσεις αυτές με την ανάπτυξη καρκίνων καθώς και να μελετήσουν την ανάπτυξή τους με άλλους καρκινογενετικούς παράγοντες. Ήδη από το 1949, με τη βοήθεια μεθόδων ηλεκτρομικροσκοπίας, έγιναν οι πρώτες προσπάθειες για την οπτικοποίηση σωματιδίων ιών θηλώματος σε ανθρώπινες μυρμηγκιές[264]. Μόλις το 1963 ο Crawford και συν. κατάφερε να αποκαλύψει τη δομή του γονιδιώματος του ιού του ανθρώπινου θηλώματος[265]. Η προφανής καλοήθης φύση των ανθρώπινων μυρμηγκιών καθώς και η μη διαθεσιμότητα ειδικών συστημάτων κυτταροκαλλιεργειών, δεν

βοήθησαν στη διεξαγωγή αρκετών πειραμάτων τα χρόνια που ακολούθησαν. Το 1959 για πρώτη φορά αναφέρθηκε η επαγωγή όγκων της ουροδόχου κύστεως σε βοοειδή, που προκλήθηκε από έναν ιό θηλώματος των βοοειδών, που βρισκόταν σε ινωθηλώματα του δέρματος. Πειραματικές μελέτες που έγιναν, έδειξαν ότι οι ιοί αυτοί εμφανίζουν ογκογόνο δυναμικό σε ποντίκια χάμστερ[266] καθώς και σε μετασχηματισμένα κύτταρα βοοειδών και σε ποντίκια σε κυτταροκαλλιέργιες[267].

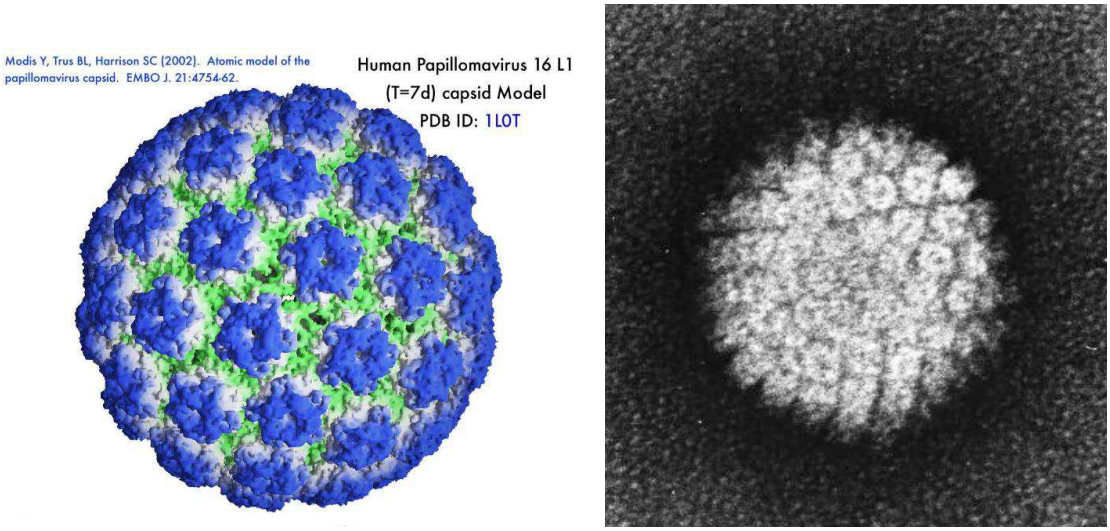
Μια σπάνια και προφανώς κληρονομική γενικευμένη θηλωμάτωση στους ανθρώπους με καρκίνο του δέρματος, που αναπτύσσεται σε περιοχές που παρέμεναν εκτεθειμένες στον ήλιο, περιγράφησαν σε μελέτες της δεκαετίας του 1920. Εκείνα τα χρόνια δεν ήταν γνωστή η πιθανώς μολυσματική προέλευση των θηλωματικών πλακών και σπίλων που κάλυπταν το προσβεβλημένο δέρμα. Το σύνδρομο αυτό ονομάστηκε *epidermodysplasia verruciformis.* Κατά το δεύτερο μισό της δεκαετίας του 1970, αναπτύχθηκε σταδιακά το ενδιαφέρον για τους ιούς του ανθρώπινου θηλώματος, εξαιτίας της υπόθεσης ότι αυτοί οι ιοί μπορεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στην αιτιοπαθογένεια του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας[268]. Η ιϊκή προέλευση του θηλώματος της κοιλοκυτταρικής ατυπίας, γεγονός που τη διαχώρισε από τις "αληθείς" νεοπλασματικές βλάβες, προτάθηκε τη δεκαετία του ’70 από τους Meisels και Fortin[269]. Η αναγνώριση καινούργιων τύπων HPV σε βλάβες ασθενών με *epidermodysplasia verruciformis (EV)* και ιδιαίτερα σε κακοήθεις όγκους τέτοιων ασθενών, ενισχύθηκε πολύ με την ταυτόχρονη εξέλιξη της έρευνας στον τομέα των ιών του θηλώματος του ανθρώπου[270,271].

Νέοι τύποι του ιού του ανθρώπινου θηλώματος, όπως ο HPV-6 και ο HPV-11 απομονώθηκαν σε γενετικές βλάβες[264] στα μέσα περίπου της δεκαετίας του 1980, ενώ οι τύποι HPV-16 και HPV-18 απομονώθηκαν σε ιστοτεμάχια ταχείας βιοψίας σε ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας[272]. Σήμερα το ενδιαφέρον εστιάζεται στους διάφορους μηχανισμούς (ή τα "μονοπάτια") της καρκινογένεσης των ιών του θηλώματος του ανθρώπου.

3.2. Δομή των ιϊκών σωματιδίων

3.2.1. Τα ιϊκά σωματίδια

Ο ιός του θηλώματος του ανθρώπου (HPV) έχει διάμετρο ~55nm (Εικόνα 3.1). Το γονιδίωμά του περιέχει κλειστό κυκλικό DNA διπλής αλυσίδας. Το ιϊκό DNA σχετίζεται με πρωτεΐνες παρόμοιες με ιστόνες[273,274] και περιβάλλεται από ένα καψίδιο με 72 καψομερή[275]. Ένα ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης L1, κωδικοποιεί την κύρια πρωτεΐνη του καψιδίου. Η πρωτεΐνη L1 έχει μοριακό βάρος ~55000 και έχει υψηλό βαθμό συντήρησης στους διαφορετικούς ιούς θηλώματος. Η δεύτερη δομική πρωτεΐνη η L2, είναι λιγότερο συντηρημένη, το δε μοριακό της βάρος είναι ~75000. Η μη εισαγωγή των προαναφερόμενων ιϊκών σωματιδίων σε φάκελο *(envelope)*, τα καθιστά ανθεκτικά στη θερμότητα καθώς και τους οργανικούς διαλύτες[276].

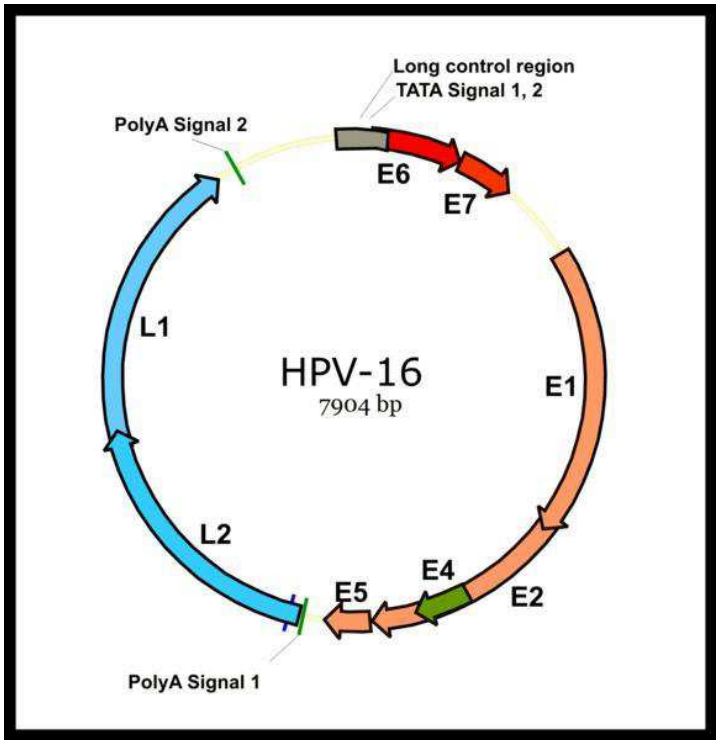


Εικόνα 3.1: Απεικόνιση του ιού του θηλώματος του ανθρώπου. **Δεξιά:** καλλιτεχνική αποτύπωση και **Αριστερά:** φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου.

3.2.2. Δομή και ρύθμιση του ιϊκού γονιδιώματος

Το γονιδίωμα του ιού του θηλώματος του ανθρώπου (HPV), αποτελείται από 7200-8000 ζεύγη βάσεων από δίκλωνο κλειστό-κυκλικό DNA, που έχει περίπου 20 ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης. Μεταξύ των διαφόρων μελών αυτής της ιϊκής ομάδας, αποκαλύπτονται σημαντικές ομοιότητες, όταν

μελετώνται και συγκρίνονται οι διάφορες δομές των ιϊκών γονιδιωμάτων (Εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.2: Τυπική οργάνωση του γονιδιώματος του HPV-16. Απεικονίζονται οι περιοχές των ανοικτών πλαισίων ανάγνωσης που κωδικοποιούν τις πρώιμες (E1-E7) και τις όψιμες (L1, L2) πρωτεΐνες, καθώς και τη μακρά περιοχή ελέγχου (LCR).

Σε γενικές γραμμές μπορούμε να πούμε ότι μονάχα η μία από τις δύο αλυσίδες είναι μεταγραφικά ενεργή (για το λόγω αυτό η μεταγραφή γίνεται μόνο προς τη μία κατεύθυνση), η θέση δε των ανοικτών πλαισίων ανάγνωσης παρουσιάζει σημαντικό βαθμό ανταπόκρισης[277,278]. Το γονιδίωμα του ιού του θηλώματος του ανθρώπου, μπορεί να χωριστεί σε τρεις περιοχές: τη μακρά περιοχή ελέγχου *(long control region, LCR)* που αποτελεί άλλωστε και το 10% του γενώματος, την πρώιμη *(E)* και την όψιμη *(L)* περιοχή. Τα γονίδια της όψιμης περιοχής L, κωδικοποιούν τις δομικές πρωτεΐνες, εκείνα της πρώιμης περιοχής E κωδικοποιούν τις διάφορες ρυθμιστικές λειτουργίες που σχετίζονται με την παρουσία του γονιδιώματος, την αντιγραφή του DNA και τέλος, την ενεργοποίηση του λυτικού κύκλου.

Κυτταρικοί και ιϊκοί μεταγραφικοί παράγοντες, μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς, ελέγχουν τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης του ιού. Η περιοχή λοιπόν LCR των ιών HPV του γεννετικού συστήματος, ποικίλει σε μέγεθος που κυμαίνεται στα 800-900bp, ενώ σε άλλους ιούς του ανθρώπινου

θηλώματος, αυτή η ίδια περιοχή μπορεί να είναι μικρότερη. Στην περιοχή LCR εδράζουν στοιχεία cis-active που ρυθμίζουν την περιοχή των γονιδίων E6/E7, τα οποία και αντιπροσωπεύουν τα γονίδια μετασχηματισμού που ευθύνονται για τη διαιώνιση και διατήρηση του φαινότυπου που εκφράζει την κακοήθεια στα HPV-θετικά καρκινικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας[279-281].

Αρκετοί μεταγραφικοί παράγοντες που έχουν την ικανότητα να προσδένονται στην περιοχή LCR του ιού HPV-18, έχουν αναγνωριστεί. Τέτοιοι παράγοντες είναι οι NF-1, AP1, KRF-1, Oct-1, SP-1, YY-1 καθώς και ο υποδοχέας των γλυκοκοτρικοειδών[282-285]. Η δυσλειτουργία κάποιων από αυτούς τους παράγοντες, φαίνεται να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στα μονοπάτια της καρκινογένεσης που σχετίζονται με τους ιούς του ανθρώπινου θηλώματος[263]. Η κεντρική περιοχή του LCR αντιπροσωπεύει περιοχή-ενισχυτή. Σε αυτήν προσδένονται οι περισσότεροι από τους προαναφερόμενους παράγοντες, ρυθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο τη μεταγραφή του υποκινητή των γονιδίων E6/E7, που εδράζει στο 3'- άκρο του LCR. Παρόλο δε που αρκετοί από αυτούς τους παράγοντες διεγείρουν τον υποκινητή, κάποιοι από αυτούς (ιδιαίτερα ο YY-1) έχουν διπλή δράση, διεγείροντας και καταστέλλοντας τον ιϊκό υποκινητή[263,268,286].

Η E2 πρωτεΐνη του ιού του ανθρώπινου θηλώματος, εκτός από την κυτταρική ρύθμιση, φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής λειτουργίας των E6/E7, προκαλώντας άλλοτε την ενεργοποίηση και άλλοτε την καταστολή αυτών των γονιδίων. Η περιοχή LCR του ιού HPV-16 περιλαμβάνει τέσσερις περιοχές πρόσδεσης της πρωτεΐνης E2. Η πρώτη βρίσκεται στην περιοχή 5' του LCR, οι δύο επόμενες εκατέρωθεν του κεντρικού τμήματος και η τελευταία βρίσκεται στο άκρο 3' του LCR. Το εγγύς τμήμα της περιοχής του υποκινητή , στο 5' σταματά στην E2 και στο 3' από το κωδικόνιο έναρξης της μετάφρασης του E6 γονιδίου. Δύο επιπλέον περιοχές πρόσδεσης της E2 βρίσκονται μέσα στα εγγύς 90 ζεύγη βάσεων που αλληλοεπικαλύπτουν ένα *TATA* τμήμα. Η πρόσδεση σε αυτές τις περιοχές τροποποιεί τη λειτουργία του υποκινητή, μεταθέτοντας το βασικό μεταγραφικό σύμπλοκο[287].

3.3. Λειτουργίες των ιϊκών πρωτεϊνών Ε6 και Ε7

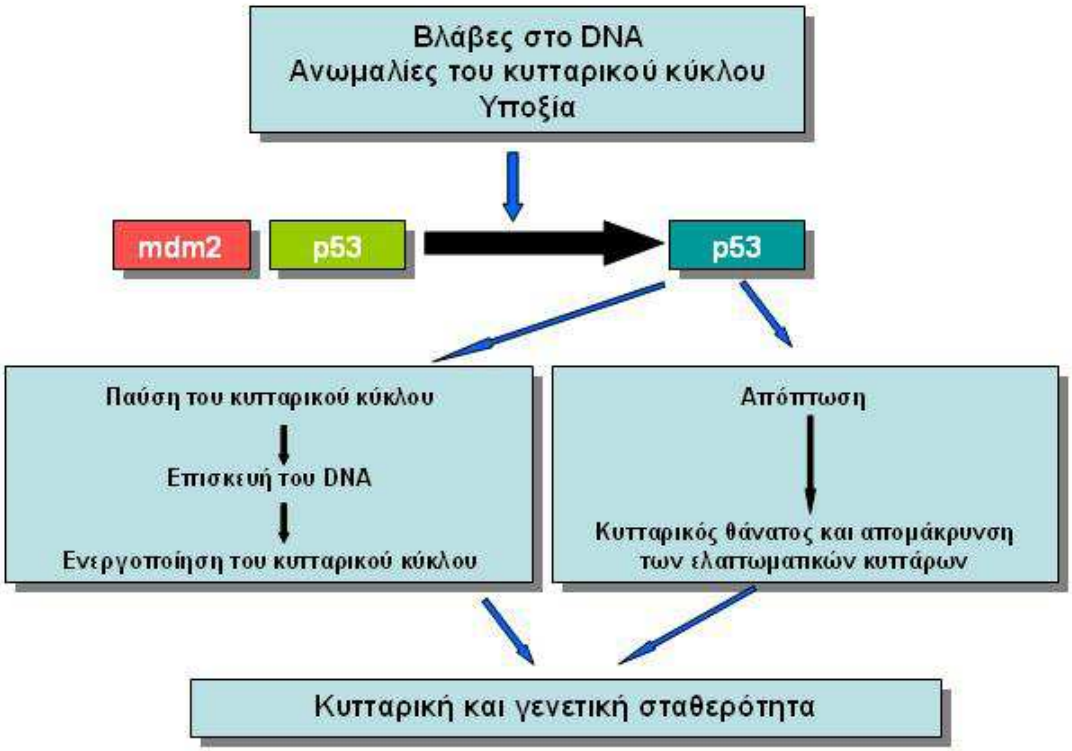
Οι πρωτεΐνες Ε6 και Ε7 εκφράζονται στα HPV-θετικά καρκινικά κύτταρα. Αυτές οι πρωτεΐνες θεωρούνται υπεύθυνες για την αθανατοποίηση των ανθρώπινων κερατινοκυττάρων καθώς και ενός μεγάλου αριθμού διαφόρων άλλων κυτταρικών τύπων. Οι διάφοροι υποτύποι ιών HPV που είναι σε θέση να κωδικοποιήσουν τα γονίδια Ε6 και Ε7, λαμβάνοντας μέρος στην αθανατοποίηση κυτταροκαλλιεργειών, βρίσκονται συχνά σε κακοήθεις όγκους. Αυτοί λοιπόν οι υποτύποι θεωρούνται *«υψηλού κινδύνου»* σε αντίθεση με τους *«χαμηλού κινδύνου»* που έχουν σαφώς πιο χαμηλό ογκογόνο δυναμικό[263]. Τα γονίδια Ε6 και Ε7 κωδικοποιούν πρωτεΐνες που έχουν την ικανότητα να διεγείρουν την αύξηση. Ειδικότερα όμως οι πρωτεΐνες Ε6 και Ε7 κάποιων υποτύπων σχετίζονται με την εξέλιξη σε περιπτώσεις κακοήθους αύξησης[288]. Είναι εξάλλου γνωστό ότι και οι δύο προαναφερόμενες πρωτεΐνες των υποτύπων HPV υψηλού κινδύνου συνεργάζονται στην αθανατοποίηση και το μετασχηματισμό των κυττάρων[279].

3.3.1. Η Ε6 πρωτεΐνη

Η πρωτεΐνη Ε6 του ιού HPV-16 περιέχει 151 αμινοξέα και εμφανίζει τέσσερα μοτίβα Cys-X-X-Cys, μεσολαβώντας σε πρόσδεση με ψευδάργυρο που καταλήγει στο σχηματισμό δύο δομών *«δακτύλων ψευδαργύρου»*[289,290]. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η Ε6 συνεργάζεται με την Ε7 πρωτεΐνη στην αθανατοποίηση ανθρωπίνων κυττάρων[279]. Η εισαγωγή της Ε6 σε κάποια ανθρώπινα κύτταρα θηλαστικών, μπορεί να οδηγήσει στην αθανατοποίησή τους ακόμα και σε απουσία της Ε7[291]. Η Ε6 αυτών των τύπων συνεργάζεται με τα ογκογονίδια ras στην αθανατοποίηση αρχέγονων κυττάρων τρωκτικών[292] επάγοντας με αυτόν τον τρόπο αύξηση που είναι ανεξάρτητη της πρόσδεσης σε κύτταρα NIH3T3, ενεργοποιώντας ετερόπλευρα τον υποκινητή του αδενοϊού Ε2 κατά τη μεταγραφή[293].

Η πρωτεΐνη Ε6 έχει την ικανότητα να αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη p53 επάγοντας την αποικοδόμησή της μέσω του συστήματος της ουμπικουϊτίνης[294-297]. Η πρωτεΐνη p53 δρα ως μεταγραφικός ενεργοποιητής με την πρόσδεσή της σε ειδικές αλληλουχίες DNA και είναι απαραίτητη για την καθήλωση των κυττάρων στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου και την παύση

της αύξησης που ακολουθεί την καταστροφή του κυτταρικού DNA (Σχήμα 3.1). Η αποικοδόμηση της p53 καθώς και της πρωτεΐνης BAK που προκαλείται, έχουν ως αποτέλεσμα την αντίσταση των κυττάρων στο μηχανισμό της απόπτωσης καθώς και τη χρωματοσωμιακή αστάθεια των μολυσμένων κυττάρων. Επιπρόσθετα η E6 επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, προκαλώντας ενεργοποίηση της τελομεράσης και αναστέλλοντας την αποδόμηση των κινασών της οικογένειας SRC[298-300]. Η αποικοδόμηση της p53 δεν είναι επαρκής για την ενεργοποίηση της αύξησης της E6 που παρατηρείται σε ανθρώπινους εμβρυϊκούς ινοβλάστες. Η E6 εκτός από την πρόσδεσή της με την p53 και την κυτταρική ουβικουϊτίνη E6-AP, δεσμεύεται και με άλλες κυτταρικές πρωτεΐνες, καθώς και με μια πρωτεΐνη που δεσμεύει ασβέστιο[301].



Σχήμα 3.1: Απεικόνιση των λειτουργιών της πρωτεΐνης p53. Η ομαλή λειτουργία της καθορίζει την επισκευή του DNA που έχει υποστεί βλάβες καθώς και την απόπτωση (προγραμματισμένος θάνατος του κυττάρου), συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στην κυτταρική και γενετική σταθερότητα.

3.3.2. Η Ε7 πρωτεΐνη

Η πρωτεΐνη Ε7 του ιού HPV 16 αντιπροσωπεύει μια φωσφοπρωτεΐνη προσδεμένη με ψευδάργυρο σε δύο περιοχές Cys-X-X-Cys και αποτελείται από 98 αμινοξέα. Η Ε7 παρουσιάζει δομικές ομοιότητες με την Ε6 πρωτεΐνη, στοιχειοθετώντας μια πιθανή εξελικτική συσχέτιση των δύο αυτών πρωτεϊνών. Όπως έχει μελετηθεί, η πρωτεΐνη Ε7 σχηματίζει σύμπλοκο με την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος pRB, την οποία και αδρανοποιεί. Η αδρανοποίηση της pRB έχει ως αποτέλεσμα την αποδόμηση του συμπλέγματός της με το μεταγραφικό παράγοντα E2F καθώς και την υπερέκφραση της INK4A. Ο μεταγραφικός παράγοντας E2F ευοδώνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ενώ η ανεξέλεγκτη δράση του λόγω της αποδόμησης του συμπλόκου του με την pRB, προκαλεί την αθανατοποίηση των κυττάρων[279]. Έχει δε βρεθεί, πως η ικανότητα πρόσδεσης της Ε7 των ιών *«υψηλού κίνδύνου»* στην pRB είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερη από αυτή των ιών *«χαμηλού κινδύνου»*. Επιπλέον η Ε7 οδηγεί σε συνεχή έκφραση των γονιδίων της κυκλίνης Ε καθώς και της κυκλίνης Α, σε απουσία εξωτερικών αυξητικών παραγόντων, ενώ μπλοκάρει τη λειτουργία των αναστολέων των κυκλινο-εξαρτώμενων κινασών WAF1 και KIP1[302-305].

3.3.3. Λειτουργίες των ιϊκών πρωτεϊνών Ε1, Ε2, Ε4 και Ε5

Η πρωτεΐνη Ε1 σχετίζεται με την κωδικοποίηση ενός πολυκυστρονικού RNA, συνδέει και υδρολύει το ATP, ενώ διαθέτει και APT-εξαρτώμενη δραστηριότητα ελικάσης[306]. Έτσι η Ε1 καθίσταται σημαντική για την αντιγραφή των ιών του ανθρώπινου θηλώματος[307]. Αξίζει να σημειωθεί ότι το Ε1 ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης, μαζί με την περιοχή L1, αντιπροσωπεύουν τις πλέον συντηρημένες περιοχές μεταξύ των διαφόρων τύπων HPV.

Όσον αφορά την πρωτεΐνη Ε2, το ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσής της κωδικοποιεί δύο και πιθανόν τρεις πρωτεΐνες, οι οποίες δρουν ως μεταγραφικοί παράγοντες[308]. Η κάθε μία από αυτές τις πρωτεΐνες επιδρά διαφορετικά στην ιϊκή γονιδιακή έκφραση και αντιπροσωπεύουν σημαντικούς ενδογονιδιακούς ρυθμιστές. Διαγραφή του Ε2 ανοικτού πλαισίου ανάγνωσης, όπως μπορεί να παρατηρηθεί συχνά σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου της μήτρας[263], μας οδηγεί στην υπόθεση ότι η διαγραφή αυτή βοηθάει στη

μεταμόρφωση των ανθρώπινων κυττάρων και τη μετάβασή τους σε κακοήθη κατάσταση. Επίσης οι πρωτεΐνες E2 αλληλοεπιδρώντας με την E1, διεγείρουν την αντιγραφή του ιϊκού DNA[309].

Η πρωτεΐνη E4 εντοπίζεται αποκλειστικά εντός της διαφοροποιημένης στοιβάδας του προσβεβλημένου επιθηλίου[310]. Πιστεύεται ότι η πρωτεΐνη αυτή παίζει καθοριστικό ρόλο στη φάση της παραγωγικής λοίμωξης, πιθανά μέσω του μηχανισμού της φυσιολογικής διαφοροποίησης, δημιουργώντας έτσι συνθήκες ιδανικές για την ωρίμανση του ιού. Η αλληλεπίδραση δε της E4 με κυττοκερατίνες, πιθανά να συμβάλλει στον καθορισμό της ιστοειδικότητας των διαφόρων τύπων του ιού του θηλώματος του ανθρώπου (HPV)[311].

Η πρωτεΐνη E5 εντοπίζεται κυρίως εντός του συστήματος Golgi, ενώ δύναται να εντοπιστεί και στην κυτταροπλασματική μεμβράνη[312]. Σε περιπτώσεις HPV λοίμωξης, η E5 παρουσιάζει μόνο μια μικρή ικανότητα μεταμόρφωσης[313]. Θεωρείται δε, ότι η συγκεκριμένη πρωτεΐνη παίζει σημαντικό ρόλο στα αρχικά στάδια της HPV λοίμωξης, αλλά είναι άκρως απαραίτητη για τη διατήρηση της κακοήθους εξαλλαγής. Ταυτόχρονα είναι σε θέση να αλληλεπιδρά με τον αυξητικό παράγοντα των αιμοπεταλίων (PDGF) καθώς και με την ATPάση[314].

3.4. Ονοματολογία και ταξινόμηση

Η ονομασία των ιών του θηλώματος (papilloma viruses) οφείλεται στην ιδιότητά τους να προκαλούν δερματικές βλάβες – θηλώματα στον άνθρωπο αλλά και στα υπόλοιπα θηλαστικά. Ωστόσο παρουσιάζουν ειδίκευση ως προς τον ξενιστή, με αποτέλεσμα οι ιοί του θηλώματος του ανθρώπου (human papilloma virus, HPV), να μην προσβάλλουν τα ζώα και αντιστρόφως[315]. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περισσότεροι από 130 γονότυποι του HPV, οι οποίοι δύνανται να προκαλέσουν πλήθος αλλοιώσεων, καλοήθων και κακοήθων, στο δέρμα και τους βλεννογόνους (Πίνακας 3.1).

Ο χαρακτηρισμός ενός γονότυπου συνίσταται στην ανεύρεση αλληλουχίας που διαφέρει περισσότερο από 10% και αφορά συγκεκριμένες περιοχές του γονιδιώματος του ιού, σε σχέση με οποιοδήποτε άλλο γνωστό γονότυπο[316].

Πίνακας 3.1: Τύποι HPV και οι αλλοιώσεις που προκαλούν σε δέρμα και βλεννογόνους.

Τύπος αλλοίωσης	Συχνά	Σπάνια
Δέρματος		
-Ακροχόρδωνες, θηλώματα	1, 2, 3, 5, 8, 10, 17, 20, 27	4, 6, 7, 11, 14, 15, 16, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 36, 38, 41, 46, 47, 49, 50, 57, 60, 65
-Δυσπλασία επιδερμίδας EV	5, 8	14, 17, 20, 47
-Νόσος Bowen στο δέρμα		2, 16, 34
-Κακοήθεις όγκοι δέρματος		1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 27, 29, 36, 38, 41, 47, 48
Γεννητικής και περιπρωκτικής χώρας		
-Οξυτενή κονδυλώματα	6, 11	2, 16, 30, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 54, 55, 61
-CIN, VIN, PIN	6, 11, 16, 18, 31	30, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69
-Καρκίνος τραχήλου μήτρας	16, 18, 31, 45	6, 10, 11, 26, 33, 35, 39, 51, 52, 55, 56, 58, 59, 66, 68
-Καρκίνος κόλπου, αιδίου, περιπρωκτικής χώρας	16, 18	11, 31, 33
Αναπνευστικού/πεπτικού συστήματος		
-Θηλώματα, λευκοπλακία στόματος	2, 6, 11, 16	7
-Θηλώματα λάρυγγα, επιπεφυκότα	6, 11	
-Θηλώματα μύτης		6, 11, 57
-Καρκίνος λάρυγγα		6, 11, 16, 18, 35
-Καρκίνος στόματος		3, 6, 11, 16, 18, 57
-Καρκίνος γλώσσας, φάρυγγα		16, 18, 33
-Καρκίνος οισοφάγου		6, 11, 16, 18
-Καρίνος μύτης		16, 57

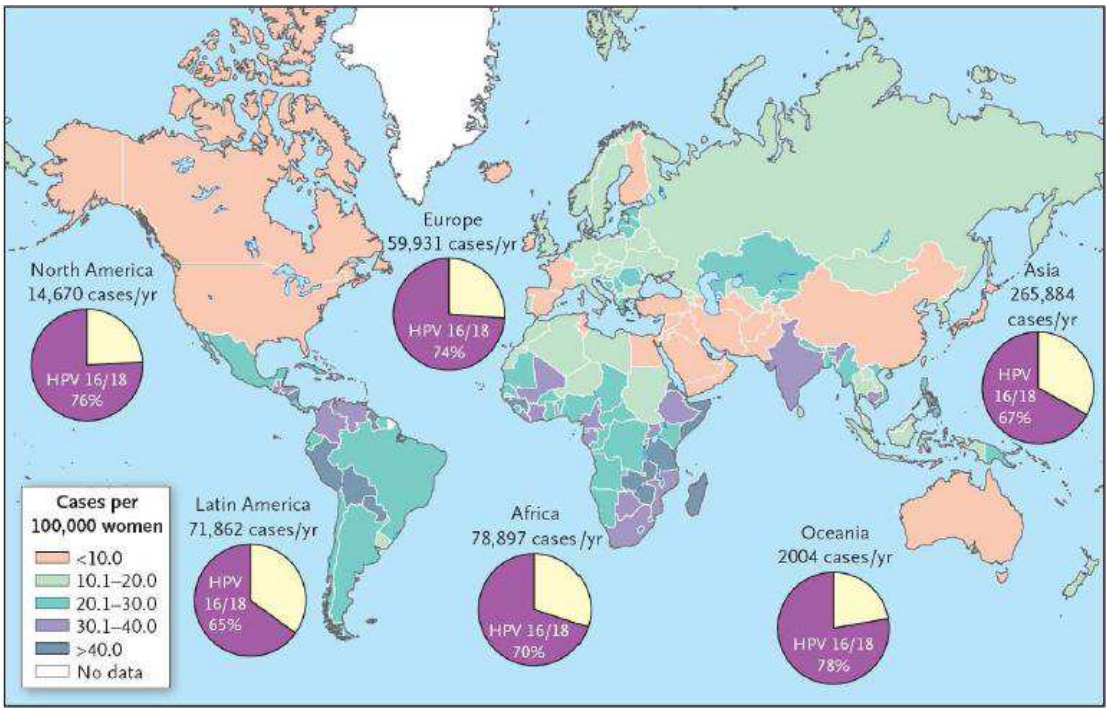
Οι ιοί των οποίων το γονιδίωμα διαφέρει 2-10%, χαρακτηρίζονται ως *«υπότυποι»*, ενώ εκείνοι που διαφέρουν λιγότερο από 2% χαρακτηρίζονται ως *«ενδότυποι»*. Για τον ιό HPV 16 διακρίνονται 5 ενδότυποι με βάση τη μακρά περιοχή ελέγχου (LCR), οι οποίοι παρουσιάζουν διαφορετική γεωγραφική και φυλογενετική προέλευση[317,318]. Οι ενδότυποι αυτοί είναι ο Ευρωπαϊκός (E), ο Ασιατικός (A), ο Ασιατικο-Αμερικάνικος (AA), ο Αφρικανικός-1 (Af-1) και ο Αφρικανικός-2 (Af-2). Στην Εικόνα 3.3 παρουσιάζεται η συχνότητα εμφάνισης των HPV-16 και -18 ανά τον κόσμο στις γυναίκες.

Οι ιοί HPV μπορούν να διακριθούν σε βλεννογόνιους και σε δερματικούς[319]. Οι βλεννογόνιοι τύποι του HPV προσβάλλουν κυρίως το βλεννογόνο της γεννητικής περιοχής καθώς και του αναπνευστικού συστήματος, ενώ οι αντίστοιχοι δερματικοί προσβάλλουν κυρίως το επιθήλιο του δέρματος και ανευρίσκονται σπάνια στη γεννητική περιοχή. Εξαίρεση στον κανόνα αποτελούν ορισμένοι τύποι ιών που απαντούν κυρίως σε παιδιά τόσο στο βλεννογόνο της γεννητικής περιοχής όσο και στο δέρμα. Οι βλεννογόνιοι ιοί μπορούν να διαιρεθούν περαιτέρω με βάση τη συσχέτισή τους με την ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε *«υψηλού*

κινδύνου», σε *«ενδιάμεσου κινδύνου»* και σε *«χαμηλού κινδύνου»* HPV (Πίνακας 3.2).

Πίνακας 3.2: Ταξινόμηση των διαφόρων τύπων ιών HPV με βάση τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Κατηγορία	Σπάνια
«Υψηλού κινδύνου» HPV	16, 18, 45, 56
«Ενδιάμεσου κινδύνου» HPV	31, 33, 35, 51, 52, 58
«Χαμηλού κινδύνου» HPV	6, 11, 42, 43, 44

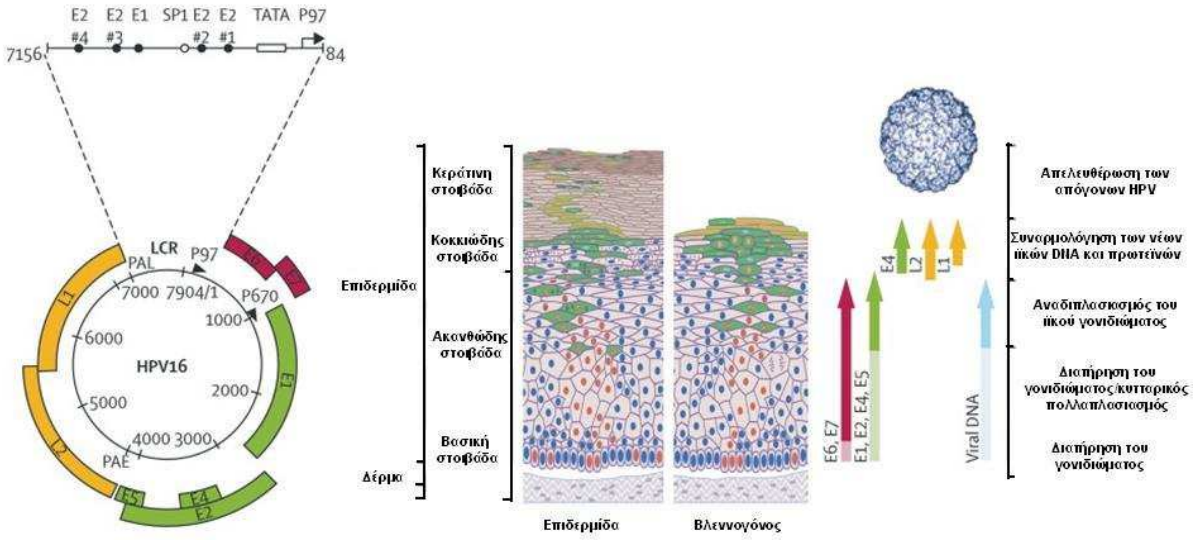


Εικόνα 3.3: Γεωγραφική κατανομή των περιπτώσεων εμφάνισης των υποτύπων HPV-16, -18 στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας σε παγκόσμιο επίπεδο (http://globocan.iarc.fr).

3.5. Ο αναπαραγωγικός κύκλος του HPV

Ο κύκλος αναπαραγωγής του ιού του θηλώματος του ανθρώπου είναι αρκετά πολύπλοκος και διέπεται από διάφορα στάδια. Αρχικά ο ιός εισέρχεται στη βασική στιβάδα του επιθηλίου μέσω μικροαμυχών και προσδένεται σε υποδοχείς της κυτταροπλασματικής μεμβράνης του κυττάρου ξενιστή. Παρά

το γεγονός πως δεν έχουν βρεθεί ειδικοί υποδοχείς για τον ιό HPV, υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις για την ενεργό συμμετοχή της οικογένειας της α6-ιντεγκρίνης καθώς και της θειϊκής ηπαρίνης[320,321]. Στην συνέχεια ακολουθεί η διείσδυση του ιού στο κύτταρο ξενιστή, με εγκόλπωση του σωματιδίου του ιού από την κυτταροπλασματική μεμβράνη. Ακολουθεί η απέκδυση του ιϊκού DNA από το πρωτεϊνικό του περίβλημα, με τη δράση κυτταρικών ενζύμων που βρίσκονται στα λυσσοσώματα. Η πρώιμη μεταγραφή, οδηγεί στην παραγωγή πρώιμου mRNA του ιού. Ακολούθως γίνεται και η πρώιμη μετάφραση, με άμεσο αποτέλεσμα την παραγωγή πρώιμων πρωτεϊνών του ιού, οι οποίες δρουν ως ένζυμα στη διαδικασία αναδιπλασιασμού του ιϊκού γονιδιώματος. Μετά τον αναδιπλασιασμό του ιϊκού γονιδιώματος, ακολουθούν η όψιμη μεταγραφή, με αποτέλεσμα την παραγωγή όψιμου mRNA του ιού και εν συνεχεία, η όψιμη μετάφραση, με την παραγωγή των δομικών πρωτεϊνών του ιού για την κατασκευή της κάψας. Ο όλος κύκλος αναπαραγωγής του ιού, ολοκληρώνεται με τη συναρμολόγηση των νέων ιϊκών DNA μαζί με τις νεοπαραχθείσες πρωτεΐνες και το σχηματισμό των νέων ιϊκών σωματιδίων και τέλος με την απελευθέρωση των απόγονων HPV από το κύτταρο ξενιστή προς το μεσοκυττάριο χώρο (Εικόνα 3.4).



Εικόνα 3.4: Ο κύκλος αναπαραγωγής του ιού HPV στο δέρμα και τους βλεννογόνους.

3.6. Η πορεία της λοίμωξης του HPV

3.6.1. Η μετάδοση του ιού του HPV στο κύτταρο ξενιστή

Βασικό στόχο του HPV αποτελεί η βασική στιβάδα του επιθηλίου, όπου και πραγματοποιούνται οι κυτταρικές διαιρέσεις. Ο HPV καταφέρνει να φτάνει σε αυτή τη στιβάδα μέσω μικροτραυματισμών του δέρματος ή του βλεννογόνου, που έχουν ως αποτέλεσμα τη λύση της συνέχειας του επιθηλίου. Έτσι δίνεται η ευκαιρία στον ιό να διεισδύσει στα κύτταρα της βασικής στιβάδας, ενώ επιπλέον διευκολύνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, μέσω της διαδικασίας επούλωσης και αποκατάστασης των ιστών που ακολουθεί[322].

Η μετάδοση του ιού στο δέρμα και στους βλεννογόνους γίνεται με διάφορους τρόπους όπως μέσω της σεξουαλικής επαφής, μέσω ετερο-ενοφθαλμισμού, αυτο-ενοφθαλμισμού ή μέσω φομιτών. Έχει επίσης περιγραφεί η κάθετη μετάδοση του ιού από τις μητέρες στα βρέφη τους κατά τον τοκετό[323]. Στους παράγοντες δε που σχετίζονται με τη μετάδοση του ιού HPV στον τράχηλο της μήτρας, περιλαμβάνονται ο αριθμός των σεξουαλικών συντρόφων, η παρουσία γεννητικών θηλωμάτων στους συντρόφους καθώς και το ιστορικό σεξουαλικά μεταδιδόμενης νόσου που εμφάνισε η ασθενής κατά το παρελθόν[324].

3.6.2. Η πορεία του HPV από τη μόλυνση στη λοίμωξη

Ο ιός του HPV όταν μολύνει τα κύτταρα του επιθηλίου ή του βλεννογόνου, μπορεί να παραμείνει σε λανθάνουσα κατάσταση ή ακόμη και να προκαλέσει λοίμωξη, με τη δημιουργία κλινικής ή υποκλινικής νόσου. Με τον όρο *«κλινική νόσος»* ορίζεται η ύπαρξη οποιασδήποτε αλλοίωσης που είναι ορατή δια γυμνού οφθαλμού κατά την κλινική εξέταση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα κλινικής νόσου από τον ιό του θηλώματος του ανθρώπου (HPV) αποτελούν τα θηλώματα της περιοχής των γεννητικών οργάνων, τα οποία μπορούν να έχουν τυπική *(οξυτενή κονδυλώματα)* ή μη τυπική μορφολογία.

Ως *«υποκλινική»* χαρακτηρίζεται η νόσος όταν οι διάφορες αλλοιώσεις που προκαλεί ο HPV δεν αναγνωρίζονται δια γυμνού οφθαλμού, αλλά εντοπίζονται μόνο με την τεχνική βοήθεια (κολποσκόπιο ή μικροσκόπιο). Στην

περίπτωση που ο ιός έχει περιέλθει σε *λανθάνουσα κατάσταση*, δεν έχουμε ούτε μακροσκοπικές αλλά ούτε και μικροσκοπικές αλλοιώσεις, απλώς ανιχνεύεται το DNA του ιού. Σε άτομα δε που έχουν μολυνθεί με τον ιό, είναι συνήθης η μετάπτωση της νόσου από τη μια μορφή της στην άλλη (λανθάνουσα, υποκλινική και κλινική), καθώς και η συνύπαρξη της κλινικής νόσου με την υποκλινική.

3.6.3. Η λανθάνουσα κατάσταση της μόλυνσης του HPV

Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, η μόλυνση του κυττάρου ξενιστή δεν εξελίσσεται πάντα σε φλεγμονή, αλλά δύναται να παραμείνει σε *λανθάνουσα κατάσταση* για μεγάλο χρονικό διάστημα. Σε αυτήν την περίπτωση δεν υπάρχει ενεργός πολλαπλασιασμός των ιϊκών σωματιδίων, αλλά το ιϊκό DNA αναδιπλασιάζεται παράλληλα με τις κυτταρικές διαιρέσεις, με αποτέλεσμα ο αριθμός του ιϊκού DNA να παραμένει σταθερός. Είναι δε πιθανό σε κάποια φάση της ζωής του κυττάρου ξενιστή, η μόλυνση να εξελιχθεί σε υποκλινική φλεγμονή, ενεργοποιώντας τους μηχανισμούς καταστολής του κυττάρου ξενιστή και έτσι να μεταπέσει εκ νέου σε λανθάνουσα κατάσταση. Στους έφηβους και τους νέους ενήλικες, η διαδικασία αυτή είναι αρκετά συνήθης, με αποτέλεσμα η προσβολή από τον HPV να είναι παροδική[325].

3.6.4. Από τη λανθάνουσα κατάσταση στη φλεγμονή

Είναι ευρέως γνωστό ότι οι δύο φάσεις μεταγραφής και μετάφρασης του ιϊκού σωματιδίου (πρώιμη και όψιμη), βρίσκονται σε πλήρη αρμονία με τη διαδικασία διαφοροποίησης του πλακώδους επιθηλίου[326]. Ο ιός του HPV έχει την ικανότητα να αναδιπλασιάζεται ως επίσωμα στη βασική στιβάδα του επιθηλίου, εκμεταλλευόμενος τις κυτταρικές διαιρέσεις που πραγματοποιούνται σε αυτή τη στοιβάδα, ενώ ταυτόχρονα επιδρά στην αύξηση του ρυθμού των κυτταρικών διαιρέσεων. Σε αυτή τη φάση *(μη παραγωγική φλεγμονή)* δεν συντίθενται οι δομικές πρωτεΐνες του ιού, με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η συναρμολόγηση των ιϊκών σωματιδίων και η απελευθέρωσή τους στο εξωτερικό περιβάλλον του κυττάρου ξενιστή[327].

Με την παραγωγή των θυγατρικών κυττάρων και τη μετανάστευσή τους στις επιπολής στιβάδες του επιθηλίου, ακολουθεί η επόμενη φάση της φλεγμονής *(παραγωγική φλεγμονή)*. Η εξέλιξη της λανθάνουσας μόλυνσης σε παραγωγικού τύπου φλεγμονή, επέρχεται συνήθως από 2 έως 8 μήνες από την αρχική μόλυνση *(φάση επώασης του ιού)*. Στη φάση της παραγωγικής φλεγμονής, το γονιδίωμα του ιού αναδιπλασιάζεται ως πλασμίδιο (επίσωμα) ξεχωριστά από τα χρωμοσώματα του ξενιστή. Παράγεται έτσι ένας μεγάλος αριθμός ιϊκών γονιδιωμάτων στις βασικές στοιβάδες, ενώ παράλληλα παράγονται πρωτεΐνες της ιϊκής κάψας στις επιφανειακές στοιβάδες του επιθηλίου. Αυτή η υπερπαραγωγή νέων ιϊκών σωματιδίων HPV, αφενός οδηγεί στην εξάπλωση της μόλυνσης και αφετέρου βοηθάει στην εξέλιξή της στις επόμενες φάσεις.

Ο ιός του θηλώματος του ανθρώπου (HPV) προκαλεί την αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων του επιθηλίου καθώς και μορφολογικές και λειτουργικές αλλαγές στα χαρακτηριστικά τους, με αποτέλεσμα την εμφάνιση υποκλινικών ή κλινικών αλλοιώσεων *(φάση ενεργού φλεγμονής)*. Από ιστολογικής πλευράς, η ενεργός φλεγμονή εκδηλώνεται με υπερπλασία του επιθηλίου της ακανθώδους στιβάδας *(ακάνθωση)* με συνοδό κοιλοκυττάρωση στις επιφανειακές στιβάδες. Η υπερπλασία του τοιχώματος των τριχοειδών αγγείων συμβάλλει στην εκδήλωση κλινικών αλλοιώσεων, ενώ όταν η υπερπλασία αυτή δεν υφίσταται, η αλλοίωση παραμένει επίπεδη και υποκλινική, παρά την εμφάνιση ακάνθωσης και κοιλοκυττάρωσης.

Η φάση της ενεργού φλεγμονής διαρκεί περί τους 3-6 μήνες. Έπειτα ακολουθεί η φάση της εξισορρόπησης από το ανοσοποιητικό σύστημα, όπου δεν παρατηρείται εμφάνιση νέων αλλοιώσεων, ενώ πολύ συχνά παρατηρείται το φαινόμενο, οι ήδη υπάρχουσες αλλοιώσεις να αυτοϊώνται. Στο τέλος ακολουθεί μια απώτερη φάση (από 9 μήνες μέχρι και 2 έτη από την πρώτη επαφή με τον ιό), κατά την οποία έχουμε παρατεταμένη ύφεση ή παραμένουσα νόσο με σποραδικές υποτροπές.

3.6.5. HPV και καρκινογένεση

Όταν ένας από τους ιούς HPV «υψηλού κινδύνου» μολύνει τα κύτταρα του ξενιστή, η κατάσταση αυτή μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση φλεγμονής μη παραγωγικού τύπου, κατά την οποία το γονιδίωμα του ιού ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό του κυττάρου ξενιστή[328]. Και ενώ η ενσωμάτωση φαίνεται να συμβαίνει τυχαία στα χρωμοσώματα του κυττάρου ξενιστή, η ανεύρεση ειδικών τόπων ενσωμάτωσης ενδεχομένως να ευθύνεται για την ενεργοποίηση ή την απενεργοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων. Κατά την ενσωμάτωση του DNA του ιού παρατηρείται απώλεια των «ανοικτών πλαισίων ανάγνωσης» E1 και E2, γεγονός που εξαλείφει την ανασταλτική επίδραση των πρωτεϊνών E1 και E2 στην έκφραση των ιϊκών πρωτεϊνών E6 και E7 και οδηγεί τελικά στην ανεξέλεγκτη παραγωγή τους[329].

Η ενσωμάτωση του ιϊκού DNA στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή, έχει επίσης ως αποτέλεσμα την αύξηση της σταθερότητας των E6 και E7 mRNA[330]. Με τον τρόπο αυτό οδηγούμαστε σε μη αντιστρεπτή απορρύθμιση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων p53 και Rb, καθώς και σε χρωμοσωμιακή αστάθεια και αθανατοποίηση των κυττάρων[331]. Και ενώ το ιϊκό γονιδίωμα αναδιπλασιάζεται, η μη έκφραση της όψιμης περιοχής L για την παραγωγή των δομικών πρωτεϊνών της ιϊκής κάψας, καθιστά αδύνατη τη συναρμολόγηση των ιϊκών σωματιδίων.

Σε καλοήθεις αλλοιώσεις το γονιδίωμα του ιού HPV βρίσκεται σε επισωμιακή μορφή, ενώ σε κακοήθεις αλλοιώσεις είναι ενσωματωμένο στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή. Η συχνότητα της ενσωμάτωσης αυξάνει σε συνάρτηση με το βαθμό της σοβαρότητας της νεοπλασίας του τραχήλου της μήτρας[332]. Η ενσωμάτωση του ιϊκού DNA στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή αποτελεί απαραίτητη συνθήκη για την κακοήθη εξαλλαγή του κυττάρου.

Η υπερπαραγωγή των ιϊκών πρωτεϊνών E6 και E7 προκαλούν αλλαγές στο ρυθμό πολλαπλασιασμού των μολυσμένων κυττάρων, με αποτέλεσμα την αθανατοποίηση των κυττάρων καθώς και την κακοήθη εξαλλαγή τους. Η ουσιαστική διαφορά μεταξύ των «υψηλού κινδύνου» και των «χαμηλού κινδύνου» HPV συνιστάται στο ότι οι E6 και E7 πρωτεΐνες των «χαμηλού κινδύνου» HPV, δεν έχουν μεγάλη χημική συγγένεια με τις πρωτεΐνες p53 και Rb και επομένως δεν μπορούν να προκαλέσουν κακοήθη εξαλλαγή. Τόσο η

πρωτεΐνη Ε6 όσο και η πρωτεΐνη Ε7 των HPV «υψηλού κινδύνου» μπορούν ανεξάρτητα να προκαλέσουν αθανατοποίηση των επιθηλιακών κυττάρων[333].

3.6.6. HPV και καρκίνος ουροδόχου κύστεως

Πολλοί ερευνητές έχουν προσπαθήσει μέχρι τώρα να αξιολογήσουν τον κίνδυνο καρκινογένεσης που σχετίζεται με τη μόλυνση από τον ιό του θηλώματος του ανθρώπου, καταλήγοντας όμως σε αντικρουόμενα αποτελέσματα. Η σχέση δε του HPV με την καρκινογένεση του ουροποιητικού συστήματος και δη της ουροδόχου κύστεως, εξακολουθεί να παραμένει αμφιλεγόμενη, δεδομένου του γεγονότος ότι στις περισσότερες περιπτώσεις, η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των διαφόρων μελετών είναι δύσκολη, διότι είτε έλλειπαν οι ομάδες ελέγχου είτε πάλι αυτές δεν ήταν κατάλληλες[334].

Λίγες μελέτες μέχρι τώρα έχουν καταφέρει να αποδείξουν τη συσχέτιση της μόλυνσης με τον ιό του θηλώματος του ανθρώπου (HPV) με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως. Αυτή η συσχέτιση φαίνεται να οφείλεται στην ικανότητα του HPV να διεισδύει στα επιθηλιακά κύτταρα της ουροδόχου κύστεως καθώς και στην ανατομική εγγύτητα της ουρήθρας (η οποία και θεωρείται μια δεξαμενή – reservoir για τον HPV) με την ουροδόχο κύστη[335,336]. Για το λόγο αυτό, παραμένει ανοικτό θέμα προς συζήτηση το κατά πόσον η σχέση ανάμεσα στη χρόνια λοίμωξη HPV και τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως, είναι μια απλή σύμπτωση ή αν η σχέση αυτή είναι αιτιατή.

Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση όπου αναλύθηκαν πάνω από 30 δημοσιευμένες εργασίες σχετικά με το ρόλο του HPV στην καρκινογένεση της ουροδόχου κύστεως[337], σημαντικό ρόλο στην εντόπιση του HPV σε ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως, φαίνεται να παίζει η επιλεγόμενη μέθοδος ανίχνευσης του ιού. Επίσης παρατηρείται ότι η επίπτωση ασθενών με καρκίνο ουροδόχου κύστεως που είναι και θετικοί στον HPV, μεταβάλλεται ανάλογα με τις διάφορες γεωγραφικές περιοχές. Έτσι αυξημένα ποσοστά ανίχνευσης του HPV σε ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστης, έχουν τεκμηριωθεί σε περιοχές της Νοτιο-Ανατολικής Ασίας (Χονγκ Κονγκ) που φτάνουν μέχρι και το 80%, ενώ αντίθετα στην Ευρώπη και τη Βόρειο Αμερική, τα αντίστοιχα ποσοστά δεν φαίνεται να υπερβαίνουν το 34%. Είναι πολύ πιθανό αυτές οι στατιστικές διαφορές να οφείλονται στο ότι οι διαγνωστικές τεχνικές που

χρησιμοποιούνται από τα διάφορα εργαστήρια, δεν περιλαμβάνουν ειδικούς εκκινητές για την PCR με ευρύ φάσμα ανίχνευσης υποτύπων του HPV, ώστε να περιλαμβάνονται και οι λιγότερο γνωστοί υποτύποι του ιού, πράγμα που πιθανά να οδηγεί σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα[335].

Άλλος σημαντικός παράγοντας φαίνεται να είναι το γεγονός ότι κάποια εργαστήρια δεν χρησιμοποιούν τεχνικές ανίχνευσης DNA του HPV, αλλά διερευνούν την παρουσία αντιγόνων του ιού ή αντισωμάτων που σχετίζονται με αυτόν. Λείπει δηλαδή από τη διαγνωστική φαρέτρα ένα παγκόσμια αποδεκτό πρωτόκολλο ανίχνευσης του ιού. Αυτό το κενό καλείται να παίξει η τεχνική της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση σε πραγματικό χρόνο, (Real-Time Quantitative PCR), τεχνική που χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα διδακτορική διατριβή. Γενικότερα θα μπορούσαμε να πούμε ότι υπάρχει έλλειψη στη βιβλιογραφία, μελέτης που να περιλαμβάνει ένα αρκετά μεγάλο αριθμό ασθενών με καρκίνο ουροδόχου κύστεως και ένα ανάλογα μεγάλο αριθμό ατόμων που θα χρησιμοποιηθούν ως «ομάδα ελέγχου».

3.7. Διάγνωση του HPV

3.7.1. Έμμεσες και άμεσες τεχνικές διάγνωσης του HPV

Η διάγνωση της μόλυνσης από τον HPV, μπορεί να γίνει τόσο με έμμεσο τρόπο με την ανίχνευση των μορφολογικών αλλαγών που προκαλεί ο ιός στα κύτταρα και τους ιστούς, όσο και με άμεσο τρόπο με την ανίχνευση του DNA του HPV με τις διάφορες μοριακές τεχνικές. Η πρώτη ομάδα διαγνωστικών μεθόδων περιλαμβάνει την *κλινική εξέταση,* την *κυτταρολογική εξέταση κατά Παπανικολάου (test-Pap)* επιχρισμάτων του τραχήλου της μήτρας, την *κολποσκόπηση* και την *ιστολογική εξέταση των βιοψιών* από κλινικές και υποκλινικές αλλοιώσεις. Η τελική διάγνωση βασίζεται στην εκτίμηση της μορφολογίας των αλλοιώσεων είτε μακροσκοπικά είτε μικροσκοπικά. Τυπικό παράδειγμα HPV-σχετιζόμενης μορφολογικής αλλοίωσης αποτελεί η ανεύρεση κοιλοκυττάρων, καλώς διαφοροποιημένων κυττάρων της διάμεσης και της επιπολής στιβάδας του επιθηλίου, χωρίς μιτωτική δραστηριότητα, με κυτταροπλασματικό κενοτόπιο. Ωστόσο σε αρκετές περιπτώσεις η ασφαλής διάγνωση δεν είναι εφικτή, ενώ συχνά

υπερεκτιμώνται μεταπλαστικές ή ατροφικές αλλοιώσεις με αποτέλεσμα να χαρακτηρίζονται λανθασμένα «HPV φλεγμονές»[338].

Ο συνδυασμός των έμμεσων διαγνωστικών προσεγγίσεων με την παράλληλη χρήση μοριακών τεχνικών, που έχουν ως στόχο την άμεση ανίχνευση του ιού HPV, έχει ως αποτέλεσμα τον περιορισμό τόσο των ψευδώς αρνητικών, όσο και των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων[339]. Στις διάφορες μοριακές τεχνικές που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι σήμερα για την ανίχνευση του HPV DNA, περιλαμβάνονται οι διάφορες τεχνικές υβριδισμού καθώς και η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR). Η αναζήτηση αντισωμάτων ανοσοϊστοχημικά τόσο τοπικά, όσο και στον ορό, δίνει θετικά αποτελέσματα σε περιορισμένο αριθμό ασθενών, λόγω της χαμηλής αντιγονικότητας της ιϊκής κάψας. Η ανεύρεση αντισωμάτων έναντι των πρωτεϊνών E6 και E7 στον ορό ασθενών με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, μπορεί στο άμεσο μέλλον να αποκτήσει ευρεία κλινική εφαρμογή. Η χρήση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου δεν έχει πρακτική εφαρμογή στην καθημερινή κλινική πράξη, όπως ανέφικτη είναι και η επίτευξη κυτταροκαλλιεργειών για τον ιό του HPV.

3.8. Μόλυνση από HPV: θεραπεία και πρόληψη

Η λογική της παραδοσιακής θεραπευτικής αντιμετώπισης των HPV λοιμώξεων βασίζεται στην καταστροφή των αλλοιώσεων που προκαλεί ο ιός[340]. Όσον αφορά τις προκαρκινικές αλλοιώσεις (HSIL) στον τράχηλο της μήτρας, συνιστάται η αφαίρεσή τους με κωνοειδή εκτομή, είτε η καταστροφή τους με κρυοπηξία ή εξάχνωση με laser. Στην περίπτωση των οξυτενών κονδυλωμάτων μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες φαρμακευτικές ουσίες, όπως η *ποδοφυλλίνη,* η *ποδοφυλοτοξίνη*, το *τριχλωρο-οξικό οξύ* καθώς και η κρέμα *imiquimod (Aldara®).* Η χρήση της 5-φθοριο-ουρακίλης καθώς και των τοπικών ενέσεων ιντερφερόνης, έχει εγκαταλειφθεί προ πολλού. Η μη ανταπόκριση στη συντηρητική θεραπευτική αγωγή ή η εμφάνιση υποτροπών, απαιτεί την καταστροφή των κονδυλωμάτων με κρυοπηξία, διαθερμία ή laser ή τη χειρουργική εκτομή τους. Η συστηματική χορήγηση ιντερφερόνης συνίσταται σε υποτροπιάζοντα οξυτενή κονδυλώματα με συνεχείς υποτροπές ως συμπληρωματική αγωγή, της καταστροφής τους

με laser. Η αντιμετώπιση των θηλωμάτων του δέρματος μπορεί να γίνει είτε με τη χρήση ποδοφυλλίνης, είτε με κρυοπηξία με υγρό άζωτο. Υποτροπιάζοντα θηλώματα του λάρυγγα αφαιρούνται χειρουργικά, ενώ πρέπει να αποφεύγεται η ακτινοβολία εξαιτίας του κινδύνου πρόκλησης κακοήθους εξαλλαγής.

Τα τελευταία χρόνια το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει εστιαστεί στην παραγωγή εμβολίων, τα οποία περιέχουν φυσικές ή ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες της κάψας του ιού HPV[341]. Τα εμβόλια αυτά έχουν προφυλακτικό ρόλο βελτιώνοντας το χυμικό σκέλος της ανοσίας του κυττάρου του ξενιστή και η εφαρμογή τους στην κλινική πράξη αναμένεται στο μέλλον να περιορίσει τις λοιμώξεις από τους ιούς του HPV με αποτέλεσμα τη μείωση της επίπτωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας στις γυναίκες. Σήμερα είναι σε χρήση το εμβόλιο Gardasil®, το οποίο χρησιμοποιείται στη μάχη της πρόληψης κατά ορισμένων υποτύπων του HPV και συγκεκριμένα κατά του HPV-6, -11, -16 και -18. Οι προαναφερόμενοι υποτύποι υπολογίζεται ότι προκαλούν το 70% των περιπτώσεων καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, ενώ θεωρούνται υπεύθυνοι και για το μεγαλύτερο μέρος των περιπτώσεων ασθενών με καρκίνο του πρωκτού, του αιδοίου, του κόλπου και του πέους, που έχουν αποδοθεί σε λοίμωξη HPV. Αν και το εμβόλιο δεν θεραπεύει την ενεργό λοίμωξη, εντούτοις ο εμβολιασμός συνίσταται ακόμη και για άτομα θετικά στον HPV, καθώς μπορεί να προστατεύσει από ένα ή περισσότερα διαφορετικά στελέχη της ασθένειας[342].

Το Gardasil® εγκρίθηκε για κυκλοφορία στις ΗΠΑ τον Ιούνιο του 2006 από την αμερικάνικη Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Θεωρείται προφυλακτικό εμβόλιο και έχει σχεδιαστεί ώστε να προλαμβάνει τις HPV λοιμώξεις. Για μέγιστο θεραπευτικό αποτέλεσμα πρέπει να χορηγείται σε νεαρά κορίτσια πριν αυτά αποκτήσουν ενεργό σεξουαλική ζωή. Τελευταίες μελέτες έδειξαν ότι το συγκεκριμένο εμβόλιο είναι αρκετά αποτελεσματικό και στους άνδρες, ενώ γίνονται προσπάθειες ώστε το Gardasil® να μπει στο πρόγραμμα υποχρεωτικού εμβολιασμού των αναπτυγμένων χωρών του Δυτικού Κόσμου, με απώτερο στόχο την παντελή εξάλειψη των πιο επιθετικών και καρκινογόνων υποτύπων του HPV[343].

4ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Οι ερπητοϊοί του ανθρώπου (HHV)

4.1. Γενικά στοιχεία

Οι ερπητοϊοί οφείλουν το όνομά τους στην αρχαία ελληνική λέξη *ἕρπω*, λόγω των λανθανουσών, χρόνιων και υποτροπιαζόντων λοιμώξεων που προκαλούν. Η οικογένεια των *Herpesviridae* περιλαμβάνει περίπου 100 ιούς. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 8 από αυτούς ως κύριοι υπεύθυνοι για λοιμώξεις στον άνθρωπο. Αυτοί με τη σειρά τους χωρίζονται σε τρεις υπο-οικογένειες (Πίνακας 4.1).

Πίνακας 4.1: Οι 8 σημαντικότεροι ερπητοϊοί που έχουν συσχετιστεί με λοιμώξεις στον άνθρωπο.

Alpha herpesviridae	Beta herpesviridae	Gamma herpesviridae
Herpes simplex virus type 1 **(HSV-1 ή HHV-1)**	Cytomegalovirus **(CMV ή HHV-5)**	Epstein-Barr virus **(EBV ή HHV-4)**
Herpes simplex virus type 2 **(HSV-2 ή HHV-2)**	Human herpesvirus type 6 **(HHV-6)**	Human herpesvirus type 8 **(KSHV ή HHV-8)** γνωστός και ως ερπητοϊός του σαρκώματος Kaposi
Varicella-Zoster virus **(VZV ή HHV-3)**	Human herpesvirus type 7 **(HHV-7)**	

Η υπο-οικογένεια *Alphaherpesviridae* περιλαμβάνει τον ιό του απλού έρπητα τύπου 1 (HSV-1), που δύναται να προκαλέσει στοματικές και οφθαλμικές βλάβες, εγκεφαλίτιδα, τον ιό του απλού έρπητα τύπου 2 (HSV-2), που προκαλεί γεννητικά και πρωκτικά τραύματα (φουσκάλες πυρετού - fever blisters), σοβαρές μολύνσεις στα νεογνά. Τέλος περιλαμβάνει τον ερπητοϊό του ανθρώπου τύπου 3 ή Varicella-Zoster (VZV), που αρχικά προκαλεί την κοινή παιδική ασθένεια, την ανεμευλογιά (ως πρωταρχική μόλυνση), καθώς και τον έρπη ζωστήρα (επανενεργοποίηση της μόλυνσης).

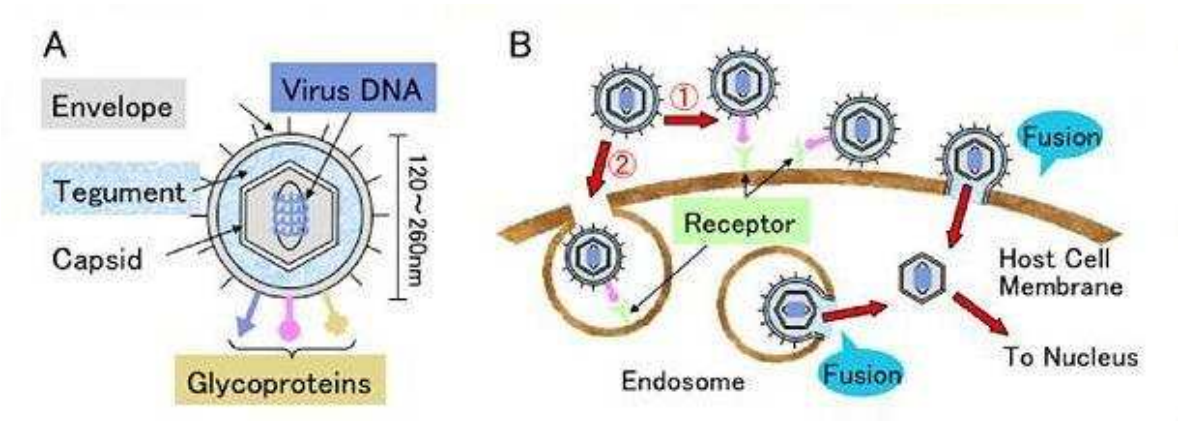
Η υπο-οικογένεια *Betaherpesviridae* περιλαμβάνει τον ερπητοϊό του ανθρώπου τύπου 5 ή κυτταρομεγαλοϊό (CMV), που μπορεί να προκαλέσει λοιμώδη μονοπυρήνωση, βαριάς μορφής εκ γενετής μόλυνση, καθώς και μολύνσεις στους δέκτες αλλομοσχευμάτων (πνευμονία). Περιλαμβάνονται επίσης σε αυτήν την υπο-οικογένεια ο ερπητοϊός του ανθρώπου τύπου 6 (HHV-6), που προκαλεί ιλαρά (roseola) στα νήπια, μολύνσεις στους δέκτες αλλομοσχευμάτων (πνευμονία, αποτυχία μεταμόσχευσης μυελού των οστών), ενώ φαίνεται να έχει ρόλο και στην πολλαπλή σκλήρυνση. Τέλος περιλαμβάνεται και ο ερπητοϊός του ανθρώπου τύπου 7 (HHV-7), που προκαλεί σε μερικές περιπτώσεις ιλαρά και πιτυρίαση.

Η υπο-οικογένεια *Gammaherpesviridae* περιλαμβάνει τον ερπητοϊό του ανθρώπου τύπου 4 ή ιό Epstein-Barr (EBV), ο οποίος δύναται να προκαλέσει λοιμώδη μονοπυρήνωση (αρχική μόλυνση), όγκους των Β λεμφοκυττάρων (λέμφωμα Burkitt, διάφορα ανοσοβλαστικά λεμφώματα) και τέλος το ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα, μερικούς όγκους Τ λεμφοκυττάρων. Άλλος ιός αυτής της υπο-οικογένειας είναι ο ερπητοϊός του ανθρώπου τύπου 8 (HHV-8 ή KSHV), που με τη σειρά του ευθύνεται για την εμφάνιση του σαρκώματος Kaposi σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, καθώς και για κάποια λεμφώματα των Β λεμφοκυττάρων[344-346].

Για πολλά χρόνια, η επιδημιολογία των κοινών λοιμώξεων από ερπητοϊούς παρέμενε ασαφής. Το 1950, μελέτες έδειξαν ότι ο ιός του απλού έρπητα μετά την πρωτοπαθή λοίμωξη, μπορούσε να πέσει σε λανθάνουσα κατάσταση και να επανενεργοποιηθεί αργότερα μετά από κάποιο εκλυτικό αίτιο. Στα επόμενα χρόνια της δεκαετίας του ’50 , ο Weller απομόνωσε τον ιό του έρπητα ζωστήρα και από την ανεμευλογιά αλλά και από τον έρπητα ζωστήρα, αποδεικνύοντας ότι και για τις δύο αυτές νόσους, υπεύθυνος ήταν ο ίδιος ιός[347,348].

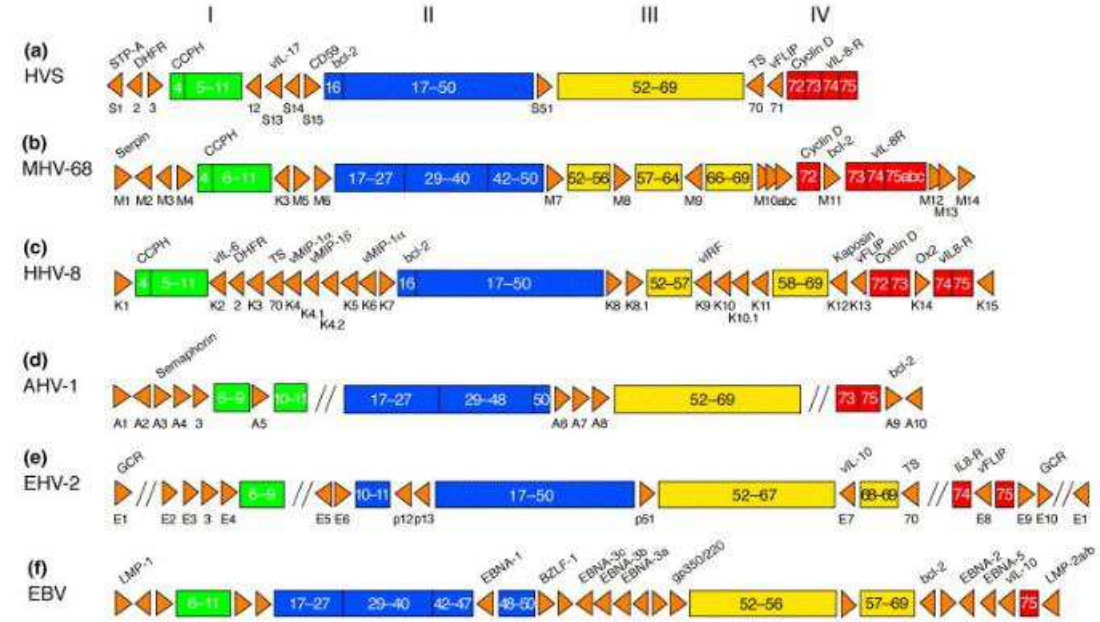
Οι ερπητοϊοί διαφέρουν μεταξύ τους από άποψη γονιδιακής ακολουθίας και πρωτεϊνών, αλλά είναι όλοι τους παρόμοιοι από άποψη δομής ιϊκού καψιδίου και οργάνωσης του γονιδιώματός τους. Η διάμετρος των σωματιδίων των ερπητοϊών είναι 180-200nm. Σε ένα πλυθησμό βιρίων, πολλά σωματίδια δεν έχουν έλυτρο και πολλά είναι άδεια καψίδια. Τα συστατικά του βιρίου διατάσσονται ως εξής: 1. DNA με ένα εσωτερικό κέλυφος διαμέτρου 75nm, 2. ένα εικοσαεδρικό καψίδιο διαμέτρου 95-105nm το οποίο αποτελείται

από 162 εξαγωνικά καψομερίδια, 3. μία περιβάλλουσα κοκκιώδη ζώνη (tegument) αποτελούμενη από σφαιρικές πρωτεΐνες και 4. ένα περιβάλλον έλυτρο το οποίο περιέχει γλυκοπρωτεΐνες (Εικόνα 4.1)[349].



Εικόνα 4.1: A. Η δομή των ερπητοϊών και **B.** Ο κύκλος του διπλασιασμού των ερπητοϊών.

