

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής
Π.Μ.Σ “Εφαρμοσμένη Διαιτολογία- Διατροφή”

**“Καρκίνος του παχέος εντέρου, διαγνωστικοί μοριακοί
δείκτες και αντιοξειδωτικά”**

Μπαντοτάκη Ευδοξία
Βιολόγος

Επιβλέπων καθηγητής: **κ. Ευάγγελος Πολυχρονόπουλος**

Αθήνα 2016

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής
Π.Μ.Σ “Εφαρμοσμένη Διαιτολογία- Διατροφή”

**“Καρκίνος του παχέος εντέρου, διαγνωστικοί μοριακοί
δείκτες και αντιοξειδωτικά”**

Μπαντοτάκη Ευδοξία
Βιολόγος

Εξεταστική τριμελής επιτροπή:

- 1) κ. Ευάγγελος Πολυχρονόπουλος (Επιβλέπων), Καθηγητής**
Διαιτολογίας-Διατροφής και Προληπτικής Ιατρικής
- 2) κ. Παναγιωτάκος Δημοσθένης, Καθηγητής Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής**

3) κ **Ματάλα Αντωνία Λήδα**, Καθηγήτρια Ανθρωπολογίας της Διατροφής

Αθήνα 2016

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών “Εφαρμοσμένη Διαιτολογία και Διατροφή” του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών για την απόκτηση του μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών. Αισθάνομαι πραγματικά την ανάγκη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα κάποιους ανθρώπους που μου έδωσαν τη δυνατότητα να την ξεκινήσω, με στήριξαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησής της, μου έδωσαν κίνητρα για μελέτη, και ώθηση να γνωρίσω το επιστημονικό αντικείμενο της Διαιτολογίας και να συνδυάσω τις νέες γνώσεις με το αντικείμενο της Βιολογίας στο οποίο ειχα εμβαθύνει στο προπτυχιακό επίπεδο σπουδών. Πρωτίστως και με ιδιαίτερο σεβασμό και θαυμασμό τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Ευάγγελο Πολυχρονόπουλο για την ευκαιρία που μου έδωσε με την ανάθεση της παρούσας διπλωματικής, για τη δημιουργική καθοδήγησή του σε συμβουλευτικό και εκπαιδευτικό επίπεδο και την επίβλεψή του. Ευχαριστώ ιδιαίτερα την οικογένειά μου, για την αμέριστη στήριξή τους στις επιλογές μου και τη διαρκή υποστήριξη τους σε όλους τους τομείς.

Μπαντοτάκη Ευδοξία,

Ιούλιος 2016, Αθήνα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου, colorectal cancer (CRC), αποτελεί τον τρίτο πιο κοινό τύπο καρκίνου τόσο ως προς την επίπτωση όσο και ως προς τη θνησιμότητα. Προς το παρόν ο κύριος τρόπος αντιμετώπισης είναι η χειρουργική αφαίρεση του όγκου, συχνά παράλληλα με τη χημειοθεραπεία. Ακόμη και μετά από ολική αφαίρεση του όγκου στο 50% περίπου των περιπτώσεων οι ασθενείς καταλήγουν λόγω απομακρυσμένων μεταστάσεων. Η πιθανότητα επιβίωσης ενός ασθενούς με CRC εξαρτάται από το στάδιο του καρκίνου, γεγονός που τονίζει την αναγκαιότητα έγκαιρης διάγνωσης της νόσου. Λόγω της υψηλής επεμβατικότητας των μεθόδων διάγνωσης κρίνεται αναγκαία η εύρεση ενός συστήματος διάγνωσης και σταδιοποίησης που βασίζεται σε μοριακές παραμέτρους. Η χρήση καρκινικών δεικτών μπορεί να αποδειχθεί πολύτιμη στη διάγνωση, στην πρόγνωση της εξέλιξης της νόσου, καθώς και στην εξατομικευμένη παρακολούθηση της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία. Από τους σημαντικότερους δείκτες είναι το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο, carcino-embryonic antigen (CEA) και το γονίδιο KRAS στην περίπτωση της θεραπείας με αντίσωμα έναντι του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, epidermal growth factor receptor (EGFR) για μεταστατική ασθένεια (mCRC). Ένα μεγάλο ποσοστό του CRC σχετίζεται με περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως ο τρόπος ζωής και δυνατό να αποφευχθούν. Ο πιο ισχυρός παράγοντας κινδύνου τρόπου ζωής είναι η διατροφή. Τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν ένα πολύ μεγάλο αριθμό πιθανά αντικαρκινικών παραγόντων, στους οποίους περιλαμβάνονται τα καροτενοειδή, η βιταμίνη C και E, το σελήνιο καθώς και φαινολικά συστατικά. Η έγκυρη και έγκαιρη διατροφική παρέμβαση μπορεί να αποκαταστήσει τις επιπτώσεις της κακής θρέψης, να ενισχύσει την αποκατάσταση του ασθενούς και να μειώσει τους κινδύνους περαιτέρω νοσηρότητας στους επιζώντες του καρκίνου.

SUMMARY

Colorectal cancer (CRC), is the third most common cancer type in terms of both incidence and mortality. Nowadays, curative resection is the major treatment option often in parallel with chemotherapy. Unfortunately, approximately 50% of all patients die because of the development of distant metastases. Overall survival is associated with the disease stage at the time of diagnosis, suggesting that early detection of disseminated disease may be of great significance. Due to the fact that current screening methods are highly invasive the discovery of screening methods and a staging system based on molecular factors is considered to be critical. The application of molecular markers could have a prognostic and predictive significance and lead to the evaluation of individualized therapy. The most important biomarkers are considered to be CEA (carcino embryonic antigen) and the KRAS oncogene in the case of anti-epidermal growth factor receptor (anti-EGFR) monoclonal antibody therapy in metastatic CRC (mCRC). A major risk factor for CRC development is diet. Fruits and vegetables are considered to contain a great number of potential anticancer agents as carotenoids, vitamin c, vitamin E, Se and phenolic compounds. Diet intervention may prevent the development of CRC, reverse the deleterious effects of malnutrition and reduce the risk of relapse among the cancer patients that survived.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καρκίνος είναι μια ασθένεια, που χαρακτηρίζεται από ασυνήθιστα υψηλή και ανεξέλεγκτη αναπαραγωγή των κυττάρων μέσα σε ένα όργανο ή ιστό στο σώμα. Αξιοσημείωτο είναι δε, ότι αν και η συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου έχει αυξηθεί κατά πολύ τα τελευταία χρόνια, η έγκαιρη ανίχνευση του αυξάνει σημαντικά τις πιθανότητες για μία επιτυχή θεραπεία.

Ο CRC αποτελεί το επίκεντρο του ενδιαφέροντος της παρούσας εργασίας. Κατατάσσεται μέσα στους τρεις περισσότερο κοινούς τύπους καρκίνου ως προς τη θνησιμότητα και την επίπτωση στις περισσότερες δυτικές βιομηχανοποιημένες κοινωνίες. Κάθε χρόνο σχεδόν ένα εκατομμύριο άτομα εμφανίζουν τον τύπο αυτό του καρκίνου.

Ο CRC είναι μια ασθένεια σχετιζόμενη με την ηλικία με το 90% των περιπτώσεων να εμφανίζονται σε άτομα άνω των 50 ετών. Η ασθένεια εμφανίζεται είτε στη σποραδική μορφή της χωρίς να ακολουθεί κάποιο πρότυπο κληρονόμησης είτε ως αποτέλεσμα γενετικού συνδρόμου. Η πιθανότητα επιβίωσης ενός ασθενούς με CRC εξαρτάται από το στάδιο του καρκίνου, γεγονός που τονίζει την αναγκαιότητα έγκαιρης διαγνώσης της νόσου. Λόγω της υψηλής επεμβατικότητας των μεθόδων διάγνωσης κρίνεται αναγκαία η εύρεση ενός συστήματος ανίχνευσης και σταδιοποίησης που βασίζεται σε μοριακές παραμέτρους. Μελέτες μετανάστευσης όπου πληθυσμοί μεταφέρονταν από περιοχές χαμηλού σε υψηλού κινδύνου έδειξαν πως η επίπτωση ανάμεσα στους μετανάστες πολύ σύντομα, μέσα στην ίδια γενιά, προσέγγισε την επίπτωση του πληθυσμού της χώρας υποδοχής. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει τη σημαντικότητα του περιβαλλοντικού παράγοντα στην αιτιολογία του CRC με κυριότερο αυτό της διατροφής.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η παρουσίαση της νόσου του CRC και η ανάλυση των διαγνωστικών βιολογικών δεικτών, καθώς και των αντιοξειδωτικών τροφίμων,

που βοηθούν στην πρόληψή του.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Αναφορικά με την μεθοδολογία της εργασίας, οι ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν στο διαδίκτυο για τον εντοπισμό της βιβλιογραφίας είναι η βάση δεδομένων της Εθνικής Βιβλιοθήκης των Η.Π.Α στην Ιατρική (National Centre for Biotechnology Information at the National Library of Medicine)(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>), η βάση δεδομένων της Cochrane Library για συστηματικές ανασκοπήσεις (The Cochrane Database of Systematic Reviews) (<http://updatesoftware.com/cochrane/>), οι ελληνικές βάσεις δεδομένων iatrotek.online (<http://www.iatrotek.org>) και mednet (<http://www.mednet.gr>), καθώς και pubmed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) και MEDLINE. Τέλος, έγινε χρήση των μηχανών αναζήτησης google scholar, lancet και scopus.

Η βιβλιογραφία μελετήθηκε εκτενώς, με σκοπό την αφομοίωση της και την συγγραφή της εργασίας. Ως λέξεις κλειδιά χρησιμοποιήθηκαν τα εξής: “Colorectal cancer”, “CRC”, “Molecular pathways of CRC”, “Heredity of CRC”, “Molecular markers, biomarkers, prognostic and predictive markers in CRC”, “Antioxidants as chemopreventive agents in CRC”, “Catotenoids, Vitamin C, Vitamin E, Phenolic compounds in CRC prevention”, “Screening methods of CRC”, “Therapy of CRC”, “Targeted therapy of CRC”, “Epidemiology of CRC”.

Η παρούσα πτυχιακή εργασία δομείται σε τμήματα τα οποία περιλαμβάνουν τα εξής:

Το πρώτο τμήμα αφορά το παχύ έντερο. Πιο συγκεκριμένα δίνονται η ανατομία και η φυσιολογία του παχέος εντέρου.

Στο δεύτερο τμήμα παρουσιάζεται ο CRC. Αναλυτικότερα, δίνονται ο ορισμός, η επιδημιολογία, οι αιτιολογικοί παράγοντες, η σταδιοποίηση, οι κλινικές εκδηλώσεις, τα μοριακά μονοπάτια εξέλιξης, η κληρονομησιμότητα, οι διαγνωστικές εξετάσεις.

Στο τρίτο τμήμα παρουσιάζονται οι προγνωστικοί παράγοντες και οι διαγνωστικοί βιολογικοί δείκτες (Καρκινικοί δείκτες).

Στο τέταρτο τμήμα περιγράφεται η θεραπευτική αντιμετώπιση και τα αντιοξειδωτικά, τα οποία είναι τρόφιμα με πιθανή αντικαρκινική δράση. Ειδικότερα, αναλύονται οι πολυφαινόλες, η Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), η βιταμίνη E και το στοιχείο Se.

Στο τελευταίο τμήμα θα δοθούν τα συμπεράσματα της παρούσας εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	4
Περίληψη	5
Abstract	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7

ΜΕΡΟΣ 1ο

1.1 Ανατομία παχέος εντέρου.....	11
1.2 Ανατομία ορθού	11
1.3 Αιμάτωση- Νεύρωση – Λεμφική παροχέτευση.....	12
1.3 Ιστολογική ανάλυση	14
2. Φυσιολογία του Παχέος εντέρου.....	14
3.Καρκίνος του Παχέος εντερου	15
3.1 Το υγιές πεπτικό σύστημα.....	15
3.2 Ορισμός CRC	15
3.3 Μη φυσιολογικοί σχηματισμοί	15
3.4 Μικροαρχιτεκτονική του παχέος εντέρου.....	16
3.5 Επιδημιολογία.....	18
3.6 Αιτιολογικοίπαράγοντες	21
3.7 Κληρονομησιμότητα του CRC.....	24
3.8 Σταδιοποίηση τηςγνώσου.....	25
3.9Μοριακά μονοπατια πρόκλησης CRC	29
3.10 Κλινικές εκδηλώσεις.....	36
4 Διαγνωστικές εξετάσεις	37

ΜΕΡΟΣ 2ο

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1 Προγνωστικοί παράγοντες	39
2. Μοριακοί Δείκτες	40
2.1 Ορισμός και κλινικές εφαρμογές	41
2.2 Οι σημαντικότεροι καρκινικοί μοριακοί δείκτες.....	42
2.3 Υποσχόμενοι μελλοντικά μοριακοί δείκτες.....	49

ΜΕΡΟΣ 3ο

ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	55
1.Διαιτητική πρόληψη και υποστήριξη.....	57
1.1 Ελεύθερες ρίζες.....	57
1.2 Η βάση του οξειδωτικού stress	58
1.4 Καρκινικά κύτταρα και οξειδωτικό stress.....	59
1.3 Αντιοξειδωτικά.....	60
1.4 Αντιοξειδωτικά δίαιτας.....	61

1.5 θρεπτικά αντιοξειδωτικά.....	61
1.6 Μη θρεπτικά αντιοξειδωτικά.....	67

ΜΕΡΟΣ 4ο

Συζήτηση.....	71
---------------	----

ΜΕΡΟΣ 5ο

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	78
-------------------	----

ΜΕΡΟΣ 1ο

1.1 Ανατομία παχέος εντέρου

Το παχύ έντερο μαζί με το ορθό συνιστούν το τελικό τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα. Το παχύ έντερο διακρίνεται σε τμήματα τα οποία είναι: Τυφλό- Ανιόν- Εγκάρσιο- Κατιόν- Σιγμοειδές. Το μήκος του φτάνει τα 125-130 cm ενώ η διάμετρός του βαίνει προοδευτικά μειούμενη από τα 7,5 cm του τυφλού στα 2,5 cm του σιγμοειδούς, αν και μπορεί να αυξηθεί θεαματικά σε περιπτώσεις διάτασης.

Η έναρξη του παχέος εντέρου γίνεται στη θέση της ειλεοτυφλικής βαλβίδας και συνεχίζει με την προέκταση του τυφλού. Σε μικρή απόσταση από την ειλεοτυφλική βαλβίδα εντοπίζεται η σκωληκοειδής απόφυση. Συνέχεια της σκωληκοειδούς απόφυσης αποτελεί το ανιόν κόλον το οποίο ακολουθεί μια τοξοειδή πορεία προς τα πάνω μέχρι να συναντήσει το ήπαρ, όπου και σχηματίζει τη δεξιά κολική ή ηπατική καμπή. Από εκεί μεταπίπτει στο εγκάρσιο κόλον που μέσω μιας τοξοειδούς αριστερόστροφης πορείας φτάνει μέχρι το αριστερό άνω μέρος της κοιλίας όπου σχηματίζει την αριστερή κολική (ή σπληνική) καμπή. Η αριστερή κολική καμπή εντοπίζεται πιο ψηλά και βαθιά από τη δεξιά, είναι πιο απότομη και οξεία και παραμένει πάντα σταθερή καθώς στηρίζεται με έναν περιτοναϊκό σύνδεσμο (φρενοκολικός σύνδεσμος), πάνω στον οποίο εντοπίζεται ο σπλήνας. Η αριστερή κολική καμπή μεταπίπτει στο κατιόν κόλον, το οποίο πορεύεται προς τα κάτω και πίσω κατά μήκος του αριστερού, πλάγιου τμήματος της κοιλιακής χώρας. Το κατιόν κόλον συνεχίζει στο σιγμοειδές κόλον, το οποίο ξεκινάει από τον αριστερό λαγόνιο βόθρο και μετά συνεχίζει εντός της ελάσσονος πυέλου, σχηματίζοντας μια αγκύλη σε σχήμα «S». Στο ύψος ανάμεσα στον 2^ο και τον 3^ο σπόνδυλο μεταπίπτει στο ορθό (ή αλλιώς απευθυσμένο) το οποίο καταλήγει στην έδρα (πρωκτός) (1,2).

1.2 Ανατομία Ορθού

Το ορθό έχει μήκος 15 έως 20 cm. Στο αρχικό του τμήμα συμμορφώνεται με το κοίλο σχήμα που έχει το ιερό οστό σχηματίζοντας την ιερή καμπή, ενώ στη συνέχεια (στο ύψος του κόκκυγα) κατευθύνεται προς τα πίσω και μέσω του πυελικού εδάφους σχηματίζει την περινεϊκή καμπή. Μπροστά από την ιερή καμπή εντοπίζεται τμήμα του περιτόναιου που την καλύπτει, ενώ η περιτοναϊκή βρίσκεται εξωπεριτοναϊκά.

Το άνω τριτημόριο του ορθού αποτελεί τη λήκυθο και χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη διάμετρο. Στο εσωτερικό του ορθού, κάτω από τη λήκυθο, εντοπίζονται τρεις εγκάρσιες πτυχές, η μεσαία εκ των οποίων που είναι και η μεγαλύτερη ονομάζεται βαλβίδα του Kohlrausch. Η απόσταση της πτυχής του Kohlrausch από το ορθό είναι 5 έως 8 cm. Οι συσπάσεις της κυκλότερης μυϊκής στιβάδας προκαλούν συσπείρωση των πτυχών, ενώ οι συσπάσεις της επιμήκους μυϊκής στιβάδας τις απομακρύνουν. Μετά το ορθό βρίσκεται ο σωλήνας του πρωκτού. Το πρώτο άνω τριτημόριο του σωλήνα καλύπτεται από βλεννογόνο ενώ τα δύο κατώτερα επικαλύπτονται από λεπτό, κερατινοποιημένο δέρμα, πλούσιο σε αισθητήρια νεύρωση που επεκτείνεται και στο υπόλοιπο δέρμα της γύρω περιοχής. Η επιδερμίδα της ευρύτερης περιοχής είναι γενικά κερατινοποιημένη, με τρίχες, ιδρωτοποιούς και σμηγματογόνους αδένες. Ο πρωκτός κλείνει με λείες μυϊκές ίνες που συνιστούν των έσω σφιγκτήρα του πρωκτού και με γραμμωτές μυϊκές ίνες που συνιστούν των έξω σφιγκτήρα.

Επάνω και στην έξω πλευρά του έξω και του έσω σφιγκτήρα βρίσκεται ο ηβοορθικός μυς που αποτελεί μοίρα του ανελκτήρα του πρωκτικού μυ. Ο ανελκτήρας αποτελεί τον πιο σημαντικό μυ του σφιγκτηριακού μηχανισμού σύγκλεισης του πρωκτού καθώς περιστρέφεται γύρω από την ορθοπρωκτική συμβολή σχηματίζοντας μια αγκύλη, και έλκει την περινεϊκή καμπή στο πρόσθιο μέρος.

Οι μυϊκές ίνες της έξω επιμήκους στιβάδας περιορίζονται σε τρεις επιμήκεις ταινίες, πλάτους περίπου ενός εκατοστού που καλούνται κολικές ταινίες. Οι κολικές ταινίες είναι: η ελεύθερη κολική ταινία που πορεύεται στην πρόσθια επιφάνεια, η επιπλοϊκή που πορεύεται προς τα πίσω και εξωτερικά, η μεσοκολική ταινία που πορεύεται πίσω και έσω. Το παχύ έντερο χαρακτηρίζεται από εκκολπώματα που διακρίνονται μεταξύ τους μέσω κυκλοτερών περισφίξεων, οι οποίες προβάλλουν προς τα έσω και σχηματίζουν τις μηνοειδείς πτυχές. Το ανιόν και κατιόν κόλον εντοπίζονται οπισθοπεριτοναϊκά καθώς καλύπτονται μπροστά και από τα πλάγια από περιτόναιο. Το τυφλό περιβάλλεται από όλες τις πλευρές από περιτόναιο και βρίσκεται σε επαφή με το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα.

Μέσα στην περιτοναϊκή κοιλότητα εντοπίζονται οι σκωληκοειδής απόφυση, το εγκάρσιο κόλον και το σιγμοειδές κόλον, όπου περιβάλλονται από περιτόναιο που αποκαλείται μεσεντερίδιο της σκωληκοειδούς, εγκάρσιο μεσόκολο και μεσοσιγμοειδές, αντίστοιχα (1,2).

1.2 Αιμάτωση- Νεύρωση – Λεμφική παροχέτευση

Η αιμάτωση της νηστίδας, του ειλεού και του παχέος εντέρου μέχρι την άνω μοίρα του ορθού γίνεται αποκλειστικά από τους κλάδους της άνω και κάτω μεσεντέριας αρτηρίας. Η περιοχή του αριστερού τμήματος του εγκάρσιου κόλου και της κολικής καμπής αντιστοιχούν στα όρια της

αιμάτωσης μεταξύ άνω και κάτω μεσεντέριας αρτηρίας.

Κλάδοι της άνω μεσεντέριας αρτηρίας

- Η ειλεοκολική αρτηρία που δίνει κλάδους στο τυφλό και στην αρχή του ανιόντος κόλου
- Η αρτηρία της σκωληκοειδούς αποφύσεως
- Η δεξιά κολική που δίνει κλάδους στο ανιόν κόλον
- Η μέση κολική που δίνει κλάδους έως τα 2/3 του εγκάρσιου κόλου και αναστομώνεται με την αριστερή κολική που συνιστά κλάδο της κάτω μεσεντέριας αρτηρίας.

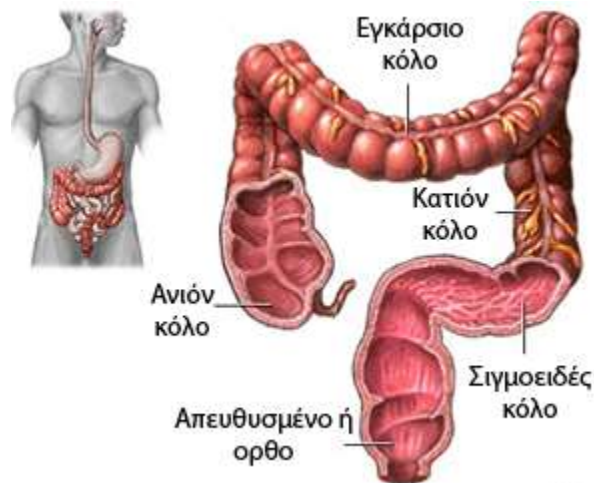
Κλάδοι της κάτω μεσεντέριας αρτηρίας

- Η αριστερή κολική που διακρίνεται σε ανιόν και κατιόν σκέλος
- Οι σιγμοειδικές αρτηρίες
- Η άνω αιμορροϊδική ή ορθική αρτηρία που αναστομώνεται με τις μέσες και κάτω αιμορροϊδικές αρτηρίες που αποτελούν κλάδους των έσω λαγονίων αρτηριών. Είναι υπεύθυνες για την αιμάτωση του ορθού.

Στις περιοχές που διανέμονται οι άνω και κάτω μεσεντέριες αρτηρίες, εντοπίζονται φλέβες που εκβάλλουν στις αντίστοιχες φλέβες του πυλαίου φλεβικού συστήματος. Οι μέσες και κάτω αιμορροϊδικές φλέβες εκβάλλουν στην έσω λαγόνια φλέβα και από εκεί στην κάτω κοίλη φλέβα.

Η λεμφική παροχέτευση του παχέος εντέρου ακολουθεί την αντίστοιχη διακλάδωση των αγγείων.

Η νεύρωση του παχέος εντέρου γίνεται παρασυμπαθητικά από το πνευμονογαστρικό νεύρο ως την αριστερή κολική καμπή και από τα ιερά παρασυμπαθητικά νεύρα και κάτω και αφορά τη χαλάρωση των σφιγκτήρων και την αύξηση της κινητικότητας και των εκκρίσεων. Η συμπαθητική νεύρωση γίνεται από το κοιλιακό και τα άνω και κάτω μεσεντέρια πλέγματα και αφορά την ελάττωση της κινητικότητας και τη σύσπαση των σφιγκτήρων (1,2).



Εικόνα 1. Αναπαράσταση της ανατομίας του παχέος εντέρου. Ηλεκτρονική πηγή: <http://www.greek-health.gr>.

1.3 Ιστολογική ανάλυση

Το τοίχωμα του παχέος εντέρου ακολουθεί το τη διάταξη του τοιχώματος του υπόλοιπου γαστρεντερικού σωλήνα και διακρίνεται σε τέσσερις χιτώνες:

- Βλεννογόνος: χωρίζεται στο επιθήλιο, το ινοσυνδετικό στρώμα (Lamina propria) και τη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα
- Υποβλεννογόνιος χαλαρός συνδετικός ιστός
- Μυϊκός χιτώνας: διακρίνεται στην έσω στιβάδα των κυκλοτερώς διατασσομένων λείων μυϊκών ινών και στην έξω στιβάδα των επιμήκως διατασσομένων λείων μυϊκών ινών.
- Ορογόνος χιτώνας: Αποτελεί τον εξωτερικό χιτώνα του λεπτού εντέρου και αποτελεί μια λεπτή στιβάδα χαλαρού συνδετικού και λιπώδους ιστού (1,2).

2 Φυσιολογία παχέος εντέρου

Το παχύ έντερο επενδύεται από επιθήλιο (απλό κυλινδρικό ή κυβικό) που λειτουργεί σαν προστασία ανάμεσα στο εσωτερικό και τον αυλό. Αποτελείται κυρίως από απορροφητικά και καλυκοειδή κύτταρα που επικάθονται πάνω στη βασική μεμβράνη. Τα απορροφητικά κύτταρα είναι επιφορτισμένα με τη μεταφορά ύδατος και ηλεκτρολυτών και στο ενδοαυλικό τμήμα τους

η παρυφή τους έχει ψυκτροειδές σχήμα λόγω των μικρολαχνών. Το κυτταρόπλασμα των ώριμων επιφανειακών κυττάρων είναι ηωσινόφιλο, χωρίς βλέννη, με ωοειδείς πυρήνες που εδράζονται στη βάση του κυττάρου. Τα καλκοκοειδή κύτταρα είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση, αποθήκευση και έκκριση κοκκίων βλέννης που εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα τους σε άφθονο αριθμό. Οι πυρήνες των καλκοκοειδών κυττάρων εντοπίζονται στη βασική επιφάνεια και βάφονται έντονα μετά από χρώση αιματοξυλίνη.

Το επιθήλιο υποστηρίζεται από μια λεπτή βασική μεμβράνη που αποτελείται από κολλαγόνο και άλλες πρωτεΐνες. Η μεμβράνη αυτή είναι διαπερατή σε απορροφηθέντα ή εκκριθέντα ιόντα, πρωτεΐνες και νερό και έτσι επιτρέπεται η μετανάστευση των λεμφοκυττάρων του χορίου προς την επιφάνεια του επιθηλίου (1,2).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

3.1 Το υγιές πεπτικό σύστημα

Προκειμένου να κατανοηθεί ο CRC, είναι ιδιαίτερης σημασίας να πραγματοποιηθεί αναφορά στη δομή και τη λειτουργία του πεπτικού συστήματος. Η τροφή ύστερα από τη μάσηση και την κατάποση φθάνει στο στομάχι όπου και πέπτεται μερικά και έπειτα φθάνει στο λεπτό έντερο. Το λεπτό έντερο καλείται λεπτό για το λόγο και μόνο ότι δεν είναι τόσο ευρύ σε σύγκριση με το παχύ. Παρόλα αυτά είναι το μεγαλύτερο σε μήκος τμήμα του πεπτικού συστήματος. Σε αυτό πραγματοποιείται η κύρια πέψη και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών. Ότι από αυτά περισσεύει μεταφέρεται στο παχύ έντερο. Εκεί απορροφάται το νερό και θρεπτικά συστατικά και αποτελεί ένα μέρος αποθήκευσης για τα προϊόντα προς απέκκριση. Τα προϊόντα της απέκκρισης μετακινούνται στο ορθό που αποτελεί τα τελευταία 20 cm του πεπτικού συστήματος (1,2).

3.2 Ορισμός CRC

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι η προοδευτική συσσώρευση γενετικών και επιγενετικών τροποποιήσεων που οδηγούν στη μεταμόρφωση φυσιολογικών κυττάρων του κατώτερου εντερικού επιθηλίου (παχέος εντέρου και ορθού) σε καρκινικά.

3.3 Μη φυσιολογικοί σχηματισμοί

Οι περισσότεροι CRCs ξεκινούν ως πολύποδες, ένας σχηματισμός που δημιουργείται στην

εσωτερική πλευρά του παχέος εντέρου και αναπτύσσεται περαιτέρω στο σχηματισμό όγκου. Οι περισσότεροι πολύποδες δεν αποτελούν κακοήγη όγκο. Μόνο ορισμένοι τύποι πολυπόδων, που καλούνται αδενώματα μπορούν να εξελιχθούν στην κακοήγη μορφή. Περισσότερο από 95% των CRCs είναι αδενοκαρκινώματα. Υπάρχουν και άλλοι τύποι CRC που αντιστοιχούν στο 5% όλων των περιστατικών και είναι:

Ο γαστρεντερικός καρκινοειδής όγκος ο οποίος αναπτύσσεται αργά και ανέρχεται στο 1% περιστατικών CRC.

Τα πρωτογενή λεμφώματα παχέος εντέρου. Αναπτύσσονται με αργούς ρυθμούς στο λεμφικό σύστημα συχνότερα στους άνδρες και αποτελούν το 0.5% των περιστατικών CRC.

Γαστρεντερικοί στρωματικοί όγκοι-GISTs. Αποτελούν σπάνιο τύπο της ασθένειας. Η έναρξη πραγματοποιείται σε ειδικά κύτταρα της γαστρεντερικής ατράκτου που ονομάζονται διάμεσα κύτταρα του Cajal (ICCs) και αντιστοιχεί περίπου στο 50% των περιπτώσεων CRC.

Τα λειομυοσαρκώματα, τον καρκίνο των μαλακών μυών που αντιστοιχούν στο 0.1 % των περιστατικών CRC.

Τα μελανώματα και τα καρκινώματα τους.

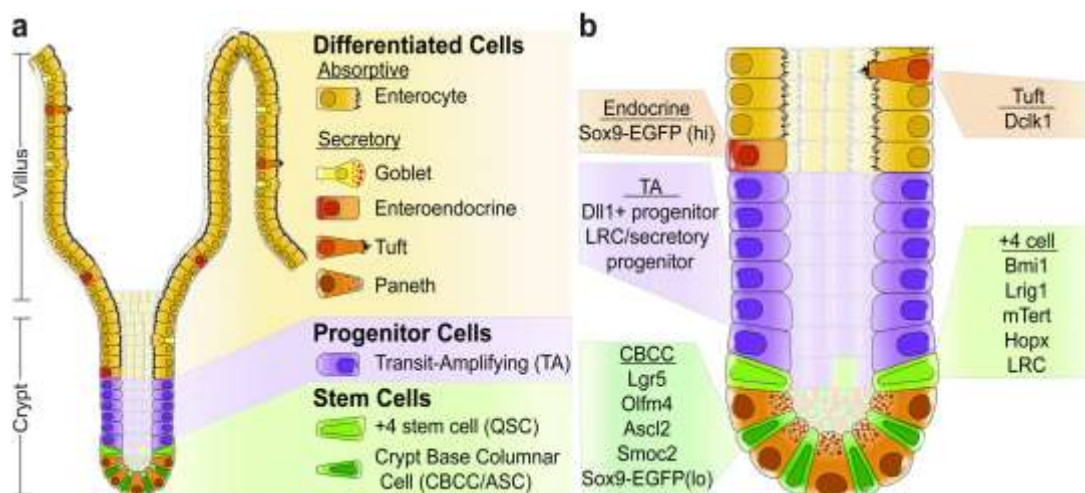
Τα καρκινώματα των πλακωδών κυττάρων (Squamous cell carcinomas). Εντοπίζονται σε τμήματα της γαστρεντερικής ατράκτου όπως το ανώτερο τμήμα του οισοφάγου (3).

3.4 Μικροαρχιτεκτονική του παχέος εντέρου

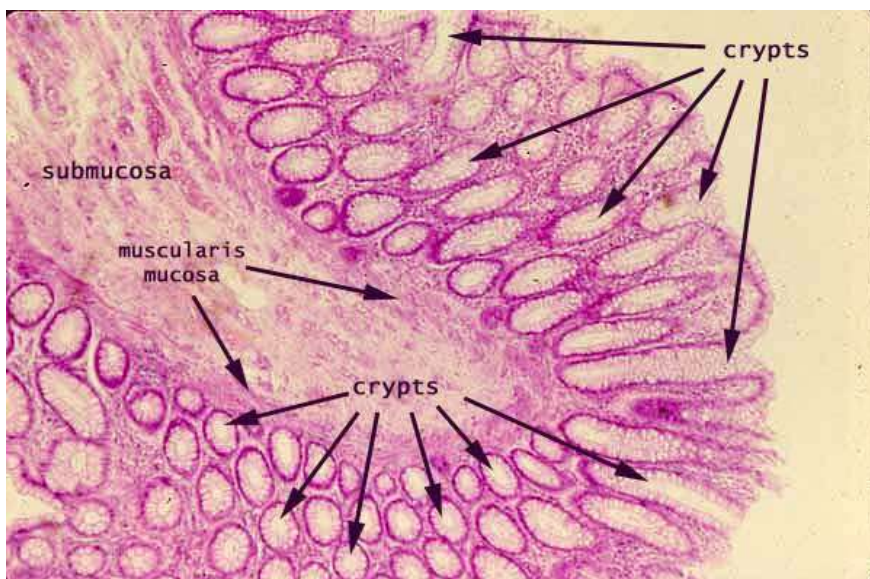
Στο παχύ έντερο παρατηρούνται “κρύπτες” που έχουν βάθος 50 κυττάρων. Ο λόγος που παραμένουν οι “κρύπτες” είναι η προστασία των κυττάρων από το ισχυρά μεταλλαξιγόνο περιβάλλον του παχέος εντέρου. Η διαμόρφωση της “κρύπτης” και η δυναμική της κυτταρικής αντιγραφής εξασφαλίζουν κάτω από φυσιολογικές συνθήκες τη φυσιολογική διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων, την αξιόπιστη διαίρεση τόσο των ίδιων όσο των θυγατρικών τους και την ομαλή μετανάστευση σε όλα τα κύτταρα που καλύπτουν την κρύπτη (4). Αυτή η θέση στο χώρο, εξασφαλίζει πως δεν υπάρχει αλληλεπίδραση ανάμεσα στα περιεχόμενα του εντέρου και τα διαιρούμενα κύτταρα. Όταν τα φυσιολογικά κύτταρα φτάσουν στην επιφάνεια της κρύπτης δεν διαιρούνται, είναι διαφοροποιημένα και μπορεί να έχουν ήδη μπει σε μονοπάτι απόπτωσης. Οπότε οποιοδήποτε γεγονός μεταλλαξιγένεσης σε αυτά τα κυτταρα δεν έχει κάποια επίπτωση στην ακεραιότητα του κυτταρικού πληθυσμού. Για να υπάρξει πληθυσμός μεταλλαγμένων κυττάρων που θα δώσουν γένεση σε αδένωμα λοιπόν, ένα βλαστικό κυτταρο ή ένα πολύ πρώιμο θυγατρικό

κύτταρο θα πρέπει να υποστεί την πρώτη μετάλλαξη. Λόγω της αρχιτεκτονικής του εντέρου πιστεύεται πως οι παράγοντες που προκαλούν την πρώτη μετάλλαξη είναι περισσότερο πιθανό να μεταφέρονται από το αίμα παρά να βρίσκονται στον αυλό του εντέρου. Η μετάλλαξη στον προγεννήτορα σημαίνει πως υπάρχει ένας διαιρούμενος πληθυσμός με μη φυσιολογικό φαινότυπο, αυξάνοντας τις πιθανότητες να συμβεί μια δεύτερη αλλαγή. Για να διαδραματίσουν τα περιεχόμενα του εντέρου ρόλο στην καρκινογένεση πρέπει να υπάρχουν διαιρούμενα ήδη μη-φυσιολογικά κύτταρα στον αυλό, όπως ένας πολύποδας, ή τουλάχιστον πιθανή επαφή με τη ροή των κοπράνων πχ. ένα μικροαδένωμα. Είναι πλέον γνωστό πως μια αλλαγή κυρίως μια μετάλλαξη στο APC γονίδιο, δημιουργεί όλες τις συνθήκες για την ανάπτυξη ενός πολύποδα. Τα μοριακά βήματα έχουν χαρακτηριστεί, ωστόσο λείπουν οι αποδείξεις που θα υποστήριζαν τη σημασία παραγόντων φερόμενων από το αίμα, καθώς οι κυτταροκαλλιέργειες από κύτταρα του παχέος εντέρου ήταν εν μέρει μονον επιτυχείς. Τα πολύπλοκα και αλληλοσυνδεόμενα γεγονότα τα οποία δίνουν γένεση στον CRC δεν είναι δυνατόν να αναπαρασταθούν ακριβώς, ούτε και να πλησιάσουν την πραγματικότητα σε κυτταροκαλλιέργειες ή σε οργανισμούς μοντέλα, μελέτες παρατήρησης ή και κλινικές δοκιμές μικρής διάρκειας.

Μια προσέγγιση συστημικής βιολογίας στην οποία ένας οργανισμός θεωρείται ένα δυναμικό σύνολο αλληλεπιδρώντων οργάνων, ιστών, κυττάρων και μοριακών συστατικών είναι περισσότερο ρεαλιστικός καθώς η χρονοεξάρτηση και περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι κρίσιμοι σε αυτή την προσέγγιση (5, 6, 7).



Εικόνα 2. Απεικόνιση των αδιαφοροποίητων κυττάρων στο εσωτερικό της κρύπτης και των επιφανειακών πλήρως διαφοροποιημένων. Integr. Biol., 2014, 6, 243-257



Εικόνα 3. Αναπαράσταση της μικροαρχιτεκτονικής του παχέος εντέρου όπου γίνονται ορατές οι κρύπτες
<http://www.siumed.edu/~dking2/erg/GI027b.htm>.

3.5 Επιδημιολογία

Ο CRC είναι ο τρίτος σε σειρά πιο κοινός τύπος καρκίνου σε επίπτωση (incidence) και υπολογίζεται πως αντιστοιχεί περίπου στο 9% των συνολικών περιστατικών καρκίνου (8). Όσον αφορά στη θνησιμότητα (mortality) αποτελεί την τρίτη αιτία θανάτου από καρκίνο στον κόσμο (εικόνες 4, 5). Κατέχει την πρώτη θέση ανάμεσα στους καρκίνους που αφορούν το πεπτικό σύστημα στις ΗΠΑ και στις χώρες της Δυτικής Ευρώπης. Γενικά μπορεί να ειπωθεί ότι εμφανίζεται πιο συχνά στους λαούς που ακολουθούν τον δυτικό τρόπο ζωής και διαίτας. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η νόσος είναι πιο συχνή σε κράτη με ανεπτυγμένη βιομηχανία όπως η Β. Αμερική, η Δ. Ευρώπη, η Αυστραλία και η Ν. Ζηλανδία. Μικρότερα ποσοστά εμφάνισης παρατηρούνται στα κράτη υπό ανάπτυξη όπως η Αφρική, η Ασία, αν εξαιρεθεί η Ιαπωνία όπου η επίπτωση έχει αυξηθεί και πλησιάζει εκείνη του δυτικού κόσμου και η Ν. Αμερική. Χαρακτηριστικό είναι ότι στις ΗΠΑ εμφανίζονται περίπου 150000 νέες περιπτώσεις το χρόνο και 58000 εξ αυτών καταλήγουν σε θάνατο. Για το 2015 τα περιστατικά ανέρχονται σε 132.700 ενώ οι θάνατοι από τη νόσο σε 49.700. Συνολικά υπολογίζεται ότι η νόσος ευθύνεται για το 15% των θανάτων λόγω καρκίνου. Στην Ελλάδα κατέχει την τέταρτη θέση στην κατάταξη αιτιών θανάτου

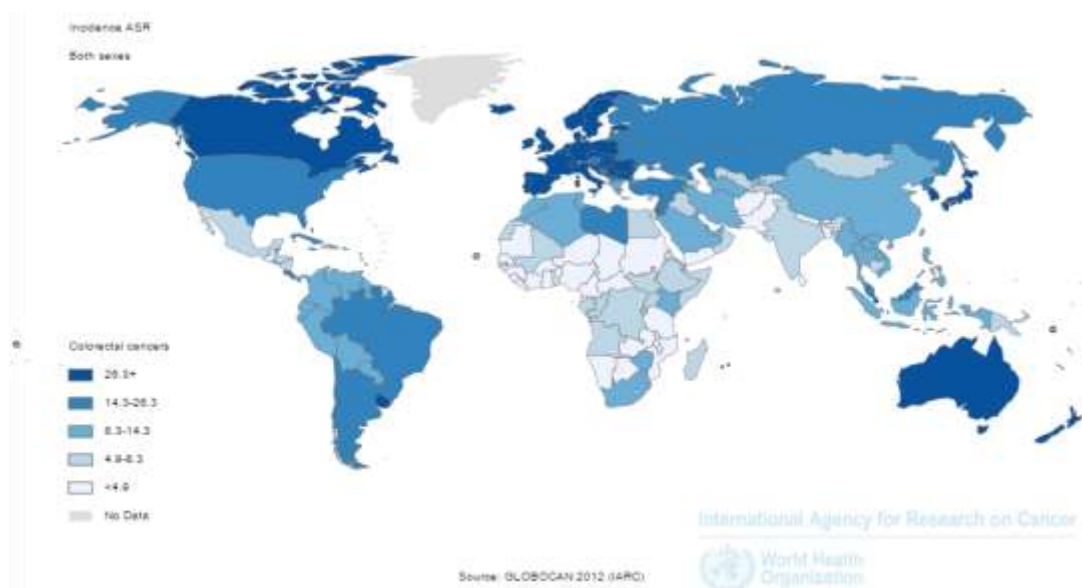
από νεοπλάσματα.

