

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ – ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
Β' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Φ. ΚΛΩΝΙΖΑΚΗΣ

ΠΑΝΕΠ. ΕΤΟΣ 2010-2011 ΑΡΙΘΜ. ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ 3026

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΕΛΙΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟ
ΤΟΥ ΠΥΛΩΡΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ
ΜΕ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ**

ΜΙΧΑΗΛ Δ. ΔΙΑΜΑΝΤΙΔΗΣ
ΙΑΤΡΟΣ, MSc

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΥ ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2011

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΕΛΙΣΣΑΒΕΤ ΙΩΑΝΝΙΔΟΥ – ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΑΚΗ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΟΥΝΤΟΥΡΑΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΕΥΔΟΚΙΑ ΜΑΝΔΑΛΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

Η ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΕΛΙΣΣΑΒΕΤ ΙΩΑΝΝΙΔΟΥ – ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΑΚΗ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΟΥΝΤΟΥΡΑΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΕΥΔΟΚΙΑ ΜΑΝΔΑΛΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΙΩΑΝΝΗΣ Φ. ΚΛΩΝΙΖΑΚΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΒΑΣΙΛΕΙΑ ΓΑΡΥΠΙΔΟΥ – ΒΡΑΤΣΚΙΔΟΥ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΜΑΡΙΑ ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ, ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

Η έγκρισις της Διδακτορικής Διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, δεν υποδηλοί αποδοχή των γνωμών του συγγραφέως.

(Νόμος 5343/32, αρθρ. 202 § 2 και ν. 1268/82, αρθρ. 50 § 8)

**ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ Β. ΝΤΟΜΠΡΟΣ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΤΟΜΕΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΪΔΗΣ**

Στη δασκάλα μου Ε. Ιωαννίδου,
με σεβασμό

Στην οικογένειά μου
με αγάπη

Στους ανθρώπους που με αγαπούν
και με στηρίζουν

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	11
----------------	----

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ	17
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	17
B. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	18
Γ. ΑΙΤΟΛΟΓΙΑ – ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	19
Δ. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΜΔΣ	26
Ε. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	37
ΣΤ. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	38
Ζ. ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΔΣ	42
Η. ΘΕΡΑΠΕΙΑ	47
Θ. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ	62
I. ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ ΓΙΑ ΜΔΣ ΚΑΙ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ	64
ΙΑ. ΕΙΚΟΝΕΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΟ ΜΔΣ	65
II. ΕΛΙΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟ ΤΟΥ ΠΥΛΩΡΟΥ (Hp)	79
A. ΓΕΝΙΚΑ	79
1. Επαγωγή υποχλωρυδρίας	84
2. Προσκόλληση Hp	85
3. Παράγοντες ιστικής βλάβης	86
3α. LPS	86
3β. Άλλοι παράγοντες ενεργοποίησης και στρατολόγησης λευκοκυττάρων	86
3γ. CagA και VacA (vacuolization cytotoxin A) πρωτεΐνες	87
3δ. Heat shock πρωτεΐνες (Hsps)	90
3ε. Χημειοκίνες	90
4. Φλεγμονώδεις μεσολαβητές	91
5. Συμπλήρωμα (C)	99
6. Άλλες πρωτεΐνες	99
7. Πορεία Hp-λοίμωξης	100
B. ΚΥΡΙΕΣ Hp-ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ	101
1. Γαστροδωδεκαδακτυλικά έλκη	102
2. Γαστρικός καρκίνος	102
3. MALT λέμφωμα	105

Γ. ΑΛΛΕΣ H _p -ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ	106
Δ. H _p -ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΕΞΩΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ	109
1. Θεραπεία εκρίζωσης	110
III. H_p-ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	112
IV. H_p ΚΑΙ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ	114

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	119
A. Σκοπός της διατριβής	119
B. Ασθενείς και μάρτυρες	120
Γ. Ερευνητικό πρωτόκολλο	121
Δ. Βασικές αρχές της κυτταρομετρίας ροής	122
E. Μέθοδοι	123
ΣΤ. Στατιστική ανάλυση	130
II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	131
III. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	139
IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	159
V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	169
VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	172
VII. SUMMARY	174
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	176

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο όρος μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ) περιλαμβάνει ετερογενή κλωνικά νοσήματα, που προκαλούνται από ενδογενείς διαταραχές στο επίπεδο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου. Σε ασθενείς με ΜΔΣ διαταράσσεται η ομαλή παραγωγή των κυτταρικών σειρών από το μυελό των οστών. Ανοσοφαινοτυπικές παρεκκλίσεις από το φυσιολογικό, καθώς και διαταραχές στον αριθμό των κυττάρων του περιφερικού αίματος, είναι συχνές στο νόσημα αυτό. Η θνησιμότητα οφείλεται στις κυτταροπενίες, που οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων, αναιμία εξαρτώμενη από μεταγίσεις και αιμορραγική διάθεση. Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά για την επιδημιολογία των ΜΔΣ, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων κινδύνου.

Το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (Hr) είναι ένα Gram αρνητικό, σπειροειδές βακτηρίδιο, που εντοπίζεται στο γαστρικό βλεννογόνο των περισσότερων ατόμων παγκοσμίως, επηρεάζοντας κυρίως τους ηλικιωμένους του αναπτυγμένου κόσμου, μεταξύ των οποίων και της Ελλάδας. Πάνω από το μισό του πληθυσμού της Γης είναι μολυσμένο με το βακτήριο. Θεωρείται 1^η τάξεως καρκινογόνο, σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας, αφού είναι το κύριο αίτιο του γαστρικού καρκίνου σε όλη την υφήλιο. Το Hr συσχετίζεται με ποικίλα νοσήματα του ανώτερου γαστρεντερικού και με καταστάσεις που δεν αφορούν το πεπτικό σύστημα, όπως η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα ή η σιδηροπενική αναιμία.

Παρόλο που τα ΜΔΣ εκδηλώνονται κυρίως στους ηλικιωμένους, η πιθανότητα συσχέτισής τους με την Hr-λοίμωξη, δεν έχει πλήρως διερευνηθεί. Σκοπό της παρούσας διατριβής αποτελεί η διερεύνηση πιθανής αιτιολογικής συσχέτισης ανάμεσα στην Hr-λοίμωξη και τα ΜΔΣ, μέσω εκτίμησης της παρουσίας της Hr-λοίμωξης και μέσω μελέτης των μεταβολών των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών στο περιφερικό αίμα ασθενών με ΜΔΣ (είτε θετικών είτε αρνητικών για την Hr-λοίμωξη), σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες.

Η μελέτη περιλαμβάνει δύο μέρη, το γενικό και το ειδικό. Στο γενικό, πρώτο μέρος, περιγράφονται η επιδημιολογία του ΜΔΣ, η αιτιολογία-παθογένεια του συνδρόμου, οι ταξινομήσεις του ΜΔΣ από την ταξινόμηση κατά FAB του 1982 μέχρι την πιο πρόσφατη κατά WHO του 2008, η κλινική εικόνα, η διάγνωση και η διαφορική διάγνωση του ΜΔΣ, η πρόγνωση και η θεραπευτική αντιμετώπιση του συνδρόμου, καθώς και οι μελλοντικοί ερευνητικοί στόχοι για το ΜΔΣ. Στη συνέχεια του γενικού

μέρους, ακολουθεί η περιγραφή της λοίμωξης από το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (Hr-λοίμωξης) με γενικά στοιχεία για το βακτηρίδιο, τον τρόπο με τον οποίο αποικίζει τον οργανισμό, τους μοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους προκαλεί τις εκδηλώσεις από τα διάφορα όργανα και τον τρόπο αλληλεπίδρασής του με το ανοσιακό σύστημα του οργανισμού. Στη συνέχεια περιγράφονται οι κύριες Hr-σχετιζόμενες παθολογικές καταστάσεις, οι λοιπές Hr-σχετιζόμενες εντερικές και εξωεντερικές εκδηλώσεις και τελικά, τα αιματολογικά νοσήματα που σχετίζονται με τη λοίμωξη, καθώς και τα βιβλιογραφικά δεδομένα που σκιαγραφούν το ρόλο του Hr στο ΜΔΣ.

Στο ειδικό, δεύτερο μέρος, αρχικά περιγράφονται το υλικό και η μεθοδολογία της μελέτης, ενώ στη συνέχεια αναλύονται τα αποτελέσματα. Ακολουθεί η στατιστική ανάλυση, η συζήτηση των αποτελεσμάτων, τα κύρια συμπεράσματα, η περίληψη στην ελληνική και στην αγγλική γλώσσα, καθώς και η βιβλιογραφία που χρησιμοποιήθηκε.

Το ερευνητικό πρωτόκολλο της μελέτης εκπονήθηκε με τη συνεργασία του Αιματολογικού Τμήματος της Β' και Δ' Παθολογικής Κλινικής του Α.Π.Θ., του Γαστρεντερικού Τμήματος της Β' Παθολογικής Κλινικής του Α.Π.Θ., του Ανοσολογικού Τμήματος και του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου του Ιπποκρατείου Γενικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης.

Στο σημείο αυτό νιώθω τη βαθιά ανάγκη να ευχαριστήσω όλους εκείνους που συνέβαλαν στη πραγματοποίηση αυτής της μελέτης. Πρωτίστως, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στη Δασκάλα μου και επιβλέπουσα της Διατριβής Καθηγήτρια κ. Ελισσάβετ Ιωαννίδου-Παπαγιαννάκη. Είναι ο άνθρωπος που με εισήγαγε στην ιατρική επιστήμη και έρευνα, ο βασικός λόγος για τον οποίο επέλεξα την ειδικότητα της Αιματολογίας, ο άνθρωπος που μου ενέπνευσε και συνεχίζει να μου εμπνέει τη χαρά της δημιουργίας και τις διαχρονικές αξίες του ήθους και της αξιοκρατίας. Την ευχαριστώ για την πολυετή συνεργασία, για την ανάθεση του θέματος, την αδιάκοπη βοήθειά της, τις υποδείξεις της και την επίβλεψή της κατά τη διάρκεια εκπόνησης τόσο του διετούς μεταπτυχιακού, όσο και της διδακτορικής διατριβής. Χωρίς την επιμονή της, την εργατικότητα της και το ακούραστο ενδιαφέρον της η διατριβή αυτή δε θα μπορούσε να ολοκληρωθεί. Είμαι τυχερός, γιατί αποτελεί για μένα για πάντα υψηλό πρότυπο δασκάλου, επιστήμονα, εργατικότητας, συνέπειας, ήθους και ανθρώπου.

Βαθιά ευγνωμοσύνη θα ήθελα να εκφράσω και προς τον Καθηγητή κ. Ιωάννη Κουντουρά, που πίστεψε στην ερευνητική μας προσπάθεια, την αγάπησε και τη στήριξε αποφασιστικά. Τον ευχαριστώ για όσα μου δίδαξε, για τις υποδείξεις του, για την

εργατικότητά του και την αμέριστη συμπαράσταση κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής. Είναι πρότυπο επιστήμονα, συνέπειας και ανθρώπου για μένα.

Ευχαριστώ επίσης θερμά την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Ευδοκία Μανδαλά, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για τη βοήθειά της στη συλλογή του υλικού της μελέτης, για το ενδιαφέρον, την εμπιστοσύνη και τις καίριες υποδείξεις της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Πολλές ευχαριστίες οφείλω επίσης στα μέλη της επταμελούς επιτροπής, τον Καθηγητή κ. Ιωάννη Κλωνιζάκη, την Καθηγήτρια κ. Βασιλεία Γαρυπίδου-Βρατσκίδου, τον Καθηγητή κ. Αθανάσιο Παπαδόπουλο και την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Μαρία Παπαϊωάννου για τις εποικοδομητικές υποδείξεις τους και τις διορθώσεις τους.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την κ. Ευθυμία Παραπανήσιου για την παραχώρηση του εργαστηρίου Ανοσολογίας του Ιπποκρατείου για τη διεξαγωγή των πειραμάτων της κυτταρομετρίας ροής, την κ. Ιφιγένεια Φρυδά – Μιχαηλίδου και τον κ. Ιωάννη Βενιζέλο, διευθυντή του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του Ιπποκρατείου για τη βοήθειά τους στο εργαστηριακό σκέλος της μελέτης. Ακόμα το συνάδελφο κ. Γεώργιο Τσαπουρνά για τη συμβολή του στη συγκέντρωση του υλικού της μελέτης και τις κ. Φανή Μακροβασίλη και κ. Μαγδαληνή Σαμαρά για την τεχνική υποστήριξη και συνεργασία τους στην ολοκλήρωση των πειραμάτων της κυτταρομετρίας ροής.

Επίσης, επιθυμώ να ευχαριστήσω τη Λέκτορα Αιματολογίας κ. Γεωργία Καϊάφα για τη συνεχή υποστήριξη, συμπαράσταση και τις πολύτιμες συμβουλές της, κατά τη διάρκεια διεξαγωγής της διατριβής.

Κλείνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συγγενείς, φίλους και συναδέλφους, που με βοήθησαν ηθικά και με ενθάρρυναν να συνεχίσω στις δύσκολες στιγμές. Εκφράζω την ευγνωμοσύνη μου και στο Θεό για τη φώτιση και τη δύναμη που μου παρείχε. Τέλος, ευχαριστώ τους ασθενείς και τους εθελοντές που μετείχαν στη μελέτη.

Μιχάλης Δ. Διαμαντίδης
Θεσσαλονίκη, Ιανουάριος 2011

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Πολυάριθμοι όροι, όπως *ψευδοαπλαστική αναιμία* (Luzzatto, 1907), *αναιμία προλευχαιμίας* (Parkes-Weber, 1921), *ανθεκτική αναιμία* (Rhoads και Barker, 1938), *προλευχαιμία* (Block, 1953), *ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς ερυθροβλάστες* (Bjorkman, 1956), *λανθάνουσα οξεία λευχαιμία* (Rheinhold, 1963), *ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών* (Dreyfus, 1976), *αιμοποιητική δυσπλασία* (Linman και Bagby, 1978), *υποξεία ή υποβόσκουσα μυελογενής λευχαιμία* (Cohen, 1979), *δυσμυελοποιητικό σύνδρομο* (Streli, 1980) και τελικά ο σημερινός αποδεκτός διεθνής όρος, **μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ)** (Bennett, 1982) έχουν χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά για να περιγράψουν μια *ετερογενή* ομάδα επίκτητων κλωνικών νεοπλασματικών διαταραχών του μυελού των οστών στο επίπεδο του αρχέγονου πολυδύναμου αιμοποιητικού κυττάρου. Οι ασθενείς με ΜΔΣ χαρακτηρίζονται από μη αποδοτική αιμοποίηση, ανθεκτικές κλωνικές κυτταροπενίες στο περιφερικό αίμα που ενδέχεται να περιλαμβάνουν και τις 3 σειρές, μορφολογικές αποδείξεις δυσπλαστικών αλλοιώσεων στο μυελό των οστών και από τάση μετασχηματισμού σε οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ). Προσέρχονται τυπικά με διαφορετικούς βαθμούς αναιμίας, λευκοπενίας και θρομβοπενίας, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, γεγονός που καθιστά αρκετούς από αυτούς εξαρτώμενους από μεταγγίσεις και επιρρεπείς σε λοιμώξεις και αιμορραγικές διαθέσεις.¹⁻³

Η ομάδα των ΜΔΣ είναι ετερογενής, τόσο από πλευράς μορφολογικής εικόνας του αίματος και του μυελού (δυσερυθροποίηση, δυσκοκκιοποίηση, δυσμεγακαρυοποίηση), όσο και από πλευράς κλινικών εκδηλώσεων και πρόγνωσης. Ενδέχεται να σχετίζονται με προηγούμενες τοξικές επιδράσεις στο μυελό. Η φυσική ιστορία του συνδρόμου εκτείνεται από οξεία νόσηση με θανατηφόρο λευχαιμική μετάπτωση μέσα σε λίγες εβδομάδες έως χρόνια κατάσταση που ενδέχεται να διαρκέσει πολλά έτη και περιλαμβάνει τις καλοηθέστερες κλωνικές αναιμίες με χαμηλή συχνότητα μετάπτωσης σε ΟΜΛ. Αφορά συνήθως άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών και στην πλειοψηφία των περιπτώσεων είναι ιδιοπαθές. Μέρος της παθοφυσιολογίας της νόσου πιθανώς οφείλεται και στη συμμετοχή των κυττάρων του μικροπεριβάλλοντος του μυελού ή και του ανοσοποιητικού συστήματος, δοθείσης της συνύπαρξης αυτοάνοσων νοσημάτων, καθώς και αυξημένης συχνότητας λεμφοϋπερπλαστικών νόσων στα ΜΔΣ.²

Στους περισσότερους ασθενείς η ασθένεια προκαλείται de novo (πρωτοπαθές ΜΔΣ). Ωστόσο, ένας αριθμός ασθενών που έχει προηγουμένως εκτεθεί σε τοξικούς παράγοντες ή έχει λάβει χημειοθεραπεία μόνη ή σε συνδυασμό με ακτινοθεραπεία για άλλες κακοήθειες, ενδέχεται να αναπτύξει δευτεροπαθώς ΜΔΣ, 5 με 7 έτη μετά την αρχική έκθεση. Τα δευτεροπαθή ΜΔΣ γενικά έχουν μια πιο επιθετική πορεία από τα πρωτοπαθή ΜΔΣ με μέση επιβίωση που ανέρχεται μόλις στους 10 μήνες.¹

B. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Το ΜΔΣ φαίνεται να είναι η συχνότερη αιματολογική κακοήθεια που επηρεάζει τους ηλικιωμένους με μέση ηλικία διάγνωσης τα 60-78 έτη.⁴ Η πραγματική επίπτωση των ΜΔΣ δεν είναι γνωστή. Εκτιμάται ότι πάνω από 10.000 νέες περιπτώσεις διαγιγνώσκονται ετησίως στις Η.Π.Α σε άτομα με μέση ηλικία τα 76 έτη. Μόνο το 7% των περιπτώσεων με διάγνωση πρωτοπαθές ΜΔΣ είναι κάτω των 50 ετών.^{1, 5-6} Βασισμένη σε περιορισμένο αριθμό ευρωπαϊκών εθνικών μελετών, η επίπτωση των ΜΔΣ στην Ευρώπη εκτιμάται ότι ποικίλλει από 3 ως 20 περιπτώσεις/100.000/έτος και αυξάνει σε 50 περιπτώσεις/100.000/έτος σε άτομα μεγαλύτερα των 70 ετών¹ και σε 89 περιπτώσεις/100.000/έτος σε άτομα μεγαλύτερα των 80 ετών.^{1, 5} Η συχνότητα στους άντρες είναι σημαντικά υψηλότερη συγκριτικά με τις γυναίκες (4,5 έναντι 2,7 αντίστοιχα/100.000).¹ Στις Η.Π.Α. η συχνότητα του συνδρόμου κυμαίνεται από λιγότερο από 5 περιπτώσεις/100.000/έτος για ασθενείς κάτω των 60, σε 36,2 περιπτώσεις/100.000/έτος για ασθενείς άνω των 80 με μέση ηλικία διάγνωσης τα 76 έτη και αυξημένη επίπτωση σε άρρενες και λευκούς.⁷

Το ΜΔΣ εμφανίζεται στη μεγάλη ηλικία τρεις φορές συχνότερα από την ΟΜΛ και δυο φορές συχνότερα από τη χρόνια λεμφογενή λευχαιμία και το πολλαπλούν μυέλωμα μαζί.⁵⁻⁷ Τα πρωτοπαθή ΜΔΣ αποτελούν το 2-4% όλων των νεοπλασιών.⁵⁻⁷ Στην παιδική ηλικία πολύ σπάνια παρατηρούνται ΜΔΣ. Αναφέρεται συχνότητα 1-4 περιστατικά/1.000.000/έτος σε ηλικίες από 4 μηνών ως 18 ετών.⁵⁻⁷

Η πρόσφατη αύξηση της επίπτωσης των ΜΔΣ μπορεί να είναι αληθινή, τη στιγμή που ο μέσος όρος ζωής έχει αυξηθεί. Δεν πρόκειται πιθανότατα για πραγματική αύξηση στον αριθμό των ΜΔΣ, αλλά αντανακλά τη βελτίωση στη γηριατρική ιατρική φροντίδα και την καλύτερη διαγνωστική προσέγγιση των ασθενών με ανθεκτικές κυτταροπενίες. Ωστόσο, λόγω της πιθανής αύξησης του μέσου όρου ζωής (το ποσο-

στό των ατόμων άνω των 65 αναμένεται να διπλασιαστεί στις επόμενες δεκαετίες) και της διαγνωστικής ικανότητας για ΜΔΣ στο βιομηχανικό κόσμο, η συχνότητα του ΜΔΣ αναμένεται να αυξηθεί στην επόμενη δεκαετία.⁷

Ενδιαφέρον εύρημα αποτελεί η διαπίστωση ότι η μέση ηλικία διάγνωσης των ασθενών στις ασιατικές χώρες είναι κατά μια δεκαετία μικρότερη από ότι στις δυτικές χώρες. Επιπλέον, οι Ιάπωνες ασθενείς (νεότεροι σε ηλικία) παρόλο που διαθέτουν σοβαρότερες κυτταροπενίες, έχουν ευνοϊκότερη πρόγνωση συγκριτικά με τους Γερμανούς, καθώς εμφανίζουν χαμηλότερο κίνδυνο εξέλιξης σε ΟΜΛ.⁸⁻⁹

Γ. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ – ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Στα πρωτοπαθή (de novo) ΜΔΣ, που αποτελούν και το 90% του συνόλου, δεν ανευρίσκονται ιδιαίτεροι προδιαθεσικοί παράγοντες πρόκλησής τους. Σε ελάχιστες περιπτώσεις προϋπάρχει άλλο αιματολογικό νόσημα, όπως απλαστική αναιμία.^{5, 10-11} Η έκθεση στο βενζόλιο, σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες [κυρίως αλκυλιωτικοί παράγοντες (μελφαλάνη, κυκλοφωσφαμίδη, χλωραμβουκίλη) ή αναστολείς των τοποϊσομερασών ή οι επιποδοφυλλοτοξίνες (ετοποσίδη)] και η ιονίζουσα ακτινοβολία (θεραπευτική, πυρηνικά ατυχήματα) αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης δευτεροπαθών ΜΔΣ.¹⁰⁻¹² Οι παραπάνω παράγοντες μπορεί να προκαλέσουν βλάβη στο DNA, καταστροφή ή αλλοίωση των επιδιορθωτικών ενζύμων του DNA, καθώς επίσης και απώλεια της ακεραιότητας των χρωμοσωμάτων.¹³

Υπάρχουν πολλαπλές μελέτες που διερευνούν την πιθανότητα πρόκλησης ΜΔΣ από περιβαλλοντικούς παράγοντες και χημικές ουσίες που απαντούν στους εργασιακούς χώρους. Αναφέρεται ότι συγκεκριμένες επαγγελματικές ομάδες, όπως αγρότες (χρήση παρασιτοκτόνων, εντομοκτόνων και λιπασμάτων), κομμωτές (χρωστικές, λοιπές βαφές), υποδηματοποιοί, επαγγελματίες υγείας, χειριστές μηχανών, γεωπόνοι, τεχνικοί, κτηνοτρόφοι, ανθρακωρύχοι, βυρσοδέψες, ελαιοχρωματιστές, εργάτες λατομείων και πρατηρίων βενζίνης, καθώς και όσοι ασχολούνται με την κηπουρική, την υφαντουργία και τα πουλερικά εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΜΔΣ και ΟΜΛ, λόγω της λευχαιμιογόνου δράσης των ουσιών με τις οποίες έρχονται σε επαφή.^{10-11, 14} Το κάπνισμα, βιομηχανικά απόβλητα και ουσίες όπως οι διοξίνες, τα έλαια, οι διαλύτες, η αμμωνία και οι σκόνες δημητριακών επίσης ενοχοποιούνται για εμφάνιση ΜΔΣ.^{6, 10-13}

Επιπλέον, κληρονομικές ασθένειες, όπως η αναιμία Fanconi, προδιαθέτουν στην πρόκληση ΜΔΣ και ΟΜΛ. Κλωνικές κυτταρογενετικές διαταραχές επισυμβαίνουν στα τρία τέταρτα των ασθενών με ΜΔΣ. Χρωμοσωμικές βλάβες που απαντώνται συχνότερα είναι στα χρωμοσώματα 5, 7, 8 και σπανιότερα στα χρωμοσώματα 17 και Χ.¹² Οι συχνότερες χρωμοσωμικές διαταραχές, που απαντώνται στα πρωτοπαθή ΜΔΣ, αφορούν απαλείψεις χρωμοσωμάτων ή τμημάτων τους, όπως είναι τα σύνδρομα 5q-[del(5q)], -5, η μονοσωμία 7, 7q-, del(11q), del(12p), del(13q), 17p-, del(20q) ή τρισωμίες, όπως είναι η τρισωμία 8 ή αντιμεταθέσεις, όπως οι ακόλουθες: t(3;5)(q25.1;q34), t(11;16)(q23;p13), t(5;12)(q33;p13) ή αναστροφές, όπως η αναστροφή inv(3)(q21q26) ή σύνθετοι καρυότυποι.^{3, 12}

Οι χρωμοσωμικές αυτές μεταβολές προκαλούν τη δημιουργία υπομικροσκοπικών σημειακών μεταλλάξεων γονιδίων όπως των p53, RAS, FMS, FLT3 και p15^{INK4B}, που έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια γενετικού υλικού και την αναστολή λειτουργίας προστατευτικών ογκοκατασταλτικών γονιδίων, καθώς επίσης και γονιδίων απαραίτητων για τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Μεταλλάξεις των άνω γονιδίων σε ασθενείς με ΜΔΣ σχετίζονται με πτωχή πρόγνωση και συχνότερη μετατροπή σε ΟΜΛ.¹ Ακόμα, είναι συχνή η υπερμεθυλίωση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, που οδηγεί στην αδρανοποίησή τους. Σύνθετες κυτταρογενετικές διαταραχές παρατηρούνται συνηθέστερα στα υψηλού κινδύνου ΜΔΣ. Ορισμένοι ασθενείς με ΜΔΣ έχουν φυσιολογικό καρυότυπο. Είτε πρόκειται για ασθενείς που δεν έχουν κυτταρογενετική βλάβη είτε για νοσούντες στους οποίους δεν ανιχνεύεται η κυτταρογενετική βλάβη με τις αντίστοιχες μεθόδους.¹ Τελικώς, άλλοι παράγοντες, όπως η πρωτεΐνη p38 και οι πρωτεΐνες heat shock, έχουν εμπλακεί πρόσφατα στην παθοφυσιολογία των ΜΔΣ και αποτελούν νέους μοριακούς στόχους.¹⁵

Σε ασθενείς με ΜΔΣ υπάρχουν καθορισμένες μοριακές βλάβες, που είναι ενδεικτικές συγκεκριμένων αμοιβαίων ισορροπημένων κυτταρογενετικών ανωμαλιών, χωρίς συνολική απώλεια γενετικού υλικού με τα ακόλουθα παραδείγματα: EVI1 και MDS1/EVI1 γονιδιακά προϊόντα σε αμοιβαία μετάθεση t(3;3)(q21;q26), TEL-PDGFRB σε αμοιβαία μετάθεση t(5;12)(q33;p13), ειδικά σε ασθενείς με χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (CMML) και ηωσινοφιλία. Σε αντίθεση με τα προηγούμενα, οι περισσότερες επίκτητες κυτταρογενετικές βλάβες στα ΜΔΣ είναι μη ισορροπημένες και οδηγούν σε συνολική απώλεια γενετικού υλικού [γονίδιο RPS14 της περιοχής commonly deleted region (CDR) στο σύνδρομο 5q-].¹⁶ Μολαταύτα, οι περισσότερες γενετικές βλάβες στα ΜΔΣ δε σχετίζονται με συγκεκριμένους καρυό-

τυπους, αλλά πιθανότατα αντιπροσωπεύουν σωματικές σημειακές μεταλλάξεις, πολυμορφισμούς ή μικρά ελλείμματα σε κρίσιμα γονίδια στόχους (KIT, G-CSFR, PDGFRβ, FLT3, FMS, N-RAS, K-RAS, JAK2 και στους μεταγραφικούς παράγοντες RUNX1, CEBPA, PU.1, GATA-1, p53, MLL). Τέλος, παραδείγματα των λιγότερο συχνά απαντούμενων μεταλλάξεων των αρχέγονων κυττάρων (germline mutations) σε ασθενείς με ΜΔΣ είναι οι μεταλλάξεις σε αρχέγονα κύτταρα για τους μεταγραφικούς παράγοντες RUNX1 και CEBPA σε σπάνιες περιπτώσεις οικογενούς ΜΔΣ/ΟΜΛ, καθώς επίσης και οι πολυμορφισμοί του γονιδίου HFE σε ασθενείς με κληρονομική αιμοχρωμάτωση και ΜΔΣ.¹⁶

Υπέρ της νεοπλασματικής αρχικής αιτιολογίας υπάρχουν πολλά δεδομένα και για το λόγο αυτό η άποψη αυτή είναι η επικρατούσα. Συγκεκριμένα αναφέρονται η διαπίστωση παρουσίας κυτταρικού κλώνου σε σημαντικό ποσοστό ασθενών, οι μεταλλάξεις ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων, οι διαταραχές γονιδίων του κυτταρικού κύκλου, καθώς και η συχνή μετάπτωση σε ΟΜΛ. Ως αρνητικά σημεία της θεωρίας αυτής, μπορεί κανείς να παραθέσει την παρουσία μορφών που δεν εξελίσσονται σε λευχαιμία και τη συνύπαρξη με νοσήματα φλεγμονώδους τύπου, καθώς και με πρωτογενή νοσήματα μιτοχονδρίων.¹⁷

Μοριακά και γενετικά δεδομένα αποδεικνύουν την ύπαρξη κλωνικότητας σε όλους τους τύπους των ΜΔΣ πριν από την εμφάνιση των χαρακτηριστικών μεταλλάξεων που σχετίζονται με τα σύνδρομα αυτά.¹⁸ Συνεπώς, οι κυτταρογενετικές ανωμαλίες που παρατηρούνται στα ΜΔΣ δεν αποτελούν την πρωτοπαθή αιτία των νοσημάτων αυτών, αλλά είναι δευτεροπαθείς διαταραχές πάνω στις αρχικές μη ανιχνεύσιμες γενετικές βλάβες του κλωνικού πληθυσμού των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων.¹⁸ Οι αρχικές βλάβες είναι ετερογενείς και μπορεί να είναι συγγενείς ή να προέρχονται από επίκτητη βλάβη και ελαττωματική επιδιόρθωση του DNA ή από αστάθεια του γονιδιώματος και οδηγούν σε ανάπτυξη κλωνικού πληθυσμού, ο οποίος αποκτά πλεονέκτημα πολλαπλασιασμού έναντι των φυσιολογικών κυττάρων. Η τελική νεοπλασματική εξαλλαγή αποτελεί πολυσταδιακή διαδικασία με συσσώρευση πρόσθετων γενετικών βλαβών στις ήδη υπάρχουσες.¹

Η σημασία της απόπτωσης (προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου) στην παθογένεια του νοσήματος έχει αποτελέσει για χρόνια πεδίο συστηματικής μελέτης, παρόλο που τα μέχρι σήμερα ευρήματα έχουν δημιουργήσει περισσότερα ερωτηματικά, χωρίς σαφείς και οριστικές απαντήσεις. Η απόπτωση είναι ένα γενετικά καθορισμένο πρόγραμμα θανάτου του κυττάρου που αποτελεί φυσιολογική διαδικασία, σε αντίθε-

ση με τη νέκρωση, ένα παθολογικό φαινόμενο, οφειλόμενο σε φυσικό ή χημικό τραυματισμό των κυττάρων. Δεδομένα που συνηγορούν για τη συμμετοχή της απόπτωσης στην παθογένεια των ΜΔΣ είναι η διαπίστωση αυξημένης απόπτωσης στο μυελό των περισσότερων ασθενών, οι συνοδές διαταραχές μιτοχονδρίων, η αύξηση του TNFα, της έκφρασης Fas, η ενεργοποίηση κασπασών και λοιπών προ-αποπτωτικών μορίων σε κύτταρα μυελού των ασθενών και η επιτυχία της αντι-αποπτωτικής αγωγής σε 25% των ασθενών. Αντίθετα, η αδυναμία συσχέτισης του βαθμού της απόπτωσης με την κλινική εικόνα, αλλά και η αποτυχία της αντι-αποπτωτικής αγωγής στο 75% των ασθενών, θέτουν σε αμφισβήτηση το βασικό ρόλο της και την προσδιορίζουν περισσότερο ως επακόλουθο ή επιφαινόμενο. Αυτό δε σημαίνει ότι η απόπτωση είναι άνευ σημασίας στα ΜΔΣ, απλά επισημαίνεται η δυσκολία να θεωρηθεί ως το βασικό, πρωταρχικό αίτιο της νόσου. Θα πρέπει πάντως να προστεθεί ότι διαταραχή της απόπτωσης φαίνεται πως παίζει βασικό παθογενετικό ρόλο στην εξέλιξη των ΜΔΣ προς ΟΜΑ, καθώς πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η μετάπτωση αυτή συνοδεύεται από ανάπτυξη αντοχής στην απόπτωση από τον παθολογικό κλώνο.¹⁷

Τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη του φαινομένου της απόπτωσης στα ΜΔΣ είναι η τεχνική TUNEL (μέθοδος nick-end labeling), η μέθοδος in situ end labeling (ISEL), η κυτταρομετρία ροής και η annexin V (για τη μελέτη της απόπτωσης των CD34⁺ κυττάρων του μυελού).¹⁹⁻²³ Στα πρώιμα στάδια της νόσου, υπάρχει αυξημένη απόπτωση στα πρόδρομα αιμοποιητικά κύτταρα του μυελού με επακόλουθο την εμφάνιση σοβαρών κυτταροπενιών. Αντίθετα, σε μεταγενέστερα στάδια της νόσου (εφόσον και αν η νόσος εξελιχθεί), επισυμβαίνει λευχαιμική μετάπτωση μετά από αναστολή της αποπτωτικής διεργασίας.¹⁹ Στα προ – αποπτωτικά μόρια ανήκουν τα: Bax, Bad, Bak, Bcl-xS, c-myc, tumor necrosis factor (TNF-α), Fas, ιντερλευκίνη 1β (IL-1β) και η γ-ιντερφερόνη (IFN-γ), ενώ στα αντι – αποπτωτικά υπάγονται οι πρωτεΐνες Bcl-2 και Bcl-xL και τα μόρια c-abl και RAS. Η έκφραση των αντι – αποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2 και Bcl-xL είναι αυξημένη στα κύτταρα μυελού των ασθενών με όψιμα στάδια ΜΔΣ, σε σύγκριση με τα πρώιμα στάδια.²² Έτσι, οι προ – αποπτωτικές πρωτεΐνες συσχετίζονται με πρώιμα στάδια ΜΔΣ, ενώ η αύξηση των αντι – αποπτωτικών πρωτεϊνών με όψιμα στάδια ΜΔΣ. Αυξημένη έκφραση των προ – αποπτωτικών πρωτεϊνών σχετίζεται με μεγαλύτερη επιβίωση και ελαττωμένο κίνδυνο λευχαιμικής μετάπτωσης, ενώ η έκφραση των αντι – αποπτωτικών πρωτεϊνών στα ΜΔΣ σχετίζεται με ελαττωμένη επιβίωση.²²

Οι ασθενείς με ΜΔΣ έχουν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό αποπτωτικών κυττάρων στο μυελό των οστών σε σύγκριση με υγιή άτομα.¹ Σε όσους απάντησαν σε αγωγή με ερυθροποιητίνη και G-CSF, ελαττώθηκε το ποσοστό των αποπτωτικών κυττάρων.²¹ Εκτιμάται ότι η αυξημένη έκφραση των αντι – αποπτωτικών πρωτεϊνών καταστέλλει το φαινόμενο της απόπτωσης και αυξάνει την πιθανότητα εκτροπής των ΜΔΣ σε ΟΜΛ.²⁰ Ο μηχανισμός ογκογενετικής ανάπτυξης φαίνεται να διαφέρει σε de novo ΟΜΛ και σε δευτεροπαθή λευχαιμία μετά από ΜΔΣ.²⁰

Επιπλέον, ο ρόλος της τελομεράσης στην παθογένεια των ΜΔΣ έχει διερευνηθεί πρόσφατα. Η τελομεράση αποτελεί ένζυμο, που περιλαμβάνει μια καταλυτική υποομάδα, την human telomerase reverse transcriptase (hTERT) και είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση των τελομερών, που αποτελούν το τελικό άκρο των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων. Η αναστολή της τελομεράσης οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Σε ασθενείς με ΜΔΣ, έχει διαπιστωθεί ότι οι πιο σοβαρές και όψιμες μορφές της νόσου σχετίζονται με μεγαλύτερα επίπεδα έκφρασης της hTERT και της τελομεράσης, σε αντίθεση με όσους έχουν ευνοϊκότερη πρόγνωση.²⁴ Αντίθετα, η χαμηλή δραστηριότητα της τελομεράσης συνδέεται με αυξημένη απόπτωση και πρώιμα στάδια ΜΔΣ.²⁵ Ας σημειωθεί ότι σε όψιμα στάδια ΜΔΣ παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), που προάγει την αγγειογένεση και τη μικροαγγειακή πυκνότητα και έχει συσχετιστεί με την ογκογένεση.¹⁵

Ένα άλλο σημαντικό θέμα που αφορά την παθογένεια των ΜΔΣ είναι η συμμετοχή του ανοσολογικού συστήματος. Η ανοσολογική αντίδραση φαίνεται ότι συμμετέχει στην παθογένεια των ΜΔΣ, χωρίς όμως ισχυρές ενδείξεις ότι αποτελεί το αρχικό αίτιο. Σε ένα ποσοστό ασθενών (20-25%), η ανοσοκατασταλτική θεραπεία έχει ευνοϊκά αποτελέσματα. Η σημασία των βλαπτικών επιδράσεων στο μυελό των οστών που αναφέρθηκαν παραπάνω τεκμαίρεται από την εμφάνιση δευτεροπαθούς ΜΔΣ μετά χημειο- και ακτινο-θεραπεία, από την αυξημένη επίπτωση με την ηλικία, από την επακόλουθη αντοχή στη χημειοθεραπεία, από το ότι ΜΔΣ-τύπου νοσήματα στην παιδική ηλικία εμφανίζονται κυρίως μετά βλάβη μυελού και τέλος από την εξέλιξη της απλαστικής αναιμίας προς ΜΔΣ, ιδίως μετά από ανοσοκατασταλτική θεραπεία.¹⁷

Το ενδιαφέρον για το ρόλο των μιτοχονδρίων ενισχύεται από πρόσφατα ευρήματα. Καταρχήν, διαπιστώθηκαν πολλαπλές μεταλλάξεις στο μιτοχονδριακό DNA ερυθροβλαστών ασθενών με ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RARS), ενώ μελέτη σε zebrafish (το οποίο θεωρείται καλό μοντέλο για τη μελέτη της αιμοποίησης των θηλαστικών) έδειξε ότι μετάλλαξη σε γονίδιο που κωδικοποιεί

τη μιτοχονδριακή πρωτεΐνη HSPA9B, προκαλεί διαταραχή της λειτουργίας των μιτοχονδρίων, οξειδωτικό stress και απόπτωση στα ερυθροκύτταρα, οδηγώντας σε αιματολογική διαταραχή που θυμίζει τη μη αποδοτική αιμοποίηση που παρατηρείται στα ΜΔΣ, με αναιμία, δυσπλασία, απόπτωση αιμοποιητικών κυττάρων και πανκυτταροπενία.¹⁷ Επιπλέον, η παρουσία των δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών δεν περιορίζεται μόνο σε ασθενείς με RARS, αλλά τα άνω κύτταρα ενδέχεται να εντοπιστούν και στις λοιπές κατηγορίες των ΜΔΣ. Η παραπάνω παθολογική συσσώρευση του σιδήρου στα μιτοχόνδρια θεωρείται ότι συνεισφέρει στην πρόκληση του ΜΔΣ. Η δημιουργία των σιδηροβλαστών φαίνεται να οφείλεται σε δυσλειτουργία της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας, πιθανότατα λόγω μεταλλάξεων του μιτοχονδριακού DNA, στις οποίες οι ηλικιωμένοι είναι περισσότερο επιρρεπείς. Η δυσλειτουργία αυτή οδηγεί στη συσσώρευση τοξικού σιδήρου στο στρώμα των μιτοχονδρίων.²⁶