Το DNA των ερπητοϊών είναι δίκλωνο γραμμικό, βάρους 130-230kbp. Το γονιδίωμά τους φέρει μοναδικές μεγάλες (UL) και μοναδικές μικρές (US) κωδικοποιούσες περιοχές, οι οποίες περιβάλλονται από τελικές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (IR). Οι επαναλαμβανόμενες αυτές αλληλουχίες αναστρέφονται επιτρέποντας την αναδιάταξη των περιοχών UL και US. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να υπάρχει το γονιδίωμα των ερπητοϊών σε τέσσερις ισομερείς μορφές (Εικόνα 4.2)[350].



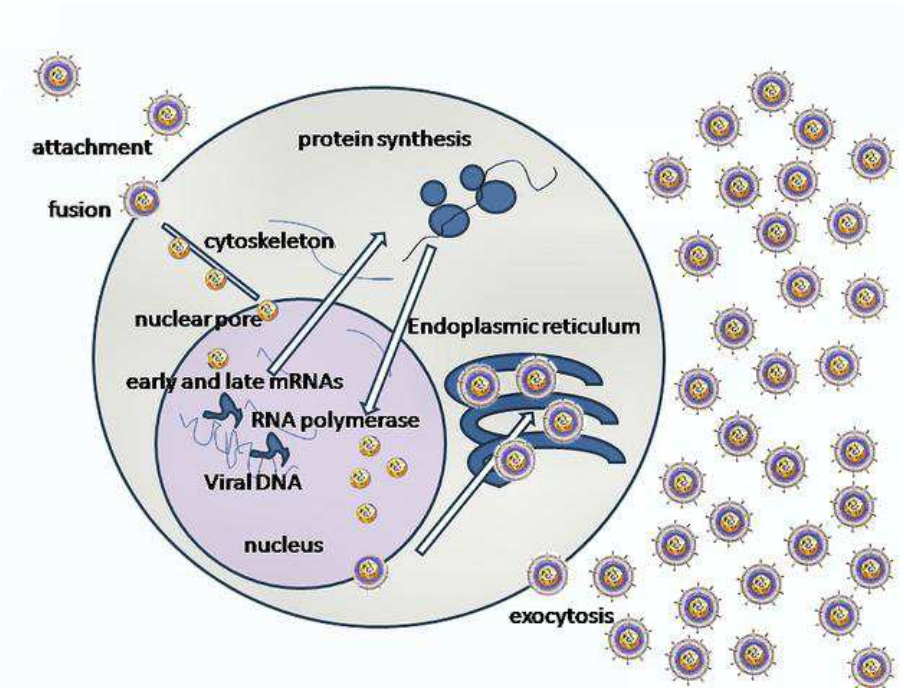
Εικόνα 4.2: Το γονιδίωμα των ερπητοϊών με τις τέσσερις ισομερείς μορφές τους.

Η ύπαρξη αυτών των αλληλουχιών επιτρέπει την κυκλοποίηση του DNA, που απαιτείται κατά τη διάρκεια του διπλασιασμού.

Το μεγάλο γονιδίωμα των ερπητοϊών κωδικοποιεί 100 περίπου πεπτίδια. Από αυτά πολλά είναι ένζυμα που ενέχονται στη σύνθεση του DNA, όπως η *DNA πολυμεράση*, ενώ άλλα εμπλέκονται στη διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης, όπως είναι οι *πρωτεϊνικές κινάσες*. Το έλυτρο των ερπητοϊών περιέχει γλυκοπρωτεΐνες, οι περισσότερες από τις οποίες φαίνεται να είναι απαραίτητες για να εκδηλωθεί η μολυσματική δράση του ιού. Η αλληλεπίδραση αυτών των γλυκοπρωτεϊνών με κυτταρικούς υποδοχείς του ξενιστή, οδηγεί στην άμεση σύντηξη του ελύτρου με την κυτταρική μεμβράνη (Εικ. 4.1).

Ενδοκύττωση δεν είναι απαραίτητη, αλλά μπορεί να συμβεί (εναλλακτικός τρόπος διείσδυσης). Η σύντηξη εναποθέτει το καψίδιο μέσα στο κυτταρόπλασμα και στη συνέχεια το καψίδιο μεταναστεύει στον πυρήνα. Το εσωτερικό κέλυφος του ιού εισέρχεται μέσω μιας πυρηνικής οπής και ακολούθως το DNA του ιού κυκλοποιείται. Από την RNA polymerase II του κυττάρου ξενιστή, παράγονται περίπου 50 αγγελιοφόρα RNAs (mRNAs). Διακρίνονται έτσι τρεις ξεχωριστές κατηγορίες παραγόμενων mRNAs: τα α-mRNAs (ή άμεσα πρώιμα) είναι οι πρωτεΐνες που συντίθενται πρώτες και επιτρέπουν τη μεταγραφή του mRNA για την επόμενη ομάδα πρωτεϊνών (β ή πρώιμες). Τα β-mRNAs επιτρέπουν τη συνέχιση της μεταγραφής του DNA, η οποία ακολουθείται από την εμφάνιση των τελευταίων πρωτεϊνών (γ-mRNAs ή όψιμων) (Εικόνα 4.3).

Η γονιδιακή έκφραση ρυθμίζεται ως εξής: εάν η μετάφραση διακοπεί νωρίς μετά τη μόλυνση, τα α-mRNAs συσσωρεύονται στον πυρήνα με αποτέλεσμα να μην μεταγράφονται άλλα ιϊκά mRNAs. Η σύνθεση των πρώιμων γονιδιακών προϊόντων απενεργοποιεί τα α-mRNAs και αποτελεί την έναρξη για την αντιγραφή του DNA. Κάποιες από τις όψιμες πρωτεΐνες παράγονται ανεξάρτητα από την αντιγραφή του DNA, ενώ άλλες παράγονται μόνο μετά την αντιγραφή του DNA.



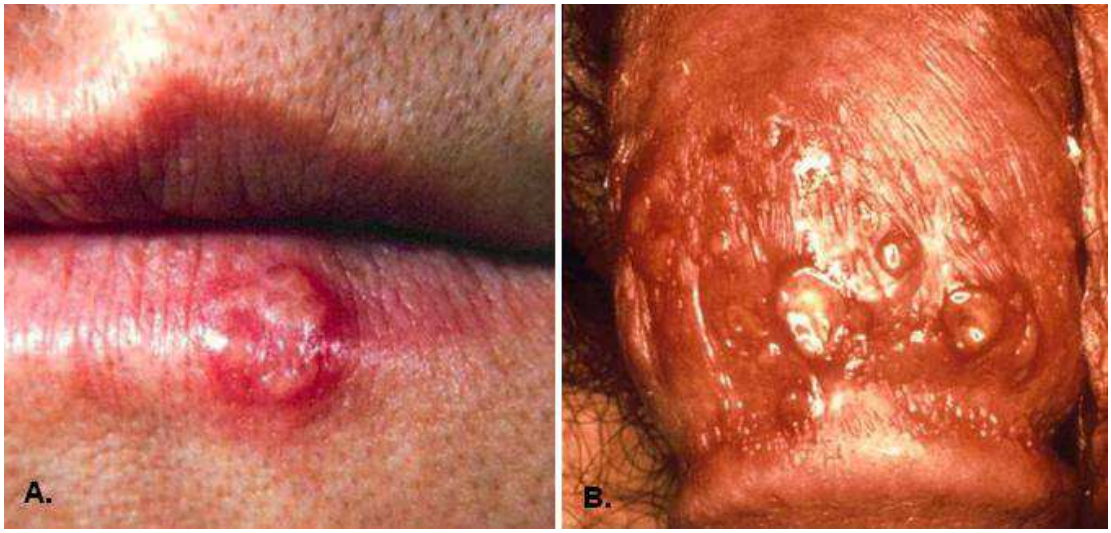
Εικόνα 4.3: Η διαδικασία αντιγραφής του ιϊκού DNA.

Τόσο οι α- όσο και οι β- πρωτεΐνες είναι απαραίτητες για το γονιδιακό διπλασιασμό. Στην αντιγραφή εμπλέκονται μία εξαρτώμενη πολυμεράση από το DNA του ιού, καθώς και μία συνδέουσα το DNA πρωτεΐνη, σε συνδυασμό με μία πλειάδα ενζύμων, όπως είναι η *κινάση της θυμιδίνης,* οι οποίες τροποποιούν την κυτταρική βιοχημεία του ξενιστή. Αξίζει επιπλέον να τονιστεί ότι για την αντιγραφή του ιϊκού γενώματος απαιτούνται και κυτταρικές πρωτεΐνες. Για το λόγο αυτό η αντιγραφή του HSV λαμβάνει χώρα στον πυρήνα. Τελικά μόνο το 25% του ιϊκού DNA (παραγόμενη πρωτεΐνη), ενσωματώνεται σε βίρια. Τα υπόλοιπα συσσωρεύονται μέσα στο κύτταρο-ξενιστή το οποίο τελικά πεθαίνει. Το αποτέλεσμα της όλης διαδικασίας είναι η παραγωγή χαρακτηριστικών σωματιδίων με πυρηνικά έγκλειστα. Η αντιγραφή δε του ιϊκού DNA αποτελεί το στόχο αρκετών επιτυχών αντιϊκών φαρμάκων, όπως είναι για παράδειγμα η ακυκλοβίρη[351,352].

4.2. Οι ιοί του απλού έρπητα HSV-1 και HSV-2 (HHV-1 και -2)

4.2.1. Γενικά στοιχεία

Οι ιοί του απλού έρπητα 1 και 2 αποτελούν τους πλέον σημαντικούς παθογόνους εκπροσώπους της οικογένειας των ερπητοϊών για τον άνθρωπο. Ο ερπητοϊός του ανθρώπου τύπου 1 (HSV-1) είναι υπεύθυνος για δερματικές βλάβες του προσώπου καθώς και για επεισόδια εγκεφαλίτιδας, ενώ ο ερπητοϊός του ανθρώπου τύπου 2 (HSV-2), προκαλεί δερματικές βλάβες στα γεννητικά όργανα, ενώ μεταδίδεται από τη μητέρα στο έμβρυο (Εικόνα 4.4). Και οι δύο τύποι ιών έχουν την ικανότητα να περιέρχονται σε λανθάνουσα κατάσταση στα γάγγλια των αισθητικών νευρώνων, ενώ στις περιπτώσεις επανενεργοποίησής τους, προκαλούν εστιακές βλάβες στα σημεία εισόδου τους στο ανθρώπινο σώμα[353].



Εικόνα 4.4: A. Χαρακτηριστική βλάβη HSV-1 (ή επιχείλιος έρπης). **B.** Χαρακτηριστική βλάβη HSV-2 (ή έρπης γεννητικών οργάνων).

Οι HSV-1 και HSV-2 έχουν διαφορετικούς τρόπους μετάδοσης, η επίπτωσή τους είναι παγκόσμια και ανεξάρτητη από τις διάφορες εποχιακές συνθήκες και μολύνουν μόνο τους ανθρώπους. Οι περισσότεροι άνθρωποι έχουν έρθει κάποια στιγμή της ζωής τους σε επαφή με τον ιό και σε αυτούς ο ιός παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση και μπορεί κάποια στιγμή στο μέλλον να επανενεργοποιηθεί. Η ορομετατροπή μετά από μόλυνση με HSV-1 σε λιγότερο αναπτυγμένες χώρες, λαμβάνει χώρα σε ασθενείς νεαρότερης

ηλικίας (30% των παιδιών κάτω των 5 ετών και 70-80% των εφήβων). Η λοίμωξη με HSV-2 είναι σεξουαλικώς μεταδιδόμενη. Το 20-30% των εφήβων είναι οροθετικοί για τον HSV-2, ενώ το ποσοστό αυτό αυξάνει στο 35-60% για ασθενείς ηλικίας άνω των 60 ετών. Παράγοντες που σχετίζονται με τη λοίμωξη από HSV-2 περιλαμβάνουν το φύλο (συχνότερα παρατηρείται σε γυναίκες), τη φυλή (συχνότερα σε Αφρο-Αμερικάνους), την οικογενειακή κατάσταση καθώς και τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων[354].

Οι βιολογικές ιδιότητες του HSV που καθορίζουν την πορεία της λοίμωξης είναι: 1. η ικανότητά του να διεισδύει στα νευρικά κύτταρα, 2. η νευροτοξικότητα και 3. η ικανότητα παραμονής του σε λανθάνουσα κατάσταση στα ραχιαία γάγγλια και σε άλλες θέσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος. Για την έναρξη της λοίμωξης, ο ιός πρέπει να έρθει σε επαφή με τους βλεννογόνους ή με δέρμα που να παρουσιάζει λύση της συνέχειάς του. Ο τύπος της λοίμωξης που θα ακολουθήσει είναι συνάρτηση της κατάστασης του ανοσοποιητικού συστήματος. Έτσι, ασθενείς που δεν έχουν έρθει ποτέ σε επαφή με τον ιό (δηλαδή ασθενείς που είναι οροαρνητικοί), μετά την πρώτη τους έκθεση σε αυτόν θα αναπτύξουν πρωτοπαθή λοίμωξη. Η αρχική αυτή λοίμωξη λαμβάνει χώρα όταν ένας ασθενής έχει αντισώματα είτε για τον HSV-1 είτε για τον HSV-2, μολύνεται για πρώτη φορά με τον άλλο τύπο του ιού[355].

Στη συνέχεια ο ιός από την αρχική θέση προσβολής μεταναστεύει εντός 48 ωρών στα νευρικά γάγγλια των αισθητικών νευρώνων, όπου και παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση. Αυτό ουσιαστικά φανερώνει την αδυναμία που παρουσιάζουν τα διάφορα αντιερπητικά φάρμακα και εμβόλια, να προστατέψουν ή να προλάβουν τη λανθάνουσα κατάσταση του ιού. Η εγκατάσταση του ιού στα γάγγλια γίνεται προφανώς για να προφυλαχτεί ο ιός από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή. Κατά τη λανθάνουσα φάση, το DNA του ιού βρίσκεται σε επισωματική μορφή εντός των νευρώνων και εκφράζονται από τον ιό μόνο περιορισμένες πρωτεΐνες που απαιτούνται για τη διατήρηση αυτής της λανθάνουσας φάσης.

Παράγοντες που επανενεργοποιούν τον ιό ώστε να επανέλθει στην περιφέρεια και να εκδηλώσει τη λοιμογόνο δράση του (υποτροπή της νόσου) περιλαμβάνουν την κόπωση, την ανοσοκαταστολή, την εξασθένιση, το σωματικό stress, την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία καθώς και την ιστική καταστροφή. Για την ενεργοποίηση δε του ιού συμμετέχει ενεργά το γονίδιο

που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ICPO, οπότε και ο ιός μεταπίπτει στην ενεργό (λυτική) φάση. Άλλες πρωτεΐνες που αξίζει να αναφερθούν διότι ενέχονται στην ενεργοποίηση του ιού είναι οι VP16, ICP4 και ICP27[356].

4.2.2. Κλινική εικόνα

Οι πρωτοπαθείς, οι αρχικές και οι υποτροπιάζουσες ερπητικές λοιμώξεις μπορεί να είναι ασυμπτωματικές. Η συμπτωματική πρωτοπαθής λοίμωξη από τον HSV-1 χαρακτηρίζεται από εστίες στο βλεννογόνο του στόματος και των ούλων (διάρκειας 2-3 εβδομάδων) και εμπύρετο (38,3-40℃), το οποίο υποχωρεί εντός 3-5 ημερών. Οι φυσαλίδες εμφανίζονται σαν λευκωπές πλάκες στη γλώσσα, τη μαλακή υπερώα και το φάρυγγα, οι οποίες στη συνέχεια εξελκώνονται από ψευδομεμβράνες. Χαρακτηριστική δε είναι η συνύπαρξη λεμφαδενοπάθειας. Εξελκωμένες εστίες εντός της στοματικής κοιλότητας είναι ενδεικτικές πρωτολοίμωξης, ενώ εστίες στην περιοχή των χειλέων υποδηλώνουν υποτροπιάζουσα λοίμωξη.

Οι υποτροπιάζουσες λοιμώξεις από τον HSV-1 χαρακτηρίζονται από άλγος, καύσο και κνησμό, τα οποία προηγούνται της εμφάνισης των εστιών κατά λίγες ώρες. Ακολούθως εμφανίζονται οι φυσαλίδες με συνηθέστερες θέσεις εντόπισής τους τα χείλη, τα ρουθούνια, τις παρειές και τα βλέφαρα. Το υγρό των φυσαλίδων αρχικά είναι διαυγές και αργότερα γίνεται οροπυώδες. Στη συνέχεια οι φυσαλίδες σπάνε, σχηματίζονται εφελκίδες και οι βλάβες επουλώνονται μέσα σε 8-10 ημέρες[357].

Η πρωτοπαθής λοίμωξη των οφθαλμών από τον HSV-1 προκαλεί ερπητική κερατοεπιπεφυκίτιδα που χαρακτηρίζεται από έντονη πυώδη επιπεφυκίτιδα με θολερότητες και εξελκώσεις του κερατοειδούς (έλκη δίκην γεωγραφικού χάρτη). Οι ωτιαίοι λεμφαδένες είναι διογκωμένοι και οι υποτροπές συχνές. Η ερπητική εγκεφαλίτιδα χαρακτηρίζεται από εμπύρετο, παραισθήσεις και παραλύσεις. Ο HSV μπορεί να προσβάλλει όλες τις περιοχές του νευρικού συστήματος προκαλώντας μηνιγγίτιδα και μυελίτιδα. Η νόσος είναι συχνά θανατηφόρος.

Οι πρωτοπαθείς γεννητικές λοιμώξεις από τον HSV-2 εμφανίζονται σαν κυστίδια τα οποία στη συνέχεια διαπυούνται και εξελκώνονται. Συνυπάρχει καυσαλγία και λεμφαδενοπάθεια. Στον άνδρα εντοπίζονται στη βάλανο, στην

ακροποσθία ή στο σώμα του πέους. Στη γυναίκα οι βλάβες βρίσκονται στα έξω γεννητικά όργανα, στον κόλπο και στον τράχηλο της μήτρας[358]. Οι μη-πρωτοπαθείς αρχικές γεννητικές λοιμώξεις προκαλούν ηπιότερα συμπτώματα από τις πρωτοπαθείς, διότι τα αντισώματα έναντι στον HSV-1 ελαττώνουν τη βαρύτητα της νόσου από τον HSV-2. Οι υποτροπιάζουσες γεννητικές ερπητικές λοιμώξεις στους άνδρες παρουσιάζονται ως 3-5 φυσαλίδες στο σώμα του πέους. Στις γυναίκες εμφανίζονται ως κυστικές και ελκωτικές βλάβες στην περιοχή των γεννητικών οργάνων. Η διάρκεια της νόσου είναι 8-10 ημέρες και το 1/3 των ασθενών θα παρουσιάσει πάνω από 6 επεισόδια υποτροπών ετησίως.

Η νεογνική ερπητική λοίμωξη συνήθως συμβαίνει κατά τη διέλευση του νεογνού από τον γεννητικό σωλήνα, όταν υπάρχουν ερπητικές βλάβες στα γεννητικά όργανα της μητέρας. Σπανιότερα δύναται να μεταδοθεί από τη μητέρα στο έμβρυο κατά την κύηση ή στην περίοδο που ακολουθεί τον τοκετό[359]. Η κλινική εικόνα είναι δραματική και χαρακτηρίζεται από υψηλό πυρετό, ίκτερο, δερματικές ερπητικές βλάβες, εγκεφαλίτιδα, εκτεταμένες σπλαχνικές νεκρώσεις, αιμορραγία και θάνατο.

4.2.3. Διάγνωση και θεραπεία

Η διάγνωση τίθεται με απομόνωση του ιού σε κυτταρικές καλλιέργειες ή με ανίχνευση του ιϊκού DNA με PCR. Οι κυτταροκαλλιέργειες είναι φθηνότερες από την PCR. Οι ορολογικές μέθοδοι διάγνωσης χρησιμεύουν μόνο για να καθορίσουν την προηγούμενη έκθεση στον ιό και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το σχεδιασμό της θεραπείας. Για τη διάγνωση των ερπητικών λοιμώξεων του νευρικού συστήματος, η μέθοδος εκλογής είναι η ανάλυση με PCR του εγκεφαλονωτιαίου υγρού.

Η κλασσική θεραπεία για την ερπητική λοίμωξη είναι η ακυκλοβίρη, ένα συνθετικό ανάλογο της πουρίνης, το οποίο δρα στο επίπεδο της αντιγραφής του ιϊκού DNA. Απαραίτητη για την ενεργοποίηση της ακυκλοβίρης είναι η κινάση της θυμιδίνης, ένα ένζυμο φωσφορυλίωσης που κωδικοποιείται από τους HSV. Οι HSV μπορούν να αναπτύξουν αντοχή στην ακυκλοβίρη μέσω μεταλλάξεων στο ιϊκό γονίδιο που κωδικοποιεί την κινάση της θυμιδίνης, δημιουργώντας στελέχη είτε με έλλειψη του ενζύμου, είτε στελέχη στα οποία

το ένζυμο δεν μπορεί να φωσφορυλιώσει την ακυκλοβίρη[360]. Φάρμακα ανάλογα της ακυκλοβίρης είναι η βαλακυκλοβίρη και η φαμκυκλοβίρη[361].

Η ακυκλοβίρη μπορεί να χορηγηθεί τοπικά, από το στόμα ή ενδοφλεβίως. Η χορήγησή της δεν ελαττώνει τη συχνότητα των υποτροπών. Χρησιμοποιείται προφυλακτικά σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς στους οποίους ελαττώνει το ποσοστό των συμπτωματικών HSV λοιμώξεων από 70% σε 5-20%[362]. Η ενδοφλέβια χορήγηση ακυκλοβίρης ελαττώνει το ποσοστό των θανάτων από ερπητική εγκεφαλίτιδα και 38% αυτών των ασθενών επανακτούν φυσιολογική νευρολογική λειτουργία[363]. Η ερπητική επιπεφυκίτιδα αντιμετωπίζεται με χορήγηση ακυκλοβίρης ή τριφλουριδίνης. Παρενέργειες έχουν περιγραφεί μόνο από την ενδοφλέβια χορήγηση ακυκλοβίρης και συνίστανται σε νεφροτοξικότητα και διαταραχές του ΚΝΣ (διέγερση, παραισθήσεις, αποπροσανατολισμός και τρόμος).

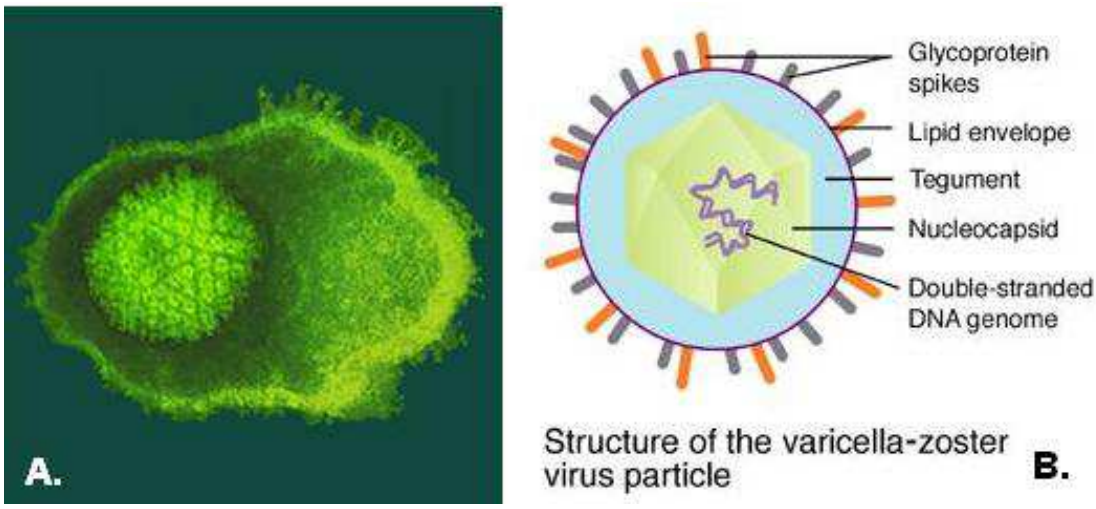
4.2.4 Ανοσοποίηση

Έχουν γίνει προσπάθειες για τη δημιουργία εμβολίων έναντι του HSV αλλά η ιδιότητά του να υποτροπιάζει μέσω των κυτταρικών μηχανισμών ανοσίας, τα καθιστά δυσχερή ως θεραπευτική επιλογή. Οι έρευνες στρέφονται τώρα στη γονιδιακή θεραπεία, με στόχο τη δημιουργία μεταλλαγμένων στελεχών HSV τα οποία χαρακτηρίζονται από αλλοιώσεις σημαντικών γονιδίων τους και θα χρησιμεύσουν ως φορείς αυτών των μεταλλάξεων στα κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος[364].

4.3. Ο ιός της ανεμευλογιάς (Varicella Zoster Virus ή HHV-3)

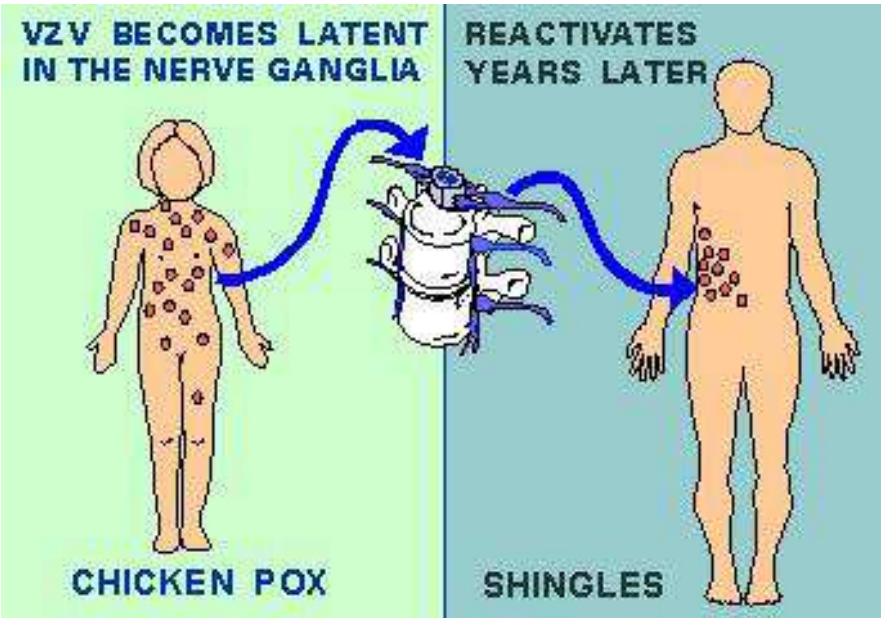
4.3.1. Γενικά στοιχεία

Ο ιός της ανεμευλογιάς/ζωστήρος έχει μόνο έναν ορότυπο. Η ανεμευλογιά είναι η πρωτολοίμωξη, ενώ ο έρπης ζωστήρ είναι η κλινική υποτροπή, που μπορεί να επέρθει μετά από πολλά χρόνια[365] (Εικόνα 4.5).



Εικόνα 4.5: Α. Ο ιός VZV όπως αποδίδεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. **Β**. Η δομή του ιού VZV.

Η νόσος μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο. Η πύλη εισόδου είναι το αναπνευστικό σύστημα, όπου ο ιός πολλαπλασιάζεται αρχικώς, ακολουθεί ιαιμία και επινέμηση του λεμφικού συστήματος, όπου γίνεται η δεύτερη φάση του ιϊκού πολλαπλασιασμού. Περίπου 15 ημέρες μετά τη μόλυνση ο ιός φτάνει στο δέρμα, όπου πολλαπλασιάζεται και πάλι. Ιστολογικά στις βλάβες παρατηρείται εστιακή εκφύλιση της επιδερμίδος, εξοίδηση των κυττάρων και ενδοπυρηνικά έγκλειστα, πολλές φορές σε πολυπύρηνα κύτταρα. Ακολουθεί κυτταρική λύση, δημιουργία φυσαλίδος στο υγρό της οποίας αθροίζονται κύτταρα φλεγμονής και δημιουργείται φλύκταινα, η οροφή της οποίας ξηραίνεται, εφελκιδοποιείται και αποπίπτει χωρίς ουλή, εκτός και αν η βλάβη επιμολυνθεί. Στον ζωστήρα συχνά παραμένει μελάγχρωση για αρκετό καιρό. Η συμπλήρωση του κύκλου και η ίαση στην ανεμευλογιά οφείλεται αφενός στη χυμική, κυρίως όμως στην κυτταρική ανοσία, γι' αυτό και σε διαταραχές της τελευταίας η νόσος παίρνει βαρύτατη γενικευμένη μορφή. Υπό κανονικές συνθήκες ο ιός περιορίζεται σε ένα ή περισσότερα γάγγλια των οπισθίων ριζών όπου λαθροβιώνει, παρουσία κυκλοφορούντων αντισωμάτων, αλλά στο 20% των ατόμων η νόσος αναζωπυρώνεται ως ζωστήρ μετά από μερικές δεκαετίες. Ο ιός τότε μετακινείται προς το δέρμα του αντίστοιχου δερμοτομίου. Αυτό μπορεί να συμβεί και χωρίς εμφανή διαταραχή της κυτταρικής ανοσίας, όταν όμως αυτή υπάρχει, η εμφάνιση ζωστήρος είναι συχνή και μπορεί να συνοδεύεται από βαριά γενικευμένη νόσο[366] (Εικόνα 4.6).



Εικόνα 4.6: Οι δύο χαρακτηριστικές μορφές του VZV (ανεμευλογιά και ζωστήρας).

Στα εύκρατα και ψυχρά κλίματα η ανεμευλογιά έχει χειμερινο-εαρινή κατανομή, ενώ ο ζωστήρ παρουσιάζεται όλο το έτος. Η ανεμευλογιά παρουσιάζεται κυρίως σε παιδιά 4-10 ετών, αλλά και σε μεγαλύτερα, ενώ περίπου 10% ενηλικιώνονται χωρίς να νοσήσουν. Ο ζωστήρ παρατηρείται κυρίως σε άτομα μεγάλης ηλικίας[367].

4.3.2. Κλινική εικόνα του VZV

4.3.2.α. Ανεμευλογιά

Η ανεμευλογία, γνωστή σαν *«chickenpox»*, είναι μια ήπια λοίμωξη των παιδιών που μπορεί να είναι πιο σοβαρή στους ενήλικες προχωρώντας περιστασιακά στην πνευμονία. Η επώαση διαρκεί από 7 έως 23 ημέρες, συνήθως (γύρω στις δύο εβδομάδες στο μεγάλο ποσοστό των περιπτώσεων). Η νόσος αρχίζει με το χαρακτηριστικό εξάνθημα, αλλά σπανίως προηγείται γριπώδης συνδρομή, ιδίως στους ενήλικες. Το εξάνθημα είναι κεντρομόλο και αφορά τις εσωτερικές επιφάνειες που δεν δέχονται πίεση, πχ. τις έσω επιφάνειες βραχιόνων και μηρών, τη μεσοπλατιαία χώρα, τις μασχάλες κλπ. Σπανίως προσβάλλονται οι παλάμες και τα πέλματα, συνήθως όμως προσβάλλεται το τριχωτό της κεφαλής. Το εξάνθημα αποτελείται αρχικά από

ερυθρές κηλίδες που διαδοχικά γίνονται βλατίδες και φυσαλίδες που ρήγνυνται και εφελκιδοποιούνται (Εικόνα 4.7). Το χαρακτηριστικό είναι οι διαδοχικές εκθύσεις επί αρκετές ημέρες με αποτέλεσμα να παρατηρούνται ταυτοχρόνως βλάβες διαφορετικών σταδίων, κάτι που δεν συμβαίνει σε άλλες εξανθηματικές νόσους. Μερικές φορές οι βλάβες επιμολύνονται οπότε μένει ουλή. Σπανιότατα παρατηρείται δευτερογενής βακτηριακή πνευμονία, αλλά και ο ίδιος ο ιός μπορεί να προσβάλει τους πνεύμονες (1 ανά 400 ασθενείς), σπανίως των κατά τα άλλα υγιών ατόμων (παρ' όλο ότι η προσβολή μπορεί να είναι ασυμπτωματική ώστε η ακριβής επίπτωση να μην είναι γνωστή, κατά τίνας δε, υπερβαίνει το 15% των προσβαλλόμενων, από τους οποίους μόνο το 14% δίδει ιστορικό βήχα), συχνά όμως και με επικίνδυνη βαρύτητα σε ασθενείς με ανοσοκαστολή (λευχαιμία, λέμφωμα, λήψη κορτικοειδών, ανοσοκατασταλτικών, AIDS κλπ.). Βήχας, θωρακικός πόνος, δύσπνοια και κυάνωση είναι τα κύρια χαρακτηριστικά. Συχνά η επιπλοκή αυτή ακολουθεί κεραυνοβόλο πορεία και οδηγεί σε θάνατο από ARDS. Αν το άτομο επιζήσει παραμένουν ισοβίως στικτές σκιάσεις στους πνεύμονες. Σπάνια επιπλοκή είναι η εγκεφαλίτιδα με παρεγκεφαλιδική αταξία. Η εγκεφαλίτιδα είναι συχνότερη και βαρύτερη σε ασθενείς με ανοσοκαταστολή. Σε μερικούς αρρώστους παρατηρείται αιμορραγικό εξάνθημα και γενική αιμορραγική διάθεση για άγνωστους λόγους, ενώ υπάρχει και συσχέτιση της ανεμευλογιάς με το σύνδρομο Reye.

Εικόνα 4.7: Α. Τυπική κλινική παρουσίαση της ανεμευλογιάς με το χαρακτηριστικό εξάνθημα. **Β.** Χαρακτηριστική δερματική βλάβη του έρπη ζωστήρος.

Παλαιότερες μελέτες δεν είχαν κατορθώσει να αποδείξουν εμβρυοπάθεια αλλά σιγά - σιγά φάνηκε ότι η νόσος στην έγκυο, κατά τους πρώτους μήνες της κυήσεως, μπορεί να οδηγήσει σε εμβρυϊκές βλάβες του τύπου των δερματικών ουλών, υποπλασίας μελών, μυϊκής ατροφίας, ψυχοκινητικής καθυστερήσεως, υποτυπωδών δακτύλων, φλοιώδους ατροφίας, χοριοαμφιβληστροειδίτιδος και καταρράκτη. Λοίμωξη στο τέλος της εγκυμοσύνης οδηγεί σε νεογνική νόσο που συνήθως είναι διάσπαρτη και βαριά.

4.3.2.β. Έρπης Ζωστήρας

Ο έρπης ζωστήρας (shingles) είναι μια εκδήλωση της μόλυνσης του ιού Varicella. Η επανενεργοποίηση ή η υποτροπιάζουσα λοίμωξη συμβαίνει πολλά χρόνια μετά την πρωτογενή λοίμωξη και έχει σχέση με τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα. Το 16% των οροθετικών ατόμων αναμένεται να εκδηλώσουν την ασθένεια. Οι βλάβες είναι περιορισμένες στις περιοχές του δέρματος που νευρώνονται από τα αισθητήρια νεύρα των ραχιαίων γαγγλίων, πρώτιστα της θωρακικής και οσφυϊκής περιοχής. Αυτοί οι νευρικοί ιστοί είναι πιθανά η θέση της λανθάνουσας μόλυνσης από VZV. Προηγείται αίσθημα καύσου, νυγμώδεις πόνοι και ευαισθησία στην αφή και ακολουθεί έκθυση φυσαλίδων σε ερυθηματώδη βάση. Η προσβολή του τριδύμου αφορά κατά πολύ συχνότερα τον πρώτο κλάδο, οπότε προσβάλλεται το άνω βλέφαρο, ο επιπεφυκότας, ο σκληρός χιτώνας του οφθαλμού, ο κερατοειδής και η ίριδα. Όταν προσβάλλονται τα ιερά γάγγλια, εκτός από δερματικές βλάβες, παρατηρείται κατακράτηση ούρων, συμπτώματα ουρολοιμώξεως και καμιά φορά αιμορραγικής κύστης.

Όπως και με την ανεμευλογιά, έτσι και ο ζωστήρ παίρνει βαριά, διάσπαρτη μορφή σε ασθενείς με ανοσοκαταστολή, οπότε παρατηρείται και ανεμευλογιοείδες εξάνθημα σε όλο το σώμα τους. Σχεδόν όλοι οι άρρωστοι έχουν έντονο πόνο στην περιοχή των βλαβών, που υποχωρεί μετά 2-3 εβδομάδες. Ένα δυσάρεστο επακόλουθο του έρπητα ζωστήρα είναι η εμφάνιση της βασανιστικής μεθερπητικής νευραλγίας που παραμένει συνήθως για ένα περίπου χρόνο. Η μεθερπητική νευραλγία είναι έντονος πόνος που επιμένει ή υποτροπιάζει μετά την επούλωση των δερματικών

βλαβών. Συμβαίνει στο 10-15% του συνόλου των ασθενών με έρπητα ζωστήρα. Κυρίως συμβαίνει σε ασθενείς ηλικίας άνω των 60 ετών, ενώ είναι σπάνιος σε ασθενείς κάτω των 40 ετών. Σπανίως παρατηρείται εγκεφαλίτιδα που οδηγεί σε κώμα, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις ασθενών παρατηρούνται παραλύσεις (οφθαλμοπληγία, παράλυση του προσωπικού νεύρου, των μυών των άκρων κλπ.), που θεωρείται ότι οφείλονται σε κεντρομόλο επέκταση της νόσου και προσβολή κινητικών νευρώνων μέσω του ΚΝΣ.

4.3.3. Διάγνωση

Η διάγνωση κλινικά είναι σχετικά εύκολη. Μερικές φορές σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς χρειάζεται επιβεβαίωση. Με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορεί γρήγορα να διαπιστωθεί αν όντως υπάρχουν ιοί της ομάδας του έρπητος ενώ βοηθά και η ιστολογική εικόνα των πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων. Μέθοδοι ανοσοφθορισμού δίνουν πιο ακριβή διάγνωση για το είδος του ίου, όπως και η απομόνωση του ιού από υλικό βλαβών, που σε αντίθεση με τον απλό έρπητα, απαιτεί πολλές ημέρες. Η ανίχνευση αντισωμάτων χρησιμοποιείται λιγότερο διαγνωστικά και περισσότερο για τον καθορισμό της τυχόν ύπαρξης ανοσίας σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα.

Η δοκιμασία σύνδεσης συμπληρώματος και ανοσοφθορισμού είναι οι μοναδικές πρακτικές μέθοδοι για την ορολογική διάγνωση της μόλυνσης με ιούς της ανεμευλογιάς και του έρπητα ζωστήρα. Η παρουσία υψηλού τίτλου συμπληρώματος σε ορούς λαμβανόμενους κατά την οξεία φάση της νόσου με έρπητα ζωστήρα, αποκλείει περαιτέρω αύξηση του τίτλου.

Κατά την αρχική μόλυνση της ανεμευλογιάς ο τίτλος σύνδεσης του συμπληρώματος μπορεί να βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα τους πρώτους 6-12 μήνες, πράγμα που μικραίνει την αξία της μεθόδου στον έλεγχο της ανοσίας στον άνθρωπο. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ασθενείς με απλό έρπητα παρουσίασαν αύξηση, κατά 4 φορές ή περισσότερο, στον τίτλο σύνδεσης συμπληρώματος με αντιγόνο ανεμευλογιάς – ζωστήρα. Η πιθανότητα διασταυρούμενης αντίδρασης μεταξύ απλού έρπητα και ανεμευλογιάς – ζωστήρα έχει πολλές φορές τονιστεί.

4.3.4. Θεραπεία – Ανοσοποίηση

Σε φυσιολογικά άτομα δεν χρειάζεται καμία θεραπεία για την ανεμευλογιά. Σε ανοσοκατεσταλμένους όμως ασθενείς, αφενός διακόπτεται η χορήγηση ή τουλάχιστον μειώνεται η δοσολογία κορτικοειδών ή ανασοκατασταλτικών, αφ' ετέρου δε, χορηγείται ασυκλοβίρη σε δόση 5-10mg/kg ανά 8ωρο επί 5 τουλάχιστον ημέρες. Αν και η δράση της ασυκλοβίρης είναι ασθενέστερη κατά του ιού της ανεμευλογιάς από ότι κατά του ιού του απλού έρπη, εν τούτοις φαίνεται ότι και σε αυτήν την περίπτωση ωφελεί, ιδίως αν δοθεί εγκαίρως. Σταματά η έκθυση νέων βλαβών και μειώνεται η πιθανότητα γενίκευσης της νόσου.

Στον έρπη ζωστήρα χορηγούνται αναλγητικά, ενώ τα κορτικοειδή αν και έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετά κατά το παρελθόν, δεν έχουν επαρκή αιτιολόγηση ως προς τη σκοπιμότητα της χρήσης τους. Μειώνεται η διάρκεια της διασποράς των ιών και επιτυγχάνεται η ίαση, αλλά δεν μειώνεται η συχνότητα εμφάνισης της νευραλγίας. Νεότερα φάρμακα, όπως η βρωμοβινυλδεοξυουριδίνη, ίσως αποδειχθούν αποτελεσματικότερα. Σε ορισμένες κατηγορίες αρρώστων ενδείκνυται να χορηγηθεί υπεράνοση ανοσοσφαιρίνη μετά από έκθεση σε ανεμευλογιά ή ζωστήρα. Η χορήγηση πρέπει να γίνεται εντός 96 ωρών και αφορά άτομα χωρίς ιστορικό ανεμευλογιάς που πάσχουν από λευχαιμία, λέμφωμα, νεοπλάσματα για τα οποία χορηγούνται κυτταροτοξικά φάρμακα, πρωτογενή σύνδρομα ανοσολογικής ανεπάρκειας, AIDS, λήπτες μοσχευμάτων, μετά από μεταμόσχευση μυελού των οστών, όπως και άτομα που λαμβάνουν μεγάλες δόσεις κορτικοειδών καθώς και πρόωρα ή νεογνά μητέρων που έπαθαν ανεμευλογιά στο τέλος της κύησης. Επιβεβαίωση για την απουσία ανοσίας γίνεται με μέτρηση αντισωμάτων στον ορό. Η υπεράνοση ανοσοσφαιρίνη δεν προλαμβάνει την εκδήλωση της νόσου, αλλά μειώνει τη βαρύτητα και την θνητότητα αυτής[368].

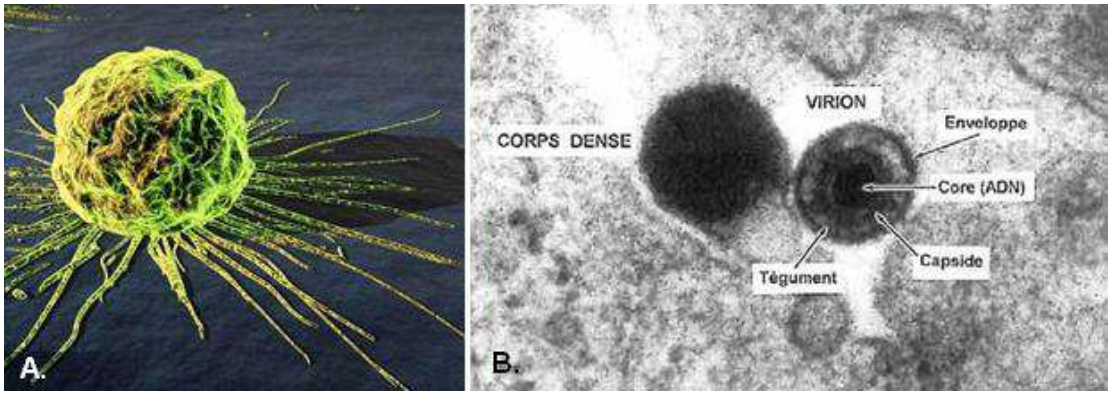
Ένα εμβόλιο έναντι του έρπητα ζωστήρα από ζώντες εξασθενημένους ιούς (Oka/Merck) έχει αναπτυχθεί με την εμπορική ονομασία ZostavaxTM®. Το εμβόλιο μείωσε το συνολικό φορτίο του πόνου και της ενόχλησης που προκαλούνται από τον έρπητα ζωστήρα κατά 61%, σύμφωνα με μία νέα μελέτη που συνέκρινε το ερευνητικό εμβόλιο με εικονικό φάρμακο σε περισσότερους από 38.500 άνδρες και γυναίκες ηλικίας 60 ετών ή

μεγαλύτερους. Στη μελέτη αυτή το εμβόλιο μείωσε επίσης κατά 67% την επίπτωση της μεθερπητικής νευραλγίας και την επίπτωση του έρπητα ζωστήρα κατά 51%. Περαιτέρω μελέτες θα καθορίσουν αν πρέπει να εφαρμόζεται μόνο σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα ή και στο γενικό πληθυσμό[369,370].

4.4. Ο Κυτταρομεγαλοϊός (CMV ή HHV-5)

4.4.1. Γενικά στοιχεία

Ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV ή HHV-5) ανήκει στην οικογένεια των β-ερπητοϊών (Εικόνα 4.8).

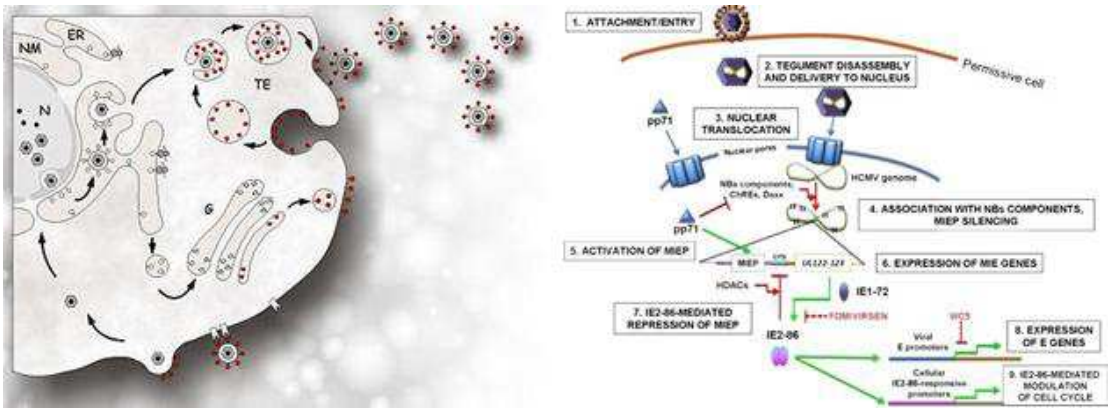


Εικόνα 4.8: Α. Καλλιτεχνική απεικόνιση του CMV. **Β.** Εικόνα του CMV με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Οι λοιμώξεις από CMV, οι περισσότερες από τις οποίες είναι υποκλινικές, είναι συχνές σε όλο τον κόσμο. Η συχνότητα της CMV λοίμωξης σε ένα δεδομένο πληθυσμό σχετίζεται άμεσα με το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, με συνθήκες συνωστισμού και με κακή υγιεινή[371]. Παρόλο που λίγα είναι γνωστά για τη μετάδοση του ιού μεταξύ ατόμων, ο κίνδυνος απόκτησης CMV λοίμωξης είναι εν μέρει κατανοητός για ορισμένες ομάδες ηλικιών. Η λοίμωξη μπορεί να μεταδοθεί στο νεογέννητο κατά τη δίοδό του μέσα από τον γεννητικό σωλήνα, όπου οι εκκρίσεις τραχήλου και κόλπου μπορεί να περιέχουν μολυσματικό ιό. Ο CMV μπορεί επίσης να μεταδοθεί στο νεογέννητο με το μητρικό γάλα κατά το θηλασμό[372]. Ως εκ τούτου, η αποβολή του CMV στα ούρα ή τη σίελο είναι συχνή σε υγιή μικρά παιδιά, ιδιαίτερα σε παιδικούς σταθμούς. Είναι πιθανόν η ευρέως διαδεδομένη λοίμωξη ανάμεσα σε ασυμπτωματικά παιδιά να παίζει σημαντικό ρόλο στην εξάπλωση του ιού

σε άλλα παιδιά και ενήλικες. Παρόλο που ο κίνδυνος λοίμωξης μετά από δεδομένη επαφή με ασυμπτωματικό άτομο που αποβάλλει τον ιό φαίνεται να είναι πολύ χαμηλός, ο ιός βρίσκεται σε τέτοια έκταση παντού, ώστε αναμφίβολα να παρουσιάζονται επανειλημμένες ευκαιρίες έκθεσης. Υπάρχουν ενδείξεις ότι σε έφηβους και ενήλικες, μολυσματικός ιός που υπάρχει στις κολπικές εκκρίσεις, το σπέρμα και τη σίελο, μπορεί επίσης να μεταδοθεί με τη σεξουαλική δραστηριότητα[372]. Τελικά είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι σε οποιαδήποτε ομάδα ηλικιών ο ιός μπορεί να μεταφερθεί από το δότη στο λήπτη με τις μεταγγίσεις αίματος και τη μεταμόσχευση οργάνων (νεφρού, καρδιάς, πνευμόνων και ήπατος)[373].

Ένα από τα πιο μελετημένα γονίδια του CMV είναι το άμεσα πρώιμο γονίδιο IE2 το οποίο ενεργοποιεί τόσο την ιϊκή όσο και την κυτταρική έκφραση γονιδίων. Κατά τη λοίμωξη με το CMV, ιϊκά σωμάτια με έλυτρο παρατηρούνται με τη μορφή κενοτοπίων στο κυτταρόπλασμα και συντήκονται με τις κυτταρικές μεμβράνες, επιτρέποντας την έξοδο των ώριμων σωματιδίων του ιού. Ιϊκά σωμάτια ωριμάζουν επίσης στο σύστημα Golgi και εξέρχονται από το μολυσμένο κύτταρο κατά τον ίδιο τρόπο, παρασύροντας κατά την έξοδό τους γλυκοπρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης του κυττάρου-ξενιστή, που είναι ειδικές για τον ιό.



Εικόνα 4.9: Ο κύκλος αναδιπλασιασμού του CMV.

Εισαγωγή του καψιδίου του ιού στα κύτταρα μέσω της μεμβράνης ακολουθεί τρία βήματα προσβολής (Εικόνα 4.9). Πρόσδεση στην θειϊκή ηπαράνη, πρωτεογλυκάνη της κυτταρικής μεμβράνης (HSPG) μέσω των γλυκοπρωτεϊνών του φακέλου gM, gB. Πρόσδεση και με άλλες πρωτεΐνες

υποδοχής του κυττάρου: EGFR και ιντεγκρίνες, οι οποίες με τη σειρά τους στέλνουν σήματα στο εσωτερικό του κυττάρου, προετοιμάζοντάς το για την ιϊκή αντιγραφή. Τέλος ακολουθεί η σύντηξη με την κυτταρική μεμβράνη μέσω της γλυκοπρωτεΐνης του φακέλου gB, gH, gL, gO και απελευθέρωση του καψιδίου στο εσωτερικό του κυττάρου. Εάν εκφραστούν οι immediate - early πρωτεΐνες, γίνεται μεταγραφή και μετάφραση των πρωτεϊνών του ιού και αναπαράγεται μέσω του λυτικού κύκλου. Εάν όχι, σημαίνει πως οι μεταγραφικοί παράγοντες του κυττάρου δεν επέτρεψαν τη μεταγραφή και ο ιός οδηγείται σε λυσιγονική κατάσταση[374].

Άνω του 80% των ενηλίκων είναι οροθετικοί, γεγονός που είναι ενδεικτικό προηγηθείσας έκθεσης στον ιό[375]. Αναγνωρίζονται 4 διαφορετικοί τύποι αλληλεπίδρασης μεταξύ ιού και ξενιστή:

α) ***Πρωτογενής λοίμωξη*** κατά την οποία ο ιός εγκαθίσταται αρχικά στον ξενιστή. Η μεγάλη πλειοψηφία των λοιμώξεων αυτών είναι ασυμπτωματικές για τα φυσιολογικά άτομα παρόλο που η διαπλακουντιακή μετάδοση του ιού κατά τη διάρκεια της κύησης μπορεί να προκαλέσει στο έμβρυο τη νόσο των μεγαλοκυτταρικών εγκλείστων. Η πιο συχνή κλινική εκδήλωση της λοίμωξης σε προηγουμένως υγιείς ενήλικες είναι η λοιμώδης μονοπυρήνωση.

β) ***Χρόνια επιμένουσα λοίμωξη***: παρατηρείται ασυμπτωματική αποβολή του ιού από διάφορες εστίες (ούρα, σίελο, σπέρμα, εκκρίσεις τραχήλου και κόλπου) για μήνες ή χρόνια παρά την ύπαρξη ειδικής ανοσολογικής αντίδρασης εκ μέρους του ξενιστή.

γ) ***Λανθάνουσα λοίμωξη*** ή παραμονή του CMV σε κύτταρα ή ιστούς του ξενιστή σε μη αναδιπλασιαζόμενη μορφή.

δ) ***Επανενεργοποίηση ή υποτροπιάζουσα λοίμωξη*** κατά την οποία ο CMV επανεμφανίζεται σε αναδιπλασιαζόμενη μορφή.

4.4.2. Κλινική εικόνα του CMV

Πάνω από 95% των μητρικών λοιμώξεων πρωτογενών ή επιμενουσών είναι ασυμπτωματικές. Σποραδικά η CMV λοίμωξη παρουσιάζεται σαν μια *«Συνδρομή Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης»* με λευκοκυττάρωση, διαταραγμένες δοκιμασίες λειτουργίας ήπατος, πυρετό. Η μετρίου βαθμού φαρυγγίτιδα, η μικρή λεμφαδενοπάθεια, η απουσία ηπατοσπληνομεγαλίας και

ο ίκτερος βοηθούν στην διαφοροδιάγνωση της λοίμωξης από CMV, από το σύνδρομο της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης.

Το φάσμα της κλινικής εικόνας που προκαλείται από CMV στο έμβρυο και στο νεογνό είναι πολύ ευρύ. Από τα μολυσμένα νεογνά με συγγενή λοίμωξη, 95% είναι τελείως ασυμπτωματικά κατά τη γέννηση, όμως ένα μικρό ποσοστό εμφανίζει συμπτώματα με την πρόοδο της ηλικίας. Κλινικώς εμφανής νόσος λαμβάνει χώρα σε 5% των απόγονων με συγγενή λοίμωξη από CMV, η συνδρομή που εμφανίζουν είναι γνωστή ως *«Νόσος των μεγαλοκυτταρικών εγκλείστων»*, η δε πρόγνωσή τους είναι κακή[376]. Σε σοβαρότερες νεογνικές λοιμώξεις η κλινική εικόνα περιλαμβάνει: ηπατο-σπληνομεγαλία, ίκτερο, θρομβοκυττοπενία, μικροκεφαλία, κώφωση, χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, οπτική ατροφία, εγκεφαλικές αποτιτανώσεις.

Η CMV λοίμωξη σε μη ανοσοκατεσταλμένους ενήλικες συνήθως διαδράμει υποκλινικά. Όμως μπορεί να εκδηλωθεί και ως CMV λοιμώδης μονοπυρήνωση. Αυτό μπορεί να συμβεί και κατά την επανενεργοποίηση του CMV, αλλά είναι λιγότερο συχνό από ότι κατά την πρωτοπαθή λοίμωξη. Ο CMV ευθύνεται για το 8% των μονοπυρηνώσεων και η CMV λοιμώδης μονοπυρήνωση μοιάζει με αυτήν που προκαλείται από τον EBV, αλλά τα συμπτώματα είναι λιγότερο σοβαρά και συνίστανται σε επίμονο εμπύρετο, μυαλγία, αμυγδαλίτιδα και τραχηλική λεμφαδενοπάθεια[377]. Μετά την πρόδρομη περίοδο εμφανίζεται δερματικό εξάνθημα, το οποίο δύναται να συνδυαστεί με σύνδρομο Guillain-Barre, μηνιγγίτιδα, ηπατίτιδα, πνευμονία, αιμολυτική αναιμία και θρομβοκυττοπενία[378]. Χαρακτηριστικά εργαστηριακά ευρήματά της αποτελούν η παρουσία στο περιφερικό αίμα άτυπων λεμφοκυττάρων και υψηλών τιμών των τρανσαμινασών. Τα άτυπα λεμφοκύτταρα είναι κυρίως CD8+ T κύτταρα που εκφράζουν CD57 αντιγόνα[379].

Ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς έχουν αυξημένες πιθανότητες να εμφανίσουν μολύνσεις από CMV. Συνήθως παρουσιάζουν δεκατική πυρετική κίνηση, η οποία υποχωρεί εντός ολίγων ημερών. Ορισμένοι αναπτύσσουν ιαιμία, η οποία μοιάζει με σηψαιμία και μπορεί να συνοδεύεται από ηπατίτιδα και πνευμονία. Στις περιπτώσεις που επιπλέκονται με πνευμονία, η πρόγνωση είναι κακή (80-90% θνησιμότητα). Επίσης, το σάρκωμα Kaposi έχει συσχετισθεί ορολογικά και ιολογικά με μόλυνση από CMV.

4.4.3. Διάγνωση

Στη μητρική λοίμωξη, επειδή είναι πάντα ασυμπτωματική, η διάγνωσή της σπανίως είναι στις υποψίες του κλινικού ιατρού. Ακόμα και όταν η νόσος κλινικά λάβει χώρα, είναι γενικά μετρίου βαθμού. Έτσι η CMV λοίμωξη συνήθως δεν εκτιμάται ως πιθανή αιτία. Αξιόπιστες δοκιμασίες ανίχνευσης των IgG αντισωμάτων έναντι του CMV είναι: α) ο έμμεσος ανοσοφθορισμός, β) οι οροσυγκολλητικές αντιδράσεις, καθώς και γ) η ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA). Περίπου το 40% των ενηλίκων έχει αντισώματα. Αξίζει εξάλλου να σημειωθεί ότι ένα μοναδικό θετικό αποτέλεσμα δεν οδηγεί απαραίτητα στην κατάδειξη πρόσφατης ή τρέχουσας λοίμωξης. Η ανάδειξη της ορομετατροπής είναι η καλύτερη πιστοποίηση της πρωτογενούς λοίμωξης. Αν η λοίμωξη έλαβε χώρα μέσα στους προηγούμενους 4 έως 8 μήνες, ειδικά IgM αντισώματα μπορούν να ανιχνευτούν στον ορό.

Μέθοδοι μοριακού πολλαπλασιασμού έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί όπως είναι η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR). Λόγω της υψηλής της ευαισθησίας, τα αποτελέσματα της PCR θα πρέπει να ερμηνεύονται προσεκτικά, διότι μια τόσο ευαίσθητη τεχνική μπορεί να ανιχνεύσει την παρουσία των ιών, χωρίς όμως να υπάρχει και η ανάλογη αιτιολογική συσχέτιση με τη νόσο.

Προσφάτως, η προγεννητική διάγνωση της επίκτητης ενδομητρικής συγγενούς CMV λοίμωξης του εμβρύου, έγινε διαθέσιμη χρησιμοποιώντας εξετάσεις όπως: το υπερηχογράφημα κυήσεως, την αμνιοπαρακέντηση με λήψη τροφοβλάστης, καθώς και με τη συμπληρωματική λήψη εμβρυϊκού δείγματος αίματος από τον ομφάλιο λώρο.

Τα ούρα, η σίελος, τα ηπαρινισμένα δείγματα αίματος και οι βιοψίες ιστών από τις βλάβες, αποτελούν τα καταλληλότερα δείγματα για την απομόνωση του CMV. Ο κυτταρομεγαλοϊός αναγνωρίζεται σε ιστολογικά παρασκευάσματα από τα χαρακτηριστικά ενδοπυρηνικά έγκλειστα, γνωστά ως «μάτια κουκουβάγιας». Τα έγκλειστα αυτά παρατηρούνται σε κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων, των χοληφόρων, στο πνευμονικό και ηπατικό παρέγχυμα αλλά σπάνια σε εγκεφαλικό ιστό. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει μικρή ευαισθησία[380]. Βιοψίες ιστών δύνανται να περιέχουν κύτταρα μολυσμένα με CMV τα οποία γίνονται ορατά μετά από χρώση χρησιμοποιώντας, ειδικά για τον ιό, μονοκλωνικά αντισώματα.

4.4.4. Θεραπεία – Ανοσοποίηση

Η διαμόρφωση ενός εμβολίου έναντι του CMV προτάθηκε ως ένας τρόπος πρόληψης της συγγενούς CMV λοίμωξης. Αν και ο CMV βρίσκεται στον ξενιστή ακόμα και με την εμφάνιση υψηλών τίτλων ειδικών αντισωμάτων και το υπάρχον μητρικό αντίσωμα δεν προστατεύει ενάντια σε συγγενείς λοιμώξεις, προηγούμενη λοίμωξη μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο σοβαρής λοίμωξης του εμβρύου. Αποδείχτηκε ιδίως ότι προστατεύει έναντι σε: θνησιμότητα, πνευματική καθυστέρηση, σημαντικά νευρολογικά προβλήματα. Ένα εμβόλιο με ζωντανό αδρανοποιημένο στέλεχος δοκιμάστηκε σε εθελοντές. Καθαρά με τεχνικές μοριακής βιολογίας ένα συνδυασμένο εμβόλιο μπορεί να επιτευχθεί για το CMV. Η αξία αυτού του εμβολίου μπορεί να προλάβει όλους τους ενδομήτριους θανάτους και περίπου το 90% των σοβαρών νευρολογικών επακόλουθων που σχετίζονται με τη συγγενή CMV λοίμωξη, δευτερευόντως της πρωτογενούς λοίμωξης, η οποία λαμβάνει χώρα κάθε χρόνο στις ΗΠΑ[381].

Εμβόλιο που έχει παρασκευαστεί από το Towne στέλεχος του CMV, φαίνεται να προστατεύει τους μεταμοσχευμένους με νεφρό, αλλά απέτυχε να επάγει επαρκή παραγωγή αντισωμάτων σε φυσιολογικές γυναίκες που φροντίζουν μικρά παιδιά. Η παθητική ανοσοποίηση επιτυγχάνεται με χορήγηση υψηλών τίτλων αντισωμάτων CMV, προστατεύοντας τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς από τη CMV πνευμονίτιδα[382].

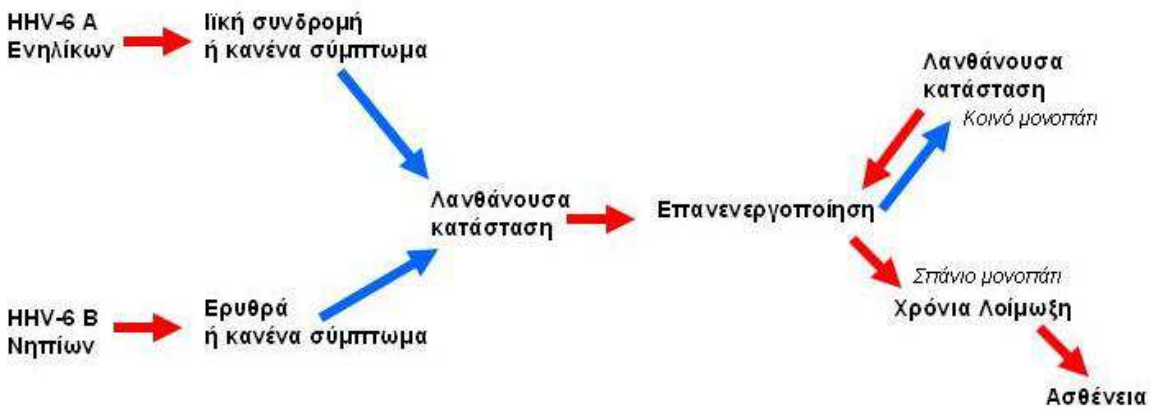
Δεν υπάρχει μέχρι στιγμής κάποια ειδική θεραπεία της CMV λοίμωξης. Στις γυναίκες με συνδρομή όμοια με Λοιμώδη Μονοπυρήνωση, η θεραπεία είναι συμπτωματική. Δεν υπάρχει διαθέσιμη ικανοποιητική θεραπεία ούτε και για τη συγγενή CMV λοίμωξη. Κατά το παρελθόν έγιναν προσπάθειες να χρησιμοποιηθούν αντι-ϊικοί παράγοντες όπως: η αραβινοσίδη (Ara-A) και κυτοσίνη – αραβινοσίδη (Ara-C) για νεογνά με σοβαρή κλινική λοίμωξη, αλλά αυτά τα φάρμακα αποδείχτηκαν τοξικά. Λόγω τοξικότητας αυτά τα αντι-ϊικά φάρμακα δεν χρησιμοποιούνται στην ασυμπτωματική CMV λοίμωξη. Η ασυκλοβίρη δεν είναι δραστική έναντι του CMV, ο οποίος αντίθετα με το σύμπλεγμα των Ερπητοϊών, δεν έχει την ικανότητα να συνθέτει δική του θυμιδινική κινάση. Η γανσυκλοβίρη πρόσφατα δείχθηκε να είναι αποτελεσματική στη θεραπεία της CMV αμφιβληστροειδίτιδας στους HIV – μολυσμένους ασθενείς[383].

Νεότερα εξίσου αποτελεσματικά φάρμακα είναι η φοσκαρνέτη, η σιντοφοβίρη και η βαλγκανσυκλοβίρη. Ωστόσο, καμία δημοσιευμένη εμπειρία με αυτά τα φάρμακα στην εγκυμοσύνη ή στα νεογνά δεν είναι διαθέσιμη σήμερα.

4.5. Ο ιός του Έρπητα 6 (Human herpesvirus type 6 ή HHV-6)

4.5.1. Γενικά στοιχεία

Ο ιός του Έρπητα 6 (HHV-6) είναι ένας DNA ιός με έντονα νευροτρόπο και λεμφοτρόπο δράση. Για πρώτη φορά ανακαλύφθηκε το 1986 στις Ηνωμένες Πολιτείες από το National Cancer Institute. Αυτός ο ιός μολύνει τα ανθρώπινα λευκοκύτταρα, ειδικά τα Τ-λεμφοκύτταρα. Δύο παραλλαγές του HHV-6 αναγνωρίζονται: ο HHV-6A και ο HHV-6B[384,385]. Η πρωτοπαθής λοίμωξη του HHV-6B είναι η αιτία της roseola (ερυθράς – εξανθήματος των νεογνών και των νηπίων) σε παιδιά, ενώ ο γενικός πλυθησμός σε ποσοστό >95% έχει αντισώματα σε αυτήν την περίπτωση[386,387]. Πρωτοπαθής λοίμωξη με HHV-6A πιστεύεται ότι θα συμβεί στην παιδική ηλικία ή αργότερα κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής και μπορεί να εμφανιστεί χωρίς συμπτώματα. Ως κύριο μέσο μετάδοσης αναφέρεται το σάλιο. Για αρκετά χρόνια μετά την πρωτολοίμωξη, ο ιός παραμένει στους πυρήνες μικρού αριθμού κυττάρων σε λανθάνουσα φάση. Η επανενεργοποίηση στην ενηλικίωση, μπορεί να οδηγήσει σε ασθένεια (Εικόνα 4.10).



Εικόνα 4.10: Το παθογενετικό μονοπάτι του HHV-6.

Οι παράγοντες που οδηγούν στην επανενεργοποίηση σε άτομα με καλό το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ασαφείς και πιθανώς περιλαμβάνουν γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (όπως ορμόνες, άλλες λοιμώξεις καθώς και την έκθεση σε διάφορες χημικές ουσίες). Οι περισσότερες περιπτώσεις επανενεργοποίησης δεν θα οδηγήσουν σε χρόνια λοίμωξη, καθώς το ανοσοποιητικό σύστημα θα καταστείλει τον ιό και θα τον επιστρέψει σε λανθάνουσα κατάσταση. Ωστόσο η επανενεργοποίηση του HHV-6 στους υγιείς κατά τα άλλα ενήλικες, έχει συνδεθεί με ένα σύνδρομο μονοπυρήνωσης (ιϊκή συνδρομή), με αυτοάνοσες διαταραχές, καθώς και με διάφορες ασθένειες του νευρικού συστήματος.

4.5.2. Κλινική εικόνα του HHV-6

Η πρωτογενής λοίμωξη με HHV-6B είναι αιτία της roseola (ερυθρά – εξανθηματική νόσος των νεογνών και νηπίων), η οποία ορίζεται επίσης ως «έκτη νόσος», μια κοινή, ήπια, οξεία εμπύρετη νόσος των βρεφών. Το εμπύρετο διαρκεί μερικές ημέρες και μερικές φορές ακολουθείται από κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα που επιλύεται αυθόρμητα. Η πρωτοπαθής λοίμωξη μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή μπορεί να προκληθούν κλινικές εκδηλώσεις, εκτός από το κλασσικό κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα. Άλλα συμπτώματα είναι η ωτίτιδα, οι γαστρεντερικές διαταραχές, η αναπνευστική δυσχέρεια, καθώς και οι κατασχέσεις. Οι επιπλοκές της πρωτογενούς HHV-6 λοίμωξης είναι σπάνιες και σπάνια θανατηφόρες, ενώ σε αυτές περιλαμβάνεται η εισβολή στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) με επιληπτικές κρίσεις, έμετο, διάρροια, βήχα, κεραυνοβόλο ηπατίτιδα και ηπατοσπληνομεγαλία. Αυτές οι προαναφερόμενες επιπλοκές που υποδεικνύουν ότι ο ιός μπορεί να εξαπλωθεί και σε μια σειρά από όργανα, τα οποία ενδέχεται να αποτελούν πιθανές εστίες, στις οποίες ο ιός περιέρχεται σε λανθάνουσα κατάσταση.

Η δεύτερη φάση της HHV-6 λοίμωξης εμφανίζεται σε υγιή παιδιά και ενήλικες, στους οποίους ο ιός βρίσκεται ενεργός στους σιελογόνους αδένες και σε λανθάνουσα κατάσταση σε λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα, ενώ εξακολουθεί να υφίσταται σε διάφορους άλλους ιστούς.

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ενεργές HHV-6 λοιμώξεις σε ένα τυχαίο δείγμα αίματος που ελήφθη από ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας (προσβολή των ολιγο-δενδρογλοιακών κυττάρων N και MS) και που ήταν σε ποσοστό 56% θετικές, καθώς και από ασθενείς με σύνδρομο χρόνιας κόπωσης (CFS) που αντίστοιχα ήταν θετικές σε ποσοστό 39%. Τέλος να σημειωθεί ότι σε υγιείς όλοι οι έλεγχοι ήταν αρνητικοί για την ενεργό μορφή της λοίμωξης από τον ιό HHV-6 (0%). Αυτή η διαπίστωση είναι σημαντική και δείχνει ότι η ενεργός HHV-6 λοίμωξη δεν παρατηρήθηκε σε υγιή άτομα που δεν έχουν αυτές τις προαναφερόμενες νόσους. Σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα (ασθενείς με AIDS ή ασθενείς μετά από λήψη διαφόρων σχημάτων χημειοθεραπείας), επέρχεται ενεργοποίηση του HHV-6, η οποία συντελεί στην επιβάρυνση της κλινικής εικόνας του ασθενούς, μέσω της καταστολής του μυελού των οστών. Πιο συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί η τοξική δράση του ιού προς τα CD4+ και τα NK λεμφοκύτταρα, αναστέλλοντας τη δράση τους[385].

4.5.3. Διάγνωση

Η διάγνωση γίνεται με έμμεσο ανοσοφθορισμό, καλλιέργεια του ιού και ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων. Η μοριακή ανίχνευση του ιϊκού γενώματος με PCR αποτελεί τη μοναδική αξιόπιστη μέθοδο διάγνωσης από του HHV-6. Η τεχνική εφαρμόζεται σε οποιοδήποτε από τα βιολογικά υγρά (περιφερικό αίμα, εγκεφαλονωτιαίο υγρό κλπ.). Επί του παρόντος, δεν εφαρμόζεται ούτε συστήνεται κάποια ιδιαίτερη θεραπευτική επιλογή.

4.5.4. Θεραπεία

Η θεραπεία διαφέρει ανάλογα με την κλινική κατάσταση. Σε βρέφη με roseola η θεραπεία είναι κυρίως υποστηρικτική. Σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα στα οποία η ενεργός HHV-6 λοίμωξη έχει τεκμηριωθεί, ορισμένες μελέτες έχουν προτείνει τη χρήση αντι-ϊικής θεραπείας, σε περιπτώσεις ηπατίτιδας, καταστολής του μυελού των οστών, πνευμονίτιδας, ή εγκεφαλίτιδας. Ειδικότερα, προτείνεται αγωγή με ganciclovir ή foscarnet. Το ganciclovir έχει επίσης αναφερθεί να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό σε ασθενείς με

επανενεργοποίηση της λοίμωξης από HHV-6, που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων[388].