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια πτωτική τάση της συχνότητας του καρκίνου του παχέος και στα δύο φύλα. Η αναλογία προσβολής ανδρών: γυναικών από καρκίνο του κόλου είναι 1,2:1, ενώ η αναλογία προσβολής από καρκίνο του ορθού 1,1:1. Αποτελεί νόσο κυρίως των ενηλίκων με τη μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στην έβδομη δεκαετία της ζωής. Σε ένα ποσοστό 8% η νόσος εμφανίζεται πριν την ηλικία των 40 ετών και σε πολύ μικρότερο ποσοστό σε άτομα ηλικίας κάτω των 20 ετών. Οι τελευταίες περιπτώσεις αφορούν άτομα που πάσχουν από γενετικά σύνδρομα (9, 10, 11, 12).

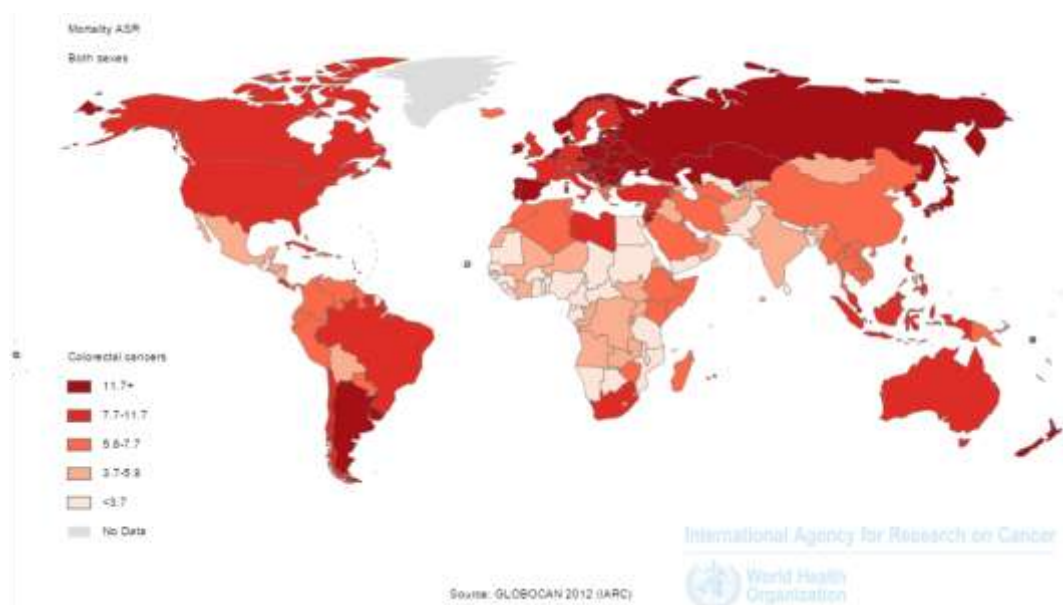
Η κατανομή του καρκίνου στις διάφορες μοίρες του παχέος εντέρου διαφοροποιείται έντονα καθώς άνω του 70% του συνόλου των περιστατικών εντοπίζεται στο ορθό και το σιγμοειδές, 10% στο τυφλό και το υπόλοιπο 20% κατανέμεται στο υπόλοιπο παχύ έντερο. Πιο συγκεκριμένα έχει συχνότητα εμφάνισης 22% στο δεξιό κόλον, 12% στο εγκάρσιο κόλον, 5% στο κατιόν κόλον, 26% στο σιγμοειδές κόλον και 35% στο ορθό.

Πρόκειται για μια νόσο πολυεστιακή καθώς 3% των ασθενών έχουν σύγχρονους όγκους και 1% που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική αφαίρεση θα εμφανίσουν όγκο για κάθε 10 χρόνια ιατρικής παρακολούθησεως. Σε follow up έρευνες για 5 χρόνια φάνηκε πως υπάρχει 55% πιθανότητα επιβίωσης και θεωρείται πως ο CRC είναι ο τύπος καρκίνου με τις πιο πολλές πιθανότητες επιβίωσης εάν πραγματοποιείται συστηματικός έλεγχος και πρόωρη διάγνωση (13).

Παρότι οι εξελίξεις στην ραδιοθεραπεία, τη χημειοθεραπεία και τις εγχειρήσεις έχουν βελτιώσει την πενταετή επιβίωση κατά 12% για τους λευκούς και κατά 8% για τους έγχρωμους, η θνησιμότητα παραμένει πολύ υψηλή και έχει μειωθεί ελάχιστα (14).

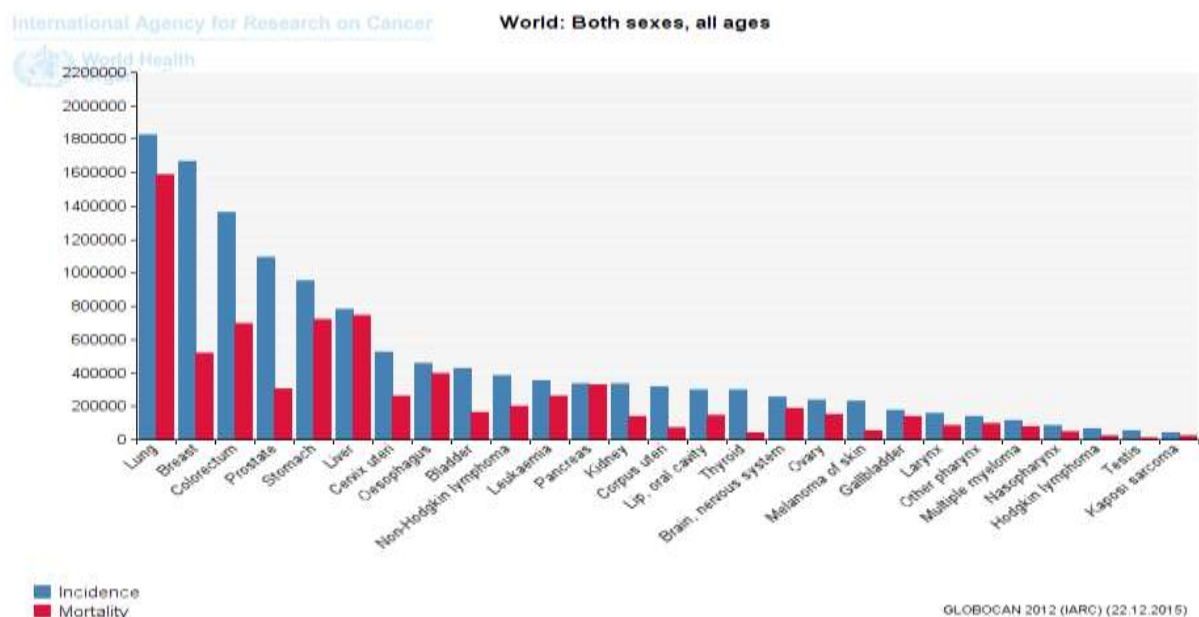


Εικόνα 4. Αναπαράσταση της επίπτωσης (incidence) του CRC διεθνώς και για τα δύο φύλα. GLOBOCAN

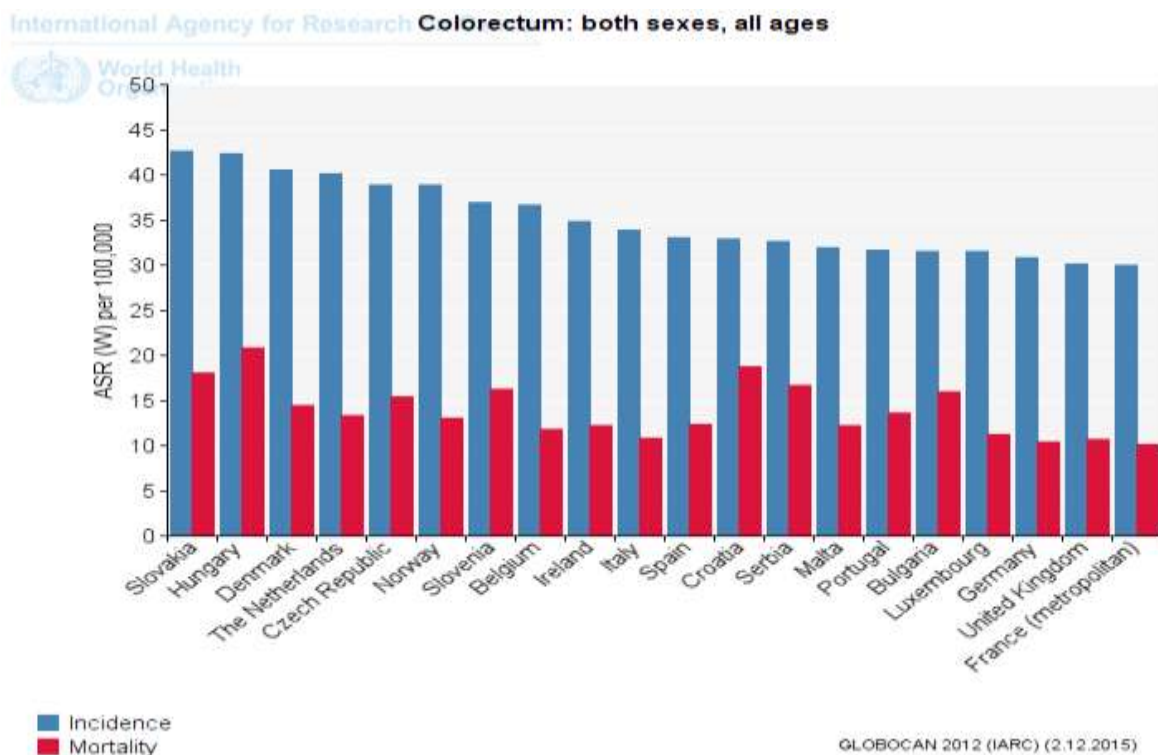


2012

Εικόνα 5. Αναπαράσταση της θνησιμότητας (mortality) του CRC διεθνώς και για τα δύο φύλα.

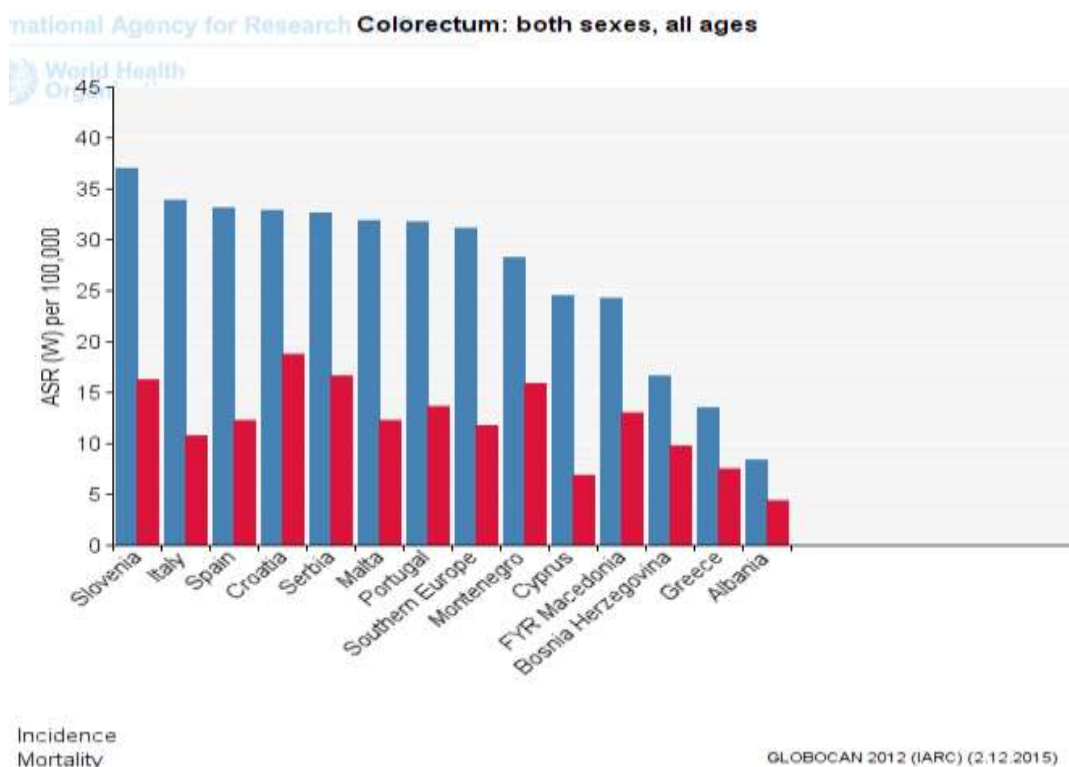


Εικόνα 6. Συνδυαστική αναπαράσταση της επίπτωσης (incidence) και της θνησιμότητας (mortality) διεθνώς



και για τα δύο φύλα.

Εικόνα 7. Συνδυαστική απεικόνιση της επίπτωσης και θνησιμότητας και για τα δύο φύλα στην Ευρώπη.



Εικόνα 8. Συνδυαστική απεικόνιση της επίπτωσης και θνησιμότητας και για τα δύο φύλα στη Ν. Ευρώπη.

Όσον αφορά την Ευρώπη είναι ιδιαίτερα παρήγορο το γεγονός πως δεδομένα για την Ελλάδα που αφορούν επίπτωση και θνησιμότητα την κατατάσσουν στην προτελευταία θέση.

3.6 Αιτιολογικοί παράγοντες

Παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης CRC αποτελούν:

Ο CRC θεωρείται μια νόσος σε μεγάλο βαθμό αποτρέψιμη λόγω του ότι οι περισσότεροι παράγοντες κινδύνου της νόσου σχετίζονται με τον τρόπο ζωής. Η αιτιολογία αυτού του τύπου καρκίνου είναι πολύπλοκη και πολυπαραγοντική όπου διαιτητικοί και γενετικοί παράγοντες επιδρούν σε διαφορετικά στάδια της καρκινογένεσης.

3.6.1 Η ηλικία

Η νόσος απαντάται πολύ σπάνια σε ηλικίες κάτω των 40 ετών, τα ποσοστά της επίπτωσης αυξάνονται μετά τις δεκαετίες των 40 και των 50. Ο σχετικός κίνδυνος και η μέση ηλικία εμφάνισης της νόσου διαφοροποιούνται σημαντικά στους ασθενείς που έχουν κάποια κληρονομική προδιάθεση. Από μελέτες επιπολασμού, ερευνητές εκτιμούν ότι σε πληθυσμό άνω των 50 ετών υπάρχουν 0,5-1% πιθανότητες να υπάρχει αδιάγνωστος διηθητικός CRC, 1-1,6% πιθανότητες να υπάρχει καρκίνος παχέος εντέρου *in situ*, 7-10% πιθανότητες να υπάρχει πολύποδας μεγαλύτερος του 1εκ. και 25-40% πιθανότητες να υπάρχει αδένωμα οποιουδήποτε μεγέθους (15-19).

3.6.2 Το προηγούμενο ιστορικό CRC, το οικογενές ιστορικό (στο 10-30% των περιπτώσεων) και τα γενετικά κληρονομούμενα σύνδρομα (στο 6% των περιπτώσεων)

Ο CRC ακολουθεί τρία διαφορετικά πρότυπα, τη σποραδική εκδήλωση, το οικογενειακό ιστορικό και τα κληρονομικά σύνδρομα. Το τελευταίο αποτελεί τον κύριο παράγοντα κινδύνου για μια ορισμένη κατηγορία του πληθυσμού. Το 25% των ασθενών ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου λόγω οικογενειακού ιστορικού (20). Το οικογενειακό ιστορικό αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου ανάλογα με το βαθμό συγγένειας που υπάρχει με τον συγγενή που εμφάνισε τη νόσο αυτή αλλά και με την ηλικία στην οποία εμφανίστηκε η νόσος. Συγκεκριμένα, η συγγένεια πρώτου βαθμού διπλασιάζει τον σχετικό κίνδυνο εμφάνισης CRC (21, 22). Ο σχετικός κίνδυνος αυξάνεται ακόμη περισσότερο αν η νόσος εμφανίστηκε πριν τα 60 έτη.

Δεδομένα από τη μελέτη μεταναστεύσεων έδειξαν πως ο CRC είναι πολύ ευαίσθητος σε αλλαγές του περιβάλλοντος. Οι ρυθμοί επίπτωσης της ασθένειας στους μετανάστες και τους απογόνους τους προσεγγίζουν αυτούς της χώρας φιλοξενίας, ακόμα και μέσα στη γενιά των αρχικών μεταναστών (25, 26).

Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Είναι γνωστό από επιδημιολογικές μελέτες ότι οι Ιάπωνες μετανάστες δεύτερης γενιάς στις ΗΠΑ εμφάνισαν μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου σε σχέση με τους γονείς τους και αυξημένο κίνδυνο για διάχυτου τύπου αδενοκαρκίνωμα, που είναι συχνότερο στις ΗΠΑ, γεγονός που αναδεικνύει την επίδραση του περιβάλλοντος και των συνηθειών διαβίωσης στην παθογένεια του γαστρικού καρκίνου (27). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως στη γένεση του CRC συμμετέχουν και περιβαλλοντικοί παράγοντες: οι διαιτητικές επιλογές, το κάπνισμα, η κατανάλωση αλκοόλ, η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας, η έκθεση σε ακτινοβολία, η ύπαρξη άλλων ασθενειών όπως ο διαβήτης και η παχυσαρκία, η νόσος του Crohn και η ελκώδης κολίτιδα.

Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου.

Η ελκώδης κολίτιδα με τον CRC έχουν συσχετισθεί. Η πανκολίτιδα αυξάνει το σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου 5-15 φορές και η νόσος που περιορίζεται στο αριστερό κόλον αυξάνει τον σχετικό κίνδυνο για CRC κατά 3 φορές (23). Στοιχεία που συνδέουν τη νόσο Crohn με την ανάπτυξη CRC δεν είναι το ίδιο επαρκή ωστόσο υπάρχουν αξιόπιστες μελέτες που αποδίδουν και στη νόσο Crohn μεγάλο κίνδυνο ανάπτυξης CRC (24).

Διαιτητικοί παράγοντες κινδύνου.

Πολλές μελέτες αφορούν το δυτικό διαιτητικό πρότυπο και την επίδραση του στην επίπτωση και θνησιμότητα του CRC. Η δυτική διαίτα χαρακτηρίζεται από αυξημένη πρόσληψη λίπους και κόκκινου κρέατος και μειωμένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών.

Λίπος και Κόκκινο κρέας

Ο τύπος του λίπους που καταναλώνεται φαίνεται πως έχει μεγαλύτερη σημασία ως παράγοντας κινδύνου συγκριτικά με την ολική ποσότητα του λίπους. Αυξημένη κατανάλωση κορεσμένων ζωικών λιπών έχει βρεθεί να αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης CRC ενώ λιπαρά που προέρχονται από ψάρια, πλούσια σε ωμέγα-3 πολυακόρεστα λιπαρά ενδέχεται να έχουν προστατευτικό ρόλο. Επιπλέον ο κίνδυνος επηρεάζεται από τον τρόπο παρασκευής της τροφής. Σε υψηλές θερμοκρασίες μαγειρέματος αυξάνονται οι συγκεντρώσεις των ετεροκυκλικών αμινών και άλλων καρκινογόνων ουσιών όπως η 2-αμινο-1-μέθυλ-6-φαινυλιμιδαζο (4,5-β) πυριμιδίνη που είναι ένα γνωστό καρκινογόνο. Άτομα που έτρωγαν κόκκινο κρέας περισσότερο από μια φορά την εβδομάδα, τηγανισμένο σε συχνότητα >10% είχαν διπλάσιο επιπολασμό αδενωμάτων συγκριτικά με άτομα που δεν ακολουθούσαν αυτό το διατροφικό πρότυπο (28-38).

Αλκοόλ και Κάπνισμα

Η καθημερινή κατανάλωση αλκοόλ αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης CRC. Δεν υπάρχει συσχέτιση του καρκίνου αυτού με το είδος του αλκοόλ αλλά με τη συνολική ποσότητα πρόσληψης. Όσον αφορά στο κάπνισμα, προκύπτουν όλο και περισσότερες αποδείξεις για τη σχέση μεταξύ του CRC και του καπνίσματος (39-43)

Επαγγελματικοί παράγοντες κινδύνου.

Τα επαγγέλματα με τον υψηλότερο κίνδυνο είναι τα επαγγέλματα επεξεργασίας δερμάτων, κρέατος, πουλερικών και ιχθύων, επικοινωνίας, επεξεργασίας πετρελαίου και κάρβουνου, εργάτες στη

βιομηχανία ελαστικών, κλωστοϋφαντουργίας και ζυθοποιίας. Στα άτομα αυτά αυξάνεται ο κίνδυνος ανάπτυξης CRC για κάθε 10 χρόνια απασχόλησης (44, 45).

3.7 Κληρονομησιμότητα του CRC

Το 65%–85% των περιστατικών εμφανίζουν σποραδική ασθένεια με καμία εμφανή απόδειξη κληρονόμησης της νόσου. Το 10%–30% εμφανίζει την οικογενή μορφή της ασθένειας υπάρχει δηλαδή οικογενειακό ιστορικό για το CRC και προτείνεται έτσι μια συνεισφορά των κληρονομικών γενετικών παραγόντων, κοινών εκθέσεων σε περιβαλλοντικούς παράγοντες ή συνδυασμό των παραπάνω ανάμεσα στα μέλη μιας οικογένειας. Στην οικογενή μορφή της ασθένειας δεν εμφανίζεται καθορισμένο πρότυπο κληρονόμησης και η ηλικία εκδήλωσης της ασθένειας είναι η ίδια με τον τυπικό σποραδικό CRC.

Εκτός από τους παραπάνω τύπους, υπάρχουν επίσης γενετικά σύνδρομα για τα οποία έχουν εντοπιστεί οι μεταλλάξεις και αποτελούν αιτία της κληρονόμησης της νόσου σε οικογενειες όπου αυτή εμφανίζεται σε πολύ μεγάλη συχνότητα. Αυτές οι μεταλλάξεις φαίνεται να ευθύνονται μόνο για ένα 5-6% των περιστατικών CRC συνολικά. Τα πιο συνήθη γενετικά σύνδρομα είναι η οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση (Familial adenomatous polyposis- FAP), που αντιστοιχεί στο 1% των περιστατικών και ο κληρονομικός μη πολυποδιακός καρκίνος του παχέος εντέρου (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer- HNPCC), που αντιστοιχεί στο 5% των περιστατικών CRC. Εμφανίζονται επίσης σπάνια σύνδρομα CRC σε συχνότητα 0.1% όπως η πολλαπλή αδενωματώδης Πολυποδίαση (Multiple adenomatous polyposis syndrome/MYH gene- MAP), το σύνδρομο Peutz-Jeghers (PJS) και η νεανική οικογενής πολυποδίαση (Familial Juvenile Polyposis- FJP) (46-47)

3.7.1 Γενετικά Σύνδρομα CRC

Οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση (Familial adenomatous polyposis- FAP)

Πρόκειται για ένα κληροδοτούμενο αυτοσωμικά επικρατές σύνδρομο. Η συχνότητα εμφάνισής του προσδιορίζεται περίπου σε 1/10.000, πρόκειται δηλαδή για ένα εξαιρετικά σπάνιο σύνδρομο.

Χαρακτηρίζεται από την πολύ πρόωρη ανάπτυξη, ήδη από την παιδική ηλικία, πολλαπλών εντερικών αδενωμάτων που μπορεί να φτάσουν τις αρκετές χιλιάδες. Οφείλεται στη δημιουργία μιας μετάλλαξης στο APC γονίδιο που μπορεί να πραγματοποιηθεί τόσο στη βλαστική σειρά όσο και σε σωματικά διαφοροποιημένα κύτταρα. Το υπεύθυνο γονίδιο εντοπίστηκε το 1987 από τους ερευνητές Leppert και Bodmer στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 5 (5q). Η διεισδυτικότητα του γονιδίου αγγίζει το 100% δηλαδή το περιβάλλον δεν ασκεί καμία τροποποιητική δράση στην έκφραση του γονιδίου με αποτέλεσμα να εκφράζεται ανεξαρτήτως περιβαλλοντικών συνθηκών. Οι μεταλλάξεις πραγματοποιούνται σε διαφορετικές θέσεις του γονιδίου APC και έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία κωδικονίων λήξης και ακολούθως την παραγωγή τροποποιημένης πρωτεΐνης APC ή την ολική καταστολή της έκφρασης και άρα τη μη παραγωγή πρωτεΐνης. Παρατηρούνται διαφορές εκφάνσεις του συνδρόμου FAP με ποικιλία στη βαρύτητα των συμπτωμάτων ανάλογα με τις θέσεις στις οποίες πραγματοποιείται η μετάλλαξη στο APC γονίδιο. Περιλαμβάνονται το σύνδρομο Gardner που έχει ως συμπτώματα οστεώματα, ινώματα του δέρματος και κύστες στην επιδερμίδα, το σύνδρομο Turcot, το οποίο περιλαμβάνει το μυελοβλάστωμα και η εξασθενημένη μορφή του FAP, όπου εντοπίζονται πολλοί μικρότεροι πολύποδες. Η εγχείρηση παραμένει ο μόνος τρόπος θεραπείας των ασθενών με FAP (46,47,48,49,50).

Ο κληρονομικός μη πολυποδιακός CRC (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer- HNPCC)

Πρόκειται για ένα κληρονομούμενο αυτοσωμικό επικρατές σύνδρομο. Ο φαινότυπος του συνδρόμου αυτού είναι λιγότερο καλά προσδιορισμένος σε σύγκριση με το FAP. Όσον αφορά στην επίπτωση, ευθύνεται για μεγαλύτερο ποσοστό περιπτώσεων καρκίνου από το FAP με συχνότητα περίπου 6%. Δεν διακρίνεται εύκολα από τη “σποραδική” μορφή της ασθένειας σε φυσική εξέταση. Δεν είναι ξεκάθαρο αν οι ασθενείς με HNPCC έχουν καλύτερες πιθανότητες επιβίωσης συγκριτικά με τους ασθενείς με σποραδικό τύπο καρκίνου. Χαρακτηρίζεται από πρόωμη έναρξη σε μικρή ηλικία. Το πρώτο γονίδιο που μεταλλάχθηκε στη βλαστική σειρά μιας οικογένειας με το σύνδρομο HNPCC ταυτοποιήθηκε στο μικρό βραχίονα του δεύτερου χρωμοσώματος (2p) και είναι γονίδιο που κωδικοποιεί ένα ένζυμο επιδιόρθωσης.

Περισσότερα γονίδια έχουν προσδιοριστεί μέχρι σήμερα με κυριότερα τα MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 με το 90% μεταλλάξεων των μεταλλάξεων να πραγματοποιείται στα MSH2 και MLH1. Η μετάλλαξη αυτή έχει ως αποτέλεσμα την απορρύθμιση του συστήματος επιδιόρθωσης του DNA. Το σύστημα επιδιόρθωσης DNA αναγνωρίζει και επιδιορθώνει λάθη που προκύπτουν από την DNA πολυμεράση κατά τη διάρκεια της αντιγραφής. Η απορρύθμιση του συστήματος επιδιόρθωσης,

MMR έχει πολλές συνέπειες με σημαντικότερες την προσθήκη ή διαγραφή τμημάτων του γονιδιώματος και τη μη διόρθωση των διαγραφών και ενθέσεων που πραγματοποιούνται, δημιουργώντας έτσι το χαρακτηριστικό των γονιδιωμάτων που έχουν προβλήματα στο μηχανισμό επιδιόρθωσης, τη μικροδορυφορική αστάθεια (46,47,48,49,50,51).

3.8 Σταδιοποίηση της νόσου

Ο CRC είναι πολυκλώνικός, με κλώνους κυττάρων διαφορετικού βαθμού κακοήθειας, όπου οι λιγότερο διαφοροποιημένοι κλώνοι έχουν την τάση να επεκτείνονται και να μεθίστανται περισσότερο γρήγορα και επιθετικά. Η βιολογική συμπεριφορά του όγκου είναι και η ειδοποιός διαφορά που τον κάνει να επεκτείνεται τοπικά και να μεθίσταται, και έτσι προκαθορίζει την τελική πρόγνωση η οποία συσχετίζεται και με τα ιδιαίτερα κλινικο-παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά του.

Τη διάγνωση της καρκινικής νόσου ακολουθεί η σταδιοποίηση της, απαραίτητη διαδικασία για να διευκρινιστεί η έκταση της και οι πιθανές επεκτάσεις της πέρα από την πρωτογενή εστία. Η αποσαφήνιση του σταδίου της νόσου είναι καθοριστικός παράγοντας για την πρόγνωση της πορείας της νόσου, για την επιλογή των ασθενών ως προς τη θεραπεία στην οποία θα υποβληθούν και για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ ομοειδών ομάδων ασθενών σε διάφορα κέντρα αναφοράς. Όσα περισσότερα υπο-στάδια (substages) περιλαμβάνει μία σταδιοποίηση, τόσο πιο ακριβής είναι στην πρόβλεψη της συμπεριφοράς του όγκου και την εξέλιξη της νόσου, παρέχοντας τη δυνατότητα εξατομίκευσης της θεραπευτικής αγωγής, ώστε να μη γίνεται ούτε υπό- ούτε υπέρ-θεραπεία. Η παθολογοανατομική σταδιοποίηση του CRC στηρίζεται στο βάθος της προσβολής του πάσχοντος ιστού και στην απουσία ή παρουσία λεμφαδενικών ή και πιο απομακρυσμένων μεταστάσεων.

Μια εύχρηστη ταξινόμηση αποτελεί η “κατά Dukes”. Η σταδιοποίηση κατά Dukes αρχικά βρήκε εφαρμογή στον καρκίνο του ορθού αλλά αργότερα αξιολογήθηκε ως εξίσου ικανοποιητική και για τον καρκίνο του κόλου. Κατά καιρούς έχουν προταθεί διάφορες τροποποιήσεις της αρχικής ταξινόμησης κατά Dukes.

Τα πέντε διαφορετικά στάδια με τα οποία αξιολογείται η επέκταση και βαρύτητα της νόσου είναι τα παρακάτω:

- Στάδιο 0 (Dukes A) ή κανονικό στάδιο 0 καρκινωμάτων. Χαρακτηρίζει περιπτώσεις πρώιμου καρκίνου που εντοπίζεται μόνο στο εσωτερικό του επιθηλίου του εντέρου, στο επίπεδο του υποβλεννογόνιου χιτώνα.
- Στάδιο I (Dukes B1). Ο καρκίνος σε αυτό το στάδιο εντοπίζεται σε περισσότερα στρώματα του επιθηλίου του εντέρου, επεκτείνεται στο δεύτερο και τρίτο επίπεδο και περιλαμβάνει την

εσωτερική πλευρά του κόλου επεκτεινόμενος στο μυϊκό τοίχωμα του εντέρου. Ωστόσο δεν έχει εξαπλωθεί στην εξωτερική επιφάνεια.

- Στάδιο II (Dukes B2). Ο καρκίνος επεκτείνεται έξω από το εντερικό τοίχωμα αλλά δεν έχει διηθήσει στους λεμφαδένες
- Στάδιο III (Dukes C1). Στο στάδιο αυτό έχουν προσβληθεί οι λεμφαδένες αλλά δεν εντοπίζονται απομακρυσμένες εστίες
- Στάδιο C2. Ο όγκος δεν επεκτείνεται από το τοίχωμα του εντέρου και οι λεμφαδένες είναι μη διηθημένοι
- Στάδιο IV (Dukes D). Εντοπίζονται απομακρυσμένες εστίες.

Υστερεί στο ότι δεν προσδιορίζει με ακρίβεια το τοιχωματικό βάθος διήθησης του όγκου. Αρχικά δεν περιλάμβανε διηθημένους λεμφαδένες και δευτεροπαθείς εντοπίσεις, η μελέτη των οποίων έχει ιδιαίτερη προγνωστική αξία. Με τις τροποποιήσεις του ιδίου του Dukes (1932, 1944) αλλά και την κατά Astler-Coller (1954) και την επιπρόσθετη τροποποίηση της τελευταίας, συμπληρώθηκε το σύστημα χωρίς να γίνει πολύπλοκο, αλλά θεωρήθηκε ότι και πάλι παρέμεινε ανεπαρκές.

Το συνηθέστερα διεθνώς χρησιμοποιούμενο σήμερα σύστημα σταδιοποίησης του καρκίνου παχέος εντέρου, είναι το TNM (Tumor-Node-Metastasis). Προτάθηκε για πρώτη φορά από το “Council of the American Society of Colon and Rectal Surgeons” το 1991 και έγινε σημείο αναφοράς και από την “American Joint Committee on Cancer” (AJCC) και την “Union Internationale Contre Cancer” (UICC), με τελευταία αναθεώρηση το 2002 και έχει σαν βάση, τα χαρακτηριστικά του όγκου.

Σύμφωνα με την ταξινόμηση αυτή διακρίνονται τα παρακάτω τέσσερα στάδια:

Στάδιο 0: Εμφανίζονται μη φυσιολογικά κύτταρα στο βλενογόνο (mucosa) τα οποία σχηματίζουν καλοήγη πολύποδα, πρωτοπαθή όγκο in situ (Tis), δεν υπάρχει διήθηση σε λεμφαδένες της περιοχής (N0) και δεν εντοπίζονται απομακρυσμένες εστίες (M0). (Tis, N0, M0).

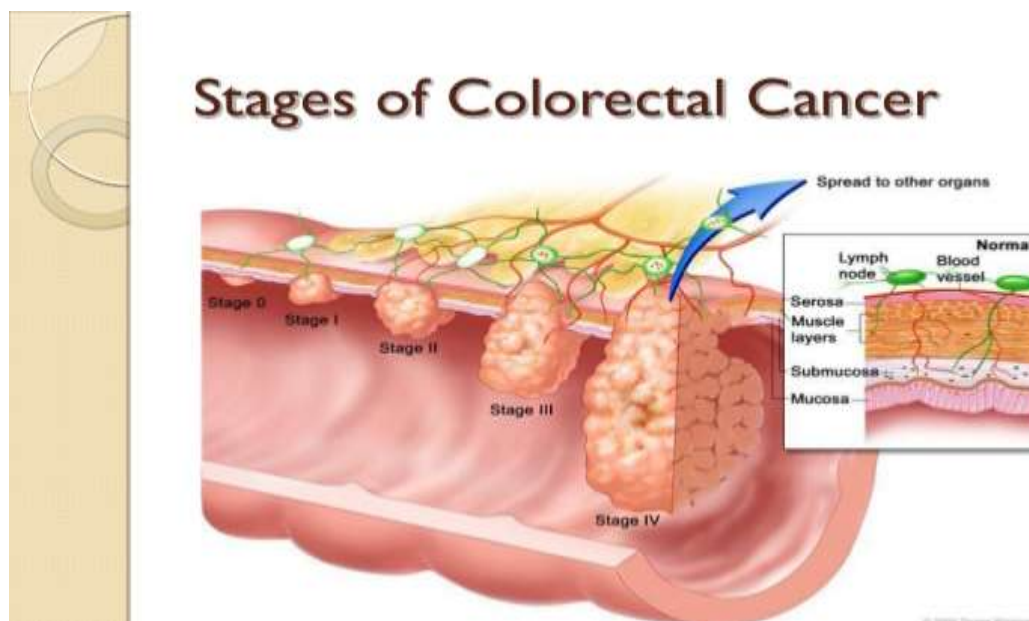
Στάδιο I: Διηθείται ο υποβλεννογόσιος χιτώνας submucosa (T1) και εν συνεχεία ο πολύποδας περνά στη μυϊκή στιβάδα (muscle layers) (T2). Δεν υπάρχει διήθηση σε λεμφαδένες της περιοχής (N0) και δεν εντοπίζονται απομακρυσμένες εστίες (M0). (T1,2, N0, M0).

Στάδιο II: Ο πολύποδας διαπερνά το τοίχωμα και διηθείται ο ορογόνος χιτώνας και/ή ο περικολικός και περιορθικός ιστός (serosa) (T3,4). Δεν υπάρχει διήθηση σε λεμφαδένες της περιοχής (N0) και δεν εντοπίζονται απομακρυσμένες εστίες (M0). (T3,4, N0, M0).

Στάδιο III: Έναρξη διήθησης περιφερειακών λεμφαδένων. 1-3 λεμφαδένες θετικοί (περικολικοί ή περιορθικοί) (N1). Περισσότεροι από 4 λεμφαδένες θετικοί (περικολικοί ή περιορθικοί) (N2). Δεν εντοπίζονται απομακρυσμένες εστίες (M0). (Any T, N1,2, M0).

Στάδιο IV: Μετάσταση σε άλλους ιστούς κυρίως ήπαρ, πνεύμονες, οστά. (AnyT, anyN, M1).

Η εξέλιξη του αρχικού αδενώματος σε μεταστατικό καρκίνο απαιτεί 10 ή και περισσότερα έτη.



Εικόνα 9 . Σχηματική απεικόνιση της σταδιοποίησης του όγκου με βάση το σύστημα TNM.

Ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκεται ο ασθενής μπορεί να πραγματοποιηθεί πρόγνωση της πιθανότητας πενταετούς επιβίωσης. Ασθενής σταδίου I (T1,2, N0, M0) έχει 85-90% πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης. Ασθενής σταδίου II (T3,4, N0, M0) έχει 70-80% πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης. Ασθενής σταδίου III (Tx, N1,2, M0) έχει 35-65% πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης και ένας ασθενής σταδίου IV (Tx, Nx, M1) έχει μόλις 5% πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης (52-57).

3.9 Μοριακά μονοπατία πρόκλησης CRC

Η έρευνα που πραγματοποιήθηκε τα τελευταία 30 χρόνια επέκτεινε την κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην έναρξη και εξέλιξη του CRC. Τα ευρήματα υποδεικνύουν την ύπαρξη τουλάχιστον τριών μονοπατιών, της χρωμοσωμικής αστάθειας, Chromosomal instability (CIN), της μικροδορυφορικής αστάθειας Microsatellite instability (MSI) και της υπερμεθυλίωσης νησίδων CpG (CIMP). Νεότερες έρευνες έχουν δείξει πως και η φλεγμονή και ρυθμιστικά μόρια RNAs, τα microRNAs συνεισφέρουν στην γένεση του καρκίνου του παχέος εντέρου.

Μονοπάτι χρωμοσωμικής αστάθειας (CIN)

Το αρχέγονο WNT σηματοδοτικό μονοπάτι

Το μονοπάτι CIN είναι το πιο καλά χαρακτηρισμένο και πιο κοινό μονοπάτι που οδηγεί στον CRC. Η διαδικασία της καρκινογένεσης περιλαμβάνει διάφορους ρυθμιστές σημείων ελέγχου της μιτωτικής ατράκτου και πρωτεΐνες που επηρεάζουν τη σταθερότητα των μιτωτικών χρωμοσωμάτων (10,11). Η αρχική μετάλλαξη είναι η πρώιμη μετάλλαξη του ογκοκατασταλτικού γονιδίου APC, το οποίο εμπλέκεται τόσο στη σποραδική μορφή καρκίνου CIN όσο και όταν η μετάλλαξη πραγματοποιείται σε βλαστικά κύτταρα οπότε έχουμε την περίπτωση του συνδρόμου (FAP) (12,13).

Το APC ογκοκατασταλτικό γονίδιο εμπλέκεται στο μονοπάτι APC/ β-catenin/ Tcf. Η απενεργοποίησή του έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη σηματοδότηση του WNT μονοπατιού λόγω της αποτυχίας αποδόμησης της β-κατενίνης. Η συσσώρευση της β-κατενίνης στο κυτόπλασμα οδηγεί στη μετατόπισή της στον πυρήνα και διεγείρει του στόχους του TCF μεταγραφικού παράγοντα με αποτέλεσμα τον αυξημένο πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση, μετανάστευση και ικανότητα προσκόλλησης των κυττάρων.

Ακόμη και αν δεν υπάρχει μετάλλαξη στο APC, μεταλλάξεις έχουν εντοπιστεί σε γονίδια που συμμετέχουν στο μονοπάτι APC/β-catenin/Tcf σε σποραδικούς CIN καρκίνους και στο 48% των όγκων η μετάλλαξη αφορά στο γονίδιο της β-κατενίνης, υποδηλώνοντας πως αυτού του είδους οι μεταλλάξεις είναι παρούσες στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης και ίσως υποκαθιστούν τις

μεταλλάξεις APC.

Μια από τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με το APC είναι η πρωτεΐνη μιτωτικού ελέγχου BubR1. Η υποέκφρασή ή απενεργοποίησή της οδηγεί στη δημιουργία πολυπλοειδών κυττάρων, παρατεταμένη κυτταρική επιβίωση, εκτεταμένο πολλαπλασιασμό υποδεικνύοντας έναν πιθανό παθογονικό μηχανισμό στην έναρξη της CIN σε σποραδικές μορφές CRC .

Η δράση της β-κατενίνης μπορεί έμμεσα να αυξηθεί από μεταλλάξεις σε ογκογονίδια. Η β-κατενίνη αλληλεπιδρά με διάφορα μέλη του μονοπατιού Notch που είναι θεμελιώδεις ρυθμιστές της κυτταρικής διαφοροποίησης και πρόσφατα βρέθηκαν να εμπλέκονται στη γένεση του CRC. Το Notch1 συγκεκριμένα αυξάνει τη συσσώρευση β-κατενίνης χωρίς την ανάγκη για ύπαρξη ενεργοποίησης προσδέτη-υποδοχέα. Επιπλέον γενετικές διαταραχές που τροποποιούν τη β-κατενίνη περιλαμβάνουν το γονίδιο CDK8 (cyclin dependent kinase-8) που βρίσκεται στη χρωμοσωμική θέση 13q12.13 και είναι παρόν σε περίπου 60% των περιπτώσεων CRC. Αυξημένη δραστηριότητα κινάσης CDK8 δρα ως ογκογονίδιο στον CRC με το να διεγείρει τόσο την β-κατενίνη όσο και το Notch1, αυξάνοντας έτσι τη μεταγραφή και την κυτταρική διαφοροποίηση και σχετίζεται με κακή πρόγνωση. Η κυκλίνη D1 (CCND1) βρέθηκε πως εμπλέκεται στη σηματοδότηση APC. Είναι θεμελιώδους σημασίας στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου. Υπερβολική έκφραση CCND1 λόγω μετάλλαξης APC οδηγεί σε δημιουργία νεοπλασίας λόγω του ότι τα κύτταρα αποφεύγουν την απόπτωση. Τα μη φυσιολογικά κύτταρα που προκύπτουν από τις παραπάνω γενετικές τροποποιήσεις συσσωρεύονται και διαμορφώνεται ένας ανώμαλος σχηματισμός (ACF) που προεξέχει μέσα στο ρεύμα των κοπράνων όπου ενυπάρχουν μεταλλαξογόνοι παράγοντες. Έπειτα από την ενεργοποίηση του μονοπατιού APC– b-catenin– Tcf αρχίζει μια μη γραμμική, συσσώρευση γενετικών αλλαγών που συνοδεύουν την σταδιακή μετάβαση από φυσιολογικά κύτταρα σε μεταστατικό καρκίνωμα.