Η γήρανση (senescence) των φυσιολογικών stem cells χαρακτηρίζεται από μεταβολική δραστηριότητα με απώλεια της ικανότητας πολλαπλασιασμού και ανθεκτικότητα στην απόπτωση. Σε ότι αφορά το μικροπεριβάλλον του μυελού, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τα μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού είναι φυσιολογικά, δε συμμετέχουν στην ανάπτυξη του κλώνου του ΜΔΣ και εμφανίζουν φυσιολογική in vitro υποστήριξη της αιμοποίησης. Η συνύπαρξη φυσιολογικής και παθολογικής αιμοποίησης σε ασθενείς με ΜΔΣ, είναι ένα ακόμη σημείο αντιπαράθεσης. Με συνοπτικό τρόπο, μπορεί κάποιος να υποστηρίξει ότι υπάρχει ετερογένεια. Υπάρχουν ασθενείς στους οποίους διατηρείται και φυσιολογική αιμοποίηση. Αν αυτό συσχετίζεται με τη μορφή του ΜΔΣ και κυρίως με το αν πρόκειται για πρώιμο ή όψιμο ΜΔΣ, μένει να διευκρινιστεί. Τέλος, πεδίο έρευνας αποτελεί η συμπεριφορά των προγονικών κυττάρων των ασθενών με ΜΔΣ στην κινητοποίηση και την επανεγκατάσταση στο μυελό. Τα μέχρι τώρα in vitro δεδομένα δείχνουν ότι η επανεγκατάσταση των ως άνω κυττάρων στο μυελό σε ασθενείς με ΜΔΣ υπολείπεται.²⁶

Η πιθανότερη ακολουθία των γεγονότων στους ασθενείς με ΜΔΣ φαίνεται ότι είναι η ακόλουθη: 1) Γενετική βλάβη σε ένα αρχέγονο ή προγονικό αιμοποιητικό κύτταρο του μυελού των οστών, που μπορεί να είναι αποτέλεσμα ενδογενών κυτταρικών μηχανισμών, φαρμάκων ή ακτινοβολίας και δημιουργία κυτταρικού κλώνου ως επακόλουθο, 2) Αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος με δημιουργία στο επίπεδο του μυελού περιβάλλοντος προ-αποπτωτικού με συμμετοχή μακροφάγων, δένδριτικών και T-κυττάρων, 3) Περαιτέρω επιλογή του κυτταρικού κλώνου με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στην απόπτωση, ενώ τα φυσιολογικά αιμοποιητικά κύτταρα

εξακολουθούν να υφίστανται τις συνέπειες του προ-αποπτωτικού περιβάλλοντος του μυελού, 4) Νέα γενετική διαταραχή σε κύτταρο του κλώνου, η οποία οδηγεί σε μετάπτωση σε ΜΔΣ και μεταγενέστερα σε ΟΜΛ.^{1, 26}

Πρέπει να τονιστεί ότι είναι πιθανό η πρωταρχική βλάβη να διαφέρει στις διάφορες κατηγορίες ασθενών, ενώ ο διαφορετικός κάθε φορά χρόνος που χρειάζεται για τη μετάπτωση του νοσήματος από τη μια στην άλλη φάση, μπορεί να ερμηνεύσει την τεράστια ετερογένεια που παρατηρείται στην κλινική εικόνα. Είναι δηλαδή πιθανό σε μερικούς ασθενείς με ΜΔΣ να προηγείται η νεοπλασματική – κλωνική διαταραχή και να ακολουθούν τα υπόλοιπα, δηλαδή η νεοπλασία να προκαλεί την προ-αποπτωτική διαταραχή του μικροπεριβάλλοντος του μυελού, ενώ σε άλλους η διαδικασία να αναστρέφεται και να είναι οι μικροπεριβαλλοντικές αντιδράσεις, που προκαλούν τη νεοπλασία. Η διάκριση αυτή ίσως απαντά σε σειρά παρατηρήσεων που καταδεικνύουν την ιασιμότητα του νοσήματος με χημειοθεραπεία σε σχετικά νεώτερους ασθενείς και την αποτυχία της στους ηλικιωμένους, όπου – πλην των άλλων αρνητικών παραμέτρων – υπάρχει ήδη διαμορφωμένο προ-αποπτωτικό μικροπεριβάλλον του μυελού.¹⁷

Παρόλο που τα ΜΔΣ και η ΟΜΛ μοιράζονται σημαντικές ομοιότητες, εμφανίζουν διαφορές, επειδή τα ΜΔΣ δεν είναι απλά μια προλευχαιμική διαταραχή. Η εξέλιξη σε ΟΜΛ του ΜΔΣ δεν είναι υποχρεωτικό βήμα. Επισυμβαίνει σε μια μειοψηφία ασθενών. Αντίθετα, οι περισσότεροι ασθενείς με ΜΔΣ δεν παρουσιάζουν λευχαιμική μετάπτωση και καταλήγουν από επιπλοκές που σχετίζονται με τις περιφερικές κυτταροπενίες, που προκαλούνται από την αναποτελεσματική αιμοποίηση του μυελού.²⁷

Δ. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΜΔΣ

Η αρχική ταξινόμηση έγινε το 1982 από την επιτροπή French-American-British Morphology group (FAB ταξινόμηση). Το σύστημα FAB χρησιμοποιείται ευρέως και αποτέλεσε το standard στην εκτίμηση των ΜΔΣ για δύο δεκαετίες. Βασίζεται σε μορφολογικά στοιχεία του αίματος και του μυελού των οστών, που περιλαμβάνουν μέτρηση των βλαστών του μυελού και του περιφερικού αίματος, των ραβδίων του Auer, των δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών και του αριθμού των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος.²⁸ Το σύστημα FAB αποτελείται από πέντε υποομάδες: ανθεκτική αναιμία (RA-refractory anaemia), ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RARS), ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών (RAEB), ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών σε μεταμόρφωση (RAEB-T) και χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (CMML) (Πίνακας 1).²⁸

Παρόλο που το σύστημα FAB δίνει σημαντικές πληροφορίες, αποτελεί φτωχό μοντέλο για να προβλέψει την τελική έκβαση σε μεμονωμένους ασθενείς.²⁹ Σύμφωνα με απόψεις αμερικανών αιματολόγων, το να δημιουργούνται διαγνωστικές διακρίσεις ανάμεσα σε ασθενείς με 10, 20 ή 30% ποσοστό λευχαιμικών βλαστών του μυελού, είναι ασύμβατο με τη βιολογική συμπεριφορά του καρκίνου και την ιατρική κατάταξη – ταξινόμηση του καρκίνου.³⁰ Άλλα μειονεκτήματα της FAB ταξινόμησης είναι τα ακόλουθα: βασίζεται κυρίως στο ποσοστό των βλαστών και όχι στην κυτταρογενετική ανάλυση, ασθενείς με διαταραχές αιμοποίησης και βλάστες < 5%, με πολλαπλές κυτταροπενίες στο περιφερικό αίμα δεν μπορούν να ενταχθούν, περιλαμβάνει όλες τις περιπτώσεις CMML, παρά το γεγονός ότι πολλές από αυτές εμφανίζουν χαρακτηριστικά περισσότερο μυελοϋπερπλαστικού παρά μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου, περιλαμβάνει τον τύπο RAEB-T, που σύμφωνα με ορισμένους ερευνητές δεν παρουσιάζει διαφορά σε σχέση με την ΟΜΑ στην πρόγνωση και στη θεραπεία και τέλος, δεν περιλαμβάνει άλλους τύπους ΜΔΣ, όπως το υποπλαστικό ΜΔΣ, το ΜΔΣ μετά από θεραπεία και το σύνδρομο 5q-.²⁹⁻³⁰

Τύπος	Βλάστες Αίματος (%)	Βλάστες Μυελού (%)	Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (%)	Μονοπύρρηνα αίματος	Ραβδία Auer μυελού
RA	<1	<5	<15	–	Όχι
RARS	<1	<5	>15	–	Όχι
RAEB	1-5	5-20	–	–	Όχι
RAEB-T	>5	21-30	–	–	Ναι ή όχι
CMML	<5	<20	–	>1x 10 ⁹ / L	Όχι

Πίνακας 1: Το σύστημα FAB.²⁸

Η CMML διαιρείται σε 2 υποομάδες, μια υπερπλαστική και μια μη υπερπλαστική μορφή με δυσπλαστικά στοιχεία. Ορίά τους ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων του ΠΑ WBC=13.000/mm³ και η παρουσία ηπατοσπληνομεγαλίας.³¹⁻³² Έτσι, η CMML μπορεί να θεωρηθεί διαταραχή – πρότυπο, που εμπεριέχει στοιχεία τόσο μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου, όσο και χρόνιας μυελοπαραγωγικής διαταραχής, κάτι το οποίο προβλέπεται από τις νεότερες ταξινομήσεις των ΜΔΣ κατά WHO.³³ Εντούτοις, υπάρχει και η άποψη ότι η CMML δε θα πρέπει να διαιρεθεί στις 2 ανώτερες υποκατηγορίες.³⁴

Το 1999, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization – WHO) πρότεινε μια νέα ταξινόμηση των ΜΔΣ ως μια υποτάξη της ΟΜΛ (Πίνακας 2).³⁵ Η νέα ταξινόμηση δίνει έμφαση στη δυσπλασία και εκδόθηκε το 2001.³⁶ Οι καινοτομίες της νέας ταξινόμησης είναι οι ακόλουθες: Η CMML και η RAEB-T απομακρύνθηκαν από τη νέα ταξινόμηση. Η CMML κατατάχθηκε στην ομάδα των μυελοδυσπλαστικών/μυελοϋπερπλαστικών διαταραχών (MDS/MPD). Η RAEB-T συμπεριλήφθηκε στην ταξινόμηση της ΟΜΛ, καθώς ο ουδός των βλαστών του μυελού στην ΟΜΛ ελαττώθηκε από 30 σε 20%. Ωστόσο η κατάργηση της RAEB-T κατηγορίας προκάλεσε αμφιλεγόμενες συζητήσεις στην επιστημονική κοινότητα. Ορισμένοι ισχυρίζονται ότι η RAEB-T κατηγορία είναι βιολογικά διαφορετική από την ΟΜΛ και θα έπρεπε να παραμείνει ως ξεχωριστή διαγνωστική οντότητα.^{29, 35}

Η κατηγορία RAEB χωρίστηκε σε RAEB-1 (βλάστες <10%) και RAEB-2 (βλάστες >10%). Οι δύο παραπάνω διαταραχές διαφέρουν στο βαθμό της απόπτωσης και της μεθυλίωσης: ο βαθμός απόπτωσης είναι υψηλότερος στη RAEB-1 από τη RAEB-2, ενώ η τελευταία εμφανίζει μεγαλύτερο βαθμό μεθυλίωσης σε περιοχές προαγωγέ-

ων ανασταλτικών του κυτταρικού κύκλου γονιδίων, όπως είναι το p15^{INK4b}. Επιπρόσθετα, ασθενείς με >10% βλάστες στο μυελό των οστών, έχουν μικρότερη μέση επιβίωση και υψηλότερο ρυθμό μετάπτωσης σε ΟΜΛ.^{29, 35}

Επιπλέον, οι ομάδες RA και RARS έχουν δυσπλασία αμιγώς της ερυθράς σειράς. Δύο νέες κατηγορίες, η ανθεκτική κυτταροπενία με δυσπλασία πολλαπλών σειρών (RCMD- refractory cytopenia with multilineage dysplasia) και η ανθεκτική κυτταροπενία με δυσπλασία πολλαπλών σειρών με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RCMD/RS) προστέθηκαν μετά την παρατήρηση ότι ασθενείς με κυτταροπενία μιας σειράς, συνήθως της ερυθράς σειράς, έχουν μεγαλύτερο προσδόκιμο επιβίωσης και χαμηλότερη συχνότητα μετάπτωσης σε ΟΜΛ. Ασθενείς με ΜΔΣ και με μοναδική χρωμοσωμική διαταραχή την 5q⁻ και επίσης ασθενείς με αταξινόμητα ΜΔΣ, θεωρήθηκαν ξεχωριστές οντότητες. Οι περιπτώσεις αμιγούς δυσπλασίας της κοκκιώδους ή μεγακαρυοκυτταρικής σειράς εντάσσονται πλέον στα αταξινόμητα ΜΔΣ.^{35, 37-38}

Επίσης, δημιουργήθηκε ξεχωριστή κατηγορία για αιμοποιητικά νοσήματα με μικτά χαρακτηριστικά μυελοδυσπλασίας/μυελοϋπερπλασίας (ΜΔΣ/MYN), στην οποία εκτός από τη CMML, εντάχθηκαν η άτυπη χρόνια μυελογενής λευχαιμία (aCML), η νεανική μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (JMML) και η αταξινόμητη μορφή ΜΔΣ/MYN (MDS/MPD, Unclassifiable), που περιλαμβάνει επιπλέον και τη διακριτή οντότητα RARS με θρομβοκυττάρωση (RARS-T) (Πίνακας 3). Τα κριτήρια διάγνωσης της CMML κατά WHO 2001 φαίνονται στον Πίνακα 4.³⁵⁻³⁸

Τύπος	Περιφερικό αίμα	Μυελός
RA	Αναιμία, Βλάστες όχι ή σπάνιοι	Δυσπλασία μόνον ερυθράς, Βλάστες <5%, RS < 15%
RARS	Αναιμία, Βλάστες όχι	Δυσπλασία μόνον ερυθράς, Βλάστες <5%, RS ≥ 15%
RCMD (Ανθεκτική αναιμία με πολυγραμμική δυσπλασία)	Διγραμμική ή πολυγραμμική κυτταροπενία, Βλάστες όχι ή σπάνιοι, Auer όχι, Μονοκύτταρα <1x10 ⁹ /L	Δυσπλασία σε ≥10% σε δύο ή περισσότερες σειρές Βλάστες <5%, RS <15%
RCMD-RS	Διγραμμική ή πολυγραμμική κυτταροπενία, Βλάστες όχι ή σπάνιοι, Auer όχι, Μονοκύτταρα <1x10 ⁹ /L	Δυσπλασία σε ≥10% σε δύο ή περισσότερες σειρές Βλάστες <5%, RS ≥ 15%
RAEB-1	Κυτταροπενίες, Βλάστες <5%, Auer όχι, Μονοκύτταρα <1x10 ⁹ /L	Μono- ή πολυγραμμική δυσπλασία, Βλάστες 5-9%
RAEB-2	Κυτταροπενίες, Βλάστες 5-19%, Auer ±, Μονοκύτταρα <1x10 ⁹ /L	Μono- ή πολυγραμμική δυσπλασία, Βλάστες 10-19%, Auer ±
MDS-U (αταξινόμητο)	Κυτταροπενίες, Βλάστες όχι ή σπάνιοι, Auer όχι	Μονογραμμική δυσπλασία (λευκής ή ΜΓΚ), Βλάστες <5% , Auer όχι
MDS σχετιζόμενο με μεμονωμένη 5q-	Αναιμία, Αιμοπετάλια φυσιολογικά ή αυξημένα, Βλάστες <5%	Φυσιολογικά ή αυξημένα μεγακαρυοκύτταρα με δυσπλασία ΜΓΚ (ελαττωμένη λόβωση πυρήνων), Βλάστες <5%, 5q-, Auer όχι

Πίνακας 2: WHO ταξινόμηση των ΜΔΣ (2001).³⁶

Κατηγορία	Υποκατηγορίες
CMML (Χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία)	CMML-1: βλάστες ΠΑ: <5%, βλάστες Μυελός : <10% CMML-2: βλάστες ΠΑ: 5-19%, βλάστες Μυελός : 10-19% CMML-e: ηωσινόφιλα ΠΑ: >1,5x10 ⁹ /L
aCML (Άτυπη χρόνια μυελογενής λευχαιμία)	
JMML (Νεανική μυελομονοκυτταρική λευχαιμία)	
MDS/MPD,U (ΜΔΣ/MYN, αταξινόμητο)	RARS-T: PLT: > 600 x 10 ⁹ /L

Πίνακας 3: WHO ταξινόμηση των ΜΔΣ/MYN (2001).³⁶

Μονοκυττάρωση, σταθερά > 1x10 ⁹ /L.
Απουσία Ph ⁺ ή bcr-abl.
Ποσοστό βλαστών αίματος και μυελού < 20%. Ως βλάστες λογίζονται οι μυελοβλάστες, οι μονοβλάστες και τα προμονοκύτταρα.
Δυσπλασία ≥ 1 σειρών.
Επί παρουσίας ελάχιστης δυσπλασίας ή απουσίας δυσπλασίας απαιτούνται: α. Κλωνική χρωμοσωμική ή μοριακή ανωμαλία στο μυελό ή β. Ανεξήγητη μονοκυττάρωση για ≥ 3 μήνες.

Πίνακας 4: Κριτήρια διάγνωσης της CMML κατά WHO (2001).³⁶

Η ταξινόμηση των ΜΔΣ κατά WHO (2001) περιορίζει τον αριθμό των αταξινόμητων περιπτώσεων, δίνει βαρύτητα στις κυτταρογενετικές ανωμαλίες, διαμορφώνει περισσότερο ομοιογενείς κατηγορίες ασθενών και παρέχει πιο αξιόπιστες πληροφορίες από προγνωστική άποψη. Για παράδειγμα, διακρίνει ομάδες με μονογραμμική και πολυγραμμική δυσπλασία με διαφορετική επιβίωση (μονογραμμική-RARS-67 μήνες, πολυγραμμική-RCMD-RS-28,5 μήνες).^{35, 37} Αντιθέτως, στα μειονεκτήματά της συγκαταλέγονται το ότι δε χρησιμοποιεί βιολογικές πληροφορίες, η προγνωστική της αξία παραμένει μικρή και η διάκριση των διαφόρων οντοτήτων συνεχίζει να βασίζεται σε αυθαίρετα μορφολογικά κριτήρια.³⁹

Το 2008, προτάθηκε νέα ταξινόμηση των ΜΔΣ (Πίνακας 5) και των ΜΔΣ/MYN (Πίνακας 6) κατά WHO.⁴⁰ Για τα ΜΔΣ/MYN χρησιμοποιείται πλέον ο αγγλικός όρος myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN), που μεταφράζεται μυελοδυσπλαστικά/μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα. Στον Πίνακα 7 παρατίθενται επα-

ναλαμβανόμενες χρωμοσωμικές ανωμαλίες που θεωρούνται ως βάσιμες αποδείξεις ΜΔΣ σε έδαφος επίμονης κυτταροπενίας αδιευκρίνιστης αιτίας, ενώ συγχρόνως σε απουσία χαρακτηριστικών μορφολογικών αλλοιώσεων για ΜΔΣ.⁴¹ Σε αυτές τις περιπτώσεις έχει εισαχθεί ο όρος πιθανό / υποθετικό ΜΔΣ (presumptive MDS).⁷

Με την πιο σύγχρονη ως σήμερα ταξινόμηση των ΜΔΣ κατά WHO (2008), προστέθηκε η οντότητα της ανθεκτικής κυτταροπενίας με μονογραμμική δυσπλασία για να συμπεριλάβει τους ασθενείς που εμφανίζουν για χρονικό διάστημα εξαμήνου μονογραμμική δυσπλασία τουλάχιστον στο 10% των κυττάρων της επηρεαζόμενης σειράς είτε σχετιζόμενη με ανθεκτική αναιμία (μονογραμμική δυσπλασία ερυθράς σειράς) είτε με ανθεκτική ουδετεροπενία (μονογραμμική δυσπλασία κοκκιώδους σειράς) είτε με ανθεκτική θρομβοπενία (μονογραμμική δυσπλασία μεγακαρυοκυτταρικής σειράς) και που διαθέτουν λιγότερο από 1% βλάστες στο περιφερικό αίμα και λιγότερο από 5% στο μυελό. Η κατηγορία της ανθεκτικής κυτταροπενίας με πολυγραμμική δυσπλασία (RCMD) δε διαιρείται πια σε υποκατηγορίες, ανάλογα με το αν 15% ή περισσότερο από τα πρόδρομα κύτταρα της ερυθράς σειράς είναι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RS). Έτσι, η προηγούμενη κατηγορία RCMD-RS καταργείται και εντάσσεται στην RCMD.⁴⁰

Αν το ποσοστό μυελοβλαστών του μυελού είναι <5%, αλλά υπάρχουν 2-4% μυελοβλάστες στο περιφερικό αίμα, η διαγνωστική κατάταξη είναι RAEB-1. Περιπτώσεις με ραβδία Auer και <5% μυελοβλάστες στο περιφερικό αίμα και <10% στο μυελό θα πρέπει να ταξινομούνται ως RAEB-2. Ακόμα, η μονογραμμική δυσπλασία μπορεί να συνυπάρχει με κυτταροπενία μιας σειράς ή και δυο σειρών. Περιπτώσεις με μονογραμμική δυσπλασία και παγκυτταροπενία θα πρέπει να ταξινομηθούν ως μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο – αταξινόμητο (MDS-U).^{7, 40} Επίσης, ως MDS-U ταξινομούνται ασθενείς με μη εμφανή δυσπλασία, αλλά με κυτταρογενετικές αποδείξεις ΜΔΣ, καθώς και όσοι ανήκουν στις κατηγορίες RCUD και RCMD με ποσοστό βλαστών μυελού κάτω από 5% και περιφερικού αίματος ίσο με 1%. Ακόμα, ασθενείς με μεμονωμένη 5q- χρωμοσωμική διαταραχή, διαθέτουν εξ ορισμού μονογραμμική δυσπλασία της ερυθράς σειράς, λιγότερο από 5% βλάστες στο μυελό και εντάσσονται χωριστά ως MDS σχετιζόμενο με μεμονωμένη χρωμοσωμική βλάβη del(5q).⁷

Η προσωρινή οντότητα, ανθεκτική κυτταροπενία της παιδικής ηλικίας (Refractory cytopenia of childhood – RCC) έχει προστεθεί για να συμπεριλάβει παιδιά με κυτταροπενία (-ες) με λιγότερο από 2% βλάστες στο περιφερικό αίμα και λιγότερο από 5% στο μυελό και απόδειξη δυσπλασίας σε 2 ή περισσότερες σειρές. Για παιδιά

με 2%-19% βλάστες στο περιφερικό αίμα και/ή 5%-19% στο μυελό των οστών, η κατηγοριοποίηση των ΜΔΣ θα πρέπει να γίνεται με παρόμοια κριτήρια με αυτά των ενηλίκων.⁴¹ Τα ΜΔΣ στα παιδιά είναι σπάνια, με συχνότητα <5% του συνόλου των αιμοποιητικών νεοπλασμάτων σε αυτά.⁴⁰

Νόσος	Ευρήματα περιφερικού αίματος	Ευρήματα μυελού
Ανθεκτικές κυτταροπενίες με μονογραμμική δυσπλασία (RCUD) - Ανθεκτική αναιμία (RA) - Ανθεκτική ουδετεροπενία (RN) - Ανθεκτική θρομβοπενία (RT)	Κυτταροπενία μιας σειράς ή δυο σειρών* Απουσία βλαστών ή σπάνιο ποσοστό (<1%)**	- μονογραμμική δυσπλασία: $\geq 10\%$ των κυττάρων της επηρεαζόμενης σειράς εμφανίζουν δυσπλασία - βλάστες <5% - <15% των πρόδρομων κυττάρων της ερυθράς σειράς είναι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες
Ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RARS)	Αναιμία Απουσία βλαστών	- δυσπλασία ερυθράς σειράς μόνον - βλάστες <5% - $\geq 15\%$ των πρόδρομων κυττάρων της ερυθράς σειράς είναι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες
Ανθεκτική κυτταροπενία με πολυγραμμική δυσπλασία (RCMD)	Κυτταροπενία (-ες) Απουσία βλαστών ή σπάνιο ποσοστό (<1%)** Απουσία ραβδίων Auer Μονοκύτταρα < $1 \times 10^9/L$	- δυσπλασία σε $\geq 10\%$ των κυττάρων σε ≥ 2 σειρές (πρόδρομα κύτταρα ουδετεροφίλων και/ή ερυθρών και/ή μεγακαρυοκύτταρα) - βλάστες <5% - απουσία ραβδίων Auer - $\pm 15\%$ δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες
Ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών-1 (RAEB-1)	Κυτταροπενία (-ες) <5% βλάστες** Απουσία ραβδίων Auer Μονοκύτταρα < $1 \times 10^9/L$	- μονογραμμική ή πολυγραμμική δυσπλασία - βλάστες 5–9%** - απουσία ραβδίων Auer
Ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών -2 (RAEB-2)	Κυτταροπενία (-ες) 5-19% βλάστες Ραβδία Auer $\pm$ *** Μονοκύτταρα < $1 \times 10^9/L$	- μονογραμμική ή πολυγραμμική δυσπλασία - βλάστες 10–19% - ραβδία Auer $\pm$ ***

Μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο - αταξινόμητο (MDS-U)	Κυτταροπενίες $\leq 1\%$ βλάστες**	- μη διαφορούμενη δυσπλασία σε λιγότερο από 10% των κυττάρων σε 1 ή περισσότερες σειρές όταν συνοδεύεται από κυτταρογενετική ανωμαλία θεωρείται πιθανή ένδειξη για τη διάγνωση ΜΔΣ - βλάστες $< 5\%$
MDS σχετιζόμενο με μεμονωμένη χρωμοσωμική βλάβη del 5q	Αναιμία Συνήθως φυσιολογικός ή αυξημένος αριθμός αιμοπεταλίων Απουσία βλαστών ή σπάνιο ποσοστό ($< 1\%$)	- Φυσιολογικά με αυξημένα μεγακαρυοκύτταρα με υπολόβωση πυρήνων - βλάστες $< 5\%$ - απουσία ραβδίων Auer - μεμονωμένη χρωμοσωμική βλάβη del 5q

*Κυτταροπενία 2 σειρών ενδέχεται περιστασιακά να παρατηρηθεί. Περιπτώσεις με παγκυτταροπενία και μονογραμμική δυσπλασία θα πρέπει να ταξινομηθούν ως MDS-U.

**Αν το ποσοστό μυελοβλαστών του μυελού είναι $< 5\%$, αλλά υπάρχουν 2-4% μυελοβλάστες στο περιφερικό αίμα, η διαγνωστική κατάταξη είναι RAEB-1. Περιπτώσεις RCUD και RCMD με 1% μυελοβλάστες στο περιφερικό αίμα θα πρέπει να ταξινομούνται ως MDS-U.

***Περιπτώσεις με ραβδία Auer και $< 5\%$ μυελοβλάστες στο περιφερικό αίμα και $< 10\%$ στο μυελό θα πρέπει να ταξινομούνται ως RAEB-2.

Πίνακας 5: WHO ταξινόμηση των ΜΔΣ (2008).⁴⁰

Νόσος	Ευρήματα περιφερικού αίματος	Ευρήματα μυελού
CMML (Χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία)	Περιφερική μονοκυττάρωση $> 1 \times 10^9/L$ Απουσία γονιδίου BCR-ABL1, προϊόν συνένωσης Βλάστες $< 20\%$	*Δυσπλασία σε 1 ή περισσότερες μυελικές σειρές Βλάστες $< 20\%$. Οι βλάστες περιλαμβάνουν μυελοβλάστες, μονοβλάστες και προ-μονοκύτταρα. Απουσία αναδιάταξης των γονιδίων PDGFRA ή PDGFRB
aCML (Άτυπη χρόνια μυελογενής λευχαιμία, BCR-ABL1 αρνητική)	Λευκοκυττάρωση, Ουδετεροφιλία, Ουδετεροφιλική Δυσπλασία, Πρόδρομες μορφές ουδετεροφίλων $\geq 10\%$ των λευκοκυττάρων Βλάστες $< 20\%$ Απουσία γονιδίου BCR-ABL1, προϊόν συνένωσης Απουσία αναδιάταξης των γονιδίων PDGFRA ή PDGFRB Ελάχιστη βασεοφιλία Μονοκύτταρα $< 10\%$ των λευκοκυττάρων	Δυσπλασία ουδετεροφίλων με ή χωρίς άλλες δυσπλαστικές σειρές Βλάστες $< 20\%$
JMML (Νεανική μυελομονοκυτταρική λευχαιμία)	Περιφερική μονοκυττάρωση $> 1 \times 10^9/L$ Βλάστες $< 20\%$ Συνήθως λευκοκύτταρα $> 10 \times 10^9/L$	Βλάστες $< 20\%$. Οι βλάστες περιλαμβάνουν μυελοβλάστες, μονοβλάστες και προ-μονοκύτταρα.
MDS/MPN, Unclassifiable (Μυελοδυσπλαστικό/ μυελοϋπερπλαστικό νεόπλασμα, αταξινόμητο)	Μεικτά MDS και MPN γνώρισμα Απουσία προηγούμενης διάγνωσης MDS ή MPN Απουσία ιστορικού χορήγησης	Μεικτά MDS και MPN γνώρισμα Βλάστες $< 20\%$

	σης πρόσφατου αυξητικού παράγοντα ή κυτταροτοξικής θεραπείας, για να αποδοθούν στοιχεία MDS ή MPN Απουσία γονιδίου BCR-ABL1, προϊόν συνένωσης Απουσία αναδιάταξης των γονιδίων PDGFRA ή PDGFRB	
**RARS-T (Ανθεκτική αναιμία με δακτυλοειδείς σιδηροβλάστες σχετιζόμενη με αξιοσημείωτη θρομβοκυττάρωση, προσωρινή οντότητα)	Επίμονη θρομβοκυττάρωση $> 450 \times 10^9/L$ Αναιμία Αρνητικό BCR-ABL1 Αφαιρούνται περιπτώσεις με t(3;3)(q21;q26), inv(3)(q21q26) και μεμονωμένο del(5q)	Μορφολογικά γνωρίσματα RARS; $\geq 15\%$ των ερυθρών πρόδρομων κυττάρων είναι δακτυλοειδείς σιδηροβλάστες Μη φυσιολογικά μεγακαρυοκύτταρα παρόμοια με όσα παρατηρούνται στα BCR-ABL1 αρνητικά MPN

*Αν η μυελοδυσπλασία είναι ελάχιστη ή απουσιάζει, η CMML μπορεί ακόμα να διαγνωστεί, αν τα λοιπά κριτήρια πληρούνται και αν υπάρχει επίκτητη κλωνική κυτταρογενετική ή μοριακή γενετική διαταραχή στα αιμοποιητικά κύτταρα ή σε περίπτωση που η μονοκυττάρωση εμμένει για τουλάχιστον 3 μήνες και έχουν αποκλειστεί όλα τα άλλα αίτια μονοκυττάρωσης.

**Προσωρινή οντότητα. Στην ταξινόμηση κατά WHO 2001-2002, το cut-off όριο για τα αιμοπετάλια ήταν $600 \times 10^9/L$. Στην WHO ταξινόμηση του 2008 το cut-off όριο είναι $450 \times 10^9/L$, για να εναρμονιστεί με την ταξινόμηση της ιδιοπαθούς θρομβοκυτταραιμίας. Περίπου 50% των περιπτώσεων RARS-T διαθέτουν τη μετάλλαξη JAK2, αλλά αυτό δεν είναι διαγνωστικό κριτήριο.

Πίνακας 6: WHO ταξινόμηση των MDS/MPN (2008).⁴⁰

Μη ισορροπημένες κυτταρογενετικές βλάβες	Ισορροπημένες κυτταρογενετικές βλάβες
-7 ή del(7q)	t(11;16)(q23;p13.3)
-5 ή del(5q)	t(3;21)(q26.2;q22.1)
i(17q) ή t(17p)	t(1;3)(p36.3;q21.1)
-13 ή del(13q)	t(2;11)(p21;q23)
del(11q)	inv(3)(q21q26.2)
del(12p) ή t(12p)	t(6;9)(p23;q34)
del(9q)	
idic(X)(q13)	

Περιλαμβάνονται και οι σύνθετοι καρυότυποι (3 ή περισσότερες χρωμοσωμικές βλάβες), που περιέχουν 1 ή περισσότερες από τις αναφερόμενες στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7: Χρωμοσωμικές βλάβες, που υποδηλώνουν πιθανό ΜΔΣ, παρουσία αδιευκρίνιστης αιτίας κυτταροπενιών και απουσία χαρακτηριστικών μορφολογικών αλλοιώσεων για ΜΔΣ.⁴¹

Η ανανεωμένη κατά WHO ταξινόμηση του 2008 δεν αναγνωρίζει το υποπλαστικό ΜΔΣ και το ΜΔΣ με ίνωση (MDS-F) ως ξεχωριστές οντότητες, αλλά συστήνει ότι σε περίπτωση που οι άνω περιπτώσεις ανευρίσκονται να πληρούν τα κριτήρια για ΜΔΣ να ταξινομούνται σύμφωνα με τις οδηγίες για τα ΜΔΣ, ακολουθούμενες από τους όρους ‘‘υποπλαστικό’’ ή ‘‘με συνοδό ίνωση μυελού’’. Για παράδειγμα, RAEB-2 με συνοδό ίνωση.⁴¹ Η πλειοψηφία των περιπτώσεων MDS-F είναι RAEB περιπτώσεις. Ο ακριβής προσδιορισμός των βλαστών στο μυελό είναι δύσκολος, όταν συνυπάρχει ίνωση, γιατί είναι δυσχερέστερη η αναρρόφηση μυελικού επιχρίσματος. Η ίνωση σχετίζεται με χειρότερη έκβαση, όταν είναι μετρίου ή σοβαρού βαθμού (grade 2-3).⁴² Επιπρόσθετα, μια υποκατηγορία ασθενών με CMML και ηωσινοφιλία σχετίζεται με γενετικές βλάβες που περιλαμβάνουν το γονίδιο PDGFR. Αυτές οι περιπτώσεις ταξινομούνται καλύτερα ως νεοπλάσματα του μυελού με συνοδό ηωσινοφιλία και απαντούν στη χορήγηση imatinib.⁴³⁻⁴⁴

E. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Οι ασθενείς μπορεί να είναι ασυμπτωματικοί με πολύ ήπια μακροκυτταρική αναιμία ή ενδέχεται να εμφανίσουν συμπτωματική αναιμία με ωχρότητα δέρματος, δύσπνοια, εύκολη κόπωση και καταβολή δυνάμεων. Μπορεί να εμφανίσουν λοιμώξεις, λόγω της ουδετεροπενίας ή της διαταραγμένης λειτουργίας των πολυμορφοπύρηνων. Ακόμα είναι δυνατή η εμφάνιση εκχυμώσεων ή άλλων αιμορραγικών εκδηλώσεων, λόγω της θρομβοπενίας. Συχνά συνυπάρχουν γενικά συμπτώματα όπως απώλεια βάρους και ιδρώτες.³⁰ Ποσοστό 5-10% των ασθενών εμφανίζει σπληνομεγαλία και ηπατομεγαλία.

Η CMML αποτελεί ξεχωριστή κλινική οντότητα. Στα αρχικά στάδια, συχνά η νόσος είναι ασυμπτωματική ή εμφανίζονται γενικά συμπτώματα ή συμπτώματα αναιμίας. Η εμφάνιση σπληνομεγαλίας είναι συχνή (50%), ενώ η νόσος εξελίσσεται είτε σε μυελική ανεπάρκεια είτε σε οξεία μυελομονοκυτταρική λευχαιμία. Η πρόγνωση ποικίλλει με μέση διάρκεια ζωής από 4 ως 60 μήνες.⁴⁵ Ορισμένοι ασθενείς παρουσιάζονται με ορογονίτιδα (πλευριτική συλλογή ή περικαρδίτιδα), διόγκωση λεμφαδένων και διήθηση του δέρματος.^{31, 46-50} Η νόσος έχει συσχετιστεί με αγγειίτιδα,⁵¹ ενώ έχει περιγραφεί μετάπτωση σε οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, γεγονός που υποδηλώνει τη συμμετοχή ενός πολυδύναμου αιμοποιητικού stem cell.⁵²

Ως ξεχωριστές κλινικές εικόνες των ΜΔΣ περιγράφονται τα σύνδρομα 5q⁻ και το σύνδρομο μονοσωμίας 7. Το σύνδρομο 5q⁻ οφείλεται σε έλλειψη τμήματος των μακρών σκελών του χρωμοσώματος 5. Η περιοχή της ρήξης περιέχει γονίδια που κωδικοποιούν αυξητικούς παράγοντες (M-CSF, GM-CSF). Συνήθως προσβάλλει μεσήλικες ή γυναίκες προχωρημένης ηλικίας. Κλινικά εκδηλώνεται με ανθεκτική αναιμία και σπληνομεγαλία σε ποσοστό >50%. Η πρόγνωση χαρακτηρίζεται σχετικά καλή. Στο σύνδρομο μονοσωμίας 7, η απώλεια του χρωμοσώματος 7 οδηγεί στην απώλεια του γονιδίου NF1. Το σύνδρομο παρουσιάζεται συχνότερα στην πρώτη και στην έκτη δεκαετία της ζωής και προσβάλλει κατά κύριο λόγο τους άνδρες. Συνήθως ανευρίσκεται σπληνομεγαλία και λευχαιμική μετατροπή της νόσου συμβαίνει συχνότερα στους ενήλικες.¹² Στα ειδικά κλινικά σύνδρομα που απαντούν σε ασθενείς με ΜΔΣ, ανήκουν το σύνδρομο Sweet με εκδηλώσεις από το δέρμα, καθώς επίσης και σύνδρομο με συμμετοχή του υποθαλάμου και με εμφάνιση πολυουρίας και πολυδιψί-

ας.¹² Ας σημειωθεί ότι τα ΜΔΣ σε παιδιά με σύνδρομο Down, εμφανίζουν υψηλή χημειοευαισθησία και εξαιρετικά καλή πρόγνωση.¹

ΣΤ. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση των ΜΔΣ βασίζεται στη μελέτη της μορφολογίας των κυττάρων του επιχρίσματος του περιφερικού αίματος και του μυελού των οστών. Βασικό στοιχείο για τη διάγνωση των ΜΔΣ, αποτελούν τα ελάχιστα διαγνωστικά κριτήρια για το νόσημα.⁵³ Τα άνω κριτήρια περιλαμβάνουν: (i) αξιοσημείωτη και συνεχή περιφερική κυτταροπενία (> 6μηνο) σε τουλάχιστον μια κύρια αιμοποιητική σειρά (ερυθρά, ουδετεροφιλική, αιμοπεταλιακή), (ii) ειδικά για το ΜΔΣ γνωρίσματα του μυελού (ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα: δυσπλασία $\geq 10\%$ σε μια ή περισσότερες κύριες σειρές, δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες $\geq 15\%$, μυελοβλάστες $\geq 5\%$, ή καρυότυπος σχετιζόμενος με ΜΔΣ, όπως 5q-, -7, 7q-) και (iii) αποκλεισμός λοιπών αιμοποιητικών και μη αιμοποιητικών νοσημάτων ως πρωτοπαθών αιτιών για δυσπλασία και/ή κυτταροπενία.⁵³ Τα προτεινόμενα όρια για τον ορισμό της σημαντικού βαθμού κυτταροπενίας στο περιφερικό αίμα έχουν διεθνώς τεθεί αυθαίρετα ως: αιμοσφαιρίνη < 11 g/dL, ουδετερόφιλα < 1500 μL^{-1} και αιμοπετάλια < 100.000 μL^{-1} για χρονικό διάστημα 6μήνου.⁵³

Συμπερασματικά, τα απαραίτητα διαγνωστικά κριτήρια που πρέπει να πληρούνται για τη διάγνωση του ΜΔΣ είναι η σταθερή ανεύρεση περιφερικής κυτταροπενίας για τουλάχιστον 6 μήνες σε 1 ή περισσότερες σειρές (εκτός αν συνοδεύεται από ειδικό καρυότυπο ή διγραμμική δυσπλασία, οπότε και μόνο 2 μήνες σταθερής κυτταροπενίας είναι αρκετοί) και ο ταυτόχρονος αποκλεισμός όλων των άλλων αιμοποιητικών και μη αιμοποιητικών πιθανών αιτιών δυσπλασίας ή / και κυτταροπενίας. Επίσης, παράλληλα με τα άνω απαραίτητα κριτήρια, είναι αναγκαίο να ισχύει τουλάχιστον 1 από τα 3 παρακάτω κριτήρια για να τεθεί η οριστική διάγνωση ΜΔΣ: 1. δυσπλασία $\geq 10\%$ σε μία ή περισσότερες από τις 3 κυτταρικές σειρές στο μυελό ή δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες > 15% στο μυελό, 2. βλαστικά κύτταρα μυελού σε ποσοστό 5-19%, 3. ειδικός καρυότυπος που σχετίζεται με ΜΔΣ (5q-, -7, 7q-).⁵⁴

Σε περίπτωση που δεν πληρούνται τα ελάχιστα διαγνωστικά κριτήρια για τη διάγνωση του ΜΔΣ, ορισμένοι συγγραφείς έχουν εισάγει τους όρους ιδιοπαθής κυτταροπενία αδιευκρίνιστης σημασίας (ICUS) και ιδιοπαθής δυσπλασία αδιευκρίνιστης

σημασίας (IDUS) αντίστοιχα. Απαιτείται στενή παρακολούθηση για τους άνω ασθενείς. Ο όρος ICUS περιλαμβάνει όσους έχουν σοβαρή κυττοπενία (αιμοσφαιρίνη < 11 g/dL, ουδετερόφιλα $< 1500 \mu\text{L}^{-1}$ και αιμοπετάλια $< 100.000 \mu\text{L}^{-1}$) για χρονικό διάστημα 6μήνου, αλλά δε διαθέτουν δυσπλασία στο μυελό ούτε παθολογικό καρυότυπο, ενώ η οντότητα IDUS εμπεριέχει όσους διαθέτουν δυσπλασία $\geq 10\%$ σε μία κυτταρική σειρά στο μυελό με ταυτόχρονη απουσία κυττοπενίας ή παρουσία ήπιας κυττοπενίας.⁵³

Η αναιμία του ΜΔΣ είναι ορθόχρωμη ορθοκυτταρική ή μακροκυτταρική. Κατά την παρατήρηση της μορφολογίας των ερυθρών εμφανίζεται ανισοποικιοκυττάρωση, βασεόφιλη στίξη, δακρυοκυττάρωση, σφαιροκυττάρωση, σωμάτια Heinz και ενίοτε δίμορφος ερυθροκυτταρικός πληθυσμός από μικροκύτταρα και μακροκύτταρα.¹ Σπανιότερα ανιχνεύονται εμπύρνα ερυθρά. Ακόμα μπορεί να παρατηρείται λευκοπενία, φυσιολογικός αριθμός λευκών ή λευκοκυττάρωση, αποκοκκίωση και χαρακτηριστική υποκατάτμηση του πυρήνα των ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων, ο οποίος στην τυπική του μορφή αποτελείται από έναν ή δύο λοβούς με ιδιαίτερα πυκνή χρωματίνη (ψευδο Pelger – Huët ανωμαλία). Ουδετερόφιλα με δακτυλοειδή πυρήνα ανευρίσκονται σπανιότερα. Συχνά απαντάται αύξηση των μονοκυττάρων (CMML) ή ύπαρξη βλαστών. Άωρες μορφές των μονοκυττάρων, έντονη βασεοφιλία αυτών με συνοδό δυσπλασία του πυρήνα, εντοπίζονται ενίοτε. Τα Β-λεμφοκύτταρα (CD19+) είναι συνήθως ελαττωμένα, όπως επίσης και τα βοηθητικά (CD4+) Τ-λεμφοκύτταρα. Θρομβοπενία απαντάται συχνά, όπως και η ύπαρξη μεγάλων αιμοπεταλίων ή φαιών αιμοπεταλίων (μειωμένη κοκκίωση). Λειτουργικά παρατηρείται ελάττωση της προσκόλλησης και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, γεγονός που εξηγεί τις αιμορραγικές εκδηλώσεις. Ο χρόνος ροής συχνά είναι παρατεταμένος.¹ Στα βιοχημικά ευρήματα ανήκουν η αυξημένη LDH και ο αυξημένος σίδηρος και φερριτίνη στις κατηγορίες RA και RARS.³⁰

Ο μυελός των οστών συνήθως έχει φυσιολογική ή αυξημένη κυτταροβρίθεια με δυσπλαστικές αλλοιώσεις των στοιχείων του, το οποίο σε συνδυασμό με την κυτταροπενία του περιφερικού αίματος, θέτει την υπόνοια διάγνωσης ΜΔΣ.³⁰ Ο μυελός ενίοτε μπορεί να είναι υποπλαστικός ($< 40\%$ της φυσιολογικής κυτταροβρίθειας στην οστεομυελική βιοψία - OMB), με ευρήματα δυσπλασίας και στις 3 σειρές. Το ποσοστό υποπλαστικού ΜΔΣ φτάνει το 17% του συνόλου.⁵⁵⁻⁵⁶ Από την ερυθρά σειρά απαντώνται συχνά μεγαλοβλαστοειδείς αλλοιώσεις, τριφυλλοειδείς πυρήνες, γιγάντιες ερυθροβλάστες, ερυθροβλάστες με δύο ή περισσότερους πυρήνες, δακτυλοειδείς σι-

δηροβλάστες, βασεόφιλη στίξη, έντονα πυκνωτικοί πυρήνες με πυρηνορρηξίες και ενδοπυρηνικές γέφυρες, καθώς επίσης και κύτταρα με κενотоπιώδες πρωτόπλασμα. Στην κοκκιώδη σειρά εμφανίζεται διαταραχή ή έλλειψη της κοκκίωσης, υπερκατάτμηση ή υποκατάτμηση (ψευδο Pelger – Huët) του πυρήνα των ουδετεροφίλων, αύξηση των μονοκυττάρων, μονοκυτταροειδή κύτταρα, γιγάντια μυελοκύτταρα και μυελοβλάστες < 20%. Τα μεγακαρυοκύτταρα είναι διπύρηνια ή υπερκατάτμητα ή αντίθετα μικρά με μέγεθος βλαστών με έναν ή δύο μικρούς στρογγυλούς πυρήνες, χωρίς εκσημασμένη λόβωση και χωρίς κοκκίωση (μικρομεγακαρυοκύτταρα) ή με κενότοπια στο πρωτόπλασμα.¹ Μεγαλοβλαστοειδής εικόνα του μυελού δεν είναι σπάνια και μπορεί να δημιουργήσει διαγνωστικές δυσχέρειες από μακροκυτταρικές αναιμίες.