4.6. Ο ιός του Έρπητα 7 (Human herpesvirus type 7 ή HHV-7)

4.6.1. Γενικά στοιχεία

Τέσσερα χρόνια μετά την απομόνωση του HHV-6, ένας άλλος ερπητοϊός ανακαλύφθηκε, ο HHV-7, λόγω των ομοιοτήτων των γονιδίων και των γονιδιακών προϊόντων του με τον HHV-6. Ο HHV-7 απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1989 από το περιφερικό αίμα ενός υγιούς ατόμου. Από τότε έχει απομονωθεί από το σάλιο υγιών ενηλίκων σε ποσοστό 75%. Αντισώματα του HHV-7 μπορούν να ανιχνευθούν με τα δείγματα ορού αίματος από το 90% του φυσιολογικού πληθυσμού[389]. Ο HHV-7 είναι ένας Τ-λεμφοτρόπος ερπητοϊός, ο οποίος μολύνει σχεδόν όλα τα παιδιά από την ηλικία των τριών ετών και εξακολουθεί να υφίσταται δια βίου στο σάλιο. Ο HHV-7 είναι παρόμοιος με τον HHV-6 στο γενετικό περιεχόμενο και σε πολλές από τις βιολογικές ιδιότητες, οι οποίες περιλαμβάνουν και την ικανότητά του να προκαλέσει σε ορισμένες τουλάχιστον περιπτώσεις κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα (roseola). Παρά τις ομοιότητες, μεταξύ HHV-7 και HHV-6 υπάρχουν σημαντικές διαφορές, συμπεριλαμβανομένου του γεγονότος ότι ο HHV-7 συνδέεται με το κυψελοειδές CD4 μόριο και χρησιμοποιεί αυτές τις πρωτεΐνες ως απαραίτητο συστατικό των υποδοχέων, ενώ ο HHV-6 συνδέεται με διαφορετικό υποδοχέα για το CD4[390]. Παρακάτω στον πίνακα 4.2 παρουσιάζονται συνοπτικά τα κύρια χαρακτηριστικά των ιών HHV-6A, HHV-6B και HHV-7.

Πίνακας 4.2: Χαρακτηριστικά γνωρίσματα των HHV-6A, HHV-6B και HHV-7.

	HHV-6A	HHV-6B	HHV-7
Μολύνει τα CD4+ κύτταρα	Ναι	Ναι	Ναι
Ο CD4 είναι υποδοχέας	Όχι	Όχι	Όχι
Παρουσία του ιού στο σάλιο	0 / 85	3 / 85	55 / 85
Παρουσία του ιού στους σιελογόνους αδένες	0 / 8	5 / 8	8 / 8
Παρουσία του ιού σε επίχρισμα του τραχήλου της μήτρας	0 / 72	14 / 72	2 / 72
Παρουσία του ιού στα λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος	Ναι	Ναι	Ναι
Παρουσία του ιού στο CNS	Ναι	Ναι	Όχι
Rosolea (Ερυθρά)	Σπάνια	Συχνά	Μερικές φορές

Στις αρχικές μελέτες που δημοσιεύθηκαν στο Medline/Pubmed και αφορούσαν τον HHV-7, γινόταν αναφορά ότι η λοίμωξη από το συγκεκριμένο ιό ήταν διαδεδομένη στους πληθυσμούς των ΗΠΑ, της Ευρώπη και της Ιαπωνίας. Παρατηρήθηκε δε ότι ο συγκεκριμένος ιός είχε μολύνει τους πλυθησμούς αυτούς κατά την ενήλικη ζωή τους, συγκριτικά με τη λοίμωξη από τον HHV-6 και αφορούσε άτομα ηλικίας μεγαλύτερης από 3 ετών. Η πηγή από την οποία ο ιός μεταδίδεται, φαίνεται να είναι το σάλιο. Αυτή η παρατήρηση προκύπτει από το γεγονός ότι τα ιϊκά σωματίδια του HHV-7, μπορούν εύκολα να ανευρεθούν σε στοματικές κοιλότητες υγιών φορέων[391].

4.6.2. Κλινική εικόνα του HHV-7

Ο ιός HHV-7 θα μπορούσε να είναι υπεύθυνος για ένα κλινικό σύνδρομο που μιμείται το κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα (roseola), δεδομένου ότι αντιγόνα του HHV-7, έχουν τεκμηριωθεί με PCR σε άτομα με οξεία λοίμωξη από HHV-6. Η οξεία HHV-7 λοίμωξη έχει συνδεθεί επίσης με ηπατίτιδα σε κοριτσάκι βρεφικής ηλικίας (18 μηνών). Εν αναμονή των αποτελεσμάτων περαιτέρω ερευνών με πιο ευαίσθητες διαγνωστικές μεθόδους (Real Time Quantitative PCR), το πιο πιθανό συμπέρασμα είναι ότι η πρωταρχική HHV-7 μόλυνση δεν συνδέεται με το σύνδρομο που μιμείται το κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα (roseola), στην πλειοψηφία των παιδιών που αποκτούν HHV-7 λοίμωξη μετά από την ηλικία των 2 ετών.

4.6.3. Θεραπεία

Με βάση τα κλινικά αποτελέσματα αναλύσεων και in vitro πειραμάτων, φαίνεται ότι τα αντι-ϊικά φάρμακα ganciclovir, foscarnet και cidofovir έχουν ανασταλτική δράση κατά του HHV-7[392].

4.7. Ο ιός Epstein-Barr (EBV ή HHV-4)

4.7.1. Γενικά στοιχεία

Ο ιός Epstein-Barr, συχνά καλούμενος και EBV, είναι μέλος της οικογένειας των ερπητοϊών και ένας από τους πιο κοινούς ανθρώπινους ιούς. Ο ιός εμφανίζεται παγκοσμίως σε ποσοστό άνω του 90% του ανθρώπινου πληθυσμού. Έτσι μπορούμε με ασφάλεια να πούμε ότι η μεγάλη πλειοψηφία των ενηλίκων μολύνονται κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Πολλά δε παιδιά μολύνονται επίσης με τον ιό. Αυτές οι μολύνσεις δεν προκαλούν συνήθως κανένα σύμπτωμα, ενώ τις περισσότερες φορές οι προκληθείσες από τον EBV λοιμώξεις, είναι όμοιες με τις άλλες ήπιες ασθένειες της παιδικής ηλικίας. Δεν υπάρχει ζώο που να λειτουργεί ως ξενιστής του ιού, αλλά οι ιδιότητές του έχουν μελετηθεί εκτενώς σε σειρές μεταμορφωμένων ανθρώπινων κυττάρων.

Ο EBV διαφέρει σημαντικά από τους άλλους ερπητοϊούς για δύο διαφορετικούς λόγους: 1) για το είδος των ιϊκών αντιγόνων που κωδικοποιεί και 2) για την αθανατοποίηση των κυττάρων που προκαλεί όταν περιέρχεται στη λανθάνουσα κατάστασή του.

Η πρωτοπαθής λοίμωξη από τον EBV αρχίζει στα επιθηλιακά κύτταρα του στοματοφάρυγγα, όπου τα βίρια του ιού αντιγράφονται και στη συνέχεια απελευθερώνονται από τα επιθηλιακά κύτταρα μέσα στη σίελο[393]. Ακολούθως τα βίρια εισχωρούν στα Β-λεμφοκύτταρα τα οποία φέρουν κοινούς υποδοχείς για τον ιό, με τα συστατικά του συμπληρώματος, παραμένοντας εντός του πυρήνα σε επισωματική μορφή. Αν και τα κύρια κύτταρα-στόχοι του ιού είναι τα ανθρώπινα Β-λεμφοκύτταρα, ο ιός προσβάλλει επίσης τα επιθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα των πόρων των σιελογόνων αδένων, τα Τ-λεμφοκύτταρα, τα NK κύτταρα, τα μακροφάγα, τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών και τέλος τα ενδοθηλιακά κύτταρα[394,395].

Τα προσβεβλημένα από τον ιό Β-λεμφοκύτταρα κωδικοποιούν περισσότερα από 80 αντιγόνα, μερικά από τα οποία εκφράζονται στα κύτταρα με λανθάνουσα λοίμωξη του ιού. Το πρώτο αντιγόνο κατά σειρά εμφάνισης είναι το πυρηνικό αντιγόνο, το Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen (EBNA), το οποίο απαντάται στον πυρήνα των μολυσμένων κυττάρων. Άλλα σημαντικά αντιγόνα είναι το LYDMA (lymphocyte detected membrane antigen), που αποτελεί στόχο των κυτταροτοξικών Τ-κυττάρων, τα EA (early antigens), που

εμπλέκονται στο διπλασιασμό του DNA του ιού, τα VCA (viral capsid antigens), που αποτελούν τις δομικές πρωτεΐνες, καθώς και διάφορες άλλες γλυκοπρωτεΐνες σχετιζόμενες με τη σύνδεση της κυτταρικής μεμβράνης του ξενιστή και τη μολυσματικότητα του ιού.

In vivo, ο πλήρης λυτικός κύκλος του ιϊκού διπλασιασμού λαμβάνει χώρα στο διαφοροποιημένο πλακώδες επιθηλιακό κύτταρο, απ' όπου στη συνέχεια ο ιός διασπείρεται στην αιματική κυκλοφορία. Όταν τα Β κύτταρα εκτίθενται in vitro στον EBV, ένα ποσοστό αυτών αναπτύσσουν λανθάνουσα λοίμωξη, που χαρακτηρίζεται από τη δημιουργία κυκλικού ιϊκού γενώματος. Τα κύτταρα αυτά στη συνέχεια μπορούν να πολλαπλασιάζονται επ' αόριστο, μια κατάσταση γνωστή και ως «αθανατοποίηση». Με τον τρόπο αυτό είναι ικανά να δίνουν γένεση κάθε φορά σε μια μολυσμένη από τον ιό λεμφοκυτταρική σειρά. Αυτή η διαδικασία ενοχοποιείται για την ογκογενετική ικανότητα του ιού. Παρόμοια φαινόμενα παρατηρούνται και in vivo, με αποτέλεσμα από τη στιγμή που κάποιο άτομο μολυνθεί, να φέρει δια βίου Β λεμφοκύτταρα μολυσμένα με το γένωμα του ιού. Υπάρχουν έξι EBNAs, τρία από τα οποία ενέχονται στην επίτευξη της αθανατοποίησης[396,397].

4.7.2. Κλινική εικόνα του EBV

Η πρωτοπαθής λοίμωξη συνήθως προκαλεί μία ήπια, αυτοπεριοριζόμενη ασθένεια και συμβαίνει κυρίως στην αρχή της παιδικής ηλικίας. Στα νεαρά άτομα η οξεία λοίμωξη προκαλεί λοιμώδη μονοπυρήνωση, ενώ σπανιότερο είναι το σύνδρομο Gianotti-Crosti[398]. Επειδή η EBV λοίμωξη στην Ασία και την Αφρική λαμβάνει χώρα κυρίως κατά την παιδική ηλικία, η συμπτωματική λοιμώδης μονοπυρήνωση είναι λιγότερο συχνή σε αυτές τις χώρες από ότι στις αναπτυγμένες χώρες του Δυτικού Κόσμου, όπου η πρωτοπαθής EBV λοίμωξη παρουσιάζεται κατά την εφηβεία.

Κατά την οξεία EBV λοίμωξη, η έντονη ανοσοποιητική αντίδραση από τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα έναντι των προσβεβλημένων Β-κυττάρων, προκαλεί χαρακτηριστική κλινική εικόνα με εμπύρετο, κυνάγχη, λεμφαδενοπάθεια και συνοδό λεμφοκυττάρωση. Στο ήμισυ των περιπτώσεων συνυπάρχει σπληνομεγαλία. Περιστασιακά εμφανίζεται κηλιδοβλατιδώδες ή πετεχειώδες εξάνθημα. Συνήθης εκδήλωση της λοιμώδους μονοπυρήνωσης

είναι η ηπατίτιδα με συνοδό ηπατομεγαλία και ίκτερο. Σπανιότερα υπάρχει προσβολή του ΚΝΣ με κεφαλαλγία και επώδυνη νευρίτιδα.

Σε ανοσοκατεσταλμένους ή ανοσοανεπαρκείς ασθενείς (ασθενείς με AIDS ή με προηγηθείσα μεταμόσχευση συμπαγούς οργάνου – νεφρού ή ήπατος), προκαλείται μία πλειάδα νόσων που σχετίζονται με το λεμφοκυτταρικό πολλαπλασιασμό[399]. Η λανθάνουσα λοίμωξη από τον EBV έχει συνδεθεί με διάφορες κακοήθεις καταστάσεις σε μη ανοσοκατεσταλμένα άτομα, στις οποίες περιλαμβάνονται το αφρικανικό λέμφωμα Burkitt, ο καρκίνος του ρινοφάρυγγα, περιφερικά λεμφώματα Τ-κυττάρων, ο γαστρικός καρκίνος[400] κά.

Με την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή, παράγονται αντισώματα IgM, IgG, και IgA. Τα IgG αντισώματα ανιχνεύονται εφ' όρου ζωής. Αύξηση των τίτλων των IgG αντισωμάτων υποδηλώνει ενεργοποίηση του EBV. Σε περιπτώσεις χρόνιας λοίμωξης, ανιχνεύονται υψηλοί τίτλοι IgG αντισωμάτων. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα IgA αντισώματα αυξάνονται σε ασθενείς με καρκίνο του ρινοφάρυγγα. Στις περισσότερες περιπτώσεις EBV λοίμωξης που παρουσιάζει λεμφοπολλαπλασιαστικές διαταραχές, δεν παρατηρείται σημαντική αύξηση των τίτλων των αντισωμάτων[399].

4.7.3. Θεραπεία – Ανοσοποίηση

Η χρήση των κορτικοστεροϊδών στη λοιμώδη μονοπυρήνωση είναι αμφιλεγόμενη. Σε μια πολυκεντρική μελέτη, όπου στην ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκε εικονικό φάρμακο, διαπιστώθηκε ότι ο συνδυασμός ακυκλοβίρης και πρεδνιζόνης μείωσε τη διασπορά του ιού από τον οροφάρυγγα, αλλά δεν επηρέασε τη διάρκεια των συμπτωμάτων, ούτε και την αποχή από την εργασία. Γενικά, δε συνιστάται η χορήγηση κορτικοστεροειδών ως ρουτίνα, ωστόσο η χορήγησή τους θεωρείται απαραίτητη, όταν επίκειται απόφραξη των αεροφόρων οδών ή όταν η λοίμωξη είναι απειλητική για τη ζωή του ασθενή.

Με την ακυκλοβίρη μπορεί να παρατηρηθεί μικρής διάρκειας καταστολή της διασποράς του ιού, αλλά δεν έχει καμιά επίδραση στη λανθάνουσα κατάσταση της λοίμωξης. Έτσι δεν έχει προκύψει σε καμιά μελέτη πραγματικό κλινικό όφελος από τη χρήση της ασυκλοβίρης, τόσο για

τη θεραπεία της λοιμώδους μονοπυρήνωσης όσο και για τη θεραπεία κακοηθειών που σχετίζονται με τον EBV.

Ως προς τα λεμφώματα που οφείλονται στον EBV, για τη θεραπεία τους χορηγούνται διάφορα χημειοθεραπευτικά σχήματα που περιλαμβάνουν δοξορουμπικίνη, πρεδνιζόνη και κυκλοφωσφαμίδη, σε διάφορους δοσολογικούς συνδυασμούς των τριών. Εν τούτοις, τα επιθετικά EBV λεμφώματα παρουσιάζουν αντίσταση στη συμβατική χημειοθεραπεία. Αυτό πιθανώς οφείλεται στο σύνδρομο συστηματικής αιμοφαγοκυττάρωσης, καθώς και σε έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με ανθεκτικότητα σε πολλαπλά φάρμακα[400,401].

Το γονίδιο gp350/220 είναι το βασικότερο γονίδιο της λυτικής φάσης του ιού, καθώς συνδέεται με τον Τ- υποδοχέα των Β λεμφοκυττάρων για την έναρξη της λοίμωξης. Το συγκεκριμένο γονίδιο χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη του εμβολίου ενάντια στη λοίμωξη από τον EBV. Σε μελέτες με πειραματόζωα ένα τέτοιο εμβόλιο φάνηκε αρκετά αποτελεσματικό. Στην Κίνα ήδη δοκιμάζεται εμβόλιο με ανασυνδυασμένο γονίδιο gp350/220[402].

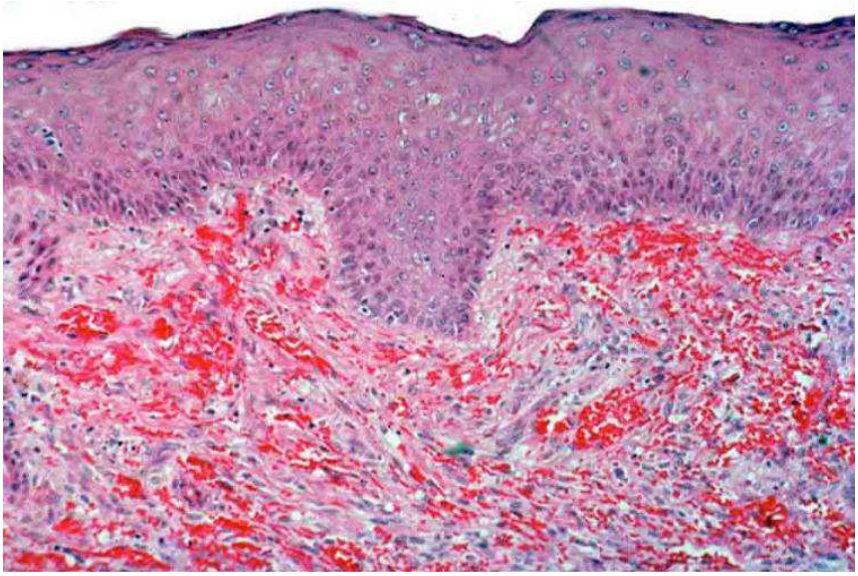
4.8. Ο ιός Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus (KSHV ή HHV-8)

4.8.1. Γενικά στοιχεία

Ο ερπητοϊός που σχετίζεται με το Σάρκωμα Kaposi, είναι ένας από τους μέχρι σήμερα 7 γνωστούς ογκογόνους ιούς του ανθρώπου. Είναι επίσης ο όγδοος ερπητοϊός του ανθρώπου, που σύμφωνα με τη Διεθνή Επιτροπή για την Ταξινόμηση των Ιών (ITCV) ονομάζεται και HHV-8. Όπως ισχύει και για άλλους ερπητοϊούς, η ανεπίσημη ονομασία που χρησιμοποιείται εναλλακτικά από την ITCV είναι KSHV. Ο ιός αυτός προκαλεί το σάρκωμα Kaposi, έναν καρκίνο που εμφανίζεται συνήθως σε ασθενείς με AIDS. Μπορεί επίσης να προκαλέσει πρωτοπαθές λέμφωμα, καθώς και πολυκεντρική νόσο του Castleman.

4.8.2. Ιστορική αναδρομή

Το 1878 ο Moritz Kaposi περίγραψε για πρώτη φορά έναν όγκο των αιμοφόρων αγγείων (Εικόνα 4.11), τον οποίο και ονόμασε *«ιδιοπαθές σάρκωμα του δέρματος πολλαπλών χρώσεων»* (idiopathic multiple pigmented sarcoma of the skin), ο οποίος έκτοτε ονομάστηκε «Σάρκωμα Kaposi ή KS» προς τιμήν αυτού που το ανακάλυψε[403]. Αρχικά οι διάφοροι επιδημιολόγοι πίστευαν ότι το σάρκωμα Kaposi ήταν ένας σπανιότατος όγκος, που αφορούσε μόνον τους Εβραίους καθώς και κάποιους λαούς της λεκάνης της Μεσογείου, μέχρι που συνειδητοποίησαν ότι το KS ήταν αρκετά συχνό στους λαούς της υποσαχάριας Αφρικής. Αυτή η τόσο σημαντική παρατήρηση οδήγησε τους επιστήμονες τη δεκαετία του ’50 στην υπόθεση ότι ίσως το KS να οφείλεται στη δράση ενός ιού. Με την έναρξη της επιδημίας του AIDS στις αρχές της δεκαετίας του 1980, υπήρξε μια ξαφνική αναζωπύρωση της επιδημίας KS που αφορούσε κυρίως ομοφυλόφιλους αλλά και αμφιφυλόφιλους ασθενείς με AIDS. Επίσης το 50% των ασθενών με AIDS στους οποίους διαγνώστηκε το KS, παρουσίαζαν και υψηλή προδιάθεση για άλλες σπάνιες μορφές καρκίνου. Η προσεκτικότερη ανάλυση των επιδημιολογικών δεδομένων από τους ερευνητές Valerie Beral και συν.[404], τους οδήγησε στο συμπέρασμα ότι το KS μάλλον οφείλεται σε έναν άγνωστο σεξουαλικά μεταδιδόμενο ιό που προκαλεί σπάνιους όγκους, εκτός και αν ο οργανισμός-ξενιστής βρίσκεται σε ανοσοκαταστολή, όπως συμβαίνει με τους ασθενείς με AIDS.



Εικόνα 4.11: Μικροσκοπική απεικόνιση των ιστολογικών αλλοιώσεων του KS.

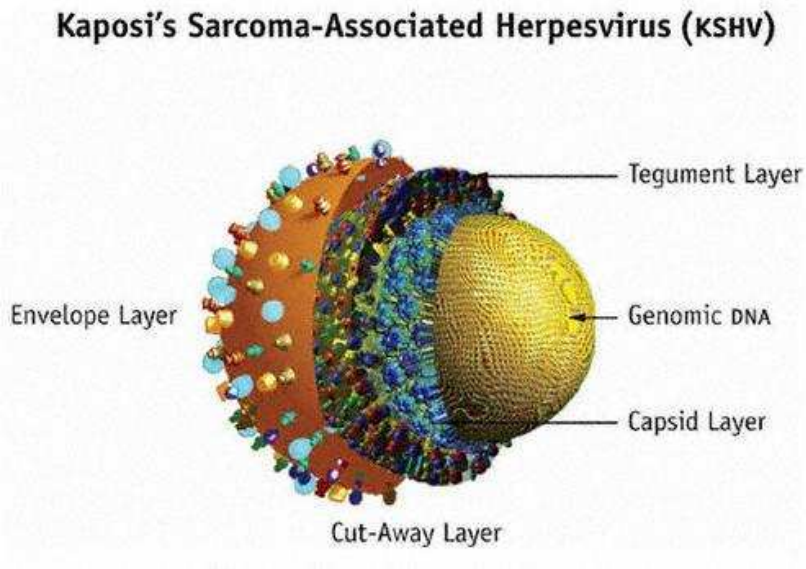
Μία ομάδα ερευνητών του Πανεπιστημίου της Columbia το 1994 κατάφερε να απομονώσει τμήμα DNA ενός μέχρι τότε άγνωστου ιού, που παρουσίαζε όμως αρκετές ομοιότητες με τους μέχρι τότε γνωστούς ερπητοϊούς του ανθρώπου[405]. Το συγκεκριμένο γενετικό υλικό απομονώθηκε από ασθενή με AIDS με σάρκωμα Kaposi. Ήδη από το 1984 οι διάφοροι ερευνητές ανά τον κόσμο με παρατηρήσεις που έκαναν με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, είχαν αναφέρει την ύπαρξη ενός ιού με χαρακτηριστικά των ερπητοϊών του ανθρώπου, σε καρκινικές βλάβες ασθενών με KS. Από τότε λοιπόν, είχαν αρχίσει να ψάχνουν τον πιθανό αιτιοπαθολογικό παράγοντα που προκαλούσε το KS και πάνω από 20 διαφορετικοί παράγοντες είχαν κατηγορηθεί ως πιθανές αιτίες εμφάνισης της νόσου, συμπεριλαμβανομένων και των ιών CMV και HIV. Ο Chang και συν. χρησιμοποιώντας την *τεχνική ανάλυσης αναπαράστασης διαφορών* (representational difference analysis, RDA) για να βρουν τον KSHV, χρησιμοποίησαν δείγματα σαρκώματος Kaposi καθώς και δείγματα υγιούς ιστού, που προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή με AIDS. Η ιδέα πίσω από αυτό το πείραμα ήταν ότι αν ένας ιός προκαλεί KS, το γενωμικό DNA σε αυτά τα δύο δείγματα που προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή, θα πρέπει να είναι ακριβώς το ίδιο, εκτός από το τμήμα του DNA που ανήκει στον ιό. Στα πρώτα πειράματα RDA που έγιναν, απομονώθηκαν δύο μικρά θραύσματα DNA που αντιπροσώπευαν λιγότερο από το 1% του πραγματικού ιϊκού γονιδιώματος. Αυτά τα θραύσματα όμως ήταν παρόμοια με αλλά διακριτά τμήματα DNA από γνωστές αλληλουχίες των Herpesvirus, υποδεικνύοντας την παρουσία ενός νέου ιού. Ξεκινώντας από αυτά τα θραύσματα, η ερευνητική ομάδα ήταν τότε σε θέση να ολοκληρώσει αργότερα την αλληλουχία του γονιδιώματος του νέου ιού σε λιγότερο από δύο χρόνια.

Η ανακάλυψη αυτού του νέου ερπητοϊού, αποτέλεσε μία σημαντική αιτία διαφωνιών και επιστημονικών «μαχών», μέχρις ότου να συγκεντρωθούν τα επαρκή εκείνα στοιχεία που αποδείκνυαν ότι όντως ο KSHV ήταν ο αιτιολογικός παράγοντας του σαρκώματος Kaposi. Όπως είναι πλέον γνωστό, η μόλυνση από το συγκεκριμένο ιό είναι ευρέως διαδεδομένη στους πληθυσμούς της υποσαχάριας Αφρικής. Ενδιάμεσα επίπεδα μόλυνσης εμφανίζονται στους πληθυσμούς της Μεσογείου (συμπεριλαμβανομένου του Ισραήλ, της Σαουδικής Αραβίας, της Ιταλίας και της Ελλάδας). Χαμηλά επίπεδα μόλυνσης του KSHV εμφανίζονται στις περισσότερες χώρες της

Βόρειας Ευρώπης και στους πληθυσμούς της Βόρειας Αμερικής. Οι ομοφυλόφιλοι καθώς και οι αμφιφυλόφιλοι άνδρες είναι πιο επιρρεπείς στις λοιμώξεις του KSHV (μέσω ενός ακόμη άγνωστου μονοπατιού σεξουαλικής μετάδοσης), ενώ ο ιός μεταδίδεται μέσω μη σεξουαλικών μονοπατιών στις αναπτυσσόμενες χώρες.

4.8.3. Ιολογικά χαρακτηριστικά

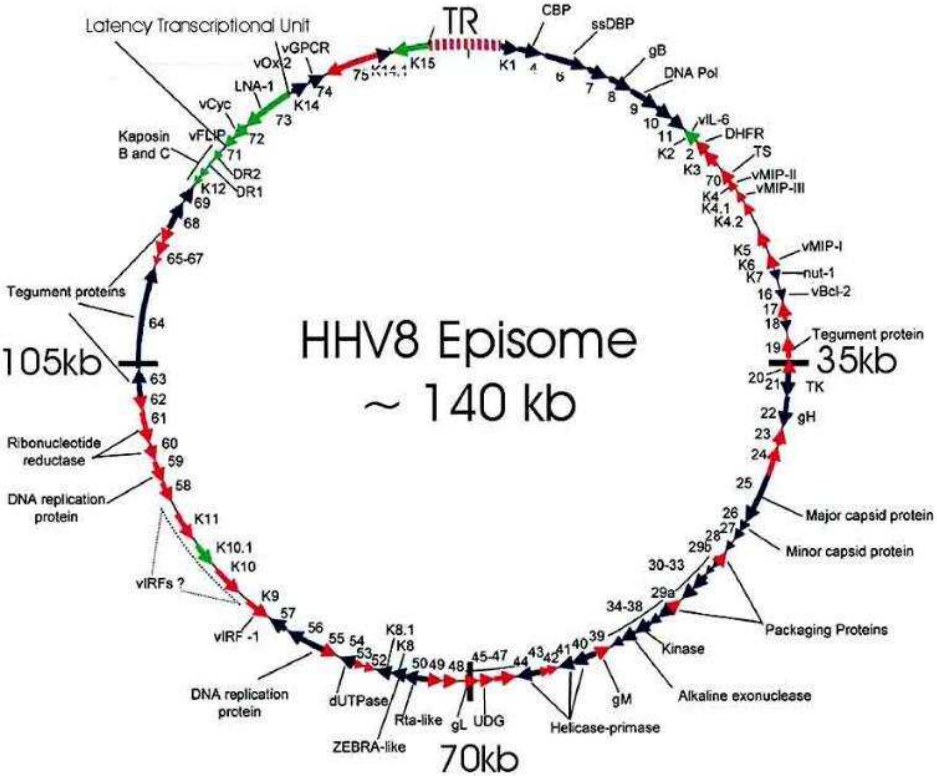
Ο KSHV ή HHV-8 είναι ένας ερπητοϊός με μεγάλο δίκλωνο DNA. Το πρωτεϊνικό κάλυμμά του που ονομάζεται *καψίδιο (capsid)* περιέχει τα νουκλεϊκά του οξέα, ενώ εν συνεχεία περιβάλλεται από ένα άμορφο πρωτεϊνικό στρώμα που ονομάζεται *υμένας (tegument)*. Όλη αυτή η ιϊκή δομή περιβάλλεται από ένα λιπιδικό περίβλημα *(envelope),* που προέρχεται από την κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου-ξενιστή (Εικόνα 4.12).



Εικόνα 4.12: Καλλιτεχνική απεικόνιση του KSHV.

Ο KSHV έχει ένα αρκετά μακρύ γονιδίωμα με 165.000 βάσεις. Ουσιαστικά πρόκειται για ένα ραδινοϊό και είναι αξιοσημείωτο να τονίσουμε ότι στο γονιδίωμά του περιέχονται πολυάριθμα γονίδια τα οποία ο ιός έχει "κλέψει" από τα διάφορα κύτταρα ξενιστές (Εικόνα 4.13). Τέτοια γονίδια για παράδειγμα είναι η δεσμευτική πρωτεΐνη του συμπληρώματος *(complement binding protein)*, η IL-6, η BCL-2, η Δ-κυκλίνη, η συζευγμένη-G πρωτεΐνη του

υποδοχέα, ο ρυθμιστικός παράγοντας της ιντεφερόνης, η Flice ανασταλτική πρωτεΐνη, καθώς επίσης και διάφορες άλλες σημαντικές πρωτεΐνες που δρουν στη σύνθεση του DNA, όπως είναι η διϋδροφολική αναγωγάση, η κινάση της θυμιδίνης, η θυμιδυλική συνθετάση, η DNA πολυμεράση και πολλές άλλες. Ενώ κανένας άλλος ανθρώπινος ογκοϊός δεν κατέχει αυτά τα ίδια γονίδια που περιέχει στο γονιδίωμά του ο KSHV, εντούτοις οι άλλοι καρκινικοί ιοί φαίνεται να στοχεύουν τα ίδια κυτταρικά μονοπάτια. Αυτό σε βασικό επίπεδο απεικονίζει ότι όλοι οι ογκογόνοι ιοί εμφανίζονται να επιτίθενται στα ίδια κυτταρικά μονοπάτια ελέγχου, τα επονομαζόμενα και «ογκοκατασταλτικά μονοπάτια».



Εικόνα 4.13: Το κυκλικό DNA του KSHV.

Μετά την αρχική μόλυνση, ο ιός εισέρχεται στα λεμφοκύτταρα μέσω μακροπινοσωματίων, όπου παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση εκφράζοντας αυτή του την λανθάνουσα κατάσταση μέσω του ιϊκού συνδεδεμένου πυρηνικού αντιγόνου LANA (Εικόνα 4.14). Εκεί ο ιός «υπάρχει» ως ένα γυμνό κυκλικό τεμάχιο DNA, που ονομάζεται επίσωμα και χρησιμοποιεί τον κυτταρικό μηχανισμό αντιγραφής του κυττάρου-ξενιστή για να αυτο-αναπαραχθεί. Στη συνέχεια το ιϊκό αντιγόνο LANA, προσδένει το ιϊκό

DNA στα χρωμοσώματα του κυττάρου-ξενιστή, ενώ ταυτόχρονα απενεργοποιεί την πρωτεΐνη p53 και την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος καταστέλλοντας όλα εκείνα τα απαραίτητα ιϊκά γονίδια που απαιτούνται για την πλήρη παραγωγή και συναρμολόγηση του ιού (λυτική αντιγραφή). Διάφορα σήματα όπως η φλεγμονή, μπορούν να προκαλέσουν την είσοδο του ιού σε «λυτική αντιγραφή». Όταν συμβεί αυτό, το ιϊκό επίσωμα ξεκινά να αναπαράγεται με τη μορφή γραμμικών μορίων DNA που είναι συσκευασμένα σε ιϊκά σωματίδια, τα οποία στη συνέχεια εξωθούνται από το κύτταρο, για να μολύνουν νέα κύτταρα ή για να διαβιβαστούν σε ένα νέο ξενιστή. Όταν ο ιός εισέρχεται σε φάση λυτικής αντιγραφής, χιλιάδες σωμάτια του ιού μπορεί να παραχθούν από ένα απλό κύτταρο-ξενιστή, το οποίο συνήθως οδηγείται στο θάνατο.

Name	Cloning frequency	Sequence	position
KSHV-miRNA-1	1	ATTACAGGAAACTGGGTGTAAG	121911
KSHV-miRNA-2	10	TCACATTCTGAGGACGGCAGCGA	121608
KSHV-miRNA-3-5p	3	AGCTAAACCGCAGTACTCTAGG	121476
KSHV-miRNA-3-3p	2	TAGAATACTGAGGCCTAGCTGA	121438
KSHV-miRNA-4	15	TAGGATGCCTGGAACTTGCCGGT	121287
KSHV-miRNA-5	5	TGATGGTTTTCGGGCTGTTGAG	120786
KSHV-miRNA-6	1	TTAATGCTTAGCCTGTGTCCGAT	120601
KSHV-miRNA-7	2	TGATCCCATGTTGCTGGCGCTC	120380
KSHV-miRNA-8	2	CTAGGCGCGACTGAGAGAGCAC	119967
KSHV-miRNA-9	1	GCTGGGTATACGCAGCTGCGT	119326
KSHV-miRNA-10	10	TTAGTGTTGTCCCCCCGAGTGGC	117992

KSHV miRNAs are located in the latency associated region

Εικόνα 4.14: Το DNA του KSHV με τις διάφορες γονιδιακές παραλλαγές του.

Το γονιδίωμα του ιού αποτελείται από μία μοναδική μακρά περιοχή με ~145 Kb, που κωδικοποιεί το σύνολο των εκφραζόμενων ιϊκών γονιδίων, η οποία με τη σειρά της πλαισιώνεται από τελικές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες ~20-30 kb[406]. Κάθε επαναλαμβανόμενη τερματική μονάδα έχει μήκος 801 bp και περιέχει 85% βάσεων G-C, ενώ είναι προσανατολισμένη με επαναλαμβανόμενο τρόπο με κεφαλουραία κατεύθυνση. Κατά τη διάρκεια της λανθάνουσας κατάστασης, το γονιδίωμα του ιού εξαρτάται από τη «μηχανή

αντιγραφής» του κυττάρου-ξενιστή και αντιγράφεται σαν κλειστό κυκλικό επίσωμα (πλασμίδιο), χρησιμοποιώντας τις αλληλουχίες εντός των τερματικών επαναλήψεων, ως έναρξη της αντιγραφής. Όταν ο ιός επανενεργοποιείται σε λυτική αντιγραφή, πιστεύεται ότι το γονιδίωμά του αντιγράφεται ως ένα συνεχές μακρύ γραμμικό μόριο, από ένα επίσωμα *(τροχιακό κυκλικό μοντέλο αντιγραφής)*. Καθώς κάθε μονάδα γονιδιώματος αναδιπλασιάζεται, αυτό κόβεται εντός της τερματικής περιοχής επανάληψης και στη συνέχεια συσκευάζεται σε ένα νέο ιϊκό σωματίδιο (virion). Τότε ο ιός περιβάλλεται από μία μεμβράνη λιπιδίων, καθώς διέρχεται από τον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα, στην πορεία του για να εξέλθει από το κύτταρο. Έτσι, ενώ το γονιδίωμα του KSHV είναι κυκλικό, όταν βρίσκεται σε λανθάνουσα φάση στον πυρήνα των μολυσμένων κυττάρων, αυτό συσκευάζεται σε νέους ιούς ως ένα γραμμικό μόριο. Μόλις όμως ο ιός μολύνει εκ νέου ένα κύτταρο, η λιπιδική μεμβράνη αποβάλλεται και το virion ταξιδεύει προς τον πυρήνα του κυττάρου-ξενιστή. Το γονιδίωμα του ιού απελευθερώνεται και ξαναγίνεται κυκλικό, μέσω μιας όχι και τόσο καλά τεκμηριωμένης διαδικασίας, που φαίνεται να περιλαμβάνει τη διαδικασία του «ομόλογου ανασυνδυασμού».

Η κύρια υπεύθυνη ιϊκή πρωτεΐνη για την εναλλαγή μεταξύ λανθάνουσας κατάστασης και λυτικής αναπαραγωγής είναι η ORF50-RTA (replication transactivation activator, RTA). Όταν οι κυτταρικές συνθήκες σηματοδότησης ενεργοποιήσουν την παραγωγή RTA, τότε ενεργοποιείται με τη σειρά της η σύνθεση ενός στερεότυπου καταρράκτη δευτερογενών και τριτογενών ιϊκών πρωτεϊνών, που αποτελούν τελικά συστατικά του ιϊκού καψιδίου, καθώς επίσης και τα απαραίτητα ένζυμα για τη σύνθεση του DNA, που απαιτούνται για την αναπαραγωγή του γονιδιώματος του ιού[407].

4.8.4. Επιδημιολογικά στοιχεία του KSHV

Οι μηχανισμοί με τους οποίους ο ιός εκδηλώνεται, δεν είναι καλά κατανοητοί. Υγιή άτομα μπορούν να μολυνθούν με τον ιό και να μην εμφανίσουν σημεία ή συμπτώματα της νόσου. Αυτό οφείλεται στην ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να κρατήσει τη μόλυνση υπό έλεγχο. Ιδιαίτερη ανησυχία στους θεράποντες ιατρούς, προκαλεί η μόλυνση που αφορά ασθενείς που βρίσκονται σε ανοσοκαταστολή. Ασθενείς με καρκίνο

που λαμβάνουν χημειοθεραπεία, ασθενείς με AIDS και ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση οργάνων, αποτελούν άτομα υψηλού κινδύνου να εμφανίσουν σημάδια σε πιθανή περίπτωση μόλυνσης από τον ιό.

Η μόλυνση με τον ιό είναι πιθανά να διαρκεί δια βίου, αλλά ένα υγιές ανοσοποιητικό σύστημα θα κρατήσει τον ιό υπό έλεγχο. Πολλοί άνθρωποι που έχουν μολυνθεί με τον KSHV πιθανά δεν θα παρουσιάσουν ποτέ συμπτώματα. Το σάρκωμα Kaposi εκδηλώνεται μόνο όταν κάποιος που έχει μολυνθεί με KSHV, μεταπέσει σε ανοσοκαταστολή εξαιτίας του AIDS, της ιατρικής θεραπείας με φάρμακα ή πολύ σπάνια λόγω γήρανσης.

Στα τέλη της δεκαετίας του ’80 παρατηρήθηκε ότι ασυμπτωματικά άτομα που είχαν μολυνθεί με τον KSHV, άρχισαν να μεταδίδουν τον ιό ανεξέλεγκτα στους διάφορους ερωτικούς τους συντρόφους. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να λαμβάνονται προφυλάξεις κατά το sex, ακόμα και από τους ερωτικούς συντρόφους που επιθυμούν τις σεξουαλικές επαφές χωρίς να λαμβάνουν προφύλαξη, καθώς και να αποφεύγονται οι διάφορες σεξουαλικές πρακτικές που μπορούν να μεταδώσουν τον ιό. Σήμερα βρίσκονται σε πειραματικό στάδιο, ειδικές εξετάσεις αίματος για την ανίχνευση της μόλυνσης. Οι εξετάσεις αυτές δεν είναι ευρέως διαθέσιμες αλλά εφαρμόζονται σε διάφορα ερευνητικά πρωτόκολλα από πανεπιστημιακά ιδρύματα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι διάφορες βιοϊατρικές εταιρείες που παράγουν αυτές τις εξετάσεις, δεν έχουν βρει ακόμη οικονομικούς και συμφέροντες τρόπους να αναπτύξουν την παραγωγή και προώθηση αυτών των προϊόντων.

4.8.5. Θεραπεία

Το σάρκωμα Kaposi είναι συνήθως ένας εντοπισμένος όγκος που μπορεί να αντιμετωπιστεί είτε χειρουργικά είτε μέσω εφαρμογής τοπικής ακτινοβολίας. Χημειοθεραπεία με φάρμακα όπως λιποσωμικές ανθρακυκλίνες ή πακλιταξέλη, μπορεί να χρησιμοποιηθεί, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις με διεισδυτική νόσο. Αντι-ιϊκά φάρμακα, όπως το ganciclovir, που στοχεύουν στον αναδιπλασιασμό των ερπητοϊών, όπως συμβαίνει και με τον KSHV, έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία κατά το παρελθόν για την πρόληψη της ανάπτυξης του σαρκώματος Kaposi[408]. Αν όμως ο όγκος προλάβει και

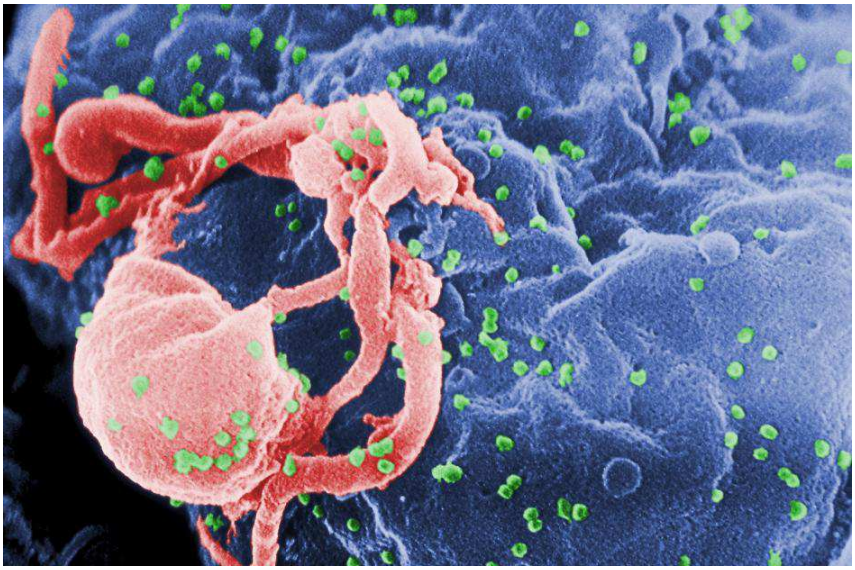
αναπτυχθεί, τα φάρμακα αυτά έχουν περιορισμένη ή καθόλου χρήση. Για τους ασθενείς με AIDS-KS, η πιο αποτελεσματική θεραπεία είναι η υψηλής δραστικότητας αντιρετροϊική θεραπεία για τη μείωση της λοίμωξης από τον HIV. Σήμερα ασθενείς με AIDS που λαμβάνουν επαρκή αντι-HIV θεραπεία, μπορεί να έχουν έως και 90% μείωση στην εμφάνιση του σαρκώματος Kaposi.

5ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Οι ιοί Polyoma του ανθρώπου (HPyV)

5.1. Γενικά στοιχεία

Οι ιοί Polyoma του ανθρώπου, είναι μικροί ιοί (διαμέτρου 40-50nm), εικοσαεδρικού σχήματος, που δεν περικλείονται σε λιποπρωτεϊνικό φάκελο, ενώ το γονιδίωμά τους περιέχεται σε κυκλικό DNA διπλής έλικας, με ~5000 ζεύγη βάσεων. Επιπλέον, το γονιδίωμά τους περιέχει πρώιμα και όψιμα γονιδία, διαμορφώνοντας με αυτόν τον τρόπο τον πολύπλοκο μηχανισμό μεταγραφής τους. Πρόκειται για δυνητικά ογκογόνους ιούς, που πολύ συχνά μετά την πρώτη επαφή τους με τον οργανισμό ξενιστή και τη μόλυνση που του προκαλούν, έχουν τη δυνατότητα να παραμείνουν σε λανθάνουσα κατάσταση για πολλά χρόνια, χωρίς να προκαλέσουν ασθένεια (Εικόνα 5.1). Δύνανται όμως να ενεργοποιηθούν, αναπτύσσοντας και εκδηλώνοντας την ογκογόνο δράση τους, σε περιπτώσεις που ο ξενιστής παρουσιάσει πτώση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού του συστήματος.



Εικόνα 5.1: Ο Polyomavirus BK (με πράσινο χρώμα) σε ασθενή που έχει υποβληθεί σε μεταμόσχευση ήπατος και λαμβάνει σχήμα ανοσοκαταστολής με Tacrolimus και Ciclosporin.

Το όνομα polyoma αναφέρεται στην ικανότητα των ιών αυτών να παράγουν *πολλαπλούς* (poly-) *όγκους* (-oma). Η οικογένεια *Polyomaviridae* αποτελεί το ένα από τα δύο γένη, που χαρακτηρίζει με το πλέον παρωχημένο τρόπο την υπερ-οικογένεια των ιών *Papovaviridae*. Το όνομα *Papovaviridae* προέρχεται από τρεις συντμήσεις: Pa- για τους ιούς του θηλώματος του ανθρώπου, Po- για τους Polyomavirus και Va- για να αποδοθεί ο όρος "vacuolating – κενοτόπια". Κλινικά, οι ιοί της οικογένειας Polyomaviridae είναι σημαντικοί και άξιοι αναφοράς, καθώς συμβάλλουν στην εκδήλωση σοβαρών παθολογιών, όπως είναι η προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (JC virus), η νεφροπάθεια (BK virus) και ο καρκίνος των Κυττάρων Merkel (Merkel Cell virus).

Μέχρι πρόσφατα, η οικογένεια των *Polyomaviridae* περιελάμβανε μόνο ένα είδος, τους *Polyomavirus*. Οι πρόσφατες όμως ανακαλύψεις νέων ιών με παρόμοια χαρακτηριστικά, οδήγησαν στην αναγκαία ανακατάταξή της σε 3 υποείδη: τους *Orthopolyomavirus*, τους *Wukipolyomavirus* και τους *Avipolyomavirus*[409]. Ο Polyomavirus των Τρωκτικών (ποντικών), ήταν ο πρώτος Polyomavirus που ανακαλύφθηκε το 1953 από τον Ludwik Gross[410]. Έκτοτε έχουν ανακαλυφθεί πολλοί διαφορετικοί Polyoma ιοί, ικανοί να μολύνουν τα πτηνά και τα θηλαστικά.

Για σχεδόν 40 χρόνια, μόνο δύο Polyomaviruses ήταν γνωστοί για την ικανότητά τους να μολύνουν τους ανθρώπους. Τα τελευταία χρόνια με τη βοήθεια της χρήσης νεότερων τεχνικών μελέτης της αλληλουχίας του γονιδιώματος *(genome sequencing technologies)*, ανακαλύφθηκαν επτά νέοι Polyoma ιοί, ικανοί να μολύνουν τον άνθρωπο. Σε αυτούς συμπεριλαμβάνονται: ένας που προκαλεί τις περισσότερες περιπτώσεις καρκινώματος κυττάρων Merkel (Merkel cell carcinoma), καθώς και ένας άλλος που σχετίζεται με ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση συμπαγούς οργάνου (νεφρού, ήπατος, καρδιάς, παγκρέατος κλπ.) και στους οποίους προκαλεί δυσπλασία (TSV). Η ανακάλυψη και εκτενής μελέτη αυτών των Polyoma ιών, καθώς και πολλών άλλων νέων που μέχρι πρότινος ήταν άγνωστοι, μπορούν να δώσουν ενδείξεις σχετικά με τις αιτίες για πολλές ασθένειες του ανθρώπου, με άγνωστη μέχρι τώρα αιτιολογία.

Οι Polyomaviruses έχουν μελετηθεί εκτενώς, ως οι ιοί που προκαλούν την εμφάνιση όγκων σε ανθρώπους και ζώα, οδηγώντας την επιστημονική

κοινότητα στη μελέτη, διατύπωση και κατανόηση των θεμελιωδών αρχών που διέπουν την καρκινογένεση, την αντιγραφή του DNA και την παραγωγή των πρωτεϊνών. Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53, για παράδειγμα, ανακαλύφθηκε ως μια κυτταρική πρωτεΐνη που δεσμευόταν από τη σημαντικότερη ογκοπρωτεΐνη, την *Τ-αντιγονική πρωτεΐνη*, που παράγεται από τον ιό Simian Vacuolating 40 (SV40). Ο ιός Polyoma της γρίπης, μερικές φορές αναφέρεται και ως *«Budgerigar fledgling disease virus»* (ιός της νεοσύστατης νόσου Budgerigar) και αποτελεί συχνή αιτία θανάτου των πτηνών που βιώνουν σε αιχμαλωσία (κλουβί).

Για την ιστορία αξίζει σε αυτό το σημείο να αναφερθεί ότι οι πρώτοι που ανακάλυψαν τον ιό Polyoma ήταν οι Dr. Sarah Stewart και Dr. Bernice E. Eddy. Αργότερα, προς τιμήν των δύο αυτών ερευνητών, ο ιός ονομάστηκε *SE Polyoma Virus*.

5.2. Ταξινόμηση

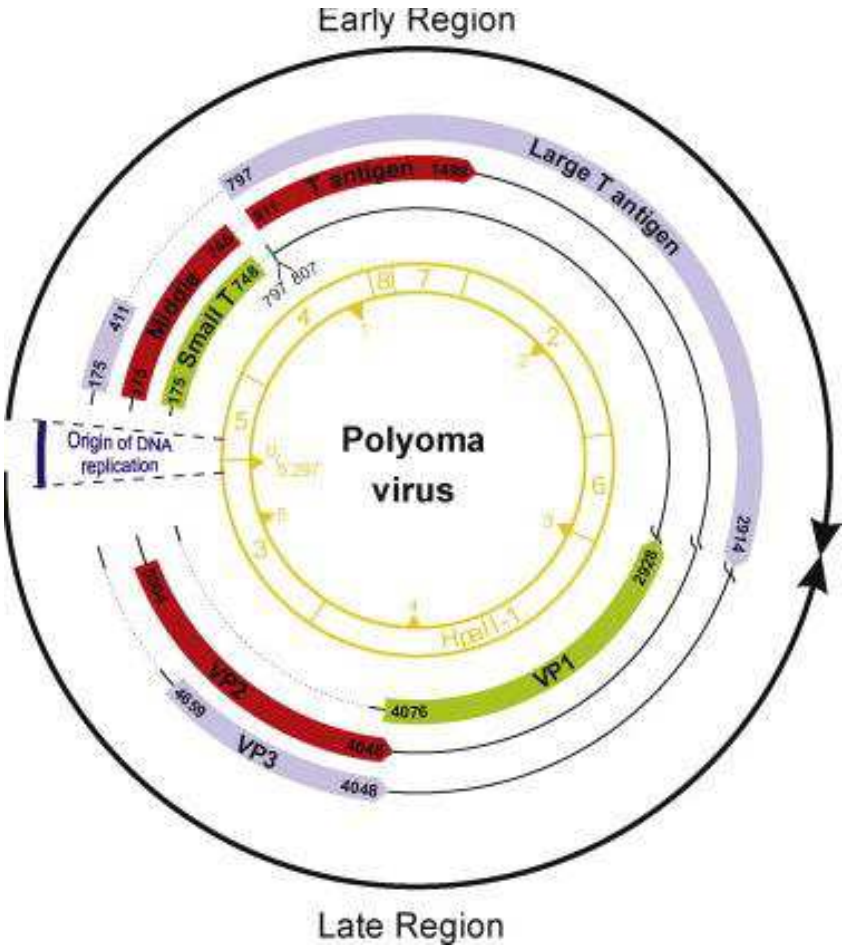
Η ταξινόμηση των Polyomaviruses εξελίσσεται συνεχώς τα τελευταία χρόνια, λόγω της αλματώδους έκρηξης του αριθμού των νέων ιών που ανακαλύφθηκαν πρόσφατα. Προηγουμένως, η οικογένεια των *Polyomaviridae* είχε χωριστεί σε τρία μεγάλα είδη (γενετικά σχετιζόμενες ομάδες) – στο είδος του Polyoma ιού SV40, στο είδος του Polyoma ιού της γρίπης και στο είδος των Polyoma ιών των τρωκτικών[411]. Πρόσφατα η Διεθνής Επιτροπή για την Ταξινόμηση των ιών (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV), προέβη σε αναταξινόμηση όλων των γνωστών ιών της οικογένειας των *Poliomaviridae*, διαιρώντας την σε τρία είδη:

- το είδος των *Orthopolyomavirus* (ιός SV40)
- το είδος των *Wukipolyomavirus* (ιός polyoma KI)
- το είδος *Avipolyomavirus* (ιός polyoma της γρίπης)

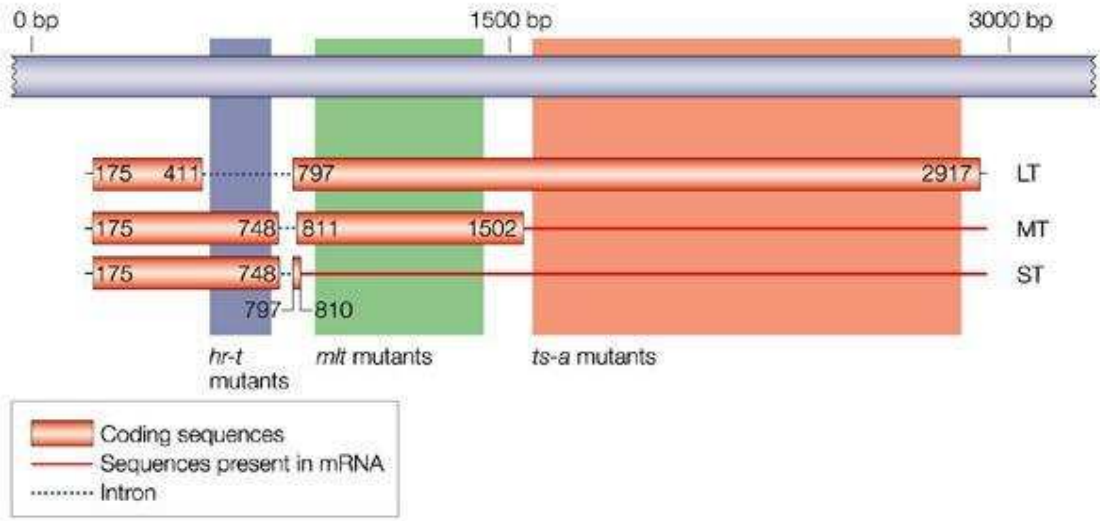
Πολλοί από τους γνωστούς ιούς δεν έχουν μελετηθεί πλήρως και για το λόγο αυτό δεν έχουν ταξινομηθεί ακόμα σε κάποιο από τα γνωστά υποείδη. Ως εκ τούτου, η ταξινόμηση της οικογένειας των *Polyomaviridae* είναι σε εξέλιξη.

5.3. Το γονιδίωμα των *Polyomaviridae*

Το γονιδίωμα Polyoma ιών είναι κυκλικό (Εικόνα 5.2) και αποτελείται από DNA διπλής έλικας, το οποίο κωδικοποιεί έξι γονίδια: το *μακρύ Τ αντιγόνο* (Large T-antigen, LT), το *βραχύ Τ αντιγόνο* (Small T-antigen, ST), το *μεσαίο Τ αντιγόνο* (Middle T-antigen, MT), την πρωτεΐνη 1 του ιού polyoma (VP1), πρωτεΐνη 2 του ιού polyoma (VP2) και την πρωτεΐνη 3 του ιού polyoma (VP3). Οι πρωτεΐνες VP1, VP2 και VP3, κωδικοποιούν τις δομικές πρωτεΐνες του ιϊκού καψιδίου (Εικόνα 5.3).



Εικόνα 5.2: Το κυκλικό γονιδίωμα των Polyoma ιών.



Εικόνα 5.3: Τα γονίδια LT, MT και ST των Polyoma ιών.

5.4. Οι Polyoma ιοί που προσβάλλουν τον άνθρωπο

Μέχρι σήμερα έχουν ανακαλυφθεί δέκα Polyoma ιοί, ικανοί να μολύνουν τον άνθρωπο. Τέσσερις από αυτούς τους ιούς (ο ιός JC, ο ιός BK, ο ιός KI και ο ιός WU), είναι στενά συνδεδεμένοι με τον Polyoma ιό SV40. Λοιμώξεις που προκαλούνται από αυτούς τους ιούς, μπορούν εύκολα να προκαλέσουν δυσκολία στη διαφορική διάγνωση, λόγω του ότι η κλινική εικόνα που παρουσιάζουν, θυμίζει έντονα την αντίστοιχη εικόνα που παρουσιάζει η SV40 λοίμωξη[411,412]. Οι Polyoma ιοί των κυττάρων Merkel (MCV) είναι πολύ διαφορετικοί από τους άλλους Polyoma ιούς του ανθρώπου, ενώ γενετικά προσεγγίζουν περισσότερο τους Polyoma ιούς των τρωκτικών (ποντικών). Οι TSV Polyoma ιοί (Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus), έχουν μακρινή συγγένεια με τους MCV. Δύο άλλοι ιοί – ο HPyV6 και ο HPyV7 – είναι πιο στενά συνδεδεμένοι γενετικά με τους KI και WU Polyoma ιούς, ενώ ο HPyV9 είναι πιο κοντά γενετικά με το λεμφοτρόπο polyoma ιό (lymphotropic polyomavirus, LPV) του πράσινου Αφρικάνικου πιθήκου. Ιδιαίτερα για τον καθένα από αυτούς τους ιούς μπορούμε να αναφέρουμε τα παρακάτω:

● Ο ιός JC μπορεί να μολύνει το αναπνευστικό σύστημα, τους νεφρούς και τον εγκέφαλο (κάποιες φορές προκαλεί θανατηφόρο προοδευτική

πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια, ειδικά σε περιπτώσεις ασθενών με προχωρημένη λοίμωξη).

● Ο ιός BK οδηγεί σε μια ήπια λοίμωξη του αναπνευστικού, που μπορεί να επηρεάσει τα νεφρικά μοσχεύματα σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση νεφρού. Και οι δύο από τους προαναφερόμενους ιούς είναι πολύ διαδεδομένοι στους ενήλικες: περίπου το 80% του ενήλικου πληθυσμού στις Ηνωμένες Πολιτείες έχουν αντισώματα για τους ιούς BK και JC.

● Δύο Polyoma ιοί του ανθρώπου, ο KI (Karolinska Institute)[413] και ο WU (Washington University)[414], συνδέονται στενά μεταξύ τους και έχουν απομονωθεί από τις αναπνευστικές εκκρίσεις, ασθενών που νοσηλεύονταν για λοίμωξη αναπνευστικού. Αυτοί οι ιοί ανακαλύφθηκαν σχεδόν ταυτόχρονα το 2007 και ήταν οι πρώτοι από μια διευρυμένη ομάδα Polyoma ιών του ανθρώπου που βρέθηκε να μολύνει τον άνθρωπο, πέρα φυσικά από τους ήδη γνωστούς ιούς JCV και BKV.

● Τον Ιανουάριο του 2008 αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη διεθνή βιβλιογραφία ένας νέος ιός, ο Polyoma ιός των κυττάρων Merkel ο οποίος και κατηγορήθηκε ότι προκαλεί καρκίνο του δέρματος (Merkel cell carcinoma)[415-417].

● Το 2010 ανακαλύφθηκαν τρεις νέοι Polyoma ιοί του ανθρώπου, ικανοί να προκαλέσουν μόλυνση του δέρματος: ο HPyV6 και ο HPyV7[418] (οι οποίοι όμως ακόμα δεν έχουν συσχετιστεί με ανθρώπινη ασθένεια, ούτε και με τον Polyoma ιό που προκαλεί ακανθώδη τριχωδυσπλασία (trichodysplasia spinulosa virus, TSV)[419]. Ο TSV ανακαλύφθηκε σε δερματικές βλάβες ανοσοκατεσταλμένων ασθενών, που στη συνέχεια οι βλάβες αυτές χαρακτηρίστηκαν ως *«ακανθώδης τριχωδυσπλασία (trichodysplasia spinulosa)»*. Οι τρεις νέοι αυτοί ιοί ανακαλύφθηκαν με τη βοήθεια της τροχιακής κυκλικής ενίσχυσης του ανθρώπινου DNA του δέρματος *(rolling circle amplification technique)*, που ενισχύει κατά προτίμηση μικρά τμήματα κυκλικού γονιδιώματος, όπως αυτού του ιού Polyoma του ανθρώπου.

● Το Μάρτιο του 2011, ανακαλύφθηκε ο ένατος Polyoma ιός του ανθρώπου, ο HPyV9, που σχετίζεται με το λεμφοτρόπο ιό του πράσινου Αφρικάνικου πιθήκου (LVP). Ο HPyV9 καλλιεργήθηκε από το αίμα ανοσοκατεσταλμένων ασθενών. Το συγκεκριμένο εύρημα έδωσε τη δυνατότητα στους ερευνητές να

εξηγήσουν εν μέρει γιατί ορισμένοι άνθρωποι είχαν αντισώματα ικανά να προκαλέσουν διασταυρούμενη ορο-αντίδραση *(serum cross reaction)* με τον LPV, αλλά κανένας από τους μέχρι τότε γνωστούς Polyoma ιούς του ανθρώπου δεν παρουσίαζε αντίστοιχη διασταυρούμενη ορο-αντίδραση, ούτε και παρουσίαζε συσχέτιση με την κλινική εικόνα αυτών των ασθενών[420].

● Το 2012, ένας νέος Polyoma ιός απομονώθηκε στα κόπρανα ενός υγιούς παιδιού από το Μαλάουι[421]. Αυτός ο ιός έχει επίσης απομονωθεί στο St Louis του Missouri (USA). Φαίνεται να παρουσιάζει μεγάλες αποκλίσεις στο γονιδίωμα και τον τρόπο διπλασιασμού του, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα μέλη αυτής της οικογένειας των Polyoma ιών του ανθρώπου.

Όλοι οι Polyoma ιοί του ανθρώπου προκαλούν συχνά λοιμώξεις σε παιδιά σχολικής ηλικίας καθώς και στους νέους ενήλικες. Οι περισσότερες από αυτές τις λοιμώξεις φαίνεται να είναι ασυμπτωματικές ή να προκαλούν μη ειδική κλινική εικόνα, που μπορεί εύκολα να θεωρηθεί παρόμοια με το κοινό κρυολόγημα. Αυτοί οι ιοί μάλλον παραμένουν σε λανθάνουσα κατάσταση δια βίου σχεδόν σε όλους τους ενήλικες που έχουν μολύνει. Ασθένειες που προκαλούνται από τις λοιμώξεις των Polyoma ιών του ανθρώπου, είναι πιο συχνές στους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς από το AIDS, σε ηλικιωμένους ή σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων και περιλαμβάνουν το καρκίνωμα των κυττάρων Merkel, την προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (PML) και τη BK νεφροπάθεια.

Ο Polyoma ιός SV40 αντιγράφεται στα νεφρά των πιθήκων χωρίς να τους προκαλεί ασθένεια, αλλά ο ίδιος ιός δύναται να προκαλέσει σαρκώματα σε χάμστερ. Είναι ιδιαίτερα αμφισβητούμενο αν ο SV40 μπορεί να προκαλέσει νόσο στον άνθρωπο. Πιθανολογείται δε ότι ο συγκεκριμένος ιός μπορεί να έχει εισαχθεί έμμεσα στο γενικό πληθυσμό κατά τη δεκαετία του 1950, μέσω ενός μολυσμένου εμβόλιου κατά της πολιομυελίτιδας που είχε κυκλοφορήσει ευρέως στο εμπόριο σε παγκόσμια κλίμακα. Μέχρι τώρα δεν έχει αναφερθεί κάποια συσχέτιση του ιού SV40 με την πρόκληση κάποιας μορφής καρκίνου στον άνθρωπο, αν και έχει αναφερθεί η παρουσία του σε ασθενείς με μεσοθηλίωμα του υπεζωκότα, με λεμφώματα non-Hodgkin καθώς και σε διάφορους άλλους τύπους καρκίνου. Η αδυναμία συσχέτισής του με καρκίνους στον άνθρωπο, διαταράσσεται από το υψηλό επίπεδο διασταυρούμενης αντιδραστικότητας (cross reactivity) του SV40 με τους ήδη

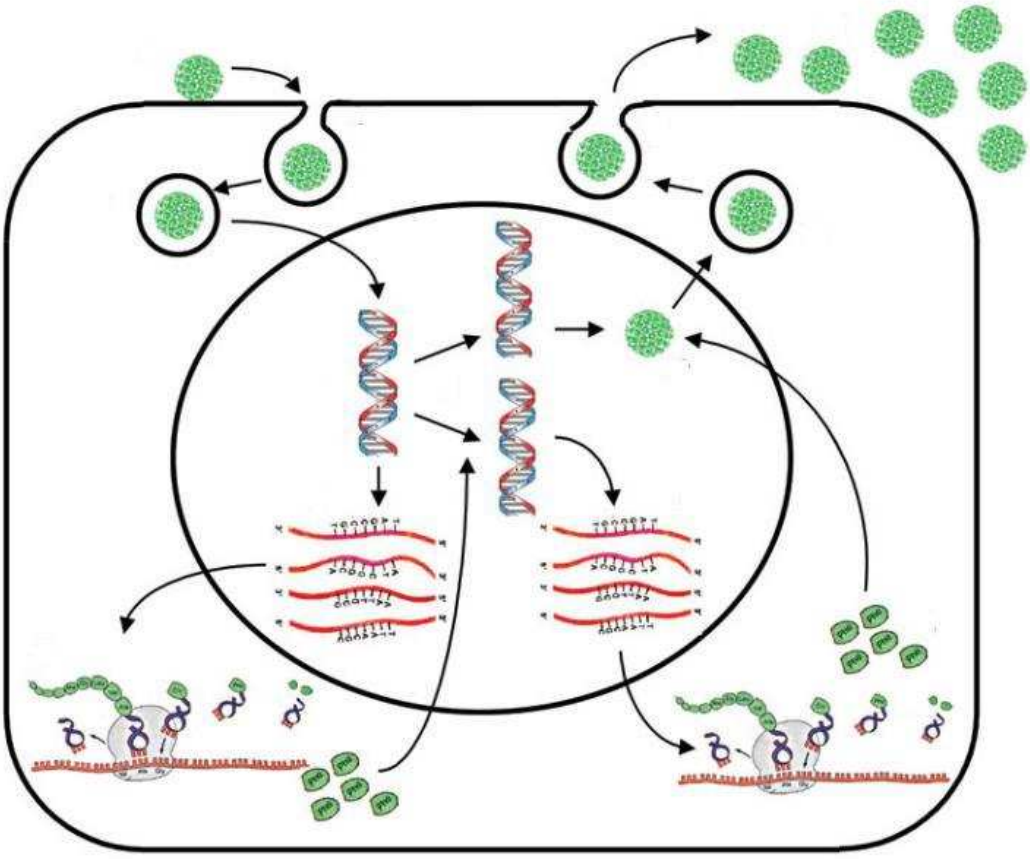
γνωστούς Polyoma ιούς του ανθρώπου (BK και JC), που είναι ευρέως διαδεδομένοι. Το SV40 DNA είναι ένα σχεδόν καθολικά αποδεκτό στη χρήση του αντιδραστήριο στα διάφορα επιστημονικά εργαστήρια[412], που μελετάνε και ανιχνεύουν ιούς. Οι περισσότεροι ιολόγοι πάντως μέχρι στιγμής έχουν απορρίψει τη μόλυνση από τον SV40 ως πιθανή αιτία για την πρόκληση καρκίνων στους ανθρώπους[411].

5.5. Αναπαραγωγή των Polyoma ιών

Πριν από την αντιγραφή του γονιδιώματος, προηγούνται οι διαδικασίες της σύνδεσης του ιού με την κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου-ξενιστή, της εισόδου του στο κυτταρόπλασμα και της απέκδυσής του. Οι ειδικοί κυτταρικοί υποδοχείς για τους Polyoma ιούς είναι πρωτεΐνες σιαλικού οξέος των γαγγλιοσιδίων. Η προσκόλληση των Polyoma ιών στα κύτταρα-ξενιστές ρυθμίζεται από την πρωτεΐνη 1 του ιού (VP1), μέσω της περιοχής προσάρτησης του σιαλικού οξέος. Αυτό μπορεί να επιβεβαιωθεί, καθώς anti-VP1 αντισώματα έχει αποδειχθεί ότι εμποδίζουν τη ζεύξη των Polyoma ιών με τα κύτταρα-ξενιστές[422].

Στη συνέχεια ακολουθεί η ενδοκυττάρωση των virions των Polyoma ιών και η μεταφορά τους πρώτα στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου συμβαίνει μια διαμορφωτική αλλαγή, που βοηθάει στην αποκάλυψη της πρωτεΐνης 2 του ιού (VP2)[422]. Έπειτα με τη βοήθεια ενός μηχανισμού, που δεν έχει ακόμα κατανοηθεί πλήρως, ο ιός εισάγεται στον πυρήνα του κυττάρου-ξενιστή. Εκεί μέσα στον πυρήνα του κυττάρου-ξενιστή οι Polyoma ιοί αναπαράγονται. Έχουν δε την ικανότητα να χρησιμοποιούν όλο το λειτουργικό μηχανισμό του κυτταρικού διπλασιασμού του κυττάρου-ξενιστή, διότι η δομή του γονιδιώματός τους μοιάζει καταπληκτικά με την αντίστοιχη δομή του γονιδιώματος των κυττάρων-ξενιστών των θηλαστικών. Επιπλέον, η αλληλουχία του εκκινητή των Polyoma ιών, παρουσιάζει ισχυρούς δεσμούς έλξης και ζεύξης με τον RNA-εκκινητή του κυττάρου-ξενιστή.

Η αντιγραφή του ιού λαμβάνει χώρα σε δύο διακριτές φάσεις: την πρώιμη και την όψιμη (καθυστερημένη) φάση έκφρασης των γονιδίων. Οι δυο αυτές φάσεις χωρίζονται μεταξύ τους από τη φάση αντιγραφής του γονιδιώματος (Εικόνα 5.4).



Εικόνα 5.4: Ο μηχανισμός αναπαραγωγής των Polyoma ιών στα κύτταρα-ξενιστές όπου η απελευθέρωση των νέων ιϊκών σωματιδίων γίνεται με τη μέθοδο του εγκλεισμού τους σε κενοτόπια και με την απελευθέρωσή τους στον εξωκυττάριο χώρο.

Η φάση της *πρώιμης έκφρασης των γονιδίων* είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση των μη δομικών πρωτεϊνών του ιού. Δεδομένου ότι ο Polyoma ιός στηρίζεται αποκλειστικά στους μηχανισμούς του κυττάρου-ξενιστή για τον έλεγχο της γονιδιακής του έκφρασης, οι μη δομικές πρωτεΐνες του, έχουν ως βασικό στόχο τη ρύθμιση των διαφόρων κυτταρικών μηχανισμών του κυττάρου-ξενιστή. Κοντά στο τελικό άκρο -Ν του γονιδιώματος του Polyoma ιού βρίσκονται τα διάφορα πρωτεϊνικά στοιχεία του ενισχυτή, τα οποία επάγουν την ενεργοποίηση και τη μεταγραφή μιας πρωτεΐνης γνωστής και ως *«Τ-αντιγόνο».* Το πρώιμο mRNA που σχηματίζεται, οδηγεί στην κωδικοποίηση του Τ-αντιγόνου που παράγεται από την RNA πολυμεράση ΙΙ του κυττάρου-ξενιστή. Με τη σειρά του το Τ-αντιγόνο αυτορυθμίζει το πρώιμο mRNA, οδηγώντας με τον τρόπο αυτό σε αυξημένα επίπεδα το Τ-αντιγόνο. Όταν λοιπόν το Τ-αντιγόνο φτάσει σε υψηλές συγκεντρώσεις, η φάση της

πρώιμης έκφρασης των γονιδίων καταστέλλεται, επιτρέποντας στην τελευταία φάση της ιϊκής μόλυνσης να ξεκινήσει.

Η αντιγραφή του γονιδιώματος δρα με τέτοιο τρόπο ώστε να διαχωρίσει την πρώιμη από την όψιμη φάση της έκφρασης των γονιδίων. Το διπλασιασμένο ιϊκό γονιδίωμα αναπαράγεται και συντίθεται σαν να ήταν το κυτταρικό DNA, αξιοποιώντας όλη τη βιοσυνθετική υποδομή του κυττάρου-ξενιστή. Καθώς το θυγατρικό ιϊκό DNA συντίθεται, συνδέεται με τα κυτταρικά νουκλεοσώματα για να σχηματιστούν οι διάφορες ιϊκές δομές που συχνά αναφέρονται και ως *«μινι-χρωμοσώματα»*. Με αυτόν τον τρόπο το ιϊκό DNA συσκευάζεται και συναρμολογείται πιο αποτελεσματικά.

Κατά τη φάση της *όψιμης έκφρασης των γονιδίων* συντίθενται οι δομικές πρωτεΐνες του ιού που είναι υπεύθυνες για τη σύνθεση των ιϊκών σωματιδίων. Αυτό συμβαίνει τόσο κατά τη διάρκεια όσο και με το πέρας της αντιγραφής του γονιδιώματος. Όπως συμβαίνει και κατά τη φάση της πρώιμης έκφρασης των γονιδίων, η φάση της όψιμης έκφρασης των γονιδίων δημιουργεί μια συστοιχία των πρωτεϊνών σαν αποτέλεσμα του εναλλακτικού ματίσματος *(alternative splicing).* Μέσα σε κάθε ιϊκή πρωτεΐνη υπάρχουν *«σήματα πυρηνικού εντοπισμού»* τα οποία οδηγούν τις ιϊκές πρωτεΐνες να συσσωρεύτουν στον πυρήνα. Η συναρμολόγηση των νέων ιϊκών σωματιδίων γίνεται, κατά συνέπεια, εντός του πυρήνα του κυττάρου-ξενιστή.

Η *απελευθέρωση* των νεο-συντεθειμένων σωματιδίων του Polyoma ιού και η έξοδός τους από το μολυσμένο κύτταρο μπορεί να γίνει με δύο μηχανισμούς. Ο πρώτος και λιγότερο συχνός, αφορά τη μεταφορά των σωματιδίων μέσα σε κυτταροπλασματικά κενοτόπια τα οποία εν συνεχεία οδηγούνται παθητικά προς την κυτταροπλασματική μεμβράνη, όπου λαμβάνει χώρα η εκβλάστηση των νέων ιϊκών σωματιδίων προς τον εξωκυττάριο χώρο. Πιο συχνά όμως, τα κενοτόπια αυτά απελευθερώνονται όταν το κύτταρο καταστραφεί (προκληθεί η λύση του κυττάρου) και αυτό προκαλείται από την κυτταροτοξικότητα των ιϊκών σωματιδίων που υπάρχουν στο μολυσμένο κύτταρο-ξενιστή. Αυτός είναι και ο δεύτερος μηχανισμός απελευθέρωσης των ιϊκών σωματιδίων.

5.6. Το μακρύ και το βραχύ Τ-αντιγόνο των Polyoma ιών

Το *μακρύ Τ-αντιγόνο* διαδραματίζει ένα βασικό ρόλο στη ρύθμιση του κύκλου ζωής του Polyoma ιού, με την πρόσδεσή του στο άκρο αντιγραφής του ιϊκού DNA, προάγοντας έτσι τη σύνθεσή του. Σε αυτό το σημείο είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι ο Polyoma ιός για να χρησιμοποιήσει τον αντιγραφικό μηχανισμό του κυττάρου-ξενιστή για την αναπαραγωγή του, το κύτταρο-ξενιστής πρέπει να βρίσκεται στη φάση S της κυτταρικής του διαίρεσης. Εξαιτίας αυτού, το μακρύ Τ-αντιγόνο είναι σε θέση να ρυθμίζει τα διάφορα κυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης, που είναι ειδικά για την τόνωση της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, με την πρόσδεσή του σε ένα μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών του κυτταρικού ελέγχου[423]. Αυτό επιτυγχάνεται από την επίθεση δύο ειδών οδοντωτών ογκο-κατασταλτικών γονιδίων, του p53 καθώς και γονιδίων που είναι μέλη της οικογένειας των πρωτεϊνών του ρετινοβλαστώματος (pRB). Έτσι, διεγείρονται τα μονοπάτια της κυτταρικής ανάπτυξης με τη δέσμευση του κυτταρικού DNA, της ATPάσης-ελικάσης, της σύνδεσης της DNA πολυμεράσης-α και συνδέοντας μεταξύ τους, τους διάφορους παράγοντες του συμπλόκου προέναρξης και μεταγραφής[424]. Αυτή η ανώμαλη διέγερση του κυτταρικού κύκλου είναι μία ισχυρή δύναμη ικανή να προκαλέσει το μετασχηματισμό ενός, μέχρι εκείνη τη στιγμή, υγιούς κυττάρου-ξενιστή σε ογκογόνο.

Το *βραχύ πρωτεϊνικό Τ-αντιγόνο* είναι επίσης σε θέση να ενεργοποιήσει διάφορα κυτταρικά μονοπάτια που διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Τέτοια είναι το μονοπάτι της μιτογόνο-ενεργοποιημένης πρωτεΐνης της κινάσης (MAPK), καθώς και το μονοπάτι της stress-ενεργοποιημένης πρωτεΐνης της κινάσης (SAPK)[425,426].

5.7. Το μεσαίο Τ-αντιγόνο των Polyoma ιών

Το *μεσαίο Τ-αντιγόνο* (Middle T-antigen) του Polyoma ιού χρησιμοποιείται σε πρότυπα ζωικά συστήματα ανάπτυξης καρκίνου του μαστού, όπως είναι το σύστημα PyMT *(polyomavirus middle T-antigen)*, όπου το μεσαίο Τ-αντιγόνο είναι συζευγμένο με τον εκκινητή MMTV *(mouse mammary tumor virus)* δημιουργώντας το σύμπλοκο MMTV-PyMT. Εκεί

λειτουργεί ως ογκογονίδιο, ενώ ο ιστός όπου ο όγκος αναπτύσσεται, προσδιορίζεται από τον εκκινητή MMTV.

5.8. Η agnoprotein των Polyoma ιών

Η agnoprotein είναι μία μικρή πολυ-λειτουργική φωσφοπρωτεΐνη που βρίσκεται στο τέλος του τμήματος κωδικοποίησης του γονιδιώματος των Polyoma ιών. Φαίνεται να συμμετέχει στην αντιγραφή του ιϊκού DNA, αλλά ο ακριβής μηχανισμός δράσης της παραμένει μέχρι στιγμής ασαφής[427].

5.9. Η διάγνωση της μόλυνσης από τον Polyoma ιό

Η διάγνωση της λοίμωξης από τον Polyoma ιό, γίνεται σχεδόν πάντα μετά την πρωτογενή μόλυνση, η οποία μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή υπο-κλινική. Ειδικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται συνήθως για την ανίχνευση της παρουσίας αντισωμάτων των διαφόρων υποτύπων των Polyoma ιών[428]. Οι μέθοδοι ανίχνευσης που χρησιμοποιούν τον ποιοτικό ανταγωνισμό, είναι συχνά αναγκαίες για τη διάκριση παρόμοιων Polyoma ιών[429]. Σε περιπτώσεις ασθενών με προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (PML), ένα ειδικό αντίσωμα που εμπλέκεται σε διασταυρούμενη αντίδραση με το SV40 T-αντιγόνο (κοινώς ονομαζόμενο και ως Pab419), χρησιμοποιείται για την άμεση χρώση των παθολογικών ιστών, για την παρουσία του T-αντιγόνου του Polyoma ιού JC. Η τεχνική της *αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση (PCR)* μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε υλικό που προέρχεται από τη βιοψία παθολογικού ιστού ή εγκεφαλονωτιαίου υγρού, για την ενίσχυση του DNA του polyomavirus. Αυτό μας επιτρέπει όχι μόνο να ανιχνεύσουμε την παρουσία του DNA του polyomavirus, αλλά και να ταυτοποιήσουμε σε πιο υπότυπο ανήκει το συγκεκριμένο γενετικό υλικό[430].

Υπάρχουν τρεις κύριες διαγνωστικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της επανενεργοποίησης του Polyoma ιού σε ασθενείς με polyomavirus νεφροπάθεια (PVN): η κυτταρολογική εξέταση των ούρων, η ποσοτικοποίηση του ιϊκού φορτίου τόσο ούρα όσο και στο περιφερικό αίμα του ασθενή και τέλος, η βιοψία νεφρικού παρεγχύματος δια λεπτής βελόνης υπό την καθοδήγηση υπερήχων[428]. Η επανενεργοποίηση του Polyoma ιού

στους νεφρούς και τις ουροφόρες απεκκριτικές οδούς, προκαλεί την απόπτωση των μολυσμένων κυττάρων, καθώς και τη μαζική απομάκρυνση με τα ούρα ιϊκών σωματίων ή/και ιϊκών πρωτεϊνών. Αυτό επιτρέπει στον κλινικό γιατρό να προβεί σε κυτταρολογική εξέταση των ούρων του ασθενή, για να εξετάσει την πιθανή ύπαρξη αυτών των κύτταρων, στα οποία εάν υπάρχει ενσωμάτωση του polyomavirus στον πυρήνα του νεφρικού κυττάρου, η εν λόγω κυτταρολογική εξέταση είναι διαγνωστική της λοίμωξης[431]. Επίσης, καθώς τα ιϊκά σωμάτια ή και το ιϊκό DNA περιέχονται στα ούρα ενός μολυσμένου, από τον polyomavirus ατόμου, η ποσοτικοποίηση του ιϊκού φορτίου μπορεί να γίνει μέσω της PCR[432]. Αυτό ισχύει επίσης και για την εξέταση του περιφερικού αίματος των ίδιων ασθενών.

Η βιοψία νεφρικού παρεγχύματος δια λεπτής βελόνης υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση, ενδείκνυται να πραγματοποιηθεί αν οι δύο προαναφερόμενες μέθοδοι είναι ασαφείς ή εάν το ιϊκό φορτίο του νεφρικού ιστού είναι το επιθυμητό. Παρομοίως με την κυτταρολογική εξέταση των ούρων, εξετάζονται στο μικροσκόπιο τα νεφρικά κύτταρα, για να διαπιστωθεί η πιθανή είσοδος του polyomavirus στον πυρήνα των αποβαλλόμενων με τα ούρα νεφρικών κυττάρων, καθώς και η πιθανή κυτταρική λύση και η ύπαρξη ιϊκών σωματιδίων στο εξωκυττάριο υγρό. Και σε αυτές τις περιπτώσεις το ιϊκό φορτίο μπορεί να μετρηθεί με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση (PCR).

Η χρώση του ιστού με τη χρήση ενός μονόκλωνου αντισώματος έναντι του MCV T-αντιγόνου, μπορεί να φανεί χρήσιμη στη διαφοροποίηση των καρκινωμάτων από κύτταρα Merkel (Merkel cell carcinomas), από άλλους μικρούς, καλοσχηματισμένους κυτταρικούς όγκους[433]. Ειδικές εξετάσεις αίματος έχουν αναπτυχθεί για την ανίχνευση των αντισωμάτων MCV και μπορούν να αναδείξουν ότι η μόλυνση με τον ιό είναι ευρέως διαδεδομένη, αν και οι ασθενείς με καρκίνωμα Merkel, έχουν εξαιρετικά υψηλότερες αποκρίσεις αντισωμάτων σε σύγκριση με τα ασυμπτωματικά μολυσμένα άτομα[434-437]. Αυτοί οι ιοί έχουν βρεθεί και σε όγκους του μαστού[438]. Η σημασία αυτών των ευρημάτων, εφόσον υπάρχουν, δεν είναι γνωστή.

5.10. Θεραπεία των Polyoma ιών

Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει κάποια γνωστή θεραπεία ικανή να θεραπεύσει τη λοίμωξη που προκαλούν οι Polyoma ιοί. Ωστόσο, φαίνεται ότι ορισμένες από τις φθοριοκινολόνες μπορεί να έχουν θεραπευτικές δυνατότητες[439]. Μελέτες με νέα θεραπευτικά σχήματα που βρίσκονται κατά την παρούσα φάση σε πειραματικό στάδιο, δίνουν ελπίδα για αποτελεσματικές θεραπείες ενάντια στους Polyoma virus στο προσεχές μέλλον. Τα πρώτα αποτελέσματα αυτών των νέων θεραπειών, αναμένονται με μεγάλο ενδιαφέρον από την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα.

5.11. Ο Polyoma BK ιός

Ο ιός BK είναι μέλος της οικογένειας των polyomavirus. Είναι ευρέως διαδεδομένο οι ενήλικες να παρουσιάζουν αντισώματα που υποδηλώνουν προηγηθείσες μολύνσεις από τον ιό BK, χωρίς όμως να έχει συνυπάρξει και αντίστοιχη κλινική εικόνα. Σημαντικές συνέπειες της μόλυνσης είναι ασυνήθιστες και σπάνια αναφέρονται, με εξαίρεση την εξασθένιση του ανοσοποιητικού συστήματος και την πιθανή ανοσοκαταστολή που μπορεί να προκαλέσει η μόλυνση από το συγκεκριμένο ιό.

5.11.α. Ιστορική αναδρομή

Ο ιός BK απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1971 από τα ούρα ενός ασθενούς με νεφρικό μόσχευμα, του οποίου τα αρχικά του ονόματός του ήταν «B. K.»[440]. Είναι δε παρόμοιος ο συγκεκριμένος ιός με έναν άλλο Polyoma ιό που μολύνει τον άνθρωπο, το JCV. Τα γονιδιώματα των δύο αυτών ιών παρουσιάζουν 75% ομοιότητα στην αλληλουχία των βάσεών τους. Και οι δύο τους μπορούν να διαφοροποιηθούν ο ένας από τον άλλο με τη διεξαγωγή ειδικών ορολογικών δοκιμασιών, είτε χρησιμοποιώντας ειδικά αντισώματα για τον κάθε ένα ιό ή με τη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση (PCR) που βασίζεται στην προσέγγιση του ιϊκού γονότυπου.

5.11.β. Κλινική εικόνα

Ο ιός ΒΚ σπάνια προκαλεί ασθένεια δεδομένου ότι πολλοί άνθρωποι που έχουν μολυνθεί με αυτόν, παραμένουν ασυμπτωματικοί. Αν τα συμπτώματα εμφανιστούν, τείνουν να είναι ήπια όπως: λοίμωξη αναπνευστικού με ή χωρίς εμπύρετο. Αυτές οι ήπιες λοιμώξεις είναι γνωστές και ως *«πρωτογενείς ΒΚV λοιμώξεις»*.

Στη συνέχεια ο ιός μεταναστεύει στους νεφρούς και τις ουροφόρες οδούς, όπου παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ατόμου. Θεωρείται δε ότι έως και το 80% του παγκόσμιου πληθυσμού φέρει τον ιό σε λανθάνουσα μορφή, που παραμένει λανθάνων έως ότου ο οργανισμός του ατόμου-ξενιστή βρεθεί σε κατάσταση ανοσοκαταστολής. Τυπικά και με βάση τα διεθνή πρωτόκολλα θεραπειών, αυτή η παράμετρος λαμβάνεται σοβαρή υπ' όψην από τους ιατρούς που ρυθμίζουν την αγωγή ανοσοκαταστολής σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση νεφρού ή σε μεταμόσχευση πολλαπλών οργάνων[441]. Η κλινική εικόνα της ΒΚV λοίμωξης σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα είναι πολύ σοβαρή. Οι κλινικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν τη νεφρική δυσλειτουργία (η οποία τεκμηριώνεται από μια προοδευτική αύξηση της κρεατινίνης του ορού του αίματος) και από την ανάλυση των ούρων, που αποβαίνει παθολογική αποκαλύπτοντας νεφρικά σωληνοειδή και φλεγμονώδη κύτταρα.

5.11.γ. Μετάδοση του ΒΚ Polyoma ιού

Δεν είναι γνωστό με ποιον τρόπο μεταδίδεται αυτός ο ιός. Είναι γνωστό ωστόσο, ότι ο ιός μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο και όχι από κάποια ζωική πηγή. Έχει προταθεί ότι αυτός ο ιός μπορεί να μεταδίδεται μέσω των αναπνευστικών υγρών ή των ούρων, δεδομένου ότι τα μολυσμένα άτομα απεκκρίνουν περιοδικά ιϊκά σωματίδια με τα ούρα. Σε μια έρευνα αναφέρθηκε ότι σε 400 υγιείς δότες αίματος, το 82% αυτών ήταν θετικοί για τον ιό ΒΚ[442].

5.11.δ. Επιπλοκές από τη θεραπεία ανοσοκαταστολής

Σε ορισμένους ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση νεφρού, η αναγκαία χρήση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων μερικές φορές έχει ως παρενέργεια την αντιγραφή του ιού εντός του μοσχεύματος, προκαλώντας μια ασθένεια που ονομάζεται BK νεφροπάθεια[443]. Θεωρείται ότι 1-10% των ασθενών που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση νεφρού προοδευτικά θα αναπτύξουν *νεφροπάθεια από το BK ιό (BKVN)* και το 80% αυτών των ασθενών πρόκειται να χάσει το νεφρικό τους μόσχευμα. Η έναρξη της νεφρίτιδας μπορεί να προκύψει τόσο κατά τις πρώτες μετεγχειρητικές ημέρες μετά τη μεταμόσχευση, όσο και πιο αργά μέχρι και σε διάστημα 5 ετών. Επίσης μπορεί να εμφανιστούν ως επιπλοκές η στένωση του ουρητήρα και η διάμεση νεφρίτιδα. Σε μεταμοσχευμένους με μυελό των οστών, είναι αξιοσημείωτη ως επιπλοκή της ανοσοκατασταλτικής θεραπείας, η αιμορραγική κυστίτιδα.

5.11.ε. Διάγνωση

Ο ιός αυτός μπορεί να διαγνωστεί με μια απλή εξέταση αίματος ή ένα τεστ ούρων για την ανάδειξη ύπαρξης μολυσμένων νεφρικών κυττάρων από το BKV. Επιπλέον μπορεί να πραγματοποιηθεί και βιοψία νεφρικού παρεγχύματος δια λεπτής βελόνης υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση. Σύγχρονες τεχνικές όπως η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR), πραγματοποιούνται συχνά για τον προσδιορισμό του ιού[444].

5.11.στ. Θεραπεία

Ο ακρογωνιαίος λίθος της θεραπείας ενάντια στον ιό BK, είναι η μείωση της ανοσοκαταστολής. Μια πρόσφατη αύξηση των περιπτώσεων μεταμοσχευμένων ασθενών που παρουσίασαν BKVN, σχετίστηκε με τη χρήση ισχυρών ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, όπως το tacrolimus (Prograf®) και το mycophenolate mofetil (MMF - CellCept®). Οι μέχρι τώρα μελέτες δεν έχουν δείξει καμία συσχέτιση μεταξύ της BKVN και ενός συγκεκριμένου ανοσοκατασταλτικού παράγοντα, αλλά μάλλον τη συγκεκριμένη επιπλοκή την προκαλεί το συνολικό ανοσοκατασταλτικό φορτίο

του ασθενή που λαμβάνει την ανοσοκατασταλτική θεραπεία. Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής κατευθυντήριες οδηγίες ή κοινώς αποδεκτά επίπεδα φαρμάκων και δόσεων που πρέπει να λαμβάνει ο κάθε μεταμοσχευμένος ασθενής, ώστε να επιτευχθεί σωστή μείωση των ανοσοκατασταλτικών σε όσους παρουσιάζουν BKVN. Οι περισσότερο κοινές μέθοδοι που ακολουθούνται παγκοσμίως είναι:

1. Απόσυρση του MMF ή του tacrolimus.
2. Αντικατάσταση του tacrolimus με κυκλοσπορίνη (Sandimmun Neoral®)
3. Συνολική μείωση του ανοσοκατασταλτικού φορτίου των ασθενών
4. Έχει αναφερθεί ως πρακτική να μειώνονται τα κατώτερα επίπεδα της κυκλοσπορίνης σε 100-150ng/ml και του tacrolimus σε 3,5ng/ml

• Σε μια αναδρομική μελέτη 67 ασθενών που ολοκληρώθηκε πρόσφατα, η επιβίωση του μοσχεύματος ήταν παρόμοια μεταξύ της ομάδας ασθενών όπου είχε γίνει μείωση της δόσης των ανοσοκατασταλτικών παραγόντων, με την ομάδα ασθενών όπου η χορήγηση των συγκεκριμένων παραγόντων είχε διακοπεί τελείως.

• Μελέτη που έγινε σε ένα μεταμοσχευτικό κέντρο έδειξε ότι τα νεφρικά αλλομοσχεύματα διατηρήθηκαν σε όλους τους ασθενείς (8/8 άτομα – 100%), όπου είχε γίνει μείωση της ανοσοκαταστολής, ενώ υπήρξαν περιπτώσεις όπου χάθηκαν τα μοσχεύματα σε ασθενείς (8/12 ή 66%) που έλαβαν θεραπεία με αύξηση των επιπέδων της ανοσοκαταστολής, επειδή εσφαλμένα θεωρήθηκε από τους θεράποντες ιατρούς ότι οι συγκεκριμένοι ασθενείς βρίσκονταν σε φάση απόρριψης του νεφρικού τους μοσχεύματος.

Άλλες θεραπευτικές επιλογές περιλαμβάνουν τη χορήγηση νεότερων φαρμάκων όπως η λεφλουνομίδη, το cidofovir, το IVIG, καθώς και οι φθοριοκινολόνες. Η λεφλουνομίδη είναι σήμερα γενικά αποδεκτή ως θεραπεία εκλογής Β΄ επιπέδου, αφού πρώτα όμως έχει δοκιμαστεί η μείωση της ανοσοκαταστολής από τους θεράποντες ιατρούς.

5.12. Ο Polyoma JC ιός

Ο ιός JC ή *ιός John Cunningham (JCV)* ανήκει και αυτός στους polyomavirus του ανθρώπου. Παρουσιάζει γενετικές ομοιότητες με τους ιούς BK και SV40. Ανακαλύφθηκε το 1971 και έλαβε το όνομά του χρησιμοποιώντας τα αρχικά ενός ασθενή, του John Cunningham, που νοσηλευόταν με προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (progressive multifocal leukoencephalopathy, PML)[445]. Ο ιός προκαλεί PML καθώς και άλλες ασθένειες, μόνο όμως σε περιπτώσεις ασθενών με ανοσοανεπάρκεια, όπως δηλαδή συμβαίνει με το AIDS ή κατά τη διάρκεια που ασθενείς υποβάλλονται σε θεραπεία με φάρμακα για επίτευξη ανοσοκαταστολής (πχ, ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση οργάνων).

5.12.α. Επιδημιολογία

Ο ιός JC είναι πολύ κοινός στο γενικό πληθυσμό και υπολογίζεται ότι έχει μολυνθεί από αυτόν το 70-90% των ανθρώπων. Οι περισσότεροι άνθρωποι μολύνονται από τον ιό στην παιδική ηλικία ή κατά την εφηβεία[446-448]. Έχει δε παρατηρηθεί, με αναλύσεις που έχουν γίνει, ότι βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα αστικά λύματα παγκοσμίως, οδηγώντας μερικούς ερευνητές να υποπτεύονται ότι το μολυσμένο νερό λειτουργεί ως τυπικός φορέας της λοίμωξης[449].

Σε γενετικές αναλύσεις δειγμάτων του ιού JC, τα δείγματα αυτά παρουσίαζαν μικρές γενετικές παραλλαγές σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές ανά τον κόσμο, πράγμα που βοήθησε τους ερευνητές να κατανοήσουν την ιστορία της ανθρώπινης μετανάστευσης[450].

5.12.β. Μετάδοση και παθογένεια του ιού

Η πύλη εισόδου της αρχικής μόλυνσης μπορεί να είναι οι αμυγδαλές[451] ή ενδεχομένως ο γαστρεντερικός σωλήνας[449]. Στη συνέχεια ο ιός παραμένει σε λανθάνουσα μορφή στη γαστρεντερική οδό[452] και μπορεί να μολύνει τα σωληνοειδή επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού βλεννογόνου. Επίσης ο ιός μπορεί να ανευρεθεί στους νεφρούς[453] όπου συνεχίζει να αναπαράγεται,

απορρίπτοντας ιϊκά σωματίδια στα ούρα. Ο JCV μπορεί να διαπεράσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να εισέλθει στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), όπου μολύνει τα ολιγοδενδροκύτταρα και τα αστροκύτταρα, πιθανόν μέσω του υποδοχέα 5-HT_{2A} της σεροτονίνης[454]. Έτσι το JC ιϊκό DNA μπορεί να ανιχνευθεί εξίσου σε εγκεφαλικό ιστό ασθενών που έχουν εκδηλώσεις της νόσου PML, καθώς και σε εγκεφαλικό ιστό ασθενών που δεν παρουσιάζουν PML βλάβες[455]. Συνθήκες ανοσοανεπάρκειας ή ανοσοκαταστολής επιτρέπουν την επανενεργοποίηση του JCV. Στον εγκέφαλο ο ιός προκαλεί προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (PML) καταστρέφοντας τα ολιγοδενδροκύτταρα, οδηγώντας συνήθως τον ασθενή στο θάνατο. Είναι προς το παρόν άγνωστο εάν η PML αντιπροσωπεύει την επανενεργοποίηση του JCV μέσα στο ΚΝΣ ή οφείλεται σε διασπορά πρόσφατα επανενεργοποιημένων JCV μέσω της αιματικής ροής ή των λεμφαγγείων[456]. Αρκετές μελέτες από το 2000 και μετά, έχουν προτείνει τη συσχέτιση του ιού με τον καρκίνο του παχέος εντέρου, καθώς ο JCV έχει ανευρεθεί σε κακοήθεις όγκους του παχέος εντέρου. Για κάποιους άλλους όμως ερευνητές, αυτά τα ευρήματα παραμένουν ακόμα αμφιλεγόμενα[457].

5.12.γ. Φάρμακα που σχετίζονται με την επανενεργοποίηση του JCV

Η χορήγηση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων αποτελεί αντένδειξη επειδή η ανοσοανεπάρκεια που προκαλούν, βοηθάει στην επανενεργοποίηση του JCV σε όσους ασθενείς έχουν μολυνθεί από αυτόν, προκαλώντας με τη σειρά του τη θανατηφόρο PML.

Η αναγραφόμενη προειδοποίηση στη συσκευασία του φαρμάκου rituximab (Rituxan®) αναφέρει χαρακτηριστικά ότι «πιθανή λοίμωξη από τον ιό JC μπορεί να έχει ως ανεπιθύμητη επιπλοκή την εμφάνιση προοδευτικής πολυεστιακής λευκοεγκεφαλοπάθειας», ενώ περιπτώσεις θανάτου έχουν αναφερθεί σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με το συγκεκριμένο φάρμακο[458].

Η αναγραφόμενη προειδοποίηση στη συσκευασία του φαρμάκου natalizumab (Tysabri®) αναφέρει χαρακτηριστικά ότι «τρεις ασθενείς που έλαβαν το φάρμακο κατά τη διάρκεια των κλινικών δοκιμών, νόσησαν από προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια, η οποία αποδόθηκε σε λοίμωξη από επανενεργοποίηση του JCV».

Παρόμοια προειδοποίηση προστέθηκε στις 19 Φεβρουαρίου 2009 στη συσκευασία του φαρμάκου efalizumab (Raptiva®) που περιελάμβανε τη χαρακτηριστική φράση ότι «προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια εμφανίστηκε σε τρεις ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε το efalizumab κατά τη διάρκεια των κλινικών ελέγχων». Και σε αυτές τις τρεις περιπτώσεις, η εμφάνιση της PML αποδόθηκε σε λοίμωξη από επανενεργοποίηση του JCV. Το φάρμακο efalizumab αποσύρθηκε από την αγορά των ΗΠΑ λόγω της συσχέτισης με την PML, με υπουργική απόφαση στις 10 Απριλίου 2009.

Προειδοποίηση εκδόθηκε και για το Brentuximab vedotin (Adcetris®) από τον Ομοσπονδιακό Φορέα Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) στις 13 Ιανουαρίου 2011, μετά από αναφορά δύο ασθενών που νόσησαν με PML, μετά από τη λήψη του συγκεκριμένου φαρμάκου, ανεβάζοντας το συνολικό αριθμό των υποθέσεων που σχετίζονται με ανοσοκατασταλτικά φάρμακα και PML σε τέσσερα.

5.12.δ. Θεραπεία

Τον Ιούνιο του 2010 ανακοινώθηκε σε ιατρικό συνέδριο, ως ενδιαφέρον περιστατικό, η πρώτη περίπτωση ασθενούς με PML που αντιμετωπίστηκε επιτυχώς με μεφλοκίνη. Πρόκειται για ένα ανθελονοσιακό φάρμακο που μπορεί να δράσει με μεγάλη επιτυχία κατά του ιού JC. Η χορήγηση της μεφλοκίνης φάνηκε να οδηγεί στην εξάλειψη του ιού από το σώμα του ασθενή, εμποδίζοντας και την περαιτέρω νευρολογική του επιδείνωση[459]. Στις 30 Νοεμβρίου 2010 η εταιρεία βιοτεχνολογικών και ογκολογικών ερευνών Cytheris® ανακοίνωσε ότι είχε καταφέρει να εξαλείψει τον ιό JC από ασθενή με PML, με τη χρήση ανθρώπινης ιντερλευκίνης-7, ως νεο-δοκιμαζόμενο φάρμακο (CYT107), σε συνδυασμό με το επίσης δοκιμαζόμενο φάρμακο το Chimerix.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η ανίχνευση του ιού του θηλώματος του ανθρώπου (Human Papilloma Virus, HPV) σε ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως. Για την ανίχνευση του HPV σε αυτούς τους ασθενείς, εκτός από τις μέχρι τώρα γνωστές μεθόδους ανίχνευσης, όπως είναι η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (Polymerase Chain Reaction, PCR) καθώς και η nested-PCR, χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά η μέθοδος της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση σε πραγματικό χρόνο (Real-Time Quantitative PCR). Για τον εντοπισμό του HPV χρησιμοποιηθήκαν δείγματα τεμαχίων ιστού που ελήφθησαν από 30 ασθενείς με καρκίνωμα μεταβατικού επιθηλίου (TCC) της ουροδόχου κύστης σε σχέση με τον παρακείμενο φυσιολογικό ιστό. Ο απώτερος σκοπός της μελέτης αυτής, ήταν αφενός ο συσχετισμός της HPV-λοίμωξης με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως στον ελληνικό πλυθησμό και αφετέρου εάν η Real-Time Quantitative PCR, θα μπορούσε να αποτελέσει ένα ασφαλές πρωτόκολλο ανίχνευσης του HPV σε αυτούς τους ασθενείς, ώστε η νέα και άκρως ευαίσθητη αυτή τεχνική, να αποτελέσει την εξέταση εκλογής (gold standard) στην καθημερινή κλινική πράξη.

Ο σκοπός του δεύτερου τμήματος αυτής της μελέτης ήταν η ανίχνευση των ερπητοϊών του ανθρώπου (Human Herpes Viruses, HHV) στους προαναφερόμενους ασθενείς. Για την ανίχνευση των HHV, χρησιμοποιήθηκε ως μέθοδος ανίχνευσης η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (Polymerase Chain Reaction, PCR). Ο απώτερος σκοπός του δεύτερου τμήματος της μελέτης μας, ήταν ο πιθανός συσχετισμός της HHV-λοίμωξης με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως στον ελληνικό πλυθησμό.

Ο σκοπός του τρίτου τμήματος αυτής της μελέτης ήταν η ανίχνευση των Polyoma ιών του ανθρώπου (Human Polyoma Viruses, HPyV) σε αυτούς τους ασθενείς. Για την ανίχνευση των HPyV, χρησιμοποιήθηκε ως μέθοδος

ανίχνευσης η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (Polymerase Chain Reaction, PCR). Ο απώτερος σκοπός του τρίτου τμήματος της μελέτης μας, ήταν ο πιθανός συσχετισμός της HPyV-λοίμωξης με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως στον ελληνικό πλυθησμό.

7° ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Υλικά και Μέθοδοι

7.1. Ασθενείς και ομάδα ελέγχου

Το υλικό για την παρούσα διδακτορική διατριβή προήλθε από ζεύγη δειγμάτων ουροθηλιακού καρκίνου και του παρακείμενου φυσιολογικού ουροθηλιακού ιστού από 30 ασθενείς με πρωτοεμφανιζόμενους όγκους ουροδόχου κύστεως, που υπεβλήθησαν σε διουρηθρική αφαίρεση στο ουρολογικό τμήμα του Γεν. Νοσ. «Ασκληπιείο» Βούλας. Όλοι οι ασθενείς ήταν προχωρημένης ηλικίας (μέση ηλικία ± SD=72.2±10.6 έτη). Από τους 30 ασθενείς μόνο οι 4 (13.3%), δεν είχαν κανένα ιστορικό καπνίσματος, ενώ οι 26 (87%) ήταν ενεργοί ή πρώην καπνιστές. Οι 19 (63%) είχαν κάποιο βαθμό επαγγελματικής έκθεσης σε παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του ουροθηλίου. Τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.1.

Όλοι οι όγκοι εξετάστηκαν και ταξινομήθηκαν από τον ίδιο παθολογοανατόμο και η ιστολογική ταξινόμηση πραγματοποιήθηκε με βάση τις ταξινομήσεις του 1973 WHO και 2004 WHO/ISUP (International Society of Urogical Pathology)[460]. Το στάδιο του όγκου εκτιμήθηκε με το σύστημα της 2002 American Joint Committee on Cancer[461]. Η επιτροπή δεοντολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης ενέκρινε την παρούσα μελέτη και όλοι οι ασθενείς είχαν δώσει γραπτή συγκατάθεση. Κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη ήταν τα δείγματα να προέρχονται από ασθενείς με πρωτοεμφανιζόμενους όγκους και η διαθεσιμότητα του DNA από νεοπλασματικό και φυσιολογικό ιστό για μοριακή ανάλυση. Κριτήρια αποκλεισμού αποτέλεσαν το ιστορικό προηγούμενου ουροθηλιακού όγκου και η χημειοθεραπεία ή η ακτινοθεραπεία πριν τη χειρουργική αφαίρεση.

Τα δείγματα λήφθηκαν κατά τη διάρκεια της χειρουργικής τους εξαίρεσης, ενώ οι φυσιολογικοί ιστοί ελήφθησαν με ψυχρή βιοψία από 3 κυρίως θέσεις, το οπίσθιο τοίχωμα, το τρίγωνο και τον παρακείμενο φυσιολογικό ιστό. Τμήματα των εξαιρεθέντων φυσιολογικών ιστών στάλθηκαν για παθολογοανατομική εξέταση και καταψύχθηκαν στη συνέχεια, σε υγρό άζωτο και διατηρήθηκαν στους -80℃ μέχρι την απομόνωση του DNA.

Οι ασθενείς με επιφανειακή νόσο υποβλήθηκαν στη συνέχεια σε περιοδική παρακολούθηση με κυστεοσκόπηση και ενδοκυστική θεραπεία. Οι ασθενείς με μυοδιηθητική νόσο υποβλήθηκαν σε ριζική κυστεο-προστατεκτομή με ή χωρίς επικουρική χημειοθεραπεία. Όσον αφορά το «Follow Up» των ασθενών, στο διάστημα παρακολούθησης 24±3 μήνες, 8 ασθενείς (26.6%) παρουσίασαν υποτροπή της νόσου. Συγκεκριμένα, στους ασθενείς σταδίου T_a/T_1, 5 ασθενείς από τους 17 υποτροπίασαν με συχνότητα υποτροπής 29.4% και στους ασθενείς σταδίου T_2-T_3, 3 από τους 13, παρουσίασαν επανεμφάνιση της νόσου με ποσοστό υποτροπής 23%. Στους ασθενείς με επιφανειακή νόσο grade II και III η πιθανότητα εξέλιξης της νόσου ήταν 11.1% και 22.2% αντίστοιχα. Όλες οι υποτροπές επιβεβαιώθηκαν με βιοψία.

7.2. Απομόνωση χρωμοσωμικού DNA από συμπαγείς ιστούς

Το DNA απομονώθηκε σύμφωνα με γνωστά πρωτόκολλα απομόνωσης DNA από συμπαγείς ιστούς. Ο ιστός τεμαχίστηκε και ομογενοποιήθηκε σε διάλυμα λύσης (10mM EDTA, 10mM Tris pH 8.0, 150mM NaCl, 0.5% SDS). Στη συνέχεια, ο ομογενοποιημένος ιστός μετά την προσθήκη πρωτεϊνάσης K σε τελική συγκέντρωση που φτάνει τα 100μg/ml, επωάζεται σε θερμοκρασία 60℃. Ακολουθεί η εκχύλιση των νουκλεϊκών οξέων (DNA και RNA) με φαινόλη/χλωροφόρμιο και η αποδόμηση του RNA με RNAάση (100μg/ml) για 1 ώρα στους 37℃. Το DNA κατακρημνίζεται με προσθήκη μισού όγκου οξικού αμμωνίου (ή 1/20 όγκου NaCl 5M) και 2.5 όγκων απόλυτης αιθανόλης. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στους 4℃ σε 13.000rpm και «ξέπλυμα» του κατακρημνισμένου DNA με 70% αιθανόλη. Αφού απομακρυνθεί η αιθανόλη το DNA επαναιωρείται σε ddH_2O και διατηρείται σε θερμοκρασία 4℃. Η ποσότητα του DNA καθώς και η

καθαρότητά του υπολογίζεται μετά από φωτομέτρηση στα 260nm και στα 280nm.

Πίνακας 7.1: Κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά ασθενών.

	Αριθμός Ασθενών
Σύνολο#	30
Φύλο	
Άνδρες	27
Γυναίκες	3
Μέση Ηλικία	72,2 (44-86)
Κάπνισμα	
Μη καπνιστές	4
Πρώην καπνιστές	8
Καπνιστές	18
Επαγγελματική Έκθεση*	
Ναι	19
Όχι	11
Στάδιο	
pT_a	1
pT_1	12
pT_{1a}	4
pT_{1b}	1
pT_2	2
pT_{2a}	1
pT_{2b}	5
pT_2 + in situ	3
pT_{3a}	1
WHO 1973 Grade	
I	0
II	10
III	20
WHO/ISUP 2004 Grade	
Χαμηλό	8
Υψηλό	12

Συνολικά 30 δείγματα ουροθηλιακού καρκίνου ουροδόχου κύστεως και 30 δείγματα παρακείμενου φυσιολογικού ιστού
* Σε χημικές ουσίες, βαφές, πετρέλαιο κλπ.

7.3. Αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR)

Το 1985 ο Mullis και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια τεχνική για τον *in vitro* πολλαπλασιασμό του DNA[462]. Η μέθοδος αυτή που είναι ευρέως γνωστή ως αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (polymerase chain reaction, PCR), επιτρέπει την επιλεκτική παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων ενός συγκεκριμένου τμήματος DNA που υπάρχει σε ένα σύνθετο μείγμα νουκλεϊκών οξέων, κατά τη διάρκεια μίας απλής ενζυμικής αντίδρασης.

Στην ουσία η τεχνική αυτή εκμεταλλεύεται τον ημισυντηρητικό τρόπο διπλασιασμού του DNA. Σε συνδυασμό με την ανακάλυψη θερμοανθεκτικών DNA πολυμερασών επιτρέπει την εύκολη και γρήγορη παραγωγή αμιγών τμημάτων DNA σε μεγάλες ποσότητες με ελάχιστο κόστος και χρόνο. Τα βασικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα της PCR αντίδρασης είναι: η ευαισθησία, η επιλεκτικότητα και η ταχύτητα[463-465].

Στα παραπάνω θα πρέπει να προστεθεί το γεγονός ότι η PCR απαιτεί ελάχιστη ποσότητα αρχικού υλικού, η οποία δυνητικά μπορεί να φτάσει στο επίπεδο του ενός μορίου. Το αρχικό υλικό DNA δεν είναι απαραίτητο να έχει την υψηλή καθαρότητα και ακεραιότητα που απαιτούνται για άλλες τεχνικές, ενώ οι πηγές προέλευσής του δύνανται να ποικίλουν (νωπός ιστός, σωματικά υγρά, μονιμοποιημένοι ιστοί και άλλα)[464]. Μοναδική προϋπόθεση είναι να υπάρχει τουλάχιστον ένα ακέραιο τμήμα DNA, το οποίο να εμπεριέχει την περιοχή που αναζητείται για ενίσχυση.

7.3.1. Οι βασικές αρχές της λειτουργίας της PCR

Στη βασική της μορφή η αντίδραση PCR είναι περισσότερο μια χημική παρά μια βιολογική μέθοδος, για τη δημιουργία πολλαπλών αντιγράφων ενός συγκεκριμένου τμήματος DNA, σε σχέση με άλλες αλληλουχίες νουκλεϊκών οξέων, οι οποίες υπάρχουν στο μείγμα της αντίδρασης[462,465]. Για τον πολλαπλασιασμό ενός τμήματος DNA ή cDNA μετά από αντίστροφη μεταγραφή μίας αλληλουχίας RNA, απαιτείται η γνώση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας σε μικρή έκταση γύρω από το τμήμα που αποτελεί το στόχο για ενίσχυση. Η γνώση της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων στην περιοχή-στόχο, αποτελεί τη βάση για το σχεδιασμό και την κατασκευή δύο συνθετικών ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων, οι οποίες χρησιμεύουν ως εκκινητές (primers)

στην αντίδραση πολυμερισμού. Το μήκος (συνήθως 20-30 βάσεις) και η αλληλουχία των εκκινητών, εξασφαλίζει στατιστικά ότι οι εκκινητές έχουν ελάχιστη πιθανότητα υβριδισμού με άλλες περιοχές του γονιδιώματος, εκτός από εκείνες που έχουν καθοριστεί γύρω από το επιλεγμένο τμήμα DNA.

Η αντίδραση PCR εκτελείται με την επανάληψη θερμικών κύκλων που αποτελούνται από αυστηρά επιλεγμένα και καθορισμένα στάδια. Ο κάθε κύκλος αρχίζει με ισχυρή θερμική αποδιάταξη (95℃), η οποία καθιστά το δίκλωνο DNA μονόκλωνο. Στη συνέχεια ακολουθεί ένα στάδιο με χαμηλότερη θερμοκρασία (50-65℃), κατά το οποίο οι εκκινητές υβριδοποιούνται με τις συμπληρωματικές τους περιοχές στους αντίστοιχους μονούς κλώνους DNA. Κάθε εκκινητής υβριδοποιείται με το συμπληρωματικό του κλώνο αντίστοιχα, έχοντας το 3΄-OH άκρο του στραμμένο το ένα προς το άλλο. Τελικά κάθε εκκινητής επεκτείνεται με πολυμερισμό κατά μήκος του τμήματος DNA από μια θερμοανθεκτική DNA πολυμεράση σε τελική θερμοκρασία 72℃. Οι κύκλοι των τριών φάσεων επαναλαμβάνονται αρκετές φορές μέχρι να συσσωρευτεί ικανοποιητική ποσότητα προϊόντων PCR. Το προϊόν PCR που παράγεται από μία επιτυχημένη αντίδραση, αποτελείται εξ' ολοκλήρου από μόρια τμημάτων DNA με μήκος ίσο με το άθροισμα του μήκους των δύο ολιγονουκλεοτιδίων και το μήκος του DNA τμήματος το οποίο παρεμβάλλεται μεταξύ των θέσεων των δύο εκκινητών. Η επιτυχία της PCR αντίδρασης εξαρτάται από την επιτυχή επιλογή των εξής στοιχείων:

1. <u>Επιλογή κατάλληλων εκκινητών</u>: Η ειδικότητα της PCR αντίδρασης ως προς την αλληλουχία που πρόκειται να ενισχυθεί εξαρτάται από τους εκκινητές. Ο καλός σχεδιασμός για την επιλογή εκκινητών αποτελεί σημαντικότατο παράγοντα για την επιτυχία της PCR. Στατιστικά, έχει βρεθεί ότι όταν μία αλληλουχία DNA έχει μήκος τουλάχιστον 20bp, τότε είναι μοναδική στο γονιδίωμα και κατά συνέπεια, για να επιτευχθεί ειδική ενίσχυση αλληλουχιών πρέπει οι εκκινητές να είναι τουλάχιστον 20-μερή. Προτιμούνται εκκινητές που α) έχουν περιεκτικότητα σε γουανίνη και κυτοσίνη παρόμοια με το τμήμα DNA που θα ενισχυθεί, β) δεν έχουν σημαντική δευτεροταγή δομή ούτε αλληλοεπικάλυψη ειδικά στο 3΄ άκρο, γ) δεν έχουν εκτάσεις από πολυπουρίνες ή πολυπυριμιδίνες και δ) το ζεύγος των εκκινητών δεν

εμφανίζει συμπληρωματικότητα και δεν σχηματίζει διμερή (primer dimers) με αποτέλεσμα την παραγωγή μη ειδικών προϊόντων.

2. Επιλογή θερμοκρασίας υβριδοποίησης εκκινητών (annealing temperature): Η θερμοκρασία υβριδισμού ποικίλλει ανάλογα με το μήκος και τη σύσταση των εκκινητών σε βάσεις GC, καθώς και το είδος του υποστρώματος DNA. Ως ιδανική θερμοκρασία υβριδισμού T_a θεωρείται αυτή που το 50% των μορίων είναι αποδιατεταγμένο. Υψηλές θερμοκρασίες επιτυγχάνουν περισσότερο εξειδικευμένο υβριδισμό, χαμηλής όμως απόδοσης. Η επιλογή χαμηλότερης θερμοκρασίας αυξάνει την απόδοση σε βάρος της ειδικότητας, με αποτέλεσμα τον κίνδυνο δημιουργίας παραπροϊόντων της PCR.

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

4. Αριθμός κύκλων: Συνήθως ο βέλτιστος αριθμός κύκλων είναι 25-30 και προσδιορίζεται πειραματικά με βάση την καλύτερη δυνατή απόδοση προϊόντος με το λιγότερο μη ειδικό προϊόν. Μετά από έναν αριθμό κύκλων η αντίδραση φτάνει σε μια στατική φάση (plateau), κατά την οποία νέα αύξηση του αριθμού των κύκλων δεν οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης. Για την ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων της PCR απαραίτητη προϋπόθεση είναι να τερματίσει η αντίδραση, ενώ ακόμα βρίσκεται στην εκθετική της φάση. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να γίνει γραμμική αντιστοίχηση της τελικής ποσότητας του προϊόντος, στην αρχική ποσότητα του υποστρώματος. Συνήθως επιτελούνται προκαταρκτικά πειράματα με διαδοχικές αραιώσεις αρχικού υποστρώματος (δημιουργία πρότυπης καμπύλης), ώστε να βρεθούν οι συνθήκες εκείνες όπου διατηρείται η γραμμική αυτή σχέση. Ακόμα περισσότερο αξιόπιστη είναι η συνενίσχυση με την αλληλουχία-στόχο

σταθερής ποσότητας υποστρώματος, στο οποίο οι θέσεις αναγνώρισης των εκκινητών ταυτίζονται με αυτή της αλληλουχίας-στόχου[466]. Με αυτόν τον τρόπο επιτελείται συναγωνισμός ανάμεσα στις δύο αλληλουχίες που συνενισχύονται, οπότε η αφθονία των αρχικών αντιγραφών της αλληλουχίας στόχου εκφράζεται σαν ο λόγος της ως προς την ένταση της ζώνης που αντιστοιχεί στον συναγωνιστή.

5. Παρουσία ενισχυτών και αναστολέων: Αναστολείς μπορεί να υπάρχουν είτε στα βιολογικά δείγματα είτε στα χημικά αντιδραστήρια. Παράδειγμα αναστολέων είναι τα ιοντικά επιφανειοδραστικά όπως το SDS. Ουσίες-ενισχυτές της αντίδρασης αποτελούν το φορμαμίδιο (5%), η πολυαιθανογλυκόλη (PEG) (5-15%) κ.α.

Η μέση απόδοση μιας σειράς κύκλων PCR δύναται να περιγραφεί με την ακόλουθη εξίσωση: $N=n(1+e)c$, όπου “N” συμβολίζει την τελική ποσότητα του προϊόντος, όπου “n” συμβολίζει την αρχική ποσότητα του υποστρώματος, όπου “e” συμβολίζει την απόδοση της αντίδρασης και “c” συμβολίζει τον αριθμό των κύκλων PCR. Επειδή τα προϊόντα κάθε κύκλου προστίθενται σαν υπόστρωμα για τον επόμενο κύκλο, η συσσώρευση του προϊόντος PCR γίνεται με εκθετικό τρόπο, οπότε μπορεί να εκτιμηθεί και η απόδοση της ενίσχυσης. Όταν όμως η συγκέντρωση προϊόντος προσεγγίσει την τιμή 10^{-7} M, τότε παύει πλέον η παραγωγή και η αντίδραση μπαίνει σε φάση κορεσμού[462,465]. Η χρήση θερμοανθεκτικών πολυμερασών και η κατασκευή θερμικών κυκλοποιητών, έδωσε τη δυνατότητα αυτοματοποίησης και ταυτόχρονης ανάπτυξης πολλαπλών δειγμάτων σε σύντομο χρόνο και με ελάχιστο κόστος.

7.3.2. Σχεδιασμός των εκκινητών

β2-σφαιρίνη: Για τον έλεγχο της ποσότητας του DNA που εκχυλίζεται από φρέσκο ιστό και περιφερικό αίμα και της ικανότητάς του να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα από την Taq πολυμεράση, τα δείγματα ελέγχονται με ενίσχυση μίας περιοχής 110 bp του γονιδίου της β-σφαιρίνης, το οποίο χρησιμοποιείται ως γονίδιο μάρτυρας. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται

ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 20 μl. Το μίγμα επωάζεται στους 94℃ για 2min και ακολουθούν 35 κύκλοι ενίσχυσης με τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ για 30sec, ανασύνδεση στους 58℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 30sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Το προϊόν της αντίδρασης PCR έχει μήκος 110 bp και αναλύεται σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση των 110 bp (Πίνακας 7.2 σελ. 183).

Human papilloma virus: Για τον εντοπισμό στα δείγματα, γενετικού υλικού του HPV, χρησιμοποιήθηκαν οι γενικοί εκκινητές GP5+/GP6+. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 25 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 3min στους 95℃ και υπόκειται σε 40 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 50sec, ανασύνδεση στους 64℃ για 40sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 50sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιείται DNA που εκχυλίστηκε από HPV16 μολυσμένων κυτταρικών σειρών. Το προϊόν της αντίδρασης PCR αναλύθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και φωτογραφήθηκε, με έκθεση σε υπεριώδες φως, ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση των 150 bp. Στη συνέχεια ακολούθησε nested PCR όπου χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα το προϊόν της προηγηθείσας PCR αντίδρασης, ενώ οι ειδικοί εκκινητές σχεδιάστηκαν εκ νέου και είναι αυτοί που περιγράφονται στον Πίνακα 7.2. Οι συνθήκες και για τη nested-PCR ήταν ακριβώς οι ίδιες που περιγράφικαν νωρίτερα για την απλή PCR.

Herpes simplex virus type-1 (HSV-1) και Herpes simplex virus type 2 (HSV-2): Για τον εντοπισμό, στα δείγματα, γενετικού υλικού του HSV-1 και HSV-2, χρησιμοποιήθηκαν γενικοί εκκινητές HSVa και HSVb οι οποίοι παρουσιάζουν ομολογία με μία συντηρητική περιοχή του ιού και ενισχύουν και τους δύο τύπους. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 25 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 3min στους 95℃ και υπόκειται σε 35 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 50sec, ανασύνδεση στους 64℃ για 40sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 50sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους

72℃ για 10min. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιείται DNA που εκχυλίστηκε από HSV-1,2 μολυσμένων κυτταρικών σειρών. Το προϊόν της αντίδρασης PCR αναλύθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και φωτογραφήθηκε, με έκθεση σε υπεριώδες φως, ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση των 478 bp .

Varicella Zoster virus (VZV): Για τον εντοπισμό, στα δείγματα, γενετικού υλικού του VZV, ενισχύθηκε μια περιοχή 267 bp του ιού χρησιμοποιώντας τους εκκινητές VZV-F και VZV-R. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 20 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 3min στους 94℃ και υπόκειται σε 35 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 40sec, ανασύνδεση στους 60℃ για 40sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 40sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Το προϊόν της αντίδρασης PCR αξιολογήθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και φωτογραφήθηκε, με έκθεση σε υπεριώδες φως, ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση.

Cytomegalovirus (CMV): Για τον εντοπισμό του γενετικού υλικού του CMV στα δείγματα ενισχύθηκε μια περιοχή 167 bp του ιού χρησιμοποιώντας σετ εξωτερικών εκκινητών CMV3 και CMV4. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 20 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 2,5min στους 95℃ και υπόκειται σε 8 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 40sec, ανασύνδεση στους 57℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 30sec και εν συνεχεία αποδιάταξη στους 94℃ για 40sec, ανασύνδεση στους 55℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 30sec για 27 κύκλους, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιείται DNA που εκχυλίστηκε από CMV μολυσμένων κυτταρικών σειρών. Το προϊόν της PCR αντίδρασης έχει μήκος περίπου 167 bp και πιστοποιήθηκε με ανάλυση σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία.

Epstein-Barr virus (EBV): Για τον εντοπισμό στα δείγματα γενετικού υλικού του EBV, ενισχύθηκε μια περιοχή 197 bp του ιού χρησιμοποιώντας δύο σετ

εκκινητών EBV-F και EBV-R. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 20 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 3min στους 94℃ και υπόκειται σε 35 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 30sec, ανασύνδεση στους 65℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 30sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Ακολούθησε nested PCR στην οποία χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα το προϊόν της προηγηθείσας PCR αντίδρασης και εκκινητές οι EBV-6-Fin και EBV-6-Rin. Οι συνθήκες της ενζυμικής ενίσχυσης είναι οι εξής: αποδιάταξη στους 94℃ για 30sec, ανασύνδεση στους 68℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 30sec για 35 κύκλους, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Το προϊόν της PCR αντίδρασης έχει μήκος περίπου 197bp και 102bp για τον πρώτο και δεύτερο κύκλο της αντίδρασης αντίστοιχα. Ακολούθησε ανάλυση σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση. Στον Πίνακα 7.2 παρουσιάζονται οι αλληλουχίες των εκκινητών (primers) που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση των ερπητοϊών HSV-1, -2, CMV, VZV, EBV, HHV-6, HHV-7 και β2-μικροσφαιρίνη καθώς και οι συνθήκες και τα προϊόντα της αντίδρασης PCR.

Human herpesvirus type 6 (HHV-6): Για τον εντοπισμό στα δείγματα γενετικού υλικού του HHV-6, ενισχύθηκε μια περιοχή 70bp του ιού με τη χρήση δύο σετ εκκινητών HHV-6-F και HHV-6-R. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 20 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 3min στους 94℃ και υπόκειται σε 35 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 30sec, ανασύνδεση στους 58℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 30sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Ακολούθησε nested PCR στην οποία χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα το προϊόν της προηγηθείσας PCR αντίδρασης και εκκινητές οι HHV-6-Fin και HHV-6-Rin. Οι συνθήκες της ενζυμικής ενίσχυσης είναι οι εξής: αποδιάταξη στους 94℃ για 30sec, ανασύνδεση στους 53℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 30sec για 35 κύκλους, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Το προϊόν της PCR αντίδρασης έχει μήκος περίπου 178bp και 70bp για τον πρώτο και δεύτερο κύκλο της αντίδρασης αντίστοιχα. Ακολούθησε ανάλυση

σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση .

Human herpesvirus type 7 (HHV-7): Για τον εντοπισμό γενετικού υλικού του HHV-7 στα δείγματα, ενισχύθηκε μια περιοχή 122 bp του ιού χρησιμοποιώντας ένα σετ εκκινητών HHV-7-F και HHV-7-R. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 20 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 2min στους 94℃ και υπόκειται σε 35 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 30sec, ανασύνδεση στους 59℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 20sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Το προϊόν της αντίδρασης PCR αξιολογήθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και φωτογραφήθηκε, με έκθεση σε υπεριώδες φως, ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση.

Human herpesvirus type 8 ή Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV): Για τον εντοπισμό γενετικού υλικού του KSHV στα δείγματα, ενισχύθηκε μια περιοχή 122 bp του ιού χρησιμοποιώντας ένα σετ εκκινητών KSHV-F και KSHV-R. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 20 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 2min στους 94℃ και υπόκειται σε 45 και 55 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 30sec, ανασύνδεση στους 59℃ για 30sec και επιμήκυνση στους 72℃ για 20sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Το προϊόν της αντίδρασης PCR αξιολογήθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και φωτογραφήθηκε, με έκθεση σε υπεριώδες φως, ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση των 319 και 116 bp αντίστοιχα.

Human Polyoma BK και JC virus (HPyV): Για τον εντοπισμό στα δείγματα, γενετικού υλικού του HPyV, χρησιμοποιήθηκαν οι γενικοί εκκινητές HPyV. 1 μl από το εκχυλισμένο DNA κάθε δείγματος υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 25 μl. Το μίγμα θερμαίνεται για 3min στους 95℃ και υπόκειται σε 60 κύκλους πολλαπλασιασμού υπό τις ακόλουθες συνθήκες: αποδιάταξη στους 94℃ 50sec, ανασύνδεση στους 64℃ για 40sec και επιμήκυνση στους

72℃ για 50sec, ακολουθεί τελική επιμήκυνση στους 72℃ για 10min. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιείται DNA που εκχυλίστηκε από HPyV BK και JC μολυσμένων κυτταρικών σειρών. Το προϊόν της αντίδρασης PCR αναλύθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και φωτογραφήθηκε, με έκθεση σε υπεριώδες φως, ώστε να πιστοποιηθεί η επιθυμητή ενίσχυση των 97 bp.

7.3.3. Οι συνθήκες αντιδράσεων της PCR και των εκκινητών

Μισό έως 2 μg του εκχυλίσματος DNA από κάθε δείγμα υφίσταται ενζυμική ενίσχυση σε τελικό όγκο 50 μl. Η αντίδραση περιλαμβάνει 5 μl ρυθμιστικού διαλύματος της πολυμεράσης, 150 μM από κάθε dNTP, 0.5 μM από κάθε εκκινητή, Mg^{2+} σε τελική συγκέντρωση 2-3 mM και 1.25 U πολυμεράσης. Το μίγμα αρχικά επωάζεται για 1min στους 95℃ και ακολουθούν 35 κύκλοι ενίσχυσης οι οποίοι περιλάμβαναν αποδιάταξη στους 95℃ για 30sec, υβριδισμό για 30sec στην κατάλληλη για κάθε ζεύγος εκκινητών θερμοκρασία, και επιμήκυνση στους 72℃ για 30sec. Για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων της PCR χρησιμοποιείται πήκτωμα αγαρόζης 2%.

7.4. Ηλεκτροφόρηση του DNA και των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αγαρόζης

Η τελική συγκέντρωση αγαρόζης στο πήκτωμα αποφασίζεται ανάλογα με τη ζητούμενη διακριτική ικανότητα του συγκεκριμένου πηκτώματος. Η επιθυμητή ποσότητα αγαρόζης διαλύεται σε διάλυμα 0.5xTBE και θερμαίνεται σε φούρνο μικροκυμάτων για 5min περίπου. Αφήνεται να κρυώσει έως τους 60℃, οπότε προστίθεται βρωμιούχο αιθίδιο (EtBr) σε τελική συγκέντρωση 0.5 μg/ml. Αφού στερεοποιηθεί το πήκτωμα αφαιρείται η «κτένα» που δημιουργεί τα «πηγαδάκια» για το φόρτωμα των προϊόντων της PCR ή του DNA και το πήκτωμα εμβαπτίζεται σε συσκευή ηλεκτροφόρησης που περιέχει 0.5xTBE. Τα δείγματα φορτώνονται στα πηγάδια αφού αναμιχθούν με 1/10 του όγκου διαλύματος φόρτωσης (loading buffer) και εφαρμόζεται ηλεκτρική τάση. Οι ζώνες του DNA γίνονται ορατές αν εκτεθεί το πήκτωμα σε υπεριώδη ακτινοβολία.

Πίνακας 7.2: Αλληλουχίες των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν για την ενίσχυση του DNA των ιών HPV, HHV και HPyV, θερμοκρασία υβριδισμού του κάθε ζεύγους και μέγεθος PCR του παραγόμενου προϊόντος.

Virus	Sequence (5′ – 3′)	Annealing Tm (°C)	PCR product (bp)
HPV	TTGTTACTGTGGTAGATAC CTTATACTAAATGTCAAATAAAAAG	43 × 10 40 × 30	150
HPV nested	TACAAATATGTCATTATGTGCTG ACTGTAAATCATATTCCTCCC		
HSV-1,2	CAGTACGGCCCCGAGTTCGTGA TTGTAGTGGGCGTGGTAGATG	64	478
CMV	GTCACCAAGGCCACGACGTT TCTGCCAGGACATCTTTCTC	57	167
EBV	*Outer primers* AGCACCCCCACATATCTCTTCTT CGAGTCATCTACGGGGACACGGA	65	197
	Inner primers GGAGAAGGTCTTCTCGGCCTC TTCAGAGAGCGAGACCCTGC	69	102
VZV	TTGTAGTGGGCGTGGTAGATG ATGTCCGTACAACATCAACT	60	267
HHV-6	*Outer primers* GACAATCACATGCCTGGATAATG TGTAAGCGTGTGGTAATGGACTAA	58	178
	Inner primers GTTAAATTGATAGTACTTACGTG ATCAAAATATAAAGAGCACAGCA	53	70
HHV-7	GGAAATAGGATCTTTTCAAATTC GTTACTTTCAAAAATGTTTGTCCC	59	122
HHV-8	*Outer primers* ACTACGACAACCCTCAAAATAG AGTAGAATATCATCCTGTGCG	45	319
	Inner primers TCGCATGGAGGACCTAGTCAATAA GGTTGTAGTCATTCTCGTCCAGGG	55	116
HPyV	AGTGGATGGGCAGCCTATGTA TCATATCTGGGTCCCCTGGA	60	97
β2-m	TCCAACATCAACATCTTGGT TCCCCCAAATTCTAAGCAGA	55	102

7.5. Οι συνθήκες αντιδράσεων της ποσοτικής PCR σε πραγματικό χρόνο (Real-Time Quantitative PCR)

Για την αντίδραση της RT-qPCR με απώτερο στόχο την ανίχνευση DNA των HPV, πολλαπλασιάστηκε 1μl DNA από τα δείγματα των όγκων της ουροδόχου κύστεως και των παρακείμενων φυσιολογικών ιστών, σε μία αντίδραση PCR που περιείχε 2x KAPA™ SYBR® FAST qPCR Kit Master Mix (Kapa Biosystems, Boston, MA, USA), 200nM από κάθε εκκινητή (HPV GP5+/GP6+) και 30μM ROX παθητική χρωστική αναφοράς σε τελικό όγκο 20μl. Μετά την αρχική αποδιάταξη (denaturation) στους 95℃ για 3 λεπτά, στα προϊόντα του πολλαπλασιασμού ακολούθησαν 40 κύκλοι νέας αποδιάταξης για 3 λεπτά στους 95℃, υβριδισμός (annealing) στους 45℃ για 20sec και πολυμερισμός (elongation) στους 72℃ για 10sec. Έπειτα από το τελικό στάδιο επέκτασης ακολούθησε ανάλυση καμπύλης αποδιάταξης (Melt Curve Analysis), κατά την οποία η θερμοκρασία υβριδισμού αυξανόταν από τους 60℃ στους 95℃ με γραμμικό ρυθμό 0.2℃/sec. Η συλλογή των δεδομένων έγινε τόσο κατά την υβριδοποίηση των εκκινητών όσο και κατά τη φάση της επέκτασης με δύο μετρήσεις σε κάθε βήμα και σε κάθε στιγμή της Melt-Curve Analysis. Όλα τα πειράματα της Real-Time qPCR έγιναν σε θερμικό κυκλοποιητή Mx3000P (Stratagene, La Jolla, CA), χρησιμοποιώντας το software version 4.01 (Stratagene, La Jolla, CA).

7.6. Στατιστική ανάλυση

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας ως πρότυπο τις στατιστικές μεθόδους που εφαρμόζονται στις διάφορες διεθνείς μελέτες ασθενών-μαρτύρων. Η συσχέτιση καθενός από τα χαρακτηριστικά των λοιμώξεων από τις τρεις ομάδες ιών που μελετήθηκαν αξιολογήθηκε με τη χρήση της κατά *Pearson* x^2 ανάλυσης ή με την κατά Fisher ακριβή δοκιμασία (*Fisher's exact test*) όπου αυτή είχε ένδειξη (αναμενόμενες συχνότητες <5). Οι διάφορες αριθμητικές τιμές εκφράστηκαν ως μέση τιμή ±SEM, ενώ οι διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών συγκρίθηκαν με το μη συζευγμένο Student test (t-test two-tailed). Οι *τιμές πιθανότητας* (P-value) θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές όταν αυτές ήταν <0.05. Οι διάφορες στατιστικές αναλύσεις έγιναν με τη χρήση του λογισμικού SPSS, έκδοση 11,5 (SPSS, Chicago, IL, USA).

7.7. Διαλύματα

7.7.1. Διαλύματα απομόνωσης DNA

Ισοπροπανόλη 100% (Merk)

EtOH 79% και 100% (Merk)

d H_2O κατεργασμένο με DEPC (Invitrogen)

Reagent B: Tris-base (400mM), NaCl (150mM), EDTA (60 mM), SDS (1w/v). Ρύθμιση του pH=8.0 χρησιμοποιώντας HCl 37%. Το SDS προστίθεται μετά την αποστείρωση του διαλύματος.

7.7.2. Ηλεκτροφορητικά διαλύματα

Διάλυμα ηλεκτροφόρησης DNA σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου (0.5X TBE): 0.09 Tris HCl, 0.09M βορικό οξύ, 0.25% κυανούν της βρωμοφαινόλης, 0.25% κυανούν του ξυλενίου και 40% γλυκερόλη.

7.8. Ένζυμα

GoTaq Flexi DNA πολυμεράση (Promega)

Stratascript αντίστροφη μεταγραφάση (Statagene)

RNAase Block inhibitor (Statagene)

Πρωτεϊνάση K (Promega)

7.9. Υλικά και εταιρείες προέλευσης

Αγαρόζη: Invitrogen

Αιθανόλη: Merk

Ανθρακικό νάτριο: Sigma

Βορικό οξύ: BDH

Βρωμοφαινόλη: Sigma

Βρωμιούχο αιθίδιο: BDH

Γλυκερόλη: Invitrogen

Διθειοθρεϊτόλη: Sigma

dNTPS: Promega

EDTA: BDH

Ισοπροπανόλη: BDH

Μεθανόλη: Fluka

SDS: BDH

TEMED: Sigma

Tris-base: BDH

Υδροξείδιο του νατρίου: Sigma

Υδροχλωρικό οξύ: BDH

Φαινόλη: BDH

Φορμαλδεύδη: BDH

Χλωριούχο νάτριο: Sigma

Χλωροφόρμιο: Fluka

8ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Αποτελέσματα

8.1. HPV και ασθενείς που μελετήθηκαν

Τα ζεύγη δειγμάτων ουροθηλιακού καρκίνου και του παρακείμενου φυσιολογικού ουροθηλιακού ιστού από 30 ασθενείς με πρωτοεμφανιζόμενους όγκους ουροδόχου κύστεως, που υπεβλήθησαν σε διουρηθρική αφαίρεση στο ουρολογικό τμήμα του Γεν. Νοσ. «Ασκληπιείο» Βούλας, ελέγχθηκαν για την παρουσία του γενετικού υλικού των ιών HPV, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές GP5+/GP6+. Τα αθροιστικά αποτελέσματα της ανίχνευσης του γενετικού υλικού των ιών του θηλώματος του ανθρώπου που μελετήθηκαν, παρουσιάζονται στο Πίνακα 8.1.

8.1.1. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HPV με τη χρήση της PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του HPV με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές GP5+/GP6+, κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του HPV. Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, με τους ίδιους ειδικούς εκκινητές GP5+/GP6+. Και σε αυτήν την περίπτωση κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για παρουσία γενετικού υλικού DNA του HPV.

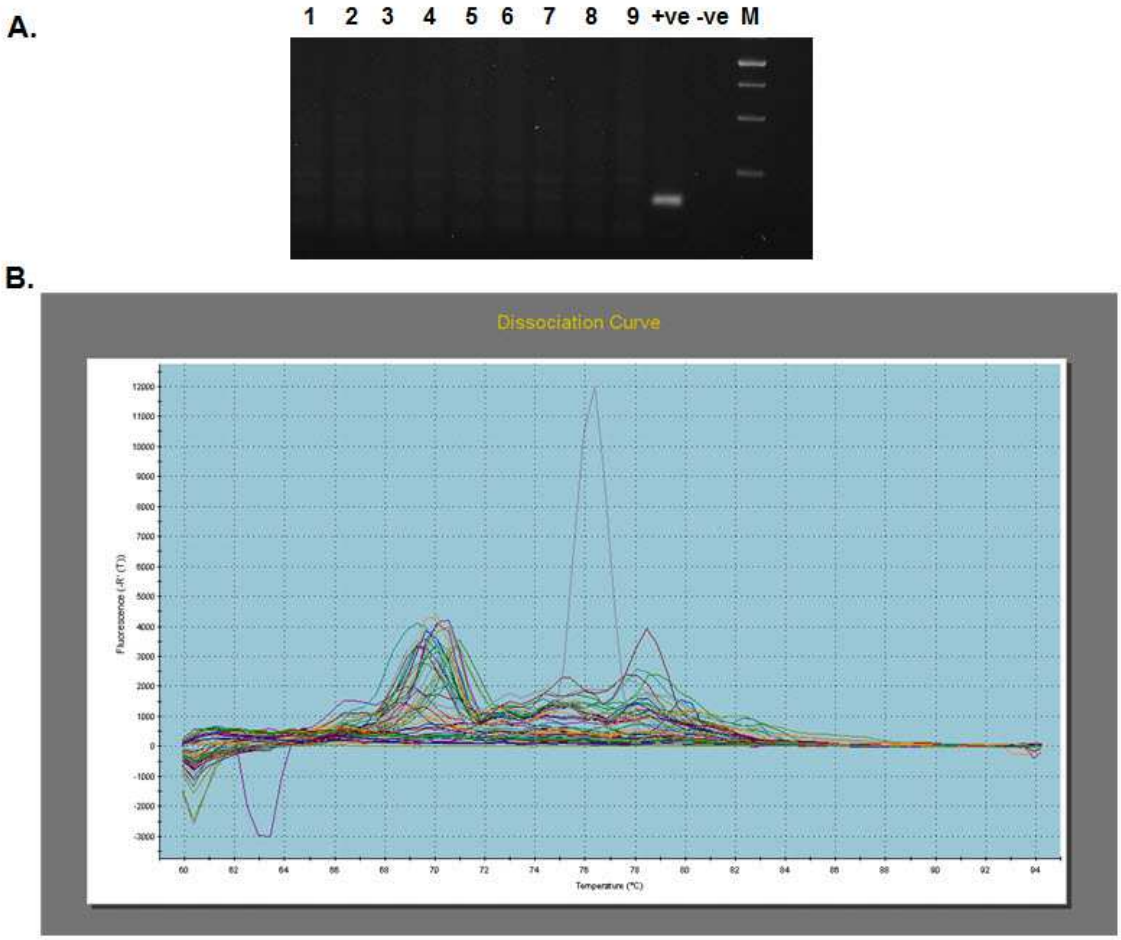
Πίνακας 8.1: Συγκεντρωτικά αποτελέσματα των αποτελεσμάτων, χρησιμοποιώντας τρεις διαφορετικές μεθόδους για την προσπάθεια ανίχνευσης DNA του ιού HPV σε ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν δείγματα καρκινικών ιστών (A δείγματα) καθώς και δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού (B δείγματα) από τους ίδιους ασθενείς.

Συγκεντρωτικά αποτελέσματα για την ανίχνευση του HPV					
HPV: PCR		**HPV: nested PCR**		**HPV: RT qPCR**	
1A —	1B —	1A —	1B —	1A —	1B —
2A —	2B —	2A —	2B —	2A —	2B —
3A —	3B —	3A —	3B —	3A —	3B —
4A —	4B —	4A —	4B —	4A —	4B —
5A —	5B —	5A —	5B —	5A —	5B —
6A —	6B —	6A —	6B —	6A —	6B —
7A —	7B —	7A —	7B —	7A —	7B —
8A —	8B —	8A —	8B —	8A —	8B —
9A —	9B —	9A —	9B —	9A —	9B —
10A —	10B —	10A —	10B —	10A —	10B —
11A —	11B —	11A —	11B —	11A —	11B —
12A —	12B —	12A —	12B —	12A —	12B —
13A —	13B —	13A —	13B —	13A —	13B —
14A —	14B —	14A —	14B —	14A —	14B —
15A —	15B —	15A —	15B —	15A —	15B —
16A —	16B —	16A —	16B —	16A —	16B —
17A —	17B —	17A —	17B —	17A —	17B —
18A —	18B —	18A —	18B —	18A —	18B —
19A —	19B —	19A —	19B —	19A —	19B —
20A —	20B —	20A —	20B —	20A —	20B —
21A —	21B —	21A —	21B —	21A —	21B —
22A —	22B —	22A —	22B —	22A —	22B —
23A —	23B —	23A —	23B —	23A —	23B —
24A —	24B —	24A —	24B —	24A —	24B —
25A —	25B —	25A —	25B —	25A —	25B —
26A —	26B —	26A —	26B —	26A —	26B —
27A —	27B —	27A —	27B —	27A —	27B —
28A —	28B —	28A —	28B —	28A —	28B —
29A —	29B —	29A —	29B —	29A —	29B —
30A —	30B —	30A —	30B —	30A —	30B —

8.1.2. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HPV με τη χρήση της nested-PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του HPV με τη μέθοδο της nested PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές που σχεδιάσαμε στο Εργαστήριο Κλινικής Ιολογίας, της

Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης (Πίνακας 7.2, σελ. 183), κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για παρουσία γενετικού υλικού DNA του HPV. Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο, με τους ίδιους ειδικά σχεδιασμένους εκκινητές. Και σε αυτήν την περίπτωση κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του HPV.



Εικόνα 8.1: A. Προσπάθεια ανίχνευσης DNA του ιού του θηλώματος του ανθρώπου σε δείγματα καρκινικού ιστού ουροδόχου κύστης (1-5) καθώς και σε δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού ουροδόχου κύστης (6-9), με τη χρήση της PCR. **B.** Καμπύλη τήξης (melt-curve) για την παρουσία DNA του ιού του θηλώματος του ανθρώπου με τη χρήση Real-Time Quantitative PCR.

8.1.3. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HPV με τη χρήση της Real-Time Quantitative PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του HPV με τη μέθοδο της Real-Time Quantitative PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές GP5+/GP6+, κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του HPV. Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της Real-Time Quantitative PCR, με τους ίδιους ειδικούς εκκινητές GP5+/GP6+. Και σε αυτήν την περίπτωση κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του HPV. Η Melt-Curve Analysis επιβεβαίωσε τα ευρήματά μας (Εικόνα 8.1).

8.2. Ερπητοϊοί (HHV) και ασθενείς που μελετήθηκαν

Τα ζεύγη δειγμάτων ουροθηλιακού καρκίνου και του παρακείμενου φυσιολογικού ουροθηλιακού ιστού από 30 ασθενείς με πρωτοεμφανιζόμενους όγκους ουροδόχου κύστεως, που υπεβλήθησαν σε διουρηθρική αφαίρεση στο ουρολογικό τμήμα του Γεν. Νοσ. «Ασκληπιείο» Βούλας, ελέγχθηκαν για την παρουσία του γενετικού υλικού των ιών HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, EBV, HHV-6, HHV-7 και KSHV χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές που παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 7.2.

8.2.1. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HSV-1 με τη χρήση της PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του HSV-1 με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του HSV-1 (Εικόνα 8.2). Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, με τους ίδιους ειδικούς εκκινητές που προαναφέρθηκαν. Και σε αυτήν την περίπτωση κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του HSV-1. Τα αθροιστικά αποτελέσματα της

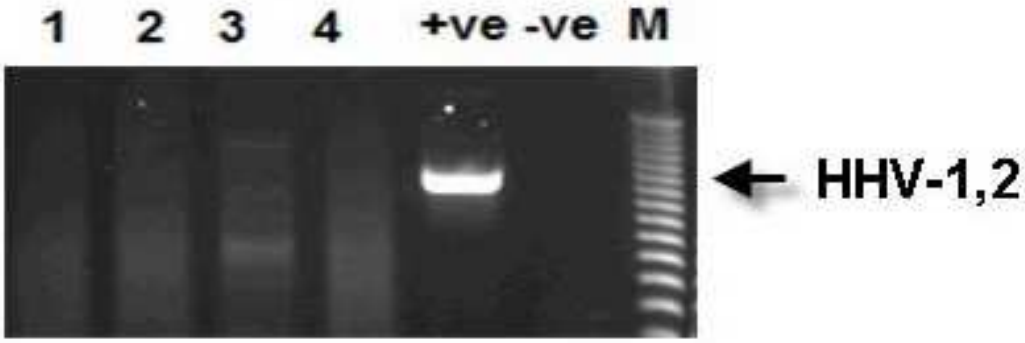
ανίχνευσης του γενετικού υλικού των ιών HPV, HHV και HPyV του ανθρώπου που μελετήθηκαν, παρουσιάζονται στο Πίνακα 8.2.

Πίνακας 8.2: Παρουσιάζονται αναλυτικά τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα από τη μελέτη με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση (PCR), των ιών HPV, HHV και HPyV. Αναλυτικά παρουσιάζονται τα ποσοστά των δειγμάτων που ήταν θετικά για την παρουσία ιϊκού DNA και προέρχονταν από καρκινικό ιστό, τα ποσοστά των δειγμάτων που ήταν θετικά για την παρουσία ιϊκού DNA και προέρχονταν από παραπλήσιο φυσιολογικό ιστό από τους ίδιους ασθενείς, τα ζεύγη θετικών δειγμάτων (paired samples) που προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή καθώς και η συνολική παρουσία του DNA του κάθε συγκεκριμένου ιού που εξετάστηκε, επί του συνόλου των δειγμάτων.

Virus	Tumour samples (%)	Normal samples (%)	Paired samples (%)	Total virus presence (%)
HPV	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
HSV-1	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
HSV-2	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
VZV	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
CMV	**22/30 (73.3)**	**23/30 (76.7)**	**17/30 (56.7)**	**45/60 (75)**
EBV	**15/30 (50.0)**	**4/30 (13.3)**	**1/30 (3.3)**	**19/60 (31.7)**
HHV-6	**11/30 (36.7)**	**11/30 (36.7)**	**3/30 (10.0)**	**22/60 (36.7)**
HHV-7	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
KSHV	**1/30 (3.3)**	**2/30 (6.7)**	**0/30 (0.0)**	**3/60 (5.0)**
HPyV	**4/30 (13.3)**	**0/30 (0.0)**	**0/30 (0.0)**	**4/60 (6.7)**

8.2.2. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HSV-2 με τη χρήση της PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του HSV-2 με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του HSV-2. Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, με τους ίδιους ειδικούς εκκινητές που προαναφέρθηκαν. Και σε αυτήν την περίπτωση κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του HSV-2 (Εικόνα 8.2).



Εικόνα 8.2: Αδυναμία ανίχνευσης DNA των ιών HHV-1,2 μετά από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε γέλη αγαρόζης 3%. Τα πηγαδάκια 1 και 3 περιέχουν υλικό από καρκινικό ιστό, ενώ τα πηγαδάκια 2 και 4 περιέχουν υλικό από παρακείμενο υγιή ιστό.

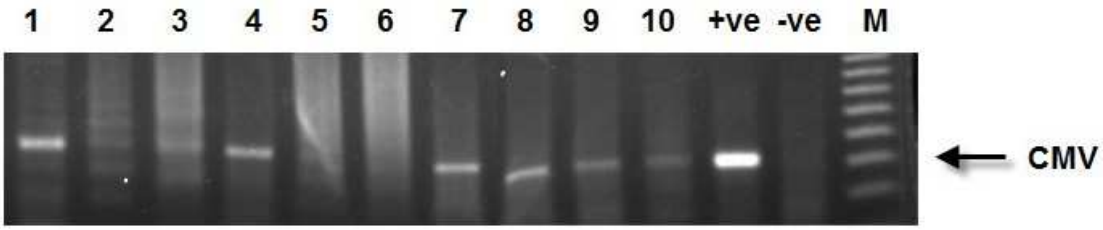
8.2.3. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του VZV με τη χρήση της PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του VZV με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του VZV. Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, με τους ίδιους ειδικούς εκκινητές που προαναφέρθηκαν. Και σε αυτήν την περίπτωση κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για την παρουσία γενετικού υλικού DNA του VZV (Εικόνα 8.3).

Εικόνα 8.3: Αδυναμία ανίχνευσης DNA του ιού VZV μετά από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε γέλη αγαρόζης 3%. Τα πηγαδάκια 1 και 3 περιέχουν υλικό από καρκινικό ιστό, ενώ τα πηγαδάκια 2 και 4 περιέχουν υλικό από παρακείμενο υγιή ιστό.

8.2.4. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του CMV με τη χρήση της PCR

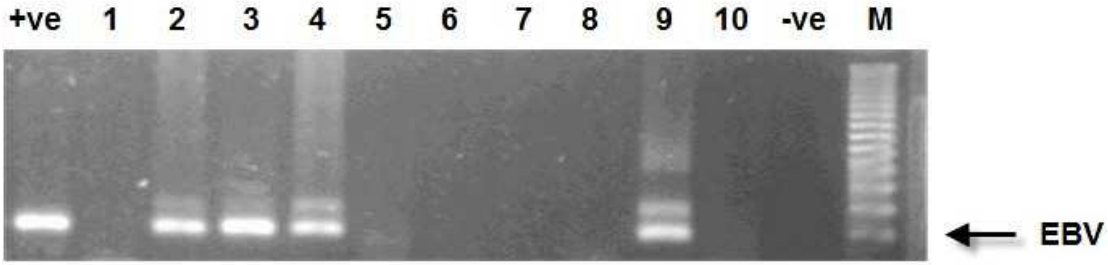
Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του CMV με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), βρέθηκαν 22 δείγματα προερχόμενα από καρκινικούς ιστούς θετικά για την παρουσία DNA του CMV (22/30 ή 73.3%) (Εικόνα 8.4). Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, όπου βρέθηκαν 23 δείγματα θετικά για την παρουσία DNA του CMV (23/30 ή 76.7%). Σε 17 περιπτώσεις ασθενών, τόσο τα δείγματα καρκινικού ιστού όσο και τα αντίστοιχα φυσιολογικά που προέρχονταν από αυτούς τους ίδιους ήταν θετικά (paired samples 17/30 ή 56.7%). Τέλος η ανίχνευση του DNA του ιού CMV επί του συνόλου των δειγμάτων των ασθενών ήταν 45/60 ή 75%.



Εικόνα 8.4: Ανίχνευση DNA του ιού CMV (167kb) μετά από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε γέλη αγαρόζης 3%. Τα πηγαδάκια 1, 3, 5, 7 και 9 περιέχουν υλικό από καρκινικό ιστό, ενώ τα πηγαδάκια 2, 4, 6, 8 και 10 περιέχουν υλικό από παρακείμενο υγιή ιστό.

8.2.5. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του EBV με τη χρήση της PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του EBV με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), βρέθηκαν 15 δείγματα προερχόμενα από καρκινικούς ιστούς θετικά για την παρουσία DNA του EBV (15/30 ή 50%). Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, όπου βρέθηκαν 4 δείγματα θετικά για την παρουσία DNA του EBV (4/30 ή 13.3%) (Εικόνα 8.5). Σε μία περίπτωση ασθενών, τόσο το δείγμα καρκινικού ιστού όσο και το αντίστοιχο φυσιολογικό που προερχόταν από τον ίδιο ασθενή ήταν θετικό (paired samples 1/30 ή 3.3%). Τέλος η ανίχνευση του DNA του ιού EBV επί του συνόλου των δειγμάτων των ασθενών ήταν 19/60 ή 31.7%.

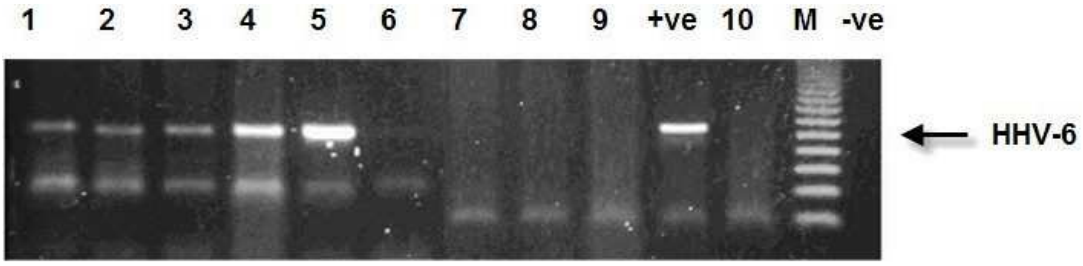


Εικόνα 8.5: Ανίχνευση DNA του ιού EBV (197 και 102 kb) μετά από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε γέλη αγαρόζης 3%. Τα πηγαδάκια 1, 3, 5, 7 και 9 περιέχουν υλικό από καρκινικό ιστό, ενώ τα πηγαδάκια 2, 4, 6, 8 και 10 περιέχουν υλικό από παρακείμενο υγιή ιστό.

8.2.6. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HHV-6 με τη χρήση της PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του HHV-6 με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), βρέθηκαν 11 δείγματα προερχόμενα από καρκινικούς ιστούς θετικά για την παρουσία DNA του HHV-6 (11/30 ή 36.7%). Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, όπου βρέθηκαν επίσης 11 δείγματα θετικά για την παρουσία DNA του HHV-6 (11/30 ή 36.7%). Σε τρεις περιπτώσεις ασθενών, τόσο τα δείγματα καρκινικού ιστού όσο και τα

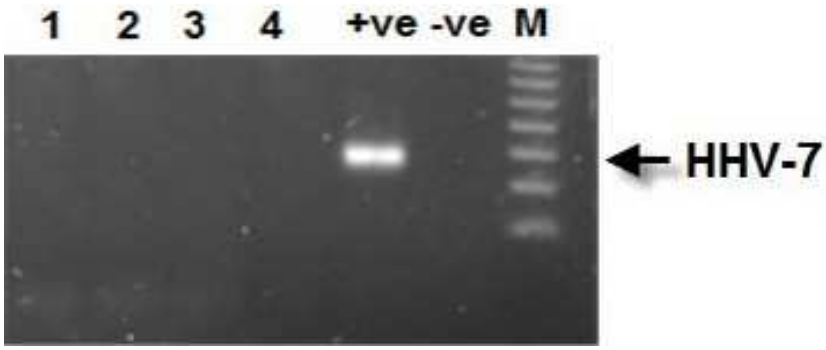
αντίστοιχα φυσιολογικά που προέρχονταν από αυτούς τους ίδιους ήταν θετικά (paired samples 3/30 ή 10%). Τέλος η ανίχνευση του DNA του ιού HHV-6 επί του συνόλου των δειγμάτων των ασθενών ήταν 22/60 ή 36.7% (Εικόνα 8.6).



Εικόνα 8.6: Ανίχνευση DNA του ιού HHV-6 (178 και 70 kb) μετά από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε γέλη αγαρόζης 3%. Τα πηγαδάκια 1, 3, 5, 7 και 9 περιέχουν υλικό από καρκινικό ιστό, ενώ τα πηγαδάκια 2, 4, 6, 8 και 10 περιέχουν υλικό από παρακείμενο υγιή ιστό.

8.2.7. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HHV-7 με τη χρήση της PCR

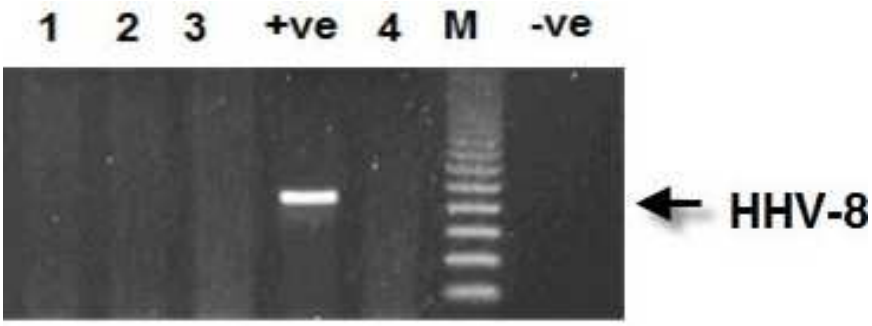
Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του HHV-7 με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για παρουσία γενετικού υλικού DNA του HHV-7 (Εικόνα 8.7). Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, με τους ίδιους ειδικούς εκκινητές που προαναφέρθηκαν. Και σε αυτήν την περίπτωση κανένα δείγμα δεν ανευρέθηκε θετικό για παρουσία γενετικού υλικού DNA του HHV-7.



Εικόνα 8.7: Αδυναμία ανίχνευσης DNA του ιού HHV-7 μετά από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε γέλη αγαρόζης 3%. Τα πηγαδάκια 1 και 3 περιέχουν υλικό από καρκινικό ιστό, ενώ τα πηγαδάκια 2 και 4 περιέχουν υλικό από παρακείμενο υγιή ιστό.

8.2.8. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του KSHV με τη χρήση της PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση του KSHV (ή HHV-8) με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), βρέθηκε ένα δείγμα που προερχόταν από καρκινικό ιστό θετικό για την παρουσία DNA του KSHV (1/30 ή 3.3%). Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, όπου βρέθηκαν δύο δείγματα θετικά για την παρουσία DNA του KSHV (2/30 ή 6.7%) (Εικόνα 8.8). Σε καμία περίπτωση ασθενών, τόσο τα δείγματα καρκινικού ιστού όσο και τα αντίστοιχα φυσιολογικά που προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή δεν ήταν θετικά (paired samples 0/30 ή 0%). Τέλος η ανίχνευση του DNA του ιού KSHV επί του συνόλου των δειγμάτων των ασθενών ήταν 3/60 ή 5%.



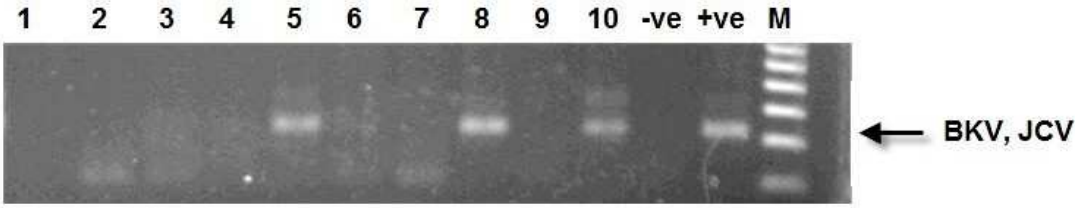
Εικόνα 8.8: Αδυναμία ανίχνευσης DNA του ιού KSHV μετά από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε γέλη αγαρόζης 3%. Τα πηγαδάκια 1 και 3 περιέχουν υλικό από καρκινικό ιστό, ενώ τα πηγαδάκια 2 και 4 περιέχουν υλικό από παρακείμενο υγιή ιστό.

8.3. Ιοί Polyoma του ανθρώπου (HPyV) και ασθενείς που μελετήθηκαν

Τα ζεύγη δειγμάτων ουροθηλιακού καρκίνου και του παρακείμενου φυσιολογικού ουροθηλιακού ιστού από 30 ασθενείς με πρωτοεμφανιζόμενους όγκους ουροδόχου κύστεως, που υπεβλήθησαν σε διουρηθρική αφαίρεση στο ουρολογικό τμήμα του Γεν. Νοσ. «Ασκληπιείο» Βούλας, ελέγχθηκαν για την παρουσία του γενετικού υλικού των Polyoma ιών του ανθρώπου BK και JC, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές που παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 7.2.

8.3.1. Ανίχνευση του γενετικού υλικού του HPyV με τη χρήση της PCR

Από τα 30 δείγματα καρκινικού ιστού που μελετήθηκαν για την ανίχνευση των Polyoma ιών του ανθρώπου BK και JC (HPyV) με τη μέθοδο της απλής PCR, χρησιμοποιώντας τους ειδικούς εκκινητές (Πίνακας 7.2, σελ.183), βρέθηκαν τέσσερα δείγματα που προέρχονταν από καρκινικό ιστό θετικό για την παρουσία DNA του HPyV (4/30 ή 13.3%). Ομοίως μελετήθηκαν και τα 30 δείγματα παραπλήσιου φυσιολογικού ιστού, που ελήφθησαν από τους ίδιους ασθενείς, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής PCR, όπου δεν ανευρέθηκαν θετικά δείγματα για την παρουσία DNA του HPyV (0/30 ή 0%) (Εικόνα 8.9). Σε καμία περίπτωση ασθενών, τόσο τα δείγματα καρκινικού ιστού όσο και τα αντίστοιχα φυσιολογικά που προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή δεν ήταν θετικά (paired samples 0/30 ή 0%). Τέλος η ανίχνευση του DNA του ιού HPyV επί του συνόλου των δειγμάτων των ασθενών ήταν 4/60 ή 6.7%.



Εικόνα 8.9: Ανίχνευση DNA του ιού HPyV (97 kb) μετά από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε γέλη αγαρόζης 3%. Τα πηγαδάκια 1, 3, 5, 7 και 9 περιέχουν υλικό από καρκινικό ιστό, ενώ τα πηγαδάκια 2, 4, 6, 8 και 10 περιέχουν υλικό από παρακείμενο υγιή ιστό.

9^{ο} ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Συμπεράσματα - Συζήτηση

9.1. Γενικές θεωρήσεις

Όπως αναφέρθηκε εκτενώς στο 2^{ο} Κεφάλαιο της παρούσας διατριβής, ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης είναι η δεύτερη σε συχνότητα νεοπλασία του ουροποιητικού συστήματος στον άνθρωπο, μετά από τον καρκίνο του προστάτη. Στο ανδρικό φύλο αποτελεί τον 4^{ο} κατά σειρά καρκίνο, μετά από τον καρκίνο του προστάτη, του πνεύμονα και του παχέος εντέρου, ενώ στο γυναικείο φύλο, αποτελεί τον 8^{ο} σε συχνότητα καρκίνο[11]. Η αναλογία δε εμφάνισής του μεταξύ ανδρών και γυναικών πασχόντων είναι 3:1. Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως ευθύνεται για το 2,6% των θανάτων από καρκίνο στον ανδρικό πληθυσμό και το 1,4% στο γυναικείο πληθυσμό[13]. Η θνητότητα των γυναικών θεωρείται δυσανάλογα μεγάλη, ιδίως αν τη συγκρίνουμε με τις υπόλοιπες παραμέτρους της νόσου.

Αναφορά έγινε επίσης και στα αίτια που οδηγούν στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως. Περιγράψαμε λοιπόν, ότι η επαγγελματική έκθεση σε χημικά καρκινογόνα υπολογίζεται ότι ευθύνεται για το 20% περίπου των περιπτώσεων καρκίνου ουροδόχου κύστεως[15]. Αυξημένο κίνδυνο να παρουσιάσουν καρκίνο της ουροδόχου κύστεως έχουν οι εργάτες στην πετρελαϊκή βιομηχανία, στην επεξεργασία δέρματος, ελαστικών, χημικών και βαφών, ενώ υπάρχουν και μελέτες όπου αναφέρονται σε υψηλά ποσοστά εμφάνισης της νόσου σε οδηγούς αυτοκινήτων, υδραυλικούς ή ακόμη και σε τηλεφωνητές. Η συσχέτιση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως με τις χρωστικές ανιλίνης είναι γνωστή ήδη από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα.

Η ισχυρή σχέση του καπνίσματος με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως έχει επιβεβαιωθεί πλήρως[17]. Το κάπνισμα υπολογίζεται ότι ευθύνεται για το 25-60% των περιπτώσεων καρκίνων της ουροδόχου κύστεως. Η κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων αναλγητικών και κυρίως της φαινακετίνης, η οποία έχει παρόμοια χημική δομή με την ανιλίνη, έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκινώματος μεταβατικού επιθηλίου τόσο στην ουροδόχο κύστη, όσο και στη νεφρική πύελο[15,21].

Ιδιαίτερη μνεία έγινε και για το συσχετισμό της χρόνιας φλεγμονής του οργάνου με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως. Είναι γενικώς αποδεκτό πως η χρόνια φλεγμονή της ουροδόχου κύστης, μικροβιακής ή μη αιτιολογίας, μπορεί να προκαλέσει καρκίνο. Ειδικότερα οι ασθενείς που φέρουν μόνιμο καθετήρα έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου ουροδόχου κύστεως. Η σχιστοσωμίαση (βιλαρζίαση), η οποία οφείλεται στο παράσιτο Schistosoma haematobium[24] και ενδημεί στις βόρειες ακτές της Αφρικής, θεωρείται αιτιολογικός παράγοντας του καρκινώματος εκ πλακώδους επιθηλίου (SCC) της κύστης. Το παράσιτο εναποθέτοντας τα ωάριά του σε υποεπιθηλιακές θέσεις δημιουργείται τοπικο-περιοχική φλεγμονώδης αντίδραση που οδηγεί σε μετατροπή του φυσιολογικού μεταβατικού επιθηλίου σε πλακώδες. Ένας επιπλέον αιτιολογικός παράγοντας που ευθύνεται για την ανάπτυξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως, κυρίως σε γυναίκες, είναι οι υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις[26]. Κατά καιρούς έχουν θεωρηθεί ως αιτιολογικοί παράγοντες της καρκινογένεσης του ουροθηλίου, διάφοροι ιοί (όπως HPV, ρετροϊοί, Polyoma ιοί, ιοί της ομάδας του απλού έρπητα, αδενοϊοί κα). Ο συσχετισμός λοιπόν τριών μεγάλων ομάδων ιών, όπως είναι ο ιός του θηλώματος του ανθρώπου, οι ερπητοϊοί και τέλος οι ιοί Polyoma του ανθρώπου, με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως, αποτέλεσε το πεδίο έρευνας για τη συγκεκριμένη επιστημονική μελέτη.

9.2. Συσχέτιση του HPV με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως

Με την παρούσα μελέτη δεν καταφέραμε να ανιχνεύσουμε την παρουσία DNA του ιού του θηλώματος του ανθρώπου (HPV), παρά το γεγονός ότι χρησιμοποιήσαμε τρεις διαφορετικές μεθόδους ανίχνευσης γενετικού υλικού του ιού, με προοδευτικά αυξανόμενη ευαισθησία. Όπως

αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο αναλυτικά, για την απλή PCR έγινε χρήση των ειδικών εκκινητών GP5+/GP6+. Επειδή τα αποτελέσματα των προϊόντων της PCR ήταν αρνητικά, προχωρήσαμε στο σχεδιασμό νέων εκκινητών για τη nested PCR που πραγματοποιήσαμε. Και σε αυτήν την περίπτωση όμως, τα αποτελέσματά μας ήταν αρνητικά. Τέλος χρησιμοποιήσαμε, για πρώτη φορά σε παγκόσμιο επίπεδο για την ανίχνευση του DNA του HPV, την άκρως ευαίσθητη τεχνική της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης με πολυμεράση σε πραγματικό χρόνο (Real-Time Quantitative PCR), με τη χρήση των ειδικών εκκινητών GP5+/GP6+. Και σε αυτήν την περίπτωση τα αποτελέσματα που πήραμε ήταν αρνητικά.

Προηγούμενες μελέτες των φυσιολογικών και νεοπλασματικών ιστών της ουροδόχου κύστης για την παρουσία του DNA του HPV, χρησιμοποιώντας ενσωματωμένα σε παραφίνη δείγματα και με την ενίσχυση του γονιδιώματος *in vitro* με την απλή PCR, έδειξαν ότι η ουροδόχος κύστη και στα δύο φύλα είναι άλλο ένα όργανο-στόχος, όπου η λοίμωξη μέσω της κοινής γενετικής οδού που χρησιμοποιεί ο HPV, μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο για κακοήθη εξαλλαγή[467]. Σε μια παρόμοια μελέτη[468] από την ανάλυση ασθενών με TCC, χρησιμοποιώντας τη Multiplex-PCR και Kit με ειδικούς εκκινητές για τους υποτύπους 6, 11, 16, 18 και 31 του HPV, ιϊκό DNA για τον HPV ανιχνεύθηκε σε όλους τους ασθενείς με όγκους. Παρά αυτά τα τόσο θεαματικά ευρήματα, μια προηγούμενη μελέτη χρησιμοποιώντας τεχνικές PCR έδειξε ότι η μόλυνση με τον ιό του θηλώματος του ανθρώπου (HPV), είναι σπάνια στις περιπτώσεις TCC της ουροδόχου κύστεως[469], ενώ μια άλλη μελέτη με τη χρήση του *in situ* υβριδισμού, έδειξε ότι οι υπότυποι HPV υψηλού κινδύνου, είναι πιθανόν να λειτουργούν ως αιτιολογικός παράγοντας για τα χαμηλού βαθμού κακοήθειας καρκινώματα της ουροδόχου κύστης, που αναπτύσσονται σε νεότερους ασθενείς[470].

Επιπλέον, σε μια σειρά από Τυνήσιους ασθενείς, όπου με τη μέθοδο της PCR για την ανίχνευση γενετικού υλικού του HPV, αποδείχτηκε η σύνδεση μεταξύ του ιού και του καρκίνου της ουροδόχου κύστης, σε ασθενείς με καρκίνο της ορθοπρωκτικής χώρας αλλά όχι σε ασθενείς με καρκίνο της ουροδόχου κύστης[335]. Τα αποτελέσματα αυτά, είναι σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής. Ενδιαφέρον επίσης αποτελεί το γεγονός ότι, μία μελέτη στον Αιγυπτιακό πλυθησμό[471] έδειξε μία σημαντική

συσχέτιση των HPV-16, -18, και -52 με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης, γεγονός που υποδηλώνει την υπόθεση της συνεργικής δράσης του ιού στην καρκινογένεση της ουροδόχου κύστης. Μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης με HPV και την ανάπτυξη του TCC της κύστης επομένως, δεν είναι παράλογη.

Όταν ο HPV έχει μολύνει τον οργανισμό-ξενιστή, η μόλυνση που προκαλεί στην ουροδόχο κύστη, εμφανίζεται με χαρακτηριστικές βλάβες, όπως είναι τα θηλώματα. Μπορεί να υπάρχει ενός είδους γεωγραφικής διακύμανσης στη συχνότητα εμφάνισης της HPV λοίμωξης του ουροποιητικού συστήματος, αν και οι ενδείξεις για αυτό προς το παρόν, δεν είναι καλά τεκμηριωμένες. Σε υποθετική πάντα βάση, ένας παράγοντας που πιθανά θα μπορούσε να έχει προστατευτικό ρόλο έναντι στην εμφάνιση και εξέλιξη της HPV λοίμωξης, είναι η μεσογειακή διατροφή η οποία είναι πλούσια σε αντι-οξειδωτικά θρεπτικά συστατικά (μια διατροφή που ακολουθείται από τον ελληνικό πλυθησμό), σε αντίθεση με την αιγυπτιακή διατροφή που απορρέει από το πολιτιστικό υπόβαθρο της Μέσης Ανατολής. Αυτό πρέπει να αποδειχθεί και στο μέλλον με άλλες κλινικές μελέτες.

9.3. Συσχέτιση των HHV και HPyV με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως

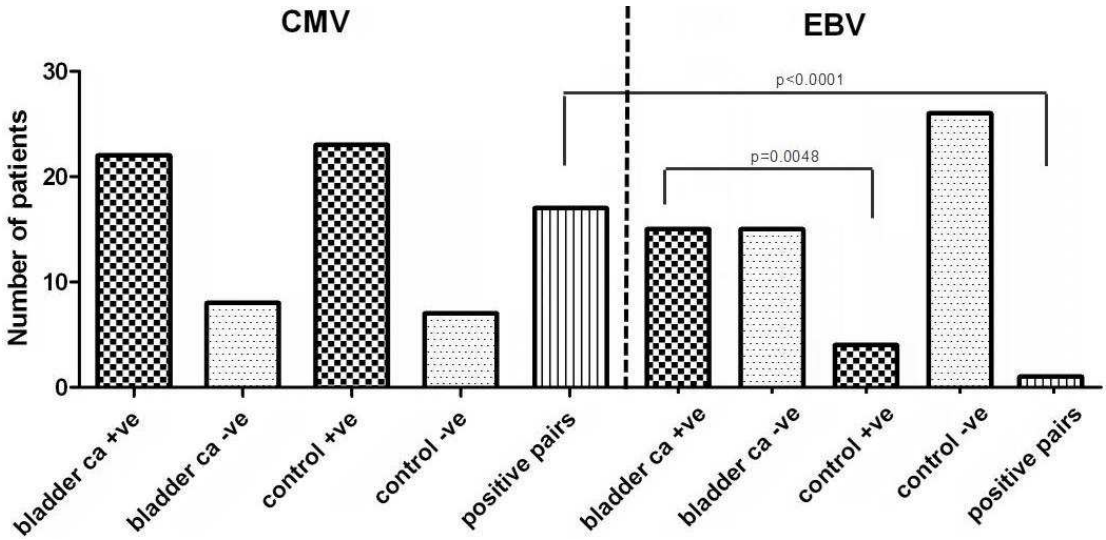
Η μελέτη μας σχεδιάστηκε επίσης για να διερευνήσει τον πιθανό ρόλο του DNA ιών HHV και HPyV με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι σχεδόν το 50% των δειγμάτων μολύνθηκαν από περισσότερους από έναν ιό. Ο EBV είναι ένας DNA ιός του ανθρώπου, που ήδη συνδέεται με μια σειρά ανθρώπινων όγκων, ενώ ο CMV και ο HSV-2 έχουν αποδειχθεί να εμφανίζουν μια ογκογόνο δυναμική *in vitro* και έχουν προταθεί ως συμπαράγοντες για την ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας[472]. Δεν υπάρχουν αναφορές σχετικά με την επικράτηση του γονιδιώματος των HHV και HPyV σε νεοπλάσματα της ουροδόχου κύστης.

Στην παρούσα μελέτη το DNA του CMV ανιχνεύθηκε στην πλειονότητα των δειγμάτων που προέρχονταν από όγκους, καθώς και σε αυτά που προέρχονταν από παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς, χωρίς καμία θετική συσχέτιση της μόλυνσης και της καρκινογένεσης, όπως ήταν η περίπτωση της

παρουσίας DNA του HHV-6. Είναι πολύ πιθανό ότι η μόλυνση που προκαλεί ο CMV και ο HHV-6 δεν παίζουν ένα κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη και την εξέλιξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Αξιοσημείωτο είναι δε να αναφερθεί, ότι η CMV μόλυνση που εμφανίζεται τόσο σε καρκινικά δείγματα όσο και σε αυτά που προέρχονται από τους παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς, παρουσίασε υψηλότερο ποσοστό επικράτησης, συγκριτικά με τα θετικά ζεύγη δειγμάτων με HHV-6 μόλυνση, υποδηλώνοντας ένα τροπισμό του CMV για το ουροθήλιο του ανθρώπου που δεν έχει ακόμη αναφερθεί.

Εν τω μεταξύ η παρουσία DNA του EBV, ήταν άφθονη σε δείγματα όγκων συγκριτικά με το φυσιολογικό ιστό, αποτελώντας στατιστικά σημαντικό εύρημα (p=0.0048) (Εικόνα 9.1). Αυτό το εύρημα θα μπορούσε να προωθήσει την υπόθεση ότι ο EBV, ήδη γνωστός αιτιοπαθογενετικός παράγοντας στον ανθρώπινο καρκίνο, μπορεί να ενέχεται στα αρχικά καρκινικά ερεθίσματα ή στην εξέλιξη της ογκογένεσης στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως.

Ένα μικρό αλλά αξιοσημείωτο ποσοστό των δειγμάτων που εξετάστηκαν (10%), περιείχε CMV και HHV-6 (6,7%), CMV και EBV (3,3%) αλληλουχίες, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα της συνέργιας μεταξύ αυτών των ιών στην καρκινογένεση της ουροδόχου κύστης. Τέτοια συνέργεια έχει ήδη προταθεί σε άλλους όγκους του ανθρώπου, όπως είναι οι επιθηλιακές νεοπλασίες της πρωκτο-γεννητικής οδού.



Εικόνα 9.1: Η παρουσία DNA του EBV, ήταν άφθονη σε δείγματα όγκων συγκριτικά με το φυσιολογικό ιστό, αποτελώντας στατιστικά σημαντικό εύρημα (p=0.0048).

Ειδικότερα, ο CMV και ο HSV-2 έχουν ήδη εμπλακεί στην αιτιολογία του καρκίνου του ανθρώπου, κυρίως στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, όπου η παρουσία τους βρέθηκε μαζί με υψηλού κινδύνου HPV αλληλουχίες σε διαφορετικές ομάδες ασθενών[473].

Όσον αφορά τους υπόλοιπους ερπητοϊούς του ανθρώπου (HSV-1, -2, VZV, HHV-7, -8) με την PCR ανάλυση που έγινε, τόσο στα καρκινικά δείγματα όσο και στα δείγματα προερχόμενα από παρακείμενους υγιείς ιστούς, η παρουσία ή η απουσία ιϊκού DNA, δεν αποκάλυψε στοιχεία σχετικά με τη συμμετοχή τους στην καρκινογένεση της ουροδόχου κύστης του ανθρώπου, παρά το γεγονός ότι η συμμόλυνση (co-infection) με άλλους DNA ιούς, μπορεί να διευκολύνει τις διάφορες γενετικές μεταβολές που προωθούν την εξέλιξη ενός φυσιολογικού φαινότυπου σε κακοήθη.

Σε τέσσερις περιπτώσεις δειγμάτων που προέρχονταν από καρκινικό ιστό, ανευρέθησαν τέσσερα δείγματα θετικά για μόλυνση από τους HPyV, BK και JC, γεγονός που υποδηλώνει την πιθανή συμμετοχή αυτών των HPyV στην ογκογένεση της ουροδόχου κύστης. Ωστόσο, μια πρόσφατη έρευνα[474] δείχνει ότι η επικράτηση της HPyV λοίμωξης σε ασθενείς με TCC είναι παρόμοια με την αντίστοιχη εμφάνιση στους μάρτυρες, ενώ μια άλλη μελέτη διέψευσε την παρουσία του DNA του BKV στις περισσότερες περιπτώσεις ασθενών με TCC της ουροδόχου κύστης ως αιτιολογικό παράγοντα[475]. Η συμμετοχή των HPyV σε TCC της ουροδόχου κύστεως, μπορεί να διευκρινιστεί χρησιμοποιώντας ως κριτήρια εμφάνισης της νόσου, το φύλο και το κάπνισμα. Στη μελέτη μας, όλα τα θετικά δείγματα για τους BKV και JCV προέρχονταν από άνδρες και η πλειοψηφία τους (75%) είχαν θετικό ιστορικό καπνίσματος. Επιπλέον η ανίχνευση των ιών αυτών μόνο σε δείγματα που προέρχονταν από καρκινικούς ιστούς, υποδηλώνει ότι μόνο τα καρκινικά κύτταρα της ουροδόχου κύστης είναι ευαίσθητα σε μολύνσεις από HPyV, σε σύγκριση με τα υγιή κύτταρα της ουροδόχου κύστης[476]. Ο ρόλος των Polyoma ιών στην καρκινογένεση της ουροδόχου κύστης παραμένει να διευκρινιστεί.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Snell RS: **Clinical Anatomy by regions 8th edition.** Lippincott – Williams & Wilkins, Philadelphia **2007**
2. Drake RL, Volg W, Mitchell WMA: **Gray's Anatomy for students.** 20th edition, Elsevier, Churchill – Livingstone **2007**
3. Larsen WJ: **Εμβρυολογία του ανθρώπου.** Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Αθήνα 1996
4. Kingsnorth AN, Skandalakis PN et al: **Embryology, anatomy, and surgical applications of the preperitoneal space.** Surg Clin North Am *2000* **80:**1-24
5. Walters MD, Weber AM: **Anatomy of the lower urinary tract, rectum and pelvic floor.** In: Walters MD, Karram MM, eds. Urogynecology and Pelvic Reconstructive Surgery. 2nd ed. St. Louis Mo: Mosby **2000:**3-13
6. Κοριτσιάδης ΣΓ: **Ουροομετρία: προσέγγιση του μοντέλου της φυσιολογικής ούρησης.** Εκδόσεις Φαρμασερβ – Λίλλυ ΑΕΒΕ,**1996,** Αθήνα
7. Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA: **Physiology 6th Edition.** Mosby Elsevier, Philadelphia PA, **2010**
8. Nitti VW: **Pressure flow urodynamic studies: The Gold Standard for diagnosing bladder outlet obstruction.** Rev Urol 2005 **7(Suppl 6):**S14–S21
9. Griffiths CJ, Pickard RS: **Review of invasive urodynamics and progress towards non-invasive measurements in the assessment of bladder outlet obstruction.** Indian J Urol. 2009 **25:**83-91
10. Reis LO, Barreiro GC, Baracat J, Prudente A, D'Ancona CA: **Intravesical protrusion of the prostate as a predictive method of bladder outlet obstruction.** Int Braz J Urol. 2008 **34:**627-33; discussion 634-7
11. Siegel R, Naishadham D,et al: **Cancer Statistics**. CA Cancer J Clin 2012 **62:**10–29
12. Jakobs BL, Lee et al: **Bladder cancer in 2010: how far have we come?** CA Cancer J Clin 2010 **60:**244-72
13. Parkin DM, Bray F et al: **Global Cancer Statistics 2002.** CA Cancer J Clin 2005 **55:**74–108
14. Horner MJ, Ries A, et al: SEER **Cancer Statistics Review 1975-2006.** Bethesda **2006**, MD: National Cancer Institute
15. Μελέκος Μ και συν: **Σύγχρονη Ουρολογία.** Εκδόσεις Πασχαλίδη Θεσσαλονίκη 2006 κεφ **21:**415-443
16. Golka K, Wiese A, et al: **Occupational exposure and urological cancer.** World J Urol 2004 **21:**382–91
17. Hirao Y, Kim WJ et al: **Environmental factors promoting bladder cancer**. Curr Opin Urol 2009 **19:**494-9
18. Yang CS, Wang H, Li GX, Yang Z, Guan F, Jin H: **Cancer prevention by tea: Evidence from laboratory studies.** Pharmacol Res 2011 **64:**113-22
19. Sagara Y, Miyata Y, Nomata K, Hayashi T, Kanetake H: **Green tea polyphenol suppresses tumor invasion and angiogenesis in N-butyl-(-4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced bladder cancer.** Cancer Epidemiol. 2010 **34:**350-4
20. Kurahashi N, Inoue M, Iwasaki M, Sasazuki S, Tsugane S et al: **Coffee, green tea, and caffeine consumption and subsequent risk of bladder cancer in relation to smoking status: a prospective study in Japan.** Cancer Sci. 2009 **100:**294-91
21. Nagata Y, Masuda A: **Bladder tumour associated with phenacetin abuse: a case report and a review of the literature.** Tokai J Exp Clin Med. 2007 **32:**86-9
22. Mercadante S, Ferrera P, Casuccio A: **Prevalence of opioid-related dysuria in patients with advanced cancer having pain.** Am J Hosp Palliat Care.

2011 **28:**27-30

23. Ito H, Arao M, Ishigaki H, Ohshima N, Horita A, Saito I, Hirai K: **A case of squamous cell carcinoma arising from a suprapubic cystostomy tract.** BMC Urol. 2011 **11:**20

24. Ma N, Thanan R, Kobayashi H, Hammam O, Wishahi M, El Leithy T et al: **Nitrative DNA damage and Oct3/4 expression in urinary bladder cancer with Schistosoma haematobium infection.** Biochem Biophys Res Commun. 2011 **414:**344-9

25. Botelho MC, Machado JC, Brindley PJ, Correia da Costa JM: **Targeting molecular signaling pathways of Schistosoma haemotobium infection in bladder cancer.** Virulence. 2011 **2:**267-79

26. Casey RG, Cullen IM, Crotty T, Quinlan DM: **Intermittent self-catheterization and the risk of squamous cell cancer of the bladder: An emerging clinical entity?** Can Urol Assoc J. 2009 **3:**E51-4

27. Mc Dougal WS, Wein A, Kavoussi L, Novick A, Partin A, Peters C. **Campbell-Walsh Urology**. 10th. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2012 Volume 3 Chapter **89:**2297-2334

28. Gangopadhyay A, Nath P, Khan MR, Biswas J: **Bladder Carcinoma after ABVD Chemotherapy for Hodgkin's Lymphoma: A Case Report.** Case Rep Oncol. 2012 **5:**148-53

29. Monach PA, Arnold LM, Merkel PA: **Incidence and prevention of bladder toxicity from cyclophosphamide in the treatment of rheumatic diseases: a data-driven review.** Arthritis Rheum. 2010 **62:**9-21

30. Grant EJ, Ozasa K, Preston DL, Suyama A, Shimizu Y, Sakata R et al: **Effects of radiation and lifestyle factors on risks of urothelial carcinoma in the life span study of atomic bomb survivors.** Radiat Res. 2012 May 25. [Epub ahead of print]

31. Hanahan D, Weinberg RA: **The hallmarks of cancer.** Cell 2000 **100:**57–70

32. Cairns P, Shaw ME et al: **Initiation of bladder cancer may involve deletion of a tumour-suppressor gene on chromosome 9**. Oncogene 1993 **8:**1083-5

33. Xue RW: **Urothelial tumorigenesis: A tale of divergent pathways.** Nat Rev Cancer 2005 **5:**713-25. Review Article

34. Spandidos DA, **Oncogenes and tumor suppressor genes as paradigms in oncogenesis.** J BUON 2007 12 Suppl **1:**S9-12

35. Volanis D, Papadopoulos G, Doumas K, Gkialas I, Delakas D: **Molecular mechanisms in urinary bladder carcinogenesis.** J BUON. 2011 **16:**589-601

36. Castillo-Martin M, Domingo-Domenech J, Karni-Schmidt O, Matos T, Cordon-Cardo C: **Molecular pathways of urothelial development and bladder tumorigenesis.** Urol Oncol. 2010 **28:**401-8

37. Boulalas I, Zaravinos A, Karyotis I, Delakas D, Spandidos DA: **Activation of RAS family genes in urothelial carcinoma.** J Urol. **181:**2312-9

38. Karimianpour N, Mousavi-Shafaei P, Ziaee AA, Akbari MT, Pourmand G, Abedi A et al: **Mutations of RAS gene family in specimens of bladder cancer.** Urol J. 2008 **5:**237-42

39. **Yamamoto T, Ikawa S et al:** Similarity of protein encoded by the human c-erb-B-2 gene to epidermal growth factor receptor. Nature 1986 **319:**230-234

40. Stepan A, Simionescu C, et al: **P16, c-erbB2 and Ki67 immunoexpression in urothelial carcinomas of the bladder**. Rom J Morphol Embryol 2011 **52:**653–658

41. Caner V, Turk NS, et al: **No strong association between HER-2/neu protein overexpression and gene amplification in high-grade invasive urothelial carcinomas.** Pathol Oncol Res 2008 **14:**261–266

42. Lipponen P, Eskelinen M: **Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (c-erbB-2, p53) expression and long-term prognosis.** Br J Cancer 1994 **69:**1120–1125
43. Liukkonen T, Rajala P et al: **Prognostic value of MIB-1 score, p53, EGFr, mitotic index and papillary status in primary superficial (stage pTa/T1) bladder cancer: a prospective comparative study. The Finnbladder Group.** Eur Urol 1999 **36:**393-400
44. Castellano E, Santos E: **Functional specificity of RAS isoforms so similar but so different.** Genes Cancer 2011 **2:**216–231
45. Fernández-Medarde A, Santos E: **Ras in cancer and developmental diseases genes cancer.** 2011 **2:**344–358
46. Barbacid M: **RAS genes.** Annu Rev Biochem 1987 **56:**779-827
47. Field JK, Spandidos DA: **The role of ras and myc oncogenes in human solid tumours and their relevance in diagnosis and prognosis.** Anticancer Res 1990 **10:**1-22. Review
48. Spandidos DA, Lang JC: **In vitro cell transformation by ras oncogenes**. Crit Rev Oncog. 1989 **1:**195-209
49. Reddy EP, Reynolds RK et al: **A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene**. Nature 1982 **300:**149–152
50. Czerniak B, Deitch D et al: **Ha-ras gene codon 12 mutation and DNA ploidy in urinary bladder carcinoma**. Br J Cancer 1990 **62:**762-763
51. Pandith AA, Shah Z et al: **Activated H-ras gene mutations in transitional cell carcinoma of urinary bladder in a Kashmiri population.** Tumori 2010 **96:**993-998
52. Sidransky D, Von Eschenbach A et al: **Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples**. Science 1991 **252:**706-9
53. Fujimoto K, Yamada Y et al: **Frequent association of p53 gene mutation in invasive bladder cancer**. Cancer Res 1992 **52:**1393-8
54. George B, Datar RH et al: **p53 gene and protein status: the role of p53 alterations in predicting outcome in patients with bladder cancer**. J Clin Oncol 2007 **25:**5352-8
55. Goebell PJ, Groshen SG et al: **p53 immunohistochemistry in bladder cancer: a new approach to an old question**. Urol Oncol 2010 **28:**377-88
56. Sparkes RS, Sparkes MC et al: **Regional assignment of genes for human esterase D and retinoblastoma to chromosome band 13ql4**: Science 1980 **208:**1042-1044
57. Mitra AP, Birkhahn M et al: **p53 and retinoblastoma pathways in bladder cancer**. World J Urol 2007 **25:**563-71
58. Hernando E et al: **Rb inactivation promotes genomic instability by uncoupling cell cycle progression from mitotic control**. Nature 2004 **430:**797–802
59. Chatterjee SJ, George BM et al: **Hyperphosphorylation of pRb: a mechanism for RB tumour suppressor pathway inactivation in bladder cancer**. J Pathol 2004 **203:**762-70
60. Sandberg AA: **Cytogenetics and molecular genetics of bladder cancer: a personal view**. Am J Med Genet 2002 **115:**173-82
61. Knowles MA, Habuchi T et al: **Mutation spectrum of the 9q34 tuberous sclerosis gene TSC1 in transitional cell carcinoma of the bladder**. Cancer Res 2003 **63:**7652–7656
62. Orlow I., Lianes P et al: **Chromosome 9 allelic losses and microsatellite alterations in human bladder tumors.** Cancer Res 1994 **54:**2848-2851
63. Kingsnorth AN, Skandalakis PN et al: **Embryology, anatomy, and surgical**

applications of the preperitoneal space. Surg Clin North Am *2000* **80:**1-24

64. Walters MD, Weber AM: **Anatomy of the lower urinary tract, rectum and pelvic floor.** In: Walters MD, Karram MM, eds. Urogynecology and Pelvic Reconstructive Surgery. 2nd ed. St. Louis Mo: Mosby **2000:**3-13

65. Chalasani V, Chin JL et al: **Histologic variants of urothelial bladder cancer and nonurothelial histology in bladder cancer.** Can Urol Assoc J 2009 **3(6 Suppl 4):**S193-8

66. Amin MB: **Histological variants of urothelial carcinoma: diagnostic, therapeutic and prognostic implications.** Mod Pathol 2009 **22** Suppl **2:**S96-S118

67. Epstein JI, Amin MB et al: **The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. Bladder Consensus Conference Committee.** Am J Surg Pathol 1998 **22:**1435-48

68. Reuter VE, Epstein JI, Amin MB, Mostofi FK: **The WHO/ISUP Consensus Classification of Urothelial (Transitional Cell) Neoplasms: continued discussion.** Hum Pathol **30:**879-80

69. Serel TA, Soyupek S, Candir O: **Association between mast cells and bladder carcinoma.** Urol Int. 2004 **72:**299-302

70. Dusková J, Babjuk M, Soukup V: **Difficulties in routine diagnostics of urothelium lesions.** Cesk Patol. 2008 **44:**29-34

71. van Rhijn BW: **Combining molecular and pathologic data to prognosticate non-muscle-invasive bladder cancer.** Urol Oncol. 2012 **30:**518-23

72. Höglund M: **The bladder cancer genome; chromosomal changes as prognostic makers, opportunities, and obstacles.** Urol Oncol. 2012 **30:**533-40

73. Whitworth SA**,** Subhawong AP**,** Rosenthal DL**,** Ali SZ**: Clear cell adenocarcinoma of the lower urinary tract: Cytopathologic characteristics and differential diagnoses.** Cancer Cytopathol. 2012 Apr 19. doi: 10.1002/cncy.21197

74. Mouli S**,** Casalino DD**,** Nikolaidis P**: Imaging features of common and uncommon bladder neoplasms.** Radiol Clin North Am. 2012 **50**:301-316

75. Aning J**,** Hunter-Campbell P**,** McInerney P**: Intraoperative localisation of an urachal bladder tumour prior to partial cystectomy.** Ann R Coll Surg Engl. 2012 **94:**136-7

76. Razavi SA, Sadigh G, Kelly AM, Cronin P: **Comparative Effectiveness of Imaging Modalities for the Diagnosis of Upper and Lower Urinary Tract Malignancy: A Critically Appraised Topic.** Acad Radiol. 2012 Jun 18.

77. Rouprêt M: **Tumours of the bladder: what does the urologist expect from imaging?** Diagn Interv Imaging. 2012 **93:**291-6

78. Palmeira CA, Oliveira PA, Seixas F, Pires MA, Lopes C, Santos L: **DNA image cytometry in bladder cancer: state of the art.** Anticancer Res. 2008 **28:**443-50

79. Chan LL, Wilkinson AR, Paradis BD, Lai N: **Rapid Image-based Cytometry for Comparison of Fluorescent Viability Staining Methods.** J Fluoresc. 2012 Jun 21

80. Palmeira C, Lameiras C, Amaro T, Lima L, Koch A, Lopes C, et al: **CIS is a surrogate marker of genetic instability and field carcinogenesis in the urothelial mucosa.** Urol Oncol. 2011 **29:**205-11

81. Palmeira C, Oliveira PA, Arantes-Rodrigues R, Colaço A, De la Cruz PL, Lopes C, et al: **DNA cytometry and kinetics of rat urothelial lesions during chemical carcinogenesis.** Oncol Rep. 2009 **21:**247-52

82. Bollmann D, Bollmann M, Bankfalvi A, Heller H, Bollmann R, Pajor G et al: **Quantitative molecular grading of bladder tumours: a tool for objective assessment of the biological potential of urothelial neoplasias.** Oncol Rep. 2009 **21:**39-47

83. Takashi M, Schenck U, Kissel K, Leyh H, Treiber U: **Use of diagnostic categories in urinary cytology in comparison with the bladder tumour antigen (BTA) test in bladder cancer patients.** Int Urol Nephrol. 1999 **31:**189-96

84. Washino S, Hirai M, Matsuzaki A, Kobayashi Y: **Clinical usefulness of CEA, CA19-9, and CYFRA 21-1 as tumor markers for urothelial bladder carcinoma.** Urol Int. 2011 **87:**420-8

85. Abogunrin F, O'Kane HF, Ruddock MW, Stevenson M, Reid CN, O'Sullivan JM et al: **The impact of biomarkers in multivariate algorithms for bladder cancer diagnosis in patients with hematuria.** Cancer. 2012 **118:**2641-50

86. Raitanen MP, FinnBladder Group: **The role of BTA stat Test in follow-up of patients with bladder cancer: results from FinnBladder studies.** World J Urol. 2008 **26:**45-50

87. Sun Y, He DL, Ma Q, Wan XY, Zhu GD, Li L et al: **Comparison of seven screening methods in the diagnosis of bladder cancer.** Chin Med J (Engl). 2006 **119:**1763-71

88. Cheng ZZ, Corey MJ, Pärepalo M, Majno S, Hellwage J, Zipfel PF et al: **Complement factor H as a marker for detection of bladder cancer.** Clin Chem. 2005 **51:**856-63

89. Urquidi V, Goodison S, Kim J, Chang M, Dai Y, Rosser CJ: **Vascular endothelial growth factor, carbonic anhydrase 9, and angiogenin as urinary biomarkers for bladder cancer detection.** Urology. 2012 **79:**1185.e1-6

90. Babjuk M, Soukup V, Pesl M, Kostírová M, Drncová E, Smolová H: **Urinary cytology and quantitative BTA and UBC tests in surveillance of patients with pTapT1 bladder urothelial carcinoma.** Urology. 2008 **71:**718-22

91. Lüdecke G, Pilatz A, Hauptmann A, Bschleipfer T, Weidner W: **Comparative analysis of sensitivity to blood in the urine for urine-based point-of-care assays (UBC rapid, NMP22 BladderChek and BTA-stat) in primary diagnosis of bladder carcinoma. Interference of blood on the results of urine-based POC tests.** Anticancer Res. 2012 **32:**2015-8

92. Hosseini J, Golshan AR, Mazloomfard MM, Mehrsai AR, Zargar MA, Ayati M et al: **Detection of recurrent bladder cancer: NMP22 test or urine cytology?** Urol J. 2012 **9:**367-72

93. Huber S, Schwentner C, Taeger D, Pesch B, Nasterlack M, Leng G et al: **Nuclear matrix protein-22: a prospective evaluation in a population at risk for bladder cancer. Results from the UroScreen study.** BJU Int. 2012 Feb 7. doi: 10.1111/j.1464-410X.2011.10883.x

94. Terrell JD, Elias KJ, Sagalowsky AI, Lotan Y: **Patients with a negative cystoscopy and negative Nmp22® Bladderchek® test are at low risk of missed transitional cell carcinoma of the bladder: a prospective evaluation.** Int Braz J Urol. 2011 **37:**706-11

95. Durant ST: **Telomerase-independent paths to immortality in predictable cancer subtypes.** J Cancer. 2012 **3:**67-82.

96. Chang J, Dinney CP, Huang M, Wu X, Gu J: **Genetic variants in telomere-maintenance genes and bladder cancer risk.** PLoS One. 2012 **7:**e30665

97. Ueki H, Watanabe M, Kaku H, Huang P, Li SA et al: **A novel gene expression system for detecting viable bladder cancer cells.** Int J Oncol. 2012 **41:**135-40. doi: 10.3892/ijo.2012.1417

98. Xue Y, Li L, Zhang D, Wu K, Chen Y, Zeng J et al: **Twisted epithelial-to-mesenchymal transition promotes progression of surviving bladder cancer T24 cells with hTERT-dysfunction.** PLoS One. 2011 **6:**e27748.

99. Heaphy CM, Subhawong AP, Hong SM, Goggins MG, Montgomery EA, Gabrielson E et al: **Prevalence of the alternative lengthening of telomeres telomere maintenance mechanism in human cancer subtypes.** Am J Pathol. 2011 **179:**1608-15

100. DeCaro JJ, Kirsch AJ: **Dextranomer-hyaluronic acid implants misdiagnosed as bladder tumor on transvaginal ultrasonography.** Obstet Gynecol. 2012 **119(2 Pt 2):**476-8

101. Parker J, Spiess PE: **Current and emerging bladder cancer urinary biomarkers.** ScientificWorldJournal. 2011 **11:**1103-12

102. Lapini A, Minervini A, Masala A, Schips L, Pycha A, Cindolo L et al: **A comparison of hexaminolevulinate (Hexvix®) fluorescence cystoscopy and white-light cystoscopy for detection of bladder cancer: results of the HeRo observational study.** Surg Endosc. 2012 Jun 23. [Epub ahead of print]

103. Liu JJ, Droller MJ, Liao JC: **New Optical Imaging Technologies for Bladder Cancer: Considerations and Perspectives.** J Urol. 2012 Jun 12. [Epub ahead of print]

104. Gorin MA, Ayyathurai R, Soloway MS: **Diagnosis and treatment of bladder cancer: how can we improve?** Postgrad Med. 2012 **124:**28-36

105. Sauter G, Algaba F, Amin MB et al: **Non-invasive urothelial tumours.** In: Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editors. **World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organ.** Lyon, France IARC Press 2004. p:110–23

106. Sobin LH, Wittekind Ch: **TNM Classification of Malignant Tumours**. 6th ed. New York, USA: Willey-Liss 2002 p:199-202

107. Babjuk M, Oosterlinck W et al: **EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder.** Eur Urol 2008 **54:**303-14

108. Kirkali Z, Chan T et al: **Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis.** Urology 2005 **66:**4-34

109. Morales R, Font A et al: **SEOM clinical guidelines for the treatment of invasive bladder cancer.** Clin Transl Oncol 2011 **13:**552-9

110. Stenzl A, Cowan NC et al: **The updated EAU guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer.** Eur Urol 2009 **55:**815-25

111. Friedrich MG**,** Toma MI**,** Chun JK**,** Steuber T**,** Budäus L**,** Isbarn H **et al: DNA methylation on urinalysis and as a prognostic marker in urothelial cancer of the bladder.** Urologe A. 2007 **46:**761-8

112. Coskun U**,** Sancak B**,** Sen I**,** Bukan N**,** Tufan MA**,** Gülbahar O **et al: Serum P-selectin, soluble vascular cell adhesion molecule-I (s-VCAM-I) and soluble intercellular adhesion molecule-I (s-ICAM-I) levels in bladder carcinoma patients with different stages.** Int Immunopharmacol. 2006 **6:**672-7

113. Friedrich MG**,** Chandrasoma S**,** Siegmund KD**,** Weisenberger DJ**,** Cheng JC**,** Toma MI **et al: Prognostic relevance of methylation markers in patients with non-muscle invasive bladder carcinoma.** Eur J Cancer. 2005 **41:**2769-78

114. Shin HS**,** Jung CH**,** Park HD**,** Lee SS**: The relationship between the serum intercellular adhesion molecule-1 level and the prognosis of the disease in lung cancer.** Korean J Intern Med. 2004 **19:**48-52

115. Mohan HM, Aherne CM, Rogers AC, Baird AW, Winter DC, Murphy EP: **Molecular Pathways: The Role of NR4A Orphan Nuclear Receptors in Cancer.** Clin Cancer Res. 2012 **18:**3223-8

116. Hao M, Zheng J, Hou K, Wang J, Chen X, Lu X et al: **Role of chemokine receptor CXCR7 in bladder cancer progression.** Biochem Pharmacol. 2012 **84:**204-14
117. Black PC: **Molecular signaling and the role of targeted therapies in bladder cancer.** Minerva Urol Nefrol. 2012 **64:**7-17
118. Feng C, Wu Z, Guo T, Jiang H, Guan M, Zhang Y et al: **BLCA-4 expression is related to MMP-9, VEGF, IL-1α and IL-8 in bladder cancer but not to PEDF, TNF-α or angiogenesis.** Pathol Biol (Paris). 2012 **60:**e36-40
119. Kottakis F, Polytarchou C, Foltopoulou P, Sanidas I, Kampranis SC, Tsichlis PN: **FGF-2 regulates cell proliferation, migration, and angiogenesis through an NDY1/KDM2B-miR-101-EZH2 pathway.** Mol Cell. 2011 **43:**285-98
120. Wesche J, Haglund K, Haugsten EM: **Fibroblast growth factors and their receptors in cancer.** Biochem J. 2011 **437:**199-213
121. Lamont FR, Tomlinson DC, Cooper PA, Shnyder SD, Chester JD, Knowles MA: **Small molecule FGF receptor inhibitors block FGFR-dependent urothelial carcinoma growth in vitro and in vivo.** Br J Cancer. 2011 **104:**75-82
122. Ishiwata T, Matsuda Y, Naito Z: **Basic fibroblast growth factor (bFGf/FGF-2) in urine.** Nihon Rinsho. 2010 68 Suppl **7:**807-9
123. Katoh Y, Katoh M: **FGFR2-related pathogenesis and FGFR2-targeted therapeutics (Review).** Int J Mol Med. 2009 **23:**307-11
124. Feng L, Ma LL, Zhang YH, Tian Y, Qu CX, Wang Y: **Impact of surgery and epirubicin intravesical chemotherapy on peripheral blood dendritic cell subsets in patients with superficial urothelial carcinoma of the bladder.** Chin Med J (Engl). 2012 **125:**1254-60
125. Shin YS, Kim JY, Ko OS, Doo AR, Kim MK, Jeong YB et al: **The direct anti-cancer effect of a single instillation of epirubicin after transurethral resection of bladder tumor for non-muscle-invasive bladder cancer.** Korean J Urol. 2012 **53:**78-81
126. Engeler DS, Scandella E, Ludewig B, Schmid HP: **Ciprofloxacin and epirubicin synergistically induce apoptosis in human urothelial cancer cell lines.** Urol Int. 2012 **88:**343-9
127. Shinagare AB, Sadow CA, Sahni VA, Silverman SG: **Urinary bladder: normal appearance and mimics of malignancy at CT urography.** Cancer Imaging. 2011 **11:**100-8
128. Turkbey B, Turkbey EB, Ravizzini G, Karcaaltincaba M: **Imaging of bladder cancer: update on current approaches for diagnosis.** JBR-BTR. 2011 **94:**178-84
129. Tritschler S, Mosler C, Straub J, Buchner A, Karl A, Graser A et al: **Staging of muscle-invasive bladder cancer: can computerized tomography help us to decide on local treatment?** World J Urol. 2011 Dec 25
130. Kuehhas FE, Weibl P, Tosev G, Schatzl G, Heinz-Peer G: **Multidetector computed tomography virtual cystoscopy: an effective diagnostic tool in patients with hematuria.** Urology. 2012 **79:**270-6
131. Colombel M, Soloway M et al: **Epidemiology, staging, grading, and risk stratification of bladder cancer.** Eur Urol Suppl 2008 **7:**618-626
132. Shokeir AA: **Squamous cell carcinoma of the bladder: pathology, diagnosis and treatment.** BJU Int 2004 **93:**216-220
133. Pasin ED, Josephson Y et al: **Superficial Bladder Cancer: An Update on Etiology, MolecularDevelopment, Classification, and Natural History**.Rev Urol. 2008 **10:**31-43
134. Piper JM, Tonascia J et al: **Heavy Phenacetin Use and Bladder Cancer in Women Aged 20 to 49 Years**. N Engl J Med 1985 **313:**292-295

135. Steinmaus CM, Nunez S et al: **Diet and bladder cancer: a meta-analysis of six dietary variables.** Am J Epidemiol 2000 **151:**693–702
136. Murta-Nascimento C, Schmitz-Dra¨ger BJ, et al: **Epidemiology of urinary bladder cancer: from tumour development to patient's death.** World J Urol 2007 **25:**285–95
137. Goldgar DE, Easton DF et al: **Systematic population-based assessment of cancer risk in first degree relatives of cancer probands.** J Natl Cancer Inst 1994 **86:**1600–8
138. Aben KKH, Baglietto L, et al: **Segregation analysis of urothelial cell carcinoma.** Eur J Cancer 2006 **42:**1428–33
139. Zhang HZ**,** Wang CF**,** Sun JJ**,** Yu BH**: A combined clinicopathologic analysis of 658 urothelial carcinoma cases of urinary bladder.** Chin Med Sci J. 2012 **27:**24-8
140. van Rhijn BW**: Combining molecular and pathologic data to prognosticate non-muscle-invasive bladder cancer.** Urol Oncol. 2012 **30:**518-23
141. Hirano D**,** Okada Y**,** Nagane Y**,** Satoh K**,** Mochida J**,** Yamanaka Y **et al: Intravesical recurrence after surgical management of urothelial carcinoma of the upper urinary tract.** Urol Int. **2012 Jun 7.**
142. Cosentino M**,** Palou J**,** Gaya JM**,** Breda A**,** Rodriguez-Faba O**,** Villavicencio-Mavrich H**: Upper urinary tract urothelial cell carcinoma: location as a predictive factor for concomitant bladder carcinoma.** World J Urol. **2012 May 3**
143. Lee EK, Herr HW, Dickstein RJ, Kassouf W, Munsell MF, Grossman HB et al: **Lymph node density for patient counselling about prognosis and for designing clinical trials of adjuvant therapies after radical cystectomy.** BJU Int. 2012 Jul 3. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11325.x.
144. Tanaka N, Kikuchi E, Matsumoto K, Hayakawa N, Ide H, Miyajima A et al: **Prognostic value of plasma fibrinogen levels in patients with localized upper tract urothelial carcinoma.** BJU Int. 2012 Jul 3. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11353.x
145. Chang DW, Gu J, Wu X: **Germline prognostic markers for urinary bladder cancer: Obstacles and opportunities.** Urol Oncol. 2012 **30:**524-32
146. Lee JY, Joo HJ, Cho DS, Kim SI, Ahn HS, Kim SJ: **Prognostic significance of substaging according to the depth of lamina propria invasion in primary T1 transitional cell carcinoma of the bladder.** Korean J Urol. 2012 **53:**317-23
147. Todenhöfer T, Renninger M, Schwentner C, Stenzl A, Gakis G: **A new prognostic model for cancer-specific survival after radical cystectomy including pretreatment thrombocytosis and standard pathological risk factors.** BJU Int. 2012 May 11. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11231.x
148. Milojevic B, Djokic M, Sipetic-Grujicic S, Grozdic Milojevic I, Vuksanovic A, Nikic P et al: **Prognostic significance of non-muscle-invasive bladder tumor history in patients with upper urinary tract urothelial carcinoma.** Urol Oncol. 2012 Apr 20
149. Gondo T, Nakashima J, Ohno Y, Choichiro O, Horiguchi Y, Namiki K et al: **Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and establishment of novel preoperative risk stratification model in bladder cancer patients treated with radical cystectomy.** Urology. 2012 **79:**1085-91
150. Gazquez C, Ribal MJ, Marín-Aguilera M, Kayed H, Fernández PL, Mengual L et al: **Biomarkers vs conventional histological analysis to detect lymph node micrometastases in bladder cancer: a real improvement?** BJU Int. 2012 Mar 15. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11025.x

151. Gunia S, Kakies C, May M, Koch S, Erbersdobler A: **Lewis(y) antigen (blood group 8, BG8) is a useful marker in the histopathological differential diagnosis of flat urothelial lesions of the urinary bladder.** J Clin Pathol. 2011 **64:**672-6
152. Oyelaran O, Gildersleeve JC: **Evaluation of human antibody responses to keyhole limpet hemocyanin on a carbohydrate microarray.** Proteomics Clin Appl. 2010 **4:**285-94
153. Kaczmarek R: **Alterations of Lewis histo-blood group antigen expression in cancer cells.** Postepy Hig Med Dosw (Online). 2010 **64:**87-99
154. Kajiwara H, Yasuda M, Kumaki N, Shibayama T, Osamura Y: **Expression of carbohydrate antigens (SSEA-1, sialyl-Lewis X, DU-PAN-2 and CA19-9) and E-selectin in urothelial carcinoma of the renal pelvis, ureter, and urinary bladder.** Tokai J Exp Clin Med. 2005 **30:**177-82
155. Yang YM, Chang JW: **Bladder cancer initiating cells (BCICs) are among EMA-CD44v6+ subset: novel methods for isolating undetermined cancer stem (initiating) cells.** Cancer Invest. 2008 **26:**725-33
156. Matsushita K, Cha EK, Matsumoto K, Baba S, Chromecki TF, Fajkovic H et al: **Immunohistochemical biomarkers for bladder cancer prognosis.** Int J Urol. 2011 **18:**616-29
157. Kapur P, Lotan Y, King E, Kabbani W, Mitra AP, Mosbah A et al: **Primary adenocarcinoma of the urinary bladder: value of cell cycle biomarkers.** Am J Clin Pathol. 2011 **135:**822-30
158. Gudjónsson S, Bendahl PO, Chebil G, Höglund M, Lindgren D, Lundberg LM et al: **Can tissue microarray-based analysis of protein expression predict recurrence of stage Ta bladder cancer?** Scand J Urol Nephrol. 2011 **45:**270-7
159. Ajili F, Kaabi B, Darouiche A, Tounsi H, Kourda N, Chebil M et al: **Prognostic value of Bcl-2 and Bax tumor cell expression in patients with non muscle-invasive bladder cancer receiving bacillus Calmette-Guerin immunotherapy**. Ultrastruct Pathol. 2012 **36:**31-9
160. Zhang HH, Qi F, Shi YR, Miao JG, Zhou M, He W et al: **RNA interference-mediated vascular endothelial growth factor-C reduction suppresses malignant progression and enhances mitomycin C sensitivity of bladder cancer t24 cells.** Cancer Biother Radiopharm. 2012 **27:**291-8
161. Cui D, Han BM, Jing YF, Xia SJ: **Analysis of N-E cadherin switch as an independent predictive parameter of bladder cancer survival outcomes.** Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2012 **92:**380-3
162. Lekka M, Gil D, Dąbroś W, Jaczewska J, Kulik AJ, Lekki J et al: **Characterization of N-cadherin unbinding properties in non-malignant (HCV29) and malignant (T24) bladder cells.** J Mol Recognit. 2011 **24:**833-42
163. Muramaki M, Miyake H, Terakawa T, Kusuda Y, Fujisawa M: **Expression profile of E-cadherin and N-cadherin in urothelial carcinoma of the upper urinary tract is associated with disease recurrence in patients undergoing nephroureterectomy.** Urology. 2011 **78:**1443.e7-12
164. Shen CH, Wu JD, Jou YC, Cheng MC, Lin CT, Chen PC et al: **The correlation between TWIST, E-cadherin, and beta-catenin in human bladder cancer.** J BUON. 2011 **16:**733-7
165. Sun XF, Li L, Li XJ, Shen W: **Methylation pattern of oncogene HRAS gene promoter region and its clinical relevance to urocystic tumorigenesis.** Mol Biol Rep. 2012 **39:**8431-7
166. Wang AX, Chang JW, Li CY, Liu K, Lin YL: **H-ras mutation detection in bladder cancer by COLD-PCR analysis and direct sequencing.** Urol Int. 2012 **88:**350-7

167. Juanpere N, Agell L, Lorenzo M, de Muga S, López-Vilaró L, Murillo R et al: **Mutations in FGFR3 and PIK3CA, singly or combined with RAS and AKT1, are associated with AKT but not with MAPK pathway activation in urothelial bladder cancer.** Hum Pathol. 2012 Mar 12

168. Kim JS, Chae Y, Ha YS, Kim IY, Byun SS, Yun SJ et al: **Ras association domain family 1A: a promising prognostic marker in recurrent nonmuscle invasive bladder cancer.** Clin Genitourin Cancer. 2012 **10:**114-20

169. Wu SY, Lan SH, Cheng DE, Chen WK, Shen CH, Lee YR et al: **Ras-related tumorigenesis is suppressed by BNIP3-mediated autophagy through inhibition of cell proliferation.** Neoplasia. 2011 **13:**1171-82

170. Zhou H, Huang HY, Shapiro E, Lepor H, Huang WC, Mohammadi M et al: **Urothelial tumor initiation requires deregulation of multiple signaling pathways: implications in target-based therapies.** Carcinogenesis. 2012 **33:**770-80

171. Choi W, Shah JB, Tran M, Svatek R, Marquis L, Lee IL et al: **p63 expression defines a lethal subset of muscle-invasive bladder cancers.** PLoS One. 2012 **7:**e30206

172. Lin HY, Huang CH, Yu TJ, Wu WJ, Yang MC, Lung FW: **p53 codon 72 polymorphism as a progression index for bladder cancer.** Oncol Rep. 2012 **27:**1193-9

173. Hayami S, Yoshimatsu M, Veerakumarasivam A, Unoki M, Iwai Y, Tsunoda T et al: **Overexpression of the JmjC histone demethylase KDM5B in human carcinogenesis: involvement in the proliferation of cancer cells through the E2F/RB pathway.** Mol Cancer. 2010 **9:**59

174. Khaled HM, Bahnassy AA, Raafat AA, Zekri AR, Madboul MS, Mokhtar NM: **Clinical significance of altered nm23-H1, EGFR, RB and p53 expression in bilharzial bladder cancer.** BMC Cancer. 2009 **9:**32

175. Malekzadeh K, Sobti RC, Nikbakht M, Shekari M, Hosseini SA, Tamandani DK et al: **Methylation patterns of Rb1 and Casp-8 promoters and their impact on their expression in bladder cancer.** Cancer Invest. 2009 **27:**70-80

176. Arima Y, Inoue Y, Shibata T, Hayashi H, Nagano O, Saya H et al: **Rb depletion results in deregulation of E-cadherin and induction of cellular phenotypic changes that are characteristic of the epithelial-to-mesenchymal transition.** Cancer Res. 2008 **68:**5104-12

177. Höglund M: **The bladder cancer genome; chromosomal changes as prognostic makers, opportunities, and obstacles.** Urol Oncol. 2012 **30:**533-40

178. Volanis D, Papadopoulos G, Doumas K, Gkialas I, Delakas D: **Molecular mechanisms in urinary bladder carcinogenesis.** J BUON. 2011 **16:**589-601

179. Legrand G, Soliman H, Dubosq F, Vérine J, Desgrandchamps F, de Thé H et al: **Prevalence and spectrum of microsatellite alterations in nonmuscle invasive bladder cancers.** Am J Cancer Res. 2011 **1:**595-603

180. Maleno I, Aptsiauri N, Cabrera T, Gallego A, Paschen A, López-Nevot MA et al: **Frequent loss of heterozygosity in the β2-microglobulin region of chromosome 15 in primary human tumors.** Immunogenetics. 2011 **63:**65-71

181. Li Z, Qi F, Qi L, Zhang H, Chen M, Wang L et al: **VEGF-C as a decision-making biomarker for selected patients with invasive bladder cancer who underwent bladder-preserving radical surgery.** Arch Med Res. 2011 **42:**405-11

182. Cho EJ, Yang J, Mohamedali KA, Lim EK, Kim EJ, Farhangfar CJ et al: **Sensitive angiogenesis imaging of orthotopic bladder tumors in mice using a selective magnetic resonance imaging contrast agent containing VEGF121/rGel.** Invest Radiol. 2011 **46:**441-9

183. Yang H, Kim C, Kim MJ, Schwendener RA, Alitalo K, Heston W et al: **Soluble vascular endothelial growth factor receptor-3 suppresses lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in bladder cancer.** Mol Cancer. 2011 **10:**36

184. Lubet RA, Lu Y, Bode AM, You M, Verney ZM, Steele VE et al: **Efficacy of the EGFr inhibitor Iressa on development of chemically-induced urinary bladder cancers: dose dependency and modulation of biomarkers.** Oncol Rep. 2011 **25:**1389-97

185. Tanaka N, Miyajima A, Kosaka T, Miyazaki Y, Shirotake S, Shirakawa H et al: **Acquired platinum resistance enhances tumour angiogenesis through angiotensin II type 1 receptor in bladder cancer.** Br J Cancer. 2011 **105:**1331-7

186. Cheung G, Dasgupta P, Guru KA, Billia M, Khan MS: **Minimally invasive cystectomy approaches in the treatment of bladder cancer.** Expert Rev Anticancer Ther. 2012 **12:**733-41

187. Altieri VM, Castellucci R, Palumbo P, Verratti V, Sut M, Olivieri R et al: **Recurrence and Progression in Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer Using EORTC Risk Tables.** Urol Int. 2012 Jun 19

188. Colombo R, Rocchini L, Suardi N, Benigni F, Colciago G, Bettiga A et al: **Neoadjuvant short-term intensive intravesical Mitomycin C regimen compared with weekly schedule for low-grade recurrent non-muscle-invasive bladder cancer: preliminary results of a randomised phase 2 study.** Eur Urol. 2012 May 18

189. Cookson MS, Chang SS, Oefelein MG, Gallagher JR, Schwartz B, Heap K: **National practice patterns for immediate postoperative instillation of chemotherapy in nonmuscle invasive bladder cancer.** J Urol. 2012 **187:**1571-6

190. Iwaszko MR, Krambeck AE: **Conservative management of upper tract transitional cell carcinoma.** Indian J Urol. 2008 **24:**159-63

191. Brassell SA, Kamat AM: **Contemporary intravesical treatment options for urothelial carcinoma of the bladder.** J Natl Compr Canc Netw. 2006 **4:**1027-36

192. Lamm DL, McGee WR, Hale K: **Bladder cancer: current optimal intravesical treatment.** Urol Nurs. 2005 **25:**323-6, 331-2

193. Startsev V, Pouline I: **Adjuvant therapy in different risk-groups of patients with superficial bladder cancer.** Arch Ital Urol Androl. 2005 **77:**93-8

194. Mazzucchelli R, Barbisan F, Tarquini LM, Streccioni M, Galosi AB: **Urothelial changes induced by therapeutic procedures for bladder cancer. A review.** Anal Quant Cytol Histol. 2005 **27:**27-34

195. Duque JL, Loughlin KR: **An overview of the treatment of superficial bladder cancer. Intravesical chemotherapy.** Urol Clin North Am. 2000 **27:**125-35

196. Kurth K, Tunn U, Ay R, Schröder FH, Pavone-Macaluso M, Debruyne F et al: **Adjuvant chemotherapy for superficial transitional cell bladder carcinoma: long-term results of a European Organization for Research and Treatment of Cancer randomized trial comparing doxorubicin, ethoglucid and transurethral resection alone.** J Urol. 1997 **158:**378-84

197. Flamm J, Donner G, Bucher A, Höltl W, Albrecht W, Havelec L: **Topical immunotherapy (KLH) vs. chemotherapy (Ethoglucid) in prevention of recurrence of superficial bladder cancer. A prospective randomized study.** Urologe A. 1994 **33:**138-43

198. Shiota M, Takeuchi A, Yokomizo A, Kashiwagi E, Tatsugami K, Kuroiwa K et al: **Androgen receptor signaling regulates cell growth and vulnerability to Doxorubicin in bladder cancer.** J Urol. 2012 **188:**276-86

199. Blick C, Hall P, Pwint T, Al-Terkait F, Crew J, Powles T et al: **Accelerated methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin (MVAC) as neoadjuvant chemotherapy for patients with muscle-invasive transitional cell carcinoma of the bladder.** Cancer. 2012 Jan 3. doi: 10.1002/cncr.26675

200. Takeuchi A, Shiota M, Tatsugami K, Yokomizo A, Tanaka S, Kuroiwa K et al: **p300 mediates cellular resistance to doxorubicin in bladder cancer.** Mol Med Report. 2012 **5:**173-6

201. Ikeda M, Matsumoto K, Niibe Y, Satoh T, Fujita T, Iwamura M et al: **The radiotherapy with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin treatment is an effective therapeutic option in patients with advanced or metastatic bladder cancer.** J Radiat Res. 2011 **52:**674-9

202. Swami U, Chaudhary I, Ghalib MH, Goel S: **Eribulin: a review of preclinical and clinical studies. Crit Rev Oncol Hematol.** 2012 **81:**163-84

203. Liu H, Xue S, Ruan Y, Sun X, Han B, Xia S: **2-micrometer continuous wave laser treatment for multiple non-muscle-invasive bladder cancer with intravesical instillation of epirubicin.** Lasers Surg Med. 2011 **43:**15-20

204. Resta LP, Pili R, Eisenberger MA, Spitz A, King S, Porter J et al: **A phase I study of OSI-461 in combination with mitoxantrone in patients with advanced solid tumors potentially responsive to mitoxantrone.** Cancer Chemother Pharmacol. 2011 **67:**431-8

205. Schmeeckle KD, Kim JW, Sartor O: **Substantial activity of mitoxantrone and paclitaxel in a heavily pre-treated metastatic bladder cancer patient.** J La State Med Soc. 2008 **160:**17-8

206. Papatsoris AG, Deliveliotis C, Giannopoulos A, Dimopoulos C: **Adjuvant intravesical mitoxantrone versus recombinant interferon-alpha after transurethral resection of superficial bladder cancer: a randomized prospective study.** Urol Int. 2004 **72:**284-91

207. Järvinen R, Kaasinen E, Rintala E, Group TF: **Long-term results of maintenance treatment of mitomycin C or alternating mitomycin C and bacillus Calmette-Guérin instillation therapy of patients with carcinoma in situ of the bladder: A subgroup analysis of the prospective FinnBladder 2 study with a 17-year follow-up.** Scand J Urol Nephrol. 2012 Jul 2

208. Castillo OA, Landerer E, Feria-Flores M, Vidal-Mora I, Franco C: **Histological changes due to intravesical instillation of mitomycin c.** Arch Esp Urol. 2012 **65:**578-582

209. Bryan RT: **Optimising existing therapeutic strategies for the treatment of non-muscle-invasive bladder cancer: the role of intensive neoadjuvant intravesical mitomycin C.** Eur Urol. 2012 Jun 15

210. Zhang CJ, Shen ZJ, Pan CW, Zhong S, Li T, Zhang MG: **Engagement of integrinβ1 induces resistance of bladder cancer cells to mitomycin-C.** Urology. 2012 **79:**638-43

211. Kanagawa Urological Research Group (KURG): **A 2-week maintenance regimen of intravesical instillation of Bacillus Calmette-Guerin is safe, adherent and effective in patients with non-muscle-invasive bladder cancer: a prospective, multicenter phase II clinical trial.** Jpn J Clin Oncol. 2012 Jul 3

212. Jinesh G G, Lee EK, Tran J, Kamat AM**: Lenalidomide augments the efficacy of bacillus Calmette-Guerin (BCG) immunotherapy in vivo.** Urol Oncol. 2012 Jun 18

213. Alvarez-Múgica M, Fernández-Gómez JM, Cebrian V, Fresno F, Escaf S, Sánchez-Carbayo M: **Polyamine-modulated factor-1 methylation predicts Bacillus Calmette-Guérin response in patients with hHigh-grade non-muscle-invasive bladder carcinoma.** Eur Urol. 2012 Jun 5

214. Biot C, Rentsch CA, Gsponer JR, Birkhäuser FD, Jusforgues-Saklani H, Lemaître F et al: **Preexisting BCG-specific T cells improve intravesical immunotherapy for bladder cancer.** Sci Transl Med. 2012 **4:**137ra72

215. Arai S, Hasumi M, Shimizu N: **Long-term survival and onset of granulomatous pneumonia after lung metastasectomy in a patient with non-muscle-invasive bladder cancer.** Int Urol Nephrol. 2012 Jun 1

216. Ding GQ, Yu YL, Shen ZJ, Zhou XL, Chen SW, Liao GD et al: **Antitumor effects of human interferon-alpha 2b secreted by recombinant bacillus Calmette-Guérin vaccine on bladder cancer cells.** J Zhejiang Univ Sci B. 2012 **13:**335-41

217. Bazarbashi S, Soudy H, Abdelsalam M, Al-Jubran A, Akhtar S, Memon M et al: **Co-administration of intravesical bacillus Calmette-Guérin and interferon α-2B as first line in treating superficial transitional cell carcinoma of the urinary bladder.** BJU Int. 2011 **108:**1115-8

218. Zhang XQ, Yang Z, Benedict WF: **Direct gene transfer of adenoviral-mediated interferon α into human bladder cancer cells but not the bystander factors produced induces endoplasmic reticulum stress-related cytotoxicity.** Cancer Gene Ther. 2011 **18:**260-4

219. Zhang XQ, Dunner K Jr, Benedict WF: **Autophagy is induced by adenoviral-mediated interferon alpha treatment in interferon resistant bladder cancer and normal urothelial cells as a cell death protective mechanism but not by the bystander factors produced.** Cancer Gene Ther. 2010 **17:**579-84

220. Papageorgiou A, Dinney CP, McConkey DJ: **Interferon-alpha induces TRAIL expression and cell death via an IRF-1-dependent mechanism in human bladder cancer cells.** Cancer Biol Ther. 2007 **6:**872-9

221. Askeland EJ, Newton MR, O'Donnell MA, Luo Y: **Bladder Cancer Immunotherapy: BCG and Beyond.** Adv Urol. 2012 **2012:**181987

222. Peng J, Shi XJ, Chen DN, Liang ZK, Lan KJ, Gao JM et al: **Interleukin-21 surface-modified MB49 cell vaccine for treatment of metastatic bladder in mice.** Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2012 **32:**807-11

223. Reis ST, Leite KR, Piovesan LF, Pontes-Junior J, Viana NI, Abe DK et al: **Increased expression of MMP-9 and IL-8 are correlated with poor prognosis of Bladder Cancer.** BMC Urol. 2012 **12:**18

224. Zhou B, Zhang P, Wang Y, Shi S, Zhang K, Liao H et al: **Interleukin-17 gene polymorphisms are associated with bladder cancer in a Chinese Han population.** Mol Carcinog. 2012 Jun 12

225. Urquidi V, Chang M, Dai Y, Kim J, Wolfson ED, Goodison S et al: **IL-8 as a urinary biomarker for the detection of bladder cancer.** BMC Urol. 2012 **12:**12

226. Sarosdy MF, Tangen CM, Weiss GR, Nestok BR, Benson MC, Schellhammer PF et al: **A phase II clinical trial of oral bropirimine in combination with intravesical bacillus Calmette-Guérin for carcinoma in situ of the bladder: a Southwest Oncology Group Study.** Urol Oncol. 2005 **23:**386-9

227. Kassouf W, Kamat AM: **Current state of immunotherapy for bladder cancer.** Expert Rev Anticancer Ther. 2004 **4:**1037-46

228. Perabo FG, Müller SC: **Current and new strategies in immunotherapy for superficial bladder cancer.** Urology. 2004 **64:**409-21

229. Kamat AM, Lamm DL: **Immunotherapy for bladder cancer.** Curr Urol Rep. 2001 **2:**62-9

230. Witjes WP, König M, Boeminghaus FP, Hall RR, Schulman CC, Zurlo M et al: **Results of a European comparative randomized study comparing oral bropirimine versus intravesical BCG treatment in BCG-naive patients with carcinoma in situ of the urinary bladder.** European Bropirimine Study

Group. Eur Urol. 1999 **36:**576-81
231. Dinney CP, Greenberg RE, Steinberg GD: **Intravesical valrubicin in patients with bladder carcinoma in situ and contraindication to or failure after bacillus Calmette-Guérin.** Urol Oncol. 2012 May 9
232. Shirakawa H, Kikuchi E, Tanaka N, Matsumoto K, Miyajima A, Nakamura S et al: **Prognostic significance of Bacillus Calmette-Guérin failure classification in non-muscle-invasive bladder cancer.** BJU Int. 2012 Feb 7
233. Jones G, Cleves A, Wilt TJ, Mason M, Kynaston HG, Shelley M: **Intravesical gemcitabine for non-muscle invasive bladder cancer.** Cochrane Database Syst Rev. 2012 18;1:CD009294
234. Holmäng S, Ströck V: **Should follow-up cystoscopy in bacillus Calmette-Guérin-treated patients continue after five tumour-free years?** Eur Urol. 2012 **61:**503-7
235. Zieger K, Jensen KM**: Long-term risk of progression of carcinoma in situ of the bladder and impact of bacille Calmette-Guérin immunotherapy on the outcome.** Scand J Urol Nephrol. 2011 **45:**411-8
236. Onozawa M, Miyanaga N, Hinotsu S, Miyazaki J, Oikawa T, Kimura T et al: **Analysis of intravesical recurrence after bladder-preserving therapy for muscle-invasive bladder cancer.** Jpn J Clin Oncol. 2012 Jul 10
237. Lightfoot AJ, Rosevear HM, Nepple KG, O'Donnell MA: **Role of routine transurethral biopsy and isolated upper tract cytology after intravesical treatment of high-grade non-muscle invasive bladder cancer.** Int J Urol. 2012 Jul 4
238. Hannoun-Levi JM, Chand-Fouche ME, Gautier M, Dejean C, Marcy M, Fouche Y**: Interstitial preoperative high-dose-rate brachytherapy for early stage cervical cancer: Dose-volume histogram parameters, pathologic response and early clinical outcome.** Brachytherapy. 2012 Jun 21
239. Shariat SF, Rink M, Ehdaie B, Xylinas E, Babjuk M, Merseburger AS et al: **Pathologic nodal staging score for bladder cancer: a decision tool for adjuvant therapy after radical cystectomy.** Eur Urol. 2012 Jun 16
240. Meeks JJ, Bellmunt J, Bochner BH, Clarke NW, Daneshmand S, Galsky MD et al: **A systematic review of neoadjuvant and adjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer.** Eur Urol. 2012 Jun 1
241. Salem H, El-Mazny A: **Primary and secondary malignant involvement of gynaecological organs at radical cystectomy for bladder cancer: Review of literature and retrospective analysis of 360 cases.** J Obstet Gynaecol. 2012 **32:**590-3
242. Raza SJ, Ather MH, Khan FA, Alam Z: **Grading complication following radical cystectomy and ileal conduit for bladder cancer using clavien grading system. J Coll Physicians Surg Pak.** 2012 **22:**448-51
243. Zhong S, Zhu Z, Wang X, Pan C, Chen S, Shen Z: **Modified U-shaped ileal neobladder after radical cystectomy: Assessment of functional outcomes and complications in Chinese patients.** Urol Oncol. 2012 Jun 30
244. Aboumarzouk OM, Drewa T, Olejniczak P, Chlosta PL: **Laparoscopic Radical Cystectomy: a 5-year review of a single institute's operative data and complications and a systematic review of the literature.** Int Braz J Urol. 2012 **38:**330-40
245. Treiyer A, Saar M, Butow Z, Kamradt J, Siemer S, Stockle M: **Robotic-assisted laparoscopic radical cystectomy: Surgical and oncological outcomes.** Int Braz J Urol. 2012 **38:**324-9
246. Kim BK, Song MH, Yang HJ, Kim DS, Lee NK, Jeon YS: **Use of cystoscopic tattooing in laparoscopic partial cystectomy.** Korean J Urol. 2012 **53:**401-4

247. Gómez-Veiga F, Alcaraz-Asensio A, Burgos-Revilla J, Cózar-Olmo J: **Advances in Uro-Oncology «Oncoforum»: the Best of 2011.** Actas Urol Esp. 2012 Apr 18
248. Fan Y, Shi M, Xiong ZB, Han P, Zhang P, Zeng H et al: **Critical analysis on risk factors of postoperative in-hospital complications in radical cystectomy of bladder cancer.** Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2012 **43:**99-103
249. Koga F, Kihara K: **Selective bladder preservation with curative intent for muscle-invasive bladder cancer: a contemporary review.** Int J Urol. 2012 **19:**388-401
250. Thangappan R, Eandi JA, Modi J, Kurzrock EA: **Epithelium-free bladder wall graft: epithelial ingrowth and regeneration – clinical implications for partial cystectomy.** J Urol. 2012 **187:**1450-7
251. Hardcastle N, Tome WA: **Risk-adaptive volumetric modulated arc therapy using biological objective functions for subvolume boosting in radiotherapy.** Comput Math Methods Med. 2012 2012:348471
252. Tran WT, Iradji S, Sofroni E, Giles A, Eddy D, Czarnota GJ: **Microbubble and ultrasound radioenhancement of bladder cancer.** Br J Cancer. 2012 Jul 12
253. Ahmed KA, Barney BM, Macdonald OK, Miller RC, Garces YI, Laack NN et al: **Stereotactic body radiotherapy in the treatment of adrenal metastases.** Am J Clin Oncol. 2012 Jul 9
254. Dick D, Das S, Lo J: **WE-G-BRCD-06: Knowledge-based intensity modulated radiotherapy (IMRT) treatment planning for prostate cancer.** Med Phys. 2012 **39:**3965-6
255. Chromecki TF, Cha EK, Fajkovic H, Rink M, Ehdaie B, Svatek RS et al: **Obesity is associated with worse oncological outcomes in patients treated with radical cystectomy.** BJU Int. 2012 Jun 21
256. Heck MM, Gschwend JE, Retz M: **Chemotherapy for bladder cancer: 2012 Update: From AUO ("Arbeitsgemeinschaft Urologische Onkologie") and IABC ("Interdisziplinäre Arbeitsgruppe BlasenCarcinom").** Urologe A 2012 **51:**829-36
257. Junker K, Hartmann A, Stöckle M: **Therapy selection in patients with advanced bladder cancer: Is molecular biology helpful?** Urologe A 2012 **51:**805-12
258. Zhu Z, Shen Z, Xu C: **Targeted therapy for advanced urothelial cancer of the bladder: Where do we stand?** Anticancer Agents Med Chem. 2012 May 2
259. Solsona E: **Words of wisdom. Re: International phase III trial assessing neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastin chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: long-term results of the BA06 30894 trial.** Eur Urol 2012 **61:**1063-4
260. Alva AS, Matin SF, Lerner SP, Siefker-Radtke AO: **Perioperative chemotherapy for upper tract urothelial cancer.** Nat Rev Urol. 2012 **9:**266-73
261. van der Steen-Banasik E, Ploeg M, Witjes JA, van Rey FS, Idema JG, Heijbroek RP et al: **Brachytherapy versus cystectomy in solitary bladder cancer: a case control, multicentre, East-Netherlands study.** Radiother Oncol. 2009 **93:**352-7
262. El-Abbady AA, Shoukry MS, Hanno AG, Younis LK, Abdel-Rahman M: **Repeated transurethral resection of recurrent superficial bladder tumors: does it affect the spread and stage of the tumor?** Scand J Urol Nephrol. 2002 **36:**60-4
263. Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A et al: **Structure and transcription of human papillomavirus sequences in**

cervical carcinoma cells. Nature. 1985 **314:**111-4
264. Strauss MJ, Shaw EW et al: **Crystalline virus-like particles from skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies.** Proc Soc Exp Biol Med 1949 **72:**46-50
265. Crawford LV, Crawford EM: **A comparative study of polyoma and papilloma viruses.** Virology 1963 **21:**258-63
266. Friedmann JC, Levy JP, Lasneret J, Thomas M, Boiron M, Bernard J: **Induction of subcutaneous fibromas in the golden hamster by inoculation of bovine papilloma acellular extracts.** C R Hebd Seances Acad Sci 1963 **257:**2328-31
267. Black PH, Hartley JW, Rowe WP, Huebner RJ: **Transforming of bovine tissue culture cells by bovine papilloma virus.** Nature 1963 **199:**1016-8
268. Bauknecht T, Angel P, Royer HD, zur Hausen H: **Identification of a negative regulatory domain in the human papillomavirus type 18 promoter: interaction with the transcriptional repressor YY1.** EMBO J 1992 **11:**4607-17
269. Meisels A, Fortin R: **Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns.** Acta Cytol 1976 **20:**505-9
270. Orth G**,** Favre M**,** Croissant O**: Characterization of a new type of human papillomavirus that causes skin warts.** J Virol 1977 **24:**108-20
271. Orth G**,** Jablonska S**,** Jarzabek-Chorzelska M**,** Obalek S**,** Rzesa G**,** Favre M **et al: Characteristics of the lesions and risk of malignant conversion associated with the type of human papillomavirus involved in epidermodysplasia verruciformis.** Cancer Res 1979 **39:**1074-82
272. Dürst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H: **A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions.** Proc Natl Acad Sci USA 1983 **80:**3812-5
273. Favre M, Orth G, Croissant O, Yaniv M: **Human papillomavirus DNA: physical mapping of the cleavage sites of Bacillus amyloliquefaciens (BamI) and Haemophilus parainfluenzae (HpaII) endonucleases and evidence for partial heterogeneity.** J Virol 1977 **21**(3):1210-4
274. Pfister H, zur Hausen H: **Characterization of proteins of human papilloma viruses (HPV) and antibody response to HPV 1.** Med Microbiol Immunol 1978 **166:**13-9
275. Finch JT, Klug A: **The structure of viruses of the papilloma-polyoma type 3. Structure of rabbit papilloma virus, with an appendix on the topography of contrast in negative-staining for electron-microscopy.** J Mol Biol 1965 **13:**1-12
276. Bonnez W, Da Rin C, Rose RC, Tyring SK, Reichman RC: **Evolution of the antibody response to human papillomavirus type 11 (HPV-11) in patients with condyloma acuminatum according to treatment response.** J Med Virol 1993 **39:**340-4
277. Chen EY, Howley PM, Levinson AD, Seeburg PH: **The primary structure and genetic organization of the bovine papillomavirus type 1 genome.** Nature 1982 **299:**529-34
278. Danos O, Katinka M, Yaniv M: **Human papillomavirus 1a complete DNA sequence: a novel type of genome organization among papovaviridae.** EMBO J 1982 **1:**231-6
279. Phelps WC, Yee CL, Münger K, Howley PM: **Functional and sequence similarities between HPV16 E7 and adenovirus E1A.** Curr Top Microbiol Immunol. 1989 **144:**153-66
280. Münger K, Phelps WC: **The human papillomavirus E7 protein as a transforming and transactivating factor.** Biochim Biophys Acta. 1993 **1155:**111-23

281. von Knebel Doeberitz M, Rittmüller C, zur Hausen H, Dürst M: **Inhibition of tumorigenicity of cervical cancer cells in nude mice by HPV E6-E7 anti-sense RNA.** Int J Cancer. 1992 **51:**831-4
282. Chan WK, Klock G, Bernard HU: **Progesterone and glucocorticoid response elements occur in the long control regions of several human papillomaviruses involved in anogenital neoplasia.** J Virol 1989 **63:**3261-9
283. Alvarado CS, Findley HW, Chan WC, Hnath RS, Abdel-Mageed A, Pais RC et al: **Natural killer cells in children with malignant solid tumors. Effect of recombinant interferon-alpha and interleukin-2 on natural killer cell function against tumor cell lines.** Cancer 1989 **63:**83-9
284. Gloss B, Yeo-Gloss M, Meisterenst M, Rogge L, Winnacker EL, Bernard HU: **Clusters of nuclear factor I binding sites identify enhancers of several papillomaviruses but alone are not sufficient for enhancer function.** Nucleic Acids Res 1989 **17:**3519-33
285. Offord EA, Beard P: **A member of the activator protein 1 family found in keratinocytes but not in fibroblasts required for transcription from a human papillomavirus type 18 promoter.** J Virol 1990 **64:**4792-8
286. Bauknecht T, Jundt F, Herr I, Oehler T, Delius H, Shi Y et al: **A switch region determines the cell type-specific positive or negative action of YY1 on the activity of the human papillomavirus type 18 promoter.** J Virol 1995 **69:**1-12
287. Tan SH, Leong LE, Walker PA, Bernard HU: **The human papillomavirus type 16 E2 transcription factor binds with low cooperativity to two flanking sites and represses the E6 promoter through displacement of Sp1 and TFIID.** J Virol 1994 **68:**6411-20
288. Mansur CP, Androphy EJ: **Cellular transformation by papillomavirus oncoproteins.** Biochim Biophys Acta 1993 **1155:**323-45
289. Barbosa MS, Lowy DR, Schiller JT: **Papillomavirus polypeptides E6 and E7 are zinc-binding proteins.** J Virol 1989 **63:**1404-7
290. Grossman SR, Laimins LA: **E6 protein of human papillomavirus type 18 binds zinc.** Oncogene 1989 **4:**1089-93
291. Gubits RM, Burke RE, Casey-McIntosh G, Bandele A, Munell F: **Immediate early gene induction after neonatal hypoxia-ischemia.** Brain Res Mol Brain Res 1993 **18:**228-38
292. Storey A, Banks L: **Human papillomavirus type 16 E6 gene cooperates with EJ-ras to immortalize primary mouse cells.** Oncogene 1993 **8:**919-24
293. Sedman SA, Barbosa MS, Vass WC, Hubbert NL, Haas JA, Lowy DR et al: **The full-length E6 protein of human papillomavirus type 16 has transforming and trans-activating activities and cooperates with E7 to immortalize keratinocytes in culture.** J Virol 1991 **65:**4860-6
294. Werness BA, Levine AJ, Howley PM: **Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53.** Science. 1990 **248:**76-9
295. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM: **The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53.** Cell. 1990 **63:**1129-36
296. Scheffner M, Münger K, Byrne JC, Howley PM: **The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinoma cell lines.** Proc Natl Acad Sci USA 1991 **88:**5523-7
297. Kuerbitz SJ, Plunkett BS, Walsh WV, Kastan MB: **Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation.** Proc Natl Acad Sci USA 1992 **89:**7491-5
298. Livingstone LR, White A, Sprouse J, Livanos E, Jacks T, Tlsty TD: **Altered cell cycle arrest and gene amplification potential accompany loss of wild-type p53.** Cell. 1992 **70:**923-35

299. Gu Z, Pim D, Labrecque S, Banks L, Matlashewski G: **DNA damage induced p53 mediated transcription is inhibited by human papillomavirus type 18 E6.** Oncogene. 1994 **9:**629-33
300. Xu C, Meikrantz W, Schlegel R, Sager R: **The human papilloma virus 16E6 gene sensitizes human mammary epithelial cells to apoptosis induced by DNA damage.** Proc Natl Acad Sci USA 1995 **92:**7829-33
301. Keen N, Elston R, Crawford L: **Interaction of the E6 protein of human papillomavirus with cellular proteins.** Oncogene 1994 **9:**1493-9
302. Whyte P, Buchkovich KJ, Horowitz JM, Friend SH, Raybuck M, Weinberg RA et al: **Association between an oncogene and an anti-oncogene: the adenovirus E1A proteins bind to the retinoblastoma gene product.** Nature 1988 **334:**124-9
303. Heck DV, Yee CL, Howley PM, Münger K: **Efficiency of binding the retinoblastoma protein correlates with the transforming capacity of the E7 oncoproteins of the human papillomaviruses.** Proc Natl Acad Sci USA 1992 **89:**4442-6
304. Jewers RJ, Hildebrandt P, Ludlow JW, Kell B, McCance DJ: **Regions of human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein required for immortalization of human keratinocytes.** J Virol 1992 **66:**1329-35
305. Wong HK, Ziff EB: **The human papillomavirus type 16 E7 protein complements adenovirus type 5 E1A amino-terminus-dependent transactivation of adenovirus type 5 early genes and increases ATF and Oct-1 DNA binding activity.** J Virol 1996 **70:**332-40
306. Seo YS, Müller F, Lusky M, Gibbs E, Kim HY, Phillips B et al: **Bovine papilloma virus (BPV)-encoded E2 protein enhances binding of E1 protein to the BPV replication origin.** Proc Natl Acad Sci USA 1993 **90:**2865-9
307. Ustav M, Stenlund A: **Transient replication of BPV-1 requires two viral polypeptides encoded by the E1 and E2 open reading frames.** EMBO J 1991 **10:**449-57
308. Bouvard V, Storey A, Pim D, Banks L: **Characterization of the human papillomavirus E2 protein: evidence of trans-activation and trans-repression in cervical keratinocytes.** EMBO J 1994 **13:**5451-9
309. Chiang CM, Ustav M, Stenlund A, Ho TF, Broker TR, Chow LT: **Viral E1 and E2 proteins support replication of homologous and heterologous papillomaviral origins.** Proc Natl Acad Sci USA 1992 **89:**5799-803
310. Doorbar J, Campbell D, Grand RJ, Gallimore PH: **Identification of the human papilloma virus-1a E4 gene products.** EMBO J 1986 **5:**355-62
311. Doorbar J, Ely S, Sterling J, McLean C, Crawford L: **Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network.** Nature 1991 **352:**824-7
312. Burkhardt A, Willingham M, Gay C, Jeang KT, Schlegel R: **The E5 oncoprotein of bovine papillomavirus is oriented asymmetrically in Golgi and plasma membranes.** Virology 1989 **170:**334-9
313. Leptak C, Ramon y Cajal S, Kulke R, Horwitz BH, Riese DJ 2nd, Dotto GP et al: **Tumorigenic transformation of murine keratinocytes by the E5 genes of bovine papillomavirus type 1 and human papillomavirus type 16.** J Virol 1991 **65:**7078-83
314. Hwang ES, Nottoli T, Dimaio D: **The HPV16 E5 protein: expression, detection, and stable complex formation with transmembrane proteins in COS cells.** Virology 1995 **211:**227-33`
315. Arends MJ, Wyllie AH, Bird CC: **Papillomaviruses and human cancer.** Hum Pathol 1990 **21:**686-98
316. Xi LF, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J, Hughes JP, Wheeler CM et al: **Genomic variation of human papillomavirus type 16 and risk for high**

grade cervical intraepithelial neoplasia. J Natl Cancer Inst 1997 **89:**796-802
317. Yamada T, Manos MM, Peto J, Greer CE, Munoz N, Bosch FX et al: **Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective.** J Virol 1997 **71:**2463-72
318. Stewart AC, Eriksson AM, Manos MM, Muñoz N, Bosch FX, Peto J et al: **Intratype variation in 12 human papillomavirus types: a worldwide perspective.** J Virol 1996 **70:**3127-36
319. Sanclemente G, Gill DK: **Human papillomavirus molecular biology and pathogenesis.** J Eur Acad Dermatol Venereol 2002 **16:**231-40
320. Giroglou T, Florin L, Schäfer F, Streeck RE, Sapp M: **Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate.** J Virol 2001 **75:**1565-70
321. Evander M, Frazer IH, Payne E, Qi YM, Hengst K, McMillan NA: **Identification of the alpha6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses.** J Virol 1997 **71:**2449-56
322. Ferenczy A, Jenson AB: **Tissue effects and host response. The key to the rational triage of cervical neoplasia.** Obstet Gynecol Clin North Am. 1996 **23:**759-82
323. Hadlich SF, Kohl PK: **Sexually transmitted diseases in children. A practical approach.** Dermatol Clin 1998 **16:**859-61
324. Friis S, Kjaer SK, Frisch M, Mellemkjaer L, Olsen JH: **Cervical intraepithelial neoplasia, anogenital cancer, and other cancer types in women after hospitalization for condylomata acuminata.** J Infect Dis 1997 **175:**743-8
325. Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T et al: **Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women.** J Infect Dis 1994 **169:**235-40
326. Brescia RJ, Jenson AB, Lancaster WD, Kurman RJ: **The role of human papillomaviruses in the pathogenesis and histologic classification of precancerous lesions of the cervix.** Hum Pathol 1986 **17:**552-9
327. Conway MJ, Meyers C: **Replication and assembly of human papillomaviruses.** J Dent Res 2009 **88:**307-17
328. Dürst M, Kleinheinz A, Hotz M, Gissmann L: **The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant genital tumours.** J Gen Virol 1985 **66:**1515-22
329. Finzer P, Aguilar-Lemarroy A, Rösl F: **The role of human papillomavirus oncoproteins E6 and E7 in apoptosis.** Cancer Lett. 2002 **188:**15-24
330. Jeon S, Lambert PF: **Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis.** Proc Natl Acad Sci USA 1995 **92:**1654-8
331. Ferenczy A, Franco E: **Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia.** Lancet Oncol 2002 **3:**11-6
332. Klaes R, Woerner SM, Ridder R, Wentzensen N, Duerst M, Schneider A et al: **Detection of high-risk cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer by amplification of transcripts derived from integrated papillomavirus oncogenes.** Cancer Res 1999 **59:**6132-6
333. Halbert CL, Demers GW, Galloway DA: **The E7 gene of human papillomavirus type 16 is sufficient for immortalization of human epithelial cells.** J Virol 1991 **65:**473-8
334. Gould VE, Schmitt M, Vinokurova S, Reddy VB, Bitterman P, Alonso A et al: **Human papillomavirus and p16 expression in inverted papillomas of the urinary bladder.** Cancer Lett 2010 **292**:171-5
335. Ben Selma W, Ziadi S, Ben Gacem R, Amara K, Ksiaa F, Hachana M et al: **Investigation of human papillomavirus in bladder cancer in a series of Tunisian patients.** Pathol Res Pract 2010 **206:**740-3
336. Gutiérrez J, Jiménez A, de Dios Luna J, Soto MJ, Sorlózano A: **Meta-analysis**

of studies analyzing the relationship between bladder cancer and infection by human papillomavirus. J Urol 2006 **176:**2474-81
337. Jimenez-Pacheco A, Exposito-Ruiz M, Arrabal-Polo MA, Lopez-Luque AJ: **Meta-analysis of studies analyzing the role of human papillomavirus in the development of bladder carcinoma.** Korean J Urol 2012 **53:**240-7
338. Cox JT: **Clinical role of HPV testing.** Obstet Gynecol Clin North Am. 1996 **23:**811-51
339. Cox JT: **HPV testing: is it useful in triage of minor Pap abnormalities?** J Fam Pract 1998 **46:**121-4
340. Baker GE, Tyring SK: **Therapeutic approaches to papillomavirus infections.** Dermatol Clin 1997 **15:**331-40
341. Mandic A, Vujkov T: **Human papillomavirus vaccine as a new way of preventing cervical cancer: a dream or the future?** Ann Oncol 2004 **15:**197-200
342. Poljak M: **Prophylactic human papillomavirus vaccination and primary prevention of cervical cancer: issues and challenges.** Clin Microbiol Infect. 2012 Jun 1
343. Slade BA, Leidel L, Vellozzi C, Woo EJ, Hua W, Sutherland A et al: **Postlicensure safety surveillance for quadrivalent human papillomavirus recombinant vaccine.** JAMA. 2009 **302:**750-7
344. Davison AJ: **Evolution of sexually transmitted and sexually transmissible human herpesviruses.** Ann NY Acad Sci 2011 **1230:**E37-49
345. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA: **Medical Microbiology (5th ed).** Elsevier Mosby. 2005 **ISBN 978-0-323-03303-9**
346. Bottieau E, Clerinx J, Van den Enden E, Van Esbroeck M, Colebunders R, Van Gompel A et al: **Infectious mononucleosis-like syndromes in febrile travelers returning from the tropics.** J Travel Med 2006 **13:**191–7
347. Weller TH, Stoddard MB: **Intranuclear inclusion bodies in cultures of human tissue inoculated with varicella vesicle fluid.** J Immunol 1952 **68:**311-9
348. Weller TH, Witton HM: **Propagation in tissue cultures of cytopathogenic agents apparently derived from varicella vesicle fluids.** AMA Am J Dis Child 1953 **86:**644-5
349. Maul GG, Ishov AM, Everett RD: **Nuclear domain 10 as preexisting potential replication start sites of herpes simplex virus type-1.** Virology. 1996 **217:**67-75
350. Rajcáni J, Vojvodová A: **The role of herpes simplex virus glycoproteins in the virus replication cycle.** Acta Virol 1998 **42:**103-18
351. Liu T, Tang Q, Hendricks RL: **Inflammatory infiltration of the trigeminal ganglion after herpes simplex virus type 1 corneal infection.** J Virol 1996 **70:**264-71
352. Grose C: **Glycoproteins of varicella-zoster virus and their herpes simplex virus homologs.** Rev Infect Dis 1991 **11:**S960-3
353. Patel R, Stanberry L, Whitley RJ: **Review of recent HSV recurrent-infection treatment studies.** Herpes 2007 **14:**23-6
354. Nahmias AJ, Lee FK, Beckman-Nahmias S: **Sero-epidemiological and -sociological patterns of herpes simplex virus infection in the world.** Scand J Infect Dis Suppl 1990 **69:**19-36
355. Whitley RJ, Roizman B: **Herpes simplex virus infections.** Lancet 2001 **357:**1513-8
356. Ward PL, Roizman B: **Herpes simplex genes: the blueprint of a successful human pathogen.** Trends Genet 1994 **10:**267-74
357. Spruance SL, Overall JC Jr, Kern ER, Krueger GG, Pliam V, Miller W: **The natural history of recurrent herpes simplex labialis: implications for antiviral therapy.** N Engl J Med 1977 **297:**69-75

358. Corey L, Adams HG, Brown ZA, Holmes KK: **Genital herpes simplex virus infections: clinical manifestations, course and complications.** Ann Intern Med 1983 **98:**958-72
359. Brown ZA, Benedetti JK, Watts DH, Selke S, Berry S, Ashley RL et al: **A comparison between detailed and simple histories in the diagnosis of genital herpes complicating pregnancy.** Am J Obstet Gynecol 1995 **172:**1299-303
360. Erlich KS, Mills J, Chatis P, Mertz GJ, Busch DF, Follansbee SE et al: **Acyclovir-resistant herpes simplex virus infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome.** N Engl J Med. 1989 **320:**293-6
361. Balfour HH: **Antiviral drugs.** N Engl J Med 1999 **340:**1255-68
362. Saral R, Burns WH, Laskin OL, Santos GW, Lietman PS: **Acyclovir prophylaxis of herpes-simplex-virus infections.** N Engl J Med 1981 **305:**63-7
363. Whitley RJ, Alford CA, Hirsch MS, Schooley RT, Luby JP, Aoki FY et al: **Vidarabine versus acyclovir therapy in herpes simplex encephalitis.** N Engl J Med 1986 **314:**144-9
364. Markert JM, Gillespie GY, Weichselbaum RR, Roizman B, Whitley RJ: **Genetically engineered HSV in the treatment of glioma: a review.** Rev Med Virol 2000 **10:**17-30
365. Gilden DH, Hayward AR, Krupp J, Hunter-Laszlo M, Huff JC, Vafai A: **Varicella-zoster virus infection of human mononuclear cells.** Virus Res 1987 **7:**117-29
366. Stow ND, Davison AJ: **Identification of a varicella-zoster virus origin of DNA replication and its activation by herpes simplex virus type 1 gene products.** J Gen Virol 1986 **67:**1613-23
367. Asano Y, Itakura N, Hiroishi Y, Hirose S, Ozaki T, Kuno K et al: **Viral replication and immunologic responses in children naturally infected with varicella-zoster virus and in varicella vaccine recipients.** J Infect Dis 1985 **152:**863-8
368. Chilek K, Routhouska S, Tamburro J: **Disseminated varicella zoster virus in an immunized child as the acquired immunodeficiency syndrome-defining illness.** Pediatr Dermatol 2010 **27:**192-4
369. Bloch KC, Johnson JG: **Varicella zoster virus transmission in the vaccine era: unmasking the role of herpes zoster.** J Infect Dis 2012 **205:**1331-3
370. Goulleret N, Mauvisseau E, Essevaz-Roulet M, Quinlivan M, Breuer J: **Safety profile of live varicella virus vaccine (Oka/Merck): five-year results of the European Varicella Zoster Virus Identification Program (EU VZVIP).** Vaccine 2010 **28:**5878-82
371. Hershey DW: **Cytomegalovirus infection.** Am J Obstet Gynecol 1991 **164:**1687
372. Sohn YM, Oh MK, Balcarek KB, Cloud GA, Pass RF: **Cytomegalovirus infection in sexually active adolescents.** J Infect Dis 1991 **163:**460-3
373. Ergazaki M, Xinarianos G, Giannoudis A, Markomichelakis N, Tsamparlakis J, Spandidos D: **Detection of HSV, CMV and EBV by the polymerase chain-reaction technique in patients with inflammatory eye-diseases.** Oncol Rep 1994 **1:**1207-10
374. Streblow DN, Nelson JA: **Models of HCMV latency and reactivation.** Trends Microbiol 2003 **11:**293-5
375. Kano Y, Shiohara T: **Current understanding of cytomegalovirus infection in immunocompetent individuals.** J Dermatol Sci 2000 **22:**196-204
376. Preece PM, Pearl KN, Peckham CS: **Congenital cytomegalovirus infection.** Arch Dis Child 1984 **59:**1120-6
377. Chen J, Ausayakhun S, Tangmonkongvoragul C, Ausayakhun S, Jirawison C, Margolis TP et al: **Incidence of cytomegalovirus retinitis in patients with**

human immunodeficiency virus following negative initial screening examination results. Arch Ophthalmol 2012 **130:**527-9

378. Toome BK, Bowers KE, Scott GA: **Diagnosis of cutaneous cytomegalovirus infection: a review and report of a case.** J Am Acad Dermatol 1991 **24:**860-7

379. Orasch C, Conen A: **Severe primary cytomegalovirus infection in the immunocompetent adult patient: A case series.** Scand J Infect Dis 2012 Jul 25

380. Tong L, Qian C, Davidson W, Massariol MJ, Bonneau PR, Cordingley MG et al: **Experiences from the structure determination of human cytomegalovirus protease.** Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 1997 **53:**682-90

381. Sellar RS, Peggs KS: **Therapeutic strategies for the prevention and treatment of cytomegalovirus infection.** Expert Opin Biol Ther 2012 Jun 1

382. Antonelli G, Turriziani O: **Antiviral therapy: old and current issues.** Int J Antimicrob Agents 2012 **40:**95-102

383. Barrett L, Walmsley S: **CMV retinopathy in the antiretroviral therapy era: prevention, diagnosis, and management.** Curr Infect Dis Rep 2012 **14:**435-44

384. Clark DA, Emery VC, Griffiths PD: **Cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and human herpesvirus-7 in hematological patients.** Semin Hematol 2003 **40:**154-62

385. Clark DA, Griffiths PD: **Human herpesvirus 6: relevance of infection in the immunocompromised host.** Br J Haematol 2003 **120:**384-95

386. Leach CT: **Human herpesvirus-6 and -7 infections in children: agents of roseola and other syndromes.** Curr Opin Pediatr 2000 **12:**269-74

387. Baillargeon J, Piper J, Leach CT: **Epidemiology of human herpesvirus 6 (HHV-6) infection in pregnant and nonpregnant women.** J Clin Virol 2000 **16:**149-57

388. Ljungman P, Wang FZ, Clark DA, Emery VC, Remberger M, Ringdén O et al: **High levels of human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood leucocytes are correlated to platelet engraftment and disease in allogeneic stem cell transplant patients.** Br J Haematol 2000 **111:**774-81

389. Leach CT: **Human herpesvirus-6 and -7 infections in children: agents of roseola and other syndromes.** Curr Opin Pediatr 2000 **12:**269-74

390. Boutolleau D, Fernandez C, André E, Imbert-Marcille BM, Milpied N, Agut H et al: **Human herpesvirus (HHV)-6 and (HHV)-7: two closely related viruses with different infection profiles in stem cell transplantation recipients.** J Infect Dis 2003 **187:**179-86

391. Wolz MM, Sciallis GF, Pittelkow MR: **Human Herpesviruses 6, 7, and 8 from a dermatologic perspective.** Mayo Clin Proc 2012 **Jul 21**

392. Tang H, Sadaoka T, Mori Y: **Human herpesvirus-6 and human herpesvirus-7 (HHV-6, HHV-7).** Uirusu 2010 **60:**221-35

393. Okano M, Gross TG: **Acute or chronic life-threatening diseases associated with Epstein-Barr virus infection.** Am J Med Sci 2012 **343:**483-9

394. Xu ZG, Iwatsuki K, Ohtsuka M, Oyama N, Matsui T, Kaneko F: **Polymorphism analysis of Epstein-Barr virus isolates from patients with cutaneous natural killer/T-cell lymphoproliferative disorders: A possible relation to the endemic occurrence of these diseases in Japan.** J Med Virol 2000 **62:**239-46

395. Iwatsuki K, Xu Z, Ohtsuka M, Kaneko F: **Cutaneous lymphoproliferative disorders associated with Epstein-Barr virus infection: a clinical overview.** J Dermatol Sci 2000 **22:**181-95

396. Yee J, White RE, Anderton E, Allday MJ: **Latent Epstein-Barr virus can**

inhibit apoptosis in B cells by blocking the induction of NOXA expression. PLoS One 2011 **6:**e28506

397. Hertle ML, Popp C, Petermann S, Maier S, Kremmer E, Lang R et al: **Differential gene expression patterns of EBV infected EBNA-3A positive and negative human B lymphocytes.** PLoS Pathog 2009 **5:**e1000506

398. Gümüş P, Tekşam O, Akinci H, Boztepe G, Kara A: **Gianotti-Crosti syndrome as the only manifestation of primary Epstein-Barr virus infection: a case report.** Turk J Pediatr 2008 **50:**302-4

399. Liloglou T, Giannoudis A, Ergazaki M, Koffa M, Spandidos D: **Detection of the epstein-barr-virus by the polymerase chain-reaction in immunosuppressed and immunocompromised patients.** Oncol Rep 1994 **1:**809-11

400. Sousa J, Cabezuelo L, Almeida S, Filipe C, Simão A, Carvalho A et al: **Aggressive NK/T cell leukemia/lymphoma associated with EBV.** Acta Med Port 2011 **3:**649-52

401. Motsch N, Alles J, Imig J, Zhu J, Barth S, Reineke T et al: **MicroRNA profiling of Epstein-Barr Virus-associated NK/T-Cell lymphomas by deep sequencing.** PLoS One 2012 **7:**e42193

402. Ruiss R, Jochum S, Wanner G, Reisbach G, Hammerschmidt W, Zeidler R: **A virus-like particle-based Epstein-Barr virus vaccine.** J Virol 2011 **85:**13105-13

403. van Kessel A, Quint KD: **Moritz Kaposi and his sarcoma.** Ned Tijdschr Geneeskd 2011 **155:**A3879

404. Beral V, Peterman TA, Berkelman RL, Jaffe HW: **Kaposi's sarcoma among persons with AIDS: a sexually transmitted infection?** Lancet 1990 **335:**123-8

405. Moore PS, Chang Y: **Detection of herpesvirus-like DNA sequences in Kaposi's sarcoma in patients with and without HIV infection.** N Engl J Med 1995 **332:**1181-5

406. Russo JJ, Bohenzky RA, Chien MC, Chen J, Yan M, Maddalena D et al: **Nucleotide sequence of the Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (HHV8).** Proc Natl Acad Sci USA 1996 **93:**14862-7

407. Bu W, Palmeri D, Krishnan R, Marin R, Aris VM, Soteropoulos P et al: **Identification of direct transcriptional targets of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus RTA lytic switch protein by conditional nuclear localization.** J Virol 2008 **82:**10709-23

408 Martin DF, Kuppermann BD, Wolitz RA, Palestine AG, Li H, Robinson CA: **Oral ganciclovir for patients with cytomegalovirus retinitis treated with a ganciclovir implant. Roche Ganciclovir Study Group.** N Engl J Med 1999 **340:**1063-70

409. Johne R, Buck CB, Allander T, Atwood WJ, Garcea RL, Imperiale MJ et al: **Taxonomical developments in the family Polyomaviridae.** Arch Virol 2011 156:1627-34

410. Gross L: **A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice.** Proc Soc Exp Biol Med 1953 **83:**414-21

411. Poulin DL, DeCaprio JA: **Is there a role for SV40 in human cancer?** J Clin Oncol 2006 **24:**4356-65

412. zur Hausen H: **SV40 in human cancers - an endless tale?** Int J Cancer 2003 **107:**687

413. Allander T, Andreasson K, Gupta S, Bjerkner A, Bogdanovic G, Persson MA et al: **Identification of a third human polyomavirus.** J Virol 2007 **81:**4130-6

414. Gaynor AM, Nissen MD, Whiley DM, Mackay IM, Lambert SB, Wu G et al: **Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections.** PLoS Pathog 2007 **3:**e64

415. Altman L: **Virus is linked to a powerful skin cancer.** New York Times Retrieved **18/01/2008**
416. Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS: **Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma.** Science 2008 **319:**1096-100
417. Shuda M, Arora R, Kwun HJ, Feng H, Sarid R, Fernández-Figueras MT et al: **Human Merkel cell polyomavirus infection I. MCV T antigen expression in Merkel cell carcinoma, lymphoid tissues and lymphoid tumors.** Int J Cancer 2009 **125:**1243-9
418. Schowalter RM, Pastrana DV, Pumphrey KA, Moyer AL, Buck CB: **Merkel cell polyomavirus and two previously unknown polyomaviruses are chronically shed from human skin.** Cell Host Microbe 2010 **7:**509-15
419. van der Meijden E, Janssens RW, Lauber C, Bouwes Bavinck JN, Gorbalenya AE, Feltkamp MC: **Discovery of a new human polyomavirus associated with trichodysplasia spinulosa in an immunocompromized patient.** PLoS Pathog 2010 **6:**e1001024
420. Brade L, Müller-Lantzsch N, zur Hausen H: **B-lymphotropic papovavirus and possibility of infections in humans.** J Med Virol **6:**301-8
421. Siebrasse EA, Reyes A, Lim ES, Zhao G, Mkakosya RS, Manary MJ et al: **Identification of MW polyomavirus, a novel polyomavirus in human stool.** J Virol 2012 **Jun 27**
422. www.microbiologybytes.com/virology/**Polyomaviruses**.html
423. White MK, Gordon J, Reiss K, Del Valle L, Croul S, Giordano A et al: **Human polyomaviruses and brain tumors.** Brain Res Brain Res Rev 2005 **50:**69-85
424. Kelley WL, Georgopoulos C: **The T/t common exon of simian virus 40, JC, and BK polyomavirus T antigens can functionally replace the J-domain of the Escherichia coli DNA J molecular chaperone.** Proc Natl Acad Sci USA 1997 **94:**3679-84
425. Sontag E, Fedorov S, Kamibayashi C, Robbins D, Cobb M, Mumby M: **The interaction of SV40 small tumor antigen with protein phosphatase 2A stimulates the map kinase pathway and induces cell proliferation.** Cell 1993 **75:**887-97
426. Watanabe G, Howe A, Lee RJ, Albanese C, Shu IW, Karnezis AN et al: **Induction of cyclin D1 by simian virus 40 small tumor antigen.** Proc Natl Acad Sci USA 1996 **93:**12861-6
427. Sariyer IK, Saribas AS, White MK, Safak M: **Infection by agnoprotein-negative mutants of polyomavirus JC and SV40 results in the release of virions that are mostly deficient in DNA content.** Virol J 2011 **8:**255
428. Drachenberg CB, Hirsch HH, Ramos E, Papadimitriou JC: **Polyomavirus disease in renal transplantation: review of pathological findings and diagnostic methods.** Hum Pathol 2005 **36:**1245-55
429. Viscidi RP, Clayman B: **Serological cross reactivity between polyomavirus capsids.** Adv Exp Med Biol 2006 **577:**73-84
430. Drews K, Bashir T, Dörries K: **Quantification of human polyomavirus JC in brain tissue and cerebrospinal fluid of patients with progressive multifocal leukoencephalopathy by competitive PCR.** J Virol Methods 2000 **84:**23-36
431. Nickeleit V, Hirsch HH, Binet IF, Gudat F, Prince O, Dalquen P et al: **Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to manifest disease.** J Am Soc Nephrol 1999 **10:**1080-9
432. Randhawa PS, Vats A, Zygmunt D, Swalsky P, Scantlebury V, Shapiro R et al: **Quantitation of viral DNA in renal allograft tissue from patients with BK virus nephropathy.** Transplantation 2002 **74:**485-8
433. Busam KJ, Jungbluth AA, Rekthman N, Coit D, Pulitzer M, Bini J et al: **Merkel cell polyomavirus expression in merkel cell carcinomas and its absence**

in combined tumors and pulmonary neuroendocrine carcinomas. Am J Surg Pathol 2009 **33:**1378-85

434. Kean JM, Rao S, Wang M, Garcea RL: **Seroepidemiology of human polyomaviruses.** PLoS Pathog 2009 **5:**e1000363

435. Tolstov YL, Pastrana DV, Feng H, Becker JC, Jenkins FJ, Moschos S et al: **Human Merkel cell polyomavirus infection II. MCV is a common human infection that can be detected by conformational capsid epitope immunoassays.** Int J Cancer 2009 **125:**1250-6

436. Pastrana DV, Tolstov YL, Becker JC, Moore PS, Chang Y, Buck CB: **Quantitation of human seroresponsiveness to Merkel cell polyomavirus.** PLoS Pathog 2009 **5:**e1000578

437. Carter JJ, Paulson KG, Wipf GC, Miranda D, Madeleine MM, Johnson LG et al: **Association of Merkel cell polyomavirus-specific antibodies with Merkel cell carcinoma.** J Natl Cancer Inst 2009 **101:**1510-22

438. Hachana M, Amara K, Ziadi S, Gacem RB, Korbi S, Trimeche M: **Investigation of human JC and BK polyomaviruses in breast carcinomas.** Breast Cancer Res Treat 2012 **133:**969-77

439. Sharma BN, Li R, Bernhoff E, Gutteberg TJ, Rinaldo CH: **Fluoroquinolones inhibit human polyomavirus BK (BKV) replication in primary human kidney cells.** Antiviral Res 2011 **92:**115-23

440. Gardner SD, Field AM, Coleman DV, Hulme B: **New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation.** Lancet. 1971 **1:**1253-7

441. Gupta G, Shapiro R, Thai N, Randhawa PS, Vats A: **Low incidence of BK virus nephropathy after simultaneous kidney pancreas transplantation.** Transplantation 2006 **82:**382-8

442. Egli A, Infanti L, Dumoulin A, Buser A, Samaridis J, Stebler C et al: **Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors.** J Infect Dis 2009 **199:**837-46

443. Fishman JA: **BK virus nephropathy-polyomavirus adding insult to injury.** N Engl J Med 2002 **347:**527-30

444. Bista BR, Ishwad C, Wadowsky RM, Manna P, Randhawa PS, Gupta G et al: **Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of BK virus.** J Clin Microbiol 2007 **45:**1581-7

445. Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH: **Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy.** Lancet. 1971 **1:**1257-60

446. Agostini HT, Ryschkewitsch CF, Mory R, Singer EJ, Stoner GL: **JC virus (JCV) genotypes in brain tissue from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) and in urine from controls without PML: increased frequency of JCV type 2 in PML.** J Infect Dis 1997 **176:**1-8

447. Shackelton LA, Rambaut A, Pybus OG, Holmes EC: **JC virus evolution and its association with human populations.** J Virol. 2006 **80:**9928-33

448. Padgett BL, Walker DL: **Prevalence of antibodies in human sera against JC virus, an isolate from a case of progressive multifocal leukoencephalopathy.** J Infect Dis 1973 **127:**467-70

449. Bofill-Mas S, Formiga-Cruz M, Clemente-Casares P, Calafell F, Girones R: **Potential transmission of human polyomaviruses through the gastrointestinal tract after exposure to virions or viral DNA.** J Virol 2001 **75:**10290-9

450. Pavesi A: **Utility of JC polyomavirus in tracing the pattern of human migrations dating to prehistoric times.** J Gen Virol 2005 **86:**1315-26

451. Monaco MC, Jensen PN, Hou J, Durham LC, Major EO: **Detection of JC virus DNA in human tonsil tissue: evidence for site of initial viral infection.** J Virol 1998 **72:**9918-23

452. Ricciardiello L, Laghi L, Ramamirtham P, Chang CL, Chang DK, Randolph AE et al: **JC virus DNA sequences are frequently present in the human upper and lower gastrointestinal tract.** Gastroenterology 2000 **119:**1228-35
453. Harvey AR, Champe CP: **Microbiology – 3rd edition.** Lippincott – Williams & Wilkins, Philadelphia USA **2012**
454. Elphick GF, Querbes W, Jordan JA, Gee GV, Eash S, Manley K et al: **The human polyomavirus, JCV, uses serotonin receptors to infect cells.** Science 2004 **306:**1380-3
455. White FA 3rd, Ishaq M, Stoner GL, Frisque RJ: **JC virus DNA is present in many human brain samples from patients without progressive multifocal leukoencephalopathy.** J Virol. 1992 **66:**5726-34
456. Singh NN, Thomas PF: **Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in HIV.** http://emedicine.medscape.com/article/1167145-overview
457. Theodoropoulos G, Panoussopoulos D, Papaconstantinou I, Gazouli M, Perdiki M, Bramis J et al: **Assessment of JC polyoma virus in colon neoplasms.** Dis Colon Rectum 2005 **48:**86-91
458. gene.com/gene/**products/information**/pdf/**rituxan-prescribing**.pdf
459. Gofton TE, Al-Khotani A, O'Farrell B, Ang LC, McLachlan RS: **Mefloquine in the treatment of progressive multifocal leukoencephalopathy.** J Neurol Neurosurg Psychiatry 2011 **82:**452-5
460. Lopez-Beltran A, Montironi R: **Non-invasive urothelial neoplasms: according to the most recent WHO classification.** Eur Urol 2004 **46:**170-6
461. Greene FL, Sobin LH: **The staging of cancer: a retrospective and prospective appraisal.** CA Cancer J Clin 2008 **58:**180-90
462. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA et al: **Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia**. Science 1985 **230:**1350-4
463. Kawasaki E, Erlich H: **Polymerase chain reaction and analysis of cancer cell markers.** J Natl Cancer Inst 1990 **82:**806-7.
464. Wright PA, Wynford-Thomas D: **The polymerase chain reaction: miracle or mirage? A critical review of its uses and limitations in diagnosis and research.** J Pathol 1990 **162:**99-117
465. Arnheim N, Erlich H: **Polymerase chain reaction strategy.** Annu Rev Biochem 1992 **61:**131-56
466. Siebert PD, Larrick JW: **Competitive PCR.** Nature 1992 **359:**557-8
467. Anwar K, Naiki H, Nakakuki K, Inuzuka M: **High frequency of human papillomavirus infection in carcinoma of the urinary bladder.** Cancer 1992 **70**:1967-73
468. Boucher NR, Scholefield JH, Anderson JB: **The aetiological significance of human papillomavirus in bladder cancer.** Br J Urol 1996 **78**:866-9
469. Chang F, Lipponen P, Tervahauta A, Syrjänen S, Syrjänen K: **Transitional cell carcinoma of the bladder: failure to demonstrate human papillomavirus deoxyribonucleic acid by in situ hybridization and polymerase chain reaction.** J Urol 1994 **152:**1429-33
470. Shigehara K, Sasagawa T, Kawaguchi S, Nakashima T, Shimamura M, Maeda Y, Konaka H, Mizokami A, Koh E, Namiki M: **Etiologic role of human papillomavirus infection in bladder carcinoma.** Cancer 2011 **117**:2067-76
471. Badawi H, Ahmed H, Ismail A, Diab M, Moubarak M, Badawy A, Saber M: **Role of human papillomavirus types 16, 18, and 52 in recurrent cystitis and urinary bladder cancer among Egyptian patients.** Medscape J Med 2008 **10:**232
472. Koffa M, Koumantakis E, Ergazaki M, Tsatsanis C, Spandidos DA: **Association of herpesvirus infection with the development of genital cancer.** Int J Cancer 1995 **63:**58-62

473. Gazzaniga P, Vercillo R, Gradilone A, Silvestri I, Gandini O, Napolitano M et al: **Prevalence of papillomavirus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and herpes simplex virus type 2 in urinary bladder cancer.** J Med Virol 1998 **55:**262-7

474. Polesel J, Gheit T, Talamini R, Shahzad N, Lenardon O, Sylla B et al: **Urinary human polyomavirus and papillomavirus infection and bladder cancer risk.** Br J Cancer 2012 **106:**222-6

475. Rollison DE, Sexton WJ, Rodriguez AR, Kang LC, Daniel R, Shah KV: **Lack of BK virus DNA sequences in most transitional-cell carcinomas of the bladder.** Int J Cancer 2007 **120**:1248-51

476. Loghavi S, Bose S. **Polyomavirus infection and urothelial carcinoma.** Diagn Cytopathol 2011 **39:**531-5

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΕΠΩΝΥΜΟ:	Παναγιωτάκης
ΟΝΟΜΑ:	Γεώργιος
ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ:	Ιωάννης
ΟΝΟΜΑ ΜΗΤΡΟΣ:	Βικτωρία
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ:	12 Μαΐου 1975
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ:	Ηράκλειο Κρήτης
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ:	Έγγαμος
ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΣΥΖΥΓΟΥ:	Μαρία Ν. Χατζηϊωάννου MD, PhD Ειδικευόμενη Ακτινοδιαγνωστικής Ακτινολογικό Τμήμα Γεν. Νοσ. Ηρακλείου Κρήτης «Βενιζέλειο – Πανάνειο»
ΤΕΚΝΑ:	1 αγόρι – Ιωάννης Γ. Παναγιωτάκης
ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ:	Ελληνική
ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ:	Ιατρός – Χειρουργός Επικουρικός Επιμελητής Β’ Χειρουργική Κλινική Γενικό Νοσοκομείο Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ:	Ανθέων 3, Μεσαμπελιές ΤΚ 71409, Ηράκλειο Κρήτης
ΤΗΛΕΦΩΝΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ:	Κινητό: 6973961000 Εργασία: 22730-83245
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΤΑΧΥΔΡΟΜΕΙΟ:	gpanagiotakis@yahoo.com gpanagiotakis@hotmail.com

ΣΠΟΥΔΕΣ

ΙΟΥΝΙΟΣ 1993:	Απολυτήριο Γενικού Λυκείου με γενικό βαθμό 18 $^{4}/_{11}$
ΙΟΥΛΙΟΣ 2001:	Πτυχίο Ιατρικής (Laurea in Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Ancona – Italia) με γενικό βαθμό 98/110
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ 2002:	Απόκτηση Άδειας Ασκήσεως Ιατρικού Επαγγέλματος, έπειτα από επιτυχή έκβαση στις γραπτές & προφορικές εξετάσεις του Υπουργείου Υγείας της Ιταλικής Δημοκρατίας, με γενικό βαθμό 97/110 (Ministero della Salute – Repubblica Italiana)
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2002:	Χορήγηση Άδειας Ασκήσεως Ιατρικού Επαγγέλματος, έπειτα από αίτησή μου, από τη Διεύθυνση Δημόσιας Υγείας Νομού Ηρακλείου (Αρ. Πρωτ. 17355/11-9-2002)
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2007:	Αναγνώριση – Ισοτιμία του Πανεπιστημιακού Τίτλου «Laurea in Medicina e Chirurgia» από το Δ.Ο.Α.Τ.Α.Π., με βαθμολογική αντιστοιχία: 7,99 "Λίαν Καλώς" (Αριθμός Πράξης: 10-1212/2007). Αθήνα 3 Σεπτεμβρίου 2007
ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2007:	Έναρξη Διδακτορικής Διατριβής με θέμα «Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΘΗΛΩΜΑΤΟΣ (HPV) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ (Real Time PCR)», στο Τμήμα Ιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας, του Πανεπιστημίου Κρήτης, με επιβλέποντα τον Καθηγητή Δ. Α. Σπαντίδο
ΜΑΙΟΣ 2011:	Ολοκλήρωση Ειδικότητας στη Γενική Χειρουργική στο Α' Χειρουργικό Τμήμα στο «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου
ΙΟΥΝΙΟΣ 2011:	Επιτυχής έκβαση Εξετάσεων και απόκτηση Τίτλου Ιατρικής Ειδικότητας στη Χειρουργική. Αριθμ. Πρωτ.: 3120, 5535 – 12/07/2011

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ:

Από 24-11-2011 έως 23-11-2012: Επικουρικός Επιμελητής Β' Χειρουργικής στη Χειρουργική Κλινική του Γ.Ν. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων», με Αριθμ. Πρωτ.: Υ10α/Γ.Π. 97669/11-14.11.2011

Από 17-06-2010 έως 12-05-2011: Ειδικευόμενος Χειρουργικής στο Α΄ Χειρουργικό Τμήμα του Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», υπό τη διεύθυνση του κ. Κανδυλάκη Στυλ. (έως 31/12/2010) και του κ. Ροκαδάκη Λεων. (από 01/01/2011)

Από 16-12-2009 έως 16-06-2010: Ειδικευόμενος Χειρουργικής στη Χειρουργική Κλινική Μεταμοσχεύσεων του ΑΠΘ στο Γεν. Νοσ. Θεσσαλονίκης «Ιπποκράτειο», υπό τη διεύθυνση του Καθ. Τακούδα Δημ., με συμμετοχή σε όλες τις δραστηριότητες της κλινικής καθώς και στις ενεργείς εφημερίες

Από 15-06-2009 έως 15-12-2009: Ειδικευόμενος Ιατρός στη Β' Ορθοπαιδική Κλινική του «Βενιζέλειου – Πανάνειου» Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου υπό τη διεύθυνση του Διευθυντή κ. Ξυλούρη Εμμ. (τακτικά εξωτερικά ιατρεία και τμήμα επειγόντων, νοσηλεία ασθενών και μετεγχειρητική παρακολούθηση των χειρουργημένων ασθενών στην Κλινική και στη Μ.Ε.Θ.)

Από 14-12-2008 έως 14-06-2009: Ειδικευόμενος Ιατρός στη Νευροχειρουργική Κλινική του «Βενιζέλειου – Πανάνειου» Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου υπό τη διεύθυνση του Συντονιστή Διευθυντή κ. Αρβανιτάκη Δημ. (τακτικά εξωτερικά ιατρεία και τμήμα επειγόντων, νοσηλεία ασθενών και μετεγχειρητική παρακολούθηση των χειρουργημένων ασθενών στην Κλινική και στη Μ.Ε.Θ.)

Από 16-08-2005 έως 13-12-2008: Ειδικευόμενος Χειρουργικής (με την Υ10δ/70002/15.7.05 απόφαση του Υ.Υ.Κ.Α.) στο Α΄ Χειρουργικό Τμήμα του Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο», υπό τη διεύθυνση του Συντονιστή Διευθυντή κ. Κανδυλάκη Στυλ.

Από 15-12-2004 έως 15-08-2005: Επιστημονικός συνεργάτης της ιδιωτικής κλινικής Creta InterClinic με συμμετοχή σε ενεργείς εφημερίες, σε χειρουργικές επεμβάσεις Γενικής Χειρουργικής, καθώς και σε άλλες δραστηριότητες της κλινικής (τακτικά ιατρεία, διακομιδές με ασθενοφόρο, αεροδιακομιδές)

Από 16-02-2004 έως 3-12-2004: Εκπλήρωση Στρατιωτικής Θητείας με την ειδικότητα του Οπλίτη Ιατρού

Από 07-01-2003 έως 22-01-2004: Εκπλήρωση Υποχρέωσης Υπηρεσίας Υπαίθρου στο Κ.Υ. Άντισσας για το Π.Ι. Σιγρίου (σύμφωνα με την υπ. Αριθμ. Υ10γ/οικ. 93515/25-9-2002 απόφαση του Υ.Υ.Π.)

Από 07-10-2002 έως 06-01-2003: 3μηνη άσκηση στα τακτικά και έκτακτα παθολογικά, καρδιολογικά και χειρουργικά εξωτερικά Ιατρεία του Γεν. Νοσ. Μυτιλήνης «Βοστάνειο» (σύμφωνα με την υπ. Αριθμ. Υ10γ/οικ. 93515/25-9-2002 απόφαση του Υ.Υ.Π.)

Από 01-08-2000 έως 31-07-2001: Επιστημονικός συνεργάτης (Tirocinio Pre-Laurea) της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου της Ancona υπό τη διεύθυνση του καθηγητή Prof. Giuseppe Gioele Garzetti.

Από 01-09-1997 έως 31-07-2000: Επιστημονικός συνεργάτης (Tirocinio Pratico Elettivo) της Θωρακοχειρουργικής Κλινικής του Πανεπιστημίου της υπό τη διεύθυνση του καθηγητή Prof. Aroldo Fianchini

ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΗ ΘΗΤΕΙΑ

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2004: Κατάταξη στο Κ.Ε.ΥΓ. (Άρτα) και απόκτηση ειδικότητας του Οπλίτη Ιατρού (2004 Α' ΕΣΣΟ)

ΜΑΙΟΣ 2004: Μετάθεση στο 228 Μ/Κ – ΤΕ (Χίος) και υπηρέτηση ως Οπλίτης Ιατρός – Διμοιρίτης Υγειονομικού Τάγματος και Ιατρός Στρατοπέδου ¨Λοχαγού Γ.

Αναστασίου¨ – Απονομή Τιμητικού Τίτλου «Υποδεκανέα» λόγω ήθους, εξαίρετης επίδοσης στην υπηρεσία και αφοσίωσης στο καθήκον.

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2004: Μετάθεση στο 547 ΤΠ – ΚΕΝ (Ρέθυμνο) και υπηρέτηση ως Οπλίτης Ιατρός Διμοιρίας Υγειονομικού και Στρατοπέδου ¨Λοχαγού Γ. Θεοδωράκη¨ καθώς και Ιατρός ΣΤ.ΕΠ. Φρουράς Νομού Ρεθύμνης

ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2004: Ολοκλήρωση της Στρατιωτικής Θητείας και απόλυση από το 547 ΤΠ – ΚΕΝ (03/12/2004)

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

- Άριστη γνώση της Ιταλικής Γλώσσας
- Πολύ καλή γνώση της Αγγλικής Γλώσσας (F.C.E. University of Cambridge)
- Άριστη γνώση της Αγγλικής Ιατρικής Ορολογίας
- Άριστη γνώση της Ιταλικής Ιατρικής Ορολογίας

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΔΙΑΤΡΙΒΕΣ – ΜΕΛΕΤΕΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕ ΘΕΜΑ:

“MODULAZIONE CITOCHINICA IN PAZIENTI CON ENDOMETRIOSI. NUOVI ASPETTI PATOGENETICI” (Κυτταροκινική διαφοροποίηση σε ασθενείς με ενδομητρίωση: νέες εκφράσεις της παθογένειας), που εκπονήθηκε στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου της Ancona και παρουσιάστηκε ενώπιον Επιτροπής Καθηγητών προεδρεύοντως του Προέδρου της Ιατρικής Σχολής Prof. Aless. Rappelli, στις 19 Ιουλίου 2001, ημέρα ορκωμοσίας και αποφοίτησης.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕ ΘΕΜΑ:

“Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΘΗΛΩΜΑΤΟΣ (HPV) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ (Real-Time Quantitative PCR)”. Η διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο της Κλινικής Ιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης, υπό την επίβλεψη του Καθ. Δ.Α. Σπαντίδου και συνεπιβλέποντες τους κκ. Γ. Σουρβίνου Αναπλ. Καθ. Κλινικής Ιολογίας και Χ. Τσατσάνη Αναπλ. Καθ. Κλινικής Χημείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης (Αριθμ. Πρωτ. 575 – 26/11/2007)

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Α. ΩΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΟΜΕΝΟΣ

1. Επιτυχής ολοκλήρωση του προγράμματος **"ATLS Course for Doctors, according to the standards established by the ACS Committee on Trauma"**, Hellenic National Center, Patras, 19 – 20 September 2005. (Date of Expiration September 2009, CS #: 27681 – P)

2. **4th EUROPEAN CONGRESS ON EMERGENCY MEDICINE.** Participation at the Hands on Workshop entitled: "Emergency Department Triage", Saturday, October 7th 2006, Crete – Greece

3. **25ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2006. ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ:** ¨Ηπέρηχοι στη Χειρουργική – Όπλο στα Χέρια του Χειρουργού¨, (3 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, απόφαση Π.Ι.Σ. Αρ. Πρωτ. 2128/7-9-06), Αμφιθέατρο του Νοσοκομείου ¨Ερρίκος Ντυνάν¨, Αθήνα Κυριακή 19 Νοεμβρίου 2006

4. **25ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2006. ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ:** ¨Βασικές Αρχές της Λαπαροσκοπικής Χειρουργικής – Προχωρημένη Λαπαροσκοπική Χειρουργική Σήμερα¨, (3 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, απόφαση Π.Ι.Σ. Αρ. Πρωτ. 2128/7-9-06), Αμφιθέατρο του Νοσοκομείου ¨Ερρίκος Ντυνάν¨, Αθήνα Δευτέρα 20 Νοεμβρίου 2006

5. **25ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2006. ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ:** ¨Παρεμβατική Ενδοσκόπηση και Παρεμβατική Ακτινολογία σε Χοληφόρα – Ήπαρ – Πάγκρεας¨, (3 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, απόφαση Π.Ι.Σ. Αρ. Πρωτ. 2128/7-9-06), Αμφιθέατρο του Νοσοκομείου ¨Ερρίκος Ντυνάν¨, Αθήνα Δευτέρα 20 Νοεμβρίου 2006

6. **25ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2006. ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ:** ¨Η αντιμετώπιση του τραυματία – Κλινική εκπαίδευση σε περιβάλλον εικονικής πραγματικότητας και πραγματικού χρόνου¨, (3 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, απόφαση Π.Ι.Σ. Αρ. Πρωτ. 2128/7-9-06), Hotel Hilton, Αθήνα Τετάρτη 22 Νοεμβρίου 2006

7. **25ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2006. ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ:** ¨Ενεργειακά Συστήματα Αιμόστασης και Διατομής των Ιστών¨, (3 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, απόφαση Π.Ι.Σ. Αρ. Πρωτ. 2128/7-9-06), Hotel Hilton, Αθήνα Πέμπτη 23 Νοεμβρίου 2006

8. **25ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2006. ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ:** ¨Χειρουργική Ήπατος¨, (3 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, απόφαση Π.Ι.Σ. Αρ. Πρωτ.

2128/7-9-06), Hotel Hilton, Αθήνα Παρασκευή 24 Νοεμβρίου 2006

9. **25^{ο} ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2006. ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ:** ¨Οξεία παγκρεατίτις – Χρόνια παγκρεατίτις¨, (3 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, απόφαση Π.Ι.Σ. Αρ. Πρωτ. 2128/7-9-06), Hotel Hilton, Αθήνα Σάββατο 25 Νοεμβρίου 2006

10. **10^{ο} Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο στη Γαστρεντερική Κινητικότητα και Αισθητικότητα που οργανώθηκε υπό την αιγίδα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης και της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών.** 4^{ος} κύκλος – 1^{η} ενότητα: Οισοφάγος. Διάρκεια: 21 ώρες – Μόρια CME:18, έλαβε χώρα στο Πολιτιστικό Κέντρο Δελφών από 21 – 24 Ιανουαρίου 2009, με επιτυχή έκβαση στις γραπτές εξετάσεις

11. Επιτυχής ολοκλήρωση του προγράμματος **"ATLS Course for Doctors – Reverification Course, according to the standards established by the ACS Committee on Trauma"**, Crete Regional Center, Heraklion/Crete, 26 – 27 September 2009. (Date of Expiration September 2013, CS #: 35042 – P/SR)

12. **11^{ο} Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο στη Γαστρεντερική Κινητικότητα και Αισθητικότητα που οργανώθηκε υπό την αιγίδα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης και της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών.** 4^{ος} κύκλος – 2^{η} ενότητα: Στόμαχος – Λεπτό Έντερο – Χοληφόρα. Διάρκεια: 21 ώρες – Μόρια CME:18, έλαβε χώρα στο Λουτράκι στο Ξενοδοχείο Poseidon Resort από 28 – 31 Ιανουαρίου 2010, με επιτυχή έκβαση στις γραπτές εξετάσεις

13. **Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Χειρουργικής Παχέος Εντέρου – 3^{ος} Κύκλος που οργανώθηκαν υπό την αιγίδα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης.** 1^{η} Συνάντηση του 3^{ου} κύκλου Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων Χειρουργικής Παθολογίας Παχέος Εντέρου που πραγματοποιήθηκε στο Ρέθυμνο στο ξενοδοχείο Rithymna Beach στις 3 & 6 Ιουνίου 2010

14. **12^{ο} Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο στη Γαστρεντερική Κινητικότητα και Αισθητικότητα που οργανώθηκε υπό την αιγίδα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης και της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών.** 4^{ος} κύκλος – 3^{η} ενότητα: Παχύ Έντερο – Ορθοπρωκτική Περιοχή. Διάρκεια: 21 ώρες – Μόρια CME:18, έλαβε χώρα στο Ξενοδοχείο PARK στο Βόλο, από 14 – 16 Ιανουαρίου 2011, με επιτυχή έκβαση στις γραπτές εξετάσεις

15. **Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Χειρουργικής Παχέος Εντέρου – 3^{ος} Κύκλος που οργανώθηκαν υπό την αιγίδα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης.** 2^{η} Συνάντηση του 3^{ου} κύκλου Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων Χειρουργικής Παθολογίας Παχέος Εντέρου που πραγματοποιήθηκε στο Βόλο στο ξενοδοχείο PARK 10 – 13 Φεβρουαρίου 2011

Β. ΩΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΗΣ

Β.1. Συμμετοχή ως εκπαιδευτής στα προγράμματα της Χειρουργικής Νοσηλευτικής Ειδικότητας για Νοσηλευτές Τ.Ε. που οργανώνει η Νοσηλευτική Υπηρεσία του «Βενιζέλειου – Πανάνειου» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

Β.1.1. Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα της Χειρουργικής Νοσηλευτικής Ειδικότητας του έτους 2005 – 2006 και παρουσίαση του μαθήματος με τίτλο: ¨Έγκαυματική νόσος – Πρώτες βοήθειες – Θεραπευτική αντιμετώπιση¨, διάρκειας δύο (2) ωρών

Β.1.2. Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα της Χειρουργικής Νοσηλευτικής Ειδικότητας του έτους 2006 – 2007 και παρουσίαση του μαθήματος με τίτλο: ¨Ca Παγκρέατος¨, διάρκειας 2,5 ωρών

Β.1.3. Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα της Χειρουργικής Νοσηλευτικής Ειδικότητας για την Α΄ Εκπαιδευτική Ενότητα του έτους 2007 – 2008 (συνολικής διάρκειας των μαθημάτων 9,5 ώρες) και παρουσίαση των μαθημάτων με τίτλο:

Β.1.3.1. ¨Λαπαροσκοπικές Επεμβάσεις¨, Πέμπτη 06/12/2007

Β.1.3.2. ¨Οξεία Παγκρεατίτιδα¨, Παρασκευή 28/12/2007

Β.1.3.3. ¨Πολυτραυματίας – Πρώτη αντιμετώπιση¨, Παρασκευή 04/01/2008

Β.1.3.4. ¨Έγκαυματική νόσος¨, Παρασκευή 11/01/2008

Β.1.4. Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα της Χειρουργικής Νοσηλευτικής Ειδικότητας για τη Γ΄ Εκπαιδευτική Ενότητα του έτους 2007 – 2008 (συνολικής διάρκειας των μαθημάτων 8 ώρες) και παρουσίαση των μαθημάτων με τίτλο:

Β.1.4.1. ¨Στομίες – Συρίγγια – Επιπλοκές¨, Παρασκευή 25/05/2008

Β.1.4.2. ¨Ca Παγκρέατος. Θεραπευτική αντιμετώπιση¨, Παρασκευή 23/05/2008

Β.1.4.3. ¨Ca παχέος εντέρου. Προληπτικά μέτρα – Ιατρική αντιμετώπιση¨, Παρασκευή 13/06/2008

Β.1.4.4. ¨Ca μαστού. Επιδημιολογία – Θεραπευτικές διαδικασίες¨, Παρασκευή 20/06/2008

Β.1.5. Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα της Χειρουργικής Νοσηλευτικής Ειδικότητας για την Α΄ Εκπαιδευτική Ενότητα του έτους 2008 – 2009 (συνολικής διάρκειας των μαθημάτων 6 ώρες) και παρουσίαση των μαθημάτων με τίτλο:

Β.1.5.1. ¨Κεντρικοί φλεβικοί καθετήρες¨, Πέμπτη 06/11/2008

Β.1.5.2. ¨Λαπαροσκοπικές Επεμβάσεις¨, Παρασκευή 05/12/2008

Β.1.5.3. ¨Οξεία παγκρεατίτιδα¨, Παρασκευή 09/01/2009

Β.2 Συμμετοχή ως Καθηγητής στο πρόγραμμα του ΤΕΕ Νοσηλευτικής – Β΄ Τάξης, Α΄ και Β΄ Εξαμήνου, του εκπαιδευτικού έτους 2006 – 2007 και παρουσίαση του μαθήματος με τίτλο: ¨Φαρμακολογία¨ διάρκειας δύο (2) ωρών εβδομαδιαίως

Β.3. Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα της ΜΕΘ του ¨Βενιζέλειου – Πανάνειου¨ Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου για το έτος 2008 – 2009 και παρουσίαση του μαθήματος με θέμα: Χειρουργική αντιμετώπιση των επιπλοκών της οξείας παγκρεατίτιδας¨, Τετάρτη 19 Νοεμβρίου 2008

Β.4. Οργάνωση και ενεργό συμμετοχή στο Πρόγραμμα Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων της Α΄ Χειρουργικής Κλινικής του ¨Βενιζέλειου – Πανάνειου¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου, από το Σεπτέμβριο 2005 έως και το Φεβρουάριο 2011, με παρουσίαση μεγάλου αριθμού μαθημάτων, ιατρικών θεμάτων και ενδιαφερόντων κλινικών περιστατικών προς το Ιατρικό και Νοσηλευτικό προσωπικό του Νοσοκομείου

Β.5. Οργάνωση και ενεργό συμμετοχή στο Πρόγραμμα Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων της Χειρουργικής Κλινικής του Γεν. Νοσ. Σάμου ¨Ο Άγιος Παντελεήμων¨, από το Νοέμβριο 2011 έως και τον Ιούνιο 2012, με παρουσίαση και επιμέλεια μεγάλου αριθμού μαθημάτων, ιατρικών θεμάτων και ενδιαφερόντων κλινικών περιστατικών προς το Ιατρικό και Νοσηλευτικό προσωπικό του Νοσοκομείου

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Α. ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Α.1. ΣΤΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΟΓΚΟΙ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΜΕ VIDEO ENDOSCOPIC CAPSULA ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.

Παναγιωτάκης Γ.[1], Σπυριδάκης Κ.[1], Βάρδας Ε.[2], Περάκης Ι.[1], Σκριβάνου Α.[1], Κρασονικολάκης Γ.[1], Κανδυλάκης Σ.[1]
[1]Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου
[2]Γαστρεντερολογικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου

13° Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο Κρήτης, Παρασκευή 10 Νοεμβρίου 2006

Α.2. Η ΤΟΠΙΚΗ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΗΝ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ.
Σπυριδάκης Κ., Κρεάνγκα Μ., Κοκκινάκης Θ., Παπαδάκης Θ., Κόκκινος Ι., **Παναγιωτάκης Γ**., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου
13° Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο Κρήτης, Σάββατο 11 Νοεμβρίου 2006

Α.3. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΤΙΤΙΔΑΣ. Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΜΑΣ.
Σπυριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., Παπαδάκης Θ., Κρεάνγκα Μ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Σκριβάνου Α., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου
13° Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο Κρήτης, Κυριακή 12 Νοεμβρίου 2006

Α.4. MRCP ΚΑΙ ERCP ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΧΟΛΗΔΟΧΟΛΙΘΙΑΣΗΣ.
Κρεάνγκα Μ., Κοκκινάκης Θ., Σπυριδάκης Κ., Κόκκινος Ι., Παπαδάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Περάκης Ι., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου
25° Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Τετάρτη 22 Νοεμβρίου 2006

Α.5. Η ΚΑΜΠΥΛΗ ΕΚΜΑΘΗΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΟΙΧΤΗΣ ΧΟΛΟΚΥΣΤΕΚΤΟΜΗΣ ΤΗΝ ΕΠΟΧΗ ΤΗΣ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.
Σπυριδάκης Κ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κόκκινος Ι., Κρεάνγκα Μ., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου
25° Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Παρασκευή 24 Νοεμβρίου 2006

Α.6. ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΕΣ ΚΑΚΩΣΕΙΣ. ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΥΓΕΙΑΣ (ΠΟΛΥΚΕΝΤΡΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ).
Σύρμος Ν.[1], Χατζηϊωάννου Μ.[2], Πατιάκας Σ.[3], Βαλαδάκης Β.[1], Γρηγορίου Κ.[1], Κονσολάκης Ν.[8], Πατρωνάκης Ε.[6], Ναλμπάντη Φ.[7], Αρβανιτάκης Π.[4], Χαριτάκης Α.[5], **Παναγιωτάκης Γ.[11]**, Δημάκης Χ.[1], Αλεξανδρής Α.[1], Σκουτέλλα Φ.[1], Τελεβάντος Α.[2], Καπουτζής Ν.[2], Κοντοβός Λ.[9], Κανάτας Δ.[10], Σύρμος Χ.[12], Αρβανιτάκης Δ.[1]
[1]Νευροχειρουργική Κλινική, ¨Βενιζέλειο¨ Γ.Ν. Ηρακλείου Κρήτης
[2]Κέντρο Υγείας Μοιρών
[3]Γενικό Νοσοκομείο – Κέντρο Υγείας Γουμένισσας
[4]Π.Ι. Γέργερης
[5]Κέντρο Υγείας Χάρακα
[6]Π.Π.Ι. Κάσου
[7]Π.Ι. Νέας Χαλκηδόνας
[8]Π.Ι. Άρβης
[9]Νευροψυχιατρική Κλινική ¨Ασκληπιός¨

[10]Γενικό Νοσοκομείο Νάουσας
[11]Α΄ Χειρουργική Κλινική, ¨Βενιζέλειο¨ Γ.Ν. Ηρακλείου Κρήτης
[12]Α΄ Νευροχειρουργική Κλινική, Α.Π.Θ. Νοσοκομείο ¨ΑΧΕΠΑ¨ Θεσσαλονίκης
4^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Αίγλη Ζαππείου – Αθήνα, Πέμπτη 22 Φεβρουαρίου 2007

Α.7. Η ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΕΓΚΑΥΜΑΤΩΝ ΜΕΣΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΕΤΙΑ 2005 – 2006. Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΜΑΣ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κρεάνγκα Μ., Κόκκινος Ι., Κοκκινάκης Θ., Βακωνάκης Ν., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου.
4^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Αίγλη Ζαππείου – Αθήνα, Πέμπτη 22 Φεβρουαρίου 2007

Α.8. ΠΟΛΛΑΠΛΑ ΟΠΙΣΘΟΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΑ ΛΙΠΟΣΑΡΚΩΜΑΤΑ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Γρηγοράκη Μ., Κόκκινος Ι., Παπαδάκης Θ., Κοκκινάκης Θ., Βακωνάκης Ν., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου.
8^{ο} Συνέδριο Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος, Porto Palace, Θεσσαλονίκη, Πέμπτη 18 Οκτωβρίου 2007

Α.9. Η ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΩΝ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΩΝ ΕΠΙΠΛΟΚΩΝ ΣΤΗΝ ΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΗΛΩΝ ΤΗΣ ΒΟΥΒΩΝΙΚΗΣ ΧΩΡΑΣ, ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΕΜΒΑΠΤΙΣΜΕΝΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΦΟΥΣΙΔΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.
Κόκκινος Ι., **Παναγιωτάκης Γ.**, Σπυριδάκης Κ., Παπαδάκης Θ., Κρασονικολάκης Γ., Κοκκινάκης Θ., Βακωνάκης Ν., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου.
8^{ο} Συνέδριο Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος, Porto Palace, Θεσσαλονίκη, Πέμπτη 18 Οκτωβρίου 2007

Α.10. Η ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΜΑΣ ΣΤΟ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ.
Παναγιωτάκης Γ.[1], Σύρμος Ν.[2], Χατζηϊωάννου Μ.[3], Αθανασάκης Θ.[1], Σταυρακάκης Ι.[1], Σπυριδάκης Κ.[1], Κανδυλάκης Σ.[1]
[1]Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου.
[2]Νευροχειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου.
[3]Κέντρο Υγείας Μοιρών, ΔΥΠΕ Κρήτης
8^{ο} Συνέδριο Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος, Porto Palace, Θεσσαλονίκη, Σάββατο 20 Οκτωβρίου 2007

Α.11. ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΕΙΣ ΕΝΤΟΠΙΣΕΙΣ ΣΤΑ ΣΗΜΕΙΑ ΕΙΣΟΔΟΥ ΤΩΝ TROCARS, ΑΠΟ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ, ΣΕ ΑΣΘΕΝΗ ΜΕ ΑΔΙΑΓΝΩΣΤΟ Ca ΩΟΘΗΚΩΝ, ΜΕΤΑ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΧΟΛΟΚΥΣΤΕΚΤΟΜΗ. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΙΑΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ.

Κοκκινάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κρεάνγκα Μ., Γρηγοράκη Μ., Σπυριδάκης Κ., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
Διευθυντής: Κανδυλάκης Σ.
10^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης, Ηράκλειο Κρήτης, Παρασκευή 9 Μαΐου 2008

Α.12. Η ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΜΑΣ ΣΤΟ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ.

[1]**Παναγιωτάκης Γ.,** [2]Χατζηϊωάννου Μ., [1]Αρβανιτάκης Π., [1]Σπυριδάκης Κ., [1]Γρηγοράκη Μ., [3]Σταυρόπουλος Σ., [3]Αρβανιτάκης Δ., [1]Κανδυλάκης Σ.
[1]Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[2]Ακτινολογικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[3]Νευροχειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
Νευροχειρουργικό Μετεκπαιδευτικό Πολυθεματικό Συμπόσιο, Ηράκλειο Κρήτης, Σάββατο 4 Οκτωβρίου 2008

Α.13. Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΥ Τ.Ε.Π. ΣΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ. ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΠΕΡΙΘΩΡΙΑ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ;

[1]**Παναγιωτάκης Γ.,** [1]Αρβανιτάκης Π., [2]Χατζηϊωάννου Μ., [1]Γρηγοράκη Μ., [1]Σπυριδάκης Κ., [3]Σταυρόπουλος Σ., [3]Αρβανιτάκης Δ., [1]Κανδυλάκης Σ.
[1]Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[2]Ακτινολογικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[3]Νευροχειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
Νευροχειρουργικό Μετεκπαιδευτικό Πολυθεματικό Συμπόσιο, Ηράκλειο Κρήτης, Σάββατο 4 Οκτωβρίου 2008

Α.14. ΠΑΝΑΝΕΙΟ ΔΗΜΟΤΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.

[1]Αρβανιτάκης Π., [2]Χατζηϊωάννου Μ., [1]**Παναγιωτάκης Γ.,** [1]Σπυριδάκης Κ., [3]Αρβανιτάκης Δ., [1]Κανδυλάκης Σ.
[1]Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[2]Ακτινολογικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[3]Νευροχειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γ. Ν. Ηρακλείου
14^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ιατρική Εταιρεία Ρεθύμνου, Γεωργιούπολη Κρήτη, Τετάρτη 29 Οκτωβρίου 2008

Α.15. Η ΖΩΗ ΚΑΙ ΤΟ ΕΡΓΟ ΤΟΥ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥ ΣΤΥΛΙΑΝΟΥ ΓΙΑΜΑΛΑΚΗ.

[1]**Παναγιωτάκης Γ.,** [2]Χατζηϊωάννου Μ., [3]Παπαδογιάννη Δ., [1]Αρβανιτάκης Π., [1]Σπυριδάκης Κ., [1]Κανδυλάκης Σ.
[1]Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[2]Ακτινολογικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[3]Βιολόγος, Υποψήφια Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης
14^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ιατρική Εταιρεία Ρεθύμνου, Γεωργιούπολη

Κρήτη, Τετάρτη 29 Οκτωβρίου 2008

Α.16. Η ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΚΩΛΗΚΟΕΙΔΩΝ ΑΠΟΦΥΣΕΩΝ.

Σπυριδάκης Κ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κοκκινάκης Θ., Γρηγοράκη Μ., Κρασονικολάκης Γ., Χρονάκης Ε., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
14^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ιατρική Εταιρεία Ρεθύμνου, Γεωργιούπολη Κρήτη, Τετάρτη 29 Οκτωβρίου 2008

Α.17. ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΦΛΕΒΙΚΟΥ ΚΑΘΕΤΗΡΑ.

Σπυριδάκης Κ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κοκκινάκης Θ., Γρηγοράκη Μ., Κρασονικολάκης Γ., Παπαδάκης Θ., Χρονάκης Ε., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
14^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ιατρική Εταιρεία Ρεθύμνου, Γεωργιούπολη Κρήτη, Τετάρτη 29 Οκτωβρίου 2008

Α.18. ΟΨΙΜΟΣ ΠΝΕΥΜΟΘΩΡΑΚΑΣ ΩΣ ΕΠΙΠΛΟΚΗ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ ΠΛΕΥΡΩΝ ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑΣ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Χρονάκης Ε., Κοκκινάκης Θ., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
14^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ιατρική Εταιρεία Ρεθύμνου, Γεωργιούπολη Κρήτη, Τετάρτη 29 Οκτωβρίου 2008

Α.19. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ. ΕΜΠΕΙΡΙΑ 10 ΕΤΩΝ.

Σπυριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.**, Χρονάκης Ε., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Ψαράκης Φ., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
26^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Τετάρτη 12 Νοεμβρίου 2008

Α.20. ΤΟ ΤΡΑΥΜΑ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΕΠΕΙΓΟΝΤΩΝ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ. ΑΝΑΦΟΡΑ ΑΠΟ ΜΙΑ ΕΘΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ.

[1]Δρυμούσης Π., [1]Θεοδωράκη Εμ., [1]Λαρεντζάκης Α., **[2]Παναγιωτάκης Γ.,** [3]Πίπερος Θ., [4]Κοντορίνης Γ., [5]Ντουράκης Δ., [1]Θεοδώρου Δ., [1]Κατσαραγάκης Σ.
[1]Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
[2]Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο¨ Γ.Ν.Ηρακλείου
[3]Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Άργους
[4]Κρατικό Θεραπευτήριο Λέρου
[5]Γενική Χειρουργική Γ.Ν.Αθηνών ¨Ερυθρός Σταυρός¨
26^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Σάββατο 15 Νοεμβρίου 2008

Α.21. ΕΠΕΙΓΟΥΣΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΚΑΙ ΟΡΘΟΥ.

Σπυριδάκης Κ., Κρασονικολάκης Γ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κοκκινάκης Θ., Γρηγοράκη Μ., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
5^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Ίδρυμα Ευγενίδου, Παλαιό Φάληρο, Αθήνα, Πέμπτη 19 Φεβρουαρίου 2009

Α.22. Η ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΜΑΣ ΣΤΟ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ.

[1]Κουτεντάκης Μ., **[2]Παναγιωτάκης Γ.,** [3]Θεοδωράκη Ε.Μ., [1]Κουμεντάκης Ε., [2]Σπυριδάκης Κ., [3]Κατσαραγάκης Σ., [1]Βελεγράκης Μ., [2]Κανδυλάκης Σ.
[1]Β' Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[2]Α' Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[3]Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική ΠΓΝΑ ¨Ιπποκράτειο¨
5^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Ίδρυμα Ευγενίδου, Παλαιό Φάληρο, Αθήνα, Παρασκευή 20 Φεβρουαρίου 2009

Α.23. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΠΩΜΑΤΙΣΜΟΥ ΜΕ ΚΟΜΠΡΕΣΣΕΣ (PACKING) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΗΞΗ ΗΠΑΤΟΣ. Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΜΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑ ΔΙΕΤΙΑ.

Παναγιωτάκης Γ., Κοκκινάκης Θ., Σπυριδάκης Κ., Παπαδάκης Θ., Χρονάκης Ε., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
5^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Ίδρυμα Ευγενίδου, Παλαιό Φάληρο, Αθήνα, Παρασκευή 20 Φεβρουαρίου 2009

Α.24. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΣΧΗΜΑΤΩΝ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΑΝΤΙΒΙΩΤΙΚΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΩΝ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΩΝ ΕΠΙΠΛΟΚΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΧΟΛΟΚΥΣΤΕΚΤΟΜΗ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Γρηγοράκη Μ., Κρασονικολάκης Γ., Ψαράκης Φ., Κοντοπόδης Ν., Κοκκινάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
9^{ο} Συνέδριο Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος, Ξενοδοχείο Hyatt Regency, Θεσσαλονίκη, Παρασκευή 30 Οκτωβρίου 2009

Α.25. ΚΑΤΑΠΟΣΗ ΞΕΝΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ. ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ, ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ. Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΜΑΣ.

Σπυριδάκης Κ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κοντοπόδης Ν., Ψαράκης Φ., Βολακάκης Ι., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
15^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Πλατανιάς Χανίων, Ξενοδοχείο Minoa Palace Resort & Spa, Παρασκευή 29 Οκτωβρίου 2010

Α.26. ΔΙΑΤΡΗΣΗ ΠΑΧΕΩΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΟΛΟΝΟΣΚΟΠΗΣΗΣ. Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΜΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑ 5ΕΤΙΑ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Μηλιάδης Ο., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
15ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Πλατανιάς Χανίων, Ξενοδοχείο Minoa Palace Resort & Spa, Σάββατο 30 Οκτωβρίου 2010

Α.27. ΙΑΤΡΟΓΕΝΕΙΣ ΚΑΚΩΣΕΙΣ ΣΤΟ ΧΟΛΗΔΟΧΟ ΠΟΡΟ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΑΝΟΙΚΤΗΣ Η' ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΙΚΗΣ ΧΟΛΟΚΥΣΤΕΚΤΟΜΗΣ. Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΜΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑ 5ΕΤΙΑ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοντοπόδης Ν., Βολακάκης Ι., Ψαράκης Φ., Κοκκινάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
15ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Πλατανιάς Χανίων, Ξενοδοχείο Minoa Palace Resort & Spa, Σάββατο 30 Οκτωβρίου 2010

Α.28. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗΣ ΗΠΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ.

Γιακουστίδης Δημήτριος[1], Αντωνιάδης Νικόλαος[1], Σκλάβος Αργύρης[1], Γιακουστίδης Αλέξανδρος[1], Ουζουνίδης Νικόλαος[1], Παπαγιάννης Ανδρέας[1], Φούζας Ιωάννης[1], **Παναγιωτάκης Γεώργιος[1],** Μπουμπουρέκα Χριστίνα[1], Μαχιά Γεωργία[1], Βασιλειάδης Θεμιστοκλής[3], Κατσίκα Ελένη[5], Πατσιαούρα Καλλιόπη[4], Κατσίκη Ευαγγελία[4], Μούτσιανος Γεώργιος[5], Αναγνωστάρα Εύα[5], Ίμβριος Γεώργιος[1], Ακριβιάδης Ευάγγελος[2], Παπανικολάου Βασίλειος[1], Τακούδας Δημήτριος[1].
[1]Χειρουργική Κλινική Μεταμοσχεύσεων
[2]Δ' Παθολογική Κλινική
[3]Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική
[4]Παθολογοανατομικό Εργαστήριο
[5]Αναισθησιολογικό Τμήμα
Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης και Γ.Ν.Θ. "Ιπποκράτειο".
27ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και Διεθνές Χειρουργικό Φόρουμ 2010, Athens Hilton Hotel, Σάββατο 27 Νοεμβρίου 2010, Αίθουσα Τερψιχόρη Γ.

Α.29. ΚΑΚΩΣΕΙΣ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΞΑΣΚΟΥΜΕΝΗ ΒΙΑ ΠΡΟΣ ΤΟ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟ ΦΥΛΟ.

Παπαδοπούλου Δ.[1], **Παναγιωτάκης Γ.[2],** Δημητριάδης Σ.[1], Χατζηϊωάννου Μ.[3], Σπυριδάκης Κ.[2], Παπαναστασόπουλος Α.[1], Δεμερτζίδης Χ.[1]
[1]Χειρουργική Κλινική Γεν. Νοσ. Βέροιας
[2]Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[3]Ακτινολογικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Τραύματος & Επείγουσας Χειρουργικής, Θεσσαλονίκη, Makedonia Palace, Πέμπτη 17 Φεβρουαρίου 2011

Α.30. ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΙ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΑΥΤΟΣΧΕΔΙΩΝ ΑΓΩΝΩΝ ΤΑΧΥΤΗΤΑΣ ΜΕ ΔΙΚΥΚΛΟ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Γρηγοράκη Μ., Κοντοπόδης Ν., Μηλιάδης Ο., Κοκκινάκης Θ.

Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

6° Πανελλήνιο Συνέδριο Τραύματος & Επείγουσας Χειρουργικής, Θεσσαλονίκη, Makedonia Palace, Πέμπτη 17 Φεβρουαρίου 2011

Α.31. ΟΙΚΙΑΚΟΙ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΙ. ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑΣ 5ΕΤΙΑΣ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοντοπόδης Ν., Γρηγοράκη Μ., Βολακάκης Ι., Κοκκινάκης Θ.

Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

6° Πανελλήνιο Συνέδριο Τραύματος & Επείγουσας Χειρουργικής, Θεσσαλονίκη, Makedonia Palace, Πέμπτη 17 Φεβρουαρίου 2011

Α.32. Η ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΤΡΑΥΜΑΤΙΑ ΜΕ ΕΠΗΡΕΑΣΜΕΝΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΥΝΕΙΔΗΣΗΣ ΧΩΡΙΣ ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ.

Κοντοπόδης Ν., **Παναγιωτάκης Γ.,** Γρηγοράκη Μ., Σαριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., Σπυριδάκης Κ.

Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

6° Πανελλήνιο Συνέδριο Τραύματος & Επείγουσας Χειρουργικής, Θεσσαλονίκη, Makedonia Palace, Πέμπτη 17 Φεβρουαρίου 2011

Α.33. ΠΟΛΥΤΡΑΥΜΑΤΙΕΣ ΜΕ ΒΑΡΙΑ ΡΗΞΗ ΗΠΑΤΟΣ. ΕΜΠΕΙΡΙΑ 5 ΕΤΩΝ.

Σπυριδάκης Κ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Γρηγοράκη Μ., Κοντοπόδης Ν., Ψαράκης Φ., Κοκκινάκης Θ.

Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

6° Πανελλήνιο Συνέδριο Τραύματος & Επείγουσας Χειρουργικής, Θεσσαλονίκη, Makedonia Palace, Παρασκευή 18 Φεβρουαρίου 2011

Α.34. ΤΡΑΥΜΑ ΣΠΛΑΓΧΝΙΚΟΥ ΚΡΑΝΙΟΥ. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ 2008-2010.

Σαριδάκης Κ.[1,2], Λογοθέτης Ι.[1], Μαστοράκης Γ.[1], Γρηγοράκη Μ.[2], **Παναγιωτάκης Γ[2].**

[1]Τμήμα Γναθοπροσωπικής Χειρουργικής, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γ.Ν.Η.

[2]Α΄Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

6° Πανελλήνιο Συνέδριο Τραύματος & Επείγουσας Χειρουργικής, Θεσσαλονίκη, Makedonia Palace, Σάββατο 19 Φεβρουαρίου 2011

Α.35. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΟΓΕΝΟΥΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΜΕΝΗΣ ΣΥΓΚΛΕΙΣΗΣ ΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΣΚΩΛΗΚΟΕΙΔΕΚΤΟΜΗ. ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΕΝΟΣ ΕΤΟΥΣ.

Ν. Κοντοπόδης, Οδ. Μηλιάδης, Φ. Ψαράκης, Ι. Βολακάκης, **Γ. Παναγιωτάκης,** Κ. Σπυριδάκης.

Α' Χειρουργικό Τμήμα, Γεν. Νοσ. Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο»

12° Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικών Λοιμώξεων, Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Caravel, Σάββατο 5 Νοεμβρίου 2011

Α.36. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΚΑΚΩΣΕΩΝ ΠΑΧΕΩΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΑΠΟ ΔΙΑΤΙΤΡΑΙΝΟΝ ΚΟΙΛΙΑΚΟ ΤΡΑΥΜΑ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΡΙΩΝ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗ ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΤΗΣ ΚΑΚΩΣΗΣ.

Κοντοπόδης Ν., Μηλιάδης Οδ., Κουράκη Αθ., Λέικος Χρ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Σπυριδάκης Κ.

Α' Χειρουργικό Τμήμα, Γεν. Νοσ. Ηρακλείου «Βενιζέλειο – Πανάνειο»

10^{ο} Συνέδριο Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος, Θεσσαλονίκη, Makedonia Palace, Παρασκευή 9 Δεκεμβρίου 2011

Α.37. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΥΟ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΓΧΥΣΗΣ ΓΙΑ ΤΟΠΙΚΗ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ, ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΜΙΚΡΟΕΠΕΜΒΑΣΕΩΝ ΣΤΟ ΤΑΚΤΙΚΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΙΑΤΡΕΙΟ.

Παναγιωτάκης Γ., [2]Λασιθιωτάκη Ι., [1,3]Καραγιάννης Α., [4]Μπούντρης Σ., [3]Γαρύφαλλος Ι., [1]Παπαθεοδώρου Δ.

[1]Χειρουργική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[2]Αναισθησιολογικό Τμήμα, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[3]Ουρολογική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[4]Ορθοπαιδική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

16^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Daios Cove Hotel, Άγιος Νικόλαος Κρήτης, 26 Οκτωβρίου 2012

Α.38. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΣΑΜΟΥ.

[1]Παναγιωτάκης Γ., [2]Μπούντρης Σ., [3]Λασιθιωτάκη Ι., [1,4]Καραγιάννης Α., [4]Γαρύφαλλος Ι., [1]Παπαθεοδώρου Δ.

[1]Χειρουργική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[2]Ορθοπαιδική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[3]Αναισθησιολογικό Τμήμα, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[4]Ουρολογική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

16^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Daios Cove Hotel, Άγιος Νικόλαος Κρήτης, 28 Οκτωβρίου 2012

Α.39. ΑΙΤΙΑ ΔΙΑΚΟΜΙΔΗΣ ΠΡΟΣ ΤΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΤΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΣΑΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΟ ΤΕΛΕΥΤΑΙΟ ΕΤΟΣ.

[1]Παναγιωτάκης Γ., [1,2]Καραγιάννης Α., [3]Μπούντρης Σ., [4]Λασιθιωτάκη Ι., [2]Γαρύφαλλος Ι., [1]Παπαθεοδώρου Δ.

[1]Χειρουργική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[2]Ουρολογική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[3]Ορθοπαιδική Κλινική, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

[4]Αναισθησιολογικό Τμήμα, Γεν. Νοσ. Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

16^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Daios Cove Hotel, Άγιος Νικόλαος Κρήτης, 28 Οκτωβρίου 2012

Β. ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Β.1. ¨ΔΥΣΚΟΛΕΣ¨ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΧΟΛΟΚΥΣΤΕΚΤΟΜΕΣ.
Κοκκινάκης Θ., Κρεάνγκα Μ., Σπυριδάκης Κ., Κόκκινος Ι., Παπαδάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Περάκης Ι., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
25^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Σάββατο 25 Νοεμβρίου 2006

Β.2. Η ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΤΡΑΥΜΑΤΙΩΝ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΜΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΕΤΙΑ 2005 – 2006.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κρεάνγκα Μ., Κόκκινος Ι., Περάκης Ι., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
4^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Αίγλη Ζαππείου – Αθήνα, Παρασκευή 23 Φεβρουαρίου 2007

Β.3. ΧΟΛΩΜΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗ ΡΗΞΗ ΗΠΑΤΟΣ. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ERCP. (Ενδιαφέρουσα περίπτωση).
Γρηγοράκη Μ., Σπυριδάκης Κ., Κόκκινος Ι., Κρεάνγκα Μ., Κρασονικολάκης Γ., Περάκης Ι., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κοκκινάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
4^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Αίγλη Ζαππείου – Αθήνα, Παρασκευή 23 Φεβρουαρίου 2007

Β.4. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΩΝ ΚΑΚΩΣΕΩΝ ΑΠΟ ΓΕΝΙΚΟ ΙΑΤΡΟ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΥΓΕΙΑΣ.
Ν. Σύρμος[1,2], Μ. Χατζηϊωάννου[3], Π. Δασκαλάκης[9], Σ. Πατιάκας[2], Β. Βαλαδάκης[1], Κ. Γρηγορίου[1], Ε. Γκίκα[8], Ι. Κριτσωτάκης[8], Ε. Πατρωνάκης[6], Φ. Νανμπάντη[7], Π. Αρβανιτάκης[4], **Γ. Παναγιωτάκης[9],** Α. Τελεβάντος[2], Ν. Καπουτζής[2], Ν. Δρακωνάκης[5], Δ. Αρβανιτάκης[1].
[1]Νευροχειρουργική Κλινική, ¨Βενιζέλειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου Κρήτης
[2]Γενικό Νοσοκομείο – Κέντρο Υγείας Γουμένισσας
[3]Κέντρο Υγείας Μοιρών
[4]Π.Ι. Γέργερης
[5]Κέντρο Υγείας Χάρακα
[6]Π.Π.Ι. Κάσου
[7]Π.Ι. Νέας Χαλκηδόνας
[8]Π.Π.Ι. Αστυπάλαιας
[9]**¨Βενιζέλειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου Κρήτης**
19^{ο} ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ, Χερσόνησσος Ηρακλείου Κρήτης, Παρασκευή 13 Απριλίου 2007

Β.5. ΟΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΤΗΣ ΛΕΣΒΟΥ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΙΑΤΡΟΥ ΣΤΗΝ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ.
Γ. Παναγιωτάκης, Μ. Λιώση, Μ. Ρούσσης, Ε. Πιτσιλαδή, Ε. Λουκίδου.
Κέντρο Υγείας Άντισσας Λέσβου
19^{ο} ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ, Χερσόνησσος Ηρακλείου Κρήτης, Σάββατο 14 Απριλίου 2007

Β.6. Η ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΤΑΚΤΙΚΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΣΤΟ ΜΑΘΗΤΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΔΥΤΙΚΗΣ ΛΕΣΒΟΥ.
Γ. Παναγιωτάκης, Μ. Λιώση, Μ. Ρούσσης, Ε. Πιτσιλαδή, Ε. Λουκίδου.
Κέντρο Υγείας Άντισσας Λέσβου
19^{ο} ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ, Χερσόνησσος Ηρακλείου Κρήτης, Σάββατο 14 Απριλίου 2007

Β.7. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑ – Η ΛΥΣΗ ΣΤΟ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ.
Κ. Σπυριδάκης, **Γ. Παναγιωτάκης**, Ι. Κόκκινος, Μ. Κρεάνγκα, Μ. Γρηγοράκη, Γ. Κρασονικολάκης, Ι. Περάκης, Σ. Κανδυλάκης.
Α΄ Χειρουργικό τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
22^{ο} ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ Θεσσαλονίκη, Πέμπτη 19 Απριλίου 2007

Β.8. Η ΟΞΕΙΑ ΚΟΙΛΙΑ ΩΣ ΑΙΤΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΣΤΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΤΜΗΜΑ.
Γ. Παναγιωτάκης, Κ. Σπυριδάκης, Ι. Κόκκινος, Μ. Κρεάνγκα, Μ. Γρηγοράκη, Γ. Κρασονικολάκης, Ι. Περάκης, Σ. Κανδυλάκης.
Α΄ Χειρουργικό τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
22^{ο} ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ Θεσσαλονίκη, Πέμπτη 19 Απριλίου 2007

Β.9. ΕΥΜΕΓΕΘΕΣ ΞΕΝΟ ΣΩΜΑ ΣΤΟ ΚΑΤΙΟΝ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., Παπαδάκης Θ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
14^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ιατρική Εταιρεία Ρεθύμνου, Γεωργιούπολη Κρήτη, Σάββατο 1 Νοεμβρίου 2008

Β.10. ΕΜΒΟΛΗ ΑΝΩ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ ΑΡΤΗΡΙΑΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΡΟΝΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΤΕΡΟΪΔΩΝ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Χρονάκης Ε., Ψαράκης Φ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
26^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Πέμπτη 13 Νοεμβρίου 2008

Β.11. ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΠΑΓΚΡΕΑΤΕΚΤΟΜΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΑΤΑΓΜΑ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Ψαράκης Φ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
26^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Παρασκευή 14 Νοεμβρίου 2008

Β.12. ΑΚΡΩΤΗΡΙΑΣΜΟΙ ΑΠΟ ΑΥΤΟΣΧΕΔΙΕΣ ΚΡΟΤΙΔΕΣ. ΤΟ ¨ΚΑΚΟ¨ ΕΘΙΜΟ ΤΗΣ ΛΑΜΠΡΗΣ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Χρονάκης Ε., Παπαδάκης Θ., Κοκκινάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
5^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Ίδρυμα Ευγενίδου, Παλαιό Φάληρο, Αθήνα, Παρασκευή 20 Φεβρουαρίου 2009

Β.13. ΤΡΑΥΜΑΤΑ ΚΟΙΛΙΑΣ ΑΠΟ ΝΥΣΣΟΝ ΚΑΙ ΤΕΜΝΟΝ ΟΡΓΑΝΟ. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑΣ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Χρονάκης Ε., Παπαδάκης Θ., Κοκκινάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
5^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Ίδρυμα Ευγενίδου, Παλαιό Φάληρο, Αθήνα, Παρασκευή 20 Φεβρουαρίου 2009

Β.14. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗΣ ΡΗΞΗΣ ΓΙΓΑΝΤΙΑΙΟΥ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΥ ΣΠΛΗΝΟΣ.

Παπαδάκης Θ., Κοκκινάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Σπυριδάκης Κ., Γρηγοράκη Μ., Κρασονικολάκης Γ., Ψαράκης Φ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
5^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Ίδρυμα Ευγενίδου, Παλαιό Φάληρο, Αθήνα, Σάββατο 21 Φεβρουαρίου 2009

Β.15. ΤΡΑΥΜΑ ΑΠΟ ΠΥΡΟΒΟΛΟ ΟΠΛΟ – ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟΥ ΕΤΟΥΣ.

Γρηγοράκη Μ., Κοκκινάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κρασονικολάκης Γ., Ψαράκης Φ., Σπυριδάκης Κ., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
5^{ο} Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Ίδρυμα Ευγενίδου, Παλαιό Φάληρο, Αθήνα, Σάββατο 21 Φεβρουαρίου 2009

Β.16. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΕΡΑ ΣΕ ΠΥΛΑΙΑ ΦΛΕΒΑ, ΕΝΔΟΗΠΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΩ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΑ ΑΓΓΕΙΑ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ.

Κοκκινάκης Θ., Γρυσμπολάκη Ε., Σπυριδάκης Κ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Γρηγοράκη Μ., Κρασονικολάκης Γ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
3^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Παχέος Εντέρου - Πρωκτού, Ξενοδοχείο Divani Caravel, Αθήνα, 15 – 17 Μαΐου 2009

Β.17. ΟΞΕΙΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΟΙΛΙΑ ΛΟΓΩ ΔΙΑΤΡΗΣΗΣ ΚΟΙΛΟΥ ΣΠΛΑΧΝΟΥ ΑΠΟ ΒΕΛΟΝΟΜΟΡΦΟ ΞΕΝΟ ΣΩΜΑ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.

Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Ψαράκης Φ., Βολακάκης Ι., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
9^{ο} Συνέδριο Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος, Ξενοδοχείο Hyatt

Regency, Θεσσαλονίκη, Πέμπτη 29 Οκτωβρίου – Κυριακή 1 Νοεμβρίου 2009

Β.18. ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΟΜΦΑΛΟΚΗΛΗΣ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Ψαράκης Φ., Κοντοπόδης Ν., Κοκκινάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
4° Πανελλήνιο Συνέδριο Κήλης, Ίδρυμα Ευγενίδου, Αθήνα, Παρασκευή 27 – Κυριακή 29 Νοεμβρίου 2009

Β.19. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΠΛΑΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΚΗΛΗΣ ΡΕΤΙΤ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Παπαδάκης Θ., Γρηγοράκη Μ., Κρασονικολάκης Γ., Ψαράκης Φ., Βολακάκης Ι., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
4° Πανελλήνιο Συνέδριο Κήλης, Ίδρυμα Ευγενίδου, Αθήνα, Παρασκευή 27 – Κυριακή 29 Νοεμβρίου 2009

Β.20. ΞΕΝΑ ΣΩΜΑΤΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΩΛΗΝΑ. Η ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΓΡΑΦΙΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ.
[1]Μ. Χατζηϊωάννου, **[2]Γ. Παναγιωτάκης,** [2]Κ. Σπυριδάκης, [2]Σ. Κανδυλάκης, [1]Ε. Σφακιανάκη.
[1]Ακτινολογικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[2]Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
25° Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη, Hotel Hyatt Regency, Σάββατο 20 Μαρτίου 2010

Β.21. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΥΓΕΙΑΣ.
[1,2]Μ. Χατζηϊωάννου, **[3]Γ. Παναγιωτάκης,** [3,4]Π. Αρβανιτάκης, [1]Α. Τσικαλά.
[1]Κέντρο Υγείας Μοιρών Ηρακλείου
[2]Ακτινοδιαγνωστικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[3]Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[4]Κέντρο Υγείας Αγίας Βαρβάρας Ηρακλείου
25° Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη, Hotel Hyatt Regency, Σάββατο 20 Μαρτίου 2010

Β.22. ΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ ΒΟΥΒΩΝΟΚΗΛΗΣ ΜΕ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΝ ΟΥΡΟΔΟΧΟ ΚΥΣΤΗ. ΜΙΑ ΣΠΑΝΙΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοντοπόδης Ν., Βολακάκης Ι., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
27° Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Φόρουμ. Ξενοδοχείο Hilton Athens, 24 – 27 Νοεμβρίου 2010.
http://www.epostersonline.com/execongress2010/?q=node/3285

Β.23. ΜΟΡΦΩΜΑ ΕΛΑΣΣΟΝΟΣ ΠΥΕΛΟΥ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΜΙΑΣ ΣΠΑΝΙΑΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοντοπόδης Ν., Ψαράκης Φ., Κανδυλάκης Σ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
27^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Φόρουμ. Ξενοδοχείο Hilton Athens, 24 – 27 Νοεμβρίου 2010.
http://www.epostersonline.com/execongress2010/?q=node/3239

Β.24. ΚΑΚΩΣΗ ΟΣΧΕΟΥ ΑΠΟ ΝΗΣΣΟΝ ΟΡΓΑΝΟ – ΥΠΟΨΙΑ ΚΑΚΩΣΗΣ ΕΝΔΟΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΟΡΓΑΝΟΥ.
Γρηγοράκη Μ., Κοκκινάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Τζωρτζακάκης Δ., Κοντοπόδης Ν., Μηλιάδης Ο., Ψαράκης Φ., Σπυριδάκης Κ.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
6^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Τραύματος & Επείγουσας Χειρουργικής, Θεσσαλονίκη, Makedonia Palace, 17 - 19 Φεβρουαρίου 2011

Β.25. ΤΟΠΙΚΗ ΥΠΟΤΡΟΠΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΑΜΗΛΗ ΠΡΟΣΘΙΑ ΕΚΤΟΜΗ ΓΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΟΡΘΟΥ. Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΜΑΣ.
Κ. Σπυριδάκης, **Γ. Παναγιωτάκης,** Γ. Κρασονικολάκης, Ν. Κοντοπόδης, Ο. Μηλιάδης, Θ. Παπαδάκης, Θ. Κοκκινάκης, Λ. Ροκαδάκης.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
26^{ο} Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη, Hyatt Regency, 31 Μαρτίου – 2 Απριλίου 2011

Β.26. ΕΙΣΦΡΗΣΗ ΟΝΥΧΟΣ. Η ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΕΝΟΣ ΠΑΛΑΙΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΕΠΟΧΗ.
Γ. Παναγιωτάκης, Κ. Σπυριδάκης, Γ. Κρασονικολάκης, Ο. Μηλιάδης, Ι. Βολακάκης, Θ. Παπαδάκης, Λ. Ροκαδάκης.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
26^{ο} Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη, Hyatt Regency, 31 Μαρτίου – 2 Απριλίου 2011

Β.27. ΕΚΤΟΜΗ ΤΡΙΧΟΦΩΛΕΑΚΟΥ ΣΥΡΙΓΓΙΟΥ. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΩΜΑΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΥ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ.
Γ. Παναγιωτάκης, Κ. Σπυριδάκης, Γ. Κρασονικολάκης, Φ. Ψαράκης, Ν. Κοντοπόδης, Θ. Κοκκινάκης, Λ. Ροκαδάκης.
Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
26^{ο} Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη, Hyatt Regency, 31 Μαρτίου – 2 Απριλίου 2011

Β.28. ΡΗΞΗ ΕΚΚΟΛΠΩΜΑΤΟΣ ΣΙΓΜΟΕΙΔΟΥΣ ΜΕ ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΠΑΡΟΧΕΤΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΝΤΕΡΟΚΟΛΠΙΚΟΥ ΣΥΡΙΓΓΙΟΥ.
Μ. Ποθητός, **Γ. Παναγιωτάκης,** Γ. Μπούρτζινος, Ι. Λασηθιωτάκη, Ε. Ταχτέρης
Χειρουργική Κλινική Γεν. Νοσ Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»
27^{ο} Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Παρασκευή 30 Μαρτίου 2012, Ξενοδοχείο Hyatt Regency,Θεσσαλονίκη

Β.29. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΑΘΗΛΩΣΗΣ ΤΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΜΕ ΒΙΟΚΟΛΛΑ Ή ΡΑΜΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΗΛΩΝ ΒΟΥΒΩΝΙΚΗΣ ΧΩΡΑΣ.

Γ. Παναγιωτάκης[1,2], Κ. Σπυριδάκης[1], Ι. Λασηθιωτάκη[2], Μ. Χατζηϊωάννου[2], Ν. Κοντοπόδης[1], Λ. Ροκαδάκης[1].

[1]Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

[2]Υποψήφ. Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης

27° Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Παρασκευή 30 Μαρτίου 2012, Ξενοδοχείο Hyatt Regency,Θεσσαλονίκη

Β.30. ΕΡΓΑΤΙΚΑ ΑΤΥΧΗΜΑΤΑ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΝΤΕ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.

Γ. Παναγιωτάκης[1,2], Κ. Σπυριδάκης[1], Μ. Χατζηϊωάννου[2], Ι. Λασηθιωτάκη[2], Ν. Κοντοπόδης[1], Λ. Ροκαδάκης[1].

[1]Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο – Πανάνειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

[2]Υποψήφ. Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης

27° Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Παρασκευή 30 Μαρτίου 2012, Ξενοδοχείο Hyatt Regency,Θεσσαλονίκη

Β.31. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΡΟΧΑΙΩΝ ΑΤΥΧΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΝΗΣΟ ΤΗΣ ΣΑΜΟΥ.

Γ. Μπούρτζινος, **Γ. Παναγιωτάκης,** Μ. Ποθητός, Ι. Λασηθιωτάκη, Ε. Ταχτέρης

Χειρουργική Κλινική Γεν. Νοσ Σάμου «Ο Άγιος Παντελεήμων»

27° Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο, Παρασκευή 30 Μαρτίου 2012, Ξενοδοχείο Hyatt Regency,Θεσσαλονίκη

Γ. ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Γ.1. HISTORIC RETROSPECTION AND EDOARDO BASSINI'S CONTRIBUTION TO THE SURGERY OF HERNIA.

[1]Syrmos N., **[2]Panagiotakis G.**, [3]Hatziioannou M., [2]Papadakis Th.

[1]Department of Neurosurgery "Venizelio – Pananio" General Hospital of Heraklion

[2]A' Department of Surgery "Venizelio – Pananio" General Hospital of Heraklion

[3]Health Care Centre of Moires, Heraklion

29th INTERNATIONAL CONGRESS of the EUROPEAN HERNIA SOCIETY, Hilton Hotel, Athens Greece, 6 – 9 May 2007

Γ.2. GALLBLADDER PERFORATION: ANALYSIS OF 5 CASES.

Spyridakis K., **Panagiotakis G.,** Krasonikolakis G., Grigoraki M., Chronakis E., Papadakis T., Kokkinakis T., Kandylakis S.

A' Surgical Department – General Hospital "Venizelio – Pananio" Iraklion Crete, Greece.

8th Congress of the European Hepato-Pancreato-Billiary Association, Megaron Conference Center, Athens Greece, Friday 19 June 2009

Γ.3. IATROGENIC BILE DUCT INJURIES.

Spyridakis K., **Panagiotakis G.,** Grigoraki M., Krasonikolakis G., Psarakis F., Papadakis T., Kokkinakis T., Kandylakis S.

A' Surgical Department – General Hospital "Venizelio – Pananio" Iraklion Crete, Greece.

8th Congress of the European Hepato-Pancreato-Billiary Association, Megaron Conference Center, Athens Greece, Friday 19 June 2009

Γ.4. ABSENCE OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION IN NORMAL AND MALIGNANT BLADDER.

G. Panagiotakis, D. Papadogianni, N. Soulitzis, G. Sourvinos and D.A. Spandidos.

Laboratory of Clinical Virology, Medical School, University of Crete, Heraklion, Greece.

14th World Congress on Advances in Oncology and 12th International Symposium on Molecular Medicine, Hotel Poseidon Resort, Loutraki Greece, October 15-17, 2009

Γ.5. HIGH PREVALENCE OF HUMAN HERPESVIRUSES IN UROTHELIAL CARCINOMAS.

G. Panagiotakis, D. Papadogianni, N. Soulitzis, G. Sourvinos and D.A. Spandidos.

Laboratory of Clinical Virology, Medical School, University of Crete, Heraklion, Greece.

14th World Congress on Advances in Oncology and 12th International Symposium on Molecular Medicine, Hotel Poseidon Resort, Loutraki Greece, October 15-17, 2009

Γ.6. BLUNT ABDOMINAL TRAUMA. 5 YEARS EXPERIENCE IN OUR DEPARTMENT.

K.Spiridakis, M.Grigoraki, **G.Panagiotakis,** G.Krasonikolakis, F.Psarakis, T.Papadakis, S.Kandylakis.

A' Department of Surgery, General Hospital "Venizeleio" Heraklion-Crete, Greece

11th European Congress of Trauma & Emergency Surgery. Building Bridges. Brussels / Belgium, SQUARE, May 15-18, 2010

Γ.7. PENETRATING THORACIC INJURY. AN INTERESTING CASE REPORT.

M.Grigoraki[1], T.Kokkinakis[1], **G.Panagiotakis[1],** A.Moniakis[2], C.Stroumbos[2], K.Spiridakis[1].

[1]1st Surgical Department, "Venizelio" General Hospital Heraklion-Crete, GREECE

[2]Department of Thoracic Surgery, University Hospital of Heraklion-Crete, GREECE

12th European Congress of Trauma & Emergency Surgery. Milan/Italy, Milano Convention Centre, April 27-30, 2011

Γ.8. PENETRATING ABDOMINAL TRAUMA. OUR EXPERIENCE.

K.Spiridakis, **G.Panagiotakis,** M.Grigoraki, N.Kontopodis, F.Psarakis, I.Volakakis, T.Kokkinakis.

1st Surgical Department, “Venizelio” General Hospital Heraklion-Crete, GREECE
12th European Congress of Trauma & Emergency Surgery. Milan/Italy, Milano Convention Centre, April 27-30, 2011

Γ.9. PARENTERAL VERSUS ENTERAL NUTRITION ON PATIENTS WITH CANCER. OUR EXPERIENCE.
Miliadis O., Spiridakis K., Krasonikolakis G., Psarakis F., Volakakis I., Kontopodis N., **Panagiotakis G.,** Rokadakis L.
1st Surgical Department, “Venizelio” General Hospital Heraklion-Crete, GREECE
9th Critical care and Emergency Medicine Meeting of the Greek Armed Forces Medical Corps, Athens, GREECE, May 27 – 29.
http://www.epostersonline.com/armyicu2011/?q=node/1&page=1

Δ. ΠΛΗΡΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

Δ.1. ΧΟΛΩΜΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗ ΡΗΞΗ ΗΠΑΤΟΣ.
Κ. Σπυριδάκης, Μ. Γρηγοράκη, **Γ. Παναγιωτάκης,** Θ. Κοκκινάκης, Μ. Κρεάνγκα, Ι. Κόκκινος, Σ. Κανδυλάκης.
Α΄ Χειρουργικό τμήμα Γεν. Νοσ. Ηρακλείου ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨
ΤΡΑΥΜΑ, Περίοδος Β΄, Τόμος 2, Τεύχος 4, ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ-ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2006

Δ.2. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΚΑΤΙΟΥΣΑΣ ΝΕΚΡΩΤΙΚΗΣ ΜΕΣΟΘΩΡΑΚΙΤΙΔΑΣ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ.
Μ. Χατζηϊωάννου[1], Α. Φαχουρίδη[1], Μ. Γαργουλάκη[1], Χ. Στρούμπος[2], **Γ. Παναγιωτάκης[3],** Λ. Τριανταφύλλου[1]
[1]Τμήμα Υπολογιστικής Τομογραφίας, «Βενιζέλειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[2]Θωρακοχειρουργική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
[3]Α΄ Χειρουργικό Τμήμα, «Βενιζέλειο» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΑ Τόμος 43, (1):45-48, 2012

Ε. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

Ε.1. MRCP ΚΑΙ ERCP ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΧΟΛΗΔΟΧΟΛΙΘΙΑΣΗΣ.
Κρεάνγκα Μ., Κοκκινάκης Θ., Σπυριδάκης Κ., Κόκκινος Ι., Παπαδάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Περάκης Ι., Κανδυλάκης Σ.
Α’ Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ, Συμπληρωματικό Τεύχος, Νοέμβριος – Δεκέμβριος 2006, Τόμος 78, Τεύχος 6 Ι, σελ. 58, Αρ. 97

Ε.2. Η ΚΑΜΠΥΛΗ ΕΚΜΑΘΗΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΟΙΧΤΗΣ ΧΟΛΟΚΥΣΤΕΚΤΟΜΗΣ ΤΗΝ ΕΠΟΧΗ ΤΗΣ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.

Σπυριδάκης Κ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κόκκινος Ι., Κρεάνγκα Μ., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.

Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ, Συμπληρωματικό Τεύχος, Νοέμβριος – Δεκέμβριος 2006, Τόμος 78, Τεύχος 6 Ι, σελ. 133, Αρ. 290

Ε.3. ¨ΔΥΣΚΟΛΕΣ¨ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΧΟΛΟΚΥΣΤΕΚΤΟΜΕΣ.

Κοκκινάκης Θ., Κρεάνγκα Μ., Σπυριδάκης Κ., Κόκκινος Ι., Παπαδάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Περάκης Ι., Κανδυλάκης Σ.

Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ, Συμπληρωματικό Τεύχος, Νοέμβριος – Δεκέμβριος 2006, Τόμος 78, Τεύχος 6 Ι, σελ. 339, Αρ. 344

Ε.4. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΛΑΠΑΡΟΤΟΜΙΑ – Η ΛΥΣΗ ΣΤΟ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ.

Κ. Σπυριδάκης, **Γ. Παναγιωτάκης**, Ι. Κόκκινος, Μ. Κρεάνγκα, Μ. Γρηγοράκη, Γ. Κρασονικολάκης, Ι. Περάκης, Σ. Κανδυλάκης.

Α΄ Χειρουργικό Τμήμα Γεν. Νοσ. Ηρακλείου ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ, 22° ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ, ΕΙΣΗΓΗΣΕΙΣ – ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ, ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 19 – 21 ΑΠΡΙΛΙΟΥ 2007, Τόμος 73, Συμπληρωματικό Τεύχος 2007, σελ. 42, Αρ. 138

Ε.5. Η ΟΞΕΙΑ ΚΟΙΛΙΑ ΩΣ ΑΙΤΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΣΤΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΤΜΗΜΑ.

Γ. Παναγιωτάκης, Κ. Σπυριδάκης, Ι. Κόκκινος, Μ. Κρεάνγκα, Μ. Γρηγοράκη, Γ. Κρασονικολάκης, Ι. Περάκης, Σ. Κανδυλάκης.

Α΄ Χειρουργικό Τμήμα Γεν. Νοσ. Ηρακλείου ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ, 22° ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ, ΕΙΣΗΓΗΣΕΙΣ – ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ, ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 19 – 21 ΑΠΡΙΛΙΟΥ 2007, Τόμος 73, Συμπληρωματικό Τεύχος 2007, σελ. 42, Αρ. 140

Ε.6. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ. ΕΜΠΕΙΡΙΑ 10 ΕΤΩΝ.

Σπυριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., **Παναγιωτάκης Γ.,** Χρονάκης Ε., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Ψαράκης Φ., Παπαδάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.

Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ, Συμπληρωματικό Τεύχος, Νοέμβριος – Δεκέμβριος 2008, Τόμος 80, Τεύχος 6 Ι, σελ. 29, ΕΑ051

Ε.7. ΤΟ ΤΡΑΥΜΑ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΕΠΕΙΓΟΝΤΩΝ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ. ΑΝΑΦΟΡΑ ΑΠΟ ΜΙΑ ΕΘΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ.

[1]Δρυμούσης Π., [1]Θεοδωράκη ΕΜ., [1]Λαρεντζάκης Α., **[2]Παναγιωτάκης Γ.,** [3]Πίπερος Θ., [4]Κοντορίνης Γ., [5]Ντουράκης Δ., [1]Θεοδώρου Δ., [1]Κατσαραγάκης Σ.

[1]Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

[2]Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γεν. Νος. Ηρακλείου

[3]Χειρουργική Κλινική Γεν. Νοσ. Άργους

[4]Κρατικό Θεραπευτήριο Λέρου

[5]Χειρουργική Κλινική Γεν. Νοσ. Αθηνών «Ερυθρός Σταυρός»

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ, Συμπληρωματικό Τεύχος, Νοέμβριος – Δεκέμβριος 2008, Τόμος 80, Τεύχος 6 Ι, σελ. 158, ΕΑ297

Ε.8. ΕΜΒΟΛΗ ΑΝΩ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ ΑΡΤΗΡΙΑΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΡΟΝΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΤΕΡΟΪΔΩΝ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Χρονάκης Ε., Ψαράκης Φ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ, Συμπληρωματικό Τεύχος, Νοέμβριος – Δεκέμβριος 2008, Τόμος 80, Τεύχος 6 Ι, σελ. 251, ΑΑ147

Ε.9. ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΠΑΓΚΡΕΑΤΕΚΤΟΜΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΑΤΑΓΜΑ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.
Παναγιωτάκης Γ., Σπυριδάκης Κ., Κοκκινάκης Θ., Κρασονικολάκης Γ., Γρηγοράκη Μ., Ψαράκης Φ., Κανδυλάκης Σ.
Α' Χειρουργικό Τμήμα, ¨Βενιζέλειο - Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ, Συμπληρωματικό Τεύχος, Νοέμβριος – Δεκέμβριος 2008, Τόμος 80, Τεύχος 6 Ι, σελ. 289, ΑΑ222

ΣΤ. ΠΛΗΡΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ (MEDLINE / PubMed)

ΣΤ.1. Intestinal obstruction secondary to appendiceal mucocele: case report and review of literature.
Spiridakis K., Kreanka M., Kokkinos I., **Panagiotakis G.,** Kokkinakis T., Kandylakis S.
G Chir. 2007 Jun-Jul;28(6-7):274-6. Review. Italian – **1 Citation**
PMID: 17626772 [PubMed - indexed for MEDLINE]

ΣΤ.2. Isolated giant mesenteric fibromatosis (intra-abdominal desmoid tumors). Case report.
Spiridakis K., **Panagiotakis G.,** Grigoraki M., Kokkinos I., Papadakis T., Kokkinakis T., Kandylakis S.
G Chir. 2008 Oct;29(10):413-6.
PMID: 18947463 [PubMed - indexed for MEDLINE]

ΣΤ.3. Port site metastasis: a problem in oncologic laparoscopic surgery. Case report and review of the literature.
Spiridakis K, **Panagiotakis G,** Krasonikolakis G, Grigoraki M, Chronakis E, Psarakis F, Kokkinakis T, Kandylakis S.
G Chir. 2010 Apr;31(4):175-9.
PMID: 20444337 [PubMed - indexed for MEDLINE]

ΣΤ.4. Acute abdomen caused by a small bowel perforation due to a clinically unsuspected fish bone.
Drakonaki E, Chatziioannou M, Spiridakis K, **Panagiotakis G.**
Diagn Interv Radiol. 2011 Jun;17(2):160-2. Epub 2010 Aug 3.
PMID: 20683816 [PubMed - indexed for MEDLINE]

ΣΤ.5. Surgical treatment of gastrointestinal stromal tumour of jejunum.
Panagiotakis G, Spiridakis K, Chatziioannou M, Kontopodis N, Kandylakis S.
Hippokratia. 2011 Jul;15(3):282-3. (Published)
PMID: 22435035 [PubMed - in process]

ΣΤ.6. Colon bleeding from both arteriovenous malformation and inflammatory bowel disease. Case report.
N. Kontopodis, K. Spiridakis, M. Grigoraki, **G. Panagiotakis,** T. Papadakis, T. Kokkinakis, L. Rokadakis.
G. Chir. 2011 Oct;32(10):417-420. (Published)
PMID: 22018216 [PubMed - indexed for MEDLINE]

ΣΤ.7. Repair of an inguinoscrotal hernia containing the urinary bladder: a case report.
Panagiotakis GI, Spiridakis KG, Chatziioannou MN, Kontopodis NG, Kandylakis SE.
J Med Case Rep. 2012 Mar 26;6:90.
PMID: 22448739 [PubMed - in process]

ΣΤ.8. Association of human herpes, papilloma and polyoma virus families with bladder cancer.
Georgios I Panagiotakis, Danae Papadogianni, Maria N Chatziioannou, Ismini Lasithiotaki, Dimitrios Delakas, Demetrios A Spandidos.
Tumor Biology. 2012 (In press)
DOI:10.1007/s13277-012-0512-2

Ζ. ΠΛΗΡΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ (EMBASE / Excerpta Medica)

Ζ.1. Granular cell tumor of the breast. A case report.
T. Kokkinakis, K. Spyridakis, G. Krasonikolakis, M. Grigoraki, **G. Panagiotakis,** S. Kandylakis.
Chirurgia 2008 April;21(2):125-7
Indexed/Abstracted in: Excerpta Medica / EMBASE (Elsevier)

Ζ.2. Fracture of pancreas after blunt abdominal trauma. A case report.
Spiridakis K., **Panagiotakis G.,** Grigoraki M., Krasonikolakis G, Kokkinakis T., Kandylakis S.
Chirurgia 2010 Giugno;23(3):81-3
Indexed/Abstracted in: Excerpta Medica / EMBASE (Elsevier)

Ζ.3. Acute cholecystitis: conservative treatment and delayed cholecystectomy.
Kontopodis N., Spyridakis K., **Panagiotakis G.,** Grigoraki M., Kokkinakis T., Rokadakis L.
Surgical Department, Venizeleion General Hospital Heraklion, Crete, Greece
Chirurgia 2011 June;24(3):121-4.
Indexed/Abstracted in: Excerpta Medica / EMBASE (Elsevier)
P.ISSN 0394-9508, E.ISSN 1827-1782

Η. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ (MEDLINE – PubMed)

Η.1. Absence of human papillomavirus infection in normal and malignant bladder.
G. Panagiotakis, D. Papadogianni, N. Soulitzis, G. Sourvinos and D.A.Spandidos
Int J Mol Med 2009, Vol 24, Suppl 1:S80 (401)

Η.2. High prevalence of human herpesviruses in urothelial carcinomas.
G. Panagiotakis, D. Papadogianni, N. Soulitzis, G. Sourvinos and D.A.Spandidos
Int J Mol Med 2009, Vol 24, Suppl 1:S80 (402).

Η.3. Penetrating abdominal trauma. Our experience.
Kontopodis N., Spyridakis K., **Panagiotakis G.,** Grigoraki M., Psarakis F., Krasonikolakis G., Volakakis I., Rokadakis L.
Medimond – International Proceedings
12th European Congress on trauma & Emergency Surgery – ESTES.
Milan (Italy), April 27-30, 2011

Θ. ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΜΑΣ ΣΕ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΑΛΛΩΝ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ (Citations)

Θ.1. Naraynsingh V, Hariharan S, Sammy I. **Cecal volvulus and mucocele of the appendix.** Acta Gastroenterol Latinoam. 2010 Dec;40(4):354-6.

Στις βιβλιογραφικές αναφορές (References) της παραπάνω εργασίας περιλαμβάνεται η εργασία μας με τίτλο:
Intestinal obstruction secondary to appendiceal mucocele: case report and review of literature.
Spiridakis K., Kreanka M., Kokkinos I., **Panagiotakis G.,** Kokkinakis T., Kandylakis S. G Chir. 2007 Jun-Jul;28(6-7):274-6

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΩΣ ΟΜΙΛΗΤΗΣ ΣΕ ΣΤΡΟΓΓΥΛΕΣ ΤΡΑΠΕΖΕΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΠΟΛΥΘΕΜΑΤΙΚΟ ΣΥΜΠΟΣΙΟ, που πραγματοποιήθηκε στο Ξενοδοχείο Moevenpick Resort & Thalasso Crete, GREECE, 3-4 Οκτωβρίου 2008 – Στρογγυλή Τράπεζα με θέμα: «Τραύμα» και παρουσίαση των ομιλιών:

1. **Η ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΜΑΣ ΣΤΟ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ.**
   Γ.ΠΑΝΑΓΙΩΤΑΚΗΣ, Μ.ΧΑΤΖΗΪΩΑΝΝΟΥ, Π.ΑΡΒΑΝΙΤΑΚΗΣ, Κ.ΣΠΥΡΙΔΑΚΗΣ, Μ.ΓΡΗΓΟΡΑΚΗ, Σ.ΣΤΑΥΡΟΠΟΥΛΟΣ, Δ.ΑΡΒΑΝΙΤΑΚΗΣ, Σ.ΚΑΝΔΥΛΑΚΗΣ.
   Α΄ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ – ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΒΕΝΙΖΕΛΕΙΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ
   Ηράκλειο Κρήτης, Σάββατο 4 Οκτωβρίου 2008

2. **Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΥ ΤΕΠ ΣΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ. ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΠΕΡΙΘΩΡΙΑ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ;**
   Γ.ΠΑΝΑΓΙΩΤΑΚΗΣ, Π.ΑΡΒΑΝΙΤΑΚΗΣ, Μ.ΧΑΤΖΗΪΩΑΝΝΟΥ, Μ.ΓΡΗΓΟΡΑΚΗ, Κ.ΣΠΥΡΙΔΑΚΗΣ, Σ.ΣΤΑΥΡΟΠΟΥΛΟΣ, Δ.ΑΡΒΑΝΙΤΑΚΗΣ, Σ.ΚΑΝΔΥΛΑΚΗΣ.
   Α΄ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ – ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΒΕΝΙΖΕΛΕΙΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ
   Ηράκλειο Κρήτης, Σάββατο 4 Οκτωβρίου 2008

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

1. **ΜΕΛΟΣ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΟΣΙΟΥ**: ¨ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΠΟΛΥΘΕΜΑΤΙΚΟ ΣΥΜΠΟΣΙΟ – Διεθνής συμμετοχή¨ που οργανώθηκε από τη Νευροχειρουργική Κλινική του Βενιζέλειου Νοσοκομείου Ηρακλείου και διεξήχθη στο Ξενοδοχείο MOEVENPICK RESORT & THALASSO CRETE στις 3 – 4 Οκτωβρίου 2008, στην Αμουδάρα Ηρακλείου Κρήτης.

2. **MEMBER OF THE ORGANIZING COMMITTEE OF THE:** 13th World Congress on Advances in Oncology and 11th International Symposium on Molecular Medicine, 9 – 11 October, 2008, Hersonissos, Crete, Greece

3. **MEMBER OF THE ORGANIZING COMMITTEE OF THE:** 14th World Congress on Advances in Oncology and 12th International Symposium on Molecular Medicine, 15 – 17 October, 2009, Poseidon Resort, Loutraki, Greece

4. **MEMBER OF THE ORGANIZING COMMITTEE OF THE:** 15th World Congress on Advances in Oncology and 13th International Symposium on Molecular Medicine, 7 – 9 October, 2010, Poseidon Resort, Loutraki, Greece

5. **MEMBER OF THE ORGANIZING COMMITTEE OF THE:** 17th World Congress on Advances in Oncology and 15th International Symposium on Molecular Medicine, 11 – 13 October, 2012, Hersonissos, Crete, Greece

ΒΡΑΒΕΙΑ – ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

1. **ΕΠΑΙΝΟΣ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΗΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗΣ ΣΤΟ 4ο ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΕΙΓΟΥΣΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ:**

   ΧΟΛΩΜΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗ ΡΗΞΗ ΗΠΑΤΟΣ. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ERCP. (Ενδιαφέρουσα περίπτωση).

   Γρηγοράκη Μ., Σπυριδάκης Κ., Κόκκινος Ι., Κρεάνγκα Μ., Κρασονικολάκης Γ., Περάκης Ι., **Παναγιωτάκης Γ.,** Κοκκινάκης Θ., Κανδυλάκης Σ.

   Α΄ Χειρουργικό Τμήμα ¨Βενιζέλειο – Πανάνειο¨ Γεν. Νοσ. Ηρακλείου

   4ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής, Αίγλη Ζαππείου – Αθήνα, Παρασκευή 23 Φεβρουαρίου 2007.

   ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΒΡΑΒΕΙΩΝ:
   Κατσαραγάκης Στυλιανός – Αναπλ. Καθηγητής Χειρουργικής
   Velmachos Georgios – Professor of Surgery, Harvard University
   Τούτουζας Κωνσταντίνος – Χειρουργός Π.Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»

   Σημ: Αντί χρηματικού βραβείου, η εργασία μας επιλέχτηκε για δημοσίευση στο επίσημο περιοδικό της Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής.

2. **ΕΠΑΙΝΟΣ ΚΑΙ ΧΡΗΜΑΤΙΚΟ ΕΠΑΘΛΟ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΗΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗΣ ΣΤΟ 19ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ:**

   ¨ΟΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΤΗΣ ΛΕΣΒΟΥ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΙΑΤΡΟΥ ΣΤΗΝ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ¨

   Γ. Παναγιωτάκης, Μ. Λιώση, Μ. Ρούσσης, Ε. Πιτσιλαδή, Ε. Λουκίδου.
   Κέντρο Υγείας Άντισσας Λέσβου

   19ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ, Χερσόνησσος Ηρακλείου Κρήτης, Σάββατο 14 Απριλίου 2007.

   ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΒΡΑΒΕΙΩΝ:
   Φιλαλήθης Αναστάσιος – Καθηγητής Κοινωνικής Ιατρικής
   Λιονής Χρήστος – Καθηγητής Κοινωνικής Ιατρικής
   Συμεωνίδης Αθανάσιος – Επικ. Καθηγητής Κοινωνικής Ιατρικής

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ – ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

1. **ΒΑΝΤΑΟ 5th CONGRESS "Urinary Tract Infections",** Thessaloniki Hellas, 2 October 2001

2. **1ο ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ Α.Π.Θ.,** Θεσσαλονίκη, 21 – 23 Φεβρουαρίου 2002

3. **12ο ΠΑΓΚΡΗΤΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΜΠΟΣΙΟ**, Παιδιατρική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης, (8 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης), Ηράκλειο Κρήτης, 31 Μαρτίου 2002

4. Σεμινάριο Αγγειοχειρουργικής Κλινικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης με θέμα: **"ΑΘΗΡΟΘΡΟΜΒΩΣΗ: Σύγχρονες απόψεις και αμφιλεγόμενα θέματα",** Ηράκλειο Κρήτης, 17 Απριλίου 2002

5. **2η ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ της ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ** με θέμα: ¨Θεραπευτική αντιμετώπιση της παχυσαρκίας – Οφέλη από την απώλεια βάρους¨, Αθήνα, 19 – 20 Απριλίου 2002

6. **14ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ,** Ελληνική Εταιρία Γενικής Ιατρικής, Ηράκλειο Κρήτης, 8 – 12 Μαΐου 2002

7. **LA MACULA,** Corso di Diagnostica e di Terapia delle patologie della regione maculare, Clinica delle Scienze Oftalmologiche, Università degli Studi di Ancona, Macerata – Italia, 24 – 25 Giugno 2002

8. **ALGOS 2002, INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE WORLD INSTITUTE OF PAIN (WIP)**, Santorini – Greece, 21 – 24 September 2002

9. **11ο ΠΑΓΚΡΗΤΙΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ,** Χανιά, 1 – 3 Νοεμβρίου 2002

10. **11ο ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ**, Ογκολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης, Ηράκλειο Κρήτης, 12 – 16 Νοεμβρίου 2003

11. **ΕΛ.Ι.ΟΣ. ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΗΜΕΡΙΔΑ** με θέμα: «Ορθοπαιδικές Εφαρμογές στην Οστεοπόρωση», Ελληνικό Ινστιτούτο Οστεοπόρωσης, Ξενοδοχείο Park, Αθήνα 12 Ιουνίου 2004

12. **ΕΛ.Ι.ΟΣ. 7ο ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ**, Γ' Ορθοπαιδική Κλινική ΑΠΘ και Ελληνικό Ινστιτούτο Οστεοπόρωσης, Αμφιθέατρο Γεν. Νοσ. Θεσσαλονίκης «Παπαγεωργίου», 5 – 6 Μαρτίου 2005

13. **2ο ΔΙΕΤΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ**, Πανελλήνια Αντικαρκινική Εταιρία, Αθήνα, 17 – 20 Μαρτίου 2005

14. **«Η Διεπιστημονική Ομάδα και η Ανακουφιστική Φροντίδα» ΒΙΩΜΑΤΙΚΟ ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ** που διοργανώθηκε από το Αναισθησιολογικό Τμήμα του Βενιζέλειου – Πανάνειου Γεν. Νοσ. Ηρακλείου, Ηράκλειο, 10 Ιουνίου 2005

15. **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΗΜΕΡΙΔΑ: «ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ ΠΑΡΗΓΟΡΗΤΙΚΗ ΦΡΟΝΤΙΔΑ. ΓΝΩΡΙΜΙΑ ΜΕ ΤΟ ΙΑΤΡΕΙΟ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΡΗΓΟΡΗΤΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ»**, που οργάνωσε το Αναισθησιολογικό Τμήμα του Βενιζέλειου – Πανάνειου Γεν. Νοσ. Ηρακλείου και η Ελληνική Εταιρεία Παρηγορητικής Συμπτωματικής Φροντίδας Καρκινοπαθών και Μη Ασθενών (ΠΑΡΗ.ΣΥ.Α.), Ηράκλειο, Σάββατο 11 Ιουνίου 2005

16. **ANNUAL SURGICAL ONCOLOGY UPDATE 2005. "Early Breast Cancer. Minimal Treatment"**, University of Crete – Medical School, Department of Surgical Oncology, Heraklion – Crete, 7 – 8 October 2005

17. **13^{ο} ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ**, Ογκολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης, Χερσόνησος Ηρακλείου Κρήτης, 9 – 12 Νοεμβρίου 2005

18. **11^{ο} ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΕΜΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΤΗΣ ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗΣ ΣΤΗΛΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**, υπό την αιγίδα της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής και Τραυματιολογίας καθώς και του Κολλεγίου Ελλήνων Ορθοπαιδικών Χειρουργών, Αθήνα 2 – 4 Δεκεμβρίου 2005

19. **ΗΜΕΡΙΔΑ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΣΥΛΛΟΓΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΜΕ ΘΕΜΑ: ¨Λοιμώξεις¨**, (4 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης – CME Credits), Ηράκλειο Κρήτης, 18 Μαρτίου 2006

20. **FORUM ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ ΣΤΗ ΓΕΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ** (Γραφείο Εκπαίδευσης Γενικής Ιατρικής, Εργαστήριο Προγραμματισμού Υγείας, Κλινική Κοινωνικής και Οικογενειακής Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης και το Τμήμα ΕΛΕΓΕΙΑ Κρήτης), Ηράκλειο Κρήτης, 29 Μαρτίου 2006

21. **ΗΜΕΡΙΔΑ ΤΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΤΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΣΗΤΕΙΑΣ, ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΕΙΓΟΥΣΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΜΕ ΘΕΜΑ: ¨Αντιμετώπιση του πολυτραυματία. Μια διαρκής πρόκληση¨**, (6 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, CME – CPD Credits, από τον ΠΙΣ με Α.Π. 630 – 22/2/2006), Σητεία, 6 Μαΐου 2006

22. **2^{ο} ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ FORUM ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ ΜΕ ΘΕΜΑ: ¨Ασθένεια χωρίς σύνορα¨**, (15 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, CME – CPD Credits), Χανιά, 12 – 14 Μαΐου 2006

23. **ΕΛ.Ι.ΟΣ. «Πρόγραμμα Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης στα Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών»,** Θεσσαλονίκη, Μακεδονία Palace, Πέμπτη 18 Μαΐου 2006

24. **2^{η} ΗΜΕΡΙΔΑ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΕΩΝ ΗΠΑΤΟΣ ΜΕ ΘΕΜΑ: ¨Νεότερα δεδομένα στην περιεγχειρητική περίοδο¨**, Θεσσαλονίκη, 20 Μαΐου 2006

25. **19th EUROPEAN CONGRESS ON SURGICAL INFECTIONS, SURGICAL INFECTION SOCIETY – EUROPE**, (15 CME Credits EACCME – UEMS), Hilton Athens, Greece, 25 – 28 May, 2006

26. **ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟ ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΜΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ**, (15 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – CME Credits), Αγ. Πελαγία Ηρακλείου Κρήτης, 9 – 11 Ιουνίου 2006

27. **8ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ**, (15 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης – CME Credits), Αγία Πελαγία Κρήτης, 15 – 18 Ιουνίου 2006

28. **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΗΜΕΡΙΔΑ ΜΕ ΘΕΜΑ: «Πόνος στην Τρίτη Ηλικία»,** που οργανώθηκε από την Ελληνική Εταιρεία Παρηγορητικής Συμπτωματικής Φροντίδας Καρκινωπαθών και μη Ασθενών (ΠΑΡΗ.ΣΥ.Α.) και το Αναισθησιολογικό Τμήμα του Βενιζέλειου Νοσοκομείου, Αίθουσα «Ανδρόγεω» Δήμου Ηρακλείου, Ηράκλειο Κρήτης – Σάββατο 17 Ιουνίου 2006

29. **4th EUROPEAN CONGRESS ON EMERGENCY MEDICINE**, jointly organized by the European Society of Emergency Medicine and the Anaesthesiology Department, University of Crete, held at the Creta Maris Conference Centre, Heraklion – Crete, Greece, 4 – 8 October 2006

30. **2nd INTERNATIONAL SYMPOSIUM "COLORECTAL GAMES",** (15 CME – CPD points, according to the criteria of EACCME – UEMS), Heraklion – Crete, 5 – 7 October 2006

31. **ΗΜΕΡΙΔΑ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ** (Τμήμα Μακεδονίας – Θράκης), με θέμα: ¨Διαταραχές ερυθροκυττάρου. Αιμοσφαιρινοπάθειες¨. Θεσσαλονίκη, 14 Οκτωβρίου 2006

32. **4th INTERNATIONAL WORKSHOP: «Biological effects of emfs»**, Crete – GREECE, 16 – 20 October 2006

33. **ANNUAL SURGICAL ONCOLOGY UPDATE 2006: "Advances in Surgery of Endocrine Tumors".** University of Crete – Medical School, Department of Surgical Oncology, Heraklion – Crete, 21 – 22 October 2006

34. **14ο ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ**, Ογκολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης, Χερσόνησος Ηρακλείου Κρήτης, 25 – 29 Οκτωβρίου 2006

35. **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ (Ε.Ε.Μ.Μ.Ο.) με θέμα: ¨Οστεοαρθρίτιδα – Πρωτοπαθής Υπερπαραθυρεοειδισμός¨,** (9 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης – ΠΙΣ και UEMS) Ηράκλειο Κρήτης, 4 – 5 Νοεμβρίου 2006

36. **6ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΘΩΡΑΚΟΣ, ΚΑΡΔΙΑΣ & ΑΓΓΕΙΩΝ ΜΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ.** Ξενοδοχείο Porto Palace, Θεσσαλονίκη, 9 – 11 Νοεμβρίου 2006

37. **13^{ο} ΠΑΓΚΡΗΤΙΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ**, (21 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης CME – CPD σύμφωνα με τα κριτήρια EAC – CME – UEMS), Ηράκλειο Κρήτης, 9 – 12 Νοεμβρίου 2006

38. **2^{ο} ΣΥΝΕΔΡΙΟ «ΑΤΤΙΚΕΣ» ΔΕΡΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΗΜΕΡΕΣ,** με Διεθνή Συμμετοχή. 15 μόρια (credits) από τον Π.Ι.Σ. και την Ευρωπαϊκή Ένωση Ειδικευμένων Ιατρών (U.E.M.S.), Divani Caravel Hotel, Αθήνα, 10 – 12 Νοεμβρίου 2006

39. **SYMPOSIUM ON ROBOTIC SURGERY "The da Vinci Option",** Excellence in Surgery with Outstanding Technology, Thessaloniki, Greece, 17 – 19 November 2006

40. **«ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ»**, (10 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης), Μακεδονία Παλλάς, Θεσσαλονίκη, 18 – 19 Νοεμβρίου 2006

41. **25^{ο} ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2006**, (27 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης, απόφαση Π.Ι.Σ. Αρ. Πρωτ. 2128/7-9-06), Hotel Hilton, Αθήνα Τετάρτη 22 – Κυριακή 26 Νοεμβρίου 2006

42. **18^{ο} ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ AIDS, ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΟΥ AIDS**, (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης σύμφωνα με τα κριτήρια της EACCME – UEMS), Αθήνα 24 – 26 Νοεμβρίου 2006

43. **9^{ο} ΘΕΜΑΤΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΕΙΓΟΥΣΑΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ: ΦΑΡΜΑΚΑ.** Υπό την αιγίδα της Πανεπιστημιακής Κλινικής Εντατικής Νοσηλείας (Μ.Ε.Θ.) και του Γενικού Νοσοκομείου Αττικής «ΚΑΤ». Το Συνέδριο μοριοδοτείται με 12 μόρια (C.M.E. credits) από τον Π.Ι.Σ. Αθήνα, Αμφιθέατρο 251 Γ.Ν.Α., 24 – 25 Νοεμβρίου 2006

44. **2^{ο} ΣΥΜΠΟΣΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΚΑΡΔΙΟΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΖΩΟΓΟΝΗΣΗΣ,** υπό την αιγίδα της ΕΕΚΑΑΝ και του ΚΕΣΥ (3 μόρια – credits CME). Αθήνα, 25 Νοεμβρίου 2006

45. **2^{ο} ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ, ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΙΑ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ,** (21 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – CME Credits), Αθήνα, 29 Νοεμβρίου με 2 Δεκεμβρίου 2006

46. **5^{η} ΗΜΕΡΙΔΑ «ΓΝΩΡΙΜΙΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΗΓΟΡΗΤΙΚΗ ΦΡΟΝΤΙΔΑ»,** που οργάνωσε η Ελληνική Εταιρεία Παρηγορητικής Συμπτωματικής Φροντίδας Καρκινοπαθών και μη Ασθενών (ΠΑΡΗ.ΣΗ.Α). Αθήνα, 9 Δεκεμβρίου 2006

47. **10^{ος} ΚΥΚΛΟΣ ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑ: ΕΠΙΝΕΦΡΙΔΙΑ.** Υπό την αιγίδα της Ελληνικής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας και της Πανελλήνιας Ένωσης Ενδοκρινολόγων. 9 – 11 Φεβρουαρίου 2007

48. **«ΣΥΓΧΡΟΝΟΣ ΤΡΟΠΟΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ ΠΑΘΗΣΕΩΝ»**. Υπό την αιγίδα του Α.Π.Θ και του Εργαστηρίου Αθλητιατρικής Τ.Ε.Φ.Α.Α. Πορταριά Πηλίου, 9 – 11 Φεβρουαρίου 2007

49. **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΗΜΕΡΙΔΑ**, υπό την αιγίδα των Α΄ και Β΄ Παιδιατρικών Τμημάτων του «Βενιζέλειου» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου. Ξενοδοχείο "Atlantis", Ηράκλειο Κρήτης, 11 Φεβρουαρίου 2007

50. **16ο ΠΟΛΥΘΕΜΑΤΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΜΠΟΣΙΟ 2007**, 251 Γενικό Νοσοκομείο Αεροπορίας, (8 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – 8 CME Credits), Αθήνα, 22 – 23 Φεβρουαρίου 2007

51. **4ο ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΙΑΣ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΕΙΓΟΥΣΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ,** (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης σύμφωνα με τα κριτήρια της EACCME – UEMS, 18 CME – CPD Credits), Αθήνα 22 – 24 Φεβρουαρίου 2007

52. **12ο ΕΤΗΣΙΟ ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ του Νοσοκομείου ¨Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ¨,** (15 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης σύμφωνα με τα κριτήρια της EACCME – UEMS), Αθήνα 22 – 24 Φεβρουαρίου 2007

53. **17ο ΠΑΓΚΡΗΤΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΜΠΟΣΙΟ,** (8 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης), Χερσόνησος Ηρακλείου Κρήτης, 17 – 18 Μαρτίου 2007

54. **34ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ,** Ελληνική Ενδοκρινολογική Εταιρία και Πανελλήνια Ένωση Ενδοκρινολόγων, (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης), Creta Maris, Χερσόνησος Ηρακλείου Κρήτης, 28 – 31 Μαρτίου 2007

55. **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΗΜΕΡΙΔΑ ΜΕ ΘΕΜΑ: «GUIDELINES ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ».** Αθήνα 31 Μαρτίου 2007

56. **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ ΜΕ ΘΕΜΑ: «ΔΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗΣ ΣΤΗΛΗΣ – ΝΕΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ».** Ξενοδοχείο ΤΙΤΑΝΙΑ, Αθήνα 30, – 31 Μαρτίου 2007

57. **19ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ, ΕΛ.Ε.ΓΕ.ΙΑ.,** (19 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – 19 CME Credits), Terra Maris, Χερσόνησος Ηρακλείου Κρήτης, 11 – 15 Απριλίου 2007

58. **22ο ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ,** (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – 18 CME Credits), Hyatt Regency, Θεσσαλινίκη, 19 – 21 Απριλίου 2007

59. **2η ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ της Εταιρίας Μελέτης Παθήσεων Διαβητικού Ποδιού με θέμα: ¨Διαβητικό πόδι: Έλκη στα κάτω άκρα – Πρόληψη ακρωτηριασμών¨,** Ηράκλειο Κρήτης, 20 – 21 Απριλίου 2007

60. **29th CONGRESS OF THE EUROPEAN HERNIA SOCIETY,** accredited by the European Accreditation Council of Continuing Medical Education (EACCME), with 15 European CME credits. Athens, Greece, 6 – 9 May 2007

61. **15η ΠΑΓΚΡΗΤΙΑ ΣΤΟΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΝΟΔΟΣ**, υπό την αιγίδα της Στοματολογικής Εταιρείας Κρήτης, Χερσόνησσος, Κρήτη, 18 – 20 Μαΐου 2007

62. **ΕΑΡΙΝΗ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΩΝ ΑΔΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΜΑ: «Η ανεπιθύμητη πλευρά της ενδοκρινικής χειρουργικής – Επανεγχειρήσεις και Επιπλοκές».** Υπό την αιγίδα της Κλινικής Χειρουργικής Ογκολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης και της Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας. Ηράκλειο Κρήτης, 25 – 26 Μαΐου 2007

63. **3rd INTERNATIONAL CONGRESS OF GASTROINTESTINAL ONCOLOGY** – Progress and Prospects, organized by the Hellenic Society of Gastrointestinal Oncology, (15 ESMO – MORA points Category 1), Heraklion – Crete, 14 – 16 June 2007

64. **ΣΥΜΠΟΣΙΟ ΚΑΤΑΣΤΟΛΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΔΟΣΚΟΠΗΣΗ.** Υπό την αιγίδα της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του «Βενιζέλειου – Πανάνειου» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου και του Ιατρικού Συλλόγου Ηρακλείου. (5 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME – CPD), Ελούντα, 30 Ιουνίου 2007

65. **12th WORLD CONGRESS ON ADVANCES IN ONCOLOGY and 10th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MOLECULAR MEDICINE**, Hersonissos, Crete – Greece, October 11 – 13, 2007

66. **14ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ** (18 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME – CPD), Θεσσαλονίκη 18 – 20 Οκτωβρίου 2007

67. **8ο ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΒΟΡΕΙΟΥ ΕΛΛΑΔΟΣ** (15 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – CME credits – που αναγνωρίζονται αντίστοιχα από τον Π.Ι.Σ. και από το UEMS), Porto Palace, Θεσσαλονίκη 18 – 21 Οκτωβρίου 2007

68. **15ο ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ**. Υπό την αιγίδα της Ογκολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης, Ηρακλείου Κρήτης, 7 – 11 Νοεμβρίου 2007

69. **15ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΕΩΝ**. Υπό την αιγίδα της Ελληνικής Εταιρείας Μεταμοσχεύσεων. Θεσσαλονίκη, 7 – 8 Δεκεμβρίου 2007

70. **10ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ**. Ελληνική Εταιρεία Χειρουργικών Λοιμώξεων, (15 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – CME – που αναγνωρίζονται αντίστοιχα από τον Π.Ι.Σ. και από το UEMS), Divani Caravel, Αθήνα, 7 – 9 Δεκεμβρίου 2007

71. **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΗΜΕΡΙΔΑ ΜΕ ΘΕΜΑ: ¨ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ¨,** Ελληνική Χειρουργική Εταιρεία – Τμήμα Μαστού και Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης, (8 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – CME

Credits), Ηράκλειο Κρήτης, 5 Απριλίου 2008

72. **10ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ**, Ελληνική Εταιρεία Χειρουργικής Ογκολογίας και Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης, (15 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – CME – που αναγνωρίζονται αντίστοιχα από τον Π.Ι.Σ. και από το UEMS), Ηράκλειο Κρήτης, 9 – 11 Μαΐου 2008

73. **3rd INTERNATIONAL SYMPOSIUM «Colorectal Games»,** (12 CME – CPD points, according to the criteria of EACCME – UEMS), Rethymnon – Crete at the hotel "Rithimna Beach" 16th and 17th May 2008

74. **ΣΥΜΠΟΣΙΟ ΓΙΑ ΤΗ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**. Υπό την αιγίδα της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του «Βενιζέλειου – Πανάνειου» Γεν. Νοσ. Ηρακλείου, (6 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME – CPD σύμφωνα με τα Κριτήρια EAC – CME – UEMS), Χερσόνησος Κρήτης, 28 Ιουνίου 2008

75. **ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ ΜΕ ΘΕΜΑ: «ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΗΠΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΩΝ ΑΠΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ».** Υπό την αιγίδα του Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Κρήτης, της Εταιρείας Μελέτης της Μεταστατικής Νόσου του Ήπατος και της Εταιρείας Ογκολόγων Παθολόγων Ελλάδος, Metropolitan Hotel, Αθήνα, 3 – 4 Οκτωβρίου 2008

76. **ΝΕΥΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΠΟΛΥΘΕΜΑΤΙΚΟ ΣΥΜΠΟΣΙΟ** που πραγματοποιήθηκε από τη Νευροχειρουργική Κλινική του Βενιζέλειου – Πανάνειου Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου, υπό την αιγίδα της Ελληνικής Νευροχειρουργικής Εταιρείας Ελλάδος (15 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME–CPD Credits σύμφωνα με τα κριτήρια EACCME–UEMS), Ηράκλειο Κρήτης, 3-4 Οκτωβρίου 2008

77. **13th WORLD CONGRESS ON ADVANCES IN ONCOLOGY and 11th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MOLECULAR MEDICINE,** Hersonissos, Crete – Greece, October 9 – 11, 2008

78. **14ο ΠΑΓΚΡΗΤΙΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ.** Υπό την αιγίδα της Ιατρικής Εταιρείας Ρεθύμνου Κρήτης (24 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD, σύμφωνα με τα κριτήρια EAC-CME-UEMS). Ξενοδοχείο Pilot Beach Resort, Γεωργιούπολη Κρήτης, 29 Οκτωβρίου – 1 Νοεμβρίου 2008

79. **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ ΜΕ ΘΕΜΑ: «ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ – ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ».** Υπό την αιγίδα της Μονάδας Παχυσαρκίας της Κλινικής Χειρουργικής Ογκολογίας, της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Ηράκλειο, 31 Οκτωβρίου – 1 Νοεμβρίου 2008

80. **26ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2008.** (24 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής εκπαίδευσης – CME credits according to UEMS criteria). Hotel Hilton, Αθήνα 12 – 15 Νοεμβρίου 2008

81. **10ο ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΣΤΗ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΙΚΟΤΗΤΑ.** 4ος κύκλος – 1η ενότητα: Οισοφάγος. Υπό την αιγίδα της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Ν.Ν.Α. και της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Διάρκεια: 21 ώρες – 18 μόρια CME. Πολιτιστικό Κέντρο Δελφών, 21 – 24 Ιανουαρίου 2009

82. **5ο ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΙΑΣ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΕΙΓΟΥΣΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ**, (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης σύμφωνα με τα κριτήρια της EACCME – UEMS, 18 CME – CPD Credits), Ίδρυμα Ευγενίδου, Αθήνα 19 – 21 Φεβρουαρίου 2009

83. **ΔΙΗΜΕΡΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑ: «Η ΠΟΡΕΙΑ ΕΝΟΣ ΤΡΑΥΜΑΤΙΑ, ΑΠΟ ΤΟ ΧΩΡΟ ΤΟΥ ΑΤΥΧΗΜΑΤΟΣ ΜΕΧΡΙ ΤΗΝ ΤΕΛΙΚΗ ΕΚΒΑΣΗ»,** υπό την αιγίδα της Ελληνικής Εταιρίας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής (9 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης (CME-CPD) σύμφωνα με τα κριτήρια της EACCME–UEMS, που αναγνωρίζονται αντίστοιχα από τον Π.Ι.Σ. (Α.Π 4190/09-03-2009). Σητεία 9-10 Μαΐου 2009

84. **4ο ΣΥΜΠΟΣΙΟ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΕΩΝ,** υπό την αιγίδα της Χειρουργικής Κλινικής Μεταμοσχεύσεων Α.Π.Θ. (10 μόρια – credits CME/CPD), 12 – 13 Ιουνίου 2009

85. **9ο ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΒΟΡΕΙΟΥ ΕΛΛΑΔΟΣ,** υπό την αιγίδα της Χ.Ε.Β.Ε. 18 μόρια συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης (CME) αμοιβαία αναγνωρισμένα από τον Π.Ι.Σ. Ξενοδοχείο Hyatt Regency, Θεσσαλονίκη 29 Οκτωβρίου – 1 Νοεμβρίου 2009

86. **4ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΚΗΛΗΣ,** υπό την αιγίδα της Ελληνικής Εταιρείας Κήλης, της Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας και της European Hernia Society. Ίδρυμα Ευγενίδου, Αθήνα, 27 – 29 Νοεμβρίου 2009

87. **11ο ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΣΤΗ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΙΚΟΤΗΤΑ.** 4ος κύκλος – 2η ενότητα: Στόμαχος – Λεπτό Έντερο – Χοληφόρα. Υπό την αιγίδα της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Ν.Ν.Α. και της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Διάρκεια: 21 ώρες – 18 μόρια CME. Λουτράκι – Poseidon Resort, 28 – 31 Ιανουαρίου 2010

88. **25ο ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ** – με Πανελλήνια Συμμετοχή. (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – 18 CME/CPD Credits), Hyatt Regency, Θεσσαλονίκη, 18 – 20 Μαρτίου 2010

89. **1ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΙΑ ΤΙΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ (Κεντρικό Νευρικό Σύστημα – Καρδιά – Αορτή – Περιφερικό).** Υπό την αιγίδα του Εργαστηρίου Επεμβατικής Ακτινολογίας του Γ. Ν. Θεσσαλονίκης «Γεωργ. Παπανικολάου». Θεσσαλονίκη, Hotel Porto Palace, 23 – 24 Απριλίου 2010

90. **5ο ΣΥΜΠΟΣΙΟ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΕΩΝ** – με Διεθνή Συμμετοχή. Υπό την αιγίδα της Χειρουργικής Κλινικής Μεταμοσχεύσεων Α.Π.Θ. (12 μόρια συνεχιζόμενης ιατρικής εκπαίδευσης – 12 credits CME/CPD), 28 – 29 Μαΐου 2010

91. **ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**. 3ος Κύκλος – 1η Συνάντηση. Ξενοδοχείο Rithymna Beach, Ρέθυμνο 3 & 6 Ιουνίου 2010

92. **4th INTERNATIONAL SYMPOSIUM «Colorectal Games»**, (12 CME – CPD points, according to the criteria of EACCME – UEMS), Rethymnon – Crete at the hotel "Rithimna Beach" 4th and 5th June 2010

93. **15th WORLD CONGRESS ON ADVANCES IN ONCOLOGY and 13th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MOLECULAR MEDICINE**, Loutraki, Hotel Poseidon Resort, October 7 – 9, 2010

94. **15ο ΠΑΓΚΡΗΤΙΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ.** Υπό την αιγίδα της Ιατρικής Εταιρείας Χανίων. (15 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – CME credits). Χανιά Κρήτης, 29 – 31 Οκτωβρίου 2010

95. **27ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ – ΔΙΕΘΝΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΦΟΡΟΥΜ 2010**. Υπό την αιγίδα της Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας. Hotel Hilton, Αθήνα 24 – 27 Νοεμβρίου 2010

96. **12ο ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΣΤΗ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΙΚΟΤΗΤΑ.** 4ος κύκλος – 3η ενότητα: Παχύ Έντερο – Ορθοπρωκτική Περιοχή. Υπό την αιγίδα της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Ν.Ν.Α. και της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Διάρκεια: 21 ώρες – 18 μόρια CME. Βόλος – Ξενοδοχείο Park, 14 – 16 Ιανουαρίου 2011

97. **ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ. 3ος Κύκλος – 2η Συνάντηση.** Βόλος – Ξενοδοχείο Park, 10 – 13 Φεβρουαρίου 2011

98. **5ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΕΙΓΟΥΣΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ,** (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης σύμφωνα με τα κριτήρια της EACCME – UEMS, 18 CME – CPD Credits), Θεσσαλονίκη 17 – 19 Φεβρουαρίου 2011

99. **26ο ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ** – με Πανελλήνια Συμμετοχή. (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – 18 CME/CPD Credits), Hyatt Regency, Θεσσαλονίκη, 31 Μαρτίου – 2 Απριλίου 2011

100. **12th EUROPEAN CONGRESS ON TRAUMA AND EMERGENCY SURGERY.** 18 CME Credits. Milan Italy, 27 – 30 April 2011

101. **27ο ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ** – με Πανελλήνια Συμμετοχή. (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης – 18 CME/CPD Credits), Hyatt Regency, Θεσσαλινίκη, 29 – 31 Μαρτίου 2012

102. **1ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ**, υπό την αιγίδα της Επαγγελματικής Ένωσης Γενικών Χειρουργών Ελλάδος (16 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης), Θεσσαλονίκη 25 – 27 Μαϊου 2012.

103. **17th WORLD CONGRESS ON ADVANCES IN ONCOLOGY and 15th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MOLECULAR MEDICINE,** Hersonissos, Crete – Greece, October 11 – 13, 2012

104. **16ο ΠΑΓΚΡΗΤΙΟ ΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ.** Υπό την αιγίδα της Ιατρικής Εταιρείας Λασιθίου. Daios Cove Hotel, Άγιος Νικόλαος Κρήτης, 25 – 28 Οκτωβρίου 2012

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ακολουθεί αντίγραφο της δημοσιευμένης εργασίας που προέκυψε από την παρούσα διδακτορική διατριβή. Η εργασία αρχικά δημοσιεύτηκε σε ηλεκτρονική μορφή στον επίσημο ιστότοπο του περιοδικού Tumor Biology© στις 13 Σεπτεμβρίου 2012 (DOI:10.1007/s13277-012-0512-2). Πρόκειται για έγκριτο διεθνές επιστημονικό περιοδικό με σύστημα κριτών (cited journal) καταχωρημένο στο MEDLINE/PUBMED, καθώς και στο ISI Thomson με επίσημο Impact Factor (2.143) για το έτος 2011.

Tumor Biol.
DOI 10.1007/s13277-012-0512-2

RESEARCH ARTICLE

Association of human herpes, papilloma and polyoma virus families with bladder cancer

Georgios I. Panagiotakis · Danae Papadogianni · Maria N. Chatziioannou · Ismini Lasithiotaki · Dimitrios Delakas · Demetrios A. Spandidos

Received: 25 July 2012 / Accepted: 30 August 2012
© International Society of Oncology and BioMarkers (ISOBM) 2012

Abstract The aim of the present study was to assess the possible etiologic role of human papillomavirus (HPV), human herpes virus (HHV) and the human polyoma virus families (BKV and JCV) in the tumourigenesis of bladder cancer. Thirty biopsy specimens from patients with different grades and stages of bladder cancer, who underwent transurethral bladder cancer resection, and 30 normal bladder mucosa specimens were analysed using polymerase chain reaction (PCR) for the detection of the above three virus family members. The presence of HPV was determined in all specimens with nested PCR and real-time quantitative PCR. All cancerous specimens, including the control group, were found to be negative both by PCR and real-time qPCR for the presence of HPV DNA, whilst all samples examined by PCR tested negative for the presence of HSV-1,2 Varicella zoster virus and HSV-7 DNA. Cytomegalovirus, HHV-6 and HHV-8 exhibited similar incidence in sample positivity in both cancerous and healthy tissues. EBV showed a higher prevalence in bladder cancer specimens compared to healthy tissue (p=0.048), whilst BKV and JCV were detected only in tumour samples. The presence of EBV in a significant proportion of bladder tumours indicates the etiological role of this virus in cancer tumourigenesis.

Keywords Herpes virus · Papilloma virus · Polyoma virus · PCR · Bladder cancer

Abbreviations

HPV	Human papillomavirus
HHV	Human herpes virus
HPyV	Human polyoma virus
VZV	Varicella zoster virus
CMV	Cytomegalovirus
EBV	Epstein–Barr virus
HSV	Herpes simplex virus
HHV	Human herpes virus
PCR	Polymerase chain reaction
RT qPCR	Real-time quantitative polymerase chain reaction
TCC	Transitional cell carcinoma
SCC	Squamous cell carcinoma
NPC	Nasopharyngeal carcinoma

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s13277-012-0512-2) contains supplementary material, which is available to authorized users.

Georgios I Panagiotakis and Danae Papadogianni have equally contributed to this work.

G. I. Panagiotakis (✉) · D. Papadogianni · M. N. Chatziioannou · I. Lasithiotaki · D. A. Spandidos
Laboratory of Clinical Virology, Medical School, University of Crete,
P.O. Box 2208, Heraklion 71003 Crete, Greece
e-mail: gpanagiotakis@hotmail.com

D. Delakas
Department of Urology, Asklipeiion Hospital, Voula, Athens, Greece

Background

Vesical neoplasms account for nearly 2 % of all cancers and are the second most common malignancies of the genitourinary tract. Males are affected twice as often as females. More than 90 % of these tumours are transitional cell carcinomas (TCCs), whilst the remaining 10 % are squamous cell carcinomas (SCCs) or adenocarcinomas [1]. Most TCCs (over 80 %) do not invade the bladder wall at the time of diagnosis. The etiology of TCC remains unknown, although there is strong association with chronic cigarette smoking and exposure to chemicals prevalent in dye, rubber, leather,

Published online: 13 September 2012

paint and other industrial components [2]. Common use of artificial sweeteners such as cyclamates and saccharin has also been implicated.

Human papillomavirus (HPV) is a small double-stranded DNA virus that comprise a family of more than 130 genotypes [3]. HPV has been implicated in several human cancers, particularly in tumours of the cervix, the anogenital region, the skin, as well as the head and neck. It has been strongly suggested that HPV could also play a role in the human urinary bladder tumourigenesis since HPV causes condylomata acuminata [4] and urothelial malignancies have been reported in association with extensive urethral and bladder condylomata [5, 6].

The herpes virus superfamily contains eight different types of viruses, and many of them have already been detected in human TCC specimens [7]. Herpes simplex virus (HSV-1, HSV-2) can potentially infect any site of the body, but infections of the skin, genital, oral mucosa, eyes, anus, rectum and the central nervous system are more common. It has been suggested that HSV-1 has the ability to transform cells in vitro, possibly creating an oncogenic potential in vivo [8], whilst HSV-2 had been suggested as a possible cofactor in the development of cancer of the uterine cervix [9, 10]. Varicella zoster virus (VZV or HHV-3) is responsible for skin lesions and manifestations of the central nervous system. Epstein–Barr virus (EBV or HHV-4) is associated with a great number of malignancies including Burkitt's lymphoma, undifferentiated NPC, B cell lymphoma in immunodeficient patients and Hodgkin's disease. EBV has been found to replicate in the cervical epithelium, and genomic sequences have been detected in cervical biopsies from patients with invasive carcinoma, thus suggesting the possible role of EBV in genital carcinoma [11, 12]. EBV DNA has also been detected in the urethra of men with gonorrhea, raising questions concerning the spread of this virus to the urogenital tract [13]. Human cytomegalovirus (CMV or HHV-5) causes mononucleosis-like disease, neonatal disease, systemic infection in immunocompromised patients and central nervous system disease, and it has been associated with nephrogenic adenoma [14]. Human herpes virus type 6 (HHV-6) has been detected in a series of patients with bladder cancer in the Mediterranean [15]. Human herpes virus type 8 (HHV-8), also known as Kaposi's sarcoma-associated herpes virus, mainly infects immunodepressed patients [16].

Human polyoma virus (HPyV) is a small, non-enveloped, double-stranded DNA virus. BK polyoma virus (BKV) and JC polyoma virus (JCV) infections occur in childhood, and BKV's role in urothelial carcinoma has been suggested in immunocompetent individuals [17, 18].

The aim of the present study was to assess the possible etiologic role of HPV, EBV, CMV, VZV, HSV, human herpes virus (HHV-6–8) and human polyoma viruses (BKV and JCV) in bladder cancer. We suggest that a deeper understanding of viral infection in bladder cancer may lead to targeted diagnostic procedures and possibly new therapeutic methods.

Materials and methods

Study population

A total of 30 bladder carcinomas were obtained from patients diagnosed with primary urothelial cancer who underwent surgical transurethral resection at the Department of Urology, Asklipeiion General Hospital, Voula, Athens, Greece, between May 2006 and January 2007. Twenty-four (80 %) of the tumours were firstly diagnosed at the time of the resection, whereas six (20 %) of them were recurrent primary carcinomas. Each tumour sample was matched to a non-cancerous specimen derived from normal adjacent bladder tissue. Following surgical resection, all tissue samples were snap-frozen in liquid nitrogen and stored at −80 °C until DNA extraction. The median age at surgical resection was 75.5 years (range, 44–86 years). All tumour specimens were histopathologically examined using haematoxylin and eosin-stained slides in order to determine the tumour stage and grade. Tumour grade was determined according to the 1973 WHO and the 2004 WHO/International Society of Urological Pathology classifications. Tumour stage was assessed according to the 2002 American Joint Committee on Cancer staging system. Normal adjacent tissue samples had no contaminating tumour cells, as confirmed by histopathologic examination. The clinicopathological parameters of the study population are listed in Table 1. The Bioethics Committee of the Medical School of the University of Crete approved the current study protocol. Written informed consent was obtained from all the patients or their relatives.

DNA extraction

Tissue specimens were transferred to sterile DNase/RNase-free Eppendorf tubes, where 400 μl lysis buffer (buffer AL, cat. no. 19075, Qiagen®) and Proteinase K to a final concentration of 50–100 μg/ml were added. Samples were incubated for 2–4 days at 60 °C until tissues were lysed. Proteinase K (20 mg) was added to the samples every 8 h. DNA isolation was performed using the standard phenol/chloroform protocol, followed by precipitation with absolute ethanol, washing with 70 % ethanol and resuspension in 50 μl sterile bidistilled water. DNA quantification and determination of DNA purity were assessed by measuring its 260-nm absorbance and its 260:280-nm absorbance ratio, respectively, on a UV spectrophotometer. DNA samples

Table 1 Clinicopathological parameters of the study population

	Bladder cancer (%)
Cases, *n*	30
Age, mean ± SD (years)	72.2±10.6
Gender	
Male	27 (90.0)
Female	3 (10.0)
Stage	
pTa-pT1	18 (60.0)
pT2-pT3	12 (40.0)
Grade (WHO 1973)	
II	10 (33.3)
III	20 (66.7)
Tumour type	
Papillary	23 (76.7)
Non-papillary	7 (23.3)
Recurrence	
Primary	24 (80.0)
Recurrent	6 (20.0)
Smoking habits	
Current smokers	18 (60.0)
Former smokers	8 (26.7)
Non-smokers	4 (13.3)
Occupational exposure[a]	
Yes	19 (63.3)
No	11 (36.7)

[a]To chemicals, paints, pesticides, petroleum, ink, etc.

were stored at −20 °C until polymerase chain reaction (PCR) amplification.

PCR amplification reactions

Both tumour and normal samples were examined for the presence of HPV, HSV-1, HSV-2, CMV, EBV, VZV, HHV-6, HHV-7, HHV-8 and human polyoma viruses BKV and JCV DNA by PCR using the respective set of primers. The primer sequences used have been described previously [19–22] and are listed in Table 2. All samples were examined with the amplification of a 110-bp region of the b2-globuline gene, which served as the housekeeping gene in order to assess the presence of amplifiable DNA in all samples. The first-round PCR products from the EBV and HHV-6 reactions were used as templates for nested PCR using an additional set of inner primers (Table 2). The PCR conditions for human papilloma viruses, herpes viruses and β2m, as previously described [20], are shown in Table 2. Extreme care was taken during the process of DNA extraction and PCR amplification to avoid potential contaminations, whilst a negative control was always included in each reaction.

To ensure that our PCR assay was sensitive enough to detect relatively low levels of viral DNA, as described elsewhere [23], a serial dilution assay was employed. Ten microlitres of PCR, real-time qPCR and restriction fragment length polymorphism analysis products was electrophoresed on agarose gels stained with ethidium bromide (agarose concentration varying from 2 to 3 %, depending on the PCR product size) and photographed on a UV light transilluminator.

Real-time quantitative polymerase chain reaction

Real-time quantitative polymerase chain reactions (qPCR) for the detection of HPV DNA were performed in a final volume of 20 μl containing 1 μl DNA from tumour and normal samples, 2× KAPA™ SYBR® FAST qPCR Kit Master Mix (containing $MgCl_2$ at a final concentration of 2.5 mM and Rox passive reference dye; Kapa Biosystems, Boston, MA) and 200 nM of each primer ($GP5^+/GP6^+$). After the initial denaturation at 95 °C for 3 min, product amplification was performed for 40 cycles comprising denaturation at 95 °C for 3 s, annealing at 45 °C for 20 s and elongation at 72 °C for 10 s, followed by a melt curve analysis in which the temperature was increased from 60 to 95 °C at a linear rate of 0.2 °C/s. Fluorescent data were collected both during annealing and extension, with two measurements at the annealing step and one measurement at the extension step, and at all times during the melt curve analysis. Real-time qPCR experiments were performed on the Mx3000P real-time qPCR thermocycler using the software version 4.01 (Stratagene, La Jolla, CA).

The analytical sensitivity and specificity of all the assays (PCR, nested-PCR, RT qPCR) as well as the linear dynamic range of detection have been previously described [23].

Statistical analysis

The results were analysed through standard statistical methods applied in case–control studies. The correlation of each of the studied characteristics with viral infection was evaluated using Pearson's χ^2 analysis or Fisher's exact test, where indicated (expected frequencies, <5). Numerical values were expressed as the mean ± SEM, and the differences between means were compared by the two-tailed, unpaired Student's *t* test. Probability values (*p* values) <0.05 were considered statistically significant. The analyses were performed using SPSS software, version 11.5 (SPSS. Chicago, IL).

Table 2 Primer sequences, annealing temperatures and PCR product lengths

Virus	Sequence (5′–3′)	Annealing T_m (°C)	PCR product (bp)
HPV	TTGTTACTGTGGTAGATAC CTTATACTAAATGTCAAATAAAAAG	43×10 40×30	150
HSV-1,2	CAGTACGGCCCCGAGTTCGTGA TTGTAGTGGGCGTGGTAGATG	64	478
CMV	GTCACCAAGGCCACGACGTT TCTGCCAGGACATCTTTCTC	57	167
EBV	Outer primers		
	AGCACCCCCACATATCTCTTCTT CGAGTCATCTACGGGGACACGGA	65	197
	Inner primers		
	GGAGAAGGTCTTCTCGGCCTC TTCAGAGAGCGAGACCCTGC	69	102
VZV	TTGTAGTGGGCGTGGTAGATG ATGTCCGTACAACATCAACT	60	267
HHV-6	Outer primers		
	GACAATCACATGCCTGGATAATG TGTAAGCGTGTGGTAATGGACTAA	58	178
	Inner primers		
	GTTAAATTGATAGTACTTACGTG ATCAAAATATAAAGAGCACAGCA	53	70
HHV-7	GGAAATAGGATCTTTTCAAATTC GTTACTTTCAAAAATGTTTGTCCC	59	122
HHV-8	Outer primers		
	ACTACGACAACCCTCAAAATAG AGTAGAATATCATCCTGTGCG	45	319
	Inner primers		
	TCGCATGGAGGACCTAGTCAATAA GGTTGTAGTCATTCTCGTCCAGGG	55	116
HPyV	AGTGGATGGGCAGCCTATGTA TCATATCTGGGTCCCCTGGA	60	97
β2-m	TCCAACATCAACATCTTGGT TCCCCCAAATTCTAAGCAGA	55	102

Results

Human papillomavirus DNA was detected neither in tumour nor in normal samples by PCR using the $GP5^+/GP6^+$ primers. Following PCR analysis as well as further validation by real-time qPCR analysis (primer sequences shown in Table 2), all samples were examined for the presence of HPV DNA; no tumour or normal sample was found to be positive (Electronic supplementary material (ESM) Additional File 1). Moreover, all tumour and normal specimens were examined for the presence of herpes and polyoma virus DNAs by PCR using the respective set of primers for each virus (Table 2).

Cytomegalovirus DNA was detected in 22 tumour samples (73.3 %) and 23 normal samples (76.7 %; Figs. 1 and 2). EBV DNA was detected in 15 (50.0 %) tumour samples versus 4 (13.3 %) normal samples (p=0.0048; Figs. 1 and 2). HHV-6 was detected in 11 tumour samples (36.7 %) and 11 normal samples (36.7 %; Fig. 1). Paired samples were highest for CMV DNA presence (17 pairs) followed by HHV-6 DNA presence (three pairs) and EBV DNA presence (one pair), with statistical significance for CMV versus HHV-6-positive pairs (p=0.0003) as well as for CMV versus EBV-positive pairs (p<0.0001; Table 3).

HHV-8 DNA was detected in one tumour sample (3.3 %) and two normal samples (6.7 %; Fig. 2). Four tumour samples (13.3 %) were positive for HPyV DNA (Fig. 1). Seven samples (11.7 %) were negative for all viruses included in the study, four of which were tumour samples (13.3 %) and three of which were normal samples (10.0 %). No sample pair was found positive for HSV-1, HSV-2, VZV, HHV-7, HHV-8 and HPyV (ESM Additional File 2). One sample pair (3.3 %) was negative for all viruses included in the study. The cumulative results of the PCR analyses for both tumour and normal samples are demonstrated in Tables 3 and 4.

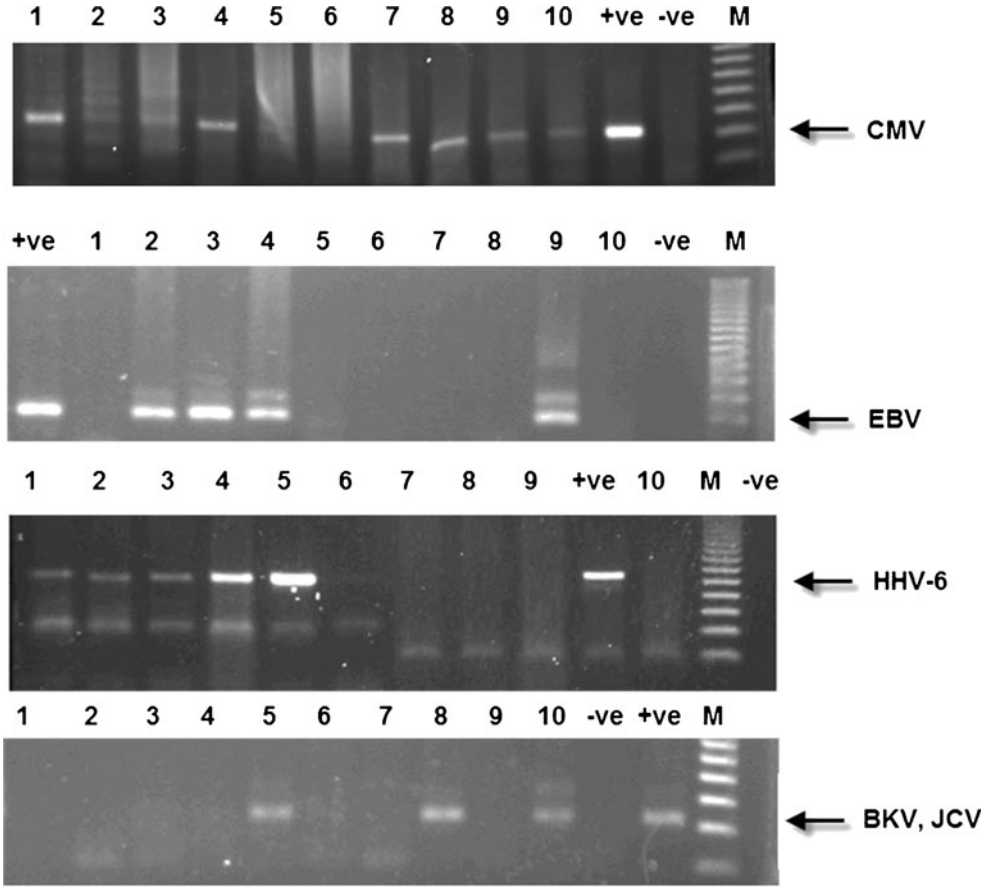


Fig. 1 Detection of CMV, EBV, HHV-6 and polyoma virus DNA using PCR. Samples 1, 3, 5, 7, 9 (tumour) and 2, 4, 6, 8, 10 (healthy specimens)

The simultaneous presence of two or more viruses was detected in 29 samples (48.3 %), 17 of which were tumour samples (56.7 %) and 11 of which were normal samples (36.7 %). The DNAs of two, three or four viruses were detected in 20 (33.3 %), 7 (11.7 %) and 4 (3.3 %) samples, respectively. CMV and HHV-6 co-infection was most predominant in this study (detected in two tumour and seven normal samples), followed by CMV and EBV co-infection (five tumour and two normal samples; Table 3).

Discussion

The incidence of bladder cancer has highly increased during the last decades, whilst the possible role of the viruses has already been examined with some positive results. Bladder cancer incidence rates in Greece have not been officially submitted to the WHO database. The present study contains only 10 % females, which is in accordance with the only study to date, representing the local frequencies for the

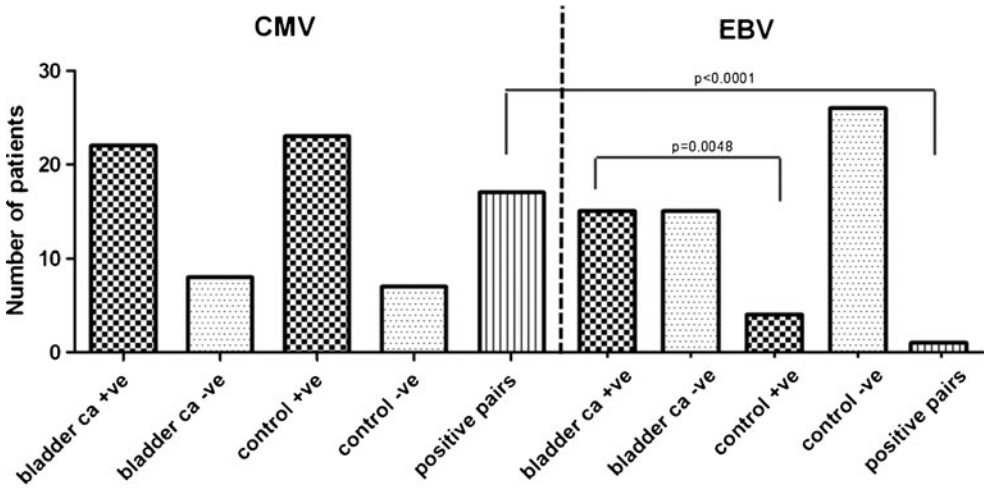


Fig. 2 Graphical representation of CMV and EBV DNA presence in bladder tissue and healthy specimens

Table 3 Cumulative results of the detection of human papilloma, herpes and polyoma viruses in tumour and normal bladder specimens

Virus	Tumour samples (%)	Normal samples (%)	Paired samples (%)	Total virus presence (%)
HPV	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
CMV	22/30 (73.3)	23/30 (76.7)	17/30 (56.7)	45/60 (75)
EBV	15/30 (50.0)	4/30 (13.3)	1/30 (3.3)	19/60 (31.7)
HSV	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
VZV	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
HHV-6	11/30 (36.7)	11/30 (36.7)	3/30 (10.0)	22/60 (36.7)
HHV-7	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	0/60 (0.0)
HHV-8	1/30 (3.3)	2/30 (6.7)	0/30 (0.0)	3/60 (5.0)
HPyV	4/30 (13.3)	0/30 (0.0)	0/30 (0.0)	4/60 (6.7)

disease [24]. To the best of our knowledge, there is no referred examination combining the herpes virus, HPV and HPyV virus families in bladder cancer with the use of PCR.

Our study was designed to investigate the potential role of DNA viruses HHV and HPyV in urinary bladder cancer. It is of interest that nearly 50 % of the samples were infected by more than one virus. EBV is a human DNA virus already linked to a range of human tumours, whilst CMV and HSV-2 have been demonstrated to display an oncogenic potential in vitro and have been proposed as cofactors for the development of cervical cancer [25]. There are no reports concerning the prevalence of HHV and HPyV genomes in bladder neoplasms. In the present study, CMV DNA was detected in the majority of tumour and normal samples, without any positive correlation of infection and carcinogenesis, as was the case for HHV-6 DNA presence. It is very likely that CMV and HHV-6 infections do not play a critical role in the development and progression of urinary bladder cancer. Notably, CMV infection of both the tumour and healthy sites of the urinary bladder showed a higher prevalence than HHV-6 paired positivity, suggesting a tropism of CMV for the urothelium that has not yet been reported. Meanwhile, EBV DNA presence was abundant in tumour samples compared to normal tissue, with statistical significance ($p=0.0048$). This finding could promote the hypothesis that EBV, already an etiopathological factor in human cancer, may be involved in the initial cancerous stimuli or in the progression of tumourigenesis in bladder cancer. It has already been suggested that EBV DNA presence in urothelial carcinoma positively correlates with poor differentiation status in a study that provided similar EBV DNA presence to ours [26].

A small yet notable percentage of samples examined (10 %) contained CMV and HHV-6 (6.7 %) and CMV and EBV (3.3 %) sequences, raising the possibility of a synergism between these viruses in urinary bladder carcinogenesis. Such synergism has already been suggested in other human tumours, as in epithelial malignancies of the anogenital tract. In particular, CMV and a HSV-2 have already been implicated in the etiology of human cancer mainly in cervical carcinoma, where their presence was found together with high-risk HPV sequences by different groups [27].

The remaining human herpes virus (HSV-1, HSV-2, VZV, HHV-7, HHV-8) DNA presence or absence analysis did not reveal evidence regarding their involvement in human bladder carcinogenesis, although co-infection with other DNA viruses may facilitate genetic alterations that promote malignant phenotypes.

BKV and JCV infection accounted for four tumour samples in this study, suggesting the possible implication of these HPyV in bladder tumourigenesis. However, recent research [28] shows that HPyV infection prevalence in TCC is similar to controls, whilst another study disproved the causality of BKV DNA presence in most TCC of the bladder [29]. HPyV involvement in TCC may be elucidated by gender and smoking criteria. In our study, all positive BKV and JCV samples came from males, and the majority (75 %) had a positive smoking history. Moreover, the viruses' detection in only tumour-derived samples only suggests that bladder cancer cells are susceptible to polyoma infections compared to healthy cells of the bladder [30], whilst the role of polyoma viruses in bladder cancer remains to be elucidated.

The present study did not detect a correlation between the presence of HPV DNA and bladder cancer using PCR and also the sensitive technique real-time qPCR, with the same general primers for HPV ($GP5^{+}/GP6^{+}$). It is the first time that real-time qPCR is used for detecting HPV DNA in patients with bladder cancer. Previous studies of normal and neoplastic tissues of the bladder for the presence of HPV DNA using paraffin-embedded specimens and in vitro gene amplification by PCR showed that the urinary bladder in both genders is another site where infection with the common genital tract HPV may carry a risk of malignant transformation [31]. A similar study [32] analyzing patients with TCC using PCR and probes for 6, 11, 16, 18 and 31 HPV DNA detected HPV DNA in all tumours. Despite these findings, a previous study using PCR techniques showed that human papillomavirus infection is rare in TCC of the bladder [33], whilst another study using in situ hybridization indicated that high-

Table 4 Results of the detection of human papilloma, herpes and polyoma viruses in tumour and normal bladder specimens

Patient no.	HPV PCR	HPV qPCR	CMV	EBV	VZV	HSV-1,2	HHV-6	HHV-7	HHV-8	BKV, JCV
1 tumour	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
1 control	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
2 tumour	−	−	+	+	−	−	+	−	−	−
2 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
3 tumour	−	−	+	+	−	−	+	−	−	−
3 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
4 tumour	−	−	+	+	−	−	−	−	−	+
4 control	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 tumour	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
5 control	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
6 tumour	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−
6 control	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
7 tumour	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
7 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
8 tumour	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
8 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
9 tumour	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
9 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
10 tumour	−	−	+	−	−	−	+	−	−	+
10 control	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−
11 tumour	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
11 control	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−
12 tumour	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−
12 control	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
13 tumour	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
13 control	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−
14 tumour	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
14 control	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
15 tumour	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−
15 control	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−
16 tumour	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
16 control	−	−	+	+	−	−	+	−	−	−
17 tumour	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−
17 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
18 tumour	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
18 control	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−
19 tumour	−	−	+	+	−	−	+	−	−	−
19 control	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−
20 tumour	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
20 control	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−
21 tumour	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
21 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
22 tumour	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
22 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
23 tumour	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−
23 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
24 tumour	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
24 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
25 tumour	−	−	+	−	−	−	−	−	−	+

Table 4 (continued)

Patient no.	HPV PCR	HPV qPCR	CMV	EBV	VZV	HSV-1,2	HHV-6	HHV-7	HHV-8	BKV, JCV
25 control	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−
26 tumour	−	−	+	+	−	−	+	−	−	+
26 control	−	−	+	−	−	−	+	−	+	−
27 tumour	−	−	+	+	−	−	+	−	−	−
27 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
28 tumour	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−
28 control	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
29 tumour	−	−	+	+	−	−	+	−	−	−
29 control	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
30 tumour	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
30 control	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−

risk HPV is likely to be a causative agent of some low-grade bladder carcinomas that develop in younger patients [34]. A recent meta-analysis suggests that infection of high-risk HPV types, especially HPV-16, may play a role in bladder carcinogenesis, whilst the authors suggest a moderate geographic variation in HPV prevalence [35]. In this meta-analysis, no Greek study was used, which could answer for the fact that our study deviates from this suggestion, taking into account the different genetic backgrounds, environmental risk factors, and other ethnic and cultural differences. A very recent study in urinary bladder in squamous cell carcinoma, supporting our results, suggests that HPV does not play a role in the development of SCC of the urinary bladder or urothelial carcinoma with squamous differentiation [36]. Moreover, in a series of Tunisian patients, an association between HPV and bladder cancer was proven by the detection of HPV DNA in patients with anogenital cancer, but not in patients with bladder cancer [37]. These results are in accordance with the results of the present study. Interestingly, an Egyptian study [38] showed a significant association of HPV-16, HPV-18, and HPV-52 with bladder cancer, suggesting the hypothesis of a viral synergistic action in bladder carcinogenesis. In addition, such HPV types were associated with TCC tumours of grade 2 stage III, with schistosomal infection and recurrence tendency [38]. It is of note that HPV DNA presence in bladder washes has been positively related to the severity of the clinical outcomes of bladder cancer [39]; however, this pilot study's suggestion does not take in to account the incorporation of the HPV genome, which was the aim of our study. Thus, the authors feel that any comparison between the two would lack value.

A possible correlation between infection with HPV and the development of TCC of the bladder is therefore not unreasonable; that HPV infection of the bladder occurs is certainly true, as condylomata, which are characteristic of HPV infection, have been reported in the bladder. There may be a geographical variation in the incidence of HPV infection of the urinary tract, although evidence for this is lacking. A hypothetical protective factor could be the Mediterranean diet, which is rich in antioxidative nutrients (a diet followed by Greek individuals), in contrast with the Egyptian diet deriving from a Middle Eastern cultural background. This must be proven in the future with other clinical studies.

Conclusion

The absence of HPV DNA in all bladder samples provides evidence that HPV may not be associated with bladder cancer pathogenesis in the Greek population. CMV and HHV-6 showed a similar incidence in both bladder cancer and bladder healthy urothelium, which suggests a tissue-specific sensitivity for these viruses. The presence of EBV in a significant proportion of bladder tumours indicates an etiological role of this virus in cancer tumourigenesis.

Competing interests The authors declare they have no competing interests.

References

1. Pashos CL, Botteman MF, Laskin BL, Redaelli A. Bladder cancer: epidemiology, diagnosis, and management. Cancer Pract. 2002;10:311–22.
2. Kaufman DS, Shipley WU, Feldman AS. Bladder cancer. Lancet. 2009;374:239–49.
3. Mammas IN, Sourvinos G, Michael C, Spandidos DA. Human papilloma virus in hyperplastic tonsillar and adenoid tissues in children. Pediatr Infect Dis J. 2006;25:1158–62.
4. Zderic SA, Carpiniello VL, Malloy TR, Rando RF. Urological applications of human papillomavirus typing using deoxyribonucleic acid probes for the diagnosis and treatment of genital condyloma. J Urol. 1989;141:63–5.

5. Libby JM, Frankel JM, Scardino PT. Condyloma acuminatum of the bladder and associated urothelial malignancy. J Urol. 1985;134:134–6.
6. Mevorach RA, Cos LR, di Sant'Agnese PA, Stoler M. Human papillomavirus type 6 in grade I transitional cell carcinoma of the urethra. J Urol. 1990;143:126–8.
7. Di Paolo JA, Woodworth CD, Popescu NC, Koval DL, Lopez JV, Doniger J. HSV-2-induced tumorigenicity in HPV-16 immortalized human genital keratinocytes. Virology. 1990;177:777–9.
8. Hildesheim A, Mann V, Brinton LA, Szklo M, Reeves WC, Rawls WE. Herpes simplex virus type 2: a possible interaction with human papilloma virus types 16/18 in the development of invasive cervical cancer. Int J Cancer. 1991;49:335–40.
9. Kjaer SK, De Villiers EM, Çaglayan H, Svare E, Haugaard BJ, Engholm G, et al. Human papillomavirus, herpes simplex virus and other potential risk factors for cervical cancer in a high-risk area (Greenland) and a low-risk area (Denmark)—a second look. Br J Cancer. 1993;67:830–7.
10. Schmauz R, Okong P, De Villiers E-M, Dennin R, Brade L, Lwanga SK, et al. Multiple infections in cases of cervical cancer from a high-incidence area in tropical Africa. Int J Cancer. 1989;43:805–9.
11. Landers RJ, O'Leary JJ, Crowley M, Annis P, Burke L, O'Brien D, et al. Epstein–Barr virus in normal, premalignant lesions of the uterine cervix. J Clin Pathol. 1993;46:931–5.
12. Wong KY, Colins RJ, Srivastava G, Pittaluga S, Cheung ANY, Wong LC. Epstein–Barr virus in carcinoma of the cervix. Intern J Gynec Pathol. 1993;12:224–7.
13. Israele V, Shirley P, Sixbey JW. Excretion of the Epstein–Barr virus from the genital tract of men. J Infect Dis. 1991;163:1341–3.
14. Hung SY, Tseng HH, Chung HM. Nephrogenic adenoma associated with cytomegalovirus infection of the ureter in a renal transplant patient: presentation as ureteral obstruction. Transpl Int. 2001;14:111–4.
15. Escudero AL, Luque RJ, Quintero A, Alvarez-Kindelan J, Requena M, Montironi R, et al. Association of human herpesvirus type 6 DNA with human bladder cancer. Cancer Lett. 2005;230:20–4.
16. Russo JJ, Bohenzky RA, Chien MC, Chen J, Yan M, Maddalena D, et al. Nucleotide sequence of the Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (HHV8). Proc Natl Acad Sci USA. 1996;93:14862–7.
17. Major EO. Human polyomavirus. In: Knipe D, Howley PM, editors. Fields virology, 4th edition, vol. 2 (edited by Lipincott). Philadelphia: Williams & Wilkins; 2001. p. 2175–96.
18. Weinreb DB, Desman GT, Amolat-Apiado MJM, Burstein DE, Jr Godbold JH, Johnson EM. Polyoma virus infection is a prominent risk factor for bladder carcinoma in immunocompetent individuals. Diagn Cytopathol. 2006;34:201–3.
19. De Roda Husman A-M, Walboomers JMM, van den Brule AJC, Meijer CJ, Snijders PJ. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3′ ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. J Gen Virol. 1995;76:1057–62.
20. Neofytou E, Sourvinos G, Asmarianaki M, Spandidos DA, Makrigiannakis A. Prevalence of human herpes virus types 1–7 in the semen of men attending an infertility clinic and correlation with semen parameters. Fertil Steril. 2009;91:2487–94.
21. Balis V, Sourvinos G, Soulitzis N, Giannikaki E, Sofras F, Spandidos DA. Prevalence of BK virus and human papillomavirus in human prostate cancer. Int J Biol Markers. 2007;22:245–51.
22. Dokianakis DN, Sourvinos G, Sakkas S, Athanasiadou E, Spandidos DA. Detection of HPV and ras gene mutations in cervical smears from female genital lesions. Oncol Rep. 1998;5:1195–8.
23. Panagiotakis SH, Soufla G, Baritaki S, Sourvinos G, Passam A, Zagoreos I, et al. Concurrent CMV and EBV DNAemia is significantly correlated with a delay in the response to HAART in treatment-naive HIV type 1-positive patients. AIDS Res Hum Retrovir. 2007;23:10–8.
24. Baltogiannis D, Tasos A, Voutsinas G, Dauaher H, Chambilomatis P, Giannakopoulos X. Bladder cancer mortality in the Epirus district population (Greece). Int Urol Nephrol. 2001;32:377–9.
25. Koffa M, Koumantakis E, Ergazaki M, Tsatsanis C, Spandidos DA. Association of herpesvirus infection with the development of genital cancer. Int J Cancer. 1995;63:58–62.
26. Chuang KL, Pang ST, Liao SK, Wu CT, Chang YH, Chuang HC, et al. Epstein–Barr virus DNA load in tumour tissues correlates with poor differentiation status in non-muscle invasive urothelial carcinomas. BJU Int. 2011;107:150–4.
27. Gazzaniga P, Vercillo R, Gradilone A, Silvestri I, Gandini O, Napolitano M, et al. Prevalence of papillomavirus, Epstein–Barr virus, cytomegalovirus, and herpes simplex virus type 2 in urinary bladder cancer. J Med Virol. 1998;55:262–7.
28. Polesel J, Gheit T, Talamini R, Shahzad N, Lenardon O, Sylla B, et al. Urinary human polyomavirus and papillomavirus infection and bladder cancer risk. Br J Cancer. 2012;106:222–6.
29. Rollison DE, Sexton WJ, Rodriguez AR, Kang LC, Daniel R, Shah KV. Lack of BK virus DNA sequences in most transitional-cell carcinomas of the bladder. Int J Cancer. 2007;120:1248–51.
30. Loghavi S, Bose S. Polyomavirus infection and urothelial carcinoma. Diagn Cytopathol. 2011;39:531–5.
31. Anwar K, Naiki H, Nakakuki K, Inuzuka M. High frequency of human papillomavirus infection in carcinoma of the urinary bladder. Cancer. 1992;70:1967–73.
32. Boucher NR, Scholefield JH, Anderson JB. The aetiological significance of human papillomavirus in bladder cancer. Br J Urol. 1996;78:866–9.
33. Chang F, Lipponen P, Tervahauta A, Syrjänen S, Syrjänen K. Transitional cell carcinoma of the bladder: failure to demonstrate human papillomavirus deoxyribonucleic acid by in situ hybridization and polymerase chain reaction. J Urol. 1994;152:1429–33.
34. Shigehara K, Sasagawa T, Kawaguchi S, Nakashima T, Shimamura M, Maeda Y, et al. Etiologic role of human papillomavirus infection in bladder carcinoma. Cancer. 2011;117:2067–76.
35. Li N, Yang L, Zhang Y, Zhao P, Zheng T, Dai M. Human papillomavirus infection and bladder cancer risk: a meta-analysis. J Infect Dis. 2011;204:217–23.
36. Alexander RE, Hu Y, Kum JB, Montironi R, Lopez-Beltran A, Maclennan GT, Idrees MT, Emerson RE, Ulbright TM, Grignon DG, Eble JN, Cheng L. p16 expression is not associated with human papillomavirus in urinary bladder squamous cell carcinoma. Mod Pathol. 2012 Jun 8. doi:10.1038/modpathol.2012.103.
37. Ben Selma W, Ziadi S, Ben Gacem R, Amara K, Ksiaa F, Hachana M, et al. Investigation of human papillomavirus in bladder cancer in a series of Tunisian patients. Pathol Res Pract. 2010;15:740–3.
38. Badawi H, Ahmed H, Ismail A, Diab M, Moubarak M, Badawy A, et al. Role of human papillomavirus types 16, 18, and 52 in recurrent cystitis and urinary bladder cancer among Egyptian patients. Medsc J Med. 2008;10:232.
39. Moonen PM, Bakkers JM, Kiemeney LA, Schalken JA, Melchers WJ, Witjes JA. Human papilloma virus DNA and p53 mutation analysis on bladder washes in relation to clinical outcome of bladder cancer. Eur Urol. 2007;52:464–8.