Το μονοπάτι KRAS

Οι αρχικές αλλαγές στο CIN μονοπάτι ακολουθούνται από γεγονότα που προάγουν νέες μεταλλάξεις και διευκολύνουν την πρόοδο από καλοήγη σε κακοήγη στάδια. Η μετάβαση από αδένωμα σε καρκίνωμα καθορίζεται κυρίως από το ογκογονίδιο K-ras, που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που εμπλέκεται στη μεταφορά και διάδοση εξωκυτταρικών σημάτων μέσω του μονοπατιού των (MAPKs).

Μεταλλάξεις στο K-ras οδηγούν σε μόνιμα ενεργοποιημένη κατάσταση που επιτρέπει στο κύτταρο να αποφύγει την απόπτωση και να αποκτήσει το πλεονέκτημα της επιβίωσης. Οι μεταλλάξεις σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90% συμβαίνουν στο 12 και 13 κωδικόνιο του γονιδίου. Οι μεταλλάξεις στο κωδικόνιο 12 δημιουργούν έναν πιο ογκογόνο φαινότυπο συγκριτικά με αυτές του 13

υποδεικνύοντας πως οι μεταλλάξεις του 13ου κωδικονίου εμπλέκονται στη μετάβαση από αδένωμα σε καρκίνωμα ενώ αυτές του 12ου αυξάνουν την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων για διείσδυση και μετάσταση.

Το σύστημα p53

Η απώλεια του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 παρατηρείται συχνά σε μετέπειτα στάδια της καρκινογένεσης στο παχύ έντερο (34). Το γονίδιο εντοπίζεται στο μικρό βραχίονα του 17 χρωμοσώματος (17p) και η μετάλλαξη είναι ένα από τα θεμελιώδη βήματα στη δημιουργία του CRC καθώς οδηγεί σε σημαντική αύξηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων λόγω απώλειας ελέγχου του κυτταρικού κυκλού και αποφυγή της απόπτωσης. Η p53 αλληλεπιδρά επίσης με την Cyclooxygenase-2 (COX-2), η οποία προάγει την φλεγμονή και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στον CRC [41]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως COX-2-θετικοί όγκοι φαίνεται πως σχετίζονται με αυξημένη θνησιμότητα ανεξάρτητα από την κατάσταση του p53 και αυτό υποδεικνύει πως η COX-2 θα μπορούσε να είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας πρόγνωσης για τον CRC.

Άλλα μονοπάτια που εμπλέκονται στο CIN

Μια μοριακή τροποποίηση που πραγματοποιείται συχνά, στο 65.4% των περιπτώσεων, παράλληλα με την απώλεια του p53 είναι η απώλεια του μεγάλου βραχίονα του χρωμοσώματος 18, Σε αυτή τη χρωμοσωμική θέση εντοπίζονται τα γονίδια Smad2, Smad4 και DCC. Απώλεια αυτή της περιοχής έχει σχετιστεί με αρνητική πρόγνωση και μεγάλη πιθανότητα για εξέλιξη σε μεταστατικό καρκίνωμα.

Μια τροποποίηση που πραγματοποιείται ταυτόχρονα με τις μεταλλάξεις στο γονίδιο APC εντοπίζεται στο μονοπάτι PI3K. Μετάλλαξη στο γονίδιο PI3KCA διεγείρει την κυτταρική ανάπτυξη μέσω του μονοπατιού Akt ενώ επηρεάζει έναν κεντρικό ρυθμιστή την κυτταρικής ανάπτυξης και του μεταβολισμού το mTOR και με το ογκογονίδιο K-ras. Ταυτόχρονη παρουσία μεταλλάξεων στα γονίδια APC και PI3KCA σε ζώϊκά μοντέλα σχετίζονται με επιθετικούς όγκους . Άλλα γεγονότα αφορούν τροποποιημένη έκφραση των πρωτεϊνών (CENP)-A και CENP-H του κινητοχώρου.

Η υπερέκφρασή τους προκαλεί τροποποίηση της αλληλεπίδρασης με μη κεντρομερικές περιοχές της χρωματίνης και οδηγεί σε αποδιοργάνωση του συμπλόκου κινητοχώρου. Άλλοι παράγοντες που εμπλέκονται στο μονοπάτι CIN περιλαμβάνουν τους επαγόμενους από υποξία παράγοντες HIF-1 και HIF-2, οι οποίοι δρουν ως διαμεσολαβητές της κυτταρικής απόκρισης στην υποξία και

αυξάνουν την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην αγγειογένεση, την κυτταρική επιβίωση, το μεταβολισμό της γλυκόζης μέσα από διάφορα μονοπάτια.

Επίσης σε όλα τα στάδια του όγκου από τα πολύ πρώιμα μέχρι τα πολύ προχωρημένα παρατηρείται αύξηση στην έκφραση μιας λυσοσωμικής κυστεϊνικής πρωτεάσης, της cathepsin B (CTSB) (58-76).

Μονοπάτι της μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI)

Το μονοπάτι MSI αντιπροσωπεύει μια μορφή γενωμικής αστάθειας που εμπλέκεται στη γένεση περίπου του 15% των περιστατικών του σποραδικού CRC και σε περισσότερο από το 95% του κληρονομικού συνδρόμου (HNPCC). Η μικροδορυφορική αστάθεια προκαλείται από την απενεργοποίηση του συστήματος επιδιόρθωσης του DNA (MMR). Μεταλλάξεις πραγματοποιούνται σε 8–10 γονίδια του επιδιορθωτικού συστήματος. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε 100 φορές μεγαλύτερο ρυθμό μεταλλαξιγένεση σε κύτταρα του εντερικού βλενογόννου. Από τη στιγμή που το αδένωμα δημιουργείται η εξέλιξη του σε καρκίνωμα είναι πιο γρήγορη καθώς το περιβάλλον του εντέρου οδηγεί στη δημιουργία ανεπιδιόρθωτων βλαβών. Ο CRC που εξελίσσεται μέσα από αυτό το μονοπάτι παρουσιάζει ιδιόμορφα χαρακτηριστικά: συχνά εντοπίζεται στο εγγύς κόλον και συχνά παρουσιάζει έντονες περινεοπλασματικές ακομη και εντός του όγκου λεμφοκυτταρικές διεισδύσεις. Η πρόγνωση των ασθενών με CRC MSI (+) είναι καλύτερη συγκριτικά με αυτούς που έχουν τύπο όγκου CIN(+). Οι ασθενείς που εμφανίζουν μικροδορυφορική αστάθεια δεν ανταποκρίνονται στη χημειοθεραπεία με 5-FU. Στην κληρονομική μορφή HNPCC η μετάλλαξη πραγματοποιείται σε βλαστικά κύτταρα σε γονίδια που κωδικοποιούν τα συστατικά του συστήματος επιδιόρθωσης MMR. Στο 95% των HNPCCs, οι μεταλλάξεις πραγματοποιούνται στα γονίδια MLH1 και MSH2. Σε σποραδικού τύπου καρκίνους MSI (+) τύποι προκαλούνται συνήθως από επιγενετική αποσιώπηση του MLH1 γονιδίου. Στους MSI (+) εντοπίζονται μεταλλάξεις στο ογκογονίδιο BRAF, της οικογένειας RAF που εμπλέκεται στην κυτταρική απόκριση σε σήματα αύξησης μέσω του μονοπατιού RAS-RAF-MAP. Οι σποραδικού τύπου MSI CRCs εμφανίζουν χαρακτηριστικά του τρίτου μονοπατιού του CIMP. Σε ποσοστό μεγαλύτερο από 80% αυτού του τύπου καρκίνου εμφανίζονται μεταλλάξεις στο γονίδιο TGF-β receptor II. Αυτές οι μεταλλάξεις έχουν σχετιστεί με την μετάβαση από το αδένωμα στο καρκίνωμα, με υψηλού βαθμού δυσπλασία και προοδο σε μετάσταση.

Εμφανίζονται μεταλλάξεις και σε άλλα γονίδια στο μονοπάτι του TGF όπως τα Smad2 και Smad4. Το γονίδιο BAX, ένα προαποπτωτικό ογκοκατασταλτικό γονίδιο εμφανίζεται τροποποιημένο στο 50% των CRCs και δίνει στα κύτταρα την ικανότητα αποφυγής της απόπτωσης και

αθανатоποίησης. Εκτός από τα γονίδια που αναφέρθηκαν και είναι τα κυριότερα στα οποία πραγματοποιούνται μεταλλάξεις σε αυτό το μοριακό μονοπάτι δημιουργίας CRC υπάρχουν και κάποια άλλα που εμφανίζονται τροποποιημένα σε μικρότερα ποσοστά τα εξής: MSH3 (36.5%), MSH6 (17.5%), Insulin Growth Factor Type 2 Receptor (IGFIR) (22%), BLM (16%), PIK3CA (15%), G protein-coupled receptor of Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) (33%) and Cyclin D1 gene (28%) (77-109).

Μονοπάτι της υπερμεθυλίωσης

Ένα τρίτο μονοπάτι μέσα από το οποίο ο CRC εξελίσσεται αποτελεί το μονοπάτι της υπερμεθυλίωσης νησίδων CpG (CIMP). Χαρακτηριστικό του φαινοτύπου αυτού αποτελεί η άφθονη υπερμεθυλίωση δινουκλεοτιδικών αλληλουχιών CpG που βρίσκονται στις περιοχές υποκινητών γονιδίων που συμμετέχουν στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, την απόπτωση, την αγγειογένεση, την επιδιόρθωση DNA, τη διείσδυση και την προσκόλληση. Η υπερμεθυλίωση αυτή οδηγεί σε απώλεια της γονιδιακής έκφρασης. Το μονοπάτι CIMP εντοπίζεται στο 20%–30% των περιπτώσεων CRC και τα κλινικά χαρακτηριστικά των CIMP CRCs είναι παρόμοια με αυτά των όγκων με τύπο MSI.

Ένα αρχικό γεγονός στο μονοπάτι αυτό είναι η αποσιώπηση του γονιδίου p16INK4a, ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου που η απώλεια λειτουργίας του έχει ως αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και οδηγεί σε νεοπλασματική μεταμόρφωση. Υπάρχει και σε αυτή την περίπτωση διάκριση σε CIMP-υψηλό και CIMP-χαμηλό. Στην κατηγορία CIMP-χαμηλό συχνά εντοπίζεται μετάλλαξη του ογκογονιδίου BRAF και σχετίζεται με αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, εξέλιξη της καρκινογένεσης και υψηλή θνησιμότητα. Οι CIMP-χαμηλοί όγκοι, ανεξάρτητα από τη μετάλλαξη στο BRAF σχετίζονται με μειωμένη θνησιμότητα. Οι CIMP-χαμηλοί σε αντίθεση εμφανίζουν διαφορετικό φαινότυπο με μικρό βαθμό μεθυλίωσης του DNA. Στη συνέχεια του μονοπατιού αυτού μπορεί να παρατηρηθεί απώλεια του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 και της insulin-like growth factor binding protein 7 (IGFBP7), που είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της επαγόμενης από p53 προόδου του μονοπατιού αυτού και να αποφευχθεί η απόπτωση.

Η υπερέκφραση της DNA μεθυλτρανσφεράσης-3B (DMT3B) φαίνεται ότι έχει σημαντικό ρόλο στη συντήρηση των μοτίβων αυτών της μεθυλίωσης (110-120).

Άλλα μονοπάτια δημιουργίας CRC

microRNAs

Τα τελευταία χρόνια βρέθηκε πως μια κατηγορία μορίων ρυθμιστών, τα microRNAs (miRNAs) εμπλέκονται στην γένεση και εξέλιξη του CRC. Τα miRNA είναι μικρά ρυθμιστικά RNA με μήκος 18–26 νουκλεοτίδια τα οποία δεν κωδικοποιούν για πρωτεΐνη αλλά ρυθμίζουν την έκφραση πρωτεϊνών μέσω της αναστόλης μετάφρασης του m-RNA γονιδίων-στόχων, τα οποία εμπλέκονται στην κυτταρική διαφοροποίηση, ανάπτυξη, πολλαπλασιασμό και απόπτωση. Τα miRNAs συμμετέχουν σε πολλές φυσιολογικές διαδικασίες και περίπου το 50-60% των γονιδίων υπόκεινται στη ρύθμιση από miRNAs. Στην καρκινογένεση τα miRNAs υπερεκφράζονται οπότε λειτουργούν ως ογκογονίδια ή υποεκφράζονται οπότε λειτουργούν ως ογκοκαταστολείς. Διαφορετικά miRNA παρουσιάζουν διαφορετική έκφραση σε διαφορετικούς τύπους όγκων και διαφορά εντοπίζεται επίσης και μέσα στον ίδιο όγκο ανάμεσα στα miRNA που εμφανίζουν διαφορετική έκφραση στα βλαστικά κύτταρα και τα υπόλοιπα καρκινικά κύτταρα του ίδιου όγκου.

Ο αριθμός των miRNAs που εμπλέκονται στο CRC είναι μεγάλος και διαρκώς ανακαλύπτονται νέα. Βρέθηκε διαφορετική έκφραση σε 13 miRNAs σε ασθενείς με CRC (121). Υπερέκφραση του miR-31 σχετίζεται με CRC σταδίου IV (121). Υποέκφραση του miR-145 και miR-143 παρατηρείται σε προκαρκινικά αδενώματα κι έτσι πιστεύεται πως αυτά τα miRNAs συμμετέχουν σε αρχικά στάδια της καρκινογένεσης (122–124). Βρέθηκε υπερέκφραση των miR-17-92, miR-17-5p, miR-20, miR25, miR-92-1, miR-92-2, miR-93-1 και miR-106a σε μικροδορυφορικά σταθερούς όγκους αλλά όχι σε MSI CRC (125). Παρατηρήθηκε αύξηση των miR-31, miR-183, miR-17-5p, miR18a, miR-20a και miR-92 σε καρκινικό ιστό σε σύγκριση με φυσιολογικό βλενογόνο εντέρου και η υπερέκφραση του miR-18a σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση (126). Υψηλή έκφραση του miR-203 σχετίστηκε με φτωχή πρόγνωση στους καυκασίους με στάδιο IV CRC και ήταν ένας δείκτης χαμηλής επιβίωσης και για τους αфроαμερικανούς σε στάδια I η II. Υερεκφραση του miR-21 σχετίζεται με κακή πρόγνωση σε ασθενείς σε στάδιο IV (126).

Μονοπάτι φλεγμονής

Η χρόνια φλεγμονή είναι ένας βασικός παράγοντας στην έναρξη και την εξέλιξη του CRC. Αυτό υποστηρίζεται από ευρήματα πως χρόνια χρήση NSAIDs έχει ευεργετική δράση στο CRC. Πολλαπλοί διαφορετικοί δείκτες φλεγμονής προδιαθέτουν ένα άτομο για CRC. Αυτό συμβαίνει με την αύξηση της διέγερσης, τη διατήρηση της κυτταρικής ανάπτυξης μέσα από την επαγωγή της αντιαπόπτωσης και με την αύξηση καταστροφής DNA μέσα από την ενεργοποίηση των μεταλλαξογόνων ενεργών ριζών οξυγόνου.

Άλλοι μηχανισμοί περιλαμβάνουν την παραγωγή αγγειογόνων και λεμφοαγγειογόνων παραγόντων αύξησης και αλλαγές των μεμβρανικών συστημάτων ώστε να διευκολύνεται η διείσδυση και τροποποίηση της κυτταρικής προσκόλλησης. Για την υποστήριξη του ρόλου της χρόνιας φλεγμονής στον CRC, οι ερευνητές μελέτησαν το ρόλο του προφλεγμονώδους παράγοντα νέκρωσης όγκου κιτοκινών (TNF)-α, του μεταγραφικού παράγοντα και μεταγωγέα σήματος και ενεργοποιητή της μεταγραφής 3 (STAT3), της Interleukin (IL)-6 και της C-reactive πρωτεΐνης (CRP).

Χρόνια αυξημένα επίπεδα TNF-α επάγουν αύξηση του όγκου, πολλαπλασιασμό και μετάσταση. Η IL-6 είναι μια κυτοκίνη που εμπλέκεται στη ρύθμιση της οξείας φάσης φλεγμονής και διεγείρει την μεταγραφή του παράγοντα STAT3. Η ενεργοποίηση του STAT3 επάγει τη μετατόπισή του στον πυρήνα και διεγείρει έτσι τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση και οδηγεί σε μετάσταση με την επαγωγή διάφορων γονιδίων στόχων όπως VEGFR2 (vascular endothelial growth factor receptor, Bcl-2, CyclinD1, MMP2-9, ICAM-1, και COX-2. Ο CRP είναι ένας μοριακός δείκτης της φλεγμονής τόσο στην οξεία όσο και στη χρόνια φάση της φλεγμονής. Ο ρόλος του είναι αμφιλεγόμενος καθώς τα αποτελέσματα των ερευνών είναι αντικρουόμενα. Οι Chan και συν., μελέτησαν επίδραση CRP, Interleukin-6 (IL-6) και Soluble Tumor Necrosis Factor Receptor 2 (TNFR-2, a TNF-α receptor superfamily member) σε CRC, σε μελέτη κοορτής 33,000 γυναικών και βρήκαν αυξημένο κίνδυνο για CRC σε αυτές με υψηλό sTNFR-2, αλλά καμία συσχέτιση για τους άλλους δείκτες. Οσοι είχαν υψηλά επίπεδα sTNFR-2 και τους χορηγήθηκε ασπιρίνη είχαν μικρότερο κίνδυνο στο να αναπτύξουν CRC. Οι Song και συν. μελέτησαν τους ίδιους δείκτες φλεγμονής και βρήκαν μόνο θετική συσχέτιση ανάμεσα σε IL-6 και αυξημένο κίνδυνο CRC σε αδύνατα άτομα. Οι Knupfer και συν. βρήκαν πιο υψηλά επίπεδα IL-6 σε νεοπλασματικό εντερικό βλενογόνο συγκριτικά με τον φυσιολογικό και ισχυρές συσχετίσεις με προχωρημένο στάδιο CRC, μέγεθος όγκου και χειρότερη πρόγνωση. Οι Belluco και συν. βρήκαν συσχέτιση ανάμεσα σε υψηλά επίπεδα IL-6 στον ορό και χειρότερη πρόβλεψη για πενταετή

επιβίωση. Οι Ma και συν. βρήκαν υψηλά επίπεδα STAT3 σε μη φυσιολογικούς ιστούς CRC σε σύγκριση με το φυσιολογικό βλενογόνο και συσχέτιση με μετάσταση CRC και στάδιο όγκου και επίσης συσχέτιση με την cyclin D1. Ωστόσο τα αποτελέσματα λήφθηκαν από πολύ μικρή ομάδα ασθενών. Οι Otani και συν. σε case-control μελέτη 38,000 συμμετεχόντων διάρκειας 11 χρόνων, απέδειξαν πως το CRP σχετίζεται σημαντικά με CRC στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης όγκου, ενώ ο Gunter βρήκε 25% αύξηση στα επίπεδα CRP σε CRC ασθενείς σε σύγκριση με controls, και πιο ισχυρή συσχέτιση σε αδύνατους ασθενείς. Σε αντίθεση με τα παραπάνω σε case-control, 141 ασθενείς CRC, δεν έδειξαν συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα CRP και τον κίνδυνο για CRC (127-137).

37

3.10 Κλινικές εκδηλώσεις

Ο CRC έχει βραδεία ανάπτυξη και απαιτούνται τουλάχιστον 5 χρόνια (κατά μέσο όρο 10-15 έτη) υποκλινικής ανάπτυξης του όγκου, πριν αυτός καταστεί ικανός σε μέγεθος να προκαλέσει συμπτώματα.

Τα συμπτώματα που εμφανίζουν οι ασθενείς με CRC συνδέονται με την ανατομική θέση και τη μορφή του όγκου, την έκταση που έχει η νόσος και πιθανές επιπλοκές όπως η διάτρηση, η εντερική απόφραξη και η αιμορραγία. Ο καρκίνος του δεξιού κόλου δεν χαρακτηρίζεται από αντιπροσωπευτική συμπτωματολογία επειδή το εύρος του εντέρου σε εκείνη την περιοχή είναι 2,5 φορές μεγαλύτερο, με υδαρές περιεχόμενο και λεπτό τοίχωμα επιδεκτικό σε διατάσεις.

Έτσι το καρκίνωμα του δεξιού κόλου διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο, τουλάχιστον σε τοπικό επίπεδο. Τα πρώτα συμπτώματα της νόσου είναι συνήθως η αίσθηση συνεχούς κόπωσης και αδυναμίας εξαιτίας της υποκείμενης αναιμίας λόγω λανθάνουσας μικροσκοπικής αιμορραγίας της νόσου.

Ενοχλήσεις δυσπεψίας, δυσφορία και πόνος στη δεξιά κοιλία μπορεί λανθασμένα να αποδοθούν σε παθήσεις του στομάχου, του δωδεκαδακτύλου ή της χοληδόχου κύστης. Επίσης μπορεί να σημειωθούν αλλαγές στις συνήθειες του εντέρου λόγω εντερικής απόφραξης, κυρίως στις περιπτώσεις που ο όγκος έχει αναπτυχθεί στην ειλεοκολική βαλβίδα ή δεξιά κολική καμπή.

Το αριστερό κόλον χαρακτηρίζεται από στενότερο αυλό από το δεξιόν κόλον. Το νεόπλασμα στο αριστερόν κόλον αναπτύσσεται δακτυλιοειδώς με αποτέλεσμα την προϊούσα εντερική απόφραξη. Στις περιπτώσεις αυτές σημειώνονται αλλαγές στις συνήθειες του εντέρου με εναλλαγές δυσκοιλιότητας και διάρροιας. Δεν αποκλείεται να εμφανιστεί ατελής ή πλήρης ειλεός. Συχνά έχουμε και αιμορραγικά περιστατικά, αλλά σπάνια μαζική αιμορραγία και τα κόπρανα μπορεί να

παρουσιάζουν προσμίξεις αίματος και βλέννης. Συχνά ο ασθενής νιώθει τεινεσμό και αίσθημα ατελούς αφόδευσης.

Το άλγος στον καρκίνο του ορθού μαρτυρά τοπική επέκταση της νόσου και διήθηση του υπογαστρίου πλέγματος. Στις περιπτώσεις που παρατηρείται διήθηση στον προστάτη ή στην ουροδόχο κύστη τότε έχουμε συμπτώματα κυστίτιδας ή ουρηθρίτιδας. Αυτό μπορεί να συνοδεύεται από ορθοκυστικά ή ορθοκολπικά συρίγγια που έχουν ως αποτέλεσμα αποβολή αερίων ή κοπράνων από την ουρήθρα ή τον κόλπο. Στο 25% των ασθενών η διάγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου γίνεται αφού ο όγκος έχει προχωρήσει σε μετάσταση. Στους ασθενείς αυτούς η συμπτωματολογία της νόσου δεν εξαρτάται μόνο από την πρωτοπαθή εστία αλλά και από τις μεταστατικές εστίες.

Συνήθως οι ηπατικές και οι πνευμονικές μεταστάσεις δεν προκαλούν σημαντικά συμπτώματα. Αντίθετα οι ηπατικές μεταστάσεις μεγάλου μεγέθους μπορεί να προκαλέσουν ευαισθησία και άλγος στο άνω δεξιό τεταρτημόριο της κοιλιάς, στο δεξιό πρόσθιο θωρακικό τοίχωμα ή στο δεξιό ώμο. Ο πόνος μπορεί να είναι συνεχής ή οξύς λόγω αιφνίδιας αιμορραγίας ή νέκρωσης στη μεταστατική εστία. Ένα άλλο κλινικό σημείο, ο ασκίτης που αναπτύσσεται δευτεροπαθώς από ηπατικές μεταστάσεις ή λόγω γενικευμένης καρκινωμάτωσης, υποδηλώνει ύπαρξη μετάστασης. Στις γυναίκες πρώτη εκδήλωση της νόσου μπορεί να αποτελέσει η παρουσία ψηλαφησίμης μάζας στις ωοθήκες. Ο προχωρημένος CRC μπορεί να εμφανιστεί ως πυρετός άγνωστης αιτίας ή ακόμη να προκαλέσει σήψη από στρεπτόκοκκο.

4. Διαγνωστικές εξετάσεις

Η αποτελεσματική θεραπεία του CRC, εξαρτάται από την έγκαιρη διάγνωση του. Η έγκαιρη διάγνωση με τη σειρά της εξαρτάται από την ύπαρξη εύχρηστων και προσιτών μεθόδων προσυμπτωματικού ελέγχου που μπορούν να εφαρμοστούν στο γενικό πληθυσμό. Δυστυχώς το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών που προσέρχονται για κλινικές εξετάσεις είναι ήδη συμπτωματικοί για τουλάχιστον 6 μήνες. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος για το παχύ έντερο παρά το υψηλό κόστος που έχει είναι αποδοτικότερος συγκριτικά με την απουσία κάθε προσυμπτωματικού ελέγχου.

Η διάγνωση του CRC βασίζεται στη λήψη ιατρικού ιστορικού, στην ορθή αξιολόγηση των συμπτωμάτων που παρουσιάζει ο ασθενής αλλά και την ενδελεχή κλινική εξέταση. Η κολονοσκόπηση διαπιστώνει το 70% των CRCs, ενώ η αξονική τομογραφία μπορεί να αποκαλύψει τον όγκο και πιθανές μεταστάσεις και διηθήσεις. Η τελευταία χρησιμοποιείται για την προεγχειρητική σταδιοποίηση της νόσου. Επιπλέον μέσα διάγνωσης αποτελούν ο βαριούχος υποκλυσμός, η ορθοσιγμοειδοσκόπηση και το test αίματος κοπράνων FOBT (fecal occult blood test). Η δακτυλική εξέταση αποτελεί μια απολύτως ασφαλή και αποτελεσματική μέθοδο ελέγχου

που πρέπει να περιλαμβάνεται σε κάθε εξέταση ρουτίνας. Η American Cancer Society (ACS) έχει προτείνει πέντε διαφορετικά προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου για άντρες και γυναίκες ηλικίας 50 ετών και άνω που δεν ανήκουν στις κατηγορίες ομάδας υψηλού κινδύνου:

- Ετήσια αναζήτηση αίματος στα κόπρανα (fecal occult blood test FOBT)
- Ορθοσιγμοειδοσκόπηση κάθε πέντε χρόνια
- Ετήσια αναζήτηση αίματος στα κόπρανα και ορθοσιγμοειδοσκόπηση κάθε πέντε χρόνια
- Ακτινογραφικός έλεγχος με βαριούχο υποκλυσμό (double contrast barium enema DCBE) κάθε πέντε χρόνια
- Κολονοσκόπηση κάθε 10 χρόνια.

Από την άλλη, άτομα που παρουσιάζουν υψηλό κίνδυνο εμφάνισης CRC, με γενετικά σύνδρομα, με οικογενειακό ιστορικό, που εμφανίζουν αδενώματα ή πάσχουν από φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου θα πρέπει να υπόκεινται σε περισσότερο συστηματικό έλεγχο:

- Ο έλεγχος πρέπει να πραγματοποιείται με κολονοσκόπηση.
- Αν υπάρχει στην οικογένεια συγγενής πρώτου βαθμού που εμφάνισε CRC πριν από την ηλικία των 55 ετών, ο έλεγχος θα πρέπει να αρχίζει στην ηλικία των 40 ετών ή 10 χρόνια νωρίτερα από την ηλικία που εμφανίστηκε η νόσος στην οικογένεια και να επαναλαμβάνεται κάθε 5 έτη.
- Αν ο συγγενής εμφάνισε CRC μετά τα 55 έτη, ο προσυμπτωματικός έλεγχος θα πρέπει να ξεκινάει είτε στην ηλικία των 50 είτε 10 χρόνια νωρίτερα από την ηλικία που διαγνώστηκε η νόσος και να επαναλαμβάνεται κάθε 5-10 έτη.

Η κολονοσκόπηση παραμένει η πιο ευαίσθητη μέθοδος προσυμπτωματικού ελέγχου καθώς επιτρέπει τον οπτικό έλεγχο του εντερικού βλεννογόνου σε όλο το μήκος του παχέος εντέρου, και την αφαίρεση πολυπόδων που ενδέχεται να εντοπιστούν. Παρά τα πλεονεκτήματα που προσφέρει παραμένουν κάποια μειονεκτήματα όπως το πολύ υψηλό κόστος, οι κίνδυνοι που υπάρχουν σε μια επεμβατική μέθοδο και η ενόχληση που προκαλεί στον ασθενή. Νεότερες μη επεμβατικές τεχνικές κολονοσκόπησης βρίσκονται ακόμα υπό μελέτη, όπως η κολονοσκόπηση με αξονικό ή με μαγνητικό τομογράφο. Λόγω της υψηλής επεμβατικότητας και του υψηλού κόστους των μέχρι τώρα εγκαθιδρυμένων μεθόδων ελέγχου τα τελευταία χρόνια μεγάλος όγκος έρευνας έχει στραφεί σε μοριακούς δείκτες που ανιχνεύονται στα σωματικά υγρά και στα κόπρανα των ασθενών (427).

ΜΕΡΟΣ 2ο

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Προγνωστικοί παράγοντες

Ο CRC εξελίσσεται αργά μέσα στα χρόνια και περνά από διαφορετικά καλοήθη και κακοήθη στάδια, από απλές βλάβες σε αδένωμα και τέλος σε καρκίνωμα με τη δυνατότητα για εισβολή και

μετάσταση (144, 145). Η θεραπεία, η πρόγνωση και η επιβίωση εξαρτώνται από το στάδιο της ασθένειας στη διάγνωση. Η διάγνωση της ασθένειας γίνεται συνήθως αργά. Στο στάδιο της εκτομής περίπου το 30%–40% των ασθενών κατηγοριοποιούνται στο στάδιο II της ασθένειας (146). Στο 20–30% των ασθενών η ασθένεια είναι ήδη πολύ προχωρημένη για θεραπευτική παρέμβαση και πολλοί ασθενείς πεθαίνουν (147). Παρά τη βελτίωση στις χειρουργικές τεχνικές η πενταετής πρόβλεψη επιβίωσης για ασθενείς με αρχικό στάδιο ασθένειας είναι περίπου 90%, όμως μειώνεται στο 65% για όγκους με τοπική επέκταση και στο 5% για προχωρημένο στάδιο όπου ο όγκος έχει πραγματοποιήσει μετάσταση σε απομακρυσμένα σημεία.

Οι προγνωστικοί παράγοντες ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει εκείνους τους παράγοντες που έχουν αποδεδειγμένη προγνωστική αξία και χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη. Η κατηγορία IIA περιλαμβάνει τους παράγοντες που ερευνώνται εντατικά στην κλινική ή στα βιολογικά εργαστήρια και έχουν δείξει επανειλημμένα ότι μπορούν να καθορίσουν την πρόγνωση και να προβλέψουν την απόκριση του καρκίνου σε συγκεκριμένη θεραπεία, χωρίς όμως να υπάρχουν στατιστικά ισχυρές αποδείξεις. Στην κατηγορία IIB περιλαμβάνονται οι παράγοντες που φαίνεται πως έχουν προγνωστική αξία όμως δεν υπάρχουν τα στοιχεία για να συμπεριληφθούν στην IIA. Η τρίτη κατηγορία περιλαμβάνει τους παράγοντες για τους οποίους υπάρχουν υποθέσεις πως διαθέτουν προγνωστική αξία αλλά δεν έχουν μελετηθεί ακόμη σε μεγάλο βαθμό ενώ η τέταρτη κατηγορία περιλαμβάνει τους παράγοντες εκείνους που έχουν μελετηθεί και αποδείχθηκε πως δεν διαθέτουν κάποια προγνωστική αξία. Στην πρώτη κατηγορία περιλαμβάνονται το σύστημα σταδιοποίησης TNM, η ύπαρξη υπολειπόμενου όγκου μετά από αφαίρεση του όγκου, η διήθηση λεμφαγγείων και τα υψηλά προεγχειρητικά επίπεδα του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου CEA. Στην κατηγορία IIA περιλαμβάνονται η κατάσταση των χειρουργικών ορίων και η ιστολογική διαφοροποίηση. Στην κατηγορία IIB ανήκουν ο ιστολογικός τύπος, η μικροδορυφορική αστάθεια, η ανοσολογική απάντηση του οργανισμού στον καρκίνο όπως η λεμφοκυτταρική διήθηση του όγκου, απώλεια της ετεροζυγωτίας και η διαμόρφωση των ορίων του όγκου. Οι παράγοντες της κατηγορίας III περιλαμβάνουν όλους τους μοριακούς δείκτες εκτός αυτού που τοποθετήθηκαν σε άλλες κατηγορίες, η διήθηση νεύρων, η μικροαγγειακή πυκνότητα, πρωτεΐνες ή υδατάνθρακες που συνδέονται με τα καρκινικά κύτταρα, ανοβλαστική αντίδραση γύρω από τον όγκο, φλεγμονώδης αντίδραση, νευροενδοκρινής διαφοροποίηση και η μιτωτική δραστηριότητα (142, 143)

2. Διαγνωστικοί μοριακοί δείκτες

Η πρόγνωση, βασίζεται στο στάδιο και την ανατομική έκταση της ασθένειας σύμφωνα με τη διεθνή

αντικαρκινική ένωση tumor-node-metastasis (TNM) και την αμερικάνικη κοινότητα κατηγοριοποίησης καρκινικού σταδίου. Στόχος εκτός από την πρόγνωση είναι και η επιλογή κατάλληλης θεραπείας (148, 149). Η προγνωστική αξία του συστήματος TNM είναι περιορισμένη καθώς τα αποτελέσματα ακόμη και μέσα στην ίδια ομάδα-στάδιο ασθενών δεν είναι ομογενή. Ο CRC θεωρείται ετερογενής ασθένεια γεγονός που υποστηρίζεται από το ότι ιστοπαθολογικά όμοιοι όγκοι μπορεί να μην έχουν ούτε την ίδια πρόγνωση ούτε την ίδια απόκριση στη θεραπεία (150). Παρόλο που η κολονοσκόπηση μαζί με τη βιοψία αποτελούν τη χρυσή λύση για τον έλεγχο του CRC και τη διάγνωση λόγω της παρεμβατικής φύσης τους οι μισοί ασθενείς τα αποφεύγουν. Σε σύγκριση με αυτές τις μεθόδους θα ήταν προτιμώμενη η εύρεση κι η εφαρμογή μη παρεμβατικών μοριακών δεικτών. Ένας μικρός μονο αριθμός δεικτών ορού για τον CRC έχουν αναφερθεί και δεν έχει αναφερθεί σαφές συμπέρασμα για το ρόλο τους καθώς πολλές μελέτες αναφέρουν αμφιλεγόμενα αποτελέσματα (151-159).

Η εφαρμογή μοριακών δεικτών σε μελέτες μεγάλου εύρους διευκολύνει την κατανόηση του ιδιαίτερου ρόλου τους και των επιπτώσεων των τροποποιήσεων τους στην εξέλιξη της ασθένειας, την πρόγνωση και την απόκριση στις θεραπείες. Η εύρεση μοριακών δεικτών θα βοηθήσει στην πρόβλεψη μελλοντικής πορείας της ασθένειας και στον καθορισμό στοχευμένων εξατομικευμένων θεραπευτικών στρατηγικών με βάση το μοριακό προφίλ του όγκου σε ασθενείς που μόλις διαγνώστηκαν με CRC. Με εξελίξεις στην αλληλούχιση, τη μοριακή διαγνωστική και την στοχευμένη θεραπεία έγινε η αρχή για μια εξατομικευμένη προσέγγιση. Είναι αναγκαία η εύρεση ισχυρών και ανεξάρτητων προγνωστικών δεικτών που θα μπορούν να διαχωρίσουν τους ασθενείς σε υποομάδες για τους οποίους είναι κατάλληλες διαφορετικές θεραπείες. Επίσης εκτός από την απόκριση ή αντίσταση σε θεραπεία, οι δείκτες θα μπορούσαν να ταυτοποιήσουν ασθενείς που μπορεί να εμφανίσουν σοβαρές παρενέργειες στη θεραπεία (160). Πολλαπλά κριτήρια θα πρέπει να πληρούνται ώστε να μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν οι δείκτες κλινικά. Αποδείξεις θα πρέπει να συγκεντρωθούν από πολλές και ανεξάρτητες μελέτες, που ιδανικά θα πρέπει να περιλαμβάνουν προοπτικές μελέτες ώστε να αυξηθεί η αξιοπιστία τους. Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν προταθεί εκατοντάδες δείκτες κανένας ωστόσο εκτός από το KRAS γονίδιο, μεταλλάξεις του οποίου έχουν σχετιστεί με την αντίσταση στην ειδική θεραπεία με αντισώματα για τον υποδοχέα επιδερμικού παράγοντα αύξησης (EGFR) στην περίπτωση της μετάστασης δεν έχει χρησιμοποιηθεί στην κλινική πρακτική (160, 161).

2.1 Ορισμός και κλινικές εφαρμογές

Καρκινικός δείκτης είναι κάθε βιολογική ουσία που βρίσκεται στα καρκινικά κύτταρα ή παράγεται από αυτά και εκκρίνεται στα βιολογικά υγρά, ή που παράγεται από τον υγιή οργανισμό ως

απάντηση στην παρουσία του όγκου και της οποίας η ύπαρξη ή η αύξηση της συγκέντρωσής της πάνω από τα φυσιολογικά όρια σχετίζεται με την παρουσία, την ανάπτυξη, τη διάγνωση ή και την πρόγνωση ενός κακοήθους όγκου. Μπορεί να είναι αντιγόνα των καρκινικών κυττάρων, ένζυμα, πρωτεΐνες, μεταβολίτες, ογκογονίδια και προϊόντα ογκογονιδίων. Ο προσδιορισμός τους μπορεί να γίνει με ανοσοϊστοχημικές και μοριακές τεχνικές.

Υπάρχουν δύο τύποι δεικτών. Οι πρώτοι αναφέρονται ως δείκτες πρόγνωσης (prognostic biomarkers). Αυτοί δίνουν πληροφορίες για την πιθανή πορεία της ασθένειας σε περίπτωση που δεν υπάρχει θεραπεία. Η δεύτερη κατηγορία αναφέρεται ως δείκτες πρόβλεψης (predictive biomarkers) και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ταυτοποίηση υποπληθυσμών ασθενών που έχουν τη μεγαλύτερη πιθανότητα να ανταποκριθούν στη θεραπεία. Οι δείκτες πρόβλεψης λοιπόν αποτελούν τη βάση για την εξατομικευμένη θεραπεία.

Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός τους μπορεί να αξιοποιηθεί τόσο προγνωστικά όσο και θεραπευτικά. Οι καρκινικοί δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη διάγνωση του καρκίνου για την επιβεβαίωση της ιστολογικής εξέτασης, την ανίχνευση του νεοπλασματος και ίσως τον εντοπισμό της πρωτοπαθούς εστίας, τη δυνατότητα εκτίμησης του νεοπλασματικού φορτίου, την πρόγνωση (prognostic) και την πρόβλεψη (predicted) έκβασης της νόσου, την αξιολόγηση και παρακολούθηση της ανταπόκρισης του ασθενούς στην θεραπεία καθώς και για τον έλεγχο υποτροπής της νόσου με την εμφάνιση μεταστάσεων πριν την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων, για ανάπτυξη πρωτοκόλλων γονιδιακής θεραπείας με στόχευση κυττάρων περιέχοντα δείκτες μέσω μονοκλωνικών αντισωμάτων. Άλλες εφαρμογές τους είναι η ικανότητα τους για διαφορική διάγνωση από καλοήθεις ασθένειες, έλεγχο του πληθυσμού (screening), εντοπισμό των ομάδων υψηλού κινδύνου, για την κατανόηση της εξέλιξης και φυσικής ιστορίας της καρκινογένεσης. Αύξηση στα επίπεδα των καρκινικών δεικτών συχνά υποδηλώνει υποτροπή, μετάσταση και μικρή ανταπόκριση στη θεραπεία, ενώ μειωμένα επίπεδα υποδεικνύουν θετική ανταπόκριση στη θεραπεία και συνεπώς καλή πρόγνωση.

Οι καρκινικοί δείκτες θα πρέπει να πληρούν κάποια κριτήρια.

Η συγκέντρωσή του να είναι ανάλογη του φορτίου ή να σχετίζεται με τη συμπεριφορά της νόσου.

Να έχει μικρό χρόνο ημίσειας ζωής.

Να αυξομειώνεται ανάλογα με την πορεία της νόσου.

Να διατίθεται μια απλή και φθηνή μέθοδος μέτρησης, με επαναληψιμότητα.

Να παράγεται ειδικά από νεοπλασματικό ιστό.

Να αντιστοιχεί σε κακοήθεια συγκεκριμένου οργάνου.

Να βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε όλους τους ασθενείς με τον συγκεκριμένο τύπο νεοπλασματος.

Να μετράται εύκολα σε βιολογικά υγρά σε πρώιμα στάδια καρκίνου ή σε προκαρκινικές καταστάσεις.

Νεοπλασματικοί δείκτες με κλινική ειδικότητα και κλινική ευαισθησία 100% δεν υπάρχουν. Κατά συνέπεια δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνοι τους σαν διαγνωστικό εργαλείο

2.2 Οι σημαντικότεροι μοριακοί δείκτες

CEA (Carcino-Embryonic Antigen)

Το καρκινο-εμβρυϊκό αντιγόνο είναι μια γλυκοπρωτεΐνη υψηλού μοριακού βάρους που ανήκει στην οικογένεια των ανοσοσφαιρινών. Περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1965 από τους Gold και συν. και οι φυσιολογικές του τιμές στον όρο έχουν ανώτατο όριο τα 5ng/ml (φυσιολογικές τιμές που αφορούν το 95% των ατόμων). Φυσιολογικά εντοπίζεται σε εμβρυϊκά κύτταρα του γαστρεντερικού συστήματος και του ήπατος, αλλά σταματά να παράγεται πριν την γέννηση. Έτσι, απουσιάζει από το αίμα υγιών ενήλικων ατόμων αν και εντοπίζεται σε ειδικές ομάδες του πληθυσμού.

Το CEA εμφανίζει υψηλές τιμές συγκέντρωσης, συνήθως έως 10ng/ml σε καπνιστές, πάσχοντες από νοσήματα του πνεύμονα και του πεπτικού συστήματος και σε περιπτώσεις κίρρωσης και νεφρικής ανεπάρκειας. Εκκρίνεται από αδενοκαρκινώματα του πεπτικού συστήματος και τις μεταστάσεις του σε άλλους τύπους καρκίνου. Το γονίδιο του CEA εκφράζεται περίπου στο 95% των περιπτώσεων καρκίνου παχέος εντέρου, στομάχου και παγκρέατος (162). Εμπλέκεται στην κυτταρική προσκόλληση (163, 164) και στην προστασία των καρκινικών κυττάρων κατά της απόπτωσης (165,166), διαδραματίζοντας έτσι σημαντικό ρόλο στη δημιουργία μεταστάσεων του CRC. Σημαντική είναι η αξία του στην παρακολούθηση του ασθενούς κατά τη διάρκεια της θεραπείας, όπου πέρα από την αρχική έγκαιρη διάγνωση, συμβάλλει στον έλεγχο υποτροπής ή μεταστάσεων (έλεγχος κάθε τρεις μήνες) καθώς και στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Έχει 80% ευαισθησία με ένα εύρος 17-89% και ειδικότητα 70% με εύρος 34-91% στην ανίχνευση υποτροπών CRC, ανάλογα με το στάδιο και τα βαθμό διαφοροποίησης του νεοπλασματος, με μεγαλύτερη ευαισθησία στην ανίχνευση ηπατικών μεταστάσεων (167, 168, 169). Τα επίπεδα του CEA προεγχειρητικά σχετίζονται άμεσα με την πρόγνωση της νόσου και την επιβίωση του ασθενούς, καθώς όσο αυξάνονται μειώνεται η πενταετής επιβίωση. Συγκεκριμένα, όταν αυτά ξεπερνά τα 5ng/ml αποτελούν κακό προγνωστικό παράγοντα ανεξάρτητο από το στάδιο της νόσου (170-174).

Σε μία μελέτη με CRC πρόέκυψε ότι στους ασθενείς που είχαν προεγχειρητικά επίπεδα CEA που ξεπερνούσαν τα 5ng/ml ο χρόνος προόδου της νόσου ήταν σημαντικά μικρότερος (175). Η θεραπευτική προσέγγιση στους ασθενείς σταδίου III δεν επηρεάζεται τόσο από τα επίπεδα του CEA. Στους ασθενείς του σταδίου II τα υψηλά προεγχειρητικά επίπεδα CEA μπορούν να διακρίνουν τους ασθενείς που θα ωφεληθούν από τη χορήγηση χημειοθεραπείας. Προτάθηκε να συμπεριληφθούν τα επίπεδα του δείκτη CEA ως κατηγορία στο σύστημα σταδιοποίησης TNM (176). Ο συνδυασμός προσδιορισμού του επιπέδου του CEA στον ορό του αίματος και της απεικονιστικής μεθόδου της αξονικής τομογραφίας οδηγεί στην αποκάλυψη υποτροπής ή μεταστάσεων σε ποσοστό πάνω από 90% των ασθενών. Προς το παρόν ο δείκτης δεν θεωρείται κατάλληλος για screening test καθώς παρουσιάζονται αυξημένες τιμές του σε καπνιστές και κίρρωτικούς ασθενείς.

3.2 CA 19-9 (Carbohydrate Antigen 19-9)

Το υδατανθρακικό αντιγόνο 19-9 είναι ένα γλυκολιπίδιο με υψηλό μοριακό βάρος. Είναι τροποποιημένο αντιγόνο ομάδας αίματος Lewis. Περίπου 5% των ατόμων που έχουν γονότυπο Le a-b δεν παράγουν CA 19-9. Ανιχνεύεται με το μονοκλωνικό αντίσωμα NS 1116 19-9. Παράγεται στο πάγκρεας, στα χοληφόρα αγγεία, στο στομάχι, στο κόλον, στο ενδομήτριο και στους σιελογόνους αδένες. Αυξημένες τιμές (>37 U/ml) CA 19-9 παρατηρούνται στο 30% με καρκίνο του κόλου και του ορθού και <1% στα φυσιολογικά άτομα. Οι φυσιολογικές τιμές σε ενήλικες είναι μικρότερες από 37 U/ml. Τιμές που ξεπερνούν τα 120 U/ml καταγράφονται σε κακοήθεις παθήσεις του πνεύμονα, του πεπτικού συστήματος και κάποια μεταστατικά καρκινώματα. Τιμές μέχρι και 120 U/ml έχουν παρατηρηθεί σε άτομα με καλοήθεις καταστάσεις όπως παγκρεατίτιδα και πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα, αποφρακτικό ίκτερο, κίρρωση και κυστική ίνωση καταστάσεις που μπορούν επίσης να δίνουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Η κύρια ένδειξη του CA 19-9 είναι οι καρκίνοι που εμφανίζονται στο πεπτικό σύστημα. Πιο συγκεκριμένα εμφανίζεται συσχέτιση με το δείκτη CEA και έτσι μπορεί να αυξηθεί στο 90% η έγκαιρη διάγνωση υποτροπών, 4 με 6 μήνες μετά την κλινική διάγνωση και σταδιοποίηση. Οι απόψεις των ερευνητών είναι διφορούμενες σχετικά με την πραγματική χρησιμότητα αυτών των δεικτών. Τα συνολικά αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι ένα 36% των θετικών αποτελεσμάτων συνδεόταν με έγκαιρη διάγνωση και επιτυχή αφαίρεση της υποτροπής. Εξίσου ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα που κοινοποιήθηκαν από την Εταιρεία Χειρουργικής Ογκολογίας των ΗΠΑ, μετά την παρακολούθηση των δεικτών αυτών σε 400 περιπτώσεις χειρουργημένου CRC (318).

Δείκτες με βάση τον ιστό

Γενωμική και επιγενωμική αστάθεια

Υπάρχουν δύο τύποι γενωμικής αστάθειας που θεωρούνται μηχανισμοί της γένεσης CRC. Ο πιο κοινός τύπος, CIN, εμφανίζεται σε περίπου 65–70% των CRCs και ορίζεται ως παρουσία πολλαπλών δομικών ή αριθμητικών χρωμοσωμικών αλλαγών στα καρκινικά κύτταρα. Περίπου 15% των CRCs εμφανίζουν ένα σχεδόν διπλοειδές σετ χρωμοσωμάτων, χαρακτηρίζονται ως MSI και ορίζονται ως όγκοι που έχουν αστάθεια σε τουλάχιστον 2 από 5 μικροδορυφορικούς δείκτες (47). Η προγνωστική αξία τόσο του CIN όσο και του MSI έχει αποδειχθεί (48,49). Ασθενείς CIN+ έχουν χειρότερη πρόγνωση και ασθενείς με MSI+ CRC έχουν καλύτερη πρόγνωση από ασθενείς με τύπο ασθένειας CIN– και MSI– (178).

MSI (Μικροδορυφορική αστάθεια)

Το MSI αντικατοπτρίζει την παρουσία ενός ελαττωματικού μηχανισμού επιδιόρθωσης (MMR) και χαρακτηρίζεται από τροποποιήσεις στο μέγεθος και τις επαναλήψεις μικρών νουκλεοτιδικών αλληλουχιών μέσα στο γονιδίωμα (179, 180). Τα γονίδια που περιέχουν απλές επαναλήψεις είναι συχνά μεταλλαγμένα στον CRC (181). Το MSI εμφανίζεται στο 10%–15% σποραδικού τύπου CRC, προκαλούμενο από επιγενετική υπερμεθυλίωση του γονιδίου MLH1. Στην πλειοψηφία των όγκων (HNPCC) εμφανίζεται ο φαινότυπος MSI. Άτομα με τύπο όγκου MSI έχουν διακριτά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά, διαφορετικά από άτομα με όγκο που οφείλεται σε χρωμοσωμική αστάθεια (182, 183). Οι όγκοι αυτοί είναι λιγότερο διαφοροποιημένοι, βλεννώδεις και έχουν αυξημένη λεμφοκυτταρική διήθηση (184). Τα χαρακτηριστικά αυτά μπορεί να είναι χρήσιμα ως διαγνωστικοί, προγνωστικοί και δείκτες πρόβλεψης. Οι όγκοι αυτοί έχουν διαφορετική απόκριση στη χημειοθεραπεία (185). Συνεπώς το MSI θεωρείται ένας από τους πιο πολλά υποσχόμενους δείκτες.

MSI ως παράγοντας πρόγνωσης

Τα αποτελέσματα από τις μελέτες είναι αντιφατικά και αφήνουν μια ασάφεια για τη χρησιμότητα του δείκτη στην κλινική πρακτική (179, 181, 184, 186–194). Θεωρείται πως ασθενείς με MSI σε σύγκριση με ασθενείς με μικροδορυφορικά σταθερούς όγκους έχουν σημαντικό πλεονέκτημα επιβίωσης (184). Υψηλής αστάθειας MSI-H όγκοι έχουν είναι λιγότερο πιθανό να δώσουν μεταστάσεις σε περιοχικούς λεμφαδένες ή σε απομακρυσμένα σημεία (196).

MSI και πρόβλεψη θεραπείας

Το MSI ταυτοποιεί ασθενείς οι οποίοι μπορούν να θεραπευτούν μόνο με επέμβαση. Στις περισσότερες μελέτες έχει συνδεθεί με ευνοϊκή απόκριση ίσως λόγω μικρότερης επιθετικότητας των όγκων αυτών (196). Το συχνότερα χρησιμοποιούμενο χημειοθεραπευτικό φάρμακο είναι το 5-FU. Δεν παρατηρείται πλεονέκτημα της 5-FU θεραπείας γι' αυτούς τους ασθενείς. Περισσότερες μελέτες είναι απαραίτητες για την αξιολόγηση της ικανότητας πρόληψης του δείκτη για το αποτέλεσμα εφαρμογής θεραπείας (185). Σε μελέτη ασθενών με όγκους υψηλής μικροδορυφορικής αστάθειας, MSI-H η πενταετής επιβίωση έφτανε το 46% (197, 198, 199). Από αυτούς τους όγκους το 61% είχαν μετάλλαξη στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον τύπο II υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα TGF-1. Η πενταετής επιβίωση για τους ασθενείς που εμφάνιζαν υψηλή αστάθεια MSI-H έφτανε το 74% αν η αστάθεια αυτή συνοδευόταν και με την μετάλλαξη στον υποδοχέα τύπου II του TGF-1. Το μονοπάτι του TGF-1 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων σταματώντας τα κύτταρα στο τέλος της φάσης G1 του κυτταρικού κύκλου και ενδέχεται μια μετάλλαξη που αναστέλλει το μονοπάτι του TGF-1 να αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων κάνοντας τον όγκο πιο ευαίσθητο στη χημειοθεραπεία. In vitro κύτταρα με MSI-H χωρίς την παραπάνω μετάλλαξη εμφανίζουν ανθεκτικότητα στην χημειοθεραπεία με 5-φθοροουρακίλη (5-FU) (199).

Σε διαφορετική μελέτη (200) ασθενείς με τύπους MSI-H, MSI-L και MSS όγκους έλαβαν προφυλακτική χημειοθεραπεία ενώ υπήρχε και άλλη ομάδα ασθενών με ίδια σύσταση που δεν τους χορηγήθηκε θεραπεία. Στους ασθενείς που δεν έλαβαν θεραπεία αυτοί με τον τύπο MSI-H επέδειξαν μεγαλύτερα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης συγκριτικά με τους άλλους ασθενείς. Δεν παρατηρήθηκαν τα ίδια αποτελέσματα στους ασθενείς που έλαβαν προφυλακτική χημειοθεραπεία. Η προφυλακτική χημειοθεραπεία βελτίωσε την επιβίωση στους ασθενείς με MSI-L ή MSS όγκους ενώ η επιβίωση δε βελτιώθηκε για τους ασθενείς με MSI-H όγκους. Οι μελέτες αυτές δείχνουν ότι η μικροδορυφορική αστάθεια μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο ώστε να διαχωρίζονται οι ασθενείς και να προβλέπεται η ανταπόκριση τους σε συγκεκριμένες χημειοθεραπευτικές προσεγγίσεις. Παραμένει όμως η ανάγκη για περαιτέρω μελέτη προτού τα νέα δεδομένα περάσουν στην καθημερινή κλινική πρακτική. Προοπτικές κλινικές μελέτες είναι απαραίτητες για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του MSI ως δείκτη. Η μικρή συχνότητα MSI στο σποραδικό CRC είναι ένας μεγάλος περιορισμός για την πραγματοποίηση προοπτικών μελετών μεγάλης κλίμακας (179). Στη μετάσταση το MSI δε συναντάται ευρέως και δεν αποτελεί σημαντικό δείκτη για την πρόγνωση (195).

Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (Epidermal growth factor receptor-EGFR)

Υπερέκφραση του EGFR έχει παρατηρηθεί σε 65%–70% του ανθρώπινου CRC και έχει σχετισθεί με προχωρημένο στάδιο της ασθένειας (201). Διαφορική έκφραση έχει παρατηρηθεί και ανάμεσα στα στάδια II και IV, γεγονός που μπορεί να δηλώνει πως το μονοπάτι του EGFR εμπλέκεται στην εξέλιξη του όγκου σε πιο προχωρημένα στάδια. Εκτός από δείκτη σε πρωτογενείς όγκους λοιπόν ο EGFR θα μπορούσε να αποτελέσει στόχο για νέους αντικαρκινικούς παράγοντες κυρίως στην περίπτωση του μεταστατικού CRC (202-204). Κάποιες μελέτες δείχνουν συσχέτιση του EGFR με προχωρημένο στάδιο, χειρότερη κατάσταση ιστού και εισβολή σε λεμφαδένες (205–207). Σε κάποιες μελέτες (208, 209) παρατηρήθηκε μικρότερη πιθανότητα επιβίωσης σε ασθενείς με έκφραση EGFR σε απομακρυσμένους λεμφαδένες σε ασθενείς σταδίου III και IV, υποδηλώνοντας πως η έκφρασή του σε μεταστατικούς λεμφαδένες μπορεί να είναι πιο ακριβής από την έκφραση σε πρωτογενείς όγκους ή μεταστάσεις σε απομακρυσμένα σημεία. Δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις για τη συσχέτιση απορρύθμισης EGFR και την έκβαση της θεραπείας, ωστόσο αναστολείς του EGFR οδήγησαν σε σημαντικό πλεονέκτημα πληθυσμούς ασθενών CRC (201). Η αναστολή του EGFR θα μπορούσε να αποτελέσει προσέγγιση για τη θεραπεία. Ο EGFR μπορεί να στοχευθεί είτε με μονοκλωνικά αντισώματα (mAbs) όπως, cetuximab, panitumumab ή με αναστολείς της κινάσης τυροσίνης (TKIs) (gefitinib) (205, 206, 210). Τα mAbs χρησιμοποιούνται κλινικά στην περίπτωση του mCRC. Τα mAbs είναι οι μόνες antiEGFR θεραπείες που εγκρίθηκαν από την “U.S. Food and Drug Administration” σε ασθενείς που εκφράζουν μεταστατικό στάδιο σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία (210, 212). Η ευρωπαϊκή ιατρική εταιρία “European Medicine Agency” (EMA) απαγόρευσε τη χρήση του cetuximab και panitumumab σε ασθενείς με μεταστατικούς όγκους όπου παρατηρείται έκφραση του EGFR και έχουν το γονίδιο άγριου τύπου KRAS.

Ογκογονίδιο KRAS

Έχουν μελετηθεί μεταλλάξεις του KRAS στο εξόνιο 2 (κωδικόνια 12 και 13), και σε μικρότερο βαθμό στο εξόνιο 3 (κωδικόνιο 61), για τη σχέση τους με την έκβαση του CRC. Οι μεταλλάξεις του KRAS θεωρείται πως αποτελούν αρχικά γεγονότα στην ογκογένεση του CRC και εμφανίζονται στο 40%–50% των περιστατικών CRC (213). Η δράση του πρωτοογκογονιδίου RAS έγκειται στο μονοπάτι RAS–RAF–MAPK που ρυθμίζεται από τον EGFR και είναι σημαντικό για τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων (214). Τα αποτελέσματα των μελετών για την αξία του ως δείκτη είναι αμφιλεγόμενα. Η πλειοψηφία των μελετών δείχνουν πως μεταλλάξεις στο KRAS έχουν δυνατότητα πρόγνωσης μόνο σε κάποια στάδια της ασθένειας. Η παρουσία του σχετίζεται με κακή πρόγνωση ανεξάρτητα από το στάδιο στο οποίο βρίσκεται ο ασθενής (215).

Σημαντικός αριθμός μελετών δεν οδήγησε σε συσχέτιση ανάμεσα σε μεταλλάξεις του KRAS και την επιβίωση (216, 217, 218, 219). Οι μεταλλάξεις είναι σημαντικές για την πρόοδο και το αποτέλεσμα του ήδη εγκαθιδρυμένου CRC, και ορισμένες μεταλλάξεις (κωδικόνιο 12 όπου πραγματοποιείται αντικατάσταση γλυκίνης από βαλίνη, glycine->valine) φαίνεται να έχουν πιο σημαντικό προγνωστικό ρόλο από άλλες. Διαφορετικές μεταλλάξεις έχουν διαφορετική επίδραση στην έκβαση του CRC (220). Το KRAS παρουσιάζει περισσότερο ενδιαφέρον ως δείκτης πρόβλεψης αποτελέσματος. Είναι ισχυρός δείκτης στον μεταστατικό CRC σε ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με αντισώματα που στοχεύουν στον παράγοντα EGFR (221). Ασθενείς με μετάλλαξη στο KRAS δεν ωφελούνται από τη θεραπεία αφού εμφανίζουν αντίσταση (222, 223, 224–235). Η ανίχνευση των μεταλλάξεων του K-RAS έχουν βρει τα τελευταία χρόνια σημαντική κλινική εφαρμογή στην εντόπιση των ασθενών εκείνων που θα ανταποκριθούν στη θεραπεία με το μονοκλωνικό αντισώμα cetuximab (238). Το cetuximab αποτελεί έναν αναστολέα του EGFR (anti-EGFR). Μεγάλες μελέτες έχουν δείξει πολύ θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση του προχωρημένου CRC με το αντίσωμα αυτό σε ασθενείς που δεν έχουν μετάλλαξη στο K-RAS (239–241). Το KRAS αποτελεί το επόμενο στάδιο στο μονοπάτι του EGFR, όποτε στην περίπτωση που το K-RAS έχει υποστεί μετάλλαξη, μπορεί να οδηγήσει σε συνεχή ενεργοποίηση του μονοπατιού RAS–RAF–MAPK ανεξαρτητα από την παρουσία EGFR, οδηγώντας σε αντίσταση στο αντίσωμα cetuximab (236, 237).

Μόνο το 50% των ασθενών με άγριου τύπου KRAS ωφελείται από τη θεραπεία και αυτό υποδηλώνει την ανάγκη για έρευνα νέων βιοδεικτών για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας της anti-EGFR βασισμένης σε μονοκλωνικά αντισώματα θεραπείας. Το πλεονέκτημα είναι πως οι μεταλλάξεις περιορίζονται σε μικρό τμήμα του γονιδίου και ο εντοπισμός τους είναι εύκολος.

Ογκογονίδιο BRAF

Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF έχουν σχετιστεί με κλινικά χειρότερο αποτέλεσμα, υποδηλώνοντας την αναγκαιότητα για βοηθητική θεραπεία (242, 243, 244, 245). Η ανάλυση των μεταλλάξεων του BRAF προς το παρόν δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιλογή των ασθενών που θα δεχθούν τη βοηθητική θεραπεία αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην περίπτωση του μεταστατικού καρκίνου για την επιλογή ασθενών που θα μπορούσαν να ωφεληθούν από EGFR-στοχευμένες θεραπείες με μονοκλωνικά αντισώματα (246, 247, 248, 249).

Οι μεταλλάξεις που έχουν σχετιστεί με τύπο ασθένειας MSI+ και CIMP+ θεωρείται πως έχουν καλύτερη πρόγνωση²⁰. Αντίθετα, MSI–, CIMP+ όγκοι με BRAF V600E μεταλλάξεις σχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση (242)

Επιγενετική: CIMP (CpG island methylator phenotype)

Η επιγενετική περιγράφει αλλαγές στο φαινότυπο ή τα επίπεδα έκφρασης γονιδίων που δεν περιλαμβάνουν αλλαγές στην ακολουθία του DNA. Αλλαγές στα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA θεωρούνται πως αποτελούν παράγοντα κλειδί για την διαφορική έκφραση των γονιδίων που σχετίζεται με το καρκίνο (250). Η υπερμεθυλίωση της πλούσιας σε CpG περιοχής των υποκινητών και η σχετιζόμενη με αυτή τροποποίηση των ιστονών, τροποποιούν τη δομή της χρωματίνης και αυτή λαμβάνει την “κλειστή διαμόρφωση” γεγονός που εμποδίζει την προσέλευση μεταγραφικών παραγόντων και άρα την καταστολή της γονιδιακής μεταγραφής (250). Αυτό το μονοπάτι επιγενετικής αστάθειας, η υπερμεθυλίωση των υποκινητών CIMP προτάθηκε μαζί με αυτό της χρωμοσωμικής αστάθειας και του MSI ως τρίτος λόγος δημιουργίας CRC (251). Τα αποτελέσματα που αφορούν τη σημαντικότητα του ως δείκτη είναι αμφιλεγόμενα. Υπάρχει ομοιότητα παθολογικά ανάμεσα σε όγκους MSI και CIMP-υψηλούς/MSS (252, 253). Ωστόσο, ασθενείς με CIMP-υψηλό/MSS (μικροδορυφορικά σταθεροί), έχουν σημαντικά χειρότερο αποτέλεσμα από τους όγκους με χαρακτηριστικά, CIMP-0/MSS και MSI (254, 252, 254–256). Η εξέλιξη του MSI μπορεί να λειτουργεί ως “αντίδοτο” για εξισορρόπηση στα αρνητικά αποτελέσματα της μεθυλίωσης (242, 257, 258, 259). Το κατά πόσο είναι αποτελεσματική η χημειοθεραπεία είναι επίσης ασαφές. Κάποιες μελέτες έχουν δείξει απόκριση στη χημειοθεραπεία. Στο στάδιο III σε μελέτες η CIMP αποτελεί ένδειξη χημειοευαισθησίας (260), (227), (229). Αντίθετα προτάθηκε πως η CIMP μπορεί να προβλέψει χειρότερο αποτέλεσμα σε προχωρημένο στάδιο CRC σε άτομα που λαμβάνουν χημειοθεραπεία 5-FU και θεραπεία βασιζόμενη σε irinotecan. Η κακή πρόγνωση CIMP-υψηλό/MSS σχετίζεται με την παρουσία μεταλλάξεων στα ογκογονίδια KRAS/BRAF (261). Όταν η ανάλυση στις μελέτες είναι πολυπαραγοντική παρατηρήθηκε πως η διαγνωστική αξία του CIMP ήταν μικρή.

Απώλεια του χρωμοσωμικού τόπου 18q

Η απώλεια του μεγάλου βραχίονα του χρωμοσώματος 18 παρατηρείται περίπου στις μισές περιπτώσεις των CRC (262, 263, 264). Αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1994 ότι ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου σταδίου II που είχαν μια αλληλική απώλεια στο 18q συμπεριφέρονταν σαν ασθενείς με καρκίνο σταδίου III (270). Στο τμήμα αυτό υπάρχει μεγάλος αριθμός γονιδίων ογκοκαταστολέων, όπως το DCC, το SMAD4 και το SMAD2 (265, 266). Η έκφραση του γονιδίου DCC ελαττώνεται ή και μηδενίζεται στους όγκους αυτούς και φαίνεται ότι συνδέεται με κακή πρόγνωση και επιθετική συμπεριφορά (267, 268, 269, 271). Στο γονίδιο DCC δρα το ένζυμο

κασπάση και μια μετάλλαξη στην θέση που η κασπάση 3 συνδέεται με τη πρωτεΐνη DCC έχει ως αποτέλεσμα να καταστέλλεται η αποπτωτική δράση του DCC (272).

Για το λόγο αυτό η αλληλική απώλεια του 18q έχει αρνητική επίδραση στην απόπτωση που οδηγεί στην ανάπτυξη αντίστασης στη χημειοθεραπεία. Το SMAD4, είναι μέλος του μονοπατιού των (transforming growth factor-β) (TGFβ) και μειωμένα επίπεδα SMAD4 mRNA σχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση. Η πενταετής επιβίωση ήταν 93% στους ασθενείς σταδίου II που δεν είχαν την απώλεια και 54% σε ασθενείς ίδιου σταδίου στους οποίους είχε συμβεί απώλεια του 18q. Η απώλεια ετεροζυγωτίας του 18q αποτελεί έναν ανεξάρτητο αρνητικό προγνωστικό παράγοντα στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

Θυμιδική συνθάση, Φωσφορυλάση της θυμιδίνης, Δεϋδρογενάση της Διϋδροπυριμιδίνης.

Τα ένζυμα θυμιδική συνθάση (TS), φωσφορυλάση της θυμιδίνης (TP) και δεϋδρογενάση της διϋδροπυριμιδίνης (DPD) είναι ένζυμα που εμπλέκονται στον μεταβολισμό των πυριμιδινών. Υψηλά επίπεδα των ενζύμων TS και TP στον όγκο συσχετίζονται άμεσα με την αντοχή της προχωρημένης νόσου στην χημειοθεραπεία με 5FU (273, 274). Υψηλά επίπεδα του ενζύμου DPD που αποτελεί το ένζυμο που επιβραδύνει τον καταβολισμό του 5FU, σχετίζεται αντίστροφα με την αντοχή στην χημειοθεραπεία με 5FU (275). Αντίθετα από τα ευρήματα στην προχωρημένη νόσο δημοσιεύτηκε ότι οι ασθενείς με υψηλά επίπεδα του ενζύμου TS ενδέχεται να επωφελήθηκαν από τη χορήγηση χημειοθεραπείας με 5FU ενώ ασθενείς με χαμηλά επίπεδα του ενζύμου δεν επωφελήθηκαν, (276). Τα αποτελέσματα αυτά δεν έχουν ακόμη επιβεβαιωθεί ακόμη.

2.3 Υποσχόμενοι μελλοντικά μοριακοί δείκτες

(FOXP3): Forkhead Box P3–Positive Regulatory T Cells

Η διήθηση του όγκου από λεμφοκύτταρα θεωρείται ως θετικός προγνωστικός παράγοντας (277, 278). Για τους όγκους του παχέος εντέρου τα CD8+T κύτταρα έχουν συσχετιστεί με καλύτερη πρόγνωση και εξετάζεται ο ρόλος τους ως αμυντική γραμμή του οργανισμού απέναντι στον καρκίνο.

Ρυθμιστικά T κύτταρα (Tregs) χαρακτηρίζονται από την παρουσία δεικτών CD4 και CD25 και επιτρέπουν την ανάπτυξη του όγκου μέσα από την απελευθέρωση κυτοκινών όπως ο TGF (269, 279). Ο πιο ειδικός δείκτης T ρυθμιστικών κυττάρων που έχει ταυτοποιηθεί είναι ο πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας (FOXP3). Τα αποτελέσματα είναι αμφιλεγόμενα. Οι Loddenkemper και συν. (280) ανέφεραν πως η πυκνότητα των T- ρυθμιστικών κυττάρων ήταν χαμηλότερη στα περιστατικά όπου υπήρχαν προσβεβλημένοι λεμφαδένες, αλλά δεν ήταν σχετιζόμενη με την επιβίωση. Σε αντίθεση, οι Ling και συν. (281) δε βρήκαν σημαντική διαφορά στην πυκνότητά τους

ανάμεσα προχωρημένα και αρχικά στάδια, αλλά δεν αξιολόγησαν τη συσχέτιση με την επιβίωση.

Επιπλέον οι Salama και συν. (282) έδειξαν πως υψηλή πυκνότητα FOXP3 T-ρυθμιστικών κυττάρων στον CRC σχετίζονταν με μεγαλύτερη επιβίωση και μεγαλύτερη προγνωστική σημαντικότητα από τα CD8 και CD45RO κύτταρα μνήμης στον CRC. Ακόμη υψηλότερη πυκνότητα FOXP3 T-ρυθμιστικών κυττάρων στο φυσιολογικό ιστό του παχέος εντέρου σε πάσχοντες με CRC σχετιζόταν με χειρότερη πρόγνωση. Το χειρότερο αποτέλεσμα οφείλεται ίσως στην ιδιότητα των κυττάρων αυτών να καταστέλλουν την αντικαρκινική ανοσία. Ωστόσο η παρατήρηση μεγαλύτερης πιθανότητας επιβίωσης σε ασθενείς με μεγαλύτερη πυκνότητα FOXP3 T-ρυθμιστικών κυττάρων στον όγκο είναι αντιφατική. Τα κύτταρα αυτά θεωρείται πως αποτελούν καλύτερο δείκτη υποτροπής και επιβίωσης από ότι τα CD8 T κύτταρα μόνο (283). Παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα έκφρασης FOXP3 mRNA σε MSS CRCs. (285) Σε MMR-προχωρημένους CRC παρατηρείται μεγαλύτερη πιθανότητα επιβίωσης αλλά όχι σε MMR-ελλειείς. Περισσότερες μελέτες είναι απαραίτητες για το ρόλο των T-ρυθμιστικών κυττάρων που έχουν ως δείκτη FOXP3 και εκδηλώνουν τον MMR φαινότυπο στον CRC. Δεν έχουν χρησιμοποιηθεί ακόμη στην κλινική πρακτική (284).

Μέλη του σχετιζόμενου με κινάσες μονοπατιού εξωκυτταρικής σηματοδότησης MAPK υποδοχέα ιαλουρονικού οξέος(RHAMM)

Η RHAMM χρησιμοποιείται ως προγνωστικός παράγοντας. Εκφράζεται λιγότερο στους φυσιολογικούς σε σχέση με τους καρκινικούς κυτταρικούς πληθυσμούς (286). Φαίνεται πως υψηλότερη έκφραση RHAMM είναι απαραίτητη να προάγει τον όγκο και αποτελεί αρνητικό προγνωστικό παράγοντας στον MMR-προχωρημένο CRC (287). Η εμπλοκή του RHAMM στο μονοπάτι RAS–MAPK και ο ρόλος του ως υποδοχέα, μπορεί να το καταστήσουν πιθανό στοχο για θεραπευτική παρέμβαση.

PI3KCA

Η κλάση I των PI3Ks είναι ετεροδιμερείς λιπιδικές κινάσες που αποτελούνται από την p85 ρυθμιστική υπομονάδα και μία από πολλές διαφορετικές p110 καταλυτικές υπομονάδες. Μόνο στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον τύπο α υπομονάδας PI3KCA, έχει βρεθεί πως εμφανίζονται ογκογόνες μεταλλάξεις και πολλαπλασιασμοί στις καρκινοπάθειες (288, 289). Η ρυθμιστική υπομονάδα του PI3K μπορεί να προσδένει πρωτεΐνες, όπως η KRAS, να συνδυάζει σήματα από μεμβρανικούς

υποδοχείς και να ενεργοποιεί την PI3KCA. Οι PI3Ks συμμετέχουν σε μονοπάτι σχετιζόμενο με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επιβίωση (289).

PI3KCA ως δείκτης πρόγνωσης και πρόβλεψης

Ο προγνωστικός ρόλος των PI3KCA είναι ακόμη υπό διερεύνηση (288). Κάποιες μελέτες δείχνουν αρνητικό ρόλο στην πρόγνωση ύστερα από χειρουργική παρέμβαση (289, 290). Ωστόσο άλλη μελέτη (292) δεν θεώρησε πως έχει μεγάλη σημαντικότητα ως δείκτης. Θα μπορούσε να καθορίζει ομάδες ασθενών CRC που θα μπορούσαν να επωφεληθούν από βοηθητική θεραπεία. Μελέτες αναφέρουν πως μεταλλάξεις PI3KC (στα εξώνια 9 και 20) μπορεί να σχετιστούν με την απόκριση σε EGFR αναστολές (291). Απαιτούνται μελέτες μεγάλης κλίμακας για να διαπιστωθεί εάν ισχύει το παραπάνω (293).

PTEN ως δείκτης πρόγνωσης και πρόβλεψης

Η προγνωστική αξία είναι κατω από διερεύνηση. Το PTEN, δείχνει προοπτική ως δείκτης πρόβλεψης για ασθενείς με άγριου τύπου KRAS που λαμβάνουν anti-EGFR θεραπεία (294, 295).

Πρωτεϊνική κινάση προερχομενη από T-κύτταρα (TOPK)

Λόγω του σημαντικού ρόλου στο μονοπάτι ERK–MAPK η υπερέκφραση TOPK σχετίστηκε με μεταλλάξεις στο KRAS και BRAF. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η TOPK μπορεί να είναι χρήσιμος προγνωστικός και δείκτης πρόβλεψης σε ασθενείς με σποραδικό CRC με μεταλλάξεις KRAS και BRAF και σε ασθενείς με μεταστατική ασθένεια που εμφανίζουν θετική απόκριση σε anti-EGFR θεραπείες. Η αναστολή της TOPK θα μπορούσε να παρουσιάζει καινούργιο πεδίο μελέτης στη στοχευμένη θεραπεία του CRC (296).

MicroRNAs κυκλοφορίας

Τα miRNAs έχουν προσελκύσει τεράστιο ενδιαφέρον ως μέσα για την ανάλυση μοριακών μονοπατιών που εμπλέκονται στη δημιουργία και εξέλιξη του όγκου. Τα miRNAs εκκρίνονται από κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των καρκινικών, στα υγρά του σώματος, όπως αίμα, ούρα, σάλιο μέσω εξωσωμάτων. Τα εξωσώματα είναι μικρά μεμβρανικά κυστίδια 100 nm που ενσωματώνουν πρωτεΐνες, λιπίδια, mRNAs και miRNAs. Τα miRNAs αυτά μπορεί να αποτελέσουν χρήσιμους διαγνωστικούς δείκτες για τον καρκίνο (297, 298). Οι μοριακές “υπογραφές” των miRNA διαφέρουν μεταξύ των CRC ασθενών και των υγιών ατόμων. Συγκεκριμένα 8 miRNAs (let-7a,

miR-1224-5p, miR-1229, miR-1246, miR-150, miR-21, miR-223 και miR-23a) που ήταν σημαντικά υπερεκφραζόμενα σε εξωσώματα του ορού από πρωτογενή όγκο CRC, υποεκφράστηκαν μετά την πραγματοποίηση της εγχείρησης. Τα miRNAs αυτά είναι προτιμώμενα ως δείκτες λόγω της ειδικότητάς τους στον ορό/πλάσμα.

Οι μοναδικές ιδιότητες των εξωσωμάτων, όπως η σταθερότητά τους στην κυκλοφορία, η ανίχνευσή τους και το γεγονός πως αντικατοπτρίζουν ιδιότητες των καρκινικών κυττάρων μπορούν να τα καταστήσουν ιδιαίτερα χρήσιμα για την ανάπτυξη ιδιαίτερα ευαίσθητων διαγνωστικών στρατηγικών για έγκαιρη και μη παρεμβατική ανίχνευση της παθολογικής κατάστασης των ασθενών με καρκίνο. Εκτός από τα miRNA της κυκλοφορίας, έχει παρατηρηθεί διαφορική έκφραση miRNA τόσο αναμεσα σε φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα όσο και στα καρκινικά βλαστικά κύτταρα σε σύγκριση με τα καρκινικά κύτταρα. Τα διαφορετικά αυτά προφίλ μπορεί να αποτελέσουν βάση για τη μοριακά στοχευμένη, εξατομικευμένη προσέγγιση.

APC γονίδιο

Προάγει την αποδόμηση της β-κατενίνης και περιορίζει την μεταγραφή των γονιδίων που συμμετέχουν στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Πρόκειται για ένα καθολικό μονοπάτι στον CRC και περισσότερο από το 90% των ασθενών έχουν τροποποιήσεις που το επηρεάζουν. Λόγω της μεγάλης συχνότητας είναι προφανές πως ούτε το APC ούτε η β-κατενίνη αποτελούν χρήσιμους δείκτες για την πρόγνωση και δεν έχουν έτσι σημαντικό ρόλο στην κλινική πρακτική.

TP53

Στην περιοχή 17p περιλαμβάνεται το ογκοκατασταλτικό γονίδιο TP53, το πιο κοινά μεταλλαγμένο γονίδιο στον καρκίνο. Ομόζυγος απώλεια του P53 γονιδίου έχει βρεθεί στο 70% των καρκινωμάτων του παχέος εντέρου. Τα αποτελέσματα για τη χρησιμότητά του ως προγνωστικό δείκτη και δείκτη πρόβλεψης απόκρισης σε θεραπεία είναι αντικρουόμενα. Οι μεταλλάξεις στο TP53 σχετίζονται με τον τρόπο απόκρισης στην προεγχειρητική ακτινοβολία και χημειοθεραπεία στο αδενοκαρκίνωμα του ορθού. Όγκοι στο ορθό με μεταλλάξεις στο TP53 φαίνεται ότι είναι πιο ανθεκτικοί στην θεραπεία από τους όγκους που δεν έχουν μετάλλαξη στο TP53 (299, 300).

Οι κύριοι παράγοντες που παίζουν ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου, η λοίμωξη, ο μεταβολισμός

λίπους/ κατανάλωση κρέατος, το κάπνισμα, το αλκοόλ είναι υπεύθυνοι για το σχηματισμό ROS. Η καταστροφή του DNA από το οξειδωτικό stress θεωρείται ως βασική αιτία για αλλαγές στη φυσιολογία που οδηγούν σε ασθένειες όπως ο CRC. Το οξειδωτικό stress εμφανίζεται σε ένα πολύ αρχικό στάδιο του CRC και επιδεινώνεται με την εξέλιξη του όγκου (301, 302). Ασθενείς με ίδια κατηγορία ασθένειας εμφανίζουν διαφορετικό κλινικό αποτέλεσμα. Αυτό δείχνει πως η κλασική διαδικασία κατηγοριοποίησης του όγκου δεν είναι αρκετή για να προβλέψει την πορεία του ασθενή (303,304). Συνεπώς, παράγοντες που περιγράφουν το οξειδωτικό stress/καταστροφή του DNA μαζί με την κατηγοριοποίηση του όγκου μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για πρόβλεψη της επιβίωσης. Κάποιοι από τους δείκτες αυτούς φαίνονται αξιόπιστοι από μόνοι τους σε συνδυασμό έχουν μεγαλύτερη ικανότητα πρόγνωσης, ακριβή συσχέτιση του σταδίου του CRC με το αποτέλεσμα της ασθένειας και το χαρακτηρισμό ασθενών με μεγάλο κίνδυνο ώστε να εφαρμόσουμε την κατάλληλη θεραπεία.

Μια από τις τροποποιημένες οξειδωτικά βάσεις είναι η 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoGua), και αποτελεί έναν τυπικό δείκτη οξειδωτικού stress και είναι πιθανό να διαδραματίζει ρόλο στην καρκινογένεση. Η μετάλλαξη έχει ως αποτέλεσμα αλλαγή από GC σε TA εκτός αν προηγηθεί επιδιόρθωση πριν την αντιγραφή. Θεωρείται πως υπάρχει άμεση σχέση ανάμεσα στη δημιουργία 8-oxoGua και τη μεταλλαξιογένεση και καρκινογένεση *in vivo* (305, 306, 307).

Η εξάλειψη της μετάλλαξης από το DNA πραγματοποιείται με επιδιόρθωση απομάκρυνσης βάσης (BER) με κύριο ένζυμο την OGG1 DNA glycosylase (308, 309). Άλλο ένζυμο με ρυθμιστικό ρόλο στη διαδικασία αυτή είναι η PARP-1 (poly ADP-ribose polymerase 1), ένας μοριακός αισθητήρας που ανιχνεύει τις βλάβες στο DNA (310), όπως μεταλλαγμένα νουκλεοτίδια από το οξειδωτικό stress (311, 312).

Η έκκριση 8-oxodGuo/8-oxoGua στα ούρα αντιπροσωπεύει το μέσο βαθμό οξειδωτικού stress/DNA καταστροφής σε όλο το σώμα. Χαμηλότερα αρχικά επίπεδα stress/DNA καταστροφής δίνουν περισσότερες πιθανότητες επιβίωσης. Τα υψηλά επίπεδα 8-oxoGua δείχνουν τη σοβαρότητα της ασθένειας. Τα λευκοκύτταρα, είναι τα κύτταρα που δίνουν την πληροφορία για stress σε ιστούς, που εκφράζεται ως επίπεδα 8-oxodGuo στο DNA τους (313, 314). Το ουρικό οξύ σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις είναι αντιοξειδωτικό που εξουδετερώνει ROS αλλά εξισσοροπεί τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος στον ορό και μειώνει την κατανάλωση της a-tocopherol και b-carotene (315). Αύξηση της συγκέντρωσης ουρικού αποτελεί ένα σήμα κινδύνου που ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό για την καταπολέμηση του καρκίνου.

Συνδυασμός χαμηλών επιπέδων στα ούρα 8-oxo-7,8-dihydroguanine είτε με χαμηλά επίπεδα 8-oxo-7,8dihydro-2'-deoxyguanosine στο DNA των λευκοκυττάρων είτε με υψηλά επίπεδα ουρικού οξέος στο πλάσμα έχει σημαντική διαγνωστική δύναμη για την πρόγνωση του CRC

Αυξημένη πρόσληψη βιταμινών και αντιοξειδωτικών ειδικά σε υψηλού κινδύνου ομάδες (υψηλά επίπεδα 8oxodGuo στο DNA λευκοκυττάρων/ 8-oxoGua ούρων και χαμηλή συγκέντρωση ουρικού οξέος) μπορεί να καθυτερήσει την εξέλιξη της ασθένειας.

Μερος 3

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η θεραπεία του CRC απαιτεί τη συντονισμένη διεπιστημονική προσπάθεια παθολόγων, χειρουργών, ακτινολόγων, βιολόγων καθώς και των λοιπών επαγγελματιών υγείας για τον έγκαιρο εντοπισμό και αντιμετώπιση και την εξασφάλιση όσο γίνεται ενός καλύτερου επιπέδου ζωής.

Χειρουργική επέμβαση

Η θεραπεία για τον CRC βασίζεται στην εκτομή του καρκινώματος, με ικανά όρια υγιούς ιστού εκατέρωθεν της βλάβης, και όλων των πιθανών διηθημένων λεμφαδένων. Ακόμη και σε περιστατικά απομακρυσμένων μεταστάσεων θα πρέπει να γίνεται προσπάθεια αφαίρεσης του πρωτοπαθούς όγκου. Κατά τη διάρκεια της επέμβασης απαραίτητο είναι, πριν από κάθε άλλη χειρουργική παρέμβαση, να γίνει απολίνωση της φλεβικής απαγωγής και να αποκλειστεί ο εντερικός αυλός εκατέρωθεν του όγκου με περίδεση ώστε να αποφευχθεί η εγχειρητική διασπορά των καρκινικών κυττάρων. Ο σχεδιασμός της επέμβασης πρέπει να είναι τέτοιος ώστε και να συναφαιρούνται τα τμήματα του ιστού εντός του οποίου πορεύονται τα λεμφαγγεία και οι λεμφαδένες αλλά και να εξασφαλίζεται η σωστή αγγείωση και αιμάτωση του υπόλοιπου εντέρου. Το είδος της εγχείρησης εξαρτάται από το που εντοπίζεται ακριβώς ο όγκος και από το αν η περίπτωση χρήζει άμεσης αντιμετώπισης.

Χημειοθεραπεία- Φάρμακα

Η χημειοθεραπεία αφορά τη χρήση φαρμάκων που καταστρέφουν τα καρκινικά κύτταρα. Συνήθως η χορήγηση τους γίνεται ενδοφλεβίως ή από το στόματος και μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας κατανέμονται σε όλους τους ιστούς. Τα κυτταροστατικά φάρμακα προκαλούν παρενέργειες ανάλογα με το μηχανισμό δράσης τους και αυτές μπορεί να είναι πρώιμες ή όψιμες. Η χημειοθεραπεία μπορεί να συνδυασθεί προ-εγχειρητικά με ακτινοθεραπεία, συνηθέστερα όμως χορηγείται μετεγχειρητικά. Χημειοθεραπεία χορηγείται και στις περιπτώσεις όπου έχουμε μεταστάσεις σε άλλα μέρη του σώματος. Μετά τη χειρουργική αφαίρεση του όγκου ο ιατρός μπορεί να χορηγήσει ένα χημειοθεραπευτικό σχήμα ιδίως όταν φαίνεται να έχουν επηρεαστεί οι λεμφαδένες ή όταν η ιστολογική διερεύνηση οδηγεί σε πιθανές ενδείξεις επανεμφάνισης. Η διάρκεια του σχήματος υπολογίζεται στους 6 με 8 μήνες περίπου. Τα κυτταροστατικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι συνήθως η 5-φθοροουρακίλη (5 FU) σε συνδυασμό με φυλικό οξύ (λευκοβορίνη) που αυξάνει τη δραστηριότητα της (319)

mOΜονοκλωνικά αντισώματα.

Έναντι του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (anti EGFR θεραπεία)

Στον CRC είχε παρατηρηθεί υπερέκφραση EGFR και είχε συνδεθεί σε ορισμένες μελέτες με κακή πρόγνωση. Το cetuximab είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα εναντίον του EGFR. Η θεραπεία με Cetuximab είναι αποτελεσματική σε εκείνους τους ασθενείς που δεν έχουν μετάλλαξη στο γονίδιο KRAS καθώς αυτή καθιστά μάταιη την προσπάθεια αναστολής του μονοπατιού του EGFR με το συγκεκριμένο αντίσωμα. Η εξέταση για την ύπαρξη ή όχι της συγκεκριμένης μετάλλαξης επιτρέπει στον ιατρό να προβλέψει αν ο ασθενής θα επωφεληθεί ή όχι από τη θεραπεία. Τα τελευταία χρόνια αναπτύσσονται νέα φάρμακα όπως το gefitinib (Iressa) και το erlotinib τα οποία αποτελούν μια άλλη προσέγγιση στην αναστολή του EGFR. Αποτελούν μόρια που εμποδίζουν τη σύνδεση στον EGFR πρωτεϊνών κινασών απαραίτητων για την ενεργοποίηση του μονοπατιού. Τα φάρμακα αυτά δεν έχουν αποδείξει ακόμη τη χρησιμότητα τους στον καρκίνο του παχέος εντέρου (320).

Ενδοθηλιακός αγγειακός αυξητικός παράγοντας (VEGF)

Ο ενδοθηλιακός αγγειακός αυξητικός παράγοντας (Vascular endothelial growth factor-VEGF) κατέχει κεντρικό ρόλο στην αγγειογένεση και υπερεκφράζεται στον CRC. Το bevacizumab (Avastin) είναι επιλεκτικός αναστολέας του VEGFR και έχει δείξει καλά αποτελέσματα στον μεταστατικό CRC ως μονοθεραπεία αλλά κυρίως σε συνδυασμό με άλλα χημειοθεραπευτικά σκευάσματα. Σε μία μελέτη φασης II τα ποσοστά αντάποκρισης του συνδυασμού 5-FU/LV και bevacizumab ήταν 40% σε σύγκριση με 17% της ομάδας που έλαβε μόνο χημειοθεραπεία. Το bevacizumab ενδέχεται να προκαλέσει πυρετό, ρίγη, υπέρταση, κεφαλαλγίες και ρινορραγίες. Η έρευνα συνεχίζεται αμείωτη στο πεδίο των μονοκλωνικών αντισωμάτων που απορροφά όλο και μεγαλύτερα ποσοστά της έρευνας στην φαρμακευτική βιομηχανία .

Ανοσοθεραπεία.

Η ειδική ενεργός ανοσοθεραπεία πραγματοποιεί ανοσοποίηση των ασθενών με τα δικά τους καρκινικά κύτταρα, αφότου αυτά έχουν ακτινοβοληθεί μαζί με ένα ανοσοδιεγερτικό όπως το BCG. Τα καρκινικά κύτταρα που ακτινοβολούνται χάνουν την δυνατότητα του πολλαπλασιασμού. Τα πιθανά αντικαρκινικά αποτελέσματα της τεχνικής αυτής αποτελούν αντικείμενο διερεύνησης αρκετών μελετών. Ορισμένες μικρές σε αριθμό ασθενών μελέτες (80 ασθενείς) έδειξαν ότι αυτή η προσέγγιση δεν είχε ιδιαίτερο θεραπευτικό αποτέλεσμα (452, 453).

Μια αναδρομική όμως ανάλυση κατάφερε να δείξει κάποια θετικά αποτελέσματα συντηρώντας το

ενδιαφέρον για την τεχνική αυτή. πιο ενδιαφέρουσα να είναι του ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) (454). 297 ασθενείς σταδίου II και 115 ασθενείς σταδίου III χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες. Η μία ομάδα μετά το χειρουργείο δε έλαβε καμία θεραπεία ενώ στην δεύτερη ομάδα ακολουθήθηκε αυτή η μέθοδος ανοσοθεραπείας (ASI). Ενώ δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκε μια τάση υπέρ της ανοσοθεραπείας στην επιβίωση ελεύθερης νόσου ($P = .078$) και στη συνολική επιβίωση ($P = .12$). Ενδέχεται το αποτέλεσμα απλά να υποδηλώνει ότι οι ασθενείς με περισσότερο δραστήριο ανοσοποιητικό έχουν καλύτερη πρόγνωση ασχέτως με τη θεραπεία που έλαβαν. Η θεραπευτική αυτή προσέγγιση αν και ενδιαφέρουσα δεν έχει δώσει ακόμη τα θετικά αποτελέσματα που αναμένονταν.

Εμβόλια

Τα εμβόλια στοχεύουν στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενή ώστε να εντοπίζει και να καταστρέφει τα καρκινικά κύτταρα. Ιδανικός στόχο θα αποτελούσε ένα μόριο υψηλής αντιγονικότητας που εκφράζεται πάντα στα καρκινικά κύτταρα και ποτέ στους φυσιολογικούς ιστούς. Δεν έχει βρεθεί αλλά το CEA λόγω της κοινής έκφρασης του από τα κύτταρα των όγκων του CRC προσέλκυσε την προσοχή της έρευνας. Μια προσέγγιση για την ανάπτυξη εμβολίου κατά του CEA θα μπορούσε να αποτελέσουν γενετικά τροποποιημένα T κύτταρα που αναγνωρίζουν και στοχεύουν το CEA (321, 322). Προς το παρόν παραμένει στο πεδίο της έρευνας.

Διαιτητική πρόληψη και υποστήριξη

Περισσότερο από το 95% των περιστατικών του CRC θεωρείται σποραδικά και εμφανίζονται στους ασθενείς χωρίς κληρονομικό κίνδυνο (330). Έτσι ένα μεγάλο ποσοστό του CRC σχετίζεται με περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως ο τρόπος ζωής και η παχυσαρκία και δυνατό να αποφευχθούν (331). Ο πιο ισχυρός παράγοντας κινδύνου τρόπου ζωής είναι η διατροφή (330). Η αυξημένη επίπτωση CRC στις αναπτυγμένες χώρες μπορεί να αποδοθεί στο δυτικό τρόπο ζωής που χαρακτηρίζεται από αυξημένες ποσότητες κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος αλλά περιορισμένες ποσότητες φρούτων και λαχανικών σε σχέση με δίαιτες σε μη αναπτυγμένες χώρες. Η υιοθέτηση του τύπου αυτού δίαιτας από πρόσφατα ανεπτυγμένες χώρες, όπως η Ιαπωνία οδήγησε σε αύξηση των περιστατικών CRC στις χώρες αυτές (332). Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί τονίζοντας τη συσχέτιση ανάμεσα στο κόκκινο κρέας και το CRC μέσα στους οποίους περιλαμβάνεται η διέγερση έκκρισης ινσουλίνης, υψηλό περιεχόμενο σε κορεσμένα λιπαρά και σίδηρο καθώς και καρκινογόνους προδρόμους των ετεροκυκλικών αμινών (333).

Πρόσφατα δεδομένα από συστηματική ανασκόπηση και μεταανάλυση στην ανθρώπινη διαίτα υποδηλώνει πως ο κίνδυνος για CRC μειώθηκε όταν η πρόσληψη φρούτων και λαχανικών ήταν υψηλή. Υποστηρίζεται πως κατανάλωση 100-200 g/ημερα φρούτων και λαχανικών μειώνουν τον κίνδυνο του CRC κατά 10% . Διάφοροι μηχανισμοί με τους οποίους τα φρούτα και τα λαχανικά μειώνουν τον κίνδυνο του CRC έχουν προταθεί. Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι καλές πηγές φυτικών ινών που μπορούν να ελαττώσουν τον κίνδυνο για CRC, αυξάνοντας τον όγκο των κοπράνων και έτσι μειώνοντας τη συγκέντρωση των καρκινογόνων που βρίσκονται στα κόπρανα καθώς και μειώνοντας το χρόνο διέλευσης της τροφής άρα και ο χρόνος επαφής των καρκινογόνων ουσιών με τον εντερικό βλεννογόνο. Τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν ένα πολύ μεγάλο αριθμό πιθανά αντικαρκινικών παραγόντων, στους οποίους περιλαμβάνονται τα καροτενοειδή, η βιταμίνη C και E, το σελήνιο καθώς και φαινολικά συστατικά που έχουν την ικανότητα να επάγουν τα ένζυμα αποτοξίνωσης ή σχηματίζουν αντινεοπλασματικούς παράγοντες, καθώς και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (334). Πολλοί ασθενείς με καρκίνο εμφανίζουν κακή διατροφική κατάσταση και το 20-40% των θανάτων καρκινοπαθών σχετίζονται με κακή θρέψη. Η έγκυρη και έγκαιρη διατροφική παρέμβαση μπορεί να αποκαταστήσει τις επιπτώσεις της κακής θρέψης, να ενισχύσει την αποκατάσταση του ασθενούς και να μειώσει τους κινδύνους περαιτέρω νοσηρότητας στους επιζώντες του καρκίνου.

Ένα τρόπο πρόληψης ίσως και περιορισμού του CRC θα μπορούσε να αποτελέσει και ο εμπλουτισμός της διαίτας με αντιοξειδωτικά.

Ελεύθερες ρίζες- Ορισμός

Οι ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται όταν ένα άτομο ή ένα μόριο κερδίσει ή χάσει ένα ηλεκτρόνιο. Σχηματίζονται φυσιολογικά στο σώμα και παίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλές φυσιολογικές κυτταρικές διαδικασίες (323, 324). Σε υψηλές συγκεντρώσεις ωστόσο είναι υψηλά δραστικά χημικά που έχουν την ικανότητα να καταστρέψουν όλα τα θεμελιώδη κυτταρικά συστατικά όπως το DNA, τις πρωτεΐνες και τις κυτταρικές μεμβράνες. Η προκαλούμενη από ελεύθερες ρίζες καταστροφή αυτή των κυττάρων, ειδικά η καταστροφή στο DNA μπορεί να παίζει πολύ μεγάλο ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου και άλλων ασθενειών (323, 324).

Η βάση του οξειδωτικού stress

Οι ελεύθερες ρίζες που περιέχουν το στοιχείο οξυγόνο είναι ο πιο κοινός τύπος ελεύθερων ριζών που παράγεται σε ζωντανούς ιστούς. Άλλη ονομασία που τους αποδόθηκε είναι “ενεργές ρίζες οξυγόνου” ή “ROS” (323, 324). Σε αυτές περιλαμβάνονται ελεύθερες ρίζες υπεροξειδίου, ($O_2^{\bullet-}$) και υδροξειλίου ($HO^{\bullet}$), όπως και υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2).

Τα μόρια αυτά προέρχονται από το οξυγόνο που καταναλώνεται σε μεταβολικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται κυρίως στα μιτοχόνδρια, τα υπεροξειδισώματα και το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER). Τα μιτοχόνδρια θεωρούνται σημαντική πηγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου με το 2% του οξυγόνου που καταναλώνεται σε αυτά να μεταπίπτει σε υπεροξείδιο (325, 326). Τα υπεροξειδισώματα έχουν διττό ρόλο τόσο στην εκκαθάριση, μέσω της διαμεσολαβούμενης από την καταλάση αποσύνθεσης του H_2O_2 , όσο στην παραγωγή ROS μέσω της β-οξείδωσης των λιπαρών οξέων και της δραστηριότητας της οξειδάσης φλαβίνης (flavin oxidase) (327). Το ενδοπλασματικό δίκτυο αποτελεί ένα οξειδωτικό περιβάλλον που ευνοεί το σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών και αναδίπλωση πρωτεϊνών και αυξάνει τα επίπεδα των ROS μέσα από την οξείδωση πρωτεϊνών (328). Η ρύθμιση των ενδοκυτταρικών επιπέδων ROS είναι σημαντική για την κυτταρική ομοιόσταση καθώς διαφορετικά επίπεδα επάγουν διαφορετικές βιολογικές διαδικασίες. Σε χαμηλά με μέτρια επίπεδα, οι ROS δρουν ως σηματοδοτικά μόρια που διατηρούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση και ενεργοποιούν μονοπάτια επιβίωσης ως απόκριση στο stress (329). Η υπερβολική παραγωγή ROS καταστρέφει κυτταρικά συστατικά, DNA, πρωτεΐνες και λιπίδια. Η αυστηρή ρύθμιση συνεπώς των μονοπατιών που επάγουν την παραγωγή ROS και των ROS εξουδετερωτικών μονοπατιών είναι σημαντική.

Καρκινικά κύτταρα και οξειδωτικό stress

Η ρύθμιση της ομοιόστασης οξειδοαναγωγής είναι θεμελιώδους σημασίας για τη διατήρηση της φυσιολογικής κυτταρικής λειτουργίας και τη διασφάλιση της επιβίωσης των κυττάρων. Τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από αυξημένη αερόβια γλυκόλυση και υψηλά επίπεδα οξειδωτικού stress. Το οξειδωτικό stress, όπως αναφέρθηκε, προκαλείται από ενεργές ρίζες οξυγόνου (ROS) που συσσωρεύονται ως αποτέλεσμα ανισορροπίας ανάμεσα στην παραγωγή και εξουδετέρωση των ROS. Στα καρκινικά κύτταρα τροποποιήσεις σε σηματοδοτικά μονοπάτια που επηρεάζουν το μεταβολισμό έχουν ως αποτέλεσμα τα υψηλά επίπεδα ελεύθερων ενεργών ριζών. Για πολλά χρόνια κυριαρχούσε η πεποίθηση πως η επιβίωση των καρκινικών κυττάρων βασίζεται στην ενεργοποίηση ενός ογκογονιδίου ή την απενεργοποίηση ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου. Αυτός ο κεντρικός ρόλος των ογκογονιδίων και των ογκοκατασταλτικών γονιδίων στην κακοήγη μεταμόρφωση των κυττάρων οδήγησε στην ανάπτυξη φαρμάκων που στοχεύουν αυτά τα γονίδια. Τα τελευταία χρόνια βρέθηκαν θεμελιώδεις μηχανισμοί που εξασφαλίζουν την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων, όπως η αποφυγή του ανοσοποιητικού ελέγχου, η ανοχή στη χρωμοσωμική

αστάθεια και η προσαρμογή του μεταβολισμού, που παρέχουν στα καρκινικά κύτταρα προμήθεια ενέργειας και μηχανισμό άμυνας απέναντι σε κυτταρικές καταστάσεις stress (402).

Η στόχευση αυτών των μονοπατιών επιβίωσης του καρκίνου θα μπορούσε να αποτελέσει αποτελεσματική στρατηγική για την εξουδετέρωση των καρκινικών κυττάρων και την προστασία των φυσιολογικών. Όσον αφορά στον κυτταρικό μεταβολισμό, τα καρκινικά κύτταρα προσαρμόζονται σε ανισόρροπα επίπεδα οξειδοαναγωγής που προκαλούνται από τη γρήγορη ανάπτυξή τους, τον περιορισμό οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών, αναπτύσσοντας εναλλακτικές μεταβολικές αντιδράσεις που τα καθιστούν μη ευαίσθητα σε επαγωγείς stress όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοβολία. Κατανοώντας σε βάθος τους κυτταρικούς αισθητήρες και τροποποιητές του οξειδωτικού stress θα μπορούσε να αναπτυχθεί μια νέα θεραπευτική στρατηγική έναντι στον καρκίνο (403).

Αντιοξειδωτικά

Τα αντιοξειδωτικά (antioxidants), είναι χημικά που αλληλεπιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και τις εξουδετερώνουν, παρεμποδίζοντας έτσι τη δημιουργία βλαβών. Για το λόγο αυτό τους αποδόθηκε η ονομασία “καθαριστές” ελεύθερων ριζών.

Ο οργανισμός παράγει κάποια από τα αντιοξειδωτικά που εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες. Αυτά καλούνται ενδογενή αντιοξειδωτικά. Υπάρχουν ωστόσο και απαραίτητα εξωγενή αντιοξειδωτικά, τα λεγόμενα “αντιοξειδωτικά διαίτας”. Τα φρούτα, τα λαχανικά και τα σιτηρά είναι πηγές πλούσιες σε “αντιοξειδωτικά διαίτας”. Κάποια “αντιοξειδωτικά διαίτας” είναι επίσης διαθέσιμα και υπό τη μορφή διαιτητικών συμπληρωμάτων (335). Το αμυντικό αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού μπορεί να τροποποιηθεί με διαιτητικά μέσα. Για την εξισορρόπηση της οξειδωτικής καταστροφής και της αντιοξειδωτικής άμυνας έναν τρόπο θα μπορούσε να αποτελέσει η βελτίωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη βελτιστοποίηση της διαιτητικής πρόσληψης αντιοξειδωτικών. Μια διαφορετική προσέγγιση αποτελεί η εξουδετέρωση των οξειδωτικών συστατικών στη διατροφή. Για τα παραπάνω απαραίτητη προϋπόθεση είναι η γνώση των επιπέδων αντιοξειδωτικών στη διαίτα στα οποία αυτά έχουν προστατευτική δράση, οι διατροφικές πηγές καθώς και το περιεχόμενο και η βιοδιαθεσιμότητα τους. Προστατευτικά αποτελέσματα αντιοξειδωτικών έχουν βρεθεί σε μηχανιστικές μελέτες *in vitro and in vivo*, επιδημιολογικές μελέτες και μελέτες παρέμβασης. Θα πρέπει ωστόσο να λάβουμε υπόψη τη συνολική απόδειξη από τη βασική επιστήμη, την επιδημιολογία και μελέτες παρέμβασης από τη μεμονωμένη απόδειξη ενός τύπου μελέτης.

Σε μελέτες εργαστηρίου και σε ζώα, η παρουσία αυξημένων επιπέδων εξωγενών αντιοξειδωτικών παρατηρήθηκε πως προλαμβάνει τους τύπους καταστροφής από ελεύθερες ρίζες που έχουν συσχετιστεί με την εξέλιξη του καρκίνου.

Κατά συνέπεια οι ερευνητές επιχειρούν να διερευνήσουν κατά πόσο η αύξηση πρόσληψης διαιτητικών αντιοξειδωτικών, είτε μέσω της δίαιτας είτε μέσω συμπληρωμάτων μπορεί να βοηθήσει στην μείωση του κινδύνου ανάπτυξης και θνησιμότητας από καρκίνο. Υπάρχουν τόσο *In vitro* όσο και *in vivo* έρευνες για να υποστηρίξουν τον προληπτικό ρόλο των αντιοξειδωτικών συστατικών στον CRC ωστόσο επιδημιολογικές μελέτες σε ανθρώπους έχουν αμφιλεγόμενα αποτελέσματα.

Αντιοξειδωτικά δίαιτας

Τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με τον μηχανισμό δράσης τους κατατάσσονται σε κατηγορίες, τα πρωτοταγή: φαινόλες, τοκοφερόλες, δεσμευτές οξυγόνου: ασκορβικό οξύ και οι εστέρες του, δεσμευτές μετάλλου: κιτρικό οξύ, ταρταρικό οξύ, EDTA, σε αποσβέστες διεγερμένου οξυγόνου: β-καροτένια, τοκοφερόλες, σε αναγωγικά που αναγεννούν τα φαινολικά αντιοξειδωτικά, σε ένζυμα και πρωτεΐνες: υπεροξειδάση ή αναγωγή της γλουταθειόνης, καταλάση, υπεροξειδική δισμουτάση και σε πολλαπλής δράσης: φωσφολιπίδια.

Πηγές διαιτητικών αντιοξειδωτικών.

Υπάρχουν τόσο θρεπτικά όσο και μη θρεπτικά αντιοξειδωτικά. Ορισμένα παραδείγματα θρεπτικών αντιοξειδωτικών δίαιτας αποτελούν το β-καροτένιο, το λυκοπένιο, οι βιταμίνες A,C και E (α-τοκοφερόλη) και το στοιχείο σελήνιο.

Σελήνιο στην καρκινική πρόληψη

Το σελήνιο συχνά θεωρείται ως διαιτητικό αντιοξειδωτικό όμως τα αντιοξειδωτικά αποτελέσματα του οφείλονται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των πρωτεϊνών που έχουν το στοιχείο αυτό ως κύριο συστατικό τους, τις σεληνοπρωτεΐνες και όχι στο ίδιο το στοιχείο (340, 341). Το σελήνιο βρίσκεται στο έδαφος, συγκεντρώνεται στα φυτά και, κατ' αυτόν τον τρόπο, περνάει στην τροφική αλυσίδα. Το σελήνιο βρίσκεται στα περισσότερα τρόφιμα. Πολύ καλές πηγές σεληνίου αποτελούν τα καρύδια (κυρίως τα καρύδια Βραζιλίας), τα ψάρια, τα θαλασσινά, τα εντόσθια (νεφρά και συκώτι) και το κρέας. Τα δημητριακά, τα λαχανικά και άλλα φυτά περιέχουν σελήνιο, αλλά η ποσότητα που περιέχουν ποικίλλει ανάλογα με το έδαφος στο οποίο μεγαλώνουν. Το ευρωπαϊκό έδαφος είναι

σχετικά φτωχό σε σελήνιο σε σχέση με άλλες χώρες, όπως για παράδειγμα η Αμερική, ο Καναδάς και η Κίνα.

Αποτελεί ένα στοιχείο με μεγάλη σημασία. Είναι το μοναδικό στοιχείο που εντοπίζεται στο γενετικό κώδικα ως σεληνοκυστεΐνη, (το 21ο αμινοξύ), το οποίο όταν ενσωματώνεται σε σεληνοπρωτεΐνες, προστατεύει τους ιστούς και τις μεμβράνες από το οξειδωτικό stress και ελέγχει την οξειδοαναγωγική κατάσταση των κυττάρων (342).

Η σεληνοκυστεΐνη είναι σημαντικά διαφορετική από τα άλλα 20 αμινοξέα στον τρόπο της ενσωμάτωσής της και τα βασικά βιοσυνθετικά της μονοπάτια (343). Το αν οι σεληνοπρωτεΐνες είναι σημαντικές σε αντικαρκινικά αποτελέσματα απαιτεί κατανόηση του βιοσυνθετικού μηχανισμού τους και της λειτουργίας μερικών σεληνοπρωτεϊνών που έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να σχετίζονται με τον καρκίνο. Το ανθρώπινο σεληνοπρωτέωμα αποτελείται από 25 σεληνοπρωτεΐνες. Γενικότερα συμμετέχουν σε αντιοξειδωτικές και αναβολικές διαδικασίες (343). Οι σχετικές με τον καρκίνο σεληνοπρωτεΐνες ανήκουν στις οικογένειες των υπεροξειδασών γλουταθειόνης (GPx), των σεληνοπρωτεϊνών 15kDa (Sep15), P και ρεδουκτασών θυρεοδοξίνης, παρόλο που ο ρόλος των τελευταίων στον καρκίνο αμφισβητείται. Απόδειξη πως το Se δρα ως μέσο πρόληψης για τον καρκίνο έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές (344, 345, 346). Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν *in vitro*, σε ζώα και ήταν προοπτικές μελέτες και μελέτες παρέμβασεις με Se. Από το 1960s γεωγραφικές μελέτες έδειξαν την τάση οι πληθυσμοί με χαμηλή πρόσληψη Se να έχουν υψηλότερους βαθμούς θνησιμότητας (347, 348, 349). Όσον αφορά τον CRC οι απόψεις για την επίδραση του Se στην εξέλιξη του CRC είναι αμφιλεγόμενες. Δεδομένα από τη μελέτη παρέμβασης “Διαιτητική πρόληψη του καρκίνου (NPC)”(349, 350) και από μελέτες case-control και κοορτής (351, 352) φαίνεται πως χαμηλά επίπεδα πρόσληψης Se σχετίζονται με υψηλότερο κίνδυνο CRC. Μια μελέτη παρέμβασης αναμεσα σε άντρες, η “Δοκιμή πρόληψης του καρκίνου με Se και βιταμίνη E-SELECT” (353) και μια προοπτική μελέτη κοορτής ανάμεσα σε γυναίκες “Women’s Health Initiative, WHI” (354) δεν έδειξε καμία συσχέτιση. Τυχαιοποιημένη μελέτη όπου χορηγούνταν διαιτητικά αντιοξειδωτικά μέσα στα οποία περιλαμβανόταν το Se έδειξε σημαντικό προστατευτικό αποτέλεσμα στην υποτροπή (355). Όσον αφορά στο θέμα της υποτροπής άλλες μελέτες στις οποίες χορηγήθηκε μόνο Se ερεύνησαν τη συσχέτιση των επιπέδων Se και της υποτροπής. Στην πρώτη δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση (356), η δεύτερη παρατήρησε σημαντική ανάστροφη συσχέτιση και (357) η τρίτη παρατήρησε μειωμένο κίνδυνο στους καπνιστές μόνο (358). Στη μελέτη NPC, η χορήγηση Se είχε σημαντική επίπτωση σε εθελοντές με αρχικά επίπεδα Se πλάσματος <106 mg/L ενώ στις μελέτες SELECT και WHI περιλήφθηκαν λίγοι εθελοντές με επίπεδα σε αυτό το εύρος. Οι διαφορές στο εύρος του αρχικού επιπέδου Se (19) και οι διαφορές στον κίνδυνο για CRC με βάση το φύλο (12,18,20) αποτελούν πιθανές ερμηνείες για τα

αμφιλεγόμενα αυτά αποτελέσματα. Διαφαίνεται από τις μελέτες πως υπάρχει μεγαλύτερος κίνδυνος να νοσήσουν άτομα σε πληθυσμούς με χαμηλότερα επίπεδα Se (5,6). Όσον αφορά στο φύλο οι διαφοροποιήσεις είναι πιθανές λόγω διαφορών στο μεταβολισμό, την έκκριση και την αλληλεπίδραση του Se με άλλους παράγοντες όπως το κάπνισμα και το αλκοόλ (21–24). Για την Ευρώπη δεν υπάρχουν επιδημιολογικά δεδομένα διαθέσιμα και ισχυρά για την συσχέτιση των επιπέδων Se με τον κίνδυνο για CRC. Τα υπάρχοντα δεδομένα περιορίζονται από την έλλειψη ισχυρών δεικτών επιπέδων του Se ή μελέτες με μικρό αριθμό συμμετεχόντων.

Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ)

Η βιταμίνη C αποτελεί ένα σημαντικό θρεπτικό στοιχείο που πιθανά προστατεύει απέναντι στον καρκίνο μέσα από πολλούς μηχανισμούς, το ρόλο της στην επαγωγή σχηματισμού κολλαγόνου και την αναστολή σχηματισμού N-nitroso συμπλόκων στο στομάχι. Η βιταμίνη C είναι το πιο άφθονο υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό στο σώμα. Μαζί με τα καροτενοειδή διαφαίνεται πως έχει ευεργετικά αποτελέσματα στη λειτουργία του ανοσοποιητικού μειώνοντας τον κίνδυνο καρκίνου αυξάνοντας τον έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος. Η βιταμίνη C, βρίσκεται συνήθως στην ανηγμένη της μορφή, το ασκορβικό και δρα ως αναγωγικό και συμπαραάγοντας ενζύμου. Σε συγκεντρώσεις 1-3 mM μείωσε τον πολλαπλασιασμό των RKO και SW480 καρκινικών CRC κυττάρων και οδήγησε σε επαγωγή απόπτωσης και νέκρωσης και αυτό συνοδεύτηκε από υποέκφραση ειδικών πρωτεϊνικών παραγόντων (359). Στην ίδια μελέτη βρέθηκε πως μείωσε την έκφραση διάφορων Sp-ρυθμιζόμενων γονιδίων που εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση καρκινικών κυττάρων, όσο και την έκφραση του EGFR και της cyc D1 και είχε επίδραση στην αγγειογένεση. Σε κύτταρα HT 16, vitamin C αύξησε σημαντικά την απόπτωση μέσα από την υπερέκφραση της p53 σε σύγκριση με κύτταρα που δεν είχαν υποστεί επίδραση (360). DMH(Dimethylhydrazine)-επαγόμενα ποντίκια που τους χορηγήθηκε 0.25 ή 1% βιταμίνη C είχαν χαμηλότερη επίπτωση CRC σε σύγκριση με τα control (361). Άλλες μελέτες έδειξαν πως η βιταμίνη C μόνη ή σε συνδυασμό με καροτένιο, vitamin A, vitamin E και σελήνιο δεν παρουσίασε κάποια αλλαγή στον επιπολασμό ή τη θνησιμότητα οπότε η δράση της παραμένει αμφιλεγόμενη (362).

Η βιταμίνη E

Ο όρος βιταμίνη E είναι ένας γενικός όρος που περιγράφει μια ομάδα λιποδιαλυτών βιταμινών που περιλαμβάνει οκτώ δομικά παρόμοιες χημικές ενώσεις, που ομαδοποιούνται σε δύο κατηγορίες, τις τοκοφερόλες: 4 τοκοφερόλες (α-, β-, γ-, δ-) και τις τοκοτριενόλες: 4 τοκοτριενόλες (α-, β-, γ-, δ-). Πηγές βιταμίνης E αποτελούν οι ξηροί καρποί, τα πράσινα φυτά, τα φυτικά έλαια και οι σπόροι δημητριακών. Η βιταμίνη E είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη που αποθηκεύεται σε πολλούς ιστούς,

με κυριότερο το λιπώδη ιστό (363).

Η πρωταρχική μορφή της βιταμίνης E είναι η α-τοκοφερόλη. Βρίσκεται στο πλάσμα, τα ερυθροκύτταρα και το ήπαρ. Είναι η πιο μελετημένη μορφή σε κλινικές και βιοχημικές μελέτες. Η γ-τοκοφερόλη είναι η πιο άφθονη μορφή στη διατροφή των βορειοαμερικανών (364), ωστόσο της δόθηκε λίγη προσοχή από την ανακάλυψη της vitamin E το 1922 πιθανώς λόγω της χαμηλής βιοδιαθεσιμότητας και βιοενεργότητας της σε μοντέλα ζώων που αξιολογούν τη βιοενεργότητα της βιταμίνης E (365). Η κύρια λειτουργία της είναι η διατήρηση της ακεραιότητας των μεμβρανών. Επιπρόσθετα παρουσιάζει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση.

Δρα ως εξουδετερωτής των ROS με το να αντιδρά μαζί τους και να τα μετατρέπει σε ρίζες τοκοφερόλης (366), ελαττώνοντας έτσι τις καταστροφικές τους ιδιότητες. Η βιταμίνη E αποτελεί μόνο ένα κομμάτι της προστασίας της εναντίον της οξειδωτικής καταστροφής των ιστών. Επιπρόσθετες ουσίες, κομμάτι του προστατευτικού συστήματος, είναι η γλουταθειόνη, η βιταμίνη C, τα καροτενοειδή και ένζυμα που χρειάζονται για τη δράση τους μια ποικιλία από συστατικά, όπως σίδηρο, χαλκό, σελήνιο, ψευδάργυρο και μαγνήσιο. Γι' αυτό το λόγο εξαρτώνται μεταξύ τους η βιταμίνη E, η βιταμίνη C, τα ανόργανα συστατικά και τα καροτενοειδή για να φέρουν σε πέρας τις απαραίτητες λειτουργίες τους στο οργανισμό. Η βιταμίνη E με τη βιταμίνη C συνεργάζονται για την αναστολή της οξείδωσης. Ο πιθανός ρόλος της βιταμίνης E στην πρόληψη του καρκίνου έχει αποτελέσει το θέμα σε πολλές μελέτες (366, 367). Αντιοξειδωτικά όπως η βιταμίνη E μπορεί να προλαμβάνουν τον CRC μέσω διαφορετικών μοριακών μηχανισμών. Πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη του CRC είναι η μείωση της δημιουργίας μεταλλάξεων που προκύπτουν από την οξείδωση των λιπιδίων στο παχύ έντερο, η μείωση του οξειδωτικού stress στα επιθηλιακά κύτταρα του παχέως εντέρου καθώς και μοριακοί μηχανισμοί που επηρεάζουν τον κυτταρικό θάνατο, τον κυτταρικό κύκλο και μεταγραφικά γεγονότα. Μπορεί να εμποδίσει το σχηματισμό καρκινογόνων νιτροζαμινών που σχηματίζονται στο στομάχι από τα νιτρώδη άλατα που βρίσκονται στα τρόφιμα (368) και να ενισχύσει τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Από μελέτες υπάρχουν ενδείξεις που υποδεικνύουν πως η γ-τοκοφερόλη μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικός παράγοντας στην πρόληψη του καρκίνου συγκριτικά με την α-τοκοφερόλη. Οι διαφορές τους στη χημική δραστικότητα, το μεταβολισμό, και τη βιολογική δραστικότητα μπορεί να συνεισφέρουν στη διαφορά αποτελεσματικότητας. Η διαφορετική χημική και στερεοχημική μορφή των διαφορετικών μορφών της βιταμίνης έχει διαφορετικούς μηχανισμούς για την πρόληψη των νεοπλασιών. Προσλαμβανόμενη από το στόμα δεν επηρεάζει τα επίπεδα των μεταλαξογόνων παραγόντων που δημιουργούνται κατά την αποθήκευση ή το μεγύρεμα. Αφού έχει απορροφηθεί στο πλάσμα και τους ιστούς του εντέρου θα μπορούσε να αναστείλει τη διαμόρφωση

ενδογενών ελεύθερων ριζών και καρκινογόνων όπως και βλαβών από την λοίμωξη.

Ενδείξεις για την προστατευτική δράση των τοκοφερολών είναι οι παρακάτω:

Επιδημιολογικές μελέτες που δείχνουν αντίστροφη σχέση ανάμεσα στα επίπεδα βιταμίνης E του ορού και τη συχνότητα εμφάνισης νεοπλασιών σε διάφορα σημεία

Πειραματικά και προκλινικά καρκινικά μοντέλα που δείχνουν αντικαρκινικές ιδιότητες

Η πρόσφατη κατανόηση των μηχανισμών δράσης τοκοφερολών σε καρκινικά μοντέλα.

Παρόλα αυτά υπάρχουν αμφιλεγόμενες επιδημιολογικές και πειραματικές μελέτες που δεν αποδίδουν προστατευτικό ρόλο στη βιταμίνη E.

Μεταβολισμός βιταμίνης E

Η βιταμίνη E που προσλαμβάνεται από την τροφή απορροφάται από το έντερο, εκκρίνεται στα χυλομικρά και προσλαμβάνεται ταχύτατα από το ήπαρ. Έπειτα μεταφέρεται σε νεοσυντιθέμενες λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία. Υπάρχει μια ηπατική πρωτεΐνη μεταφορέας (α-TTP) που μεταφέρει την α-τοκοφερόλη αλλά όχι την γ-τοκοφερόλη στα VLDL. Έτσι η πρώτη κυριαρχεί στο πλάσμα. Στους ανθρώπους είναι πιθανό η γ-τοκοφερόλη έχει σημαντική συνεισφορά στον αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό του παχέος εντέρου καθώς η διαιτητική πρόσληψη γ-τοκοφερόλης είναι περίπου 3 φορές υψηλότερη από αυτή της α-τοκοφερόλης. Τα επίπεδα της στο φαγητό επίσης μπορούν να επηρεάσουν επίπεδα της α-τοκοφερόλης. Οι πιο κοινές πηγές γ-τοκοφερόλης είναι τα φυτικά έλαια, το καλαμπόκι, η σόγια, το σησάμι, τα έλαια λαχανικών και οι ξηροί καρποί. Τα επίπεδα πλάσματος της α-τοκοφερόλης όπως προαναφέρθηκε είναι αρκετές φορές μεγαλύτερα σε σχέση με αυτά της γ-τοκοφερόλης και χορήγηση συμπληρώματος της α-τοκοφερόλης αυξάνει κατά πολύ τα επίπεδα πλάσματος της αλλά μειώνει ταυτόχρονα τα επίπεδα της γ-τοκοφερόλης.

Μηχανισμοί δράσης τοκοφερολών

Οι διαφορετικές μορφές της βιταμίνης E μπορεί να έχουν διαφορετική δραστηριότητα με κάποιες να είναι πιο αποτελεσματικές από άλλες.

Απόπτωση

Κάποιες μορφές βιταμίνης E πιθανώς να προκαλούν απόπτωση στις καρκινικές κυτταρικές σειρές του CRC (369,370). Το α-Tocopheryl succinate είναι ένα μη ενεργό ανάλογο της βιταμίνης E και είναι προαποπτωτικό στα καρκινικά κύτταρα. Μπορεί να συνεργαστεί με παράγοντες νέκρωσης όγκου (TRAIL) και να καταστείλει την αύξηση του όγκου *in vivo*. Δείχνουν πως η γ-τοκοφερόλη όμως όχι η α-τοκοφερόλη, προάγει την απόπτωση σε μη φυσιολογικά κύτταρα και αυτό θα ήταν

σημαντικό για την εφαρμογή σε θεραπεία.

Επιδράσεις σε ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Η γ-τοκοφερόλη αλλά όχι η α-τοκοφερόλη ρυθμίζει αρνητικά την έκφραση του ras-P21 γονιδίου σε ένα μοντέλο σε αρουραίο (371). Αυτό προτείνει μηχανισμό προστατευτικής δράσης της γ-τοκοφερόλης. Μεταλλάξεις του γονιδίου Ras είναι αρχικό γεγονός στον CRC (372, 373). Οι πρωτεΐνες Ras συμμετέχουν στο μονοπάτι Ras/Raf/Mek/ Erk/MapK. Το μονοπάτι αυτό συμμετέχει σε κυτταρική απόκριση σε σήματα αύξησης.

Αποτελέσματα στον κυτταρικό κύκλο

Η γ-τοκοφερόλη καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του CRC πιο αποτελεσματικά από την α- (374). Η γ-τοκοφερόλη εμποδίζει μέσω μείωσης κυκλίνης D1 και E την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου.

Επιπτώσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα

Προβλήματα στο ανοσοποιητικό σύστημα συνδέονται άρρηκτα με τη διαδικασία της καρκινογένεσης. Η ανεπάρκεια βιταμίνης E είναι γνωστό πως προκαλεί δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Η βιταμίνη E συμβάλλει στην επιδιόρθωση βλαβών συνδεόμενων με την ηλικία, προστασία των T βοηθητικών λεμφοκυττάρων από τη CD-95 διαμεσολαβούμενη απόπτωση και αύξηση του αριθμού των περιφεριακών T βοηθητικών λεμφοκυττάρων αίματος (375, 376, 377).

Βρέθηκε πως δρα ως αντικαρκινικό φάρμακο είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με τη ραδιοθεραπεία ή την χημειοθεραπεία. Η βιταμίνη E δρα σε συνεργεια με το σελήνιο παρεμποδίζει την τροποποίηση των κυττάρων από την ακτινοβολία προτείνοντας την χρήση της για την προστασία των φυσιολογικών κυττάρων στις πιθανές παρενέργειες της ραδιοθεραπείας. Η βιταμίνη E (α-tocopherol succinate), μόνη της ή σε συνδυασμό με γ-ακτινοβολίες, οδηγεί επιλεκτικά σε αναστολή μίτωσης στα καρκινικά κύτταρα έχοντας ως αποτέλεσμα αναστολή της ανάπτυξής τους. Μια θεραπεία που περιείχε βιταμίνες E και C οδηγούσε σε απόπτωση σε ανθρώπινα μη φυσιολογικά ενδοθηλιακά κύτταρα πιο αποτελεσματικά από ότι αν χορηγούνταν καθεμία μονη της οπότε υπάρχουν ενδείξεις για συνεργιστική δράση. Η βιταμίνη E οδηγούσε σε απόπτωση σε καρκίνο του μαστού, προστάτη, λευχαιμία και γλοιοβλάστωμα. Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ζώα, βιταμίνη E που χορηγούνταν από το στόμα ή σε ενέσιμη μορφή, σε δόση 50-mg/kg, μια εβδομάδα πριν από την ακτινοβολήση ενίσχυε σημαντικά την επίδραση της ακτινοβολίας στη μείωση του όγκου των αρουραίων. Υψηλότερη δόση δεν καθιστούσε τον όγκο ούτε περισσότερο ευαίσθητο

ούτε περισσότερο ανθεκτικό. Το αποτέλεσμα αυτό υποδηλώνει την πολυπλοκότητα των αποτελεσμάτων της βιταμίνης E 38 *in vivo* με το να τροποποιεί την απόκριση του όγκου ανάλογα με τη χορηγούμενη θεραπεία.

Στον CRC η βιταμίνη E φάνηκε να ανασταλτική δράση και να περιορίζει τη μετάσταση στο συκώτι σε ποντίκια σε μερικές περιπτώσεις κατά 75%. Η βιταμίνη E προωθούσε την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και ανέστειλε την κυτταρική διάιρεση *in vivo*. Οι αντιοξειδωτικές βιταμίνες E, C και το σελήνιο μπορεί να έχουν δυνατότητες στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των αντικαρκινικών θεραπειών και επιπρόσθετα μπορούν να προστατεύσουν από τις παρενέργειες τους φυσιολογικούς ιστούς που επηρεάζονται από τη θεραπεία.

Αποτελέσματα από τη μελέτη “Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study-ATBC” σε 29000 άνδρες καπνιστές φάνηκε πως ημερήσια χορήγηση 50 mg α-tocopheryl μείωσε τη θνησιμότητα από CRC. Σε μια άλλη μελέτη, την μελέτη πρόληψης πολυπόδων δεν έδειξε κανένα αποτέλεσμα από την παρέμβαση με βιταμίνη E στην ελάττωση των πολυπόδων του εντέρου.

Μελέτη έδειξε πως χορήγηση 400 mg βιταμίνης C και 400 mg α-τοκοφερόλη απέτυχε να αποδείξει μείωση στην υποτροπή των αδενωμάτων παχέος εντέρου. Τα αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών που συσχετίζουν τη βιταμίνη E με τον CRC είναι αντιφατικά. Μια μεταανάλυση, έδειξε πως υψηλά επίπεδα πλάσματος τοκοφερόλης σχετίζονται με μέτρια μείωση στον παχέος εντέρου. Η μελέτη “Iowa Women’s Health Study”, έδειξε πως υψηλή πρόσληψη βιταμίνης E σχετίστηκε με μειωμένη επίπτωση CRC (385). Πολλές γυναίκες λάμβαναν συμπληρώματα ωστόσο η χημική τους μορφή δεν είχε προσδιοριστεί. Οι Ingles et al. έλεγξαν συγκεντρώσεις α- και γ- τοκοφερόλης πλάσματος σε 332 άτομα με αδενώματα παχέος εντέρου 363 control. Βρέθηκε πως αυξανόμενη α-τοκοφερόλη πλάσματος και μειούμενη γ- τοκοφερόλη πλάσματος σχετιζόταν με μειωμένη εμφάνιση μεγάλων αλλά όχι μικρών (B/1 cm) αδενωμάτων. Οι κλινικές μελέτες για την πιθανή χρησιμότητα της βιταμίνης E είναι λίγες και περιορισμένες σε έκταση (380-388).

Στα μη θρεπτικά αντιοξειδωτικά, τα φυτοχημικά περιλαμβάνονται τα καροτενοειδή, η χλωροφύλλη και χλωροφυλλίνη, η κουρκουμίνη, οι Φυτικές ίνες, τα Φλαβονοειδή, τα Φυτοχημικά του σκόρδου, οι Ισοθειοκυανάτες, οι Φυτοστερόλες και η Ρεσβερατρόλη

Φλαβονοειδή

Πηγές φλαβονοειδών αποτελούν το τσάι, το κόκκινο κρασί, τα κρεμμύδια και τα μήλα. Θεωρούνται αντιοξειδωτικά και αποτρέπουν την καταστροφή από ελεύθερες ενεργές ρίζες από ακτινοβολία και χημειοθεραπευτικούς παράγοντες σε πειραματικά συστήματα. Τα φυτοχημικά αυτά προάγουν την απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα και μπορεί να έχουν ρόλο στη βοηθητική καρκινική θεραπεία προστατεύοντας τα φυσιολογικά κύτταρα από έντονα και μακροπρόθεσμα αποτελέσματα των ROS που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια τη θεραπείας.

Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι μια ομάδα λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών που εντοπίζονται σε φρούτα και λαχανικά (336). Τα καροτενοειδή είναι οι κίτρινες, πορτοκαλί και κόκκινες χρωστικές ουσίες των φυτών. Στην οικογένεια των καροτενοειδών ανήκουν η α-καροτίνη, βήτα-καροτίνη, βήτα-κρυπτοξανθίνη, το λυκοπένιο, η λουτεΐνη, η ζεαξανθίνη, η κασταξανθίνη.

Το 10% μετατρέπεται σε βιταμίνη Α (retinol) με ενζυματική κοπή στο σώμα. Καθώς η βιταμίνη Α είναι σημαντική για τη φυσιολογική διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυτταρών, τα καροτενοειδή είναι σημαντικά στην πρόληψη του καρκίνου και λόγω της ιδιότητάς τους ως προβιταμίνη Α. Επίσης μπορεί να ασκήσουν την αντικαρκινική τους ιδιότητα ως αντιοξειδωτικά στο σώμα (337). Η αποτελεσματικότητα του καροτενίου έχει επιβεβαιωθεί σε διαφορετικά είδη ζώων, σε διαφορετικούς ιστούς και σε διαφορετικά καρκινικά μοντέλα (338, 339). Το Ι3-καροτένιο φαίνεται να έχει προστατευτική δράση σε όγκους του παχέος εντέρου που προκλήθηκε από 1,2-dimethylhydrazine (DMH) σε πονίκια. Μελέτες σε ζώα έχουν δείξει την εφαρμοσιμότητα του αντικαρκινικού ρόλου του καροτενίου. Ωστόσο φαίνεται πως είναι ευαίσθητο σε συνθήκες πειράματος. Έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Πολλές επιδημιολογικές έρευνες έδειξαν ότι η υψηλή πρόσληψη λυκοπενίου από την ντομάτα και τα προϊόντα της, συνδέθηκε με μειωμένη συχνότητα εμφάνισης όγκων μέσω καταστολής της Akt και της μη φωσφορυλίωσης της β-κατενίνης σε pHT-29 cells. Η ενεργοποίηση Akt και β-κατενίνης ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επιβίωση, την κυτταρική αύξηση, το μεταβολισμό της γλυκόζης, την κυτταρική μετανάστευση και την αγγειογένεση (390, 391). Η Quercetin φλαβονοειδής ή χορήγηση β-καροτενίου μείωσε τον αριθμό σχηματισμών ACF (392). Η ασταξανθίνη ένα άλλο καροτενοειδές εμφανίζει αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές δράσεις με την επαγωγή της απόπτωσης σε DMH επαγόμενη καρκινογένεση παχέος εντέρου σε αρουραίους (393).

Τα καροτενοειδή αφομοιώνονται καλύτερα με τη παρουσία λιπαρών στο γεύμα. Διάφορα καροτενοειδή έχουν αντικαρκινικές επιπτώσεις σε κάποιους τύπους καρκίνου *in vitro* αλλά αυτά τα αποτελέσματα δεν υποστηρίζονται από ανθρώπινες κλινικές μελέτες (394). Παρατηρήθηκε πως

κατέστειλλαν την βιωσιμότητα των κυττάρων, τη σύνθεση DNA, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και έτσι επέδειξαν ανασταλτικά αποτελέσματα στην αύξηση σε δύο ανθρώπινες κυτταρικές σειρές του παχέος εντέρου (395).

Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες είναι άφθονες σε φυτικά τρόφιμα και έχουν σημαντική ανάστροφη συσχέτιση με τον CRC. Μια μελέτη case control υποδηλώνει πως ο κίνδυνος CRC έχει ανάστροφη συσχέτιση με τον ημερήσιο αριθμό των μερίδων μήλων που αποτελούν μια πλούσια πηγή φλαβονοειδών. Συγκεκριμένα η πιο σημαντική μείωση παρατηρούνταν όταν η πρόσληψη ήταν 1 ή περισσότερες μερίδες σερβιρίσματος καθημερινά. Τα φαινολικά συστατικά προστατεύουν έναντι στον μέσα από επαγωγή της κυτταρικής διαφοροποίησης, αναστολή του αρχέγονου σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt και μείωση της οξειδωτικής καταστροφής.

Κουρκουμίνη

Πηγή της κουρκουμίνης αποτελεί ο κουρκουμάς, ένα μπαχαρικό που ανήκει στην οικογένεια των ginger. Τα κουρκουμινοειδή είναι πολυφαινόλες και σε αυτές οφείλεται το κίτρινο χρώμα. Η κιτρινή χρωστική στην κουρκούμη αποτελεί πιθανό αντιοξειδωτικό και χρησιμοποιείται ευρέως στις ασιατικές χώρες. Επιδημιολογικές έρευνες απέδωσαν τη χαμηλή συχνότητα του CRC στις χώρες αυτές στην υψηλή κατανάλωση της κουρκουμίνης. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν πως επάγει την απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα στον CRC μέσω καταστολής της Bcl-2.

Σε κλινικές μελέτες ασθενών με CRC, φάνηκε μία θετική συσχέτιση της κουρκουμίνης με προστατευτική δράση. Η ικανότητα της κουρκουμίνης να επάγεται την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων σε συνδυασμό με τη χαμηλή τοξικότητα έχει προκαλέσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων για τη πιθανή χρήση της στη θεραπεία αλλά και την πρόληψη του καρκίνου. Σχετικά δεδομένα έδειξαν ότι η στοματική λήψη κουρκουμίνης πιθανώς να συμβάλλει στην θεραπεία του καρκίνου του πεπτικού συστήματος.

Silibinin

Έχει ισχυρή αντιοξειδωτική ιδιότητα και αποτελεί προϊόν του γαϊδουράγκαθου. Όπως και τα προηγούμενα προάγει την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων.

Resveratrol

Το Resveratrol, (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene) είναι ένα πολυφαινολικό φυτοχημικό που περιέχεται στα σταφύλια, τα φυστίκια και τα mulberries, και έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον σε

πειραματικά μοντέλα ως σημαντικό για την υγεία υποκατάστατο λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων και της αντικαρκινικής του δράσης. Φαίνεται πως εμποδίζει τους όγκους σε μια ποικιλία ιστών στόχων σε προκλινικά μοντέλα κυρίως στο παχύ έντερο (396). Ένας από τους μηχανισμούς με τους οποίους πιτυγχάνεται το παραπάνω είναι μέσω απόπτωσης μέσω ελέγχου της προαποπτωτικής πρωτεΐνης 60Bax και ενεργοποίηση των αποπτωτικών κασπασών, αναστολής του πολλαπλασιασμού των προνεοπλασματικών κυττάρων και αναστολή αύξησης. Οι συνιστώμενες δόσεις που οδηγούν σε επιτυχές αποτέλεσμα είναι 0.5 – 1.0g. (397-400).

Καφές και τσάι

Ο καφές και το τσάι δεν αυξάνουν τον κίνδυνο για καρκίνο. Στην πραγματικότητα, λαμβάνοντας κανείς συχνά πράσινο τσάι καθώς και άλλες πηγές πολυφαινόλων, μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στομάχου. Επιπλέον, η συχνή κατανάλωση του καφέ έχει συσχετισθεί με μειωμένο κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου του ήπατος, νεφρών, και σε μικρότερο βαθμό, καρκίνου του μαστού πριν την εμμηνόπαυση και του παχέος εντέρου.

Πιθανόν η προστατευτική του δράση να οφείλεται στην περιεκτικότητά του σε ποικίλα βιολογικά συστατικά όπως είναι η καφεΐνη, τα διτερπένια, το καφεϊκό οξύ και οι πολυφαινόλες. Όμως, η κατανάλωση πολύ ζεστών ροφημάτων έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο οισοφάγου.

Το πράσινο τσάι είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικά και καταναλώνεται σε μεγάλες ποσότητες σε ασιατικές χώρες. Λόγω της προστατευτικής του δράσης απέναντι στα ROS οι παθολογικές καταστάσεις σε πληθυσμούς της Ασίας που σχετίζονται με ROS εμφανίζονται σε πολύ μικρό βαθμό. Το εκχύλισμα του και πιο συγκεκριμένα το πιο σημαντικό συστατικό του, η epigallocatechin-3 gallate (EGCG), παρεμποδίζει την απόπτωση στα φυσιολογικά κύτταρα που εκτίθενται σε παράγοντες που την προάγουν και οδηγεί σε απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα μέσα από την ενεργοποίηση των κασπασών (401).

Το σκόρδο περιέχει προστατευτικά αντιοξειδωτικά τα οποία βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στο εκχύλισμα όχι του φρέσκου αλλά του μαγαιάτικου σκόρδου (KyoLic) και σε συμπληρώματα τα οποία παρασκευάζονται από οργανικό σκόρδο το οποίο έχει κατεργαστεί με μια διαδικασία εκχύλισης και ωρίμανσης. Το σκόρδο που δεν είναι φρέσκο είναι περισσότερο αποτελεσματικό στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος. Το κυριότερο αντιοξειδωτικό που περιέχεται το σκόρδο είναι η υδατοδιαλυτή S-allylcysteine (SAC). Είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην προστασία κυττάρων από οξειδωτική καταστροφή από ακτινοβολίες και αντικαρκινικά φάρμακα. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν πως το σκόρδο μπορεί να έχει ρόλο ως βοηθητικό και ενισχυτικό στην αντικαρκινική

θεραπεία. Το υδατοδιαλυτό συστατικό, S-allyl mercaptocysteine, μοναδικό στο ώριμο σκόρδο προάγει την απόπτωση στα κύτταρα του CRC. Ενεργοποιεί την κασπάση 3, το ένζυμο-εκτελεστή στην απόπτωση, αναστέλλει την αντιαποπτωτική πρωτεΐνη Bcl-2 και καταστρέφει τους μικροσωληνίσκους στα καρκινικά κύτταρα εμποδίζοντας περαιτέρω αύξηση. Επιπρόσθετα προκλινικές μελέτες έδειξαν πως μπορεί να αμβύνει παρενέργειες από χημειοθεραπευτικούς παράγοντες πχ παρεμποδίζοντας την καρδιοτοξικότητα προκαλούμενη από doxorubicin και methotrexate και την τοξικότητα στο ήπαρ από 5-fluorouracil, προτείνοντας έτσι ένα ρόλο στη θεραπεία του καρκίνου.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο καρκίνος είναι μία από τις σημαντικότερες αιτίες θνησιμότητας και η παγκόσμια συχνότητα εμφάνισής του εξακολουθεί να αυξάνεται. Ο CRC εξελίσσεται αργά μέσα στα χρόνια και περνά από διαφορετικά καλοήθη και κακοήθη στάδια, από απλές βλάβες σε αδενώμα και τέλος σε καρκίνωμα με τη δυνατότητα για εισβολή και μετάσταση (144, 145). Η θεραπεία, η πρόγνωση και η επιβίωση εξαρτώνται από το στάδιο της ασθένειας στη διάγνωση. Η διάγνωση της ασθένειας γίνεται συνήθως αργά. Τα τελευταία χρόνια με την έλευση νέων τεχνολογιών στη μοριακή βιολογία σημειώνεται εντυπωσιακή εξέλιξη των μοριακών τεχνικών συμβάλλοντας στην καλύτερη κατανόηση της συμπεριφοράς της ασθένειας. Το ερευνητικό ενδιαφέρον σχετικά με τον CRC είναι συνεχές και αμείωτο. Παρατηρήθηκε έκρηξη στις έρευνες σχετικά με προγνωστικούς μοριακούς δείκτες του CRC μελετώντας συγκεκριμένα στάδια του καρκίνου. Μερικοί από αυτούς τους δείκτες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να επιλεγούν οι ασθενείς υψηλού κινδύνου, ειδικά οι σταδίου II ασθενείς, που θα μπορούσαν να επωφεληθούν από επικουρική χημειοθεραπεία. Εντούτοις η κλινική πρόβλεψη της επιβίωσης (Clinical prediction of survival CPS) σε ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο παραμένει μία από τις δυσκολότερες προκλήσεις που αντιμετωπίζουν οι κλινικοί Ιατροί. Πολλές από τις αποφάσεις που σχετίζονται με την θεραπευτική προσέγγιση βασίζονται σε εκτιμήσεις επιβίωσης. Καθίσταται επομένως ιδιαίτερης σημασίας η καλύτερη κατανόηση των παραγόντων εκείνων που θα επηρεάσουν και θα καθορίσουν την πρόγνωση στους ασθενείς που πάσχουν από CRC στο νέο πλαίσιο που έχει διαμορφωθεί και με τις νέες χημειοθεραπευτικές προσεγγίσεις. Οι δείκτες πρόβλεψης λοιπόν αποτελούν τη βάση για την εξατομικευμένη θεραπεία.

Τις τελευταίες δεκαετίες διάφοροι δείκτες μελετήθηκαν ωστόσο τα αποτελέσματα των μελετών είναι αμφιλεγόμενα και δεν είναι βέβαιη η αξιοπιστία τους. Οι περισσότερες μελέτες αφορούν ένα δείκτη σε μικρό αριθμό ασθενών οπότε η μειωμένη ακρίβεια και επαναληψιμότητα είναι κάτι αναμενόμενο. Κάποιοι δείκτες έδειξαν υποσχόμενα αποτελέσματα. Σήμερα κανένας μοριακός δείκτης εκτός από το γονίδιο KRAS στην περίπτωση της θεραπείας με αντίσωμα έναντι του EGFR για μεταστατική ασθένεια, δεν έχει καταφέρει να χρησιμοποιηθεί στην κλινική πρακτική. Δυστυχώς οι έρευνες για τους δείκτες δεν λαμβάνουν την ίδια προσοχή όσο αυτές για τη χημειοθεραπεία. Επίσης θα πρέπει να υπάρξει συμφωνία για τον καθορισμό μέτρων της αξιοπιστίας πριν χρησιμοποιηθούν ευρέως κλινικά. Η εύρεση νέων θεραπευτικών παραγόντων και η ανακάλυψη και αξιολόγηση προγνωστικών και παραγόντων πρόβλεψης μαζί με τα σύγχρονα εργαλεία ανίχνευσης θα επιτρέψουν στους ογκολογούς να παράσχουν εξατομικευμένη χημειοθεραπεία με το να μεγιστοποιούν τα αποτελέσματα των φαρμάκων και να ελαχιστοποιούν τις πιθανές παρενέργειες.

Μεγάλος όγκος της έρευνας στρέφεται σε στόχευση miRNAs, μιας μικρής ομάδας RNA που δεν

κωδικοποιούν αλλά συμμετέχουν στην ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων μετα-μεταγραφικά με την καταστολή ή αποδόμηση των m-RNA στόχων τους. Παρατηρείται διαφορετική έκφραση των miRNAs με την εξέλιξη του καρκίνου. Υπάρχει ένα μοντέλο το οποίο υποστηρίζει την δημιουργία όγκων μέσα από αλληλεπιδράσεις microRNA-mRNA. Οι στόχοι m-RNA των miRNAs, εμφανίζονται εμπλουτισμένοι σε μονοπάτια που σχετίζονται με την καρκινογέννεση και σηματοδότηση καρκίνου. Η πιο απλή εξήγηση αυτού του φαινομένου είναι πως τα υπερεκφραζόμενα miRNAs άμεσα ή έμμεσα μειώνουν την έκφραση των πρωτεϊνών καταστολέων του όγκου σε αντίθεση με τα υποεκφραζόμενα miRNAs που μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη έκφραση ογκογονιδίων. Στόχο αποτελεί ο προσδιορισμός των διαφορεικά εκφραζόμενων miRNAs στον όγκο και η στόχευσή τους με anti-miRs, συνθετικές ουσίες χορηγούμενες μέσα σε λιποσώματα που καταστέλλουν την έκφρασή τους. Ζητούμενη είναι η εύρεση τρόπου ειδικής στόχευσης των anti-miRs στο ζητούμενο στόχο-ιστό καθώς τροποποίηση της έκφρασης miRNAs σε κάποιο άλλο ιστό από τον επιθυμητό μπορεί να έχει παρενέργειες και αρνητικά για την υγεία αποτελέσματα. Οι νέες τεχνολογίες μικροσυστοιχίας επιτρέπουν την ταυτόχρονη ανάλυση της λειτουργίας χιλιάδων γονιδίων και του συνόλου των πρωτεϊνών του καρκινικού κυττάρου ανοίγοντας το δρόμο για την περιγραφή και τον καθορισμό των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του εκάστοτε καρκίνου. Οι πιο συχνές θεραπείες για τον καρκίνο περιορίζονται στη χειρουργική επέμβαση, χημειοθεραπεία και ακτινοβοληση. Στις συχνές προκλήσεις που αντιμετωπίζουν οι τρέχουσες θεραπείες του καρκίνου περιλαμβάνονται, η μη ειδική συστηματική κατανομή των αντικαρκινικών παραγόντων, οι ανεπαρκείς συγκεντρώσεις του φαρμάκου που φθάνουν στον όγκο, η περιορισμένη ικανότητα για παρακολούθηση του θεραπευτικού αποτελέσματος. Η αύξηση της εκλεκτικότητας και η βελτίωση της αποτελεσματικότητας της μεταφοράς των χημειοθεραπευτικών είναι οι δύο κύριοι στόχοι αυτή τη στιγμή για την ανάπτυξη θεραπευτικών μέσων. Ιδανικά, ένα θεραπευτικό φάρμακο θα πρέπει να εγχύεται απευθείας και εκλεκτικά στις καρκινικές βλάβες, με ελάχιστη βλάβη των φυσιολογικών ιστών. Τρόπο θα μπορούσε να αποτελέσει η σύζευξη με συνδέτες που εκλεκτικά συνδέονται με αντιγόνα ή υποδοχείς που συνήθως βρίσκονται σε αφθονία ή εκφράζονται μοναδικά στην επιφάνεια των κυττάρων του όγκου. Η νανοτεχνολογία υπόσχεται λύσεις για πολλά από τα τρέχοντα εμπόδια που αντιμετωπίζουν οι θεραπείες του καρκίνου.

Έχει υπολογιστεί πως το 70%-90% από τους θανάτους που προκαλούνται από τον CRC μπορούν να συνδεθούν με τη δίαιτα. Είναι συνεπώς μεγάλο το ενδιαφέρον για τη χρησιμοποίηση διαιτητικής πρόληψης ώστε να μειωθεί η θνησιμότητα. Μεγάλο ενδιαφέρον προσελκύει η κατανάλωση αντιοξειδωτικών.

Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών που είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά μπορεί να βοηθήσει

στην πρόληψη του CRC με την ελαχιστοποίηση των γενοτοξικών αποτελεσμάτων των ROS και των υποπροϊόντων της οξειδωσης των λιπών. Ο ρόλος των ROS στον καρκίνο παραμένει ακόμη αμφιλεγόμενος. Στα καρκινικά κύτταρα υπάρχει υψηλή απαίτηση για ενέργεια με τη μορφή ATP λόγω τους απεριόριστου κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Αυτή η ανεξέλεγκτη παραγωγή ενέργειας έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση ROS, που πρέπει να αντισταθμιστεί από μηχανισμούς εξουδετέρωσης ώστε να διαβεβαιώσει την επιβίωση. Έγιναν προσπάθειες να καθοριστούν και να αξιολογηθούν τα επίπεδα των ROS στα οποία θεωρούνται ογκογονικά ή ογκοκατασταλτικά. Τα χαμηλά έως μέτρια επίπεδα ROS είναι πιθανόν πως συνεισφέρουν στο σχηματισμό του όγκου είτε μέσα απο τη δράση τους ως μόρια σηματοδότησης είτε προωθώντας μεταλλαγή του γενωμικού DNA και συνδέονται με την ανάπτυξη, την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων και την αντιστρέψιμη απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Οι ROS σχετίζονται επίσης με την ανανέωση και διαφοροποίηση των φυσιολογικών βλαστικών κυττάρων. Όσον αφορά στα επίπεδα ROS των κυττάρων αυτών, φαίνεται πως διατηρούνται χαμηλά. Η επέκταση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων (Tumor initiating cells-TICs), είναι θεμελιώδης για τα πρώτα στάδια σχηματισμού του όγκου, και η διατήρηση χαμηλών επιπέδων ROS στα κύτταρα αυτά μπορεί να είναι καθοριστική για την επιβίωση του προνεοπλαστικού τύπου. Παρόλο που θεραπείες όπως η χημειοθεραπεία και η ραδιοθεραπεία — οι οποίες επάγουν την παραγωγή ROS— είναι χρήσιμες για την εξουδετέρωση του κύριου όγκου των καρκινικών κυττάρων, τέτοιες προσεγγίσεις μπορεί να αποτύχουν να θεραπεύσουν έναν ασθενή λόγω της ικανότητας των TICs να επιβιώνουν σε συνθήκες υψηλών επιπέδων ROS αυξάνοντας τα επίπεδα των ενδογενών αντιοξειδωτικών. Κατά συνέπεια τα TICs μπορεί να επιβιώσουν και να ευνοηθούν από θεραπείες που στηρίζονται σε υψηλά επίπεδα ROS. Το επιπλέον οξειδωτικό stress που επάγεται από τις θεραπείες αυτές μπορεί να προκαλέσει επιπλέον καταστροφή DNA και μεταλλάξεις οδηγώντας στην εξέλιξη καρκινικών κυττάρων ανθεκτικών στα φάρμακα.

Σε υψηλά επίπεδα οι ROS προωθούν τον κυτταρικό θάνατο και σοβαρή κυτταρική καταστροφή. Τα καρκινικά κύτταρα είναι απαραίτητο να καταστείλουν τα υψηλά επίπεδα των ROS, ειδικά στα αρχικά στάδια της εξέλιξης του όγκου. Έρευνα έχει δείξει πως συνθήκες που επάγουν το οξειδωτικό stress αυξάνουν την επιλεκτική πίεση των προνεοπλασματικών κυττάρων να αναπτύξουν ισχυρούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Υψηλά επίπεδα ROS επάγονται με αποκόλληση απο την κυτταρική μήτρα. Αυτό αποτελεί πρόκληση για τα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα που πρέπει να επιβιώσουν κατά τη μετανάστευση σε απομακρυσμένα όργανα. Οπότε τα καρκινικά κύτταρα έχουν υψηλή αντιοξειδωτική ιδιότητα που ρυθμίζει τα επίπεδα ROS σε βαθμό που είναι συμβατά με τις βιολογικές κυτταρικές διαδικασίες ωστόσο είναι υψηλότερα συγκριτικά με τα φυσιολογικά κύτταρα

Πιστεύεται πως η στόχευση αυτών των αμυντικών, αντιοξειδωτικών μηχανισμών μπορεί να αποτελέσει μια στρατηγική που μπορεί ειδικά να εξαλείψει τα καρκινικά κύτταρα μέσα σε αυτά και τα TICs, ενώ αφήνει ανεπηρέαστα τα φυσιολογικά κύτταρα. Πειραματικές μελέτες υποστηρίζουν πως διαιτητικά αντιοξειδωτικά (βιταμίνη E, βιταμίνη C, σελήνιο, β-καροτένιο και άλλα φυτοχημικά) και ενδογενή αντιοξειδωτικά (γλουταθειόνη) μπορούν να έχουν ευεργετική δράση μέσω εξουδετέρωσης ή δεσμεύσης των ROS μπορούν να περιορίσουν τα γενοτοξικά αποτελέσματά τους, μειώνοντας έτσι τα περιστατικά του CRC. Σε αυτή την περίπτωση, αντιοξειδωτικά προερχόμενα από τη διατροφή ή από διατροφικά συμπληρώματα μπορούν να επιτελέσουν μακροπρόθεσμα το ρόλο παραγόντων πρόληψης. Εκτός από τα παραπάνω είναι γνωστό πως πολλά καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν ένα ανώτερο επίπεδο εγγενούς οξειδωτικού stress που παίζει ρόλο στην έκφραση πολλών καρκινικών φαινοτύπων. Τα ROS που δημιουργούν τα παραπάνω τα εγγενή επίπεδα οξειδωτικού stress στα καρκινικά κύτταρα πιστεύεται πως οδηγούν στην εμφάνιση καρκινικών φαινοτύπων μέσω της ικανότητας τους να τροποποιούν μηχανισμούς μεταφοράς σήματος. Έτσι *in vivo* αντιοξειδωτικοί παράγοντες, ένζυμικοί ή χημικοί που περιορίζουν τα ROS θα μπορούσαν να περιορίσουν την εμφάνιση επιθετικών καρκινικών φαινοτύπων. Τα αντιοξειδωτικά λοιπόν θα μπορούσαν να δρουν τόσο περιορίζοντας τη γενοτοξικότητα όσο και επιβραδύνοντας την εξέλιξη του καρκίνου. Ο πιθανός προστατευτικός ρόλος των αντιοξειδωτικών απέναντι στον CRC ωστόσο δεν υποστηρίζεται από όλες τις επιδημιολογικές μελέτες. Η μελέτη “Fukuoka CRC Study” βρήκε πως τα οφέλη έναντι στον CRC των καροτενοειδών, της βιταμίνης C και E δεν υποστηρίζονταν σε άντρες και γυναίκες (404). Επίσης μια συστηματική ανασκόπηση δεν πέτυχε να αποδείξει τον προστατευτικό ρόλο των αντιοξειδωτικών καθώς τα δεδομένα έδειξαν πως οι βιταμίνες A, C, E, το σελήνιο και τα καροτενοειδή και ανεξάρτητα και σε συνδυασμό με άλλα αντιοξειδωτικά δεν ήταν αποτελεσματικά στη χημειοπρόληψη των νεοπλασμάτων παχέος εντέρου στο γενικό πληθυσμό (362). Επιπλέον μελέτες κατέδειξαν ότι οι βιταμίνες και αντιοξειδωτικά τόσο από διατροφικές πηγές όσο και από συμπληρώματα δεν εμφάνιζαν συσχέτισμό με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης CRC (405). Πρόσληψη συνδυασμού όλων των αντιοξειδωτικών μετρημένων ως ολική μέγιστη αντιοξειδωτική πρόσληψη δεν παρουσίασε κάποια προστατευτική δράση έναντι στον CRC (406). Σε αντίθεση με τις παραπάνω έρευνες, μελέτες που διεκπεραιώθηκαν προηγούμενα στη δεκαετία του 1990s κατέδειξαν ευεργετικά αποτελέσματα των αντιοξειδωτικών συστατικών έναντι στον CRC (407, 408, 409). Για την παραπάνω αντίθεση μπορεί να ευθύνεται το γεγονός πως στη σημερινή εποχή η υιοθέτηση διαιτητικών προτύπων με υψηλό κίνδυνο για CRC, όπως είναι η δυτικού τύπου δίαιτα έχουν εξαπλωθεί διεθνώς σε σύγκριση με τα διαιτητικά πρότυπα της εποχής της δεκαετίας του 90. Αυτός ο ανθυγιεινός τύπος διατροφής προκαλεί μια μείωση των επιπέδων

αντιοξειδωτικών και αύξηση κατανάλωσης του κόκκινου κρέατος και πιο επεξεργασμένου φαγητού πλούσιου σε κορεσμένα λιπαρά.

Τα ευεργετικά αποτελέσματα των αντιοξειδωτικών συστατικών σε *in vitro* and *in vivo* μελέτες συμφωνούν με αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών (Magalhaes et al., 2012). Η προστατευτική δράση των φρούτων και των λαχανικών απέναντι στον CRC μπορεί να είναι αποτέλεσμα συνεργιστικής δράσης αντιοξειδωτικών και άλλων συστατικών. Έχει αποδειχθεί πως οι φυτικές ίνες εμφανίζουν συνεργιστική δράση με αντιοξειδωτικά συστατικά και ιδιαίτερα φαινολικά στην προστασία από ασθένεια (410, 411, 412). Οπότε είναι πιθανό πως συνδυασμοί αντιοξειδωτικών και φυτικών ινών θα παρουσιάζουν ισχυρή προστασία έναντι στο CRC.

Σε 7 τυχαιοποιημένες μελέτες που αξιολογήθηκαν τα αντιοξειδωτικά στην πρόληψη των αδενωμάτων του παχέος εντέρου μελετήθηκαν διαφορετικοί συνδυασμοί καροτενοειδών, βιταμινών A, C και E (413,414,415,416). Δεν υπήρχε καμία αποδειξη πως τα αντιοξειδωτικά δρουν προστατευτικά στα αδενώματα ή τον CRC. Τα αποτελέσματα δεν ήταν τα αναμενόμενα. Τα αποτελέσματα αυτά μπορεί να οφείλονται στο ότι οι ασθενείς ήταν καπνιστές. Επίσης μελετήθηκαν μόνο συμπληρώματα. Δεν μπορεί αυτό να αποτελέσει μάρτυρα για λαχανικά και φρούτα τα οποία είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά και άλλα συστατικά και περιέχουν ασφαλή επίπεδα βιταμινών καθώς τα συμπληρώματα με υψηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών μπορεί να είναι επικίνδυνα. Οι ποσότητες στις οποίες τα αντιοξειδωτικά ασκούν την προστατευτική τους επίδραση δεν είναι γνωστές και πιθανώς διαφέρουν ανάμεσα στους διαφορετικούς ανθρώπους. Τα άτομα που είναι εκτεθειμένα σε μεγαλύτερο οξειδωτικό stress μπορεί να έχουν αυξημένες απαιτήσεις σε αντιοξειδωτικά.

Η αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών στη θεραπεία είναι ακόμη υπό αξιολόγηση και πολλές κλινικές δοκιμές είναι ακόμη υπό πραγματοποίηση ή ξεκινούν τώρα. Πολλοί ασθενείς κατά τη διάρκεια της θεραπείας τους λαμβάνουν συμπληρώματα αντιοξειδωτικών σε μια προσπάθεια να περιορίσουν την τοξικότητα της θεραπείας και να βελτιώσουν το μακροπρόθεσμο αποτέλεσμα. Τα αποτελέσματα των αντιοξειδωτικών στη θεραπεία εξαρτώνται από ένα ευρύ φάσμα παραγόντων μέσα σε αυτούς η κατάσταση του μεταβολισμού του ασθενούς, το στάδιο και το μέρος της ασθένειας, και τον τρόπο που χρησιμοποιείται. Στην περίπτωση της ραδιοθεραπείας έχουμε αντίδραση της ακτινοβολίας με το στόχο για μικρό χρονικό διάστημα και μετά η επίδραση εξαφανίζεται. Οι παράγοντες που χρησιμοποιούνται στη χημειοθεραπεία δεν περιορίζονται στον ιστό-στόχο, παραμένουν στο σώμα και κάποιες φορές και αλληλεπιδρούν και προκαλούν καταστροφή σε κύτταρα διαφορετικών περιοχών για μακρές περιόδους αυξάνοντας την οξειδωτική των λιπαρών οξέων, μειώνοντας τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών, και αυξάνοντας το οξειδωτικό stress (419, 420). Ο πρωταρχικός σκοπός της ραδιοθεραπείας και της χημειοθεραπείας είναι η

δημιουργία μη αντιστρεπτών βλαβών στο DNA σε καρκινικά κύτταρα που θα αποτρέψουν την αντιγραφή τους και θα οδηγήσουν στην εξάλειψή τους.

Άλλος τρόπος δράσης είναι η αλλαγή της κυτταρικής ομοιόστασης και η τροποποίηση των μονοπατιών σηματοδότησης και η οδήγηση στην απόπτωση. Η αντιοξειδωτική προστασία των φυσιολογικών κυττάρων έγκειται στο ότι προστατεύουν τα φυσιολογικά κύτταρα από το τοξικό αποτέλεσμα των ελεύθερων ριζών που παράγουν κυτοκίνες που ανακυκλώνονται στους ασθενείς και αυξάνονται με τη σοβαρότητα της ασθένειας.

Η αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών εξαρτάται από την προϋπάρχουσα μερική πίεση οξυγόνου και τη φύση του αντιοξειδωτικού (PO₂) κάτι που θα έπρεπε να λαμβάνεται υποψη κατά τη λήψη συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Το β-καροτένιο είναι ένα αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό σε χαμηλή πίεση οξυγόνου και λιγότερο αποτελεσματικό σε υψηλές πιέσεις όπου μπορεί να δρα και ως προοξειδωτικό. Αυτό μπορεί μερικώς να εξηγήσει την έλλειψη αποτελεσματικότητάς του στον καρκίνο του πνεύμονα στους καπνιστές. Αντίθετα η α-τοκοφερόλη, είναι αποτελεσματική σε κύτταρα με υψηλή πίεση οξυγόνου, για παράδειγμα στον πνεύμονα. Ο ραδιοογκολόγος λοιπόν σκοπό έχει την αύξηση του περιεχόμενου οξυγόνου, ώστε να αυξήσει την ικανότητα θανάτωσης κυττάρων. Καθώς η PO₂ ποικίλει ανάμεσα στους όγκους διαφέρει και η δράση των αντιοξειδωτικών ανάλογα με την PO₂ σε κάθε όγκο (421, 422). Επιπλέον, η ηλικία παίζει σημαντικό ρόλο στην απόκριση στη θεραπεία. Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά μειώνονται με την αύξηση της όπως και η ικανότητα επιδιόρθωσης του γενετικού υλικού. Η έκθεση στην ακτινοβολία και σε αντικαρκινικά φάρμακα που δημιουργούν επιπλέον ελεύθερες ρίζες μειώνει περαιτέρω τα επίπεδα αντιοξειδωτικών στα κύτταρα και στο αίμα. Μελέτες σε ανθρώπους ηλικίας 30 με 80 χρονών βρήκαν αντίστροφη σχέση ανάμεσα στην ηλικία και την ραδιοπροστασία εικάζοντας πως αυξημένη διαιτητική πρόσληψη θα μπορούσε να βοηθήσει την οξειδωτική καταστροφή λόγω ακτινοβολήσης (423).

Συμπληρώματα αντιοξειδωτικών κατά τη διάρκεια χημειοθεραπείας ή θεραπείας με ακτινοβολήση θα πρέπει να λαμβάνονται ύστερα από καθοδήγηση και επίβλεψη ιατρού καθώς τα αντιοξειδωτικά φαίνεται να προστατεύουν τους όγκους και περιορίζουν την αποτελεσματικότητά της θεραπείας. Μπορεί τα αντιοξειδωτικά να είναι ευεργετικά για ανθρώπους με υψηλά επίπεδα ενεργών ριζών O, αλλά επιβλαβή για ανθρώπους με χαμηλά με το να αναστέλλουν την απόπτωση και να προωθούν την καρκινογένεση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά μια χορήγηση η οποία δεν είναι αυστηρά ελεγχόμενη μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητες παρενέργειες για την υγεία.

Τα αντιοξειδωτικά συστατικά ειδικά τα καροτενοειδή, οι βιταμίνες C και E φαίνεται πως διαδραματίζουν πολύ σημαντικούς ρόλους στην προστασία απέναντι στον καρκίνο. Εμποδίζουν τη

δημιουργία χημικών καρκινογόνων στο στομάχι, προστατεύουν τις μεμβράνες από το οξειδωτικό stress και βελτιώνουν τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Παρόλα αυτά υπάρχουν πολλά ερωτήματα που θα πρέπει να απαντηθούν πριν προταθούν ως στρατηγική πρόληψης καρκίνου στο γενικό πληθυσμό.

Οι βέλτιστες δόσεις στις οποίες ο κίνδυνος μειώνεται, οι πιθανές παρενέργειες θα πρέπει να προσδιοριστούν. Στην κατανόηση συσχέτισης δόσης-απόκρισης καθώς και στον υπολογισμό πιθανότητας τοξικότητας θα μπορούσαν να βοηθήσουν σημαντικά μελέτες σε ζώα ωστόσο ισχυρές και αξιόπιστες απαντήσεις θα προκύψουν μόνο από μελέτες σε ανθρώπους. Προοπτικές μελέτες που θα περιλαμβάνουν καλύτερους τρόπους καταμέτρησης είναι χρήσιμο να σχεδιαστούν. Επαναλαμβανόμενη ερώτηση των μελών των ερευνών με ερωτηματολόγια, συνεντεύξεις θα μπορούσαν να εφαρμοστούν προκειμένου να βρεθούν πιο έγκυροι διατροφικοί δείκτες που θα μπορούσαν να κατηγοριοποιήσουν τα μέλη της έρευνας ανάλογα με τις διατροφικές τους συνήθειες. Παρόλο που πολλά σημαντικά ερωτήματα παραμένουν αναπάντητα υπάρχει επιστημονική βάση που υποστηρίζει την πιθανή ευεργετική δράση των αντιοξειδωτικών. Προκειμένου να επιτευχθεί ο στόχος της πλήρους αξιολόγησης της αποτελεσματικότητάς τους θα απαιτηθεί συνεργασία διεπιστημονική, ο σχεδιασμός πλήθους μελετών και η μετάδοση της γνώσης στον πληθυσμό. Ο CRC αποτελεί μια ασθένεια του γήρατος με την επίπτωσή του να αυξάνεται ιδιαίτερα μετά την ηλικία των 50 ετών. Αυτό υποδηλώνει πως πολλές από τις αρχικές μεταλλάξεις που είναι υπεύθυνες για τον CRC έχουν συσσωρευτεί ήδη από τη μέση ηλικία. Για να είναι το οποιοδήποτε αντιοξειδωτικό αποτελεσματικό ως παράγοντας χημειοπρόληψης που παρεμποδίζει τη γενοτοξικότητα που διαμεσολαβείται από τις ελεύθερες ρίζες είναι λογικό να προταθεί πως θα πρέπει να καταναλώνεται σε ένα αποτελεσματικό επίπεδο ξεκινώντας από νεαρή ηλικία. Κατά τη μέση ηλικία μπορεί να έχουν ήδη συσσωρευτεί πολλές μεταλλάξεις και η χορήγηση να μην είναι αποτελεσματική στην πρόληψη. Επίσης η χημική μορφή με την οποία χορηγείται το αντιοξειδωτικό μπορεί να έχει θεμελιώδη σημασία καθώς διαδραματίζει ρόλο στη βιοδιαθεσιμότητά του, σε ποια όργανα και ιστούς το αντιοξειδωτικό φτάνει, την κυτταρική και υποκυτταρική διασπορά του αντιοξειδωτικού, το αν έχει το αντιοξειδωτικό κάποιες άλλες αντικαρκινικές ιδιότητες ασύνδετες με την αντιοξειδωτική του ιδιότητα (πχ. Να τροποποιεί καρκινικά μονοπατία μεταγωγής σήματος).

Κάθε τροφή περιέχει έναν ιδιαίτερο συνδυασμό αντιοξειδωτικών και ως εκ τούτου συνεισφέρει μοναδικά στην προστασία του ανθρώπινου οργανισμού. Κανένα τρόφιμο από μόνο του δεν περιέχει όλα τα απαραίτητα αντιοξειδωτικά και κατ' επέκταση κανένα μεμονωμένο τρόφιμο δεν μπορεί να καλύψει τις ανάγκες μας σε αντιοξειδωτικά. Ο δείκτης ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity – Ικανότητα Απορρόφησης Ριζών Οξυγόνου), απεικονίζει τη δύναμη που παρουσιάζει ένα τρόφιμο προκειμένου να είναι σε θέση να καταστρέψει τις ελεύθερες ρίζες. Η διατροφή σε

φυσιολογικές καταστάσεις, βάσει της σύστασης του Αμερικάνικου Οργανισμού Γεωργίας (U.S.D.A.), θα πρέπει να περιέχει καθημερινά 3000–5000 μονάδες ORAC. Ωστόσο, είναι βέβαιο πως ο καθένας έχει τις δικές του ατομικές ανάγκες σε μονάδες ORAC, όπως ακριβώς συμβαίνει και με τις θερμίδες.

Οι αντιοξειδωτικές ανάγκες του κάθε ανθρώπου είναι εξατομικευμένες σύμφωνα με το άγχος, τις συνθήκες ζωής, τις ώρες ύπνου, την έκθεση σε περιβαλλοντικούς και διατροφικούς προ-οξειδωτικούς παράγοντες (μόλυνση, ραδιενέργεια, κάπνισμα, ζωικά λιπαρά, ορμόνες & χημικά των τροφίμων κ.λ.π.). Η αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες μέσω μιας αντιοξειδωτικής διατροφής θεωρείται απαραίτητη για την πρόληψη ή την αντιμετώπιση σοβαρών χρόνιων εκφυλιστικών νοσημάτων

Ακόμα και αν υπήρξαν έρευνες οι οποίες έδειξαν ότι τα αντιοξειδωτικά δεν βοηθούν στην αποφυγή της εμφάνισης του καρκίνου του παχέος εντέρου δεν σημαίνει ότι αυτόματα όλες οι έρευνες οι οποίες έδειξαν το αντίθετο πρέπει να θεωρούνται άκυρες. Μελέτες, πειράματα και έρευνες είναι γεγονός ότι θα γίνονται συνέχεια. Με δεδομένο όμως ότι έχει αποδειχθεί σε αρκετές από αυτές ότι οι αντιοξειδωτικές ουσίες μπορούν να βοηθήσουν στην καλύτερευση της ποιότητας ζωής μας θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν ώστε να εξαχθούν ακόμα πιο χρήσιμα συμπεράσματα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1)Κέιθ Μουρ (2013).Κλινική Ανατομία. Broken Hill - Π.Χ. Πασχαλίδης, σελ. 290-297, 419-420.

- (2) Αρχές φυσιολογίας Robert m. Berne, Matthew N. Levy. τόμος pp. 2011.
- (3) <http://www.cancercenter.com>
- (4) Grambsch PM, Bostick RM, Grandits G, Fosdick L, Darif M, Potter JD. Modeling the labeling index distribution: an application of functional data analysis. *J Am Stat Assoc* 1995;90:813–22 .
- (5) Whitehead RH, Jones JK, Gabriel A, Lukies RE. A new colon carcinoma cell line (LIM1863) that grows as organoids with spontaneous differentiation into crypt-like structures in vitro. *Cancer Res* 1987;47:2683–9.
- (6) Bird RP. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. *Cancer Lett* 1987;37:147–51.
- (7) Corpet DE, Stamp D, Medline A, Minkin S, Archer MC, Bruce WR. Promotion of colonic microadenoma growth in mice and rats fed cooked sugar or cooked casein and fat. *Cancer Res* 1990;50:6955–8.
- 8) Haggard FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg* 2009; 22: 191-197
- 9) Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1997. *CA Cancer J Clin* 1997;47:5-27.
- 10) American Cancer Society (ACS). Cancer facts and figures—1997. Atlanta (GA): ACS; 1997e
- 11) Parkin DM, Muir CS, Whelan SL, Gao JT, Ferlay J, Powell J. Cancer incidence in five continents. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 1992.
- 12) Muir C, Waterhouse J, Mack T, Powell J, Whelan S, Smans M, et al. Cancer incidence in five continents. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 1987.
- 13) Ries LA, Hankey BF, Edwards BK. Cancer statistics review 1973–87. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Cancer Institute; 1990 Report No.: DHHS Publ No. (NIH)90-2789.
- 14) Ries LA. Top 5 causes of cancer death in U.S. women and men [news]. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1048 .
- 15) Rickert RR, Auerbach O, Garfinkel L, Hammond EC, Frasca JM. Adenomatous lesions of the large bowel: an autopsy survey. *Cancer*. 1979 May;43(5):1847-57.
16. DiSario JA, Foutch PG, Mai HD, Pardy K, Manne RK. Prevalence and malignant potential of colorectal polyps in asymptomatic, average-risk men. *Am J Gastroenterol*. 1991 Aug;86(8):941-5
17. Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, Ahnen DJ, Garewal H, Chejfec G. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. *N Engl J Med*. 2000 Jul 20;343(3):162-8
18. Rex DK, Sledge GW, Harper PA, Ulbright TM, Loehrer PJ, Helper DJ, et al. Colonic adenomas in asymptomatic women with a history of breast cancer. *Am J Gastroenterol*. 1993

Dec;88(12):2009-14.

19. Horner MJ, R. L., Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Howlader N, Altekruse SF, Feuer EJ, Huang L, Mariotto A, Miller BA, Lewis DR, Eisner MP, Stinchcomb DG, Edwards BK (eds) (2009). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2006. N. C. Institute. Bethesda, MD.
20. Winawer SJ, Fletcher RH, Miller L, Godlee F, Stolar MH, Mulrow CD, et al. Colorectal cancer screening: clinical guidelines and rationale. *Gastroenterology*. 1997 Feb;112(2):594-
21. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Willett WC. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 1994 Dec 22;331(25):1669-74.
22. Rozen P, Fireman Z, Figer A, Legum C, Ron E, Lynch HT. Family history of colorectal cancer as a marker of potential malignancy within a screening program. *Cancer*. 1987 Jul 15;60(2):248-54.
23. Ekblom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med*. 1990 Nov 1;323(18):1228-33.
24. Gillen CD, Walmsley RS, Prior P, Andrews HA, Allan RN. Ulcerative colitis and Crohn's disease: a comparison of the colorectal cancer risk in extensive colitis. *Gut*. 1994 Nov;35(11):1590-2.
25. McMichael AJ, Giles GG. Cancer in migrants to Australia: extending the descriptive epidemiological data. *Cancer Res* 1988;48:751-6.
26. Haenszel W. Cancer mortality among the foreign born in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1961;26:37-132.
27. Noguchi Y, Yoshikawa T, Tsuburaya A, Motohashi H, Karpeh M, Brennan M. Is Gastric Carcinoma Different between Japan and the United States? 2000 American Cancer Society. Volume 89, Issue 11, pp 2237-2246
28. Ekstrom AM, Serafini M, Nyren O, Hansson LE, Ye W, Wolk A., (2000) Dietary antioxidant intake and the risk of cardia cancer and noncardia cancer of the intestinal and diffuse types: a population-based case-control study in Sweden. *Int J Cancer*, Vol. 87(1), pp. 133-40.
29. Mayne ST, Risch HA, Dubrow R, Chow WH, Gammon MD, Vaughan TL, (2001) Nutrient intake and risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, Vol. 10(10), pp. 1055-62.
30. Serafini M, Bellocco R, Wolk A, Ekstrom AM., (2002), Total antioxidant potential of fruit and vegetables and risk of gastric cancer. *Gastroenterology*. Vol. 123(4), pp. 985-91
31. Slattery ML, Edwards SL, Boucher KM, et al. Lifestyle and colon cancer: An assessment of factors associated with risk. *Am J Epidemiol* 1999;150:869-877.
32. Stattin P, Lukanova A, Biessy C, et al. Obesity and colon cancer: Does leptin provide a link? *Int J*

Cancer 2004;109:149–152

33. Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med*. 1990 Dec 13;323(24):1664-72.
34. Caygill CP, Charlett A, Hill MJ. Fat, fish, fish oil and cancer. *Br J Cancer*. 1996 Jul;74(1):159-64. 159
35. Rao CV, Hirose Y, Indranie C, Reddy BS. Modulation of experimental colon tumorigenesis by types and amounts of dietary fatty acids. *Cancer Res*. 2001 Mar 1;61(5):1927-33.
37. Ito N, Hasegawa R, Sano M, Tamano S, Esumi H, Takayama S, et al. A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Carcinogenesis*. 1991 Aug;12(8):1503-6.
- 38 Probst-Hensch NM, Sinha R, Longnecker MP, Witte JS, Ingles SA, Frankl HD, et al. Meat preparation and colorectal adenomas in a large sigmoidoscopy-based case-control study in California (United States). *Cancer Causes Control*. 1997 Mar;8(2):175-83.
39. Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Mandel JS, Mott LA, Greenberg ER. Folate intake, alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of colorectal adenomas. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Jan 7;90(1):57-62.
40. Longnecker MP, Orza MJ, Adams ME, Vioque J, Chalmers TC. A metaanalysis of alcoholic beverage consumption in relation to risk of colorectal cancer. *Cancer Causes Control*. 1990 Jul;1(1):59-68.
41. World Cancer Research Fund (WCRF) Panel. Diet n, perspective. atpocag, Cancer WDWAIo, 1997 R.
42. Kearney J, Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, et al. Diet, alcohol, and smoking and the occurrence of hyperplastic polyps of the colon and rectum (United States). *Cancer Causes Control*. 1995 Jan;6(1):45-56.
- 43.Lagergren J, Bergstrom R, Lindgren A, Nyren O, (2000), The role of tobacco, snuff and alcohol use in the aetiology of cancer of the oesophagus and gastric cardia. *Int J Cancer*, Vol. 85(3), pp. 340-6.
44. Goldberg MS, Parent ME, Siemiatycki J, Desy M, Nadon L, Richardson L, et al. A case-control study of the relationship between the risk of colon cancer in men and exposures to occupational agents. *Am J Ind Med*. 2001 Jun;39(6):531-46.
45. Carstensen JM, Bygren LO, Hatschek T. Cancer incidence among Swedish brewery workers. *Int J Cancer*. 1990 Mar 15;45(3):393-6.
- 46.John P, Martha L. Slattery, Roberd B, Susan G. Colon Cancer: A Review of the Epidemiology.

Epidemiologic Reviews. Vol. 15, No. 2.1993

47.Kenneth W, Bert V. Lessons from Hereditary Review Colorectal Cancer. Cell, Vol. 87, 159–170. 1996.

48.RM Navaratnam, J Chowaniect, MC Winslet. The molecular biology of colorectal cancer development and the associated genetic events. Ann R Coll Surg Engl 1999; 81

49.Dora C, Giovanni B 2, Franco B, Luigi R. Molecular Pathways Involved in Colorectal Cancer: Implications for Disease Behavior and Prevention. Int. J. Mol. Sci.

50.Sam Al-Sohaily, Andrew Biankin, Rupert Leong, Maija Kohonen-Corish, Janindra Warusavitarne. Molecular pathways in colorectal cance. Journal of Gastroenterology and Hepatology 27 (2012) 1423–1431

51.Eduardo V, Stephen B. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. . Nat. Rev. Clin. Oncol. (2010). 7: 153–162

52. Dukes CE, Bussey HJ. The spread of rectal cancer and its effect on prognosis. Br J Cancer. 1958 Sep;12(3):309-20.

53. Greene FL. The American Joint Committee on Cancer: updating the strategies in cancer staging. Bull Am Coll Surg. 2002 Jul;87(7):13-5.

54. Greene FL, Sobin LH. The TNM system: our language for cancer care. J Surg Oncol. 2002 Jul;80(3):119-20.

55. Astler VB, Collier FA. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. Ann Surg. 1954 Jun;139(6):846-52.

56. Hilska M, Collan Y, Roberts PJ, Ovaska J, Kossi J, Paaanen H, et al. Prognostic value of various staging and grading systems in proximal colon cancer. Eur J Surg. 2002;168(2):84-90.

57. AJCC cancer staging handbook te.

58.Bardi, G.; Johansson, B.; Pandis, N.; Mandahl, N.; Bak-Jensen, E.; Lindstrom, C.; Tornqvist, A.; Frederiksen, H.; Andren-Sandberg, A.; Mitelman, F.; et al. Cytogenetic analysis of 52 colorectal carcinomas—Non-random aberration pattern and correlation with pathologic parameters. Int. J. Cancer 1993, 55, 422–428.

59. Bardi, G.; Sukhikh, T.; Pandis, N.; Fenger, C.; Kronborg, O.; Heim, S. Karyotypic characterization of colorectal adenocarcinomas. Genes Chromosomes Cancer 1995, 12, 97–109.

60. Shih, I.M.; Zhou, W.; Goodman, S.N.; Lengauer, C.; Kinzler, K.W.; Vogelstein, B. Evidence that genetic instability occurs at an early stage of colorectal tumorigenesis. Cancer Res. 2001, 61, 818–822.

61 Sieber, O.M.; Lamlum, H.; Crabtree, M.D.; Rowan, A.J.; Barclay, E.; Lipton, L.; Hodgson, S.; Thomas, H.J.; Neale, K.; Phillips, R.K.; et al. Whole-gene APC deletions cause classical familial

- adenomatous polyposis, but not attenuated polyposis or “multiple” colorectal adenomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 2954–2958.
- 62 Powell, S.M.; Petersen, G.M.; Krush, A.J.; Booker, S.; Jen, J.; Giardiello, F.M.; Hamilton, S.R.; Vogelstein, B.; Kinzler, K.W. Molecular diagnosis of familial adenomatous polyposis. *N. Engl. J. Med.* 1993, 329, 1982–1987.
- 63 Sieber, O.M.; Lipton, L.; Crabtree, M.; Heinemann, K.; Fidalgo, P.; Phillips, R.K.; Bisgaard, M.L.; Orntoft, T.F.; Aaltonen, L.A.; Hodgson, S.V.; et al. Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in MYH. *N. Engl. J. Med.* 2003, 348, 791–799.
64. Sparks, A.B.; Morin, P.J.; Vogelstein, B.; Kinzler, K.W. Mutational analysis of the APC/beta-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998, 58, 1130–1134.
65. Morin, P.J.; Sparks, A.B.; Korinek, V.; Barker, N.; Clevers, H.; Vogelstein, B.; Kinzler, K.W. Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. *Science* 1997, 275, 1787–1790.
66. Chan, G.K.; Jablonski, S.A.; Sudakin, V.; Hittle, J.C.; Yen, T.J. Human BUBR1 is a mitotic checkpoint kinase that monitors CENP-E functions at kinetochores and binds the cyclosome/APC. *J. Cell Biol.* 1999, 146, 941–954.
67. Shin, H.J.; Baek, K.H.; Jeon, A.H.; Park, M.T.; Lee, S.J.; Kang, C.M.; Lee, H.S.; Yoo, S.H.; Chung, D.H.; Sung, Y.C.; et al. Dual roles of human BubR1, a mitotic checkpoint kinase, in the monitoring of chromosomal instability. *Cancer Cell* 2003, 4, 483–497.
68. van Es, J.H.; van Gijn, M.E.; Riccio, O.; van den Born, M.; Vooijs, M.; Begthel, H.; Cozijnsen, M.; Robine, S.; Winton, D.J.; Radtke, F.; et al. Notch/gamma-secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas into goblet cells. *Nature* 2005, 435, 959–963.
69. Kwon, C.; Cheng, P.; King, I.N.; Andersen, P.; Shenje, L.; Nigam, V.; Srivastava, D. Notch post-translationally regulates beta-catenin protein in stem and progenitor cells. *Nat. Cell. Biol.* 2011, 13, 1244–1251.
70. Firestein, R.; Bass, A.J.; Kim, S.Y.; Dunn, I.F.; Silver, S.J.; Guney, I.; Freed, E.; Ligon, A.H.; Vena, N.; Ogino, S.; et al. CDK8 is a colorectal cancer oncogene that regulates beta-catenin activity. *Nature* 2008, 455, 547–551.
71. Fryer, C.J.; White, J.B.; Jones, K.A. Mastermind recruits CycC:CDK8 to phosphorylate the Notch ICD and coordinate activation with turnover. *Mol. Cell* 2004, 16, 509–520.
- Int. J. Mol. Sci.* 2013, 14 16378
- Firestein, R.; Shima, K.; Noshio, K.; Irahara, N.; Baba, Y.; Bojarski, E.; Giovannucci, E.L.; Hahn, W.C.; Fuchs, C.S.; Ogino, S.; et al. CDK8 expression in 470 colorectal cancers in relation to beta-catenin activation, other molecular alterations and patient survival. *Int. J. Cancer* 2010, 126, 2863–

2873.

73. Carmon, K.S.; Gong, X.; Lin, Q.; Thomas, A.; Liu, Q. R-spondins function as ligands of the orphan receptors LGR4 and LGR5 to regulate Wnt/beta-catenin signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, 108, 11452–11457.
74. Alao, J.P. The regulation of cyclin D1 degradation: Roles in cancer development and the potential for therapeutic invention. *Mol. Cancer* 2007, 6, 24.
75. Arber, N.; Hibshoosh, H.; Moss, S.F.; Sutter, T.; Zhang, Y.; Begg, M.; Wang, S.; Weinstein, I.B.; Holt, P.R. Increased expression of cyclin D1 is an early event in multistage colorectal carcinogenesis. *Gastroenterology* 1996, 110, 669–674.
76. Morikawa, T.; Kuchiba, A.; Lochhead, P.; Nishihara, R.; Yamauchi, M.; Imamura, Y.; Liao, X.; Qian, Z.R.; Ng, K.; Chan, A.T.; et al. Prospective analysis of body mass index, physical activity, and colorectal cancer risk associated with beta-catenin (CTNNB1) status. *Cancer Res.* 2013, 73, 1600–1610.
77. Thomas, D.C.; Umar, A.; Kunkel, T.A. Microsatellite instability and mismatch repair defects in cancer. *Mutat. Res.* 1996, 350, 201–205.
78. Fishel, R. Mismatch repair, molecular switches, and signal transduction. *Genes Dev.* 1998, 12, 2096–2101.
79. Boland, C.R.; Thibodeau, S.N.; Hamilton, S.R.; Sidransky, D.; Eshleman, J.R.; Burt, R.W.; Meltzer, S.J.; Rodriguez-Bigas, M.A.; Fodde, R.; Ranzani, G.N.; et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: Development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998, 58, 5248–5257.
80. Lanza, G.; Gafa, R.; Maestri, I.; Santini, A.; Matteuzzi, M.; Cavazzini, L. Immunohistochemical pattern of MLH1/MSH2 expression is related to clinical and pathological features in colorectal adenocarcinomas with microsatellite instability. *Mod. Pathol.* 2002, 15, 741–749.
81. Sinicrope, F.A.; Sargent, D.J. Molecular pathways: Microsatellite instability in colorectal cancer, prognostic, predictive, and therapeutic implications. *Clin. Cancer Res.* 2012, 18, 1506–1512.
82. Vasen, H.F.; Moslein, G.; Alonso, A.; Bernstein, I.; Bertario, L.; Blanco, I.; Burn, J.; Capella, G.; Engel, C.; Frayling, I.; et al. Guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (hereditary non-polyposis cancer). *J. Med. Genet.* 2007, 44, 353–362.
83. Boland, C.R.; Koi, M.; Chang, D.K.; Carethers, J.M. The biochemical basis of microsatellite instability and abnormal immunohistochemistry and clinical behavior in Lynch syndrome: From bench to bedside. *Fam. Cancer* 2008, 7, 41–52. *Int. J. Mol. Sci.* 2013, 14 16381

84. Aaltonen, L.A.; Peltomäki, P.; Mecklin, J.P.; Järvinen, H.; Jass, J.R.; Green, J.S.; Lynch, H.T.; Watson, P.; Tallqvist, G.; Juhola, M.; et al. Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Cancer Res.* 1994, 54, 1645–1648.
85. Fishel, R.; Lescoe, M.K.; Rao, M.R.; Copeland, N.G.; Jenkins, N.A.; Garber, J.; Kane, M.; Kolodner, R. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993, 75, 1027–1038.
86. Kolodner, R.D.; Tytell, J.D.; Schmeits, J.L.; Kane, M.F.; Gupta, R.D.; Weger, J.; Wahlberg, S.; Fox, E.A.; Peel, D.; Ziogas, A.; et al. Germ-line msh6 mutations in colorectal cancer families. *Cancer Res.* 1999, 59, 5068–5074.
87. Liu, B.; Parsons, R.; Papadopoulos, N.; Nicolaides, N.C.; Lynch, H.T.; Watson, P.; Jass, J.R.; Dunlop, M.; Wyllie, A.; Peltomäki, P.; et al. Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients. *Nat. Med.* 1996, 2, 169–174.
88. Perez-Cabornero, L.; Sanz, M.I.; Sampedro, E.V.; Aras, E.L.; Becares, A.A.; Pino, C.M.; Dominguez, M.D. Frequency of rearrangements in Lynch syndrome cases associated with MSH2: Characterization of a new deletion involving both EPCAM and the 5' part of MSH2. *Cancer Prev. Res. (Phila)* 2011, 4, 1556–1562.
89. Kastrinos, F.; Steyerberg, E.W.; Balmana, J.; Mercado, R.; Gallinger, S.; Haile, R.; Casey, G.; Hopper, J.L.; LeMarchand, L.; Lindor, N.M.; et al. Comparison of the clinical prediction model PREMM(1,2,6) and molecular testing for the systematic identification of Lynch syndrome in colorectal cancer. *Gut* 2013, 62, 272–279.
90. Kane, M.F.; Loda, M.; Gaida, G.M.; Lipman, J.; Mishra, R.; Goldman, H.; Jessup, J.M.; Kolodner, R. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res.* 1997, 57, 808–811.
91. Herman, J.G.; Umar, A.; Polyak, K.; Graff, J.R.; Ahuja, N.; Issa, J.P.; Markowitz, S.; Willson, J.K.; Hamilton, S.R.; Kinzler, K.W.; et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, 95, 6870–6875.
92. Veigl, M.L.; Kasturi, L.; Olechnowicz, J.; Ma, A.H.; Lutterbaugh, J.D.; Periyasamy, S.; Li, G.M.; Drummond, J.; Modrich, P.L.; Sedwick, W.D.; et al. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, 95, 8698–8702.
93. Ricciardiello, L.; Ceccarelli, C.; Angiolini, G.; Pariali, M.; Chieco, P.; Paterini, P.; Biasco, G.; Martinelli, G.N.; Roda, E.; Bazzoli, F. High thymidylate synthase expression in colorectal cancer

- with microsatellite instability: Implications for chemotherapeutic strategies. *Clin. Cancer Res.* 2005, 11, 4234–4240.
94. Parsons, M.T.; Buchanan, D.D.; Thompson, B.; Young, J.P.; Spurdle, A.B. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: A literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. *J. Med. Genet.* 2012, 49, 151–157.
95. Takayama, T.; Miyanishi, K.; Hayashi, T.; Sato, Y.; Niitsu, Y. Colorectal cancer: Genetics of development and metastasis. *J. Gastroenterol.* 2006, 41, 185–192.
96. Grady, W.M.; Rajput, A.; Myeroff, L.; Liu, D.F.; Kwon, K.; Willis, J.; Markowitz, S. Mutation of the type II transforming growth factor-beta receptor is coincident with the transformation of human colon adenomas to malignant carcinomas. *Cancer Res.* 1998, 58, 3101–3104.
97. Riggins, G.J.; Kinzler, K.W.; Vogelstein, B.; Thiagalingam, S. Frequency of Smad gene mutations in human cancers. *Cancer Res.* 1997, 57, 2578–2580.
79. Zhang, B.; Halder, S.K.; Kashikar, N.D.; Cho, Y.J.; Datta, A.; Gorden, D.L.; Datta, P.K. Antimetastatic role of Smad4 signaling in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010, 138, 969–980.
98. Eppert, K.; Scherer, S.W.; Ozcelik, H.; Pirone, R.; Hoodless, P.; Kim, H.; Tsui, L.C.; Bapat, B.; Gallinger, S.; Andrulis, I.L.; et al. MADR2 maps to 18q21 and encodes a TGFbeta-regulated MAD-related protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma. *Cell* 1996, 86, 543–552.
99. Jung, B.; Doctolero, R.T.; Tajima, A.; Nguyen, A.K.; Keku, T.; Sandler, R.S.; Carethers, J.M. Loss of activin receptor type 2 protein expression in microsatellite unstable colon cancers. *Gastroenterology* 2004, 126, 654–659.
100. Rampino, N.; Yamamoto, H.; Ionov, Y.; Li, Y.; Sawai, H.; Reed, J.C.; Perucho, M. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science* 1997, 275, 967–969.
101. Yamamoto, H.; Sawai, H.; Perucho, M. Frameshift somatic mutations in gastrointestinal cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Cancer Res.* 1997, 57, 4420–4426.
102. Yagi, O.K.; Akiyama, Y.; Nomizu, T.; Iwama, T.; Endo, M.; Yuasa, Y. Proapoptotic gene BAX is frequently mutated in hereditary nonpolyposis colorectal cancers but not in adenomas. *Gastroenterology* 1998, 114, 268–274.
- 103.. Shima, K.; Morikawa, T.; Yamauchi, M.; Kuchiba, A.; Imamura, Y.; Liao, X.; Meyerhardt, J.A.; Fuchs, C.S.; Ogino, S. TGFBR2 and BAX mononucleotide tract mutations, microsatellite instability, and prognosis in 1072 colorectal cancers. *PLoS One* 2011, 6, e25062.
104. Calin, G.A.; Gafa, R.; Tibiletti, M.G.; Herlea, V.; Becheanu, G.; Cavazzini, L.; Barbanti-

- Brodano, G.; Nenci, I.; Negrini, M.; Lanza, G. Genetic progression in microsatellite instability high (MSI-H) colon cancers correlates with clinico-pathological parameters: A study of the TGRbetaR2, BAX, hMSH3, hMSH6, IGF1R and BLM genes. *Int. J. Cancer* 2000, 89, 230–235.
105. Nosho, K.; Kawasaki, T.; Ohnishi, M.; Suemoto, Y.; Kirkner, G.J.; Zepf, D.; Yan, L.; Longtine, J.A.; Fuchs, C.S.; Ogino, S. PIK3CA mutation in colorectal cancer: Relationship with genetic and epigenetic alterations. *Neoplasia* 2008, 10, 534–541.
106. Baba, Y.; Nosho, K.; Shima, K.; Goessling, W.; Chan, A.T.; Ng, K.; Chan, J.A.; Giovannucci, E.L.; Fuchs, C.S.; Ogino, S. PTGER2 overexpression in colorectal cancer is associated with microsatellite instability, independent of CpG island methylator phenotype. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2010, 19, 822–831.
107. Nosho, K.; Kawasaki, T.; Chan, A.T.; Ohnishi, M.; Suemoto, Y.; Kirkner, G.J.; Fuchs, C.S.; Ogino, S. Cyclin D1 is frequently overexpressed in microsatellite unstable colorectal cancer, independent of CpG island methylator phenotype. *Histopathology* 2008, 53, 588–598.
108. Souza, R.F.; Appel, R.; Yin, J.; Wang, S.; Smolinski, K.N.; Abraham, J.M.; Zou, T.T.; Shi, Y.Q.; Lei, J.; Cottrell, J.; et al. Microsatellite instability in the insulin-like growth factor II receptor gene in gastrointestinal tumours. *Nat. Genet.* 1996, 14, 255–257.
109. Ogino, S.; Nosho, K.; Irahara, N.; Kure, S.; Shima, K.; Baba, Y.; Toyoda, S.; Chen, L.; Giovannucci, E.L.; Meyerhardt, J.A.; Fuchs, C.S. A cohort study of cyclin D1 expression and prognosis in 602 colon cancer cases. *Clin. Cancer Res.* 2009, 15, 4431–4438.
110. Samowitz, W.S.; Albertsen, H.; Herrick, J.; Levin, T.R.; Sweeney, C.; Murtaugh, M.A.; Wolff, R.K.; Slattery, M.L. Evaluation of a large, population-based sample supports a CpG island methylator phenotype in colon cancer. *Gastroenterology* 2005, 129, 837–845.
111. Shen, L.; Toyota, M.; Kondo, Y.; Lin, E.; Zhang, L.; Guo, Y.; Hernandez, N.S.; Chen, X.; Ahmed, S.; Konishi, K.; et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007, 104, 18654–18659.
112. Ogino, S.; Odze, R.D.; Kawasaki, T.; Brahmandam, M.; Kirkner, G.J.; Laird, P.W.; Loda, M.; Fuchs, C.S. Correlation of pathologic features with CpG island methylator phenotype (CIMP) by quantitative DNA methylation analysis in colorectal carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2006, 30, 1175–1183.
113. Dong, S.M.; Lee, E.J.; Jeon, E.S.; Park, C.K.; Kim, K.M. Progressive methylation during the serrated neoplasia pathway of the colorectum. *Mod. Pathol.* 2005, 18, 170–178.
114. Shima, K.; Nosho, K.; Baba, Y.; Cantor, M.; Meyerhardt, J.A.; Giovannucci, E.L.; Fuchs, C.S.; Ogino, S. Prognostic significance of CDKN2A (p16) promoter methylation and loss of expression in 902

- colorectal cancers: Cohort study and literature review. *Int. J. Cancer* 2011, 128, 1080–1094.
115. Myohanen, S.K.; Baylin, S.B.; Herman, J.G. Hypermethylation can selectively silence individual p16ink4A alleles in neoplasia. *Cancer Res.* 1998, 58, 591–593.
116. Petko, Z.; Ghiassi, M.; Shuber, A.; Gorham, J.; Smalley, W.; Washington, M.K.; Schultenover, S.; Gautam, S.; Markowitz, S.D.; Grady, W.M. Aberrantly methylated CDKN2A, MGMT, and MLH1 in colon polyps and in fecal DNA from patients with colorectal polyps. *Clin. Cancer Res.* 2005, 11, 1203–1209.
117. Ogino, S.; Nosho, K.; Kirkner, G.J.; Kawasaki, T.; Meyerhardt, J.A.; Loda, M.; Giovannucci, E.L.; Fuchs, C.S. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009, 58, 90–96.
118. Kawasaki, T.; Ohnishi, M.; Nosho, K.; Suemoto, Y.; Kirkner, G.J.; Meyerhardt, J.A.; Fuchs, C.S.; Ogino, S. CpG island methylator phenotype-low (CIMP-low) colorectal cancer shows not only few methylated CIMP-high-specific CpG islands, but also low-level methylation at individual loci. *Mod. Pathol.* 2008, 21, 245–255.
119. Suzuki, H.; Igarashi, S.; Nojima, M.; Maruyama, R.; Yamamoto, E.; Kai, M.; Akashi, H.; Watanabe, Y.; Yamamoto, H.; Sasaki, Y.; et al. IGFBP7 is a p53-responsive gene specifically silenced in colorectal cancer with CpG island methylator phenotype. *Carcinogenesis* 2010, 31, 342–349.
120. Nosho, K.; Shima, K.; Irahara, N.; Kure, S.; Baba, Y.; Kirkner, G.J.; Chen, L.; Gokhale, S.; Hazra, A.; Spiegelman, D.; et al. DNMT3B expression might contribute to CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2009, 15, 3663–3671.
121. Bandres, E.; Cubedo, E.; Agirre, X.; Malumbres, R.; Zarate, R.; Ramirez, N.; Abajo, A.; Navarro, A.; Moreno, I.; Monzo, M.; Garcia-Foncillas, J. Identification by Real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues. *Mol. Cancer* 2006, 5, 29.
122. Cummins, J.M.; He, Y.; Leary, R.J.; Pagliarini, R.; Diaz, L.A., Jr.; Sjoblom, T.; Barad, O.; Bentwich, Z.; Szafranska, A.E.; Labourier, E.; et al. The colorectal microRNAome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006, 103, 3687–3692.
123. Michael, M.Z.; SM, O.C.; van Holst Pellekaan, N.G.; Young, G.P.; James, R.J. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol. Cancer Res.* 2003, 1, 882–891.
124. Motoyama, K.; Inoue, H.; Takatsuno, Y.; Tanaka, F.; Mimori, K.; Uetake, H.; Sugihara, K.; Mori, M. Over- and under-expressed microRNAs in human colorectal cancer. *Int. J. Oncol.* 2009, 34, 1069–1075.
125. Lanza, G.; Ferracin, M.; Gafa, R.; Veronese, A.; Spizzo, R.; Pichiorri, F.; Liu, C.G.; Calin,

- G.A.; Croce, C.M.; Negrini, M. mRNA/microRNA gene expression profile in microsatellite unstable colorectal cancer. *Mol. Cancer* 2007, 6, 54.
126. Bovell, L.C.; Shanmugam, C.; Putcha, B.D.; Katkoori, V.R.; Zhang, B.; Bae, S.; Singh, K.P.; Grizzle, W.E.; Manne, U. The prognostic value of microRNAs varies with patient race/ethnicity and stage of colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2013, 19, 3955–3965.
 127. Coussens, L.M.; Werb, Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002, 420, 860–867.
 128. Terzic, J.; Grivennikov, S.; Karin, E.; Karin, M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology* 2010, 138, 2101–2114.
 129. Ma, X.T.; Wang, S.; Ye, Y.J.; Du, R.Y.; Cui, Z.R.; Somsouk, M. Constitutive activation of Stat3 signaling pathway in human colorectal carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2004, 10, 1569–1573.
 130. Corvinus, F.M.; Orth, C.; Moriggl, R.; Tsareva, S.A.; Wagner, S.; Pfitzner, E.B.; Baus, D.; Kaufmann, R.; Huber, L.A.; Zatloukal, K.; et al. Persistent STAT3 activation in colon cancer is associated with enhanced cell proliferation and tumor growth. *Neoplasia* 2005, 7, 545–555.
 131. Otani, T.; Iwasaki, M.; Sasazuki, S.; Inoue, M.; Tsugane, S.; Japan Public Health Center-Based Prospective Study Group. Plasma C-reactive protein and risk of colorectal cancer in a nested case-control study: Japan Public Health Center-based prospective study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2006, 15, 690–695.
 132. Gunter, M.J.; Stolzenberg-Solomon, R.; Cross, A.J.; Leitzmann, M.F.; Weinstein, S.; Wood, R.J.; Virtamo, J.; Taylor, P.R.; Albanes, D.; Sinha, R. A prospective study of serum C-reactive protein and colorectal cancer risk in men. *Cancer Res.* 2006, 66, 2483–2487.
 133. Chan, A.T.; Ogino, S.; Giovannucci, E.L.; Fuchs, C.S. Inflammatory markers are associated with risk of colorectal cancer and chemopreventive response to anti-inflammatory drugs. *Gastroenterology* 2011, 139, 799–808.
 134. Song, M.; Wu, K.; Ogino, S.; Fuchs, C.S.; Giovannucci, E.L.; Chan, A.T. A prospective study of plasma inflammatory markers and risk of colorectal cancer in men. *Br. J. Cancer* 2013, 108, 1891–1898.
 135. Knupfer, H.; Preiss, R. Serum interleukin-6 levels in colorectal cancer patients—A summary of published results. *Int. J. Colorectal. Dis.* 2010, 25, 135–140.
 136. Belluco, C.; Nitti, D.; Frantz, M.; Toppan, P.; Basso, D.; Plebani, M.; Lise, M.; Jessup, J.M. Interleukin-6 blood level is associated with circulating carcinoembryonic antigen and prognosis in patients with colorectal cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 2000, 7, 133–138.
 137. Ito, Y.; Suzuki, K.; Tamakoshi, K.; Wakai, K.; Kojima, M.; Ozasa, K.; Watanabe, Y.; Kawado, M.; Hashimoto, S.; Suzuki, S.; et al. Colorectal cancer and serum C-reactive protein levels: A case-control study nested in the JACC Study. *J. Epidemiol.* 2005, 15, S185–189.

138. Large intestine. G.J. Chang et al. Current surgical diagnosis and treatment. L.W. Way, G.M. Doherty (eds). Εκδόσεις Mc Graw-Hill Inc. 2003
139. Cancer of the colon, rectum and anus. Alfred M. Conen, Sidney J. Winawer, Michael A. Friedman, Leonard L. Gunderson. Εκδόσεις Mc Graw-Hill Inc. 1995
140. Smith RA, von Eschenbach AC, Wender R, Levin B, Byers T, Rothenberger D, et al. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer: update of early detection guidelines for prostate, colorectal, and endometrial cancers. Also: update 2001--testing for early lung cancer detection. CA Cancer J Clin. 2001 JanFeb;51(1):38-75; quiz 7-80.
141. Simmang CL, Senatore P, Lowry A, Hicks T, Burnstein M, Dentsman F, et al. Practice parameters for detection of colorectal neoplasms. The Standards Committee, The American Society of Colon and Rectal Surgeons. Dis Colon Rectum. 1999 Sep;42(9):1123-9.
142. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med. 2000 Jul;124(7):979-94.
143. Compton C, Fenoglio-Preiser CM, Pettigrew N, Fielding LP. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group. Cancer. 2000 Apr 1;88(7):1739-57.
144. Michor F, Iwasa Y, Lengauer C et al. Dynamics of colorectal cancer. Semin Cancer Biol 2005;15:484–493.
145. Jass JR. Colorectal cancer: A multipathway disease. Crit Rev Oncog 2006; 12:273–287.
146. Zlobec I, Steele R, Terracciano L et al. Selecting immunohistochemical cut-off scores for novel biomarkers of progression and survival in colorectal cancer. J Clin Pathol 2007;60:1112–1116.
147. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). (2004) Guidance on Cancer Services: Improving Outcomes in Colorectal Cancers (Manual Update). London: NICE.
148. Zlobec I, Lugli A. Prognostic and predictive factors in colorectal cancer. J Clin Pathol 2008;61:561–569.
149. Kornmann M, Formentini A, Ette C et al. Prognostic factors influencing the survival of patients with colon cancer receiving adjuvant 5-FU treatment. Eur J Surg Oncol 2008;34:1316–1321.
150. Weiser MR, Landmann RG, Kattan MW et al. Individualized prediction of colon cancer recurrence using a nomogram. J Clin Oncol 2008;26:380–385.
151. Morikawa T, Kato J, Yamaji Y, Wada R, Mitsushima T, et al. (2005) A comparison of the immunochemical fecal occult blood test and total colonoscopy in the asymptomatic population. Gastroenterology 129: 422–428.
152. Rex DK, Ahnen DJ, Baron JA, Batts KP, Burke CA, et al. (2012) Serrated lesions of the

- colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol* 107: 1315–1329.
153. Ling BS, Moskowitz MA, Wachs D, Pearson B, Schroy PC (2001) Attitudes Toward Colorectal Cancer Screening Tests A Survey of Patients and Physicians. *J Gen Intern Med* 16: 822–830.
 154. Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, et al. (2007) Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer* 43: 1348–1360.
 155. Graziano F, Cascinu S (2003) Prognostic molecular markers for planning adjuvant chemotherapy trials in Dukes' B colorectal cancer patients: How much evidence is enough? *Ann Oncol* 14: 1026–1038.
 156. Tsuji T, Hidaka S, Sawai T, Nakagoe T, Yano H, et al. (2003) Polymorphism in the thymidylate synthase promoter enhancer region is not an efficacious marker for tumor sensitivity to 5-fluorouracil-based oral adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 9: 3700–3704.
 157. Popat S, Matakidou A, Houlston RS (2004) Thymidylate synthase expression and prognosis in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol* 22: 529–536.
 158. Allegra C, Sargent D (2003) Molecular diagnostics: Assays, tissues, progress, and pitfalls. *J Clin Oncol* 21: 395–396.
 159. Deeks JJ, Altman DG, Bradburn MJ (2001) Statistical methods for examining heterogeneity and combining results from several studies in meta-analysis. In: Egger M, Smith GD, Altman D, editors. *Systematic Reviews in Health Care: Meta-analysis in context*: BMJ Books. Pp: 285–321.
 160. Duffy MJ, Crown J. A personalized approach to cancer treatment: How biomarkers can help. *Clin Chem* 2008;54:1770–1779.
 161. De Roock W, Biesmans B, De Schutter J et al. Clinical biomarkers in oncology: Focus on colorectal cancer. *Mol Diagn Ther* 2009;13:103–114.
 162. GOLDENBERG, D. M., PLETSCHE, Q. A. & VAN NAGELL, J. R. (1976a) Characterization and localization of carcinoembryonic antigen in a squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol. Oncol.*, 4, 204.
 163. BENCHIMOL, S., FUKS, A., JOTHY, S., BEAUCHEMIN, N., SHIROTA, K. & STANNERS, C.P. (1989). Carcinoembryonic antigen, a human tumour marker, functions as an intercellular adhesion molecule. *Cell*, 57, 327.
 164. Gangopadhyay A, Lazure D, Thomas P. Adhesion of colorectal carcinoma cells to the endothelium is mediated by cytokines from CEA stimulated Kupffer cells. *Clinical & Experimental Metastasis*. 1998. 16:8,pp 703-712

165. Soeth E, Wirth T, List HJ, Kumbhani S, Petersen A, Neumaier M, Czubayko F, Juhl H.(2001).*Clin. Cancer. Res.* 7:2022-2030.
166. Wirth T, Soeth E, Czubayko F, Juhl H. (2002). *Clin. Exp. Metastasis*.19:155-160.
167. Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? *Clin Chem.* 2001 Apr;47(4):624-30.
168. Arnaud JP, Koehl C, Adloff M. Carcinoembryonic antigen (CEA) in diagnosis and prognosis of colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum.* 1980 Apr;23(3):141-4.
169. Pietra N, Sarli L, Costi R, Ouchemi C, Grattarola M, Peracchia A. Role of follow-up in management of local recurrences of colorectal cancer: a prospective, randomized study. *Dis Colon Rectum.* 1998 Sep;41(9):1127-33.
170. Wiggers T, Arends JW, Volovics A. Regression analysis of prognostic factors in colorectal cancer after curative resections. *Dis Colon Rectum.* 1988 Jan;31(1):33- 41.
171. Wolmark N, Fisher B, Wieand HS, Henry RS, Lerner H, Legault-Poisson S, et al. The prognostic significance of preoperative carcinoembryonic antigen levels in colorectal cancer. Results from NSABP (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project) clinical trials. *Ann Surg.* 1984 Apr;199(4):375-82.
172. Scott NA, Wieand HS, Moertel CG, Cha SS, Beart RW, Lieber MM. Colorectal cancer. Dukes' stage, tumor site, preoperative plasma CEA level, and patient prognosis related to tumor DNA ploidy pattern. *Arch Surg.* 1987 Dec;122(12):1375-9.
173. Slentz K, Senagore A, Hibbert J, Mazier WP, Talbott TM. Can preoperative and postoperative CEA predict survival after colon cancer resection? *Am Surg.* 1994 Jul;60(7):528-31; discussion 31-2.
174. Harrison LE, Guillem JG, Paty P, Cohen AM. Preoperative carcinoembryonic antigen predicts outcomes in node-negative colon cancer patients: a multivariate analysis of 572 patients. *J Am Coll Surg.* 1997 Jul;185(1):55-9.
175. Wanebo HJ, Rao B, Pinsky CM, Hoffman RG, Stearns M, Schwartz MK, et al. Preoperative carcinoembryonic antigen level as a prognostic indicator in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1978 Aug 31;299(9):448-51.
176. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Jul;124(7):979-94.
177. The clinical significance of preoperative serum levels of carbohydrate antigen 19-9 in colorectal cancer Hyeon Yu, Gyung-Mo Son, Yong-Geul Joh. *J Korean Surg Soc* 2013;84:231-237
178. Sideris M, papagrigoriadis S. Molecular Biomarkers and Classification Models in the

- Evaluation of the Prognosis of Colorectal Cancer. *Anticancer Research*. 2014. 34:52061-2068
- Mismatch repair deficient colorectal cancer in the era of personalized treatment Madeleine Hewish, Christopher J. Lord, Sarah A. Martin, David Cunningham and Alan Ashworth. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* (2010). 7:197–208
179. Graziano F, Cascinu S. Prognostic molecular markers for planning adjuvant chemotherapy trials in Dukes' B colorectal cancer patients: How much evidence is enough? *Ann Oncol* 2003;14:1026–1038.
- 180 Locker G, Hamilton S, Harris J et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5313–5327.
181. Liefers GJ, Tollenaar RA. Cancer genetics and their application to individualised medicine. *Eur J Cancer* 2002;38:872–879.
- 182 Benatti P, Gafà R, Barana D et al. Microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *Clin Cancer Res* 2005;11:8332–8340.
- 22 Raut C, Pawlik T, Rodriguez-Bigas MA. Clinicopathologic features in colorectal cancer patients with microsatellite instability. *Mutat Res* 2004; 568:275–282.
- 183 Tejpar S. The multidisciplinary management of gastrointestinal cancer. The use of molecular markers in the diagnosis and treatment of colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007;21:1071–1087.
- 184 Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol* 2005;23:609–618.
- 185 Warusavitarne J, Schnitzler M. The role of chemotherapy in microsatellite unstable (MSI-H) colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2007;22:739–748.
- 186 Houlston RS. What we could do now: Molecular pathology of colorectal cancer. *Mol Pathol* 2001;54:206–214.
- 187 Anwar S, Frayling I M, Scott NA. Systematic review of genetic influences on the prognosis of colorectal cancer. *Br J Surg* 2004;91:1275–1291.
- 188 Klump B, Nehls O, Okech T et al. Molecular lesions in colorectal cancer: Impact on prognosis. *Int J Colorectal Dis* 2004;19:23–42.
- 189 Pasche B, Mulcahy M, Benson AB 3rd. Molecular markers in prognosis of colorectal cancer and prediction of response to treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002;16:331–345.
- 190 Kahlenberg MS, Sullivan JM, Witmer DD et al. Molecular prognostics in colorectal cancer. *Surg Oncol* 2003;12:173–186.
- 191 Clark AJ, Barnetson R, Farrington S et al. Prognosis in DNA mismatch repair deficient colorectal cancer: Are all MSI tumours equivalent? *Fam Cancer* 2004;3:85–91.
- 192 Söreide K, Janssen EA, Söiland H et al. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Br J*

Surg 2006;93:395–406.

193 Habermann JK, Roblick UJ, Upender M et al. From genome to proteome in tumor profiling: Molecular events in colorectal cancer genesis. *Adv Exp Med Biol* 2006;587:161–177.

194 Ogino S, Goel A. Molecular classification and correlates in colorectal cancer. *J Mol Diagn* 2008;10:13–27.

195 Niv Y. Biologic behavior of microsatellite-unstable colorectal cancer and treatment with 5-fluorouracil. *Isr Med Assoc J* 2005;7:520–524.

196. Stocchi L, Nelson H, Sargent DJ, O'Connell MJ, Tepper JE, Krook JE, et al. Impact of surgical and pathologic variables in rectal cancer: a United States community and cooperative group report. *J Clin Oncol*. 2001 Sep 15;19(18):3895–902.

197. Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, Ueki T, Satriano R, Haller DG, et al. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med*. 2001 Apr 19;344(16):1196–206.

198. *Br J Cancer* cancer staging handbook 7e.

199 Carethers JM, Chauhan DP, Fink D, Nebel S, Bresalier RS, Howell SB, et al. Mismatch repair proficiency and in vitro response to 5-fluorouracil. *Gastroenterology*. 1999 Jul;117(1):123–31.

200. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med*. 2003 Jul 17;349(3):247–57.

EGFR

201 Ng K, Zhu AX. Targeting the epidermal growth factor receptor in metastatic colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;65:8–20.

202 Scartozzi M, Pierantoni C, Berardi R et al. Epidermal growth factor receptor: A promising therapeutic target for colorectal cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 2006;28:61–68.

203 Scartozzi M, Pierantoni C, Berardi R et al. Anti-EGFR strategies as an incremental step for the treatment of colorectal cancer patients: Moving from scientific evidence to clinical practice. *Expert Opin Ther Targets* 2006;10:281–287.

204 Overman MJ, Hoff PM. EGFR-targeted therapies in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2007;50:1259–1270.

205 Kluftinger AM, Robinson BW, Quenville NF et al. Correlation of epidermal growth factor receptor and c-erbB2 oncogene product to known prognostic indicators of colorectal cancer. *Surg Oncol* 1992;1:97–105.

206 Steele RJ, Kelly P, Ellul B et al. Epidermal growth factor receptor expression in colorectal cancer. *Br J Surg* 1990;77:1352–1354.

- 207 Kountourakis P, Pavlakis K, Psyrri A et al. Clinicopathologic significance of EGFR and Her-2/neu in colorectal adenocarcinomas. *Cancer J* 2006; 12:229–236.
- 208 Deng Y, Kurland BF, Wang J et al. High epidermal growth factor receptor expression in metastatic colorectal cancer lymph nodes may be more prognostic of poor survival than in primary tumor. *Am J Clin Oncol* 2009;32: 245–252.
- 209 Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: Implications for a standardized scoring system. *Cancer* 2001;92:1331–1346.
- 210 Spano JP, Milano G, Vignot S et al. Potential predictive markers of response to EGFR-targeted therapies in colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;66:21–30.
- 211 Rivera F, Vega-Villegas ME, López-Brea MF. Cetuximab, its clinical use and future perspectives. *Anticancer Drugs* 2008;19:99–113.
- 212 Peeters M, Price T, Van Laethem JL. Anti-epidermal growth factor receptor monotherapy in the treatment of metastatic colorectal cancer: Where are we today? *The Oncologist* 2009;14:29–39.
- 213 Kahlenberg MS, Sullivan JM, Witmer DD et al. Molecular prognostics in colorectal cancer. *Surg Oncol* 2003;12:173–186.
- 214 Williams JP, Stewart T, Li B et al. The retinoblastoma protein is required for Ras-induced oncogenic transformation. *Mol Cell Biol* 2006;26:1170–1182.
- 215 Conlin A, Smith G, Carey F et al. The prognostic significance of K-ras, p53, and APC mutations in colorectal carcinoma. *Gut* 2005;54:1283–1286.
- 216 Locker GY, Hamilton S, Harris J et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5313–5322.
- 217 Anwar S, Frayling IM, Scott NA et al. Systematic review of genetic influences on the prognosis of colorectal cancer. *Br J Surg* 2004;91:1275–1291.
- 218 Klump B, Nehls O, Okech T et al. Molecular lesions in colorectal cancer: Impact on prognosis? Original data and review of the literature. *Int J Colorectal Dis* 2004;19:23–42.
- 219 Westra J, Schaapveld M, Hollema H et al. Determination of TP53 mutation is more relevant than microsatellite instability status for the prediction of disease-free survival in adjuvant-treated stage III colon cancer patients. *J Clin Oncol* 2005;23:5635–5643.
- 220 Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: The multicenter “RASCAL” study. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:675–684.
- 221 Tol J, Koopman M, Cats A et al. Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009;360:563–572.
- 222 Peeters M, Price T, Van Laethem JL. Anti-epidermal growth factor receptor monotherapy in the

treatment of metastatic colorectal cancer: Where are we today? *The Oncologist* 2009;14:29–39.

223 Ciardiello F, Tejpar S, Papamichael D. Implications of KRAS mutation status for the treatment of metastatic colorectal cancer. *Target Oncol* 2009;4:311–322.

224 Jimeno A, Messersmith WA, Hirsch FR et al. KRAS mutations and sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibitors in colorectal cancer: Practical application of patient selection. *J Clin Oncol* 2009;27:1130–1136.

225 Raponi M, Winkler H, Dracopoli NC. KRAS mutations predict response to EGFR inhibitors. *Curr Opin Pharmacol* 2008;8:413–418.

226 Siena S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F et al. Biomarkers predicting clinical outcome of epidermal growth factor receptor-targeted therapy in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1308–1324.

227 Siddiqui AD, Piperdi B. KRAS mutation in colon cancer: A marker of resistance to EGFR-I therapy. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1168–1176.

228 Normanno N, Tejpar S, Morgillo F et al. Implications for KRAS status and EGFR-targeted therapies in metastatic CRC. *Nat Rev Clin Oncol* 2009;6: 519–527.

229 Bekaii-Saab T. KRAS testing in metastatic colorectal cancer: Implications on the use of biologic agents. *Clin Colorectal Cancer* 2009;8:135–140.

230 Plesec TP, Hunt JL. KRAS mutation testing in colorectal cancer. *Adv Anat Pathol* 2009;16:196–203.

231 Chang DZ, Kumar V, Ma Y et al. Individualized therapies in colorectal cancer: KRAS as a marker for response to EGFR-targeted therapy. *J Hematol Oncol* 2009;2:18.

232 Baynes RD, Gansert J. KRAS mutational status as a predictor of epidermal growth factor receptor inhibitor efficacy in colorectal cancer. *Am J Ther* 2009;16:554–561.

233 Saif MW, Shah M. K-ras mutations in colorectal cancer: A practice-changing discovery. *Clin Adv Hematol Oncol* 2009;7:45–53, 64.

234 Allegra C. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: Testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. *J Clin Oncol* 2009;27:2091–2096.

235 Javle M, Hsueh CT. Updates in gastrointestinal oncology—insights from the 2008 44th annual meeting of the American Society of Clinical Oncology. *J Hematol Oncol* 2009;2:9.

236 Amado RG, Wolf M, Peeters M et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1626–1634.

237 Heinemann V, Stintzing S, Kirchner T et al. Clinical relevance of EGFR and KRAS-status in colorectal cancer patients treated with monoclonal antibodies directed against the EGFR. *Cancer*

Treat Rev 2008;35:262– 271

238 Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile JF, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res.* 2006 Apr 15;66(8):3992-5.

239 Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, Hartmann JT, Aparicio J, de Braud F, et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Feb 10;27(5):663-71.

240 Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2009 Apr 2;360(14):1408-17.

241. <http://www.oncogenetics.org/web/fda-updates-vecitibix-and-erbitux-labels-with-kRAS-testing-info>. Retrieved 2009-07-20. OOJFuVaElwKtiOO.

242 Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009;58:90–96

243 Souglakos J, Philips J, Wang R et al. Prognostic and predictive value of common mutations for treatment response and survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009;101:465–472.

244 Richman SD, Seymour MT, Chambers P et al. KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but do not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan: Results from the MRC FOCUS trial. *J Clin Oncol* 2009;27:5931–5937.

245 Zlobec I, Bihl MP, Schwarb H et al. Clinicopathological and protein characterization of BRAF- and K-RAS-mutated colorectal cancer and implications for prognosis. *Int J Cancer* 2010;127:367–380.

246 Siena S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F et al. Biomarker predicting clinical outcome of epidermal growth factor receptor-targeted therapy in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1308–1324.

247 Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G et al. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5924–5930.

248 Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Nichelatti M et al. Multi-determinants analysis of molecular alterations for predicting clinical benefit to EGFR-targeted monoclonal antibodies in colorectal cancer. *PLoS ONE* 2009;4:e7287

249 Di Nicolantonio F, Martini M., Molinari F et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*

2008;26:5705–5712

250 Kim JH, Shin SH, Kwon HJ et al. Prognostic implications of CpG island hypermethylator phenotype in colorectal cancers. *Virchows Arch* 2009; 455:485–494

251 Toyota M, Ho C, Ahuja N et al. Identification of differentially methylated sequences in colorectal cancer by methylated CpG island amplification. *Cancer Res* 1999;59:2307–2312

252 Sanchez JA, Krumroy L, Plummer S et al. Genetic and epigenetic classifications define clinical phenotypes and determine patient outcomes in colorectal cancer. *Br J Surg* 2009;96:1196–1204

253 Ward RL, Cheong K, Ku SL et al. Adverse prognostic effect of methylation in colorectal cancer is reversed by microsatellite instability. *J Clin Oncol* 2003;21:3729–3736.

254 Lee S, Cho NY, Choi M et al. Clinicopathological features of CpG island methylator phenotype-positive colorectal cancer and its adverse prognosis in relation to KRAS/BRAF mutation. *Pathol Int* 2008;58:104–113.

255 Ogino S, Meyerhardt JA, Kawasaki T et al. CpG island methylation, response to combination chemotherapy, and patient survival in advanced microsatellite stable colorectal carcinoma. *Virchows Arch* 2007;450: 529–537.

256 Shen L, Catalano PJ, Benson AB 3rd et al. Association between DNA methylation and shortened survival in patients with advanced colorectal cancer treated with 5-fluorouracil based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2007;13:6093–6098.

257 Samowitz WS, Sweeney C, Herrick J et al. Poor survival associated with the BRAF V600E mutation in microsatellite-stable colon cancers. *Cancer Res* 2005;65:6063–6069

258 Barault L, Charon-Barra C, Jooste V et al. Hypermethylator phenotype in sporadic colon cancer: Study on a population-based series of 582 cases. *Cancer Res* 2008;68:8541–8546

259 Hawkins N, Norrie M, Cheong K et al. CpG island methylation in sporadic colorectal cancer and its relationship to microsatellite instability. *Gastroenterology* 2002;122:1376–1387.

260 Elsaleh H, Joseph D et al. CpG island methylator phenotype is an independent predictor of survival benefit from 5-fluorouracil in stage III colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9:2898–2903.

261 Ogino S, Goel A. Molecular classification and correlates in colorectal cancer. *J Mol Diagn* 2008;10:13–27

262 Lurje G, Zhang W, Lenz HJ. Molecular prognostic markers in locally advanced colon cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2007;6:683–690.

263 Ratto C, Sofo L, Ippoliti M et al. Prognostic factors in colorectal cancer. Literature review for clinical application. *Dis Colon Rectum* 1998;41: 1033–1049.

- 264 Shankaran V, Wisinski KB, Mulcahy MF et al. The role of molecular markers in predicting response to therapy in patients with colorectal cancer. *Mol Diagn Ther* 2008;12:87–98.
265. Locker GY, Hamilton S, Harris J et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5313–5327
266. Lurje G, Zhang W, Lenz HJ. Molecular prognostic markers in locally advanced colon cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2007;6:683–690.
- 267 O’Connell MJ, Schaid DJ, Ganju V et al. Current status of adjuvant chemotherapy for colorectal cancer. Can molecular markers play a role in predicting prognosis? *Cancer* 1992;70(6 suppl):1732–1739.
- 268 Graziano F, Catalano V, Baldelli AM et al. Prognostic biomarkers in resected colorectal cancer: Implications for adjuvant chemotherapy. *Expert Rev Anticancer Ther* 2001;1:247–257.
- 269 Clarke SL, Betts GJ, Plant A et al. CD4, CD25, FOXP3 regulatory T cells suppress anti-tumor immune responses in patients with colorectal cancer. *PLoS ONE* 2006;1:e129.
270. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, Kern SE, Simons JW, Ruppert JM, et al. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science*. 1990 Jan 5;247(4938):49-56
- 271 Jen J, Kim H, Piantadosi S. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994;331:213–221.
272. Mehlen P, Rabizadeh S, Snipas SJ, Assa-Munt N, Salvesen GS, Bredesen DE. The DCC gene product induces apoptosis by a mechanism requiring receptor proteolysis. *Nature*. 1998 Oct 22;395(6704):801-4.
273. Leichman CG, Lenz HJ, Leichman L, Danenberg K, Baranda J, Groshen S, et al. Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin. *J Clin Oncol*. 1997 Oct;15(10):3223-9.
274. Metzger R, Danenberg K, Leichman CG, Salonga D, Schwartz EL, Wadler S, et al. High basal level gene expression of thymidine phosphorylase (platelet-derived endothelial cell growth factor) in colorectal tumors is associated with nonresponse to 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res*. 1998 Oct;4(10):2371-6.
275. Salonga D, Danenberg KD, Johnson M, Metzger R, Groshen S, Tsao-Wei DD, et al. Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase, and thymidine phosphorylase. *Clin Cancer Res*. 2000 Apr;6(4):1322-7.
276. Edler D, Glimelius B, Hallstrom M, Jakobsen A, Johnston PG, Magnusson I, et al. Thymidylate synthase expression in colorectal cancer: a prognostic and predictive marker of benefit

from adjuvant fluorouracil-based chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2002 Apr 1;20(7):1721-8.

277 Svennevig JL, Lunde OC, Holter J, Bjorgsvik D. Lymphoid infiltration and prognosis in colorectal carcinoma. *Br J Cancer*. 1984 Mar;49(3):375-7.

278 Pages F, Berger A, Camus M, Sanchez-Cabo F, Costes A, Molitor R, et al. Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2005 Dec 22;353(25):2654-66

279 Yaqub S, Henjum K, Mahic M et al. Regulatory T cells in colorectal cancer patients suppress anti-tumor immune activity in a COX-2 dependent manner. *Cancer Immunol Immunother* 2008;57:813–821.

280 Loddenkemper C, Schernus M, Noutsias M et al. In situ analysis of FOXP3 regulatory T cells in human colorectal cancer. *J Transl Med* 2006;4:52.

281 Ling KL, Pratap SE, Bates GJ et al. Increased frequency of regulatory T cells in peripheral blood and tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer patients. *Cancer Immun* 2007;7:7.

282 Salama P, Phillips M, Grieco F et al. Tumor-infiltrating FOXP3 T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:186–192.

283 Suzuki H, Chikazawa N, Tasaka T et al. Intratumoral CD8 T/FOXP3 cell ratio is a predictive marker for survival in patients with colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:653–661.

284 Le Gouvello S, Bastuji-Garin S, Aloulou N et al. High prevalence of Foxp3 and IL17 in MMR-proficient colorectal carcinomas. *Gut* 2008;57: 772–779.

285 Frey DM, Droese RA, Viehl CT et al. High frequency of tumor-infiltrating FOXP3 regulatory T cells predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients. *Int J Cancer* 2010;126:2635–2643.

286 Lugli A, Zlobec I, Günthert U et al. Overexpression of the receptor for hyaluronic acid mediated motility is an independent adverse prognostic factor in colorectal cancer. *Mod Pathol* 2006;19:1302–1309

287 Zlobec I, Minoo P, Baumhoer D et al. Multimarker phenotype predicts adverse survival in patients with lymph node-negative colorectal cancer. *Cancer* 2008;112:495–502.

288 Jehan Z, Bavi P, Sultana M et al. Frequent PIK3CA gene amplification and its clinical significance in colorectal cancer. *J Pathol* 2009;219:337–346.

289 Kato S, Iida S, Higuchi T et al. PIK3CA mutation is predictive of poor survival in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer* 2007;121:1771–1778.

- 290 Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ et al. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:1477–1484.
- 291 Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F et al. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res* 2009;69:1851–1857.
- 292 Souglakos J, Philips J, Wang R et al. Prognostic and predictive value of common mutations for treatment response and survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009;101:465–472.
- 293 Tejpar S, Odze RD. Accomplishments in 2008 in biologic markers for gastrointestinal cancers—focus on colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2009;3(5 suppl 2):S73–S78.
- 294 Laurent-Puig P. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5924–5930.
- 295 Loupakis F, Pollina L, Stasi I et al. PTEN expression and KRAS mutations on primary tumors and metastases in the prediction of benefit from cetuximab plus irinotecan for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2622–2629.
- 296 Zlobec I, Molinari F, Kovac M et al. Prognostic and predictive value of TOPK stratified by KRAS and BRAF gene alterations in sporadic, hereditary and metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer*. 2010.102:151–161.
- 297 Hiroko O, Masashi I, Daisuke K, Yoshitaka H, Yasuhide Y, Koh F, Toshiaki G, Hideki O, Hiroyuki O, Hikaru S, Masatoshi W, Hitoshi N, Jun Y, Takashi K, Naoto T. Circulating Exosomal microRNAs as Biomarkers of Colon Cancer. *PLoS ONE* 9(4): e92921
- 298 Xi C, Yi B, Lijia M. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Research* (2008) 18:997-1006
299. Spitz FR, Giacco GG, Hess K, Larry L, Rich TA, Janjan N, et al. p53 immunohistochemical staining predicts residual disease after chemoradiation in patients with high-risk rectal cancer. *Clin Cancer Res*. 1997 Oct;3(10):1685-90.
300. Rebischung C, Gerard JP, Gayet J, Thomas G, Hamelin R, Laurent-Puig P. Prognostic value of P53 mutations in rectal carcinoma. *Int J Cancer*. 2002 Jul 10;100(2):131-5.
- 301 Tudek B, Speina E. Oxidatively damaged DNA and its repair in colon carcinogenesis. *Mutat Res* 2012;736:82–92.
- 302 Obtulowicz T, Swoboda M, Speina E, et al. Oxidative stress and 8-oxoguanine repair are enhanced in colon adenoma and carcinoma patients. *Mutagenesis* 2010;25:463–71.
303. Galizia G, Lieto E, Ferraraccio F, et al. Determination of molecular marker expression can predict clinical outcome in colon carcinomas. *Clin Cancer Res* 2004;10:3490–9.

304. Buyse M, Piedbois P. Should Dukes' B patients receive adjuvant therapy? A statistical perspective. *Semin Oncol* 2001;28:20–4.
305. Olinski R, Gackowski D, Foksinski M, et al. Oxidative DNA damage: assessment of the role in carcinogenesis, atherosclerosis, and acquired immunodeficiency syndrome. *Free Radic Biol Med* 2002;33:192–200.
306. Tudek B, Speina E. Oxidatively damaged DNA and its repair in colon carcinogenesis. *Mutat Res* 2012;736:82–92.
307. Tudek B, Winczura A, Janik J, et al. Involvement of oxidatively damaged DNA and repair in cancer development and aging. *Am J Transl Res* 2010;2: 254–84.
308. Radicella JP, Dherin C, Desmaze C, et al. Cloning and characterization of hOGG1, a human homolog of the OGG1 gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94: 8010–
309. Shinmura K, Yokota J. The OGG1 gene encodes a repair enzyme for oxidatively damaged DNA and is involved in human carcinogenesis. *Antioxid Redox Signal* 2001;3:597–609.
310. Hegde ML, Hazra TK, Mitra S. Early steps in the DNA base excision/single-strand interruption repair pathway in mammalian cells. *Cell Res* 2008;18:27–47.
311. Flohr C, Burkle A, Radicella JP, Epe B. Poly (ADP-ribosyl)ation accelerates DNA repair in a pathway dependent on Cockayne syndrome B protein. *Nucleic Acids Res* 2003;31:5332–7.
312. Noren HN, Kompaniez K, Barnes J, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) binds to 8-oxoguanine-DNA glycosylase (OGG1). *J Biol Chem* 2011;286:44679–90.
313. Collins AR, Gedik CM, Olmedilla B, et al. Oxidative DNA damage measured in human lymphocytes: large differences between sexes and between countries, and correlations with heart disease mortality rates. *FASEB J* 1998;12:1397– 400.
314. Lenton KJ, Theriault H, Fulop T, et al. Glutathione and ascorbate are negatively correlated with oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Carcinogenesis* 1999;20:607–13.
315. Schlotte V, Sevanian A, Hochstein P, et al. Effect of uric acid and chemical analogues on oxidation of human low density lipoprotein in vitro. *Free Radic Biol Med* 1998;25:839–47
- 33,34
316. Shi Y, Evans JE, Rock KL. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* 2003;425:516–21.
317. Hu DE, Moore AM, Thomsen LL, et al. Uric acid promotes tumor immune rejection. *Cancer Res* 2004;64:5059–62.
318. Brockhaus M, Magnani JL, Blaszczyk M, Steplewski Z, Koprowski H, Karlsson KA, Larson G, Ginsburg V. Monoclonal antibodies directed against the human Leb blood group antigen. *J Biol Chem*.1981 Dec 25;256(24):13223–13225.

319. Borut S. Systemic therapy for colorectal cancer. *Archive of oncology*. 2003. 11:4:255-263.
320. Biomarkers Predicting Clinical Outcome of Epidermal Growth Factor Receptor – Targeted Therapy in Metastatic Colorectal Cancer Salvatore Siena. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1308–1324
321. DeBenedette M, Radvanyi L, Singh-Sandhu D, Berinstein NL. Anticarcinoembryonic antigen immunity. *Cancer Chemother Biol Response Modif*. 2003;21:299-325.
322. Berinstein NL. Carcinoembryonic antigen as a target for therapeutic anticancer vaccines: a review. *J Clin Oncol*. 2002 Apr 15;20(8):2197-207
323. Diplock AT, Charleux JL, Crozier-Willi G, et al. Functional food science and defence against reactive oxygen species. *British Journal of Nutrition* 1998; 80(Suppl 1):S77-S112.
324. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007; 39(1):44-325
- Finkel, T. Signal transduction by mitochondrial oxidants. *J. Biol. Chem.* 287, 4434–4440 (2012).
326. Handy, D. E. & Loscalzo, J. Redox regulation of mitochondrial function. *Antioxid. Redox Signal*. 16, 1323–1367 (2012).
327. Schrader, M. & Fahimi, H. D. Peroxisomes and oxidative stress. *Biochim. Biophys. Acta* 1763, 1755–1766 (2006).
328. Malhotra, J. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid. Redox Signal*. 9, 2277–2293 (2007).
- 329 Janssen-Heininger. Redox-based regulation of signal transduction: principles, pitfalls, and promises. *Free Radic. Biol. Med.* 45, 1–17 (2008).
330. Watson AJ1, Collins PD. Colon cancer: a civilization disorder. 2011;29(2):222-8
- 331 Gingras D, Béliveau R. Colorectal cancer prevention through dietary and lifestyle modifications. *Cancer Microenviron*. 2011. 4(2):133-9
- 332 Takachi R. Red meat intake may increase the risk of colon cancer in Japanese, a population with relatively low red meat consumption. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2011;20(4):603-333.
- Giovannucci EL, Processed and Unprocessed Red Meat and Risk of Colorectal Cancer: Analysis by Tumor Location and Modification by Time. *PLoS One*. 2015. 25;10(8)
334. Steinmetz K, Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer. II. Mechanisms.. *Cancer Causes Control*. 1991. 2(6):427-42
335. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2010; 3(4): 228-237

336. Moon, R. C. 1989. Comparative aspects of carotenoids and retinoids as chemopreventive agents for cancer. *J. Nutr.* 119:127-34
337. Peto, R., Doll, R., Buckley, J. D., Sporn, M. B. 1981. Can dietary beta carotene materially reduce human cancer rates? *Nature* 290:201-8
338. Birt, D. F. 1986. Update on the effects of vitamins A, C, and E and selenium on carcinogenesis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 183:311-20
339. Krinsky, N. I. 1991. Effects of carotenoids in cellular and animal systems. *Am. J. Clin. Nutr.* 53:238S-46S
340. Margaret P. Rayman. Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. *Proceedings of the Nutrition Society* (2005), 64, 527–542
341. Davis CD, Tsuji PA, Milner JA. Selenoproteins and Cancer Prevention. *Annual Review of Nutrition* 2012; 32:73-95.
342. Rayman MP. The importance of selenium to human health. *Lancet.* 2000. 356(9225):233-41
343. Hatfield D, Gladyshev V. How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol Cell Biol.* 2002. 22(11):3565-76.
344. Combs G, Lu J. Selenium in cancer prevention: clinical issues and implications. *Cancer Invest.* 2001. 19(5):540-53.
345. Whanger P. Selenium and its relationship to cancer: an update. *Br J Nutr.* 2004. 91(1):11-28.
346. Combs G. Current evidence and research needs to support a health claim for selenium and cancer prevention. *Jr. J Nutr.* 200. 135(2):343-7.
347. Shamberger R, Frost D. Possible protective effect of selenium against human cancer. *Can Med Assoc J.* 1966. 12;100(14):682.
348. Schrauzer G. Trace elements, nutrition and cancer: perspectives of prevention. *Adv Exp Med Biol.* 1977. 91:323-44.
349. Clark LC, Combs GF, Jr, Turnbull BW, et al. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA* 1996; 276:1957–63.
350. Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, et al. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:630–9.
351. Meplan C, Hesketh J. The influence of selenium and selenoprotein gene variants on colorectal cancer risk. *Mutagenesis* 2012;27:177–86.

352. Vinceti M, Crespi CM, Malagoli C, et al. Friend or foe? The current epidemiologic evidence on selenium and human cancer risk. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2013; 31:305–41.
353. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). *JAMA* 2009;301:39–51.
354. Takata Y, Kristal AR, King IB, et al. Serum selenium, genetic variation in selenoenzymes, and risk of colorectal cancer: primary analysis from the Women's Health Initiative Observational Study and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1822–30.
355. Bonelli L, Puntoni M, Gatteschi B, et al. Antioxidant supplement and long-term reduction of recurrent adenomas of the large bowel. A doubleblind randomized trial. *J Gastroenterol* 2013;48: 698–705
356. Wallace K, Byers T, Morris JS, et al. Prediagnostic serum selenium concentration and the risk of recurrent colorectal adenoma: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:464–7.
357. Jacobs ET, Jiang R, Alberts DS, et al. Selenium and colorectal adenoma: results of a pooled analysis. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1669–75.
358. Peters U, Chatterjee N, Church TR, et al. High serum selenium and reduced risk of advanced colorectal adenoma in a colorectal cancer early detection program. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:315–20.
359. Pathi, S. Pharmacologic doses of ascorbic acid repress specificity protein (Sp) transcription factors and Sp-regulated genes in colon cancer cells. 2011. *Nutrition and Cancer*, 63, 1133-42
360. An, S. Vitamin C increases the apoptosis via up-regulation p53 during cisplatin treatment in human colon cancer cells. *BMB reports*. 2011. 44, 211-6.
361. Reddy S. Effect of dietary sodium ascorbate on 1,2dimethylhydrazine- or methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*. 1982. 3:1097-9.
362. D Papaioannou, A Booth, RF Logan Health. Chemoprevention of colorectal cancer: systematic review and economic evaluation Technology Assessment. 2010. Vol. 14: No. 32. Health Technology Assessment NIHR HTA programme.
363. Cooney RV, Custer LJ, Okinaka L, Franke AA. Effects of dietary sesame seeds on plasma tocopherol levels. *Nutr Cancer* 2001. 3:66-71.
364. McLaughlin PJ, Weihrauch JL. Vitamin E content of foods. *J Am Diet Assoc* 1979;75:647-65.
365. Brigelius-Flohe R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J* 1999;13:1145-

366. Prasad KN, Edwards-Prasad J. Vitamin E and cancer prevention: recent advances and future potentials. *J Am Coll Nutr* 1992;11:487-500.
367. Byers T, Guerrero N. Epidemiologic evidence for vitamin C and vitamin E in cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1385S-1392S.
368. Tolzenberg-Solomon R. Vitamin E intake, alpha-tocopherol status, and pancreatic cancer in a cohort of male smokers. *Am J Clin Nutr*. 2009. 89(2):584-91.
369. Weber T, Lu M, Andera L, et al. Vitamin E succinate is a potent novel antineoplastic agent with high selectivity and cooperativity with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (Apo2 ligand) in vivo. *Clin Cancer Res* 2002. 8:863-9.
370. Neuzil J, Zhao M, Ostermann G, et al. Alpha-tocopheryl succinate, an agent with in vivo anti-tumour activity, induces apoptosis by causing lysosomal instability. *Biochem J* .2002. 362:709-15.
371. Stone WL, Papas AM, LeClair IO, Qui M, Ponder T. The influence of dietary iron and tocopherols on oxidative stress and ras-p21 levels in the colon. *Cancer Detect Prev* 2002;26:78-84 .
372. Jen J, Powell SM, Papadopoulos N, et al. Molecular determinants of dysplasia in colorectal lesions. *Cancer Res* 1994;54:5523-6.
373. Sidransky D, Tokino T, Hamilton SR, et al. Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors. *Science* 1992;256:102-5.
374. Gysin R, Azzi A, Visarius T. Gamma-tocopherol inhibits human cancer cell cycle progression and cell proliferation by downregulation of cyclins. *FASEB J* 2002;16:1952-4.
375. Adolfsson O, Huber BT, Meydani SN. Vitamin E-enhanced IL-2 production in old mice: naive but not memory T cells show increased cell division cycling and IL-2-producing capacity. *J Immunol* 2001;167:3809-17.
376. Li-Weber M, Weigand MA, Giaisi M, et al. Vitamin E inhibits CD95 ligand expression and protects T cells from activation-induced cell death. *J Clin Invest* 2002;110:681-90.
377. Muir WI, Husband AJ, Bryden WL. Dietary supplementation with vitamin E modulates avian intestinal immunity. *Br J Nutr* 2002;87:579-85.
378. Malmberg KJ, Lenkei R, Petersson M, et al. A short-term dietary supplementation of high doses of vitamin E increases T helper 1 cytokine production in patients with advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:1772-8.
379. Borek. Integrative cancer therapies 3(4); 2004
380. Steele VE, Moon RC, Lubet RA, Grubbs CJ, Reddy BS, Wargovich M, et al. Preclinical efficacy evaluation of potential chemopreventive agents in animal carcinogenesis models: methods

and results from the NCI Chemoprevention Drug Development Program. *J Cell Biochem Suppl* 1994;20: 32-54.

381Schatzkin A, Kelloff G. Chemo- and dietary prevention of colorectal cancer. *Eur J Cancer* 1995;31A:1198-204

382 Statland BE. Nutrition and cancer. *Clin Chem* 1992;38:1587-94

383Ames BN, Gold LS, Willett WC. The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:5258-65

384 Liu JF, Huang CJ. Dietary oxidized frying oil enhances alpha-tocopherol depletion and radioisotope tracer excretion in vitamin E-deficient rats. *J Nutr* 1996;126:2227-35.

385. Bostick RM, Potter J. Reduced risk of colon cancer with high intake of vitamin E: the iowa Women's Health Study. *Cancer Res.* 1993. 15;53(18):4230-7.

386Christen S, Woodall AA, Shigenaga MK, Southwell-Keely PT, Duncan MW, Ames BN. gamma-tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO(X) and complements alpha-tocopherol: physiological implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3217-22.

387 Cooney RV, Franke AA, Harwood PJ, Hatch-Pigott V, Custer LJ, Mordan LJ. Gamma-tocopherol detoxification of nitrogen dioxide: superiority to alpha-tocopherol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1771-5.

388 McKeown-Eyssen G, Holloway C, Jazmaji V, Bright-See E, Dion P, Bruce WR. A randomized trial of vitamins C and E in the prevention of recurrence of colorectal polyps. *Cancer Res* 1988;48:4701-5.

389. Tang L1, Lee AH, Xu F, Zhang T, Lei J, Binns CW. Fruit and vegetable consumption and risk of esophageal cancer: a case-control study in north-west China. *Dis Esophagus.* 2014.27(8):777-82

390. Testa JR1, Tschlis PN. *Oncogene.* AKT signaling in normal and malignant cells. 2005. 14;24(50):7391-3.

391. Taurin S, Sandbo N, Qin Y, Browning D, Dulin NO. Phosphorylation of beta-catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase. *J Biol Chem.* 2006. 14;281(15):9971-6.

392. Choi SY, Park JH, Kim JS, Kim MK, Aruoma OI, Sung MK. Effects of quercetin and beta-carotene supplementation on azoxymethane-induced colon carcinogenesis and inflammatory responses in rats fed with high-fat diet rich in omega-6 fatty acids. *Biofactors.* 2006;27(1-4):137-46.

393.Nagendraprabhu P, Sudhandiran G. Astaxanthin inhibits tumor invasion by decreasing extracellular matrix production and induces apoptosis in experimental rat colon carcinogenesis by modulating the expressions of ERK-2, NFkB and COX-2. *Invest New Drugs.* 2011. 29(2):207-24.

394. Tanaka T, Shnimizu M, Moriwaki H. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules.* 2012. 14;17(3):3202-42.

395. Onogi N, Okuno M, Matsushima-Nishiwaki R, Fukutomi Y, Moriwaki H, Muto Y, Kojima S. Antiproliferative effect of carotenoids on human colon cancer cells without conversion to retinoic acid. *Nutr Cancer*. 1998;32(1):20-4.
396. Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature Rev Drug Discov* 2006;5:493–506.
397. Athar M, Back JH, Tang X, et al. Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007;224:274–83.
398. Schneider Y, Vincent F, Duranton B, et al. Anti-proliferative effect of resveratrol, a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells. *Cancer Lett* 2000;158:85–91.
399. Fuggetta MP, Lanzilli G, Tricarico M, et al. Effect of resveratrol on proliferation and telomerase activity of human colon cancer cells in vitro. *J Exp & Clin Cancer Res* 2006;25:189–93.
400. Sale S, Verschoyle RD, Boocock D, et al. Pharmacokinetics in mice and growth-inhibitory properties of the putative cancer chemopreventive agent resveratrol and the synthetic analogue trans 3,4,5,4'-tetramethoxystilbene. *Brit J Cancer*. 2004. 90:736–44.
401. Green C, Boyle T. Tea, coffee, and milk consumption and colorectal cancer risk. *J Epidemiol*. 2014;24(2):146-53.
402. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674 (2011)
403. Jones, R. G. & Thompson, C. B. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev*. 23, 537–548 (2009)
404. Wang Z, Joshi A, Ohnaka K. Dietary intakes of retinol, carotenes, vitamin C, and vitamin E and colorectal cancer risk: the Fukuoka colorectal cancer study. *Nutr Cancer*. 2012. 64(6):798-805
405. Park S, Nomura A. Carotenoid intake and colorectal cancer risk: the multiethnic cohort study. *J Epidemiol*. 2009. 19(2):63-71.
406. Mekary RA, Wu K. Total antioxidant capacity intake and colorectal cancer risk in the Health Professionals Follow-up Study. *Cancer Causes Control*. 2010. 21(8):1315-21
407. Longnecker M, Martin-Moreno J. Serum alpha-tocopherol concentration in relation to subsequent colorectal cancer: pooled data from five cohorts. *J Natl Cancer Inst*. 1992. 84(6):430-5.
408. Roncucci L, Di Donato P, Carati L. Antioxidant vitamins or lactulose for the prevention of the recurrence of colorectal adenomas. Colorectal Cancer Study Group of the University of Modena and the Health Care District 16. *Dis Colon Rectum*. 1993. 36(3):227-34.
409. Paganelli GM, Brandi G, Santucci R. Chemoprevention of colorectal cancer: role of antioxidant vitamins. *Eur J Cancer Prev*. 1992. 3:87-91.

410. López-Oliva ME, Pozuelo MJ. Grape antioxidant dietary fibre prevents mitochondrial apoptotic pathways by enhancing Bcl-2 and Bcl-xL expression and minimising oxidative stress in rat distal colonic mucosa. *Br J Nutr*. 2013. 14;109(1):4-16.
411. Jiménez JP1, Serrano J. Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. *Nutrition*. 2008 Jul-Aug;24(7-8):646-53.
412. Juśkiewicz J, Milala J, Jurgoński A, Król B, Zduńczyk Z. Consumption of polyphenol concentrate with dietary fructo-oligosaccharides enhances cecal metabolism of quercetin glycosides in rats. *Nutrition*. 2011. 27(3):351-7.
413. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Sao Paulo Med J*. 2015. 133(2):164-5.
414. Bjelakovic G, Nagorni A, Nikolova D, Simonetti RG, Bjelakovic M, Gluud C. Meta-analysis: antioxidant supplements for primary and secondary prevention of colorectal adenoma. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006. 24(2):281-91.
415. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Apr 16;(2):CD007176
416. Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Jul 16;(3)
417. Gluud C, Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012. 14:(3)
418. Sangeetha P, Das UN, Koratkar R, Suryaprabha P. Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *Free Radic Biol Med*. 1990; 8:15-19.
419. Weijl NI, Hopman GD, Wipkink-Bakker A, Lentjes EGWM, Berget HM. Cisplatin combination chemotherapy induces a fall in plasma antioxidants of cancer patients. *Ann Oncol*. 1998;9: 1331-1337.
420. Virtamo J, Pientinen P, Huttunen JK, et al. Incidence of cancer mortality, following alpha-tocopherol and beta-carotene supplementation: a postintervention follow-up. *JAMA*. 2003;290: 476-485.
421. Young AJ, Lowe GM. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys*. 2001;385:20-27.
422. Lenton KJ, Greenstock CL. Ability of human plasma to protect against ionizing radiation is inversely correlated with age. *Mech Ageing Dev*. 1999;107:15-20.
423. Rhee. H₂O₂, a necessary evil for cell signaling. *Science* 312, 1882–1883 (2006).

424. Gloire G. NF- κ B activation by reactive oxygen species: fifteen years later. *Biochem. Pharmacol.* 72, 1493–1505 (2006).
425. Naik E. Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production. *J. Exp. Med.* 208, 417–420 (2011).
426. Audrey H. Calderwood & Paul C. Schroy 3rd. Increasing colorectal cancer screening—miles to go. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2011. 8, 421–422