Οι σιδηροβλάστες είναι ερυθροβλάστες που περιέχουν περισσότερα και μεγαλύτερα διάσπαρτα κοκκία αιμοσιδηρίνης, συνήθως έως 4 ανά κύτταρο (σιδηροβλάστη τύπου I). Σε νοσήματα που δε χρησιμοποιείται επαρκώς ο σίδηρος, οι σιδηροβλάστες μπορεί να περιέχουν έως και 6 κοκκία ανά κύτταρο (σιδηροβλάστες τύπου II). Οι δακτυλοειδείς σιδηροβλάστες είναι ερυθροβλάστες με έγκλειστα σιδήρου που βρίσκονται δακτυλοειδώς γύρω από τον πυρήνα (σιδηροβλάστες τύπου III). Η ανεύρεσή τους δείχνει υπερφόρτωση των μιτοχονδρίων με σίδηρο και χαρακτηρίζει κυρίως την κατηγορία RARS.⁵⁷

Η OMB συγκριτικά με το μυελόγραμμα, προσφέρει το πλεονέκτημα της ακριβέστερης εκτίμησης της κυτταροβρίθειας του μυελού και της ίνωσής του. Στα ΜΔΣ εμφανίζεται διαταραχή που είναι γνωστή ως φαινόμενο ALIP (abnormal localization of immature precursors). Έτσι, αντίθετα με το φυσιολογικό, στους ασθενείς με ΜΔΣ, οι πρόδρομες αιμοποιητικές προβαθμίδες στο μυελό (μυελοβλάστες και προμυελοκύτταρα) αναπτύσσονται σε νησίδες στο κέντρο του μυελικού οργάνου, κοντά στη θέση εξόδου προς το ΠΑ, ενώ οι ωριμότερες μορφές στην περιφέρεια αυτού, κάτω από το ενδόστεο, μακριά από τη θέση εξόδου προς το ΠΑ.¹

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι σε ασθενείς με ΜΔΣ, τα ουδετερόφιλα παρουσιάζουν λειτουργικές διαταραχές, όπως η ελάττωση της αλκαλικής φωσφατάσης και της υπεροξειδάσης, η μείωση της φαγοκυτταρικής ικανότητας και της χημειοταξίας και η πλημμελής ενδοκυττάρια πέψη των βακτηριδίων. Έτσι η αυξημένη ευαισθησία των αρρώστων στις βακτηριακές λοιμώξεις ερμηνεύεται όχι μόνο από την ουδετεροπενία, αλλά και από τις ποιοτικές ανωμαλίες των κοκκιοκυττάρων.³⁰

Δυσπλαστικές ανωμαλίες κυττάρων στο μυελό επισυμβαίνουν και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις, όπως είναι η απλαστική αναιμία, ο υπερσπληνισμός, η έλλει-

ψη φυλλικού οξέος και βιταμίνης B12 (μεγαλοβλαστική αναιμία), τα αιμολυτικά σύνδρομα (παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία - PNH), η αυτοάνοση θρομβοπενία, οι ιογενείς λοιμώξεις (HIV), οι συγγενείς δυσερυθροποιητικές αναιμίες, οι οξείες λευχαιμίες (κυρίως ερυθροβλαστική – M6), τα μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα (χρόνια μυελογενής λευχαιμία και ιδιοπαθής μυελοϊνωση), η λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα, η νεοπλασματική διήθηση του μυελού και η έκθεση σε αντιβιοτικά και χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Έτσι, ενδέχεται να προκύψει διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα ανάμεσα στις άνω καταστάσεις και τα ΜΔΣ. Η διαφορά είναι ότι μετά από θεραπεία της υποκείμενης νόσου ή άρσης των διατροφικών ελλείψεων, επέρχεται άρση της μυελοκαταστολής και της δυσπλασίας, ενώ σε περίπτωση ΜΔΣ, οι δυσπλαστικές αλλοιώσεις εμμένουν. Η εύρεση κυτταρογενετικών ανωμαλιών αποτελεί κριτικό σημείο για τη διάγνωση των ΜΔΣ.⁵⁸ Η μέθοδος FISH (φθορίζον in situ υβριδισμός) χρησιμοποιείται για τη διάγνωση κυτταρογενετικών ανωμαλιών, μέσω ειδικών DNA probes (ανιχνευτών) για το κάθε χρωμόσωμα. Πλεονέκτημά της, σε αντίθεση με τις παραδοσιακές μεθόδους κυτταρογενετικής ανάλυσης που διενεργούνται αποκλειστικά στο στάδιο της μετάφασης, αποτελεί το γεγονός ότι δεν εξαρτάται από τη διαίρεση του κυττάρου. Μειονέκτημα της μεθόδου FISH είναι ότι η μέθοδος περιορίζεται σε καλά γνωστές και μελετημένες κυτταρογενετικές βλάβες. Η νέα τεχνική “chromosome painting” αποτελεί παραλλαγή της μεθόδου FISH και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στη διάγνωση κυτταρογενετικών ανωμαλιών.³⁰

Υπάρχει μια μειοψηφία ασθενών με ΜΔΣ που έχουν υποκυτταρικό μυελό (συνήθως οι κατηγορίες RA και RAEB). Σε αυτές τις περιπτώσεις ενδέχεται να προκύψει πρόβλημα στη διαφορική διάγνωση από την απλαστική αναιμία και την υποπλαστική μορφή της ΟΜΛ. Η εύρεση κυτταρογενετικών ανωμαλιών που είναι τυπικές του ΜΔΣ, επιτρέπει την ακριβή διάγνωση. Ακόμα, οι ασθενείς με μυελοδυσπλασία – ορισμένες φορές – εμφανίζουν ίνωση στο μυελό των οστών και έτσι, προκαλείται πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης από τη μυελοϊνωση. Η παρουσία δυσπλασίας και στις τρεις σειρές από το περιφερικό αίμα και η απουσία ηπατομεγαλίας και σπληνομεγαλίας, οδηγούν στη διάγνωση της μυελοδυσπλασίας.³⁰ Η εκτίμηση του ποσοστού των CD34(+) βλαστών με την ανοσοϊστοχημεία σε υλικό ΟΜΒ σε συνδυασμό με την προσεκτική μορφολογική εκτίμηση του περιφερικού αίματος για ενδεχόμενη δυσπλασία, συνήθως επιτρέπει την κατάλληλη διάγνωση και κατηγοριοποίηση της περίπτωσης.⁴¹ Επιπρόσθετα, η λειτουργικότητα των αρχέγονων κυττάρων (stem cell) του μυελού, εκτιμάται από τη δοκιμασία colony forming unit (CFU), που προσδιορί-

ζει τον αριθμό των κυκλοφορούντων κυττάρων που σχηματίζουν αποικίες (colony forming cells –CFC). Στην πλειονότητα των ασθενών με ΜΔΣ, τα επίπεδα CFC είναι σημαντικά ελαττωμένα και έτσι, ένας φυσιολογικός αριθμός CFC αποκλείει την πιθανή διάγνωση του ΜΔΣ με σχετικά υψηλή ακρίβεια.⁵³

Z. ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΔΣ

Το 1997 προτάθηκε το σύστημα IPSS (International Prognostic Scoring System) και από τότε χρησιμοποιείται ευρέως για να ληφθούν θεραπευτικές αποφάσεις προσαρμοσμένες στον κάθε ασθενή. Είναι ένα δυνατό εργαλείο κατηγοριοποίησης των ασθενών με ΜΔΣ σε ξεχωριστές προγνωστικές υποομάδες, βασιζόμενο στη μέτρηση των βλαστών του μυελού, τον αριθμό των κυττοπενιών και των κλωνικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Κάθε ένας από τους παραπάνω παράγοντες κινδύνου προσμετράται και το σύνολο καθορίζει τη συνολική επιβίωση και τον κίνδυνο μετάπτωσης σε ΟΜΛ για τα de novo ΜΔΣ για όλους τους FAB τύπους, εκτός από τη CMML (Πίνακες 8 και 9).⁵⁹

Η μέγιστη βαθμολογία του συστήματος IPSS είναι το 3,5 και διακρίνει συνολικά 4 διαφορετικές ομάδες κινδύνου. Με βάση το σύστημα IPSS στην κλινική πράξη χρησιμοποιούνται οι όροι “χαμηλού και υψηλού κινδύνου ΜΔΣ” με διαφορετική πρόγνωση και θεραπεία σε κάθε περίπτωση ως ακολούθως: χαμηλού κινδύνου οι κατηγορίες low και intermediate-1, ενώ υψηλού κινδύνου οι κατηγορίες intermediate-2 και high. Στα μειονεκτήματα του συστήματος, παρά τη μεγάλη του χρησιμότητα, ανήκουν η σχετική υποτίμηση της κλινικής σημασίας των κυτταροπενιών και η απουσία διαβάθμισης του εύρους αυτών, το ότι χρησιμοποιεί το αυθαίρετο όριο των 10 gr/dl για την αιμοσφαιρίνη, αγνοώντας το ρυθμό των μεταγγίσεων και η αδυναμία πρόγνωσης της κλινικής πορείας ενός ασθενούς σε μια δεδομένη χρονική στιγμή.¹

Προγνωστική παράμετρος	Βαθμός (score)				
	0	0,5	1,0	1,5	2,0
Βλάστες μυελού (%)	<5	5-10	-	11-20	21-30
Καρυότυπος (*)	Καλός	Ενδιάμεσος	Κακός		
Κυτταροπενίες (**)	0-1	2-3			

Κατηγορία κινδύνου	IPSS score	Διάμεση επιβίωση (έτη) χωρίς θεραπεία	25% εξέλιξη προς ΟΜΛ (έτη) χωρίς θεραπεία
Χαμηλού (Low)	0	5,7	9,4
Ενδιάμεσου – 1 (Intermediate-1)	0,5-1	3,5	3,3
Ενδιάμεσου – 2 (Intermediate-2)	1,5-2	1,1	1,1
Υψηλού (High)	≥2,5	0,4	0,2

(*) Καλός = φυσιολογικός, -Y, 5q-, 20q-; Κακός = σύνθετες καρυοτυπικές ανωμαλίες ή ανωμαλίες του χρωμοσώματος 7; Ενδιάμεσος = άλλες ανωμαλίες

(**) Ουδετερόφιλα <1800/μL, Αιμοσφαιρίνη <10 g/dl, Αιμοπετάλια <100.000/μL

Πίνακες 8 και 9: Το σύστημα IPSS.⁵⁹

Το σύστημα WPSS (WHO Classification-Based Prognostic System for MDS) προτάθηκε το 2005 και αποτελεί το πιο πρόσφατα διατυπωμένο προγνωστικό σύστημα για τα ΜΔΣ (Πίνακας 10).⁶⁰ Τα πλεονεκτήματά του έναντι του συστήματος IPSS είναι ότι στηρίζεται σε 2 επιπλέον πρόσφατα αναγνωρισθείσες δυσμενείς παραμέτρους, δηλαδή την εξάρτηση από μεταγγίσεις και τη δυσπλασία πολλών κυτταρικών σειρών και ότι επιτρέπει τη δυναμική αξιολόγηση της επιβίωσης και του κινδύνου εξέλιξης προς ΟΜΛ σε πολλαπλές χρονικές στιγμές, κατά τη διάρκεια της φυσικής πορείας των ΜΔΣ. Τέλος, το χρονοεξαρτώμενο προγνωστικό σύστημα WPSS είναι

ουσιαστικό για μια αξιόπιστη εκτίμηση του δυνητικού οφέλους κάθε θεραπευτικής προσέγγισης.⁶¹ Στα μειονεκτήματα του συστήματος συγκαταλέγονται α) ότι βασίζεται σε σχετικά υποκειμενικά κριτήρια (υποκατηγορία κατά WHO, ανάγκη σε μεταγγίσεις) συγκριτικά με το πιο αντικειμενικό IPSS (καρυότυπος, βλάστες, κυτταροπενίες) και β) επειδή η τακτική μεταγγίσεων αποκλίνει από κέντρο σε κέντρο, το όριο χρήσης ερυθροποιητίνης στα ΜΔΣ διαφέρει από χώρα σε χώρα και έτσι, δεν υπάρχουν ευρέως αποδεκτές κατευθυντήριες οδηγίες για τη χορήγηση μεταγγίσεων στα ΜΔΣ.⁶¹

Παράμετρος	0	1	2	3
WHO κατηγορία	RA, RARS, 5q-	RCMD, RCMD-RS	RAEB-1	RAEB-2
Καρυότυπος *	Καλός	Ενδιάμεσος	Κακός	-
Ανάγκη μεταγγίσης **	Όχι	Τακτική	-	-

Ομάδα κινδύνου	Score	Μέση επιβίωση (μήνες)
Πολύ χαμηλού	0	103
Χαμηλού	1	72
Ενδιάμεσου	2	40
Υψηλού	3-4	21
Πολύ υψηλού	5-6	12

(*) Καλός = φυσιολογικός, -Y, 5q-, 20q-; Κακός = σύνθετες καρυοτυπικές ανωμαλίες ή ανωμαλίες του χρωμοσώματος 7; Ενδιάμεσος = άλλες ανωμαλίες.

(**) Εξάρτηση από μεταγγίσεις ερυθρών: τουλάχιστον μία μετάγγιση κάθε 8 εβδομάδες για περίοδο 4 μηνών.

Πίνακας 10: Το σύστημα WPSS.⁶⁰

Στον Πίνακα 11 παραθέτονται τα προγνωστικά συστήματα που προτάθηκαν κατά καιρούς για τα ΜΔΣ.^{1, 3, 59} Ασθενείς με αυξημένο ποσοστό CD34 θετικών κυττάρων (CD34+) στο μυελό των οστών και στο περιφερικό αίμα εμφανίζουν προχωρημένα στάδια ΜΔΣ, βραχύτερη επιβίωση και αυξημένη συχνότητα εκτροπής σε ΟΜΛ.⁶²⁻⁶³ Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες στα ΜΔΣ αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου. Ασθενείς με φυσιολογικό καρυότυπο ή σύνδρομο 5q- έχουν καλύτερη πρόγνωση με μέση επιβίωση χωρίς αγωγή που ξεπερνά τα 2 έτη. Σε όσους παρουσιάζουν τρισωμία του χρωμοσώματος 8 η μέση επιβίωση χωρίς αγωγή κυμαίνεται από 1 ως 2 έτη, ενώ στους ασθενείς με σύνθετους καρυότυπους ή απώλεια του χρωμοσώματος 7,

η επιβίωση είναι κάτω του έτους. Καλύτερη πρόγνωση έχουν άτομα με απώλεια του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 20.⁶⁴ Τελικά, η κυτταρογενετική εξέλιξη που ενδέχεται να παρατηρηθεί στην πορεία του ΜΔΣ, ιδιαίτερα στα χρωμοσώματα 1, 5 και 8, σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση.⁶⁵ Ιδιαίτερη βαρύτητα αποδίδεται στη χρωμοσωμική αστάθεια, δηλαδή στην αυξημένη συχνότητα νέων προστιθέμενων χρωμοσωμικών βλαβών σε ασθενείς με ΜΔΣ. Η τελευταία αποτελεί παράγοντα πτωχής πρόγνωσης, ανεξάρτητα από την κυτταρογενετική κατηγορία κινδύνου.⁶⁶

	FAB 1982	Bournemouth 1985	Spanish 1989	Simplified3D 1990	Duesseldorf 1992	Lille 1993
Ηλικία			■			
Αιμοσφαιρίνη		■		■	■	
Αριθμός ουδετεροφίλων	■	■				
Αριθμός αιμοπεταλίων	■	■	■	■	■	■
LDH					■	
Αριθμός βλαστών	■	■	■	■	■	■
Δυσαιμοποίηση	■					
Κυτταρογενετική ανάλυση						■
Μέγιστη βαθμολογία	15	4	5	3	4	4
Ομάδες κινδύνου	3	3	3	3	3	3

Πίνακας 11: Προγνωστικά συστήματα των ΜΔΣ.^{1, 3, 59}

Τα δευτεροπαθή ΜΔΣ μετά από χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία έχουν δυσμενέστερη πρόγνωση με υψηλά ποσοστά εξέλιξης σε ΟΜΛ. Η δεοξυθυμιδική κινάση (TK) και τα επίπεδα του διαλυτού υποδοχέα της ιντερλευκίνης-2 (soluble interleukin-2 receptor, sIL-2R) του ορού αποτελούν ανεξάρτητους δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες για ασθενείς με ΜΔΣ. Ακόμα, η ελάττωση 2 ή 3 κυτταρικών σειρών προδικάζει χειρότερη πρόγνωση σε σύγκριση με τη μονοπενία. Επιπρόσθετα, οι διαταραχές της τοπογραφίας των μυελικών πληθυσμών, γνωστές ως φαινόμενο ALIP (abnormal localization of immature precursors), σχετίζονται με πτωχή πρόγνωση στα ΜΔΣ.¹

Η μέση επιβίωση ασθενών με RAEB και RAEB-T κυμαίνεται μεταξύ 5 και 12 μήνες με 40-50% συχνότητα εξέλιξης σε ΟΜΛ, σε αντίθεση με τη μέση επιβίωση των ασθενών με RA και RARS, η οποία κυμαίνεται από 3 ως 6 χρόνια με 5-15% συχνότητα εκτροπής σε ΟΜΛ. Στους τύπους RAEB και RAEB-T, ο θάνατος οφείλεται σε μετάπτωση σε ΟΜΛ στο 20-25% των ασθενών, σε λοιμώξεις και αιμορραγικές επιπλοκές στο 36-50% των ασθενών και σε μη αιματολογικά αίτια στο 10-20% των περιπτώσεων, ενώ στα χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ (RA και RARS), ο θάνατος οφείλεται σε λευχαιμική εκτροπή στο 0-29% των ασθενών, σε λοιμώξεις και αιμορραγίες στο 15-45% και σε μη αιματολογικά αίτια στο 25-42%.⁶⁷ Παράγοντες που έχουν συσχετιστεί με λευχαιμική εκτροπή των ΜΔΣ είναι η ηλικία (<72 έτη), το ποσοστό βλαστών μυελού (>5%) και η παγκυτταροπενία.⁶⁸

Η επιβίωση ασθενών με CMML και ποσοστό βλαστών < 5% είναι περίπου 53 μήνες, ενώ αυτών με ποσοστό βλαστών 5-20% δεν ξεπερνά τους 16 μήνες.⁶⁹ Επιπλέον, για τη CMML έχει προταθεί προγνωστικό σύστημα, που αξιολογεί την LDH, το ποσοστό βλαστών μυελού (δυσμενής πρόγνωση για >5%) και την περιφερική λευκοκυττάρωση (δυσμενής πρόγνωση για $>10.000/\text{mm}^3$) και διακρίνει 2 υποομάδες χαμηλού και υψηλού κινδύνου με μέση επιβίωση 44 μήνες και 7 μήνες αντίστοιχα.⁷⁰ Παράγοντες που έχουν συσχετιστεί με χειρότερη πρόγνωση σε ασθενείς με CMML είναι η ηλικία (>60 έτη), ο αριθμός ουδετεροφίλων ($<2 \times 10^9/\text{L}$), λεμφοκυττάρων ($<1 \times 10^9/\text{L}$) και μονοκυττάρων ($>5 \times 10^9/\text{L}$), το ποσοστό των μονοκυττάρων (>20%) και η αιμοσφαιρίνη ($<60 \text{ g/L}$).⁷¹

Η. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι ασθενείς με ΜΔΣ κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το προγνωστικό σύστημα IPSS, σε χαμηλού κινδύνου (low, intermediate-1) και υψηλού κινδύνου (intermediate-2, high).⁷² Όλοι οι ασθενείς με ΜΔΣ θα πρέπει να λαμβάνουν υποστηρικτική αγωγή, η οποία περιλαμβάνει αντιβιοτικά για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων και μεταγγίσεις ερυθροκυττάρων και αιμοπεταλίων για την αντιμετώπιση των συμπτωματικών κυτταροπενιών. Η θεραπεία με χηλικές ενώσεις που δεσμεύουν το σίδηρο θα πρέπει να εφαρμόζεται στους ασθενείς με ΜΔΣ που έχουν λάβει >20-25 μονάδες ερυθρών, ιδιαίτερα στους ασθενείς χαμηλού κινδύνου.⁷² Σε μελέτη που έγινε στη Δανία το 1996, εκτιμήθηκε μικρός αριθμός ασθενών με ΜΔΣ, που έλαβαν πολλαπλές μεταγγίσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων (πάνω από 90 μεταγγίσεις κατά μέσο όρο ο καθένας) και παρουσίαζαν αυξημένη φερριτίνη ορού και αυξημένη εναπόθεση σιδήρου στο ήπαρ (εύρημα MRI) και την καρδιά. Οι άνω ασθενείς έλαβαν θεραπεία με δεσφεριοξαμίνη (χηλική ένωση) για 2 έτη με αποτέλεσμα την αποσιδήρωση, την αναστολή της υπερφόρτωσης του οργανισμού με τον τοξικό σίδηρο και τη βελτίωση των αιματολογικών παραμέτρων (αριθμός αιμοπεταλίων και ουδετεροφύλων, άνοδος αιμοσφαιρίνης).⁷³

Ειδικότερα, ασθενείς που έχουν λάβει > 20-25 μονάδες συμπτωκνωμένα ερυθρά ή με επίπεδα φερριτίνης > 1000 µg/L πρέπει να υποβάλλονται σε θεραπεία αποσιδήρωσης. Είναι προτιμότερο οι άνω ασθενείς να έχουν προσδόκιμο επιβίωσης >2 έτη. Επιπλέον αποσιδήρωση απαιτείται και σε υπονήφριους ασθενείς για αλλογενή μεταμόσχευση.³⁸ Η δεσφεριοξαμίνη (Desferal, DFO) χορηγείται σε δόση 40 mg/kg (20-50 mg) σε συνεχή υποδόρια έγχυση για 8-12 ώρες, 5-7 ημέρες την εβδομάδα. Συνεχής 24ωρη έγχυση DFO θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με φερριτίνη σταθερά > 2500 µg/L και σημαντική καρδιακή ανεπάρκεια Βιταμίνη C 2-3 mg/kg/ημέρα με έναρξη χορήγησης 4 εβδομάδες μετά τη χορήγηση της DFO βοηθά στην αποβολή του σιδήρου. Ακοομετρική και οφθαλμολογική εξέταση συνιστάται πριν από την έναρξη της αγωγής με DFO και στη συνέχεια κάθε χρόνο.³⁸

Άλλο φάρμακο που συνιστάται για την αποσιδήρωση σε ασθενείς με ΜΔΣ είναι το δεφερασιρόξ (Deferasirox, Exjade). Χρησιμοποιείται σε δοσολογία 20 mg/kg/ημέρα, άπαξ ημερησίως (διαλυόμενα δισκία των 500 mg, 250 mg και 125 mg σε νερό ή χυμό). Επί μη ανταπόκρισης, μετά από τρίμηνο, συνιστάται αύξηση της δόσης σε 30 mg/kg/ημέρα. Απαιτείται παρακολούθηση της ηπατικής λειτουργίας, κα-

θώς και της ουρίας και κρεατινίνης ανά μήνα. Ειδικά για τον πρώτο μήνα χορήγησης, συνιστάται η μέτρηση της κρεατινίνης ανά εβδομάδα. Επιπρόσθετα, η δεφεριπρόνη σε δόση 75 mg/kg, τρεις φορές ημερησίως, χρησιμοποιείται για την αποσιδήρωση των άνω ασθενών. Η παρακολούθηση γίνεται όπως και με τη DFO, απαιτείται μέτρηση λευκών αρχικά ανά εβδομάδα και στη συνέχεια ανά μήνα, λόγω προκαλούμενης ουδετεροπενίας. Τέλος, το τρανεξαμικό οξύ (transamin) σε δόση 1 g, 3-4 φορές ημερησίως συνιστάται σε ασθενείς με βαρεία θρομβοπενία και αυξημένη αιμορραγική διάθεση.⁷² Αποτελεί αντι-ινωδολυτικό φάρμακο, που αναστέλλει τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη, που είναι απαραίτητη για την αποδόμηση του ινώδους. Έτσι περιορίζεται η αιμορραγική διάθεση.

Άλλοι ασθενείς χαμηλού κινδύνου με συμπτωματική αναιμία, θα πρέπει να αντιμετωπίζονται με ερυθροποιητίνη, με ή χωρίς G-CSF (granulocyte colony stimulating factor). Η θεραπεία με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη προκαλεί ανταπόκριση της τάξης του 16%, σύμφωνα με μετα-ανάλυση, που συμπεριλαμβάνει όλους τους ΜΔΣ υποτύπους.⁷⁴ Η συγχορήγηση ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης και G-CSF βελτιώνει την αναιμία των ασθενών με ΜΔΣ.⁷⁵⁻⁷⁶ Ενδείξεις χορήγησης ερυθροποιητίνης με ή χωρίς G-CSF σε ασθενείς με πρωτοπαθές ΜΔΣ και συμπτωματική αναιμία είναι οι ακόλουθες: 1) IPSS $\leq$ 1, 2) όχι πλήρης εξάρτηση από μεταγγίσεις ερυθροκυττάρων και 3) επίπεδα ενδογενούς ερυθροποιητίνης (Epo) < 200 mU/ml, όταν η αιμοσφαιρίνη είναι > 8 g/dl και < 500 mU/ml, όταν η αιμοσφαιρίνη είναι < 8 g/dl.^{38, 72} Παράγοντες που έχουν συνδεθεί με ευνοϊκότερη ανταπόκριση είναι η έναρξη θεραπείας σε λιγότερο από 2 έτη από τη διάγνωση του ΜΔΣ, το IPSS = 0, η απουσία πολυγραμμικής δυσπλασίας, το ποσοστό βλαστών μυελού $< 5\%$ και ο φυσιολογικός καρυότυπος ή οι απλές κυτταρογενετικές ανωμαλίες πλην της del(5q).⁷⁵⁻⁷⁶ Από την εμπειρία του τμήματος ΜΔΣ της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας, σημαντικός παράγοντας ευνοϊκής ανταπόκρισης είναι η κυτταροβρίθεια μυελού $> 30\%$ και $\leq 75\%$ και τα επίπεδα φερριτίνης ορού στη διάγνωση < 400 ng/ml.³⁸

Η Epo χορηγείται σε αρχική δόση 40000-60000 IU Epo ή 300 mg δαρβεποετίνης την εβδομάδα και επί μη επίτευξης μέγιστης ανταπόκρισης μετά από 10-12 εβδομάδες θεραπείας, η δόση θα πρέπει να διπλασιάζεται ή και να προστίθεται μικρή δόση G-CSF 1 μ g/kg 3 φορές την εβδομάδα. Αν με την προσθήκη G-CSF αναπτύσσεται σημαντική λευκοκυττάρωση (λευκά $> 20000/\text{mm}^3$) ή αν εμφανίζεται αυξημένο ποσοστό βλαστών στο περιφερικό αίμα, η δόση του θα πρέπει να μειώνεται. Οι στόχοι της θεραπείας με ερυθροποιητίνη, με ή χωρίς G-CSF, είναι η απεξάρτηση των ασθενών

από μεταγγίσεις και η βελτίωση της αναιμίας με ιδανικό στόχο τιμή αιμοσφαιρίνης 12 g/dl. Επί επίτευξης του στόχου, η θεραπεία με Ερο αρχικά μετριάζεται σε δόση ή αυξάνονται τα μεσοδιαστήματα χορήγησης.⁷⁷

Στο θεραπευτικό αλγόριθμο των ασθενών με χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ (Σχήματα 1 και 2), είναι διακριτός ο ρόλος της ανοσοκατασταλτικής αγωγής. Έτσι, χαμηλού κινδύνου ασθενείς με συμπτωματική αναιμία και ηλικία ≤ 60 έτη, με έκφραση HLA-DR15, με ανάπτυξη κλώνων PNH ή ασθενείς με υποπλαστικό μυελό (κυτταροβρίθεια OMB $< 40\%$ από 2 διαφορετικές θέσεις) ή με μεγαλύτερη κυτταροβρίθεια μυελού, αλλά πολύ χαμηλό ποσοστό ερυθράς σειράς ($< 5\%$) ή όσοι έχουν πολυκλωνική ή ολιγοκλωνική υπερπλασία CD8 T-λεμφοκυττάρων, χρήζουν ανοσοκατασταλτικής αγωγής.⁷⁸⁻⁷⁹

Έχει περιγραφεί η εντόπιση κλώνων PNH σε ασθενείς με ΜΔΣ, ιδιαίτερα σε άτομα με RA.⁸⁰⁻⁸² Κατά τη διάρκεια πενταετούς παρακολούθησης ασθενών με ΜΔΣ, έχει παρατηρηθεί χαμηλότερη θνησιμότητα στους φορείς PNH κλώνων, συγκριτικά με τους ασθενείς με ΜΔΣ, χωρίς PNH κλώνο.⁸³ Ακόμα, οι ασθενείς με ΜΔΣ και PNH κλώνο εμφάνιζαν χαμηλότερη συχνότητα λευχαιμικής εκτροπής, λιγότερες μορφολογικές και κυτταρογενετικές ανωμαλίες και μεγάλη πιθανότητα απόκρισης στην ανοσοκατασταλτική αγωγή.^{80, 84} Εντούτοις, δεν έχει διευκρινιστεί επαρκώς η σημασία της ύπαρξης PNH κλώνων σε ασθενείς με ΜΔΣ και το αν οι PNH κλώνοι προκαλούν αυξημένη απόπτωση στα κύτταρα του μυελού, καθυστερώντας τη λευχαιμική μετάπτωση του ΜΔΣ ή αν, αντίθετα, προκαλούν αναστολή της απόπτωσης και λευχαιμική εκτροπή.

Η συνιστώμενη θεραπεία είναι συνδυασμός κυκλοσπορίνης και αντιθυμοκυτταρικού ορού. Τα δυο φάρμακα όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό επιτυγχάνουν υψηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης σε σχέση με την ανταπόκριση που επιτυγχάνεται με καθένα ξεχωριστά. Τα επιθυμητά επίπεδα κυκλοσπορίνης ορού είναι 150-300 ng/ml. Αρκετοί ωστόσο εφαρμόζουν θεραπεία με κυκλοσπορίνη σταθερής δόσης (300 mg ημερησίως), χωρίς να παρακολουθούν επίπεδα του φαρμάκου.³⁸ Επισημαίνεται η ανάγκη υποστηρικτικής προφυλακτικής αγωγής με ακυκλοβίρη, κοτριμοξαζόλη και αντιμυκητιασικό παράγωγο ιμιδαζόλης, επιπλέον δε και αντιφυματικής προφύλαξης σε ασθενείς με ιστορικό παλαιάς φυματιώδους λοίμωξης, κατά τη διάρκεια της θεραπείας και για 3-6 μήνες μετά τη διακοπή της κυκλοσπορίνης.^{77, 85}

Τα κορτικοστεροειδή ενδείκνυνται επί εκδήλωσης διαφόρων αυτοάνοσων εκδηλώσεων (π.χ. αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, ανοσολογικού τύπου θρομβοπενία, αγ-

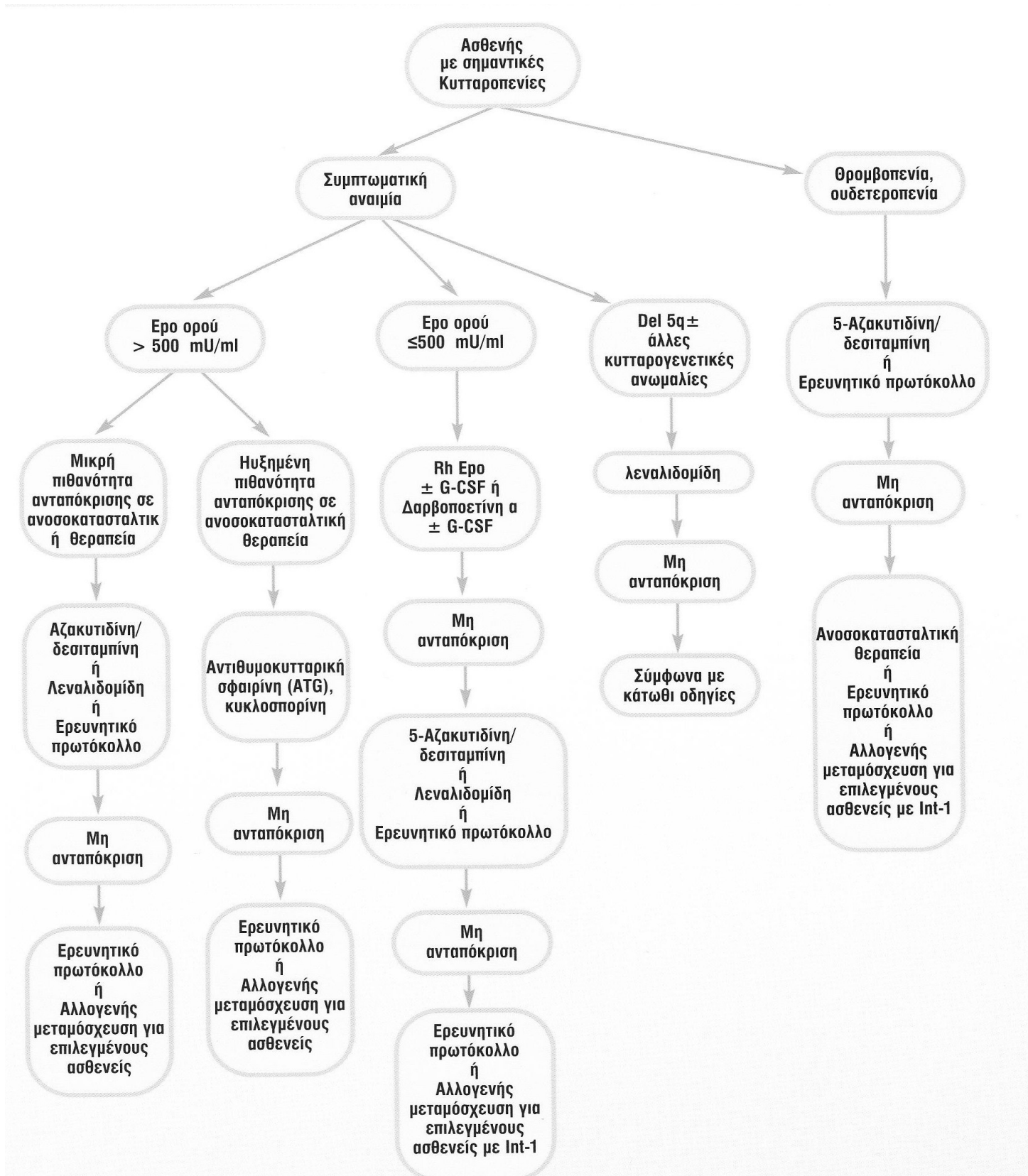
γειϋτιδα τύπου συνδρόμου Sweet, υποτροπιάζουσα πολυχονδρίτιδα) ή επί ινωτικού τύπου ΜΔΣ.⁸⁵ Για την τελευταία περίπτωση χρησιμοποιούνται σε μέτριες δόσεις (πρεδνιζόνη 0,3-0,5 mg/kg) για εβδομάδες, ανάλογα με την ανταπόκριση και τις ανεπιθύμητες ενέργειες. Σε ορισμένες περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί συνεργική δράση των κορτικοειδών με την Ερo. Βραχυχρόνιες ανταποκρίσεις έχουν παρατηρηθεί και επί υποπλαστικών ΜΔΣ, αλλά στα ΜΔΣ αυτού του τύπου, συνιστάται περισσότερο ανοσοκατασταλτική αγωγή.⁷⁸

Η χορήγηση αναβολικών στεροειδών μπορεί να οδηγήσει σε ευνοϊκές ανταποκρίσεις σε ένα ποσοστό ασθενών με χαρακτηριστικά που δεν προδικάζουν απόκριση στη θεραπεία με Ερo και G-CSF (ασθενείς με RCMD, RCMD-RS, ίνωση μυελού ή σοβαρή θρομβοπενία). Χρησιμοποιούνται η νανδρολόνη σε δόση 50-100 mg ανά 1-2 εβδομάδες σε βαθιά ενδομυϊκή χορήγηση ή η δαναζόλη σε δόση 100-200 mg 1-3 φορές την ημέρα από το στόμα. Απαιτείται προσοχή για την έγκαιρη διαπίστωση τυχόν ανεπιθύμητων ενεργειών, κυρίως του τύπου του χολοστατικού συνδρόμου.^{77, 85}

Σχετικά με ειδική θεραπεία, οι ασθενείς με σύνδρομο del(5q) θα πρέπει αρχικά να λαμβάνουν λεναλιδομίδη (lenalidomide), ουσία που έχει ανοσοτροποποιητική δράση και αποτελεί αναστολέα της αγγειογένεσης και των κυτταροκινών.^{72, 86} Αποτελεί νεότερο παράγωγο της θαλιδομίδης και τροποποιεί το μυελικό μικροπεριβάλλον. Έχουν προταθεί πάνω από 30 μηχανισμοί δράσης για τη λεναλιδομίδη, καθώς ο ακριβής τρόπος δράσης σε ασθενείς με del(5q) δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί.⁸⁶ Ενδείκνυται απολύτως στους ασθενείς με del(5q) μόνο ή μαζί με άλλες κυτταρογενετικές ανωμαλίες, οι οποίοι δεν ανταποκρίνονται σε αγωγή με αυξητικούς παράγοντες. Ευνοϊκές ανταποκρίσεις έχουν αναφερθεί και σε ασθενείς χωρίς αυτό το κυτταρογενετικό προφίλ. Η συνιστώμενη δόση είναι 10 mg για 21 μέρες με διακοπή για 7 ημέρες και επανάληψη ανάλογα με την ανταπόκριση και την ανοχή του ασθενούς. Χορηγούνται συνήθως τουλάχιστον 6 κύκλοι θεραπείας και μέχρι υποτροπής της νόσου.^{72, 85}

Μετά τη λήψη λεναλιδομίδης, οι ασθενείς με del(5q) εμφανίζουν εξαιρετική ερυθροειδή και κυτταρογενετική απόκριση. Ωστόσο, αρκετοί υποτροπιάζουν μετά από λίγα έτη σε ΜΔΣ υψηλού κινδύνου (RAEB, RAEB-T) ή εμφανίζουν κυτταρογενετική εξέλιξη, χωρίς να έχει βρεθεί το αίτιο. Επιπρόσθετα σημαντικός αριθμός από αυτούς παρουσιάζει λευχαιμική μετατροπή.⁸⁷⁻⁸⁸ Δεν έχει διαπιστωθεί αν η παραπάνω επιδείνωση οφείλεται στο φάρμακο ή στη φυσική εξέλιξη της νόσου.⁸⁸ Επίσης φαίνεται ότι ασθενείς με del(5q) που δεν έχουν λάβει αγωγή και ειδικά όσοι έχουν υψηλότερα ποσοστά βλαστών στο μυελό, εμφανίζουν μεγαλύτερη τάση για εκτροπή σε ΟΜΛ σε

σύγκριση με άλλους ασθενείς με ΜΔΣ.⁸⁸ Το γονίδιο RPS14 έχει εμπλακεί στην παθογένεια του συνδρόμου. Μαζί με απώλεια έκφρασης παρόμοιων γονιδίων, ευνοείται η επιβίωση και ανάπτυξη του 5q- κλώνου στους άνω ασθενείς.⁸⁹



Σχήμα 1: Θεραπευτικός αλγόριθμος ασθενών με χαμηλού κινδύνου MDS (Low, Int-1 risk).^{38, 72}

Ασυμπτωματικοί ασθενείς	> 60 ετών με IPSS 0 => παρακολούθηση μόνο < 60 ετών με IPSS 0 => HLA-τυποποίηση και επαγρύπνηση για πιθανή εφαρμογή Allo-SCT (επί επιδείνωσης)
Συμπτωματικοί ασθενείς	> 60 ετών: Ero 40000-60000 IU/w ή Δαρβοποετίνης 300 IU/w x 10-12 w => Ανταπόκριση => Προσαρμογή δόσης Ero => Μη ανταπόκριση => Διπλασιασμός δόσης Ero ± G-CSF x 10 w => Απώλεια αρχικής ανταπόκρισης => Αύξηση δόσης Ero x 10 w => Προσθήκη αναβολικού στεροειδούς ή λεναλιδομίδης ή ανοσοκαταστολή
Συμπτωματικοί ασθενείς	με del(5q): => λεναλιδομίδα => Ανταπόκριση => παρακολούθηση => Μη ανταπόκριση => Υποστηρικτική αγωγή, αναβολικά, ATG+ κυκλοσπορίνη ή κλινική δοκιμή άλλων φαρμάκων
Συμπτωματικοί ασθενείς	< 60 ετών: Ero 40000-60000 IU/w ή Δαρβοποετίνης 300 IU/w x 10-12 w => Ανταπόκριση => Προσαρμογή δόσης Ero => Επαγρύπνηση για πιθανή εφαρμογή Allo-SCT
Συμπτωματικοί ασθενείς	< 60 ετών με IPSS >0 => Μη ανταπόκριση στην Ero => πιθανή εφαρμογή Allo-SCT από συμβατό δότη
Συμπτωματικοί ασθενείς	< 60 ετών με IPSS >0 => Μη ανταπόκριση στην Ero και σε άλλους παράγοντες => Εφαρμογή Allo-SCT από συμβατό δότη
Συμπτωματικοί ασθενείς	> 60 ετών με ινωτικό μυελό: => Συνδυασμός Ero και κορτικοειδών ή αναβολικών στεροειδών x 10-12 w τουλάχιστον
Συμπτωματικοί ασθενείς	> 60 ετών με υποπλαστικό μυελό ή χαμηλό % ερυθ. σειράς ή HLA-DR15+, ή με κλώνο PNH => ATG + κυκλοσπορίνη
Συμπτωματικοί ασθενείς	> 60 ετών που έχασαν την ανταπόκριση σε Ero, λεναλιδομίδα ή ανοσοκαταστολή ή που ενεφάνισαν κλωνική εξέλιξη => εφαρμογή θεραπείας τροποποίησης επιγενετικών μεταβολών (5-αζακυτιδίνη, δεσιταμίνη) ή μονοχημειοθεραπεία χαμηλών δόσεων (αρασιτίνη, μελφаланη) ή κλινική δοκιμή άλλων φαρμάκων

Σχήμα 2: Θεραπευτικός αλγόριθμος ασθενών με χαμηλού κινδύνου MDS (Low, Int-1 risk).^{38, 72}

Στα Σχήματα 1 και 2 περιγράφεται διεξοδικά ο θεραπευτικός αλγόριθμος ασθενών με ΜΔΣ χαμηλού κινδύνου, ενώ στο Σχήμα 3 αναλύεται η θεραπευτική αντιμετώπιση ασθενών με ΜΔΣ υψηλού κινδύνου.

Για τους ασθενείς υψηλού κινδύνου, οι θεραπευτικές επιλογές περιλαμβάνουν παράγοντες που αναστέλλουν τη μεθυλίωση [azacitidine (Vidaza), decitabine], εντατική χημειοθεραπεία (Σχήμα 3) και μεταμόσχευση αιμοποιητικών stem cells ΠΑ ή μυελού των οστών, με βάση την ηλικία του ασθενούς, την κατάσταση της υγείας του και τη διαθεσιμότητα δότη. Η χρήση εντατικής χημειοθεραπείας στους ασθενείς με ΜΔΣ σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα, με σχετικά χαμηλά ποσοστά υφέσεων και με μικρότερη διάρκεια. Ωστόσο, η εντατική χημειοθεραπεία ενδέχεται να καθυστερήσει τη λευχαιμική μετάπτωση και να βελτιώσει τις κυτταροπενίες σε επιλεγμένους ασθενείς. Οι παράγοντες που αναστέλλουν τη μεθυλίωση μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προσωρινή γέφυρα, ενώ αναμένεται η εντόπιση του κατάλληλου δότη ή για την ελάττωση της αναλογίας των βλαστών του μυελού για να είναι ευκολότερα δεκτικός ο ασθενής στη μεταμόσχευση. Ακόμα, με τη χορήγηση azacitidine ή decitabine, βρέθηκε μειωμένη συχνότητα μετάπτωσης σε Ο.Μ.Λ. ή παράταση του μεσοδιαστήματος από τη στιγμή της διάγνωσης μέχρι την εκτροπή σε λευχαιμία, εφόσον η τελευταία συμβεί. Παρενέργειες των άνω φαρμάκων αποτελούν οι θρομβοπενίες και οι κυτταροπενίες.⁷²

Οι επιγενετικές αλλαγές του DNA προκαλούν παθολογική έκφραση γονιδίων. Εκτιμάται ότι η αυξημένη μεθυλίωση του DNA που απαντάται σε ασθενείς με ΜΔΣ σύνδρομο, οδηγεί σε αναστολή έκφρασης ογκοκατασταλτικών προστατευτικών γονιδίων με αποτέλεσμα τη μυελοδυσπλασία.⁹⁰ Έτσι ερμηνεύεται η χρήση φαρμάκων που αναστέλλουν τη μεθυλίωση (DNMT inhibitors) στη θεραπεία των ΜΔΣ. Ομοίως, οι αναστολείς της δεακετυλάσης των ιστονών (HDAC inhibitors – π.χ. το βαλπροϊκό οξύ ή το κυκλικό πεπτίδιο FK228) χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με παράγοντες που αναστέλλουν τη μεθυλίωση για τη θεραπεία των ΜΔΣ.⁹¹ Παρά την κλινική δραστηριότητα των παραπάνω τάξεων φαρμάκων, δεν υπάρχει πειστική απόδειξη, ότι αυτή αποδίδεται σε επιγενετική τροποποίηση του γονιδιώματος. Για τις άνω νέες κατηγορίες φαρμάκων διενεργούνται κλινικές δοκιμές. Για τους ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία πρώτης γραμμής, θα πρέπει να διενεργούνται κλινικές δοκιμές με νέους θεραπευτικούς παράγοντες.

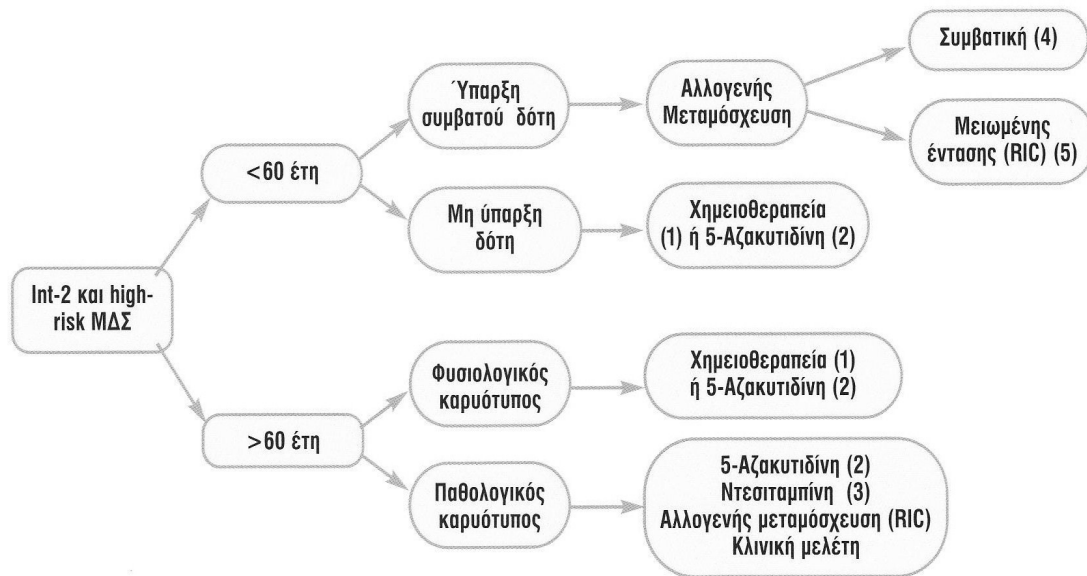
Παρόλο που μεταλλάξεις του ογκογόνου Ras μονοπατιού σήμανσης (Ras signalling pathway) παρατηρούνται συχνά σε ασθενείς με ΜΔΣ, ο ρόλος της πρωτεΐνης

Ras παραμένει άγνωστος στους άνω ασθενείς. Ανταγωνιστές της αναφερόμενης οδού, μέσω της αναστολής του ενζύμου farnesyl transferase (lonafarnib), σε ασθενείς με υψηλού κινδύνου ΜΔΣ, CMML ή OMA μετά από ΜΔΣ, έχουν μελετηθεί.⁹² Η ουσία lonafarnib χορηγήθηκε από το στόμα σε δοσολογία 200 mg δυο φορές ημερησίως σε 3 κύκλους των 4 εβδομάδων με μεσοδιάστημα ελεύθερο αγωγής που ποικίλλει από 1-4 εβδομάδες. Οι βασικότερες παρενέργειες που εμφανίστηκαν ήταν η μυελοκαταστολή και οι γαστρεντερικές διαταραχές. Παρατηρήθηκε περιορισμένου βαθμού απόκριση στο φάρμακο (μέγιστη τιμή αυτής 24%), χωρίς να αποδειχθεί φανερή συσχέτιση ανάμεσα στο βαθμό τροποποίησης της παθολογικής φαρνεσυλίωσης της Ras πρωτεΐνης και του κλινικού αποτελέσματος.⁹²⁻⁹³ Ο συνδυασμός του lonafarnib με υπομεθυλιωτικούς παράγοντες είναι υπό έρευνα.⁹⁴

Δεν υπάρχει ειδική θεραπεία μέχρι σήμερα για τη CMML.⁴⁵ Η azacitidine και η decitabine, εκτός από τα ΜΔΣ, έχουν γενικά εγκριθεί για χρήση και για τη CMML, παρόλο που έχουν δοκιμαστεί σε μικρό αριθμό ασθενών με CMML (κλινικές δοκιμές). Η αλλογενής μεταμόσχευση στελεχιαίων κυττάρων αποτελεί την οριστική θεραπευτική επιλογή για τη CMML, αλλά είναι μια επιλογή μόνο για τη μειονότητα των ασθενών, καθώς η μέση ηλικία τους είναι τα 65-75 έτη.⁴⁵ Παρατεταμένες υφέσεις έχουν αναφερθεί με το συνδυασμό azacitidine και etanercept για τους ασθενείς με CMML.⁹⁵ Η υδροξουρία θεωρείται θεραπεία επιλογής και είναι προτιμότερη από τη χορήγηση ετοποσίδης από το στόμα.⁴⁴ Μέχρι σήμερα το στάνταρ στη θεραπεία της CMML αποτελεί ο συνδυασμός υδροξουρίας και υποστηρικτικής αγωγής (μεταγγίσεις, ερυθροποιητίνη).⁴⁴ Επιπλέον, τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα εντατικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα αποτελούν η κυτοσίνη – αραβινοσίδη, η ετοποσίδη, η ιδارουβικίνη, η τοποτεκάνη, η δαουνορουβικίνη, η μιτοξανδρόνη και/ή φλουδαραβίνη.⁷⁷

Συχνά, η εντατική χημειοθεραπεία των ΜΔΣ δεν μπορεί να εφαρμοστεί, λόγω της μεγάλης ηλικίας των ασθενών και των συνοδών νοσημάτων. Σε αυτές τις περιπτώσεις χρησιμοποιείται είτε η υδροξουρία σε ασθενείς με ΜΔΣ υψηλού κινδύνου είτε η κυτοσίνη – αραβινοσίδη σε χαμηλές δόσεις, συνδυασμός που προκαλεί ανταπόκριση σε 40% των ασθενών και πλήρη ύφεση σε ποσοστό 20%. Υπήρχε ανησυχία ότι η χρήση αυξητικών παραγόντων (GM-CSF, G-CSF) για τη θεραπεία των ΜΔΣ, προκαλεί εκτροπή της νόσου σε OMA.⁹⁶ Μετά από κλινικές δοκιμές διαπιστώθηκε ότι η μετάπτωση σε OMA αποτελεί φυσική εξέλιξη της νόσου και δεν είναι αποτέλεσμα της χρήσης αυξητικών παραγόντων.

Ακόμα, η χρήση τους σε συνδυασμό με ερυθροποιητίνη, παρατείνει την επιβίωση των ασθενών που έχουν υποστεί εκτροπή σε ΟΜΛ.⁹⁶ Ο συνδυασμός χορήγησης κυτοσίνης – αραβινοσίδης και ιδαρουβικίνης μαζί με GM-CSF σε ασθενείς υψηλού κινδύνου και σε όσους έχουν υποστεί εκτροπή σε ΟΜΛ εμφανίζει υψηλά ποσοστά πλήρους ύφεσης και χαμηλά ποσοστά τοξικών θανάτων. Ωστόσο, η διάρκεια της πλήρους ύφεσης παραμένει χαμηλή.⁹⁷ Ας σημειωθεί ότι η ΟΜΛ μετά από ΜΔΣ έχει βαρύτερη πρόγνωση και εξέλιξη σε σύγκριση με την de novo ΟΜΛ.¹



(1) **DA(2+7) ή DA(3+7)** [daunorubicin 60 mg/m² ημέρες 1-2 ή ημέρες 1-3 και cytosine arabinoside 100 mg/m²x2 i.v. ή s.c. days 1-7]. Σε περίπτωση μη επίτευξης CR, επιχειρείται και 2ος πανομοιότυπος κύκλος, με την προϋπόθεση ότι ο 1ος κύκλος προκάλεσε σημαντική ελάττωση των βλαστών και δεν υπήρξε σημαντική τοξικότητα. Ανθεκτική νόσος και θεραπεία υποτροπής θα γίνεται σύμφωνα με τα πρωτόκολλα του κάθε Κέντρου.

Παράγοντες που συνδέονται με αυξημένα ποσοστά ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία είναι η ηλικία κάτω των 50, η μικρή διάρκεια της νόσου (<3-6 μήνες), η απουσία προηγούμενης έκθεσης σε κυτταροστατικά, και ο καρυότυπος. Ασθενείς με ευνοϊκής πρόγνωσης καρυότυπο έχουν υψηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης σε σχέση με αυτούς που έχουν μονοσωμία 5 ή 7.

(2) **5-Αζακυτιδίνη (Vidaza)**: 75mg/m² ημερησίως Υ.Δ x 7 ημέρες. Πρόσφατα η 5-αζακυτιδίνη έχει λάβει ένδειξη και για θεραπεία OMA de novo.

(3) **Δεσιταμπίνη (Dacogen)**: 15mg/m² ενδοφλεβίως (i.v.) σε 4ωρη έγχυση ανά 8 ώρες για 3 μέρες κάθε 6 εβδομάδες.

(4) **Η αλλογενής μεταμόσχευση μυελού** αποτελεί τη μόνη θεραπεία που στοχεύει στην ίαση των ΜΔΣ. Σε διάφορες μελέτες η επιβίωση ελεύθερη νόσου κυμαίνεται από 29% έως 40% , η θνητότητα από τη διαδικασία 37-50% και τα ποσοστά υποτροπής σε μεταμόσχευση από συγγενή ιστοσυμβατό δότη 23-48%.

Οι παράγοντες που προδικάζουν το αποτέλεσμα της μεταμόσχευσης περιλαμβάνουν την ηλικία, την διάρκεια της νόσου, το στάδιο της νόσου κατά τη μεταμόσχευση, το ποσοστό βλαστών στο μυελό, την παρουσία κυτταρογενετικών ανωμαλιών, την πηγή των stem cells, τον αριθμό των stem cells στο μόσχευμα, την αφαίρεση ή όχι των T λεμφοκυττάρων από το μόσχευμα, τον τύπο του δότη και την ένταση του σχήματος προετοιμασίας.

(5) **Η μεταμόσχευση με σχήματα μειωμένης έντασης (RIC)** έχει σαν στόχο την ελάττωση της τοξικότητας της συμβατικής μεταμόσχευσης που προκύπτει από τα μυελοκαταστροφικά σχήματα προετοιμασίας διατηρώντας την αντιλευχαιμική δράση του μοσχεύματος από τα αλλογενή λεμφοκύτταρα.

Σχήμα 3: Θεραπευτικός αλγόριθμος ασθενών με υψηλού κινδύνου MDS (High, Int-2 risk).^{38, 72}

Η μεταμόσχευση μυελού των οστών ονομάζεται αυτόλογη, όταν δότης είναι ο ίδιος ο ασθενής (αφού επιτευχθεί πλήρης ύφεση) και αλλογενής, όταν δότης είναι άλλο άτομο με συμβατά HLA αντιγόνα για την αποτροπή της αντίδρασης του ξενιστή εναντίον του μοσχεύματος. Η λήψη του μυελού των οστών του δότη γίνεται με γενική αναισθησία, συνήθως από την περιοχή του ισχίου. Ο ασθενής που θα δεχτεί τη μεταμόσχευση μυελού, πρέπει να βρίσκεται σε πλήρη ύφεση. Η χορήγηση του μοσχεύματος γίνεται ενδοφλέβια. Η στενή παρακολούθηση του ασθενούς είναι αναγκαία για την πιθανότητα απόρριψης του μοσχεύματος και την πιθανότητα εμφάνισης λοιμώξεων και αιμορραγικών διαθέσεων. Ο δέκτης πρέπει να βρίσκεται σε αυστηρές συνθήκες αντισηψίας. Η μεταμόσχευση stem cells (HSCT) γίνεται με παρόμοιο τρόπο. Κύρια πηγή stem cells αποτελεί ο μυελός των οστών. Υπάρχει τεχνική απομόνωσης των stem cells από το ΠΑ (το αίμα φιλτράρεται μέσω ειδικών συσκευών) ή απομόνωσής τους από την κατ'ισχίον άρθρωση, όπως γίνεται και η απομόνωση του μυελού των οστών.¹² Υπάρχουν κέντρα μεταμοσχεύσεων που θέτουν ανώτατο όριο ηλικίας τα 55-65 έτη για τη διενέργεια της μεταμόσχευσης μυελού, λόγω των αυξημένων επιπλοκών των ηλικιωμένων ασθενών που πάσχουν από MDS, αλλά και της φύσης του νοσήματος. Ωστόσο, η μεταμόσχευση μυελού των οστών μπορεί να γίνει με επιτυχία σε ασθενείς με ΜΔΣ άνω των 55 ετών.⁹⁸

Υπάρχει διχογνωμία για το αν οι ασθενείς με ΜΔΣ υψηλού κινδύνου, επωφελούνται από την εντατική χημειοθεραπεία για την επίτευξη ύφεσης, αμέσως πριν τη μεταμόσχευση μυελού ή stem cells. Ορισμένες μελέτες εμφανίζουν σημαντικά μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης σε μεταμοσχευμένους ασθενείς που νωρίτερα βρίσκονται σε πλήρη ύφεση, αλλά δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα επαρκή στοιχεία που να σχετίζονται με τυχαιοποιημένες προοπτικές δοκιμές, σχετικά με την αξία της χημειοθεραπείας πριν από την HSCT. Η περισσότερο προχωρημένη ηλικία και η μεγαλύτερη διάρκεια νόσου (>12 μήνες) πριν από την αλλογενή HSCT έχουν σχετιστεί με αυξημένη θνητότητα. Το γεγονός αυτό συνιστά τη διενέργεια αλλογενούς HSCT νωρίς στην πορεία της νόσου.⁹⁸

Παρόλα τα παραπάνω, σύμφωνα με τα guidelines της American Society of Hematology, για τους ασθενείς των κατηγοριών low risk και intermediate-1 κατά IPSS, η καθυστερημένη διενέργεια HSCT σε αψώτερο χρόνο, σχετίζεται με τη μέγιστη επιβίωση.⁹⁹ Για τις κατηγορίες intermediate-2 και high risk, απαιτείται η διενέργεια άμεσης HSCT.⁹⁹ Αντίθετα, σύμφωνα με τα βρετανικά guidelines για τη θεραπεία των ΜΔΣ, όλοι οι ασθενείς <65 ετών της κατηγορίας intermediate 1 κατά IPSS,

θα πρέπει να προωθούνται για αλλογενή HSCT το συντομότερο δυνατόν μετά τη διάγνωση, εφόσον η κατάσταση της υγείας τους το επιτρέπει.⁷⁷ Σε όσους ασθενείς δεν υπάρχει η δυνατότητα χορήγησης εντατικού χημειοθεραπευτικού σχήματος, δηλαδή μυελο – αφανιστικού (myeloablative) σχήματος πριν από την HSCT, προτείνεται η χορήγηση προπαρασκευαστικού σχήματος που περιλαμβάνει συνδυασμό χαμηλών δόσεων φλουδαραβίνης, busulfan και αντι – θυμοκυτταρικής σφαιρίνης πριν από την HSCT (μειωμένης έντασης προπαρασκευαστικού σχήματος, reduced intensity conditioning, RID) με καλά αποτελέσματα.^{98, 100} Στα RID που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς, περιλαμβάνεται και το alemtuzumab, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.⁹⁸ Τα RID έχουν συσχετιστεί με χαμηλότερη θνητότητα, αλλά με μεγάλα ποσοστά υποτροπών.⁹⁸

Το ποσοστό της τριετούς ελεύθερης νόσου επιβίωσης (disease free survival) μετά την αλλογενή μεταμόσχευση κυμαίνεται από 30% έως 50%.⁹⁸ Σύμφωνα, με τις βρετανικές οδηγίες, τα αποτελέσματα είναι καλύτερα σε νεότερους ασθενείς με χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ, όταν υποβάλλονται σε μεταμόσχευση εντός του πρώτου έτους από τη διάγνωση και ο αριθμός των αιμοπεταλίων τους είναι πάνω από 100.000/μl. Η αποτυχία στους χαμηλού κινδύνου ασθενείς σχετίζεται με την άμεση θνητότητα της μεταμόσχευσης, ενώ στους υψηλού κινδύνου ασθενείς σχετίζεται με την υποτροπή της νόσου.¹² Η ελεύθερη νόσου επιβίωση κυμαίνεται από 3 ως 5 έτη στην αλλογενή HSCT. Η άμεση θνητότητα που σχετίζεται με τη μεταμόσχευση κυμαίνεται από 17% ως 41%. Η συχνότητα των υποτροπών κυμαίνεται από 4% στους ασθενείς χαμηλού κινδύνου, ως 27% στους ασθενείς υψηλού κινδύνου. Αποτελεί αντικείμενο προβληματισμού το αν οι ασθενείς υψηλού κινδύνου επωφελούνται από τη χορήγηση χημειοθεραπείας με στόχο την ύφεση, πριν από τη χορήγηση του προπαρασκευαστικού σχήματος (conditioning) για την αλλογενή HSCT που θα ακολουθήσει.⁹⁸

Τέλος, κατά την αυτόλογη μεταμόσχευση, η άμεση θνητότητα είναι πολύ μικρή, αλλά τα ποσοστά υποτροπών ιδιαίτερα υψηλά.¹ Έτσι, η αλλογενής HSCT αποτελεί τη θεραπεία εκλογής για την πλειονότητα των ασθενών με ΜΔΣ νεαρής ηλικίας, που έχουν συμβατό δότη, συγγενή ή μη συγγενή. Για όσους δεν υπάρχει η τελευταία επιλογή, οι προοπτικές είτε της αυτόλογης HSCT είτε της χημειοθεραπείας είναι συγκρίσιμες και συνιστώνται. Τα ανωτέρω μοιάζουν καλές εναλλακτικές λύσεις για ασθενείς με κυτταρογενετικές ανωμαλίες ευμενούς πρόγνωσης. Η επίτευξη πλήρους ύφεσης και η συλλογή ικανού αριθμού αυτόλογων stem cells, αποτελούν απαραίτητες προϋποθέσεις για την επιτυχία της αυτόλογης HSCT. Η μεταμόσχευση με βλαστο-

κύτταρα ομφάλιου λώρου (cord blood transplantation) από συμβατούς μη συγγενείς δότες αποτελεί τεχνική του μέλλοντος και συνιστά εναλλακτική προσέγγιση για τη μεταμόσχευση ασθενών με ΜΔΣ σήμερα.⁹⁸

Στον πίνακα 12 περιλαμβάνονται τα κριτήρια ανταπόκρισης των ασθενών με ΜΔΣ, που διατυπώθηκαν από το International Working Group (IWG). Τα άνω κριτήρια πρέπει να διαρκούν τουλάχιστον 4 ή 8 εβδομάδες, κατά περίπτωση.¹⁰¹

Κατηγορία	Κριτήρια ανταπόκρισης
Πλήρης ύφεση	Μυελός με < 5% μυελοβλάστες με φυσιολογική ωρίμανση όλων των κυτταρικών σειρών, η επίμονη δυσπλασία θα πρέπει να επισημανθεί αν υπάρχει, περιφερικό αίμα: Hb > 110 g/L, αιμοπετάλια > 100x10 ⁹ /L, ουδετερόφιλα > 1x10 ⁹ /L, βλάστες 0%
Μερική ύφεση	Βλάστες μυελού ελαττωμένοι κατά 50% ή περισσότερο μετά από θεραπεία, συγκριτικά με προ θεραπείας, αλλά ακόμα > 5%, η κυτταροβρίθεια και η μορφολογία είναι μη σχετικές
Πλήρης ύφεση μυελού	Μυελός με < 5% μυελοβλάστες και ελάττωση πάνω από 50% μετά από θεραπεία, συγκριτικά με προ θεραπείας
Στασιμότητα νόσου	Αποτυχία για επίτευξη τουλάχιστον μερικής ύφεσης, αλλά όχι αποδείξεις για εξέλιξη για > 8 εβδομάδες
Αποτυχία	Θάνατος κατά τη θεραπεία ή εξέλιξη της νόσου, χαρακτηριζόμενη από επιδείνωση των κυτταροπενιών, αύξηση των βλαστών μυελού ή εξέλιξη σε πιο προχωρημένο στάδιο ΜΔΣ
Υποτροπή μετά από πλήρη ή μερική ύφεση	Τουλάχιστον ένα από τα παρακάτω: - επιστροφή στο προ θεραπείας ποσοστό βλαστών μυελού - μείωση $\geq$ 50% από τα μέγιστα επίπεδα ύφεσης/απόκρισης στον αριθμό κοκκιοκυττάρων ή αιμοπεταλίων - ελάττωση στη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης πάνω από 15 g/L ή εξάρτηση από μεταγγίσεις
Κυτταρογενετική απόκριση	Πλήρης: Εξαφάνιση της υποκείμενης χρωμοσωμικής ανωμαλίας, χωρίς νέες Μερική: Τουλάχιστον 50% μείωση της χρωμοσωμικής ανωμαλίας
Εξέλιξη της νόσου	$\geq$ 50% αύξηση στους βλάστες Οποιοδήποτε από τα ακόλουθα:

	- τουλάχιστον 50% ελάττωση από τα μέγιστα επίπεδα ύφεσης/απόκρισης στον αριθμό κοκκιοκυττάρων ή αιμοπεταλίων - ελάττωση στη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης πάνω από 20 g/L - εξάρτηση από μεταγγίσεις
Επιβίωση	Τελικά σημεία (endpoints): Συνολική: μέχρι το θάνατο από κάθε αιτία Ελεύθερη συμβαμάτων: μέχρι την αποτυχία της αγωγής ή το θάνατο από κάθε αιτία Ελεύθερη εξέλιξης (PFS): μέχρι την εξέλιξη της νόσου ή το θάνατο από ΜΔΣ Ελεύθερη νόσου (DFS): μέχρι την υποτροπή Θάνατος λόγω ειδικής αιτίας (cause-specific death): θάνατος που αποδίδεται στο ΜΔΣ
Ερυθροειδής απόκριση (προ-αγωγής < 110 g/L)	Άνοδος στη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης ≥ 15 g/L, σχετική ελάττωση του απόλυτου αριθμού των RBC μεταγγίσεων κατά τουλάχιστον 4 ανά 8 εβδομάδες, συγκριτικά με τον αντίστοιχο αριθμό μεταγγίσεων των 8 εβδομάδων προ αγωγής. Προσμετρώνται μόνο οι μεταγγίσεις για αιμοσφαιρίνη ≤ 90 g/L
Αιμοπεταλιακή απόκριση (προ-αγωγής < 100x10⁹/L)	Απόλυτη αύξηση $\geq 30 \times 10^9/L$ για ασθενείς με εκκίνηση $> 20 \times 10^9/L$ Αύξηση από $< 20 \times 10^9/L$ μέχρι $> 20 \times 10^9/L$ και τουλάχιστον κατά 100%
Ουδετεροφιλική απόκριση (προ-αγωγής < 1x10⁹/L)	Τουλάχιστον 100% αύξηση και μια απόλυτη αύξηση $> 0.5 \times 10^9/L$

Πίνακας 12: Κριτήρια ανταπόκρισης ασθενών με ΜΔΣ.¹⁰¹

Θ. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Παρόλο που πολυάριθμες διαταραχές τόσο του ανοσιακού συστήματος, όσο και του μικροπεριβάλλοντος του μυελού, έχουν εντοπιστεί σε ασθενείς με ΜΔΣ, η μέγιστη προσοχή (χωρίς να είναι εξακριβωμένο αν αυτό είναι σωστό) έχει επικεντρωθεί στην αναγνώριση βλαβών στο επίπεδο του αρχέγονου αιμοποιητικού στελεχιαίου κυττάρου. Αυτές οι βλάβες ενδέχεται να προκαλέσουν δευτεροπαθείς αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο αρχέγονο κύτταρο και στο μικροπεριβάλλον του μυελού ή στο ανοσιακό σύστημα γενικότερα. Ας σημειωθεί ότι διαταραχές στο επίπεδο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου μπορούν επίσης να προκληθούν, εξαιτίας του παθολογικού μικροπεριβάλλοντος. Επιπλέον, υφίστανται αποδείξεις ταυτόχρονα υπέρ και κατά της άποψης ότι τα ΜΔΣ είναι διαταραχή του αρχέγονου στελεχιαίου αιμοποιητικού κυττάρου, καθώς συχνότερα μπορεί να συμβούν σε ένα κύτταρο με μόνο μυελοειδή ικανότητα διαφοροποίησης (π.χ. μεγακαρυοκυτταρική, ερυθρά, κοκκιοκυτταρική/μονοκυτταρική σειρά). Είναι σαφές ότι τα ΜΔΣ αρχέγονα ή προγονικά κύτταρα θα πρέπει να είναι ικανά για επαρκή αυτό-ανανέωση για να διατηρήσουν το νόσημα.¹⁰²

Η απουσία πλήρους γνώσης των αντιγόνων επιφανείας των ανθρώπινων στελεχιαίων κυττάρων κάνει επιτακτική την ανάγκη καθορισμού μοριακών δεικτών, όπως τον προσδιορισμό του προφίλ γονιδιακής έκφρασης αυτών των κυττάρων σε συνδυασμό με τον ταυτόχρονο καθορισμό ειδικών γενετικών ή επιγενετικών διαταραχών που ανευρίσκονται σε πολλαπλές κυτταρικές σειρές. Οι κυτταρογενετικές και γενετικές διαταραχές που ανιχνεύονται στα ΜΔΣ είναι περισσότερο ενδεικτικές ενός κλωνικού μυελογενούς νοσήματος που ομοιάζει στην ΟΜΛ, παρά σε μια λεμφογενή νόσο. Η συχνή τριγραμμική δυσπλασία και αναποτελεσματική αιμοποίηση δεν εντοπίζεται μέσα στο λεμφικό διαμέρισμα. Παράλληλα, για τη μελέτη του νοσήματος χρησιμοποιούνται οι επίμυες, στους οποίους επιχειρείται η γενετική τροποποίησή τους και η πρόκληση ΜΔΣ. Το παραπάνω πειραματικό μοντέλο θα πρέπει να εκτιμάται προσεκτικά όσον αφορά στην ακρίβεια με την οποία μιμείται τις συνθήκες στο ανθρώπινο σώμα.¹⁰²

Ο ρόλος ξεχωριστών χρωμοσωμικών βλαβών (γονίδια περιοχής CDR στο χρωμόσωμα 5, γονίδια στο χρωμόσωμα 20, ελλείψεις στο χρωμόσωμα 5), διαταραχών μεταγωγής σήματος (μονοπάτι RAS, μεταλλάξεις FLT3, JAK2, NPM1), βλαβών με-

ταγραφικών παραγόντων και ελέγχου του κυτταρικού κύκλου (γονίδια AML1, EVI1, p53), επιγενετικών αλλοιώσεων (μεθυλίωση DNA, αποακετυλίωση ιστονών), μεταλλάξεων του μιτοχονδριακού DNA, κυττάρων του στρώματος του μυελού και της αγγειογένεσης μένει να διευκρινιστεί στην παθογένεια του ΜΔΣ.¹⁰³⁻¹⁰⁴ Πέρα από τη συμβατική μέθοδο FISH, οι τεχνικές high density single nucleotide polymorphism (SNP) microarrays (υψηλής πυκνότητας SNP μικροσυστοιχίες γονιδίων) και microarrays gene expression profiling analysis (προφίλ ανάλυσης γονιδιακής έκφρασης με μικροσυστοιχίες) αποτελούν το μέλλον στον προσδιορισμό όλων των περιοχών του γονιδιώματος, ανεξάρτητα από το στάδιο του κυτταρικού κύκλου.¹⁰³⁻¹⁰⁴

Δεν είναι εξακριβωμένο αν το ΜΔΣ έχει ως εκκίνηση το αιμοποιητικό στελεχιαίο αρχέγονο κύτταρο ή ένα περισσότερο δεσμευμένο προγονικό και διαφοροποιημένο κύτταρο. Λίγα είναι γνωστά σχετικά με την κυτταρική ή τη μοριακή βάση του ΜΔΣ ή για τη μετάπτωση του πρόιμου ΜΔΣ σε όψιμο ΜΔΣ ή σε ΟΜΛ. Είναι ξεκάθαρο ότι το ΜΔΣ έχει γνωρίσματα αρκετά διαφορετικά από αυτά που χαρακτηρίζουν την ΟΜΛ.^{27, 103} Κατανοώντας τις μοριακές βλάβες που εντοπίζονται σε ασθενείς με ΜΔΣ, όπως επίσης το πώς αυτές επηρεάζουν τα ανοσιακά και μη-ανοσιακά στοιχεία του μικροπεριβάλλοντος του μυελού των οστών, οδηγώντας στην αντικατάσταση των φυσιολογικών αιμοποιητικών στελεχιαίων κυττάρων από παθολογικά αιμοποιητικά κύτταρα, θα είναι κρίσιμο στην ανακάλυψη νέων στοχευμένων μοριακών θεραπειών για το νόσημα, η παθογένεια του οποίου παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστη.¹⁰²

Ακολουθούν οι εικόνες 1-16, που σχετίζονται με το γενικό μέρος της διδακτορικής διατριβής, που αναφέρεται στο ΜΔΣ.

I. ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ ΓΙΑ ΜΔΣ ΚΑΙ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ

www.mds-foundation.org

www.bloodline.net

www.cancer.org

www.aamds.org

www.nccn.org/index.asp

www.cancer.gov/search/SearchClinicalTrials.aspx

www.nci.nih.gov/cancerinfo

www.marrows.org

www.mayoclinic.com

www.hematologylibrary.org

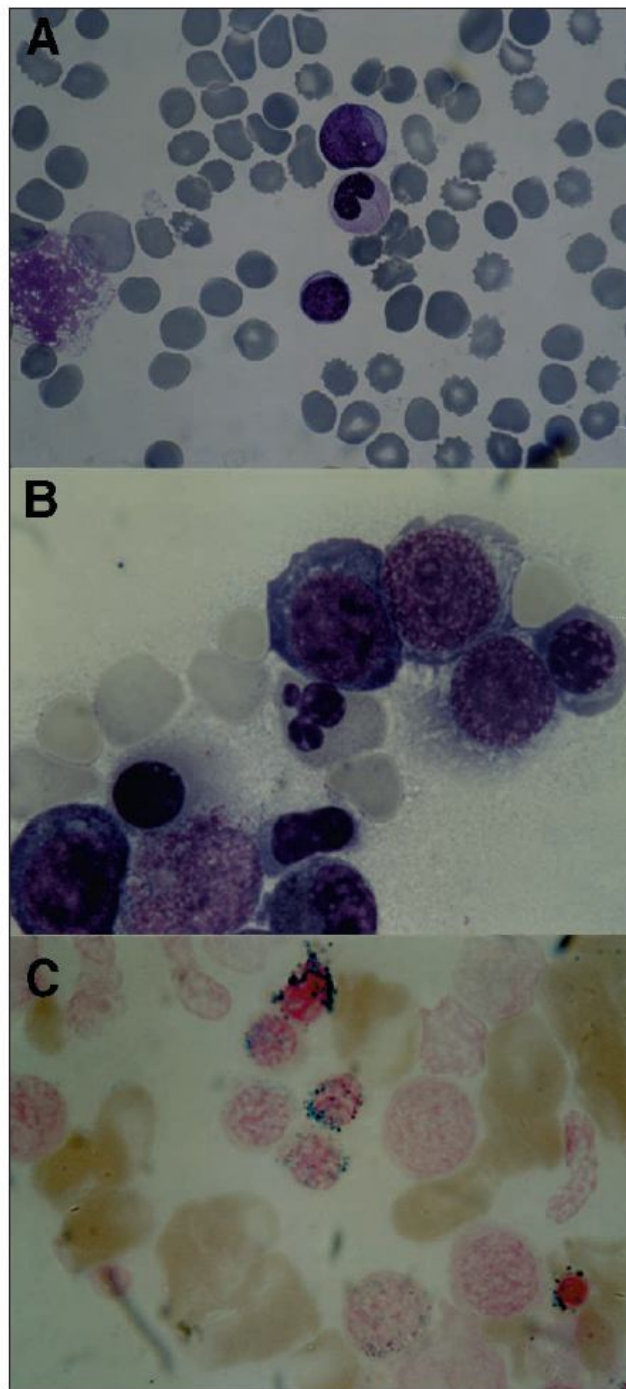
www.ehaweb.org

www.eae.gr/new/index.asp

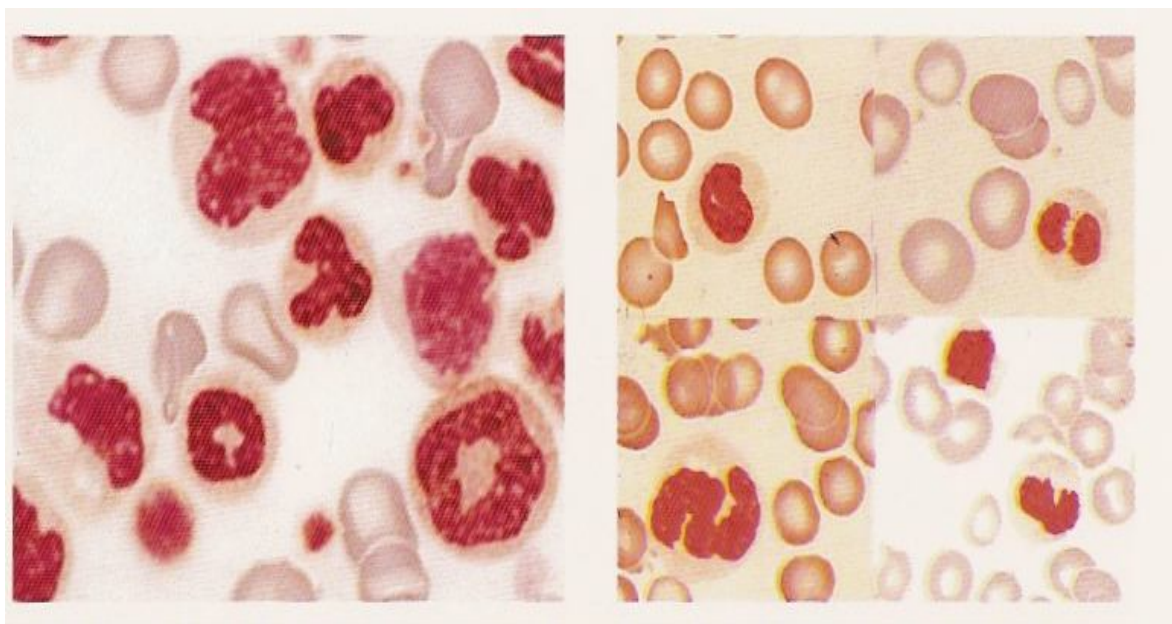
www.idelhema.gr

www.leukemia-lymphoma.org

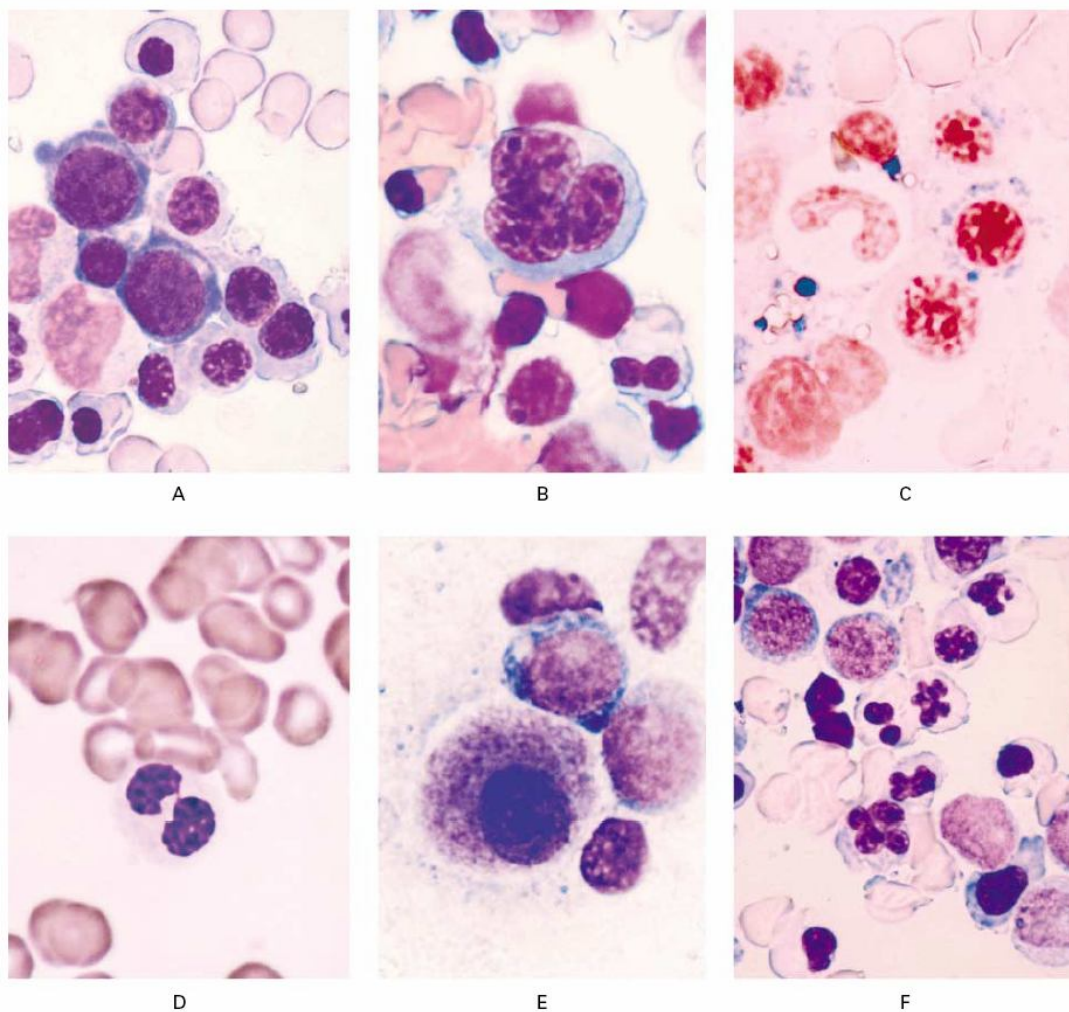
ΙΑ. ΕΙΚΟΝΕΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΟ ΜΔΣ



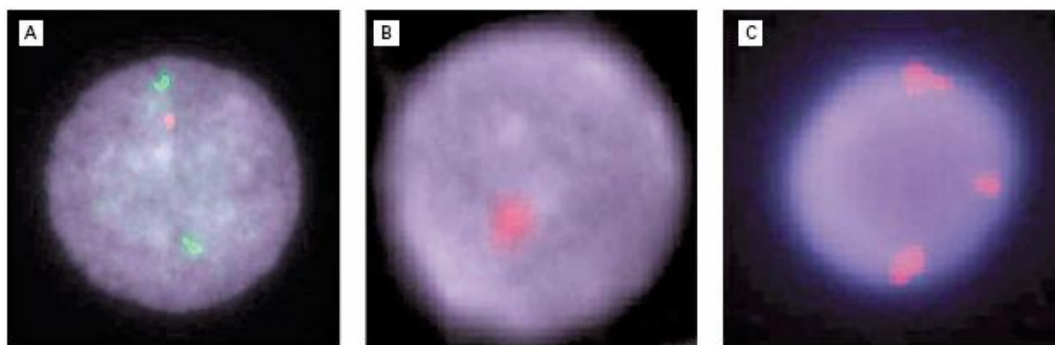
Εικόνα 1: A) Περιφερικό αίμα: Δίλοβο ουδετερόφιλο και βλάστες. B) Μυελός των οστών: Δυσπλασία ερυθράς σειράς με νεοεμφανιζόμενο πυρήνα σαν κάλυκα και μεγαλοβλάστωση. C) Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (μυελός οστών – ΜΔΣ).¹⁰⁵



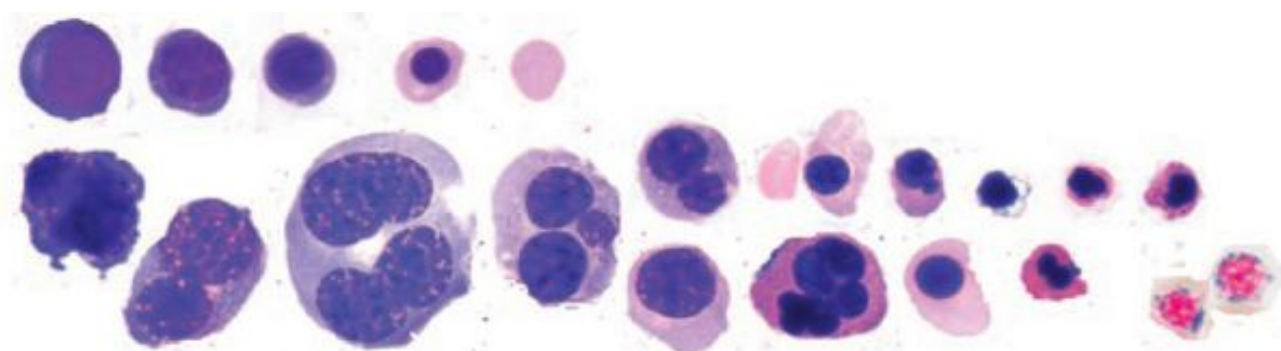
Εικόνα 2: Αριστερά, στρώμα λευκοκυττάρων με δακτυλιοειδείς πυρήνες, ιδιαίτερα πυκνό πυρηνικό υπόστρωμα και ελαττωμένη πυρηνική κατάτμηση (περιφερικό αίμα). Δεξιά, μειωμένη πυρηνική κατάτμηση (ανωμαλία ψευδο-Pelger – Huët), άνω δεξί τμήμα εικόνας δίκην “γυαλιά μύτης – pince nez” (περιφερικό αίμα) ΜΔΣ.¹²



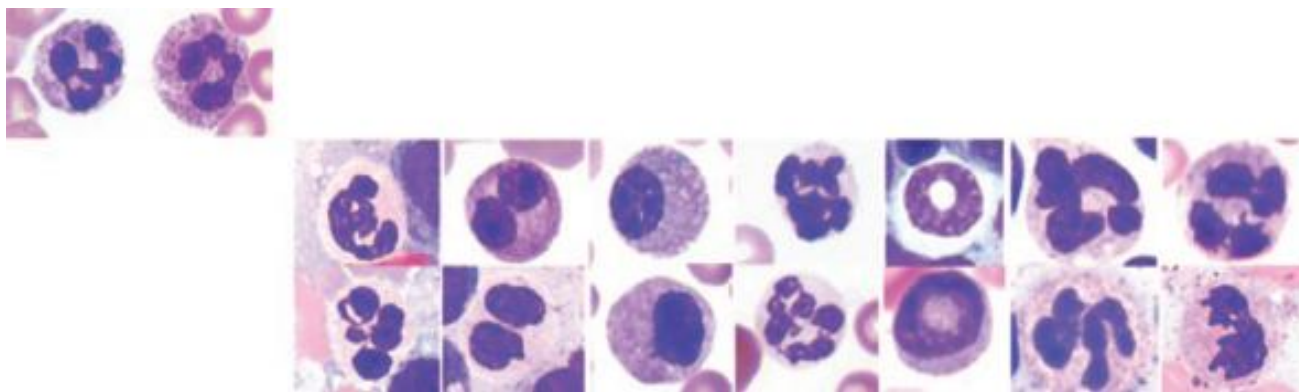
Εικόνα 3: Α) Μεγαλοβλαστική ερυθροποίηση με κυτταρόπλασμα δίκην φυσαλλίδας (μυελός οστών). Β) Πολυπύρρηνο πρόδρομο κύτταρο της ερυθράς σειράς (μυελός οστών). Γ) Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (χρώση Prussian blue – μυελός οστών). Δ) Ψευδο – Pelger – Huët ουδετερόφιλο (υποκατάτμηση πυρήνα – επίχρισμα περιφερικού αίματος). Ε) Μικρομεγακαρυοκύτταρο μυελού των οστών. ΣΤ) Δύσμορφοι, παραμορφωμένοι πυρήνες σε πρόδρομα κύτταρα της ερυθράς σειράς ασθενών με ΜΔΣ (μυελός οστών).³⁰



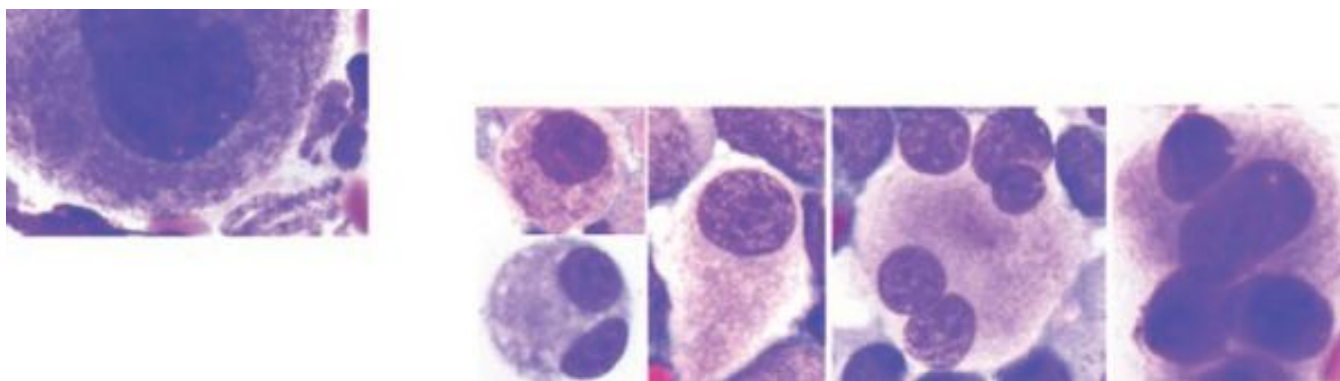
Εικόνα 4: Κυτταρογενετικές ανωμαλίες που εντοπίζονται με τη μέθοδο FISH (φθορίζον in situ υβριδισμός) σε ασθενείς με μυελοδυσπλασία. Α) Σύνδρομο 5q, fluorescein – labeled ανιχνευτής για το 5p (πράσινο) και rhodamine – labeled ανιχνευτής για το 5q (κόκκινο). Β) Μονοσωμία 7, κεντρομερικός ανιχνευτής (κόκκινο). Γ) Τρισωμία 8, κεντρομερικός ανιχνευτής (κόκκινο).³⁰



Εικόνα 5: Δυσπλασία ερυθράς σειράς. Παραδείγματα δυσπλαστικών ερυθρών πρόδρομων κυττάρων (κάτω) σε σύγκριση με αυτά με φυσιολογική μορφολογία στην αλληλουχία της ερυθράς ωρίμανσης (άνω). Οι δυσπλαστικές μορφές περιλαμβάνουν (από αριστερά προς τα δεξιά) ανώμαλες άωρες μορφές με πολλαπλούς πυρήνες, ωριμάζουσες μορφές με πολλαπλούς πυρήνες και ασύγχρονη ωρίμανση πυρήνα-πρωτοπλάσματος και ωριμότερες μορφές με μεγαλοβλαστοειδείς αλλοιώσεις, πυρηνικές εκβλαστήσεις, τριφυλλοειδείς σχηματισμούς, κενотоπιώδες πρωτόπλασμα και κυτταροπλασματική στίξη. Οι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (τέρμα δεξιά) είναι επίσης απόδειξη ερυθράς δυσπλασίας. Φωτογραφίες από ασθενή με ανθεκτική κυτταροπενία με πολυγραμμική δυσπλασία και δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες.¹

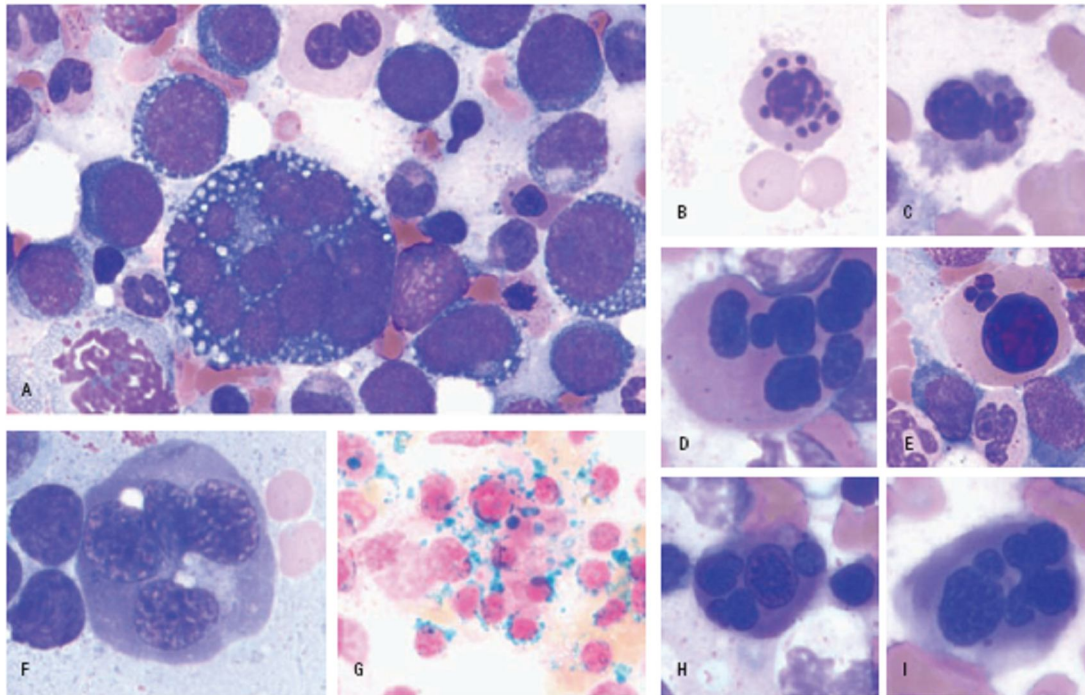


Εικόνα 6: Η κοκκιοκυτταρική δυσπλασία είναι εμφανέστερη σε ώριμα ουδετερόφιλα (κάτω) και μπορεί να αντιπαρατεθεί συγκριτικά με γνωρίσματα φυσιολογικών μορφών (άνω), τα οποία απαντώνται συνήθως σε υποπληθυσμό των συνολικών κυττάρων στις περισσότερες περιπτώσεις ασθενών με ΜΔΣ. Η κοκκιοκυτταρική δυσπλασία χαρακτηρίζεται από (αριστερά προς τα δεξιά) υποκοκκίωση του πρωτοπλάσματος, πυρηνική υπολόβωση (διπύρηνες ή μονολοβωτές ψευδο-Pelger-Hüet μορφές), υπερκατάτμηση, δακτυλιοειδείς μορφές (ραβδωτά κύτταρα), ζεύγη πυρήνων με ενίοτε εντοπιζόμενες γέφυρες και κύτταρα με υπέρμετρες πυρηνικές εκφύσεις. Φωτογραφίες από ασθενείς με ανθεκτική κυτταροπενία με πολυγραμμική δυσπλασία και με ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών.¹

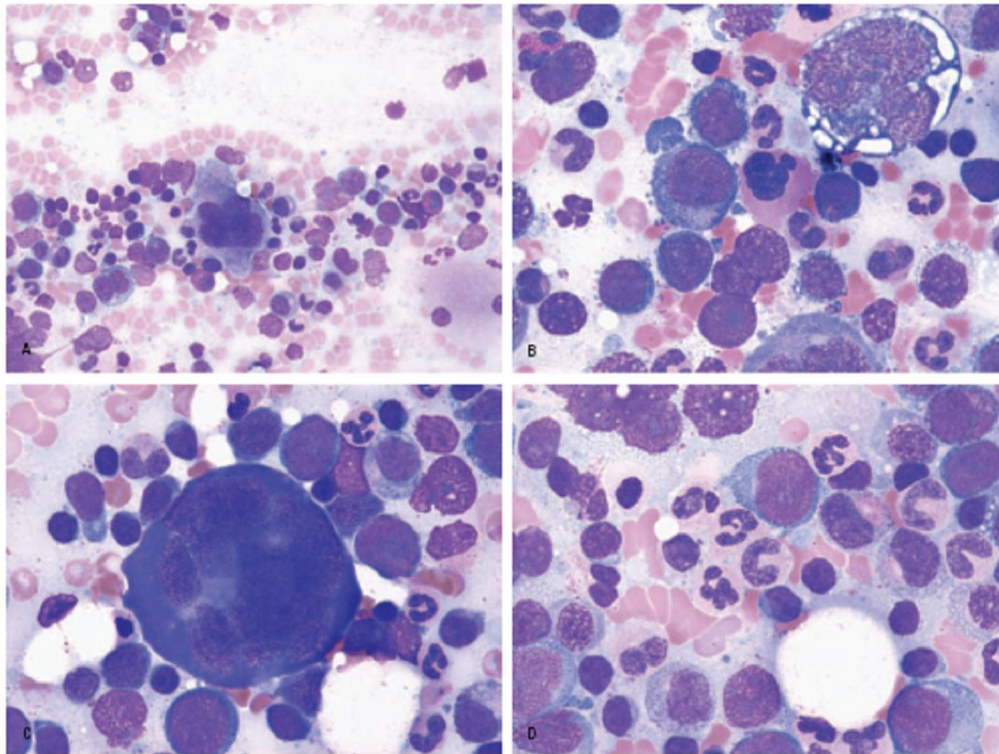


Εικόνα 7: Μεγακαρυοκυτταρική δυσπλασία. Η δυσμεγακαρυοποίηση είναι εμφανέστερη, λόγω της παρουσίας μικρομεγακαρυοκυττάρων και ανώμαλων μεγαλύτερων μορφών (δεξιά, κάτω), που συγκρίνονται με το φυσιολογικό μεγακαρυοκύτταρο (αριστερά, άνω). Τα μικρομεγακαρυοκύτταρα έχουν ένα, δύο ή τέσσερις μικρούς πυρήνες, που σχετίζεται με χαμηλό επίπεδο πλοειδίας. Φυσιολογικά χαμηλής πλοειδίας μεγακαρυοκύτταρα μπορούν να ανιχνευθούν στο μυελό, άλλα αυτές είναι ανώριμες μορφές, χωρίς ώριμο κοκκιδώδες κυτταρόπλασμα με αιμοπεταλιακό υλικό, σε αντίθε-

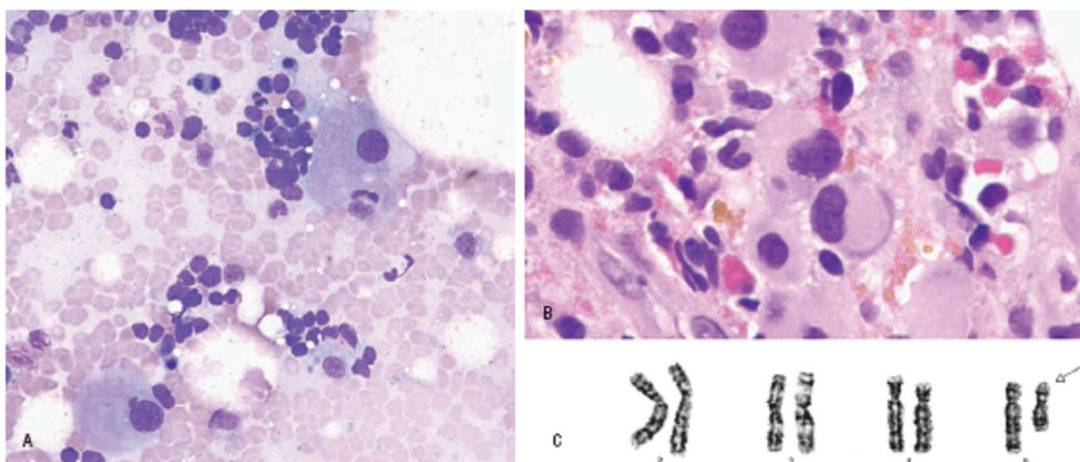
ση με τα μικρομεγακαρυοκύτταρα. Μεγαλύτερα δυσπλαστικά μεγακαρυοκύτταρα διαθέτουν πολλαπλούς, μικρούς, ευρέως κατανεμημένους πυρήνες. Φωτογραφίες από ασθενείς με ανθεκτική κυτταροπενία με πολυγραμμική δυσπλασία και με ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών.¹



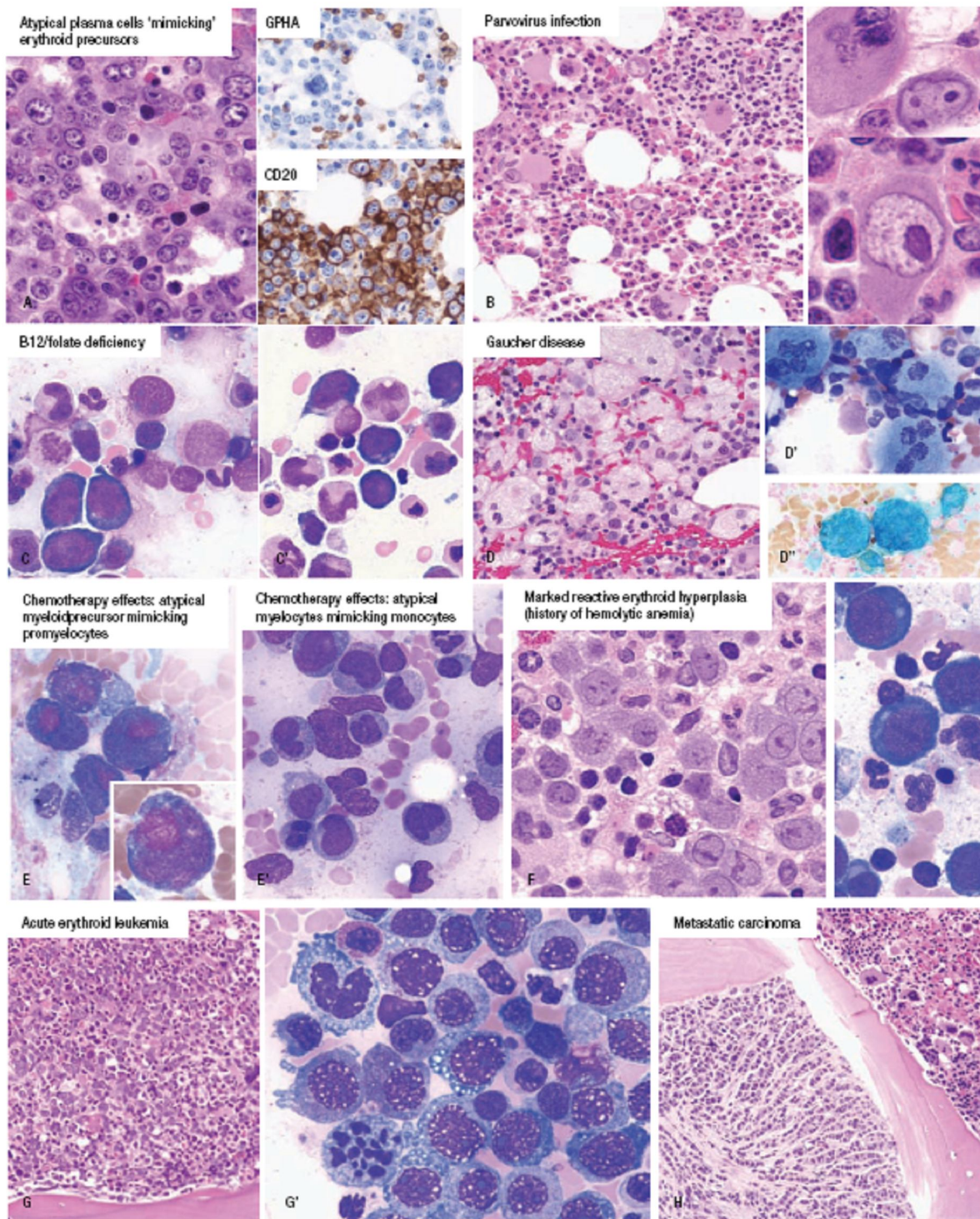
Εικόνα 8: Δυσερυθροποίηση. Άτυπα, συχνά πολυπύρηνα, πρόδρομα κύτταρα της ερυθράς σειράς (A-F και H-I). Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (G).¹⁰⁵



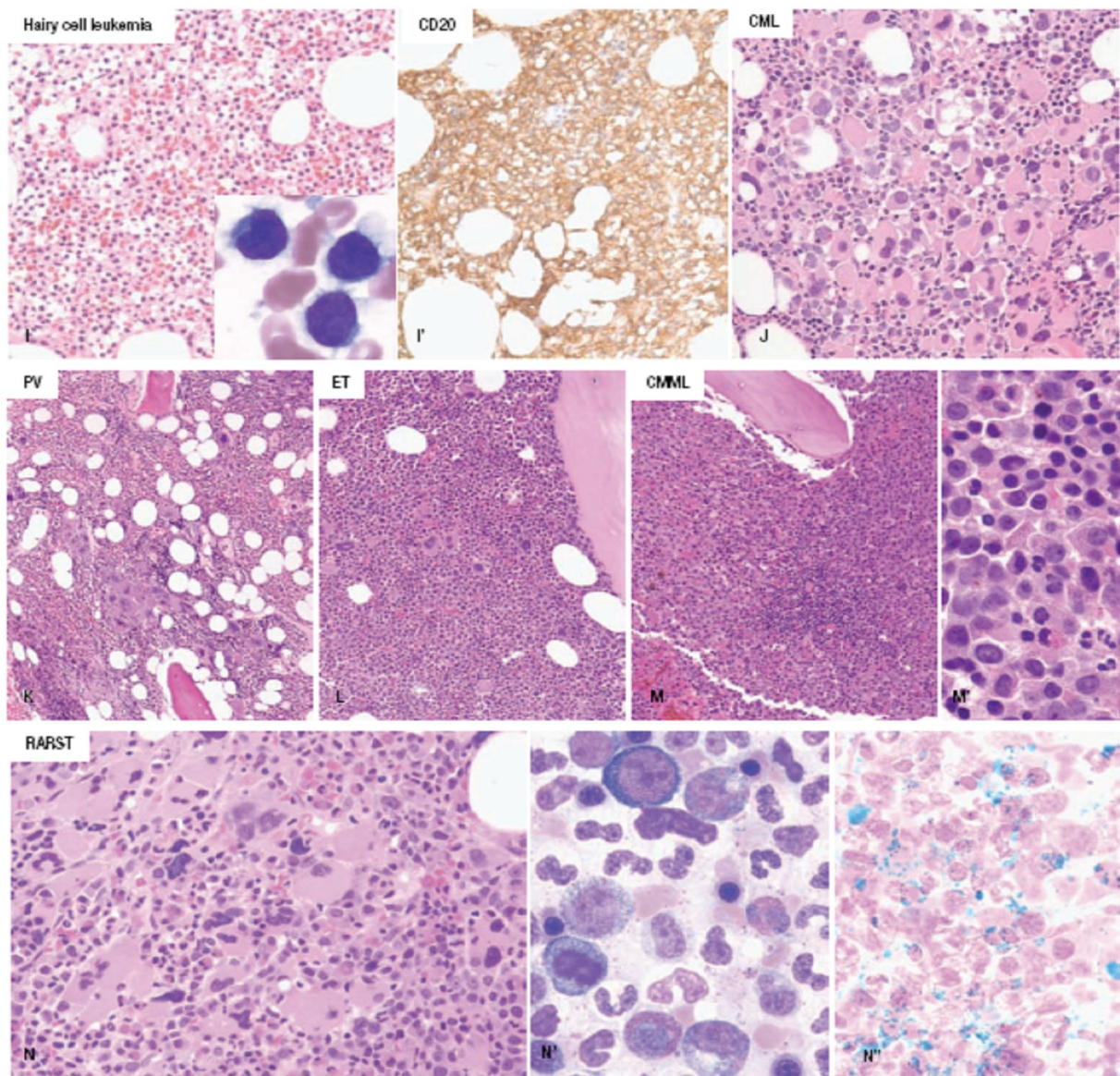
Εικόνα 9: Ανθεκτική κυτταροπενία με πολυγραμμική δυσπλασία (RCMD). (A-D) Μυελικό επίχρισμα με τριγραμμική δυσπλασία. (A) Άτυπο μεγακαρυοκύτταρο. (B-C) Εκσημασμένη δυσερυθροποίηση. (D) Δυσκοκκιοποίηση με τη μορφή της υποκοκκίωσης των ουδετεροφίλων.¹⁰⁵



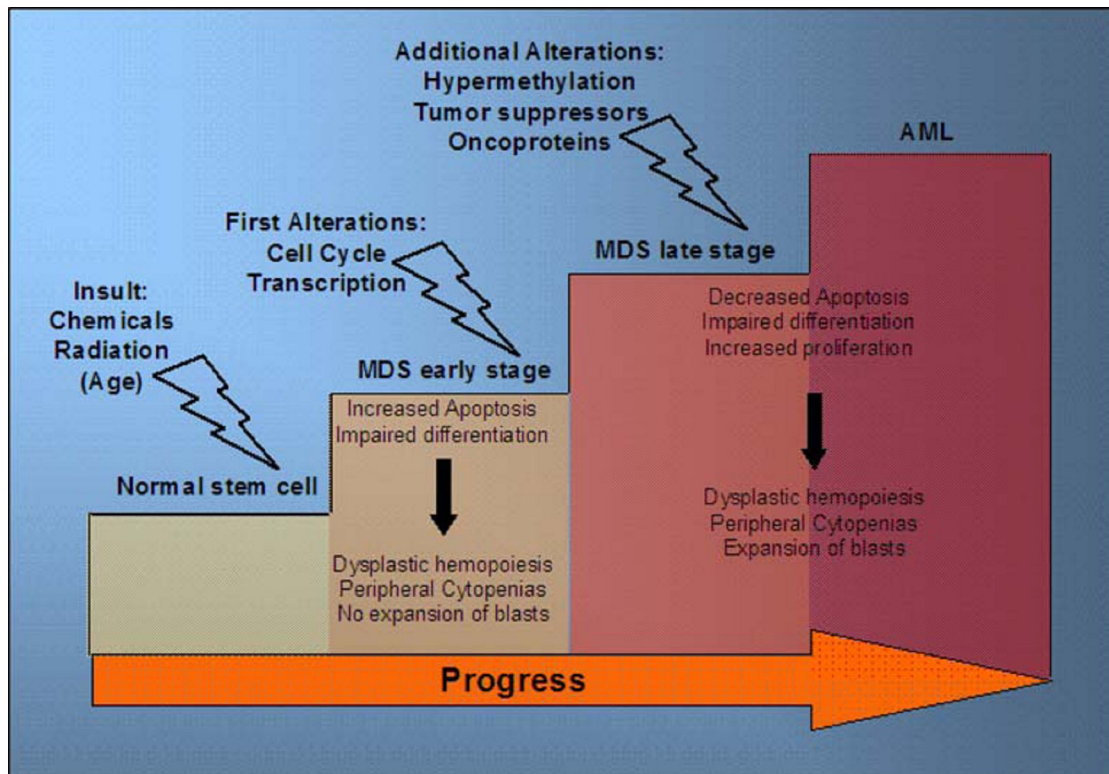
Εικόνα 10: 5q(-) σύνδρομο. (A) Μυελικό επίχρισμα με ωριμάζουσα τριγραμμική αιμοποίηση και υπολόβωση των μεγακαρυοκυττάρων. (B) Βιοψία με τυπική μεγακαρυοκυτταρική μορφολογία. (C) Καρυότυπος με έλλειψη τμήματος του χρωμοσώματος 5.¹⁰⁵



Εικόνα 11: (Συνέχεια στην επόμενη σελίδα).

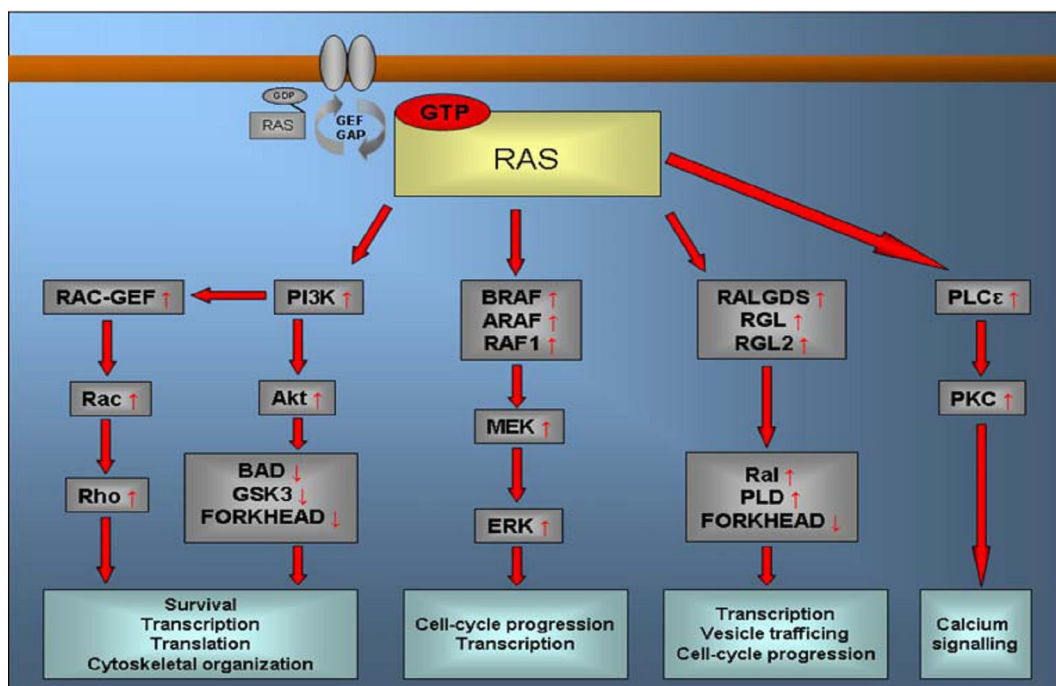
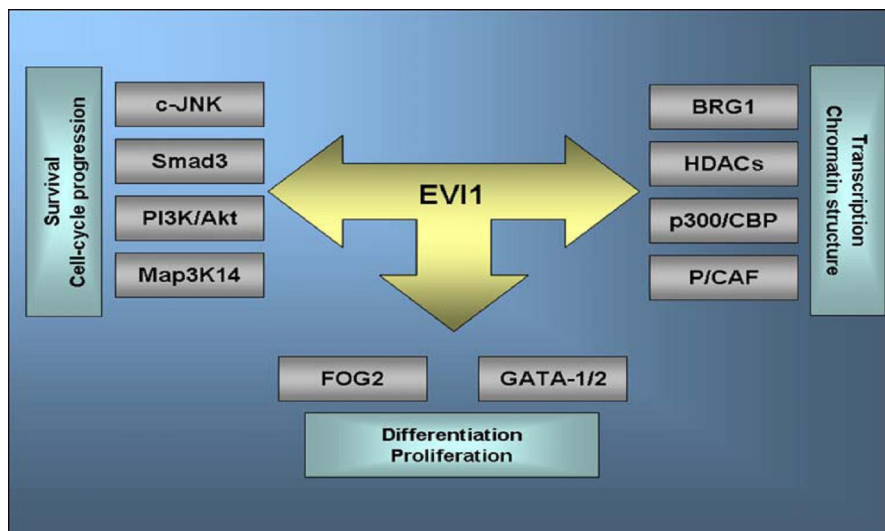
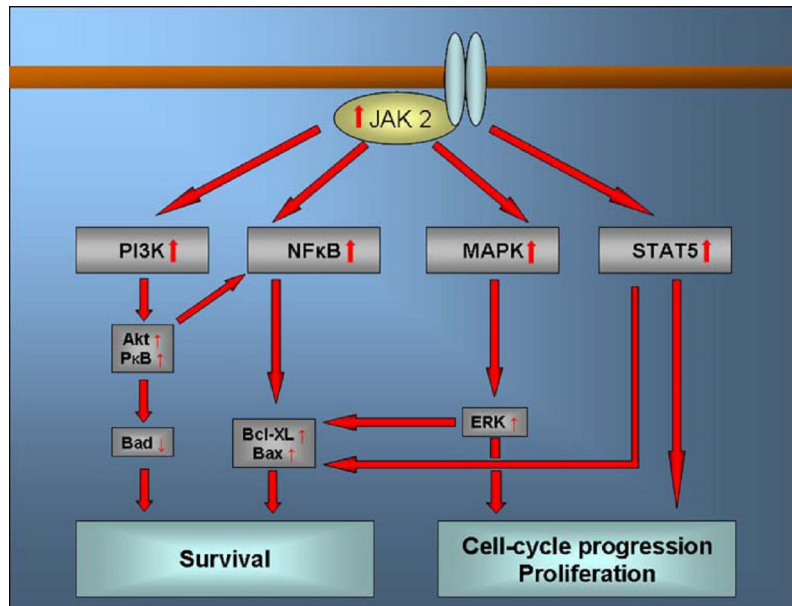


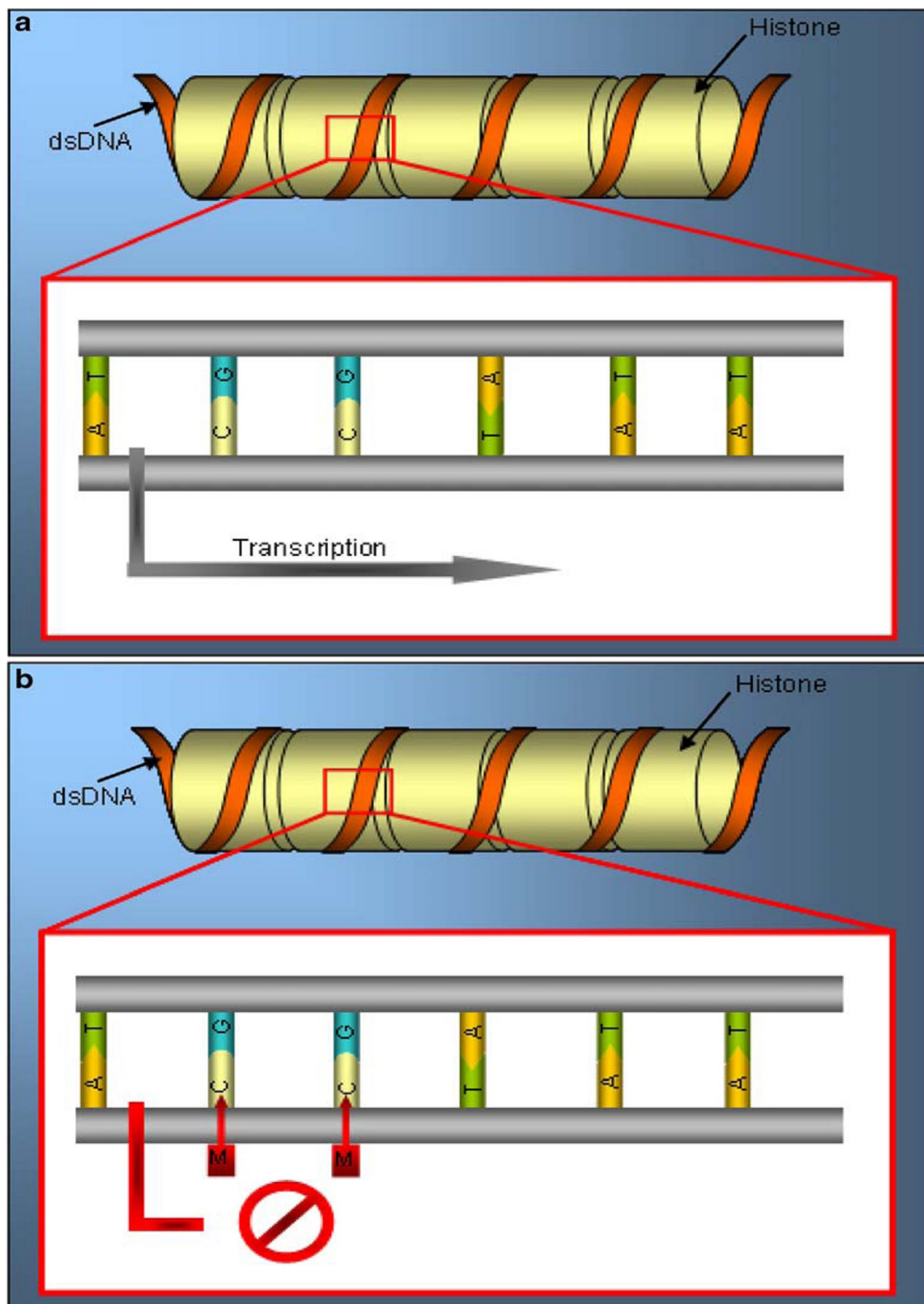
Εικόνα 11: ΜΔΣ – διαφορική διάγνωση. (Α) Πολλαπλούν μυέλωμα. Άτυπα πλασματοκύτταρα μιμούμενα δυσπλαστικά πρόδρομα κύτταρα της ερυθράς σειράς (GPHA χρώση αρνητική; CD20 χρώση θετική). (Β) Λοίμωξη από Παρβο-ιό. (C) Έλλειψη B12/φυλλικού οξέος. (D) Νόσος του Gaucher (D, OMB; D', μυελικό επίχρισμα με χρώση Wright-Giemsa; D'', μυελικό επίχρισμα με χρώση σιδήρου). (Ε) Δυσπλασία μετά από χημειοθεραπεία. (F) Αντιδραστική υπερπλασία ερυθράς σχετιζόμενη με αιμόλυση. (G) Οξεία ερυθρολευχαιμία (OML-M6). (H) Μεταστατικό καρκίνωμα. (I) Λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα. (J-N) Χρόνια μυελοπλαστικά νεοπλασμάτα: χρόνια μυελογενής λευχαιμία (J), αληθής πολυκυτταραιμία (K), ιδιοπαθής θρομβοκυττάρωση (L), CMML (M), RARS-T (N).¹⁰⁵



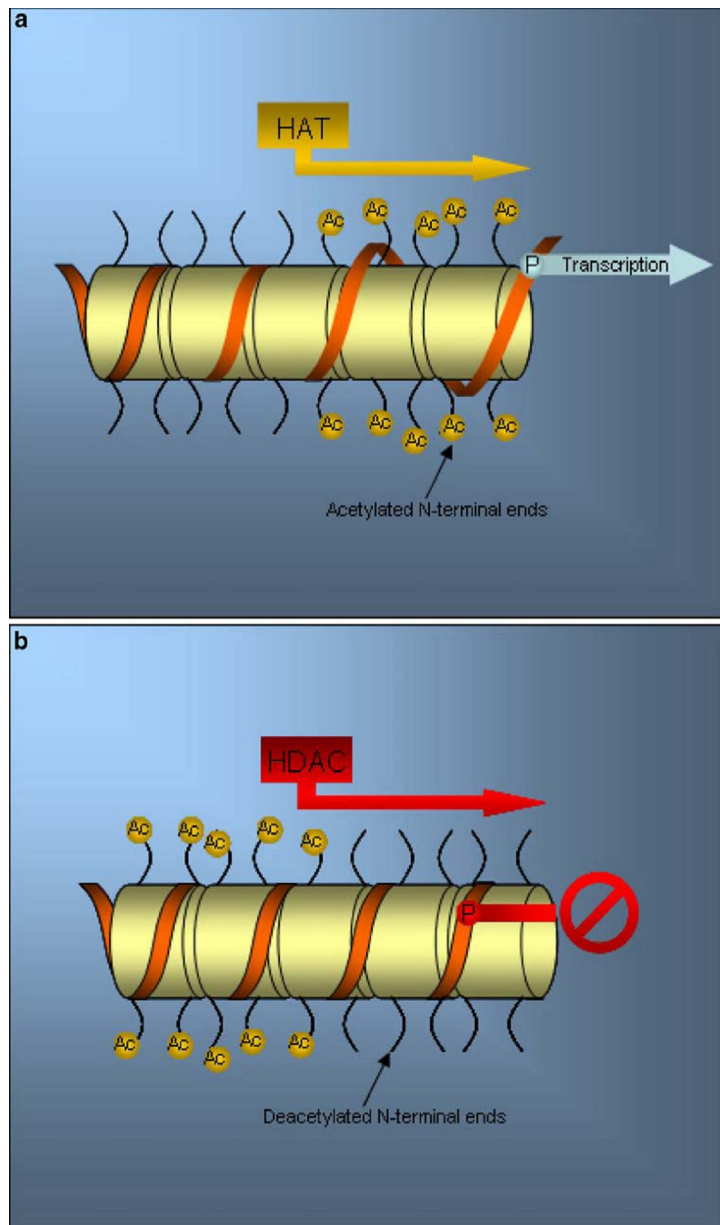
Εικόνα 12: Πολυσταδιακή παθογένεση στα ΜΔΣ που οδηγεί σε ΟΜΛ.¹⁰³

Εικόνα 13: Βλάβες μεταγωγής σήματος σε ασθενείς με ΜΔΣ. Μεταλλάξεις RAS, JAK2 και αλληλεπιδράσεις γονιδίου EVI1 σε ασθενείς με ΜΔΣ (επόμενη σελίδα).¹⁰³

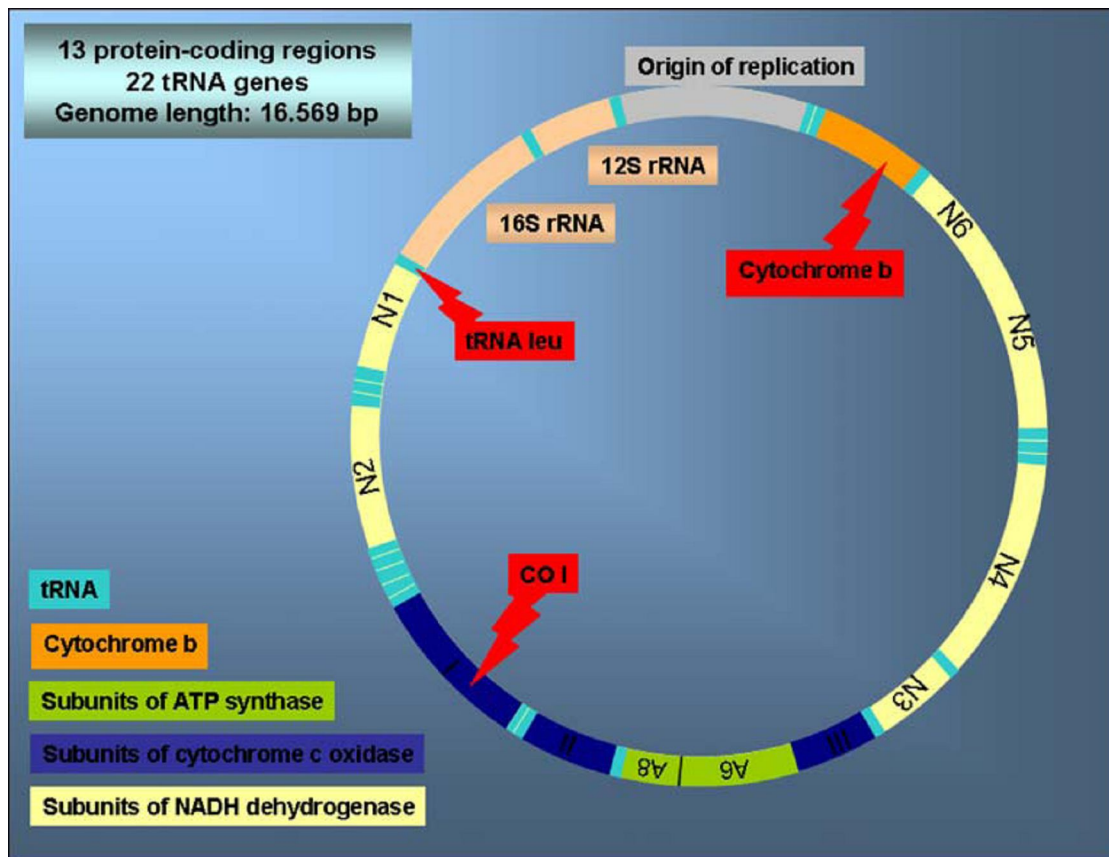




Εικόνα 14: Μεθυλίωση του DNA και αναστολή έκφρασης ογκοκατασταλτικών γονιδίων. (a) Η μεταγραφή γονιδίων είναι εφικτή, διότι η CpG νησίδα του προαγωγέα δεν είναι μεθυλιωμένη. (b) Λόγω μεθυλίωσης της CpG νησίδας, η μεταγραφή αναστέλλεται με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση του γονιδίου.¹⁰³



Εικόνα 15: Αποακετυλίωση ιστονών. (a) Η ακετυλίωση των αμινοξέων των ιστονών επιτυγχάνεται με τις ακετυλο-τρανσφεράσες των ιστονών (HAT). Η ακετυλίωση οδηγεί σε αποσταθεροποίηση των αλληλεπιδράσεων DNA-ιστονών, που προκαλεί απελευθέρωση της κατασκευής του νουκλεασώματος και συνεπώς, γονιδιακή μεταγραφή. (b) Οι αναστολείς των HAT είναι οι δεακετυλάσες των ιστονών (HDAC), που απομακρύνουν ακετυλιακές ομάδες από τις ιστόνες, γεγονός που σταθεροποιεί τη χρωματίνη και καθιστά τις αλληλουχίες του προαγωγέα μη προσπελάσιμες, με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση των γονιδίων της περιοχής.¹⁰³



Εικόνα 16: Μιτοχονδριακό γονιδίωμα και μεταλλάξεις που έχουν περιγραφεί στα ΜΔΣ. *CO I* = Κυτόχρωμα C οξειδάση I.¹⁰³

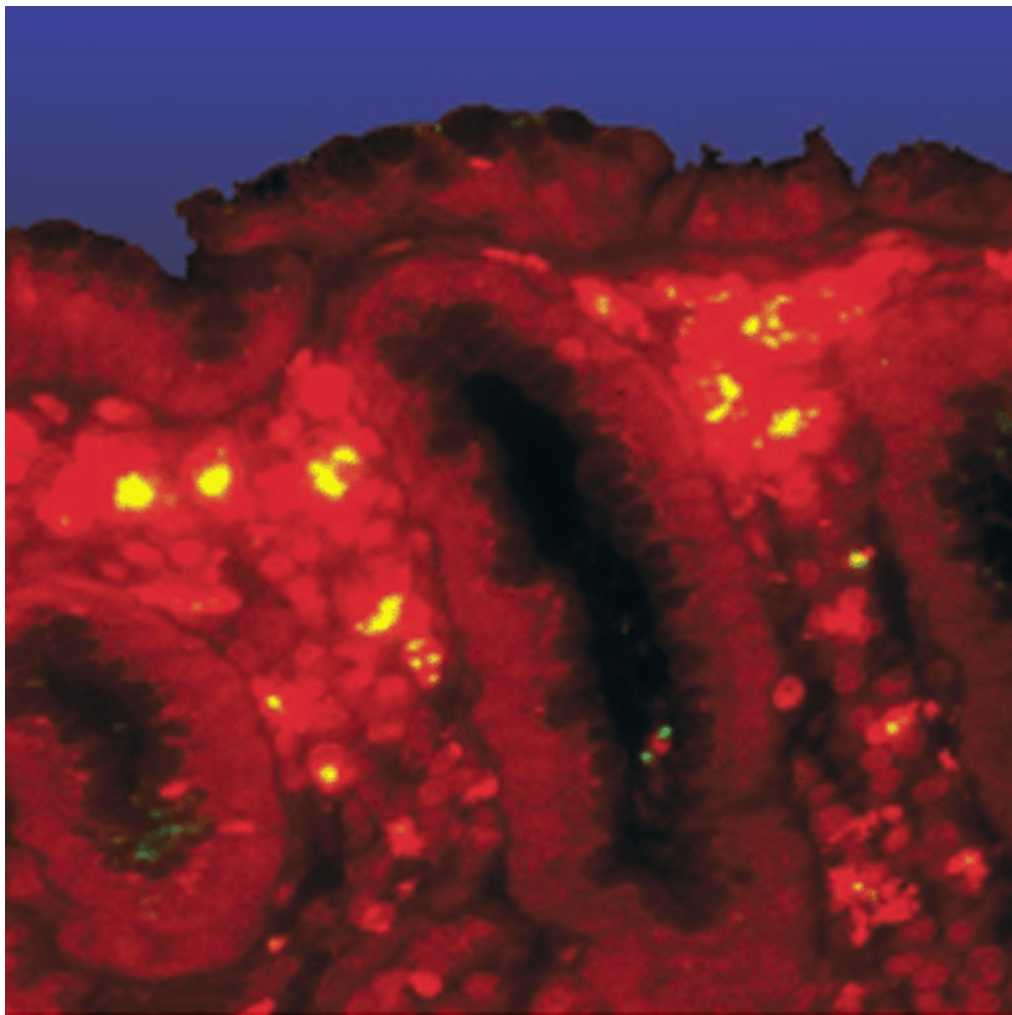
II. ΕΛΙΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟ ΤΟΥ ΠΥΛΩΡΟΥ (H_p)

A. ΓΕΝΙΚΑ

Η λοίμωξη από το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού - *Helicobacter Pylori* (H_p-λοίμωξη) θεωρείται μια από τις συχνότερες μικροβιακές λοιμώξεις στον άνθρωπο. Υφίστανται διαφορές στον τρόπο μετάδοσης μεταξύ των πληθυσμών των διαφόρων χωρών, κύρια δε οδό μετάδοσης αποτελεί η άμεση επαφή από άτομο σε άτομο μέσω στοματικής-εντερικής οδού. Ο επιπολασμός της λοίμωξης είναι ~ 80% στις αναπτυσσόμενες χώρες και 20-50% στις αναπτυγμένες. Ο κίνδυνος μόλυνσης αυξάνεται με την ηλικία, κυμαινόμενος σε χαμηλά ποσοστά στην παιδική ηλικία (10%) και στο ~50% του παγκόσμιου ανθρώπινου πληθυσμού στην ηλικία των 50 ετών.¹⁰⁶⁻¹⁰⁷ Στις αναπτυσσόμενες χώρες, τα παιδιά μολύνονται σε ηλικία <10 ετών και στην ηλικία των 20 ετών έως το 75% του πληθυσμού φέρει τον μικροοργανισμό, ενώ στις αναπτυγμένες χώρες ο ρυθμός εμφάνισης της νόσου βαίνει αυξανόμενος με την ηλικία και πλησιάζει το 25% στις ηλικίες 18-23 ετών.¹⁰⁸ Επιπλέον, η H_p-λοίμωξη ποικίλει ανά τον κόσμο και είναι συχνότερη στα υποδεέστερα κοινωνικά στρώματα,¹⁰⁹⁻¹¹¹ φαίνεται δε ότι αποτελεί αντιπροσωπευτικό δείκτη του κοινωνικοοικονομικού επιπέδου μιας κοινωνίας, όπως αυτό καθορίζεται από το επίπεδο εκπαίδευσης, τις συνθήκες διαβίωσης, το εισόδημα και την επαγγελματική ενασχόληση. Διαπιστώνεται σήμερα σημαντική μείωση της επίπτωσης της νόσου παγκοσμίως, πιθανώς λόγω της βελτίωσης των συνθηκών υγιεινής, αλλά και της μεγαλύτερης κατανάλωσης αντιβιοτικών κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας, που οδηγεί σε πιθανή εξάλειψη του βακτηρίου.¹⁰⁷ Ως επακόλουθο, η επίπτωση της λοίμωξης κατά την ενήλικη ζωή κυμαίνεται από 0,3-0,5% ανά έτος, ενώ ο ρυθμός ίασης είναι ίσος ή μεγαλύτερος.¹¹²

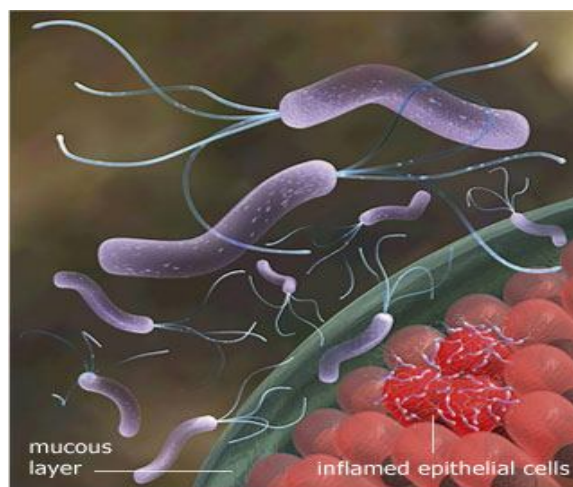
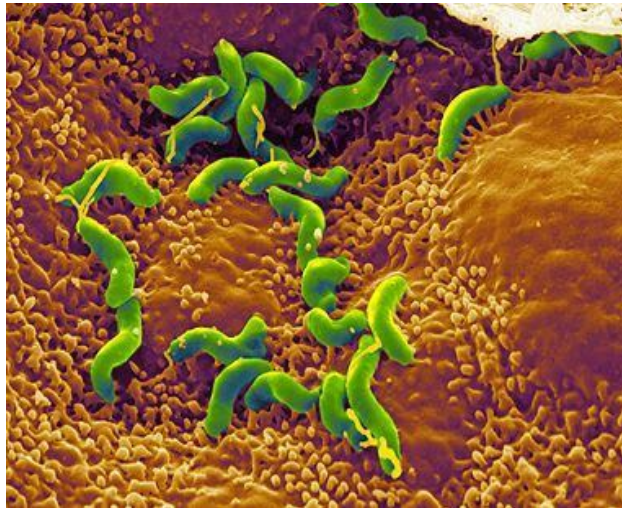
Το υπεύθυνο H_p, το οποίο απομονώθηκε για πρώτη φορά από τους Νομπελίστες Warren και Marshall το 1983,¹¹³ αποτελεί gram(-) μικροαερόφιλο, ευκίνητο, σπειροειδές βακτήριο που παράγει ένζυμα, τοξίνες και διεγείρει την έκλυση ποικίλων φλεγμονωδών μεσολαβητών, αποικίζοντας το γαστρικό βλεννογόνο. Υφίστανται πολλοί υπότυποι του H_p, που διαχωρίζονται ανάλογα με τη σχετιζόμενη νοσολογική οντότητα. Το βακτήριο εντοπίζεται εγγύς της μεμβράνης των γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων και της υπερκείμενης βλέννης, συχνά δε και στις συνδέσεις μεταξύ των γασ-

στρικών επιθηλιακών κυττάρων. Πρόκειται για κατεξοχήν εξωκυττάριο μικροοργανισμό και σπανίως εντοπίζεται ενδοκυττάρια.¹¹⁴



Εικόνα 17: Το *Helicobacter pylori* (Hr) κατεξοχήν αποικίζει τον γαστρικό βλεννογόνο και σπάνια τον διηθεί. Για παράδειγμα, οι Ito και συν. βρήκαν ότι η Hr-επαγόμενη βλάβη του γαστρικού επιθηλίου επιτρέπει την εισβολή των βακτηρίων στο χόριο και τη μετατόπισή τους στους γαστρικούς λεμφαδένες. Η φωτογραφία δείχνει το Hr να προσλαμβάνεται από τα μακροφάγα στο χόριο ακριβώς κάτωθεν της επιθηλιακής κυτταρικής στιβάδας. Ο δείκτης CD68 (cluster of differentiation) των μακροφάγων φαίνεται με ερυθρό και το Hr που ανιχνεύεται με μονοκλωνικό αντίσωμα φαίνεται με πράσινο χρώμα.¹¹⁴⁻¹¹⁵

Χαρακτηριστικό του αποτελεί ο έντονος ιστικός τροπισμός, αποικίζοντας το γαστρικό επιθήλιο του στομάχου ή σε περιοχές με γαστρική μεταπλασία ή έκτοπο γαστρικό ιστό (επιθήλιο Barrett's, μεταπλασία δωδεκαδακτυλικού βλεννογόνου και εκκόλπωμα Meckel).¹¹⁶ Επισημαίνεται ότι το Hp παρουσιάζει το μεγαλύτερο βαθμό γενετικού ανασυνδυασμού από όλα τα γνωστά βακτηριακά είδη, γεγονός που του προσδίδει πλεονέκτημα και αυξημένες ικανότητες αποικισμού του οργανισμού.¹¹⁷



Εικόνα 18: *Helicobacter pylori*.¹¹⁸

<http://www.cheapmedicinechest.com/infection-with-helicobacter-pyloricoronary-heart-disease-cardiovascular-risk-factors-and-systemic-inflammation.html>

Το προφίλ της Ηρ-λοίμωξης σχετίζεται με τους λοιμογόνους παράγοντες του μικροβίου, οι οποίοι διακρίνονται σε αυτούς που προάγουν τον αποικισμό και σε αυτούς που επάγουν την ιστική βλάβη (Πίνακας 13).^{112, 115, 119-121}

Λοιμογόνοι παράγοντες Ηρ
Προάγοντες τον αποικισμό - Κινητικότητα - Ουρεάση - Επαγωγή υποχλωρυδρίας - Προσκόλληση - Ρ τύπου ΑΤΡάση
Επάγοντες την ιστική βλάβη - Λιποπολυσακχαρίδη (LPS) - Παράγοντες στρατολόγησης και ενεργοποίησης λευκοκυττάρων - Πρωτεΐνες CagA και VacA - Heat shock πρωτεΐνες (Hsps) - Αιμολυσίνες

Πίνακας 13: Παράγοντες του *Helicobacter pylori* (Ηρ) που προάγουν τον αποικισμό και επάγουν την ιστική βλάβη (CagA: Cytotoxin-associated gene A, VacA: Vacuolization cytotoxin A).

Γενικά οι επιπτώσεις αποικισμού του Ηρ στον γαστροδωδεκαδακτυλικό βλεννογόνο είναι άμεσες (παράγει πρωτεϊνικές ουσίες που βλάπτουν άμεσα το επιθήλιο και μειώνουν την αντίσταση του βλεννογόνου) ή έμμεσες (προάγει την ενεργοποίηση και στρατολόγηση φλεγμονωδών κυττάρων) στην εξεργασία της βλεννογονικής φλεγμονής.¹²² Η αλληλεπίδραση μεταξύ Ηρ-επαγόμενων πρωτεϊνών (μεταβιβαστές ιστικής βλάβης) και ιστικών υποδοχέων του ξενιστή (στην κορυφαία μεμβράνη του γαστρικού επιθηλίου) προσδιορίζει τον ιστικό τροπισμό και αρκετές προσκολλησίνες

έχουν προταθεί ως μεσολαβητές προσκολλησεως του Hp στο γαστρικό επιθήλιο.^{112, 115} Μετά την προσκόλληση του Hp, ενεργοποιείται μια ακολουθία σημάτων στο μολυσμένο γαστρικό επιθήλιο που προκαλεί συμβάματα κυτταροπλασματικά (κενοτοπιώδη σχηματισμό και άνοδο του κυτταροπλασματικού ασβεστίου) και πυρηνικά (πολλαπλασιασμός, απόπτωση, μεταγραφή), τα οποία συμμετέχουν στην παθογένεση της λοίμωξης.¹²³⁻¹²⁵

Η διέγερση της ανοσιακής απόκρισης οδηγεί σε έκκριση κυτταροκινών, παραγωγή αντισωμάτων έναντι του Hp (IgA, IgG, IgM) και έκκριση άλλων φλεγμονωδών μεταβιβαστών [λευκοτριένες, προσταγλανδίνες E₂, πρωτεάσες, δραστικοί μεταβολίτες οξυγόνου (reactive oxygen metabolites, ROMs)] προκαλώντας ιστική βλάβη κυρίως επί απουσίας αντιοξειδωτικών παραγόντων (βιταμίνες C, E) [Ernst P, 1999; Lee JS et al, 2010]. Ειδικότερα, τα Hp στελέχη ενεργοποιούν τη δραστική πρωτεΐνη 1 (AP-1) και τον πυρηνικό παράγοντα μεταγραφής NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), πυροδοτώντας την οδό σημάτων που οδηγεί σε ενεργοποίηση του πυρήνα. Εν όψει του κυτταρικού στρες, πιθανόν να υφίσταται ένας καταρράκτης αποκρίσεων κινασών (c-Jun N-terminal kinase, mitogen-activated protein (MAP) kinase 4, p21-activated kinase) και μικρών Rho-GTPασών [Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (Rac1), Cell division control protein 42 (Cdc42)] στο γαστρικό επιθήλιο, ο οποίος συμβάλλει στην επαγωγή κυτταροκινών / χημειοκινών από το Hp που ευοδώνουν τη φλεγμονή προκαλώντας ιστική βλάβη.^{112, 115, 119, 128-129}

1. Επαγωγή υποχλωρυδρίας

Ο κρίσιμος χρόνος για την ανάπτυξη του Hp εντοπίζεται στα αρχικά στάδια της λοίμωξης προς αποφυγή της εξουδετερωτικής δράσης του γαστρικού οξέος.¹¹⁹ Ως εκ τούτου, επιδρά ευνοϊκά το γεγονός ότι η οξεία λοίμωξη συνοδεύεται από υποχλωρυδρία τόσο κατά την οξεία προσβολή όσο και σε χρόνια βάση (ατροφική γαστρίτιδα). Ο μηχανισμός της Hp-προκαλούμενης υποχλωρυδρίας είναι άγνωστος. Πιθανοί μεσολαβητές περιλαμβάνουν πρωτεϊνικούς αναστολείς του οξέος, βλεννογονικές κυτταροκίνες ή λιποπολυσακχαρίδη (LPS) και την IL-1β που σχετίζεται με Hp καρκινογόνο επίπτωση.^{120, 130-131} Επιπλέον, ο οργανισμός δυνατόν να επιβιώνει στο όξινο γαστρικό περιβάλλον εν μέρει εξαιτίας της εξαιρετικά υψηλής δραστηριότητας της ουρεάσης του, η οποία διασπά την ουρία που υπάρχει στο γαστρικό υγρό σε αλκαλική αμμωνία και διοξείδιο του άνθρακα.¹³²⁻¹³³

2. Προσκόλληση Hr

Η ικανότητα του Hr να προσκολλάται ειδικά στο γαστρικό επιθήλιο παρεμποδίζει την αποβολή του από την έκκριση βλέννας ή τη γαστρική κινητικότητα και διευκολύνει τη δράση των Hr τοξινών και των παραγόντων στρατολόγησης των λευκοκυττάρων στο επιθήλιο του ξενιστή.^{112, 115} Η Hr αιμοσυγκολλητίνη με ινιδιακή μορφολογία στοχεύει στην προσκόλληση του Hr επειδή έχει ειδικό υποδοχέα (glycerolipid receptor) στα γαστρικά βλεννογονικά κύτταρα.¹²³ Σταθερή προσκόλλησή της στον ειδικό υδατανθρακικό υποδοχέα των βλεννογονικών κυττάρων οδηγεί στο σχηματισμό προσκολλητικής βλάβης (πολυμερισμός ακτίνης και διάσπαση επιθηλίου).¹¹⁹ Επιθηλιακή προσκόλληση του Hr επιτυγχάνεται και μέσω της BabA προσκολλησίνης (blood group antigen binding adhesin) που προσκολλάται σε Lewis^b επιτόπους, οι οποίοι αφθονούν στον ανθρώπινο γαστρικό βλεννογόνο. Η προσκόλληση έχει επίπτωση στην έκβαση της λοίμωξης και πιθανόν να σχετίζεται με την αντίσταση του βακτηρίου.¹³⁴ Επισημαίνεται ότι η BabA2 σχετίζεται σημαντικά με το δωδεκαδακτυλικό έλκος και το γαστρικό αδενοκαρκίνωμα και δυνατόν να χρησιμεύει ως χρήσιμος δείκτης προσδιορισμού ασθενών με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης Hr-σχετιζόμενων νόσων.¹³⁴⁻¹³⁵ Τέλος, η φωσφορυλίωση της 145-kDa πρωτεΐνης συνδέεται με την προσκόλληση του Hr στα γαστρικά κύτταρα.¹³⁶

3. Παράγοντες ιστικής βλάβης

3α. LPS

Ανήκει σε οικογένεια γλυκολιπιδίων ανευρισκομένη στο κυτταρικό περίβλημα gram (-) βακτηρίων (συμπεριλαμβανομένου του Hp).¹¹⁹ Ενοχοποιείται για την παθογένεση της Hp-λοίμωξης.¹³⁷ Η ανοσιακή δραστηριότητά της είναι χαμηλή. Μετά διέγερση με Hp-LPS, η έκκριση των φλεγμονωδών κυτταροκινών tumor necrosis factor (TNF)-α, IL-1 και IL-6 από ανθρώπινα μονοπυρηνικά κύτταρα και η έκκριση IL-8 από ουδετερόφιλα είναι σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη που προκαλείται από *Escherichia coli*- και σαλμονέλλα- LPS.¹³⁸ Η χαμηλή βιολογική δραστηριότητα, αποτέλεσμα φωσφορυλίωσης του λιπιδίου A της LPS, φαίνεται να συμβάλλει στην επιμονή της Hp-λοίμωξης και στη χρόνια φλεγμονή του γαστρικού βλεννογόνου. Επιπλέον η Hp-LPS δυνατόν να παίζει σπουδαίο ρόλο στην αυτοάνοση απόκριση. Η σύνθεση του LPS O-ειδικού αντιγόνου από τα Hp στελέχη είναι παρόμοια με εκείνη των Lewis^x ή Lewis^y αντιγόνων ομάδων αίματος του ξενιστή, τα οποία και εκφράζονται σε αφθονία στο γαστρικό βλεννογόνο (επιφάνεια τοιχωματικών κυττάρων). Η μοριακή αυτή μίμηση ευθύνεται για την παρουσία γαστρικών αυτοαντισωμάτων επαγομένων από το Hp. Τα anti-Lewis^y Hp αντισώματα συμβάλλουν στην ανάπτυξη ατροφικής γαστρίτιδας. Εντούτοις, Hp-μολυσμένα άτομα χωρίς anti-Lewis^x στον ορό έχουν επίσης υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης ατροφικής γαστρίτιδας, τα δε Lewis αντιγόνα εκφράζονται πιο συχνά στα cytotoxin-associated gene (Cag) A(+) Hp στελέχη, υποδηλώνοντας ότι τα CagA(+) στελέχη ευθύνονται κυρίως για την αυτοάνοση απόκριση και για ανάπτυξη ατροφικής γαστρίτιδας. Αυτό πιθανόν να αντανακλά την ανοσοεπικρατούσα φύση του CagA μάλλον παρά των Lewis επιτόπων.¹³⁹ Από πρακτικής πλευράς, η μέτρηση των anti-Lewis^y-CagA στον ορό δυνατόν να αποτελεί δείκτη αυτοάνοσης απόκρισης και ανάπτυξης Hp ατροφικής γαστρίτιδας με τις δυνητικές επιπτώσεις της στην ογκογένεση.¹¹⁹

3β. Άλλοι παράγοντες ενεργοποίησης και στρατολόγησης λευκοκυττάρων

Το Hp επάγει έναν αριθμό, LPS-ανεξάρτητων, διαλυτών επιφανειακών πρωτεϊνών με χημειοτακτικές ιδιότητες προς στρατολόγηση μονοκυττάρων και ουδετεροφίλων στο χόριο και προς ενεργοποίηση των φλεγμονωδών αυτών κυττάρων.¹¹⁹ Αυτές περιλαμβάνουν: την Hp πρωτεΐνη ενεργοποιούσα τα ουδετερόφιλα (neutrophil activating protein, NAP)¹⁴⁰⁻¹⁴¹ και τις ανοσοδραστικές πορίνες (φλεγμονώδεις κυτταροκίνες).¹²⁰ Η Hp-NAP κωδικοποιείται από το napA γονίδιο που υπάρχει σε όλα τα Hp

στελέχη. Στον Hr-επαγόμενο καταρράκτη των κυτταροκινών, το γαστρικό επιθήλιο εκκρίνει χημειοκίνες που προσελκύουν τα ουδετερόφιλα (IL-8, GRO α). Πράγματι, υφίσταται αυξημένη έκφραση IL-8 RNA στον Hr-μολυσμένο βλεννογόνο,¹⁴² η δε IL-8 επάγεται από άλλες φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (TNF- α , IL-1). Οι τελευταίες αυξάνουν σε ασθενείς μολυσμένους με CagA(+) στελέχη που σχετίζονται επίσης με αυξημένη έκφραση IL-8 RNA. Οι Hr πορίνες (και η ουρεάση) επάγουν την έκκριση κυτταροκινών στα μονοπυρηνικά κύτταρα (μακροφάγα). Επιπλέον, υδατοδιαλυτά εκχυλίσματα του Hr ρυθμίζουν την ουδετεροφιλική προσκόλληση στο ενδοθήλιο μέσω CD11b/CD18-εξαρτώμενων αλληλεπιδράσεων με το μόριο προσκόλλησης ICAM-1 (inter-cellular adhesion molecule 1). Βρέθηκε αυξημένη έκφραση των μορίων προσκόλλησης ICAM-1 και VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1) στον Hr-προσβεβλημένο γαστρικό βλεννογόνο,¹⁴³ τα οποία διευκολύνουν την ουδετεροφιλική ενδοθηλιακή προσκόλληση και εξαγγείωση. Όσον αφορά άλλα μόρια προσκόλλησης, όπως E-σελεκτίνη, ενώ αρχικές εκτιμήσεις έδειξαν ότι δεν αυξάνουν στον Hr-μολυσμένο βλεννογόνο,¹³⁹ πολύ πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η Hr-επαγόμενη ενδοθηλιακή έκφραση της E-σελεκτίνης συμβάλλει στην εξαγγείωση ουδετεροφίλων και μακροφάγων, προκαλώντας γαστρική ιστική βλάβη σε μολυσμένα άτομα.¹⁴⁴ Η εκτίμηση και η στρατηγική παρεμπόδισης της δράσης των ποικίλων αυτών παραγόντων έχει πρόδηλο διαγνωστικό και θεραπευτικό αντίκτυπο στην Hr-λοίμωξη.¹¹⁹

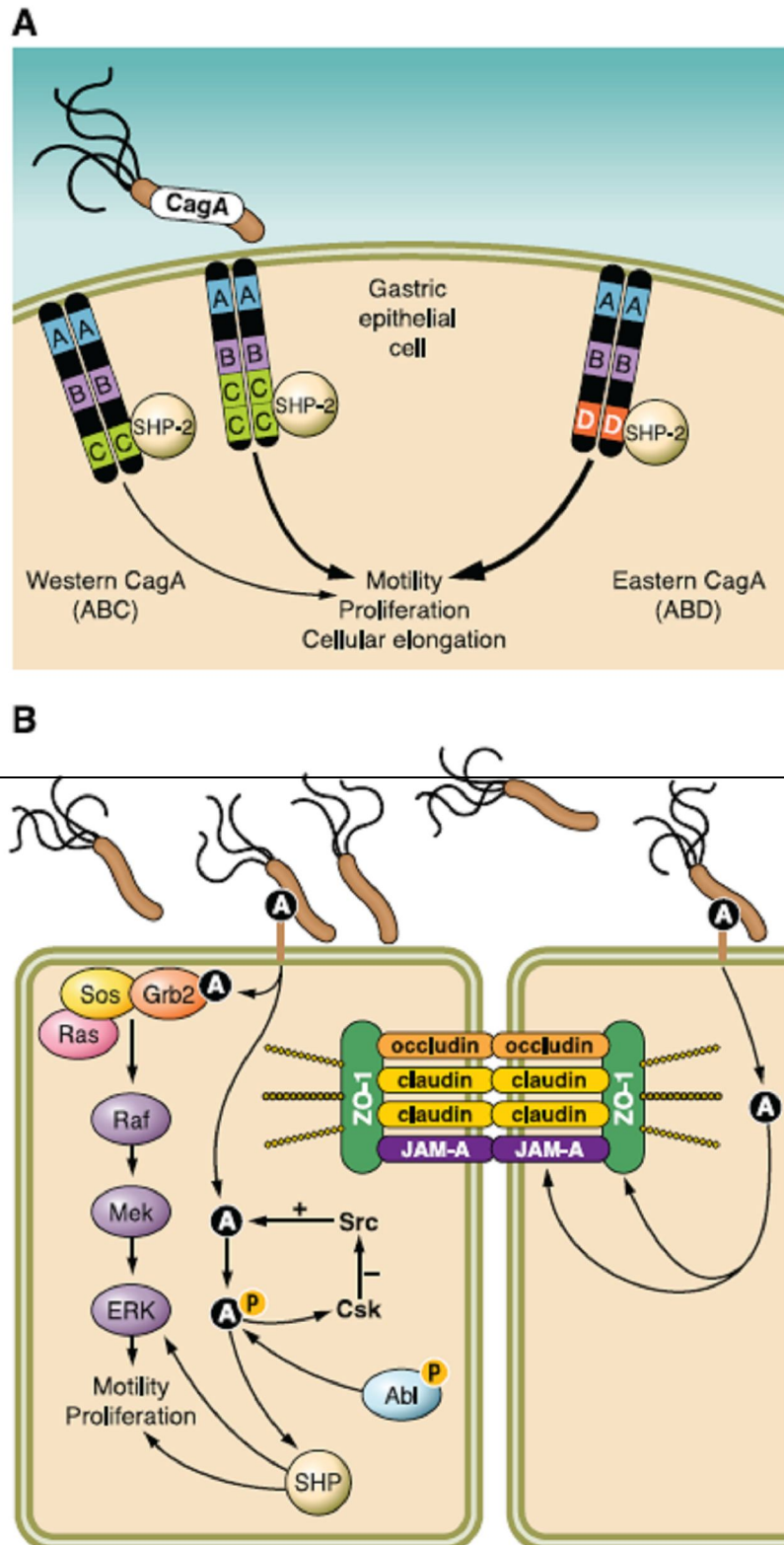
3γ. CagA και VacA (vacuolization cytotoxin A) πρωτεΐνες

Περίπου 50%-70% των Hr στελεχών παράγουν δύο κυτταροτοξίνες.¹¹⁹

1) *VacA*: προκαλεί κενотоπιώδη σχηματισμό σε ευκαρυωτικά κύτταρα.¹²⁰ Η βιολογική δραστηριότητα της VacA πρωτεΐνης αυξάνει όταν εκτίθεται σε όξινο pH. Η ενεργός VacA (acid activated) θεωρείται σπουδαίος παράγοντας της Hr σχετιζόμενης αυξημένης γαστρικής βλάβης.¹⁴⁵ Το γονίδιο VacA αποτελείται από 2 κύριες περιοχές: μέση περιοχή με 2 αλληλίες m1 και m2 και περιοχή αλληλουχίας σήματος με 3 αλληλίες s1a, s2b, s2. Το VacA έχει δομή μωσαϊκού, δυνάμενο να αποτελείται από συνδυασμούς των αλληλίων. Τα s1a/m1 στελέχη φαίνεται να είναι τα πλέον λοιμογόνα (σχετίζονται με αυξημένη δραστηριότητα τοξίνης, βλάβη γαστρικού επιθηλίου και βλεννογονική ουδετεροφιλική/λεμφοκυτταρική διήθηση *in vivo*).¹³⁹ Ο γονότυπος s1 σχετίζεται με εμφάνιση πεπτικού έλκους, ενώ ο s2 δεν είναι κυτταροτοξικός. Πολύ πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η Hr-εκκρινόμενη VacA, προάγει την ενδοκυττα-

ρική επιβίωση του βακτηρίου με μηχανισμό αυτοφαγίας και τροποποιεί την ανοσιακή απάντηση του ξενιστή.¹⁴⁶⁻¹⁴⁷ Πράγματι, η διαμορφούμενη διαλυτική δράση της VacA είναι απαραίτητη για την πρόκληση αυτοφαγίας.^{115, 146} Επιπλέον, εξασκεί ανοσοτροποποιητική δράση παρεμβαίνοντας στην αντιγονοπαρουσίαση και αναστέλλοντας την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων (TLs).¹⁴⁸

2) *CagA*: επιφανειακή πρωτεΐνη κωδικοποιούμενη από την περιοχή Cag του Hp-DNA και σχετιζόμενη με μεγαλύτερο Hp αποικισμό και σοβαρή συνοδό γαστροδωδεκαδακτυλική νόσο (πεπτικά έλκη, ταχύτερη ανάπτυξη ατροφικής γαστρίτιδας και αυξημένος κίνδυνος νεοπλασίας).^{119, 149-151} Το Cag γονίδιο είναι μέρος της παθογενετικής νησίδας (Cag PAI) που περιέχει πάνω από 30 γονίδια, αποτελείται από 2 τμήματα (δεξιό Cag I, αριστερό Cag II) και απαρτίζει κύριο λοιμογόνο στοιχείο του Hp.¹¹⁹ Τα Hp στελέχη με Cag PAI πυροδοτούν την οδό σημάτων ενεργοποίησης του πυρήνα, αυξάνουν την σύνθεση γαστρικών C-X-C χημειοκινών, προάγουν την ουδετεροφιλική διήθηση στο γαστρικό επιθήλιο και διεγείρουν την σύνθεση IL-8 σε καλλιέργειες γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων. Πολλαπλά γονίδια στο αριστερό ήμισυ της Cag PAI παίζουν ουσιώδη ρόλο για τη μεταγραφή του IL-8 γονιδίου στο γαστρικό επιθήλιο που εξαρτάται από τη δραστηριότητα της πρωτεϊνικής τυροσινικής κινάσης.¹⁵² Επιπλέον, το CagA αντιγόνο είναι ικανό να επάγει ειδική TL απάντηση και αποτελεί υποψήφιο αντιγόνο για την ανάπτυξη εμβολίου.¹¹⁹ Στη συνάφεια αυτή, η πρόσφατη χρήση εμβολιασμού με CagA, VacA και NAP πρωτεΐνες, μόνες τους ή σε συνδυασμό, φαίνεται να παρεμποδίζει την πειραματική ανάπτυξη λοίμωξης σε πειραματόζωα και πιθανόν στον άνθρωπο.¹⁵³ Τέλος, επισημαίνεται ότι στις Δυτικές χώρες εμφανίζεται τυπικό μοτίβο φωσφορυλίωσης στην περιοχή CagA, ενώ στις χώρες της Ανατολικής Ασίας απαντάται διαφορετικό μοτίβο.¹⁵⁴



Εικόνα 19: Κυτταροτοξίνη cytotoxin associated gene A (CagA), μοτίβα φωσφορυλίωσής της και αλληλεπιδράσεις σε επίπεδο ενδοκυττάριας μετάδοσης σήματος. Στις Δυτικές χώρες εμφανίζεται τυπικό μοτίβο φωσφορυλίωσης στην περιοχή CagA, ενώ στις χώρες της Ανατολικής Ασίας απαντάται διαφορετικό μοτίβο. Με το πολύ-

πλοκο αυτό σύστημα, οι γενετικές διαφορές CagA των στελεχών του H_p επηρεάζουν, μεταξύ άλλων, σε διαφορετικό βαθμό τη συνέχεια των στερρών συνδέσεων μεταξύ των γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα να προκαλείται διαβάθμιση στην επαγόμενη επιθηλιακή βλάβη, ανάλογα με το εκάστοτε στέλεχος, ερμηνεύοντας έτσι τη διαφορετική λοιμογόνο δύναμη των υποτύπων του H_p. CagA: cytotoxin associated gene A, ERK: extracellular signal-regulated kinase, Mek: mitogen extracellular-regulated kinase, Raf: serine/threonine kinase.¹⁵⁴

3δ. Heat Shock πρωτεΐνες (Hsps)

Επάγονται από το κυτταρικό stress (μικροβιακές λοιμώξεις) και αποτελούν αντιγόνα για διασταυρούμενες αντιδράσεις. Δύο heat shock πρωτεΐνες (Hsp) A και B υψηλής αντιγονικότητας έχουν ανευρεθεί σε H_p-λοίμωξη,^{119, 155} αλλά ο ρόλος τους στην παθογένεση της λοίμωξης δεν έχει διαλευκανθεί. Αντιδράσεις προκαλούμενες από ανοσιακές διασταυρούμενες απαντήσεις μεταξύ H_p-HspB και ανθρώπινης Hsp-60 του γαστρικού επιθηλίου δυνατόν να εμπλέκονται στην ανάπτυξη mucosa-associated lymphoid-tissue (MALT) λεμφώματος.¹⁵⁶ Στη συνάφεια αυτή, πρόσφατες εκτιμήσεις δείχνουν επίσης ότι η CagA και HspB αυξάνουν τον κίνδυνο γαστρικού καρκίνου σε H_p (+) ασθενείς,¹⁵⁷ η δε Hsp-60 δρα ως καρκινογόνος παράγοντας και πυροδοτεί την έναρξη της ογκογένεσης, επάγοντας την έκκριση φλεγμονωδών κυτταροκινών και προάγοντας την αγγειογένεση και τις μεταστάσεις.¹⁵⁸

3ε. Χημειοκίνες

Εκδηλώνουν χημειοτακτικές δραστηριότητες στα λευκοκύτταρα (συμπεριλαμβανομένης της αναφερθείσης IL-8). Έχουν απομονωθεί πάνω από 20 μέλη της οικογένειας των χημειοκινών, εμπλέκονται δε άμεσα ή έμμεσα στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Ταξινομούνται σε δύο κύριες οικογένειες [με βάση τη διεύθετηση των πρώτων δύο από τα 4 υπολείμματα κυστεΐνης (cysteine residues)]: α) C-X-C οικογένεια [οι δύο πρώτες κυστεΐνες διαχωρίζονται με ένα αμινοξύ (X)], που εκδηλώνει κυρίως χημειοτακτικές ιδιότητες στα ουδετερόφιλα (όχι στα μονοκύτταρα) και β) C-C οικογένεια (οι δύο πρώτες κυστεΐνες τοποθετούνται η μια δίπλα στην άλλη), που εκδηλώ-

νει χημειοτακτικές ιδιότητες στα μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα με μικρή επίπτωση στα ουδετερόφιλα.¹¹⁹ Η Hp-λοίμωξη συνοδεύεται από αυξημένη παραγωγή C-X-C χημειοκινών (IL-8, GROα), που σχετίζονται με φλεγμονώδη αντίδραση στο άντρο του στομάχου, χωρίς αυξημένη παραγωγή C-C χημειοκινών.¹⁵⁹⁻¹⁶⁰ Η IL-8 εμπλέκεται στην ογκογένεση του ανωτέρου πεπτικού και δρα ως αγγειογενετικός παράγοντας στη γαστρική νεοπλασία, επάγοντας την έκφραση της μεταλλοπρωτεΐνης 9 και αυξάνοντας τη διηθητική δραστηριότητα των γαστρικών καρκινικών κυττάρων. Τα επίπεδά της στο νεόπλασμα σχετίζονται με το βαθμό διήθησης και την προσβολή των φλεβικών/λεμφικών αγγείων.¹⁶¹ Επιπλέον, έχειδειχθεί ότι η B cell-attracting chemokine (BCA)-1 (λειτουργεί ως αυτοκατευθυνόμενη χημειοκίνη στο φυσιολογικό λεμφικό ιστό) επάγεται στη χρόνια Hp γαστρίτιδα και εμπλέκεται στο σχηματισμό λεμφοζιδίων και γαστρικών MALT λεμφωμάτων.¹⁶² Η εκτίμηση της BCA-1 αποτελεί χρήσιμο δείκτη αναπτύξεως MALT λεμφώματος.¹¹⁹

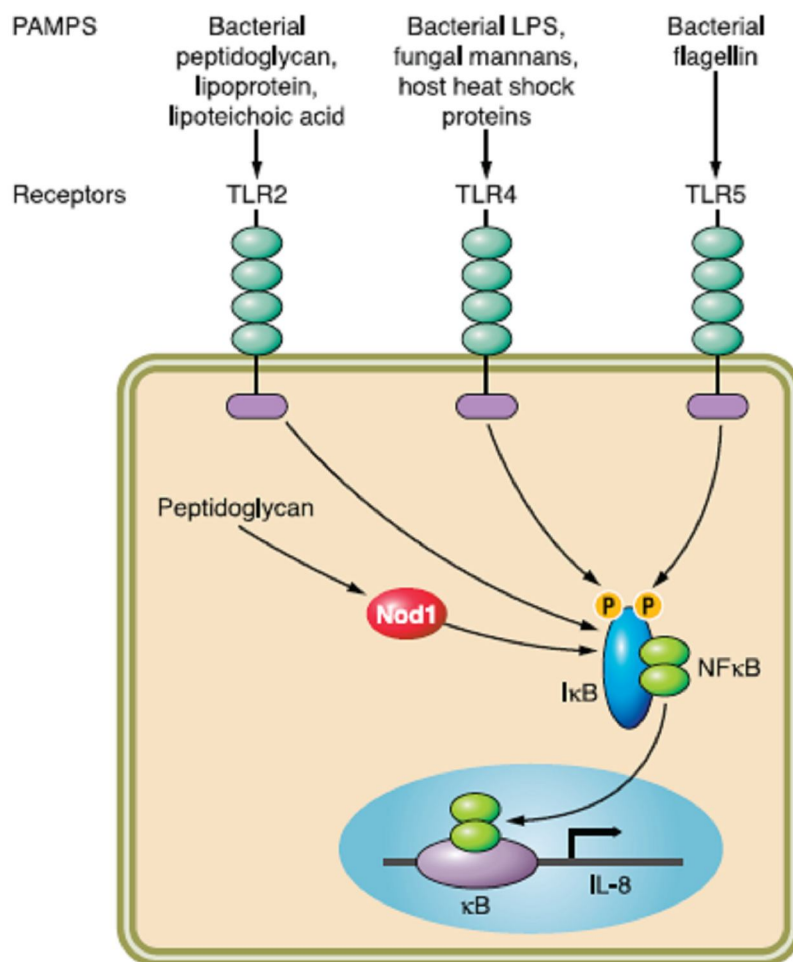
4. Φλεγμονώδεις μεσολαβητές

Συνοπτικά, το Hp εκλύει ποικίλους φλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις μεσολαβητές είτε άμεσα με βακτηριακά παράγωγα (VacA, LPS, neutrophil activating factor, porins) είτε έμμεσα αλληλεπιδρώντας με το γαστρικό επιθήλιο.^{119, 163} Στην απάντηση αυτή, επάγονται κυρίως IL-1, IL-8 και TNF-α (σχετίζονται με Cag(+) στελέχη) που στρατολογούν και ενεργοποιούν ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα. Επιπλέον, παρατηρείται δημιουργία ROMs και αυξημένη ουδετεροφιλική ρύθμιση του CD11b/CD18.¹²⁰ Το τελευταίο αυξάνει τη μεσοκυττάρια ICAM-1-εξαρτώμενη προσκόλληση των ουδετεροφίλων. Με την προσκόλληση των ουδετεροφίλων, επέρχονται μεταβολές της μικροαγγειακής διαπερατότητας και αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων. Επίσης, το πλούσιο αυτό σύμπλεγμα των κυτταροκινών παίζει ρόλο στη μειωμένη ρύθμιση της σωματοστατίνης, οδηγώντας σε αυξημένη έκλυση γαστρίνης,¹¹⁹ η οποία αποτελεί ειδικό αυξητικό παράγοντα για το Hp (προκαλεί ανάπτυξη του Hp με δοσοεξαρτώμενο τρόπο) και επιπλέον ενοχοποιείται στην ογκογένεση του ανωτέρου και κατωτέρου πεπτικού.^{150-151, 164}

Ειδικότερα, η ανοσιακή απόκριση του ξενιστή έναντι παθογόνων συμπεριλαμβάνομένου και του Hp, περιλαμβάνει το σύστημα φυσικής (innate) και επίκτητης (adaptive) ανοσίας. Το πρώτο απαρτίζει μη ειδική διεργασία ως αρχική γραμμή άμυ-

νας, περιλαμβάνει δε ενεργοποίηση των φυσικών κυτταροκτόνων κυττάρων (natural killer – NK cells), NK-ομοίων T κυττάρων, γδ-T κυττάρων, κοκκιοκυττάρων και μακροφάγων με συνοδό έκλυση κυτταροτοξικών κοκκίων που περιέχουν granzymes και περφορίνη οδηγώντας σε αποπτωτικό θάνατο.¹⁶⁵⁻¹⁶⁷ Αντίθετα, το δεύτερο, αποτελεί απώτερη αντιγονο-ειδική διαδικασία, που οδηγεί στην ενεργοποίηση ειδικών B, T και κυττάρων μνήμης.⁴⁰

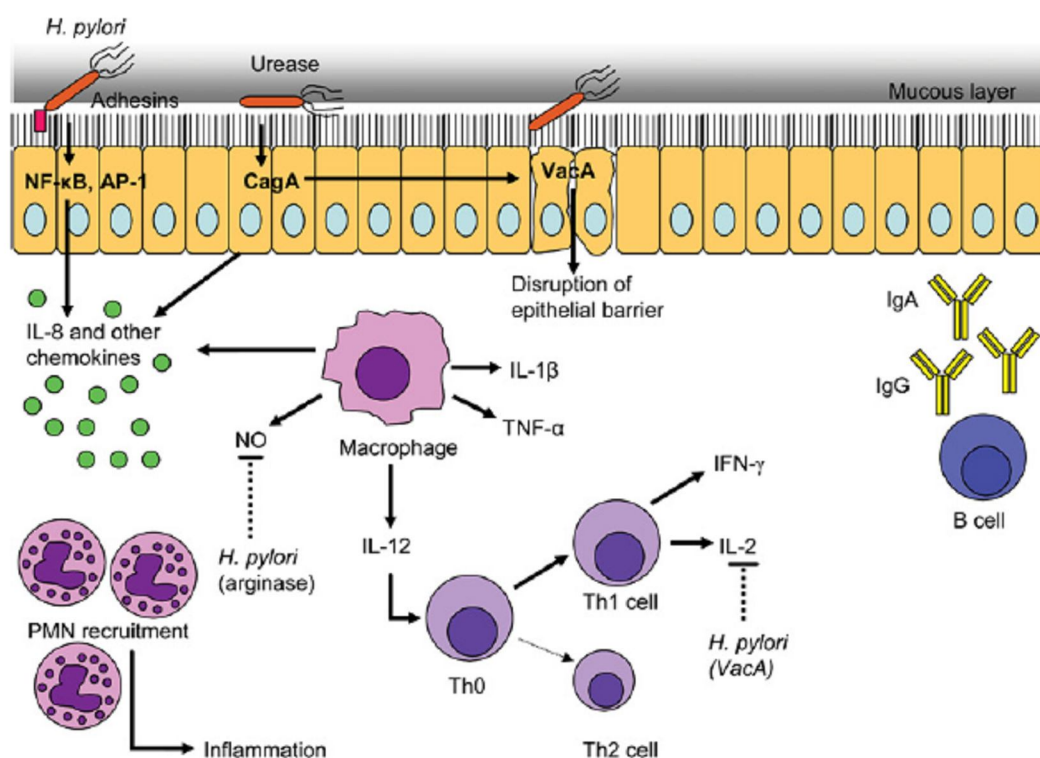
Η Ηρ-λοίμωξη αναγνωρίζεται από το σύστημα φυσικής ανοσίας (innate immune system) μέσω μιας σειράς υποδοχέων, τους υποδοχείς τύπου Toll (Toll-like receptors, TLRs), που εκφράζονται στα αντιγονο-παρουσιαστικά κύτταρα (ΑΠΚ), που περιλαμβάνουν μονοκύτταρα και δενδριτικά κύτταρα (Εικόνα 20). Η επαφή του Ηρ με τα ΑΠΚ οδηγεί στην έκκριση TNF-α, IL-1β και IL-8 με αποτέλεσμα την προσέλκυση κοκκιοκυττάρων¹⁶⁸ και ενεργοποίηση του NF-κΒ και των κινασών MAPKs, παραγόντων που ρυθμίζουν την Ηρ επαγόμενη έκφραση IL-8.¹⁶⁹



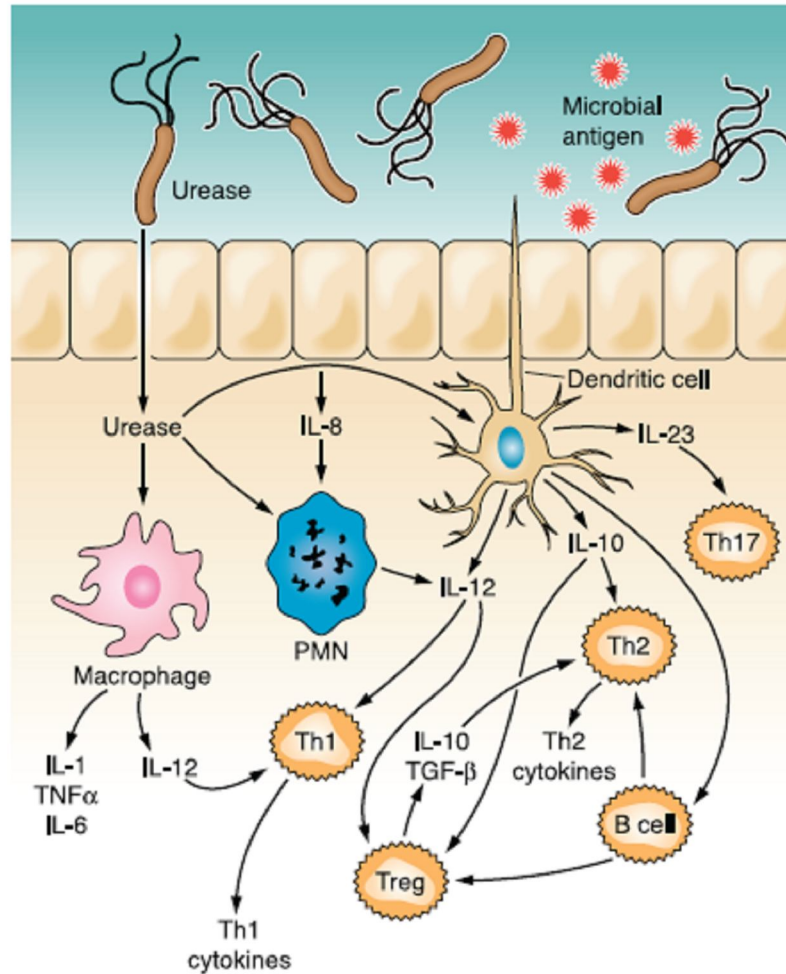
Εικόνα 20: Toll-like receptors (TLRs) και αναγνώριση παθογόνου. Η ενεργοποίηση των TLRs και των ενδοκυττάρων Nod1 τύπου υποδοχέων (Nod1) από παθογόνα πυροδοτεί πολλαπλές ενδοκυττάριας οδούς σήμανσης, που οδηγούν στην ενεργοποίηση του NF-κB και της IL-8. IκB: I Kappa B kinase, IL-8: Interleukin-8, NF-κB: Nuclear transcriptional factor kappa B, Nod1: Nucleotide-binding oligomerization domain 1, PAMPs: Pathogen-associated molecular patterns, TLRs: Toll-like receptors.¹⁵⁴

Όσον αφορά το σύστημα επίκτητης ανοσίας, η Ηρ-λοίμωξη επάγει κυρίως τύπου T helper cell (Th)1 και Th17 ανοσιακές αποκρίσεις με παραγωγή σχετικών κυταροκινών που ελέγχονται από τις κύριες κυταροκίνες IL-23 και IL-12 παραγόμενες από ειδικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα.¹⁷⁰ Η IL-12 που επάγει την Th1 ανοσιακή απάντηση,¹¹⁹ αποτελεί μεσολαβητή-κλειδί στις αποκρίσεις του ξενιστή στις βακτηριακές λοιμώξεις, συνδέεται σημαντικά, όπως και η IL-23, με την Ηρ-σχετιζόμενη

γαστρίτιδα,¹⁷¹ ενώ η έκκριση TNF-α, IL-1β, IL-6, και IL-8 σχετίζεται μόνο με το βαθμό φλεγμονής, χωρίς να διαφέρει μεταξύ Hp (+) και Hp (-) ασθενών. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η IL-12 δυνατόν να παίζει ειδικό ρόλο στην Hp γαστρική νόσο, ενώ η παραγωγή των TNF-α, IL-1β, IL-6 και IL-8 δεν περιορίζεται αποκλειστικά στην Hp-προκαλούμενη φλεγμονή. Η IL-4 αποτελεί δραστική αντι-φλεγμονώδη (Th2 τύπου) κυτταροκίνη, αλλά δε φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην αντίσταση του ξενιστή έναντι του Hp, η δε αυξημένη παραγωγή της φαίνεται να έχει μικρή επίπτωση στον αποικισμό του Hp.¹⁷² Σε επίμυες με Hp-λοίμωξη, η μετατροπή ανοσολογικής απάντησης από Th1 σε Th2, οδηγεί σε ελάττωση της φλεγμονής και υποστροφή της διαδικασίας προς γαστρική ατροφία.¹⁷³ Η αντι-φλεγμονώδης IL-10 δυνατόν να συμβάλλει στη χρονιότητα της Hp γαστρίτιδας παραβιάζοντας την κάθαρση του Hp.¹⁷⁴ Τέλος, τα υψηλά επίπεδα αυτοαντισωμάτων IL-8 σε δυσπεπτικούς Hp (+) ασθενείς αναπτυσσόμενων χωρών (Αλβανία), πιθανόν να παίζουν ρόλο εξουδετέρωσης των φλεγμονωδών δράσεων της IL-8.¹⁷⁵ Ο προσδιορισμός των ποικίλων αυτών κυτταροκινών έχει πρακτική αξία ως δεικτών εξέλιξης της Hp-λοίμωξης (Εικόνες 21, 22).¹¹⁹



Εικόνα 21: Ανοσιακή απόκριση στην *Helicobacter pylori* (Hp)-λοίμωξη. Ενεργοποίηση της φυσικής και επίκτητης (κυτταρικής και χυμικής) ανοσιακής απόκρισης. Το Hp αναπτύσσει μηχανισμούς διαφυγής από την ανοσιακή επιτήρηση, μέσω ελάττωσης της αναγνώρισης από τους υποδοχείς φυσικής ανοσίας, αναστολής ενεργοποίησης των ανοσοποιητικών κυττάρων και παράκαμψης των ανοσιακών δραστικών ουσιών του ξενιστή οργανισμού. AP-1: Δραστική πρωτεΐνη 1 (activated protein 1), CagA: cytotoxin associated gene A, IFN- γ : Interferon gamma, IgA: Immunoglobulin A, IgG: Immunoglobulin G, IL-1 β : Interleukin 1 beta, IL-8: Interleukin-8, IL-12: Interleukin-12, NF- κ B: Nuclear transcriptional factor kappa B, NO: nitric oxide, PMN: Πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα (polymorphonuclear cells), TNF- α : tumor necrosis factor alpha, VacA: vacuolating cytotoxin gene A.¹⁷⁶



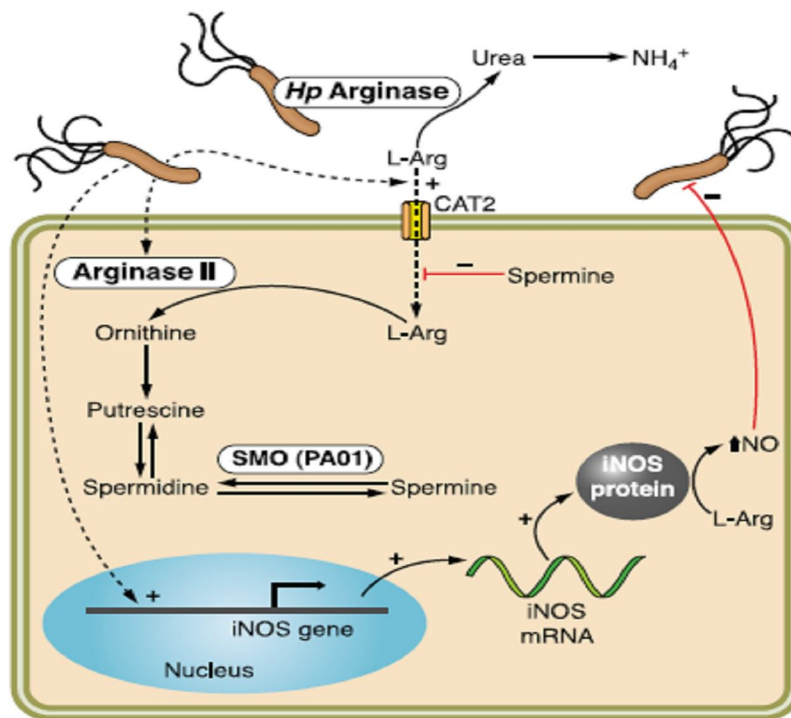
Εικόνα 22: Ο ρόλος των δενδριτικών κυττάρων στην επαγωγή και ενίσχυση της ανοσιακής απόκρισης έναντι του *Helicobacter pylori*. Τα δενδριτικά κύτταρα προκαλούν είτε Th1 ανοσιακή απόκριση είτε Th2/Treg (T regulatory-ρυθμιστικά κύτταρα) ανοσιακή απόκριση είτε Th17 απόκριση με συμμετοχή των αντίστοιχων κυτταροκινών IL-12, IL-10 και IL-23. IL: Interleukin, PMN: Πολυμορφοπύρηνα κύτταρα (polymorphonuclear cells), TGF-β: transforming growth factor beta, TNF-α: tumor necrosis factor alpha.¹⁵⁴

Επισημαίνεται ότι τα περισσότερα ενδοκυττάρια βακτήρια προκαλούν Th1 ανοσιακή απόκριση, ενώ τα εξωκυττάρια Th2 απόκριση. Κατά συνέπεια αναμένονταν η Hρ-λοίμωξη να επάγει Th2 απόκριση, διότι το Hρ αποτελεί κατεξοχήν εξωκυττάριο μικροοργανισμό. Εντούτοις, η πλειοψηφία των αντιγόνο-ειδικών T κυτταρικών κλώνων του ξενιστή στο Hρ, που απομονώνονται από τον προσβεβλημένο γαστρικό βλεννογόνο, παράγουν μεγαλύτερα επίπεδα IFN-γ από IL-4, ενδεικτικό Th1 ανοσια-

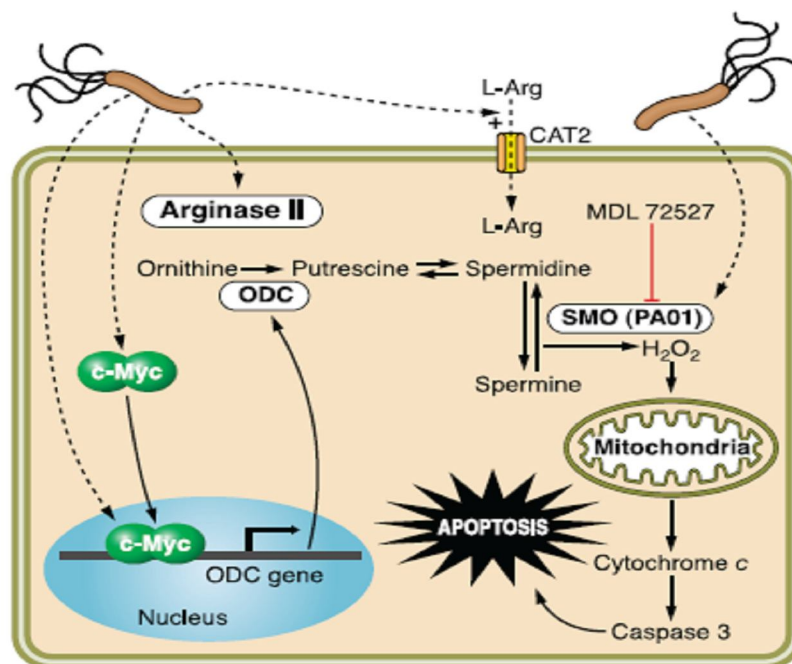
κής απόκρισης,¹⁷⁶ η οποία ευθύνεται για την παρατηρούμενη γαστρική φλεγμονή και τις απώτερες κλινικές εκδηλώσεις.^{133, 168, 177}

Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν την πιθανή ενεργοποίηση των T-ρυθμιστικών (T-regulatory) κυττάρων (T-regs) από την Hρ-λοίμωξη, οδηγώντας σε μειωμένης έντασης παθολογικές ανοσιακές αποκρίσεις. Επιπλέον, με την ελάττωση των παραγόμενων CD4 (+) T-λεμφοκυττάρων και της IFN-γ, μεγαλύτερο φορτίο του Hρ εγκαθίσταται στο γαστρικό βλεννογόνο.¹⁷⁸

Το οξείδιο του αζώτου (NO) αποτελεί βασικό μόριο του συστήματος φυσικής ανοσίας. Η Hρ-λοίμωξη εμποδίζει τη σύνθεση NO από τα κύτταρα του ξενιστή, μέσω της παραγωγής του ενζύμου αργινάση, που αναστέλλει τη μετάφραση της συνθετάσης του NO (Εικόνα 23).¹⁵⁴ Άλλοι μηχανισμοί διαφυγής του Hρ από το ανοσιακό σύστημα αφορούν την ικανότητά του να προκαλεί απόπτωση (Εικόνα 24) και άλλοτε ιδιαίτερα ασθενή ενεργοποίηση των μακροφάγων, μειωμένη πρόσληψή του από αυτά και παράκαμψη των TLRs με επακόλουθο την πλημμελή αναγνώρισή του από τον ξενιστή.¹³³ Τέλος, επισημαίνεται η επιπρόσθετη οδός διαφυγής της Hρ-λοίμωξης από το ανοσιακό σύστημα που συνίσταται στην παρεμπόδιση της αντιγόνο-εξαρτώμενης ενεργοποίησης των T-κυττάρων, μέσω της τοξίνης VacA, που αναστέλλει τη σχετιζόμενη με την IL-2 ενδοκυττάρια οδό σήμανσης των T-λεμφοκυττάρων. Στην άνω διεργασία, είναι διακριτός ο ρόλος των ιόντων ασβεστίου. Επιπλέον, η VacA τοξίνη παρεμβαίνει ανασταλτικά στη διεργασία της αντιγονο-παρουσίασης, που ρυθμίζεται από το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας τάξεως II (major histocompatibility system II-MHC II).¹⁷⁷



Εικόνα 23: Η *Helicobacter pylori* λοίμωξη εμποδίζει τη σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου (NO) από τα κύτταρα του ξενιστή, μέσω της παραγωγής του ενζύμου αργινάσης. iNOS: inducible nitric oxide synthase, NO: nitric oxide.¹⁵⁴



Εικόνα 24: Η *Helicobacter pylori* λοίμωξη επάγει την απόπτωση των μακροφάγων, μέσω παραγωγής πολυαμινών και αυξημένης έκφρασης του c-Myc ογκογονιδίου.¹⁵⁴

5. Συμπλήρωμα (C)

Το Hp ενεργοποιεί τις δύο οδούς του C, η δε παρουσία του ενεργού C3b σχετίζεται σημαντικά με ουδετεροφιλική διήθηση *in vivo*.¹¹⁹ Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η ενεργοποίηση του C πιθανόν να παίζει ρόλο στην ουδετεροφιλική χημειοταξία και επιθηλιακή βλάβη. Επισημαίνεται ότι παράγωγα του Hp (LPSs) ενεργοποιούν το C κι έτσι ερμηνεύεται, εν μέρει, το γεγονός ότι το βακτήριο προκαλεί γαστρική παθολογία, χωρίς να εισβάλλει στο βλεννογόνο.¹⁷⁹ Το Hp είναι ευαίσθητο στη βακτηριοκτόνο δράση του φυσιολογικού ανθρώπινου ορού και Hp βακτηριαμία έχει περιγραφεί σπάνια.¹¹⁹

6. Άλλες πρωτεΐνες

Anti-Hp (IgG, IgA) αντισώματα στον ορό και πιθανόν το σίελο χρησιμεύουν στη διάγνωση της Hp-λοίμωξης.¹⁸⁰⁻¹⁸¹ Οι Hp (+) ασθενείς: α) με στεφανιαία νόσο, έχουν αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου που μειώνονται με τη θεραπεία εκρίζωσης,¹⁸⁰ β) με χρόνια κνίδωση, έχουν αυξημένα ποσά ηωσινοφιλικής κατιονικής πρωτεΐνης (eosinophil cationic protein, ECP) στο γαστρικό υγρό,¹⁸² η δε ECP συμβάλλει στις φλεγμονώδεις αλλοιώσεις που παρατηρούνται στην Hp-σχετιζόμενη χρόνια γαστρίτιδα¹⁸³ και γ) έχουν μειωμένα επίπεδα φερριτίνης (λόγω χρόνιας γαστρικής φλεγμονής και συνοδού απώλειας σιδήρου),¹⁸⁴ τα οποία βελτιώνονται με την εκρίζωση της λοίμωξης.¹⁸⁵

Μία επιπλέον ειδική Hp πρωτεΐνη, η FldA (Flavodoxin-A, 19-KD), πιθανόν να εμπλέκεται στην παθογένεση του γαστρικού MALT λεμφώματος.¹⁸⁶ Αντισώματα έναντι της ανασυνδυασμένης FldA πρωτεΐνης χρησιμεύουν ως ορολογικός δείκτης του νεοπλάσματος.

Το Hp: 1) μειώνει τα γαστροπροστατευτικά πεπτίδια (trefoil peptides) trefoil factor (TFF) -1 και -2, που παίζουν σπουδαίο ρόλο στην επούλωση ελκών και την αποκατάσταση του γαστρικού βλεννογόνου.¹⁸⁷⁻¹⁸⁸ Η μείωση αυτών των πεπτιδίων συμβάλλει στην Hp-προκαλούμενη βλάβη του γαστρικού βλεννογόνου.¹⁸⁷ 2) διασπά τις πρωτεΐνες των στερρών συνδέσεων (tight junction proteins) και σε συνδυασμό με τη γαστρική υπερέκκριση ή/και άλλους παράγοντες, προάγει την ελκογένεση και το γαστρικό καρκίνο μαζί με διαιτητικά καρκινογόνα.¹⁸⁹⁻¹⁹⁰ 3) επάγει την έκφραση ογκογονιδίων c-Myc και p53 σε έδαφος ατροφικής γαστρίτιδας, υποδηλώνοντας γονιδιακή αστάθεια σε Hp (+) χρόνια ατροφική γαστρίτιδα,¹⁹¹ η δε Hp-προκαλούμενη

μετάλλαξη του p53 και η ενεργοποίηση της τελομεράσης οδηγούν τελικά στην ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου.¹⁹² 4) προκαλεί απόπτωση συνοδευόμενη από αυξημένη έκφραση των πρωτεϊνών Bax και Bak που ευοδώνουν την απόπτωση, υποδηλώνοντας ότι οι Bax και Bak πιθανόν να είναι σπουδαίοι μεσολαβητές απόπτωσης στο στόμαχο,¹⁹³⁻¹⁹⁴ όπως το ίδιο συμβαίνει και στο παχύ έντερο. 5) επάγει την έκφραση των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2 [“B-cell lymphoma (Bcl)-2 associated killer”] και Bcl-x_L στα B-λεμφοκύτταρα, οι οποίες προφυλάσσουν τα B-κύτταρα από την απόπτωση και παρατείνουν την κυτταρική επιβίωση, υποδηλώνοντας ότι οι Bcl-2 και Bcl-x_L πιθανόν να παίζουν κριτικό ρόλο στην παθογένεση του B-κυτταρικού MALT λεμφώματος, μέσω δραστηκής αναστολής της απόπτωσης¹⁹⁵ και 6) μειώνει την έκφραση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p27 (cyclin dependent kinase inhibitor p27kip1) *in vitro* και *in vivo*. Το τελευταίο δυνατόν να αποτελεί πρώιμο συμβάν στη γαστρική καρκινογένεση.^{119, 196-199}

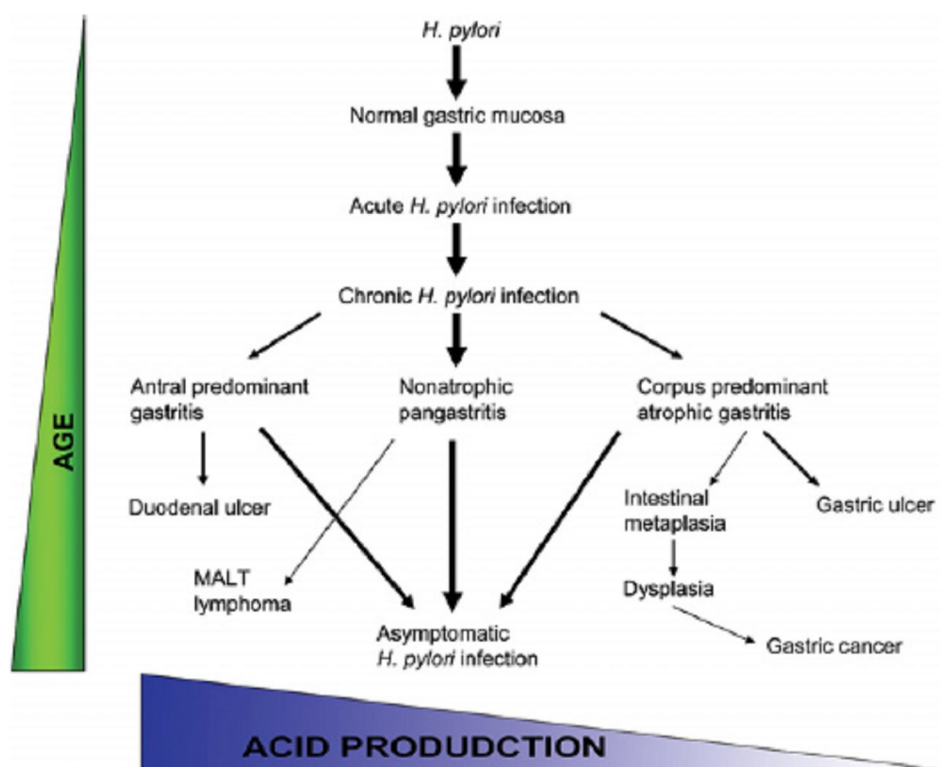
7. Πορεία Hρ-λοίμωξης

Με βάση τα αναφερθέντα δεδομένα, η πορεία της Hρ-λοίμωξης ακολουθεί συνολικά τρία βασικά στάδια: α) προσέγγιση, προσκόλληση και αποικισμός του βακτηρίου στο γαστρικό επιθήλιο, β) επαγωγή ανοσιακής απάντησης του ξενιστή σε τοπικό ή συστηματικό επίπεδο με ποικίλες συνέπειες και γ) πολλαπλασιασμός, βλεννογονική ιστική καταστροφή, ανάπτυξη ατροφικής γαστρίτιδας, εντερικής μεταπλασίας και επέκταση των βλαβών.

Ειδικότερα, η Hρ-επαγόμενη γαστρίτιδα περιλαμβάνει: 1) οξεία γαστρίτιδα, συνοδευόμενη από παροδική υποχλωρυδρία, είναι δε επιπολής πανγαστρίτιδα μεταπίπτουσα σε χρόνια φάση μετά 7-10 ημέρες,²⁰⁰ και 2) χρόνια γαστρίτιδα, η κατανομή και σοβαρότητα της οποίας εξαρτώνται από τρεις παράγοντες που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους: α) τα βακτηριολογικά χαρακτηριστικά του Hρ, β) την ανοσιακή απάντηση του ξενιστή και γ) τους περιβαλλοντικούς παράγοντες.

B. ΚΥΡΙΕΣ H_p-ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Οι αναφερόμενες τρεις κύριες H_p-σχετιζόμενες παθολογικές καταστάσεις περιλαμβάνουν: γαστροδωδεκαδακτυλικά έλκη (έχουν αναφερθεί στο 1-10% των ασθενών με H_p-λοίμωξη), γαστρικό καρκίνο (στο 0,1-3%) και MALT λέμφωμα, κλινικές οντότητες που συνετέλεσαν ώστε το H_p να καταταγεί ως καρκινογόνο τάξεως I από την ΠΟΥ (Σχήμα 4).²⁰¹



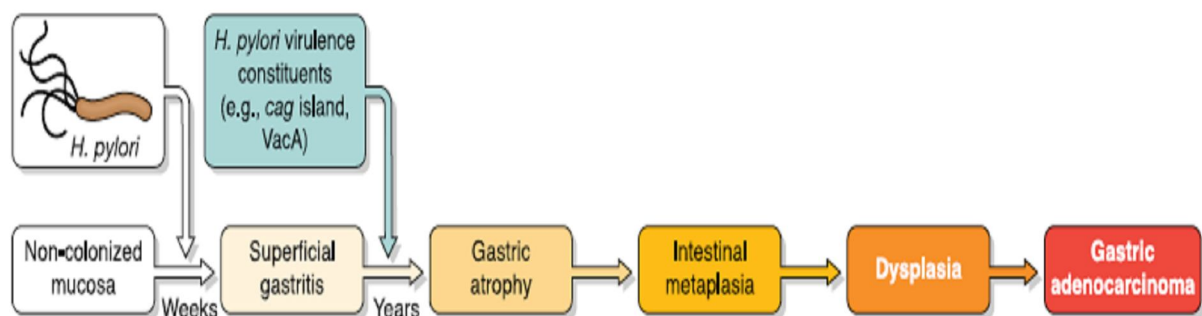
Σχήμα 4: Κύριες H. Pylori (H_p)-σχετιζόμενες παθολογικές καταστάσεις. Το H_p αποικίζει το γαστρικό βλεννογόνο στην πρώιμη παιδική ηλικία και δυνατόν να μεσολαβήσουν δεκαετίες, πριν οδηγήσει σε νόσηση. Η κλινική πορεία είναι ποικίλη και εξαρτάται από παράγοντες βακτηριακούς και σχετιζόμενους με τον ξενιστή. Η υπερέκκριση γαστρικού οξέος προδιαθέτει στην πρόκληση πεπτικού έλκους, η δε ελαττωμένη γαστρική έκκριση σχετίζεται με γαστρική ατροφία και καρκίνο.¹⁷⁶

1. Γαστροδωδεκαδακτυλικά έλκη

Για τη διεργασία της ελκογένεσης, το *Hp* δυνατόν να προκαλέσει: 1. υπεργαστριναιμία, δευτεροπαθώς από διαταραχή της έκκρισης σωματοστατίνης, λόγω δυσλειτουργίας των D κυττάρων από την επίδραση της αμμωνίας ή την υπερπαραγωγή κυτταροκινών και άλλων δραστικών ουσιών του βακτηρίου, που επιδρούν στη λειτουργία των G και D κυττάρων, φαινόμενο που κυρίως παρατηρείται σε λοίμωξη με CagA(+) στελέχη, και 2. υπερέκκριση οξέος, μέσω των παραγομένων φλεγμονωδών κυτταροκινών [TNF- α , IL-1 β , ιντερφερόνης (IFN)- γ], υπερπλασίας και υπερλειτουργίας των G κυττάρων του άντρου που παράγουν γαστρίνη και τροφικής δράσης της γαστρίνης, κυρίως στα τοιχωματικά κύτταρα. Η εκρίζωση της *Hp*-λοίμωξης επιφέρει μορφολογική και λειτουργική αποκατάσταση των D κυττάρων²⁰² και μακροχρόνια θεραπεία των δωδεκαδακτυλικών ελκών σε >80% των ασθενών των οποίων τα έλκη δε σχετίζονται με τη λήψη μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (NSAIDs).²⁰³ Τα NSAIDs ευθύνονται για την πλειονότητα των *Hp*-αρνητικών ελκών.¹¹⁵

2. Γαστρικός καρκίνος

Για τη διεργασία της καρκινογένεσης, η εμμένουσα και επιδεινούμενη *Hp*-σχετιζόμενη βλάβη, ιδιαίτερα η παρουσία λοιμογόνων και τοξικών CagA(+) *Hp* στελεχών, οδηγεί σε ατροφία και εντερική μεταπλασία του γαστρικού βλεννογόνου με μεταναστευτικό χαρακτήρα προς το σώμα και θόλο του στομάχου, παραβιάζοντας τη λειτουργία των τοιχωματικών κυττάρων και προκαλώντας την ατροφική πολυεστιακή πανγαστρίτιδα,²⁰⁴ η οποία ευοδώνει τη βακτηριακή ανάπτυξη και προάγει την ογκογένεση, μέσω παραγωγής καρκινογόνων ουσιών (Σχήμα 5).



Σχήμα 5: Η *Helicobacter pylori*-λοίμωξη επάγει τη γαστρική ατροφία και το εντερικού τύπου γαστρικό αδενοκαρκίνωμα διαμέσου πολυσταδιακής και πολυπαραγοντικής διεργασίας.¹⁵⁴

Στη συνάφεια αυτή, δεδομένα δείχνουν ότι συστοιχία πολυμορφισμών της IL-6 θεωρείται ως παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη ατροφικής γαστρίτιδας και γαστρικού καρκίνου μόνο σε ασθενείς μολυσμένους από H_p.²⁰⁵ Επιπλέον, η κυτταροκίνη IL-1 εμπλέκεται στην ογκογένεση, η δε γονιδιακή συστοιχία πολυμορφισμών της IL-1 σχετίζεται με αυξημένο διττό κίνδυνο πρόκλησης υποχλωρυδρίας επαγόμενης από το H_p και ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου.²⁰⁶⁻²⁰⁷ Οι πολυμορφισμοί IL-1B-31T και IL-1RN*2 συνοδεύονται από ελαττωμένη έκκριση γαστρικού οξέος και γαστρική ατροφία και ευθύνονται για το 38% των νεοπλασμάτων του στομάχου, που σχετίζονται με την H_p-λοίμωξη.²⁰⁸

Επισημαίνεται ότι ο γαστρικός καρκίνος διαχωρίζεται κυρίως σε δύο τύπους νεοπλασίας (εντερικός και διάχυτος τύπος), οι οποίοι παρουσιάζουν διαφορετικά επιδημιολογικά και προγνωστικά χαρακτηριστικά. Η H_p-λοίμωξη εμπλέκεται στην παθογένεση κυρίως του εντερικού αλλά και του διάχυτου τύπου καρκίνου. Η θεώρηση ότι η παθογένεση του εντερικού τύπου κακοήθειας αποτελεί μια προοδευτική αλληλουχία αλλοιώσεων που περιλαμβάνει γαστρική ατροφία-μεταπλασία-δυσπλασία-καρκίνο,²⁰⁹ συνεπάγεται αρχικώς τη δημιουργία φλεγμονής από H_p-λοίμωξη ή/και από έκθεση σε τοξίνες (δίαιτα υψηλή σε άλας, συντηρημένα φαγητά, χολικά άλατα), που δυνατόν να απολήξουν σε χρόνια ενεργό γαστρίτιδα.²⁰⁶ Σε μια υποομάδα αυτών των ασθενών, η φλεγμονώδης αυτή διαδικασία οδηγεί σταδιακά στην ανάπτυξη ατροφικής γαστρίτιδας (με απώλεια αδενικού ιστού), εντερικής μεταπλασίας, δυσπλασίας, πρώιμου και τελικά προχωρημένου γαστρικού καρκίνου (Σχήμα 5).^{150-151, 210}

Ειδικότερα, επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της H_p-λοίμωξης και του γαστρικού καρκίνου που δεν εντοπίζεται στην καρδία (γαστρικού καρκίνου που εντοπίζεται άνω της γαστρο-οισοφαγικής συμβολής).¹⁵¹ Ο κίνδυνος καρκίνου είναι μεγαλύτερος σε ασθενείς στους οποίους η λοίμωξη προκαλεί φλεγμονή του βλεννογόνου στο άντρο και το θόλο και προκαλεί βλεννογονική ατροφία και εντερική μεταπλασία.²¹¹ Η εκρίζωση της H_p-λοίμωξης μειώνει την πρόοδο της ατροφικής γαστρίτιδος, αλλά φαίνεται ότι δεν αναστρέφει την ατροφία ή την εντερική μεταπλασία,²¹² παραμένει δε ασαφές αν η εκρίζωση της λοίμωξης μειώνει τον κίνδυνο αναπτύξεως γαστρικού καρκίνου.²¹³

Σε μοριακό επίπεδο, κληρονομικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σπουδαίο ρόλο στην καρκινογένεση, οδηγώντας είτε σε έκφραση παθολογικών ογκογονιδίων είτε σε απρόσφορη έκφραση φυσιολογικών γονιδίων, τα παράγωγα των οποίων παρέχουν τον κακοήγη φαινότυπο. Οι μεταλλάξεις των γονιδίων δυνατόν να

είναι κληρονομικές (germline mutations), ή επίκτητες (somatic mutations) μέσω δράσεως περιβαλλοντικών παραγόντων ή αποτυχίας των ενδογενών κυτταρικών μηχανισμών του αναδιπλασιασμού ή της μεταγραφής του DNA. Η αδρανοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, η ενεργοποίηση ογκογονιδίων και οι μεταβολές γονιδίων τα οποία συμμετέχουν στη διεργασία διορθώσεως λαθών που επισυμβαίνουν κατά τη διάρκεια αναδιπλασιασμού του DNA, φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του γαστρικού καρκίνου.^{150-151, 214-215}

Οι φλεγμονώδεις παθολογικές καταστάσεις της πεπτικής οδού, συμπεριλαμβανομένης της Ηρ-λοίμωξης, χαρακτηρίζονται από ενεργοποίηση του αντι-αποπτωτικού παράγοντα μεταγραφής NF-κΒ, προκαλώντας έκφραση των NF-κΒ-ρυθμιζόμενων και σχετιζόμενων με φλεγμονή γονιδίων, όπως της συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) και της κυκλο-οξυγονάσης-2 (COX-2). Η έκφραση αυτών των γονιδίων συμβάλλει στην επιβίωση των κυττάρων. Πράγματι, επί απουσίας ενεργοποίησης του NF-κΒ, η έκθεση σε φλεγμονώδεις κυτταροκίνες προκαλεί απόπτωση, ενώ οι χρόνιες αυτές φλεγμονώδεις καταστάσεις συνοδεύονται από ενεργοποίηση του NF-κΒ και συνεχή έκφραση των γονιδίων επιβίωσης (pro-survival genes).²¹⁶ Ενώ η έκφραση αυτή εξασκεί ευεργετικό ρόλο στην επιβίωση των κυττάρων κατά τη διάρκεια έκθεσής τους στο φλεγμονώδες stress, η συνεχής ενεργοποίηση του NF-κΒ ενέχει τον ακόλουθο κίνδυνο: κύτταρα με φαινότυπο επιβίωσης (pro-survival phenotype) δυνατόν να μεταπέσουν σε συνεχώς πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα, εκδηλώνοντας κακοήγη φαινότυπο. Για την πρόοδο αυτών των κυττάρων προς τον κακοήγη φαινότυπο εμπλέκονται επιπρόσθετες μεταβολές με έκφραση μη ρυθμιζόμενων από τον NF-κΒ γονιδίων, που προκαλούν στροφή της ισορροπίας των αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών γονιδίων προς την κατεύθυνση του αντι-αποπτωτικού φαινοτύπου, προάγοντας τελικά την ογκογένεση και τη γαστρική καρκινογένεση.²¹⁶⁻²¹⁸

Ποικίλες θεωρίες έχουν προταθεί για το ρόλο του Ηρ στην καρκινογένεση του στομάχου. Έχει αναφερθεί ότι ο καρκίνος του στομάχου δεν προέρχεται από τα επιθηλιακά γαστρικά κύτταρα, αλλά από κύτταρα του μυελού των οστών, που διαφοροποιούνται σε επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα του στομάχου με την παρουσία της Ηρ-σχετιζόμενης χρόνιας γαστρίτιδας.^{151, 164, 219} Η Ηρ-σχετιζόμενη χρόνια γαστρική βλάβη δυνατόν να προάγει τη στρατολόγηση των κυκλοφορούντων αρχέγονων κυττάρων του μυελού των οστών στο γαστρικό βλεννογόνο, τα οποία ακολούθως εκδηλώνουν κακοήγη φαινότυπο προκαλώντας γαστρικό καρκίνο.^{151, 164} Τα ουδετερόφιλα, τα οποία επάγονται από την Ηρ-λοίμωξη, μεταναστεύουν στη θέση της φλεγμονής και

εκλύοντας ελεύθερες ρίζες οξυγόνου οδηγούν σε μεταλλάξεις, βλάβες στο DNA και κακοήγη εξαλλαγή.²²⁰ Επιπλέον, η Hr-επαγόμενη χρόνια γαστρίτιδα οδηγεί σε απώλεια των τοιχωματικών κυττάρων και αχλωρυδρία, με συνέπεια τον αυξημένο αποικισμό βακτηριδίων που μετατρέπουν τα νιτρικά στα δυνητικά ογκογόνα νιτρώδη. Στις παθολογικές αυτές καταστάσεις, τα επίπεδα της βιταμίνης C (ασκορβικού οξέος) είναι ελαττωμένα, με αποτέλεσμα να αίρεται ο προστατευτικός της ρόλος, καθώς φυσιολογικά δεσμεύει τα νιτρώδη και τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, εμποδίζοντας την ογκογόνο δράση τους.²²¹

3. MALT λέμφωμα

Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν, επίσης, ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της Hr-λοίμωξης και της παρουσίας γαστρικού MALT λεμφώματος.²²²⁻²²³ Η εκρίζωση της λοίμωξης προκαλεί ύφεση των περισσότερων εντοπισμένων γαστρικών MALT λεμφωμάτων.²²⁴⁻²²⁵ Επιπλέον, υφίσταται πιθανότητα συσχέτισης ανάμεσα στο Hr και στα πρωτοπαθή δερματικά MALT λεμφώματα.²²⁶

Ειδικότερα, όσον αφορά την αποπτωτική διεργασία και την Hr-λοίμωξη, έχει δειχθεί ότι το Hr μέσω έκφρασης FasL, επάγει την απόπτωση των T-λεμφοκυττάρων που εκφράζουν Fas υποδοχέα, με αποτέλεσμα την επιμονή της λοίμωξης.²²⁷ Η Hr-λοίμωξη, ως κύρια αιτία καρκινογένεσης, διεγείρει αρχικά την Fas-αποπτωτική οδό που ευθύνεται για πρόωμη βλάβη και ατροφία του γαστρικού βλεννογόνου. Με την εξέλιξη της νόσου, η λοίμωξη σχετίζεται με αντίσταση του γαστρικού επιθηλίου στην απόπτωση με αποτέλεσμα να αναδεικνύονται μεταπλαστικοί και δυσπλαστικοί αδένες, που οδηγούν στην ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος.²²⁸⁻²²⁹ Σε αντίθεση με τα T-λεμφοκύτταρα, η Hr-λοίμωξη καταστέλλει την απόπτωση των B-λεμφοκυττάρων και σχετίζεται με παράταση του πολλαπλασιασμού και επιβίωσής τους με δυνητική ανάπτυξη MALT λεμφώματος.¹⁶⁹ Στην περίπτωση αυτή, η Hr-λοίμωξη επάγει την έκφραση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-xL στα B-λεμφοκύτταρα *in vivo* και *in vitro*, προφυλάσσει τα B-κύτταρα από την απόπτωση και παρατείνει την κυτταρική επιβίωση, υποδηλώνοντας ότι η Bcl-xL πιθανόν να παίζει κριτικό ρόλο στην παθογένεση του B-κυτταρικού MALT λεμφώματος, μέσω δραστικής αναστολής της απόπτωσης.²³⁰

Γ. ΑΛΛΕΣ Ηp-ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

Στους ασθενείς που πάσχουν από μη ελκωτική ή λειτουργική δυσπεψία, η λήψη βιοψιών από το γαστρικό βλεννογόνο συχνά αποκαλύπτει την παρουσία Ηp-λοίμωξης και σχετιζόμενης με αυτή φλεγμονής. Η κύρια θεραπευτική στρατηγική για τη δυσπεψία τέτοιων ασθενών <45 ετών είναι: έλεγχος και θεραπεία (test and treat).²³¹

Η συσχέτιση μεταξύ της Ηp-λοίμωξης και γαστροοισοφαγικής παλινδρομικής νόσου (ΓΟΠΝ), κατάσταση που προδιαθέτει για ανάπτυξη οισοφάγου Barrett's και αδενοκαρκινώματος οισοφάγου, έχει αποτελέσει αντικείμενο έντονης επιστημονικής μελέτης, τα δε βιβλιογραφικά δεδομένα εμφανίζονται συχνά αντιφατικά μεταξύ τους.²³²⁻²³⁷ Η αρχικά επικρατούσα θεώρηση, βασιζόμενη κυρίως σε ανασκοπικές μελέτες, υποστηρίζει την παρουσία αρνητικής συσχέτισης Ηp και ΓΟΠΝ, αν και το εύρημα αυτό είναι πιο εμφανές στις Ασιατικές χώρες.²³⁸⁻²⁴¹ Εντούτοις, νεότερες προοπτικές μελέτες των ίδιων ερευνητών που βρήκαν αρχικά αρνητική συσχέτιση, αλλά και ένας μεγάλος αριθμός σύγχρονων τυχαιοποιημένων μελετών, δείχνουν ότι η εκκρίωση της λοίμωξης δε φαίνεται να προκαλεί ΓΟΠΝ.²⁴²⁻²⁴⁵ Αντίθετα, η Ηp εκκρίωση φαίνεται ότι προκαλεί ύφεση της οισοφαγίτιδας, βελτίωση των συμπτωμάτων της ΓΟΠΝ, της ποιότητας ζωής των ασθενών και ελάττωση των υποτροπών της νόσου, μειώνοντας τη δυνητική ανάπτυξη οισοφάγου Barrett's και αδενοκαρκινώματος οισοφάγου.²⁴⁶⁻²⁵¹

Επιπλέον, παρατηρείται αυξημένος επιπολασμός της λοίμωξης στην ενδοσκοπικά μη διαβρωτική παλινδρομική νόσο (nonerosive reflux disease), σχετιζόμενη με επαγωγή της χημειοκίνης IL-8, η οποία συμβάλλει στην πρόκληση βλάβης, κυρίως μέσω μετανάστευσης των ουδετεροφίλων και επαγωγής οξειδωτικού stress.²⁵² Επισημαίνεται ότι το εύρημα της αυξανόμενης συχνότητας της ΓΟΠΝ στις αναπτυγμένες χώρες δυνατόν μερικώς να ερμηνευθεί, όχι μόνο από μείωση της συχνότητας της Ηp-λοίμωξης, αλλά μάλλον από την επούλωση του Ηp-σχετιζόμενου πεπτικού έλκους, το οποίο συχνά συνυπάρχει με ΓΟΠΝ.²⁵¹ Έως 60% των ασθενών με δωδεκαδακτυλικό έλκος παρουσιάζουν συνυπάρχοντα συμπτώματα ΓΟΠΝ. Κατά συνέπεια, η θεραπεία του πεπτικού έλκους προκαλεί ύφεση της συμπτωματολογίας του έλκους, αναδύοντας την συμπτωματολογία της προϋπάρχουσας συγκεκαλυμμένης ΓΟΠΝ.²⁵³⁻²⁵⁵ Με την άποψη αυτή συνηγορούν αναδρομικές μελέτες σε μεγάλο αριθμό ασθενών (~21000 ασθενείς) που δείχνουν ότι η μείωση της Ηp-λοίμωξης την επταετία 1996-2002 συμπίπτει με μείωση της συχνότητας του πεπτικού έλκους και άνοδο της ΓΟΠΝ, νέα δε

εμφάνιση ΓΟΠΝ μετά εκρίζωση Hρ-λοίμωξης είναι σπάνια.²⁵⁶ Επίσης, αναδρομικές μελέτες σε μεγάλο αριθμό ασθενών (61548) με δωδεκαδακτυλικά έλκη δείχνουν ότι οι ασθενείς αυτοί έχουν αυξημένο κίνδυνο (70%) ανάπτυξης αδενοκαρκινώματος οισοφάγου,²⁵⁷ υποδηλώνοντας ότι η υποκείμενη Hρ-λοίμωξη που κατεξοχήν προκαλεί τα δωδεκαδακτυλικά έλκη, ευθύνεται για την ανάπτυξη του αδενοκαρκινώματος οισοφάγου. Τέλος, η Hρ-λοίμωξη έχει ενοχοποιηθεί και για αχαλασία οισοφάγου.²⁵⁸

Ειδικότερα, όσον αφορά την συσχέτιση Hρ-λοίμωξης με την αλληλουχία οισοφάγος Barrett's – δυσπλασία – αδενοκαρκίνωμα οισοφάγου, ενώ αρχικά επιδημιολογικά δεδομένα υποδηλώνουν πιθανή «προστατευτική» επίπτωση του Hρ στον οισοφάγο Barrett's,²⁵⁹⁻²⁶¹ νεότερες εκτιμήσεις υποδηλώνουν ότι: α) η Hρ-λοίμωξη είναι σημαντικά συχνότερη και αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για οισοφάγο Barrett's,²⁶²⁻²⁶⁴ β) τα CagA(+) Hρ στελέχη δε μειώνουν τον κίνδυνο για οισοφάγο Barrett's²⁶² και γ) σε ασθενείς με Hρ-σχετιζόμενη ατροφία σώματος στομάχου και συνοδό οισοφαγίτιδα ή οισοφάγο Barrett's, η προβλεπόμενη συχνότητα εμφάνισης γαστρικού ή οισοφαγικού αδενοκαρκινώματος είναι υψηλότερη σε σύγκριση με τη συχνότητα αδενοκαρκινώματος οισοφάγου μετά εκρίζωση της Hρ-λοίμωξης, δεδομένα που επιβάλλουν την εφαρμογή θεραπείας εκρίζωσης στους ασθενείς αυτούς με ΓΟΠΝ ή οισοφάγο Barrett's όλων των ηλικιών για αναμενόμενη μείωση των 2 τύπων κακοήθειας.²⁶⁵

Πρόσφατα σχετικά δεδομένα στον Βορειο-Ελλαδικό χώρο¹¹² δείχνουν παρουσία Hρ-λοίμωξης σε σημαντική αναλογία των ασθενών με ΓΟΠΝ και οισοφάγο Barrett's, υποδηλώνοντας ότι το βακτήριο ευθύνεται στην αιτιοπαθογένεια της αναφερόμενης αλληλουχίας. Συνοψίζοντας, τα δεδομένα από τον Βορειο-Ελλαδικό χώρο δείχνουν ότι κυρίως σε έδαφος Hρ-λοίμωξης, η παρουσία πιθανής ισορροπίας μεταξύ του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (υποδηλούμενης από την ανευρεθείσα αυξημένη έκφραση του ογκογονιδίου Ki-67) και της απόπτωσης (υποδηλούμενης από την ανευρεθείσα υπερέκφραση της αποπτωτικής Bax πρωτεΐνης) ή τάσεως επικράτησης των αποπτωτικών μηχανισμών στον οισοφάγο Barrett's (υποδηλούμενη από την υπερέκφραση της Bax και έκφραση της αντι-αποπτωτικής Bcl-2 στο ~94% και μόνον στο ~45% των ασθενών με οισοφάγο Barrett's, αντίστοιχα) πιθανόν να εξηγεί, τουλάχιστον εν μέρει, τη χαμηλή επίπτωση αδενοκαρκινώματος οισοφάγου στην Ελλάδα.¹¹² Επιπλέον, τα ευρήματα αυτά πιθανολογούν την παρουσία κυτταρικής ανοσιακής απάντησης, που πιθανόν να παρεμποδίζει την επαγωγή κακοήθους φαινοτύπου και εξαλλαγής της Hρ-σχετιζόμενης αλληλουχίας ΓΟΠΝ – οισοφάγος Barrett's – αδενοκαρκίνωμα οι-

σοφάγου, δίνουν δε μια επιπλέον εξήγηση για το χαμηλό επιπολασμό του αδενοκαρκινώματος οισοφάγου στον Ελλαδικό χώρο.¹¹²

Εκτός από το ανώτερο πεπτικό, πρόσφατες ενδείξεις υποδηλώνουν ότι το Ηρ φαίνεται να εμπλέκεται στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου²⁶⁶⁻²⁶⁷ και στον καρκίνο του παγκρέατος.²⁶⁸ Έχει παρατηρηθεί, αυξημένη συχνότητα παρουσίας Ηρ-λοίμωξης σε δείγματα βιοψιών ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου, ο δε αποικισμός του Ηρ σχετίζεται με αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό (αυξημένη έκφραση ογκογονιδίου Ki-67) και μειονεκτική απόπτωση (κυρίως αυξημένη έκφραση της αντι-αποπτωτικής Bcl-2 πρωτεΐνης) στον κακοήγη ιστό σε σχέση με τον παρακείμενο υγιή εντερικό βλεννογόνο,²⁶⁶ που συμβάλλουν στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου. Επιπλέον, πιθανολογείται ότι η Ηρ-σχετιζόμενη εντόπιση στο παχύ έντερο με συνοδό βλάβη στρατολογεί αρχέγονα κύτταρα μυελού των οστών στο εντερικό επιθήλιο, όπου δυνατόν να διευκολύνουν την πρόοδο καρκίνου παχέος, όπως κάτι αντίστοιχο αναφέρεται για το γαστρικό καρκίνο.²⁶⁶

Δ. Ηp-ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΕΞΩΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

Μια πλειάδα εξωεντερικών κλινικών συνδρόμων, όπως καταγράφεται στην νεότερη αλλά και πρόσφατη βιβλιογραφία, έχει συσχετισθεί με την Ηp-λοίμωξη. Σε αυτά περιλαμβάνονται αγγειο-εγκεφαλικές παθήσεις, αρτηριακή υπέρταση, στεφανιαία νόσος,²⁶⁹ αθηροσκλήρωση, χρόνια κνίδωση,¹¹⁶ σύνδρομο Raynaud's, σύνδρομο Sjögren's,¹¹⁶ ημικρανία, αιματολογικές παθήσεις (σιδηροπενική αναιμία, ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα), ηπατικά νοσήματα (όπως πρωτοπαθής χολική κίρρωση),²⁷⁰ ροδόχρους ακμή, νευροεκφυλιστικές νόσους,^{141, 271-272} ήπια νοητική στέρηση,²⁷³ νόσο Alzheimer's,²⁷⁴⁻²⁷⁶ νόσο Parkinson's,²⁷⁷ σύνδρομο Guillain-Barré,²⁷⁸ γλαύκωμα,^{275, 279-280} αυτοάνοση παγκρεατίτιδα,^{270, 281} κληρονομικό αγγειοοίδημα ή άλλες εξωεντερικές νεοπλασίες (π.χ., αδеноκαρκίνωμα πνευμόνων, καρκίνο ωοθηκών και μαστού) (Πίνακας 14).²⁸²

Εντερικές εκδηλώσεις	Εξωεντερικές εκδηλώσεις
Γαστρίτιδα	Χρόνια κνίδωση
Δυσπεψία	Κληρονομικό αγγειοοίδημα
ΓΟΠΝ	Ροδόχρους ακμή
Πεπτικό έλκος	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση
Οισοφάγος Barrett's	Αθηροσκλήρωση/Στεφανιαία νόσος
Αδενοκαρκίνωμα οισοφάγου	Υπέρταση
Γαστρικός καρκίνος	Ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα
MALT λέμφωμα	Raynaud's
Καρκίνος παχέος	Ημικρανία
	Σύνδρομο Sjögren's
	Κακοσμία στόματος
	Υπογονιμότητα
	Χρόνια βρογχίτιδα
	Γλαύκωμα
	Guillain-Barré / Alzheimer's
	Άλλα νευροεκφυλιστικά νοσήματα (Parkinson's)
	Σκλήρυνση κατά πλάκας
	Αιματολογικά νοσήματα
	Αυτοάνοση παγκρεατίτιδα
	Αδενοκαρκίνωμα πνευμόνων
	Καρκίνος μαστού/ωοθηκών

Πίνακας 14: *Helicobacter pylori*-σχετιζόμενες εντερικές και εξωεντερικές εκδηλώσεις.

1. Θεραπεία εκρίζωσης

Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται σε διάφορους συνδυασμούς για την εκρίζωση της *Hp*-λοίμωξης περιλαμβάνουν: 1) Αμοξυκιλίνη: το *Hp* είναι ευαίσθητο και σχετικά σπάνια αναπτύσσεται ανθεκτικότητα, 2) Κλαριθρομυκίνη: ανήκει στις μακρολίδες, είναι σταθερός και επαρκώς απορροφήσιμος παράγων σε όξινο pH, 3) Μετρονιδαζόλη: αναπτύσσεται συχνά ανθεκτικότητα, 4) Τετρακυκλίνη: δραστικός παράγων που δρα σε όξινο περιβάλλον και σπάνια αναπτύσσεται ανθεκτικότητα, αλλά

αντενδείκνυται στην παιδική ηλικία 5) Βισμούθιο: δρα απευθείας στο μικροβιακό κυτταρικό τοίχωμα, 6) PPIs: αυξάνουν το γαστρικό pH, ευνοώντας την ανοσιακή απάντηση και δράση των αντιβιοτικών. Οι ανταγωνιστές της ισταμίνης δεν αποτελούν φάρμακα πρώτης γραμμής.²⁸³

Τα κλασικά θεραπευτικά έναντι του *Hp* σχήματα όπως προτάθηκαν στην συναινετική διάσκεψη στο Maastricht περιλαμβάνουν τη χορήγηση PPIs (20mg ραμπεπραζόλης, 20mg εσομεπραζόλης, 20mg ομεπραζόλης, 40mg παντοπραζόλης και 30mg λανσοπραζόλης) δις ημερησίως, σε συνδυασμό με 1000mg αμοξυκιλλίνης και 500mg κλαριθρομυκίνης δις ημερησίως ή σε συνδυασμό με 500mg μετρονιδαζόλης και 500mg κλαριθρομυκίνης δις ημερησίως.²⁸⁴⁻²⁸⁶ Στην Ευρώπη συνιστάται το 7ήμερο σχήμα, ακολουθούμενο ή μη από χορήγηση PPIs επιπλέον για 1 μήνα και τα ποσοστά εκρίζωσης κυμαίνονται από 78,9 έως 82,8%.²⁸⁷ Το βισμούθιο, σε συνδυασμό με τετρακυκλίνη και μετρονιδαζόλη έχειδειχθεί ότι έχει παρόμοια αποτελεσματικότητα (86%) με την βασισμένη σε PPIs 7ήμερη τριπλή θεραπεία.²⁸⁸

III. H_p-ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Εκτός από το αναφερθέν MALT λέμφωμα, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ H_p-λοίμωξης και άλλων αιματολογικών νοσημάτων, που περιλαμβάνουν κυρίως μεγαλοβλαστική αναιμία, σιδηροπενική αναιμία και ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (ΙΘΠ).²⁸⁹

Η εμπλοκή της H_p-λοίμωξης στην παθογένεια της μεγαλοβλαστικής αναιμίας δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί. Πιθανολογείται ότι η ανάπτυξη μεγαλοβλαστικής αναιμίας είναι αποτέλεσμα αυτοάνοσης διαδικασίας, πιθανότατα προκαλούμενης από την H_p-λοίμωξη, που οδηγεί σε ατροφία του γαστρικού βλεννογόνου.²⁹⁰

Επιδημιολογικές και κλινικές μελέτες δείχνουν ότι η H_p-λοίμωξη αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη ανθεκτικής σιδηροπενικής αναιμίας.²⁹¹⁻²⁹² Έχει αναφερθεί 40% μεγαλύτερη συχνότητα παρουσίας σιδηροπενικής αναιμίας σε ασθενείς με H_p-λοίμωξη.²⁹³ Επιπλέον, σχετικές μελέτες δείχνουν υποστροφή της σιδηροπενικής αναιμίας μετά από εκρίζωση της λοίμωξης. Πέρα από τις συνήθεις αιτίες που περιλαμβάνουν μειονεκτική πρόσληψη ή εντερική απώλεια σιδήρου, δυσασπορρόφηση ή εκτροπή του σιδήρου στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα, τονίζεται ότι οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της H_p-σχετιζόμενης σιδηροπενικής αναιμίας δεν έχουν πλήρως διαλευκανθεί.

Παράγοντες που ευνοούν την απορρόφηση σιδήρου από τον εντερικό βλεννογόνο είναι το χαμηλό pH, η παρουσία του σιδήρου στη δισθενή μορφή του και η αυξημένη συγκέντρωση της βιταμίνης C ή ασκορβικού οξέος. Επειδή το ασκορβικό οξύ του γαστρικού υγρού ατόμων με H_p γαστρίτιδα είναι σημαντικά μειωμένο σε σχέση με μη μολυσμένα άτομα, η H_p-λοίμωξη φαίνεται ότι δυσχεραίνει την απορρόφηση του σιδήρου. Κατά συνέπεια, η H_p-προκαλούμενη χρόνια πανγαστρίτιδα με τη συνακόλουθη αχλωρυδρία και τη μειωμένη έκκριση ασκορβικού οξέος στο γαστρικό βλεννογόνο, δυνατόν να οδηγεί σε μειωμένη απορρόφηση του σιδήρου. Επιπλέον μηχανισμός είναι η πρόσληψη του σιδήρου από το H_p για την ανάπτυξή του στο περιβάλλον του ξενιστή, μέσω παραγωγής πρωτεϊνών.²⁹⁴ Υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις για την ύπαρξη συνδετικών κρίκων ανάμεσα στην H_p-λοίμωξη, την αυτοάνοση γαστρίτιδα και τη σιδηροπενική αναιμία.²⁹⁵ Απαιτούνται περαιτέρω εις βάθος μελέτες για την αποσαφήνιση των μηχανισμών πρόκλησης αναιμίας από το H_p.

Έχει παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ εκρίζωσης της Ηρ-λοίμωξης και ανόδου του αριθμού των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με ΙΘΠ με σημαντική αύξηση του αριθμού των αιμοπεταλίων στις μισές περιπτώσεις.²⁹⁶⁻²⁹⁷ Επιπρόσθετα, το αντιγόνο ιστοσυμβατότητας HLA-DQB1*03 έχει συσχετισθεί με μεγαλύτερη πιθανότητα απάντησης του αριθμού των αιμοπεταλίων στη θεραπεία εκρίζωσης.²⁹⁸ Ειδικότερα, η εκρίζωση βελτιώνει τον αριθμό των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με πρόσφατη έναρξη ΙΘΠ και όχι σοβαρού βαθμού θρομβοπενία. Αντίθετα, η εκρίζωση δε φαίνεται να είναι αποτελεσματική σε ασθενείς με χρόνια σοβαρή ΙΘΠ.²⁹⁹ Η παθογένεση της Ηρ-σχετιζόμενης ΙΘΠ επίσης δεν έχει αποσαφηνιστεί.²⁹⁴ Οι σχετιζόμενοι μηχανισμοί πιθανόν να εμπλέκουν πολλαπλά στάδια που περιλαμβάνουν διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ Ηρ-αντιγόνων και αιμοπεταλίων, καταστολή του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος και πρόκληση Th1 απόκρισης, που διευκολύνει την έναρξη και την επιμονή της ΙΘΠ.³⁰⁰⁻³⁰¹

Υφίστανται δεδομένα εμπλοκής της Ηρ-λοίμωξης στην παθογένεια της μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας (MGUS), μέσω χρόνιου αντιγονικού ερεθισμού.³⁰² Μετά από θεραπεία εκρίζωσης δυνατόν να υποχωρήσει η MGUS,³⁰² αλλά δεν υφίσταται απόδειξη λύσης της MGUS μετά τη θεραπεία εκρίζωσης.³⁰³ Επιπλέον, βρέθηκε ότι υψηλή συχνότητα Ηρ-λοίμωξης και MGUS παρατηρείται σε ασθενείς με χρόνια ιδιοπαθή ουδετεροπενία³⁰⁴ και συνοδό σπληνομεγαλία, η οποία αποδίδεται στην Ηρ-λοίμωξη.³⁰⁵ Τέλος, αναφέρεται περιστατικό πρωτοπαθούς γαστρικού πλασματοκυττώματος, το οποίο υφέθηκε πλήρως μετά τη θεραπεία εκρίζωσης.³⁰⁶

Σε ασθενείς με αιμορροφιλία η Ηρ-λοίμωξη δυνατόν να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για αιμορραγία ελκών στομάχου και δωδεκαδακτύλου, συνιστάται δε έλεγχος για τη λοίμωξη και εκρίζωση στους ασθενείς αυτούς.³⁰⁷ Επιπρόσθετα, το Ηρ αποτελεί σημαντικό αίτιο γαστρεντερικής αιμορραγίας σε παιδιά με αιμορροφιλία.³⁰⁸ Τέλος, σε επιδημιολογική μελέτη που διεξήχθη σε Ισλανδία και Φινλανδία, παρά τους περιορισμούς της, τονίζεται ότι ο τίτλος των μητρικών anti-Hp IgG αντισωμάτων συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης λευχαιμίας με ηλικιακό όριο διάγνωσης τα 6 έτη σε παιδιά στην Ισλανδία, αλλά όχι στη Φινλανδία.³⁰⁹

IV. Hp ΚΑΙ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

Πιλοτικές μελέτες στην Ελλάδα δείχνουν αυξημένη συχνότητα Hp-λοίμωξης σε ασθενείς με ΜΔΣ ορολογικώς (τίτλος anti-Hp IgG αντισωμάτων) και ιστολογικώς.³¹⁰⁻³¹¹ Επιπλέον, στη διεθνή βιβλιογραφία, αναφέρεται περιστατικό Ιάπωνα άρρενα ασθενούς 51 ετών με ΜΔΣ, του οποίου η αναιμία βελτιώθηκε μετά την εκρίζωση της Hp-λοίμωξης.³¹² Εντούτοις, απαιτείται μελέτη σε μεγαλύτερο δείγμα ασθενών για τη διαλεύκανση της πιθανής εμπλοκής της Hp-λοίμωξης στην παθοφυσιολογία των ΜΔΣ και της επίπτωσης της εκρίζωσης της λοίμωξης στην πιθανή βελτίωