



«Μελέτη του Αγγειακού Ενδοθηλιακού Αυξητικού Παράγοντα - VEGF - σε προχωρημένο καρκίνο από πλακώδες επιθήλιο της κεφαλής και του τραχήλου»

ΝΙΚΟΛΑΟΣ-ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ Κ. ΑΓΓΟΥΡΙΔΑΚΗΣ

Ειδικευόμενος, Α' ΩΡΛ Κλινική Α.Π.Θ.

Εισαγωγή

Αντικείμενο της διατριβής αποτέλεσε η μελέτη της νεοπλασματικής αγγειογένεσης στο υποτροπιάζον, τοποπεριοχικά προχωρημένο καρκίνωμα από πλακώδες επιθήλιο, της περιοχής κεφαλής και τραχήλου, μέσω της ανίχνευση της οικογένειας αυξητικών παραγόντων VEGF (A, A₁₂₁, A₁₆₅, A₁₈₉, B, C, D, R1, R2, R3) στην υποτροπή.

Ασθενείς και Μέθοδοι

Για το σκοπό αυτό αξιοποιήθηκαν διατηρημένα, σε βαθιά κατάψυξη, ογκολογικά ιστοτεμάχια υποτροπής, από 41 ασθενείς της Α' ΩΡΛ κλινικής ΑΠΘ, τα οποία συλλέχθηκαν μεταξύ Ιανουαρίου 2002 και Ιουλίου 2004 και από τα οποία απομονώσαμε RNA και στη συνέχεια με τη μέθοδο TaqMan (RealTime) PCR τους παραπάνω παράγοντες-γονίδια. Η διαδικασία έλαβε μέρος στο Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας της εταιρείας Bayer HealthCare AG, Diagnostics Research, στο Λεβερκούζεν της Γερμανίας (σχήμα 1).

Το σύνολο των ασθενών που μελετήθηκαν αποτελούνταν από άρρενες διάμεσης ηλικίας 65 έτη (45-77). Από αυτούς 29 (71%) είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό κακοήθους νεοπλασίας, δύο (5%) δήλωσαν μη καπνιστές και 13 (32%) ανέφεραν ελάχιστη χρήση αλκοόλ.

Η εντόπιση του πρωτογενούς νεοπλασματος, αφορούσε κυρίως στο λάρυγγα (37 ασθενείς, 89%), 26 από αυτούς (63%) τη γλωττιδική μοίρα, 10 (24%) την υπεργλωττιδική μοίρα και σε μία περίπτωση (2%) διαγλωττιδικό. Η σταδιοποίηση κατά TNM, βάσει της έκτασης του καρκινώματος κατά τη διάγνωσή ήταν, T1 & T2 σε 27 ασθενείς (66%),

T3 & T4 σε 12 ασθενείς (30%), ενώ δεν υπήρξαν επαρκή στοιχεία σε δύο ασθενείς (4%). Τριανταπέντε ασθενείς (85%) δεν εμφάνισαν θετικούς επιχώριους λεμφαδένες κατά τη πρωταρχική διάγνωση και αντιμετώπιση (N0), τρεις (7%) ήταν σταδίου N1 και ένας (2%) σταδίου N2. Για δύο ασθενείς δεν υπήρξαν επαρκή στοιχεία. Κανένας από τους ασθενείς που μελετήθηκαν δεν είχε απομακρυσμένη μεταστατική νόσο τη στιγμή της διάγνωσης της πρωτογενούς νόσου (M0). Η αντιμετώπιση ήταν κατά κύριο λόγο χειρουργική. Είκοσι-εννέα (71%) υποβλήθηκαν σε χειρουργική αφαίρεση, ενώ από τους υπόλοιπους 12 (29%) λήφθηκε μόνο βιοψία και ακολουθήθηκε συντηρητική αντιμετώπιση. Συνολικά 21 ασθενείς (51%) υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία.

Το διάμεσο διάστημα από τη διάγνωση και αντιμετώπιση της πρωτογενούς νόσου, έως και την εμφάνιση της πρώτης υποτροπής ήταν 14 μήνες (πεδίο: 3-245 μήνες).

Η εντόπιση της υποτροπής ήταν κατά κύριο λόγο τοπική-ενδολαρυγγική (28 ασθενείς, 68%). Σε 2 (5%) ασθενείς η υποτροπή ήταν τοπική-ενδολαρυγγική με θετικούς επιχώριους λεμφαδένες, ενώ σε 4 (10%) ασθενείς εντοπίστηκε μόνο στους επιχώριους λεμφαδένες. Δύο ασθενείς (5%) που είχαν υποβληθεί σε ολική λαρυγγεκτομή εμφάνισαν τοπική υποτροπή στο τραχειόστομα, 4 (9%) στα μαλακά μόρια του τραχήλου, ενώ σε έναν ασθενή (2%) η υποτροπή ήταν τοπική στο στοματοφάρυγγα. Η αντιμετώπιση της υποτροπής ήταν επίσης κυρίως χειρουργική. Από τους 41 ασθενείς οι 27 (64%) υποβλήθηκαν σε χειρουργική αφαίρεση της νόσου,

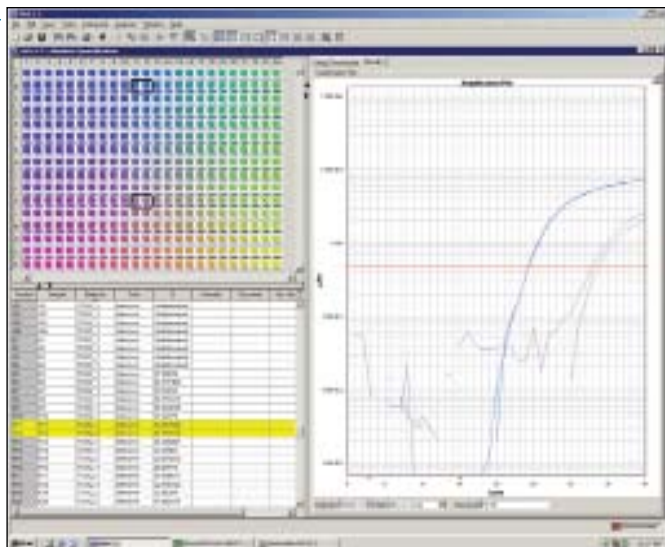
ενώ από τους υπόλοιπους λήφθηκε βιοψία και ακολουθήθηκε συντηρητική αντιμετώπιση. Συνολικά 10 ασθενείς (24%) υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία και 10 (24%) ακολούθησαν πρωτόκολλο χημειοθεραπείας για την υποτροπή της νόσου.

Αποτελέσματα

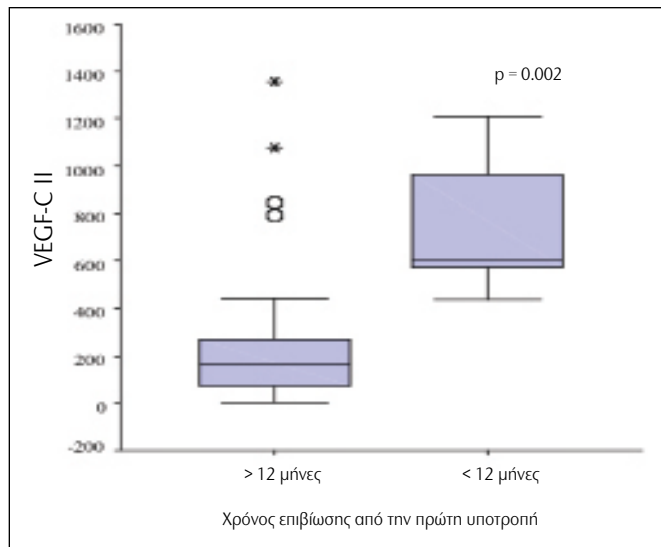
Δεν προέκυψε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης των γονιδίων αυτών και του μεγέθους (νεοπλασματική μάζα) της υποτροπής. Αντίθετα, υπήρξε σημαντική σχέση του αριθμού των τσιγάρων με την αυξημένη έκφραση του παράγοντα VEGF-A (p=0.035) και σημαντική αρνητική συσχέτιση του αριθμού των ετών χρήσης καπνού με την αυξημένη έκφραση του γονιδίου VEGF-C (p=0.034).

Διαπιστώσαμε ακόμα, ότι ασθενείς με υποτροπή στα μαλακά μόρια ή τους τραχηλικούς λεμφαδένες είχαν αυξημένη έκφραση του παράγοντα VEGF-R3 (p=0.006) σε σχέση με αυτούς που εμφάνισαν τοπική υποτροπή.

Από την ανάλυση των δεδομένων μας σε σχέση με τον επανέλεγχο διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς που επιβίωσαν για διάστημα μικρότερο των 12 μηνών μετά την πρώτη υποτροπή της νόσου, είχαν αυξημένη έκφραση του γονιδίου VEGF C (p=0.010), του VEGF C II (p=0.002) (σχήμα 2) και του VEGF C IV. Και τα τρία αυτά γονίδια κωδικοποιούν τον παράγοντα VEGF-C. Επίσης, διαπιστώσαμε ότι οι ασθενείς που επιβίωσαν διάστημα μικρότερο των 24 μηνών από την αρχική διάγνωση της νόσου είχαν σημαντικά αυξημένη έκφραση του γονιδίου VEGF C (p=0.014) και του γονιδίου VEGF C II (p=0.044). Και αυτά κωδικοποιούν τον παράγοντα



Σχήμα 1. Ανίχνευση του παράγοντα VEGF C (Ασθενής PhD no:33), μέθοδος TaqMan (RealTime) PCR.



Σχήμα 2. Κιτιόγραμμα 9.3.6.12. Επίπεδα VEGF-C II σε ασθενείς με επιβίωση >12 μήνες και <12 μήνες. Από τη μελέτη του κιτιογράμματος προκύπτει ότι, οι ασθενείς που επιβίωσαν διάστημα μικρότερο των 12 μηνών μετά την 1η υποτροπή της νόσου, είχαν αυξημένη έκφραση VEGF C II ($p=0.002$).

VEGF-C, με την κατανομή του χρόνου επιβίωσης να μη διαφέρει σημαντικά σε ασθενείς με υψηλή και μειωμένη έκφραση VEGF C.

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων με το πολυμεταβλητό μοντέλο του Cox διαπιστώσαμε ότι η επιβίωση των ασθενών, μετά την εμφάνιση πρώτης υποτροπής επηρεάζεται: α) δυσμενώς από την αυξημένη έκφραση των παραγόντων VEGF-R1 ($p=0.001$), VEGF-C ($p=0.003$), VEGF-A₁₈₉ ($p=0.003$), VEGF-D ($p=0.081$ οριακά, μη στατιστικώς σημαντικά) και β) ευνοϊκά από την αυξημένη έκφραση των παραγόντων VEGF-A ($p=0.002$), VEGF-R3 ($p=0.051$), VEGF-A₁₂₁ ($p=0.086$, οριακά, μη στατιστικώς σημαντικά).

Συζήτηση

Μετά από έρευνα στην αγγλόφωνη βιβλιογραφία, κατά την άποψή μας, δε βρέθηκε άλλη μελέτη, ολόκληρης της οικογένειας VEGF, σε φρέσκο-κατεψυγμένο ιστό, από ασθενείς με υποτροπή καρκινώματος από πλακώδες επιθήλιο, στην περιοχή κεφαλής και τραχήλου, έως και σήμερα (2007). Μία από τις εγκυρότερες μελέτες, εκπονήθηκε το 2000, από την ΩΡΛ Κλι-

νική του Νοσοκομείου Royal Marsden, του Λονδίνου¹.

Οι δύο μελέτες διαφέρουν ουσιαστικά. Στη δική μας, μελετήσαμε την υποτροπή της νόσου, ενώ η ομάδα του Royal Marsden μελέτησε το πρωτογενές, τοπικά προχωρημένο, καρκίνωμα από πλακώδες επιθήλιο. Τα αποτελέσματά μας μερικώς συμφωνούν, καθώς αμφότεροι διαπιστώσαμε ότι η έκφραση των παραγόντων VEGF-C και VEGF-A₁₈₉ επηρεάζουν δυσμενώς την επιβίωση των ασθενών με υποτροπή. Αλλά και η αυξημένη έκφραση παράγοντα VEGF-R3 σε ασθενείς με υποτροπή στα μαλακά μόρια ή τους τραχηλικούς λεμφαδένες, σε σχέση με αυτούς που εμφάνισαν τοπική υποτροπή, συμπίπτει με τα δεδομένα της αγγλόφωνης βιβλιογραφίας.

Ο παράγοντας αυτός, θεωρείται ότι αποτελεί υψηλής συγγένειας υποδοχέα για τον παράγοντα VEGF-C και παίζει κριτικό ρόλο στη διαδικασία της νεοπλασματικής αγγειο- και λεμφαγγειογένεσης σε πολλές κακοήθειες νεοπλασίες.

Συμπεράσματα

Από τη μελέτη μας, φαίνεται ότι η

αύξηση της έκφρασης των παραγόντων VEGF-C και VEGF-R3, σχετίζεται με μειωμένη «ελεύθερης νόσου» επιβίωση και αυξημένη πιθανότητα υποτροπής. Η ανίχνευσή τους είναι επιπλέον σε φρέσκο-κατεψυγμένο ιστό, με κόστος αρκετά υψηλό, αλλά όχι απαγορευτικό. Προκειμένου να στοιχειοθετηθεί οποιαδήποτε κακοήθεια είναι απαραίτητη η λήψη βιοψίας. Θα μπορούσε ταυτόχρονα να ανιχνεύονται και οι συγκεκριμένοι παράγοντες και να μελετηθούν περαιτέρω, προκειμένου να αξιοποιηθούν ως δείκτες επικινδυνότητας για ανάπτυξη υποτροπής. Αυτοί οι ασθενείς θα αντιμετωπίζονται με περισσότερο «επιθετικές» θεραπείες και πιο εντατικό πρόγραμμα κλινικο-εργαστηριακού επανελέγχου, με σκοπό να προληφθεί η υποτροπή της νόσου και να αυξηθεί η «ελεύθερη νόσου» επιβίωσή τους, συμβάλλοντας, κατ' αυτό τον τρόπο, στη βελτίωση της ποιότητας ζωής και ενδεχομένως, στην αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης.

Βιβλιογραφία - References

1. O-charoenrat P, Rhys-Evans P, Eccles SA. Expression of vascular endothelial growth factor family members in head and neck squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis. *Cancer*. 2001 Aug 1; 92(3):556-68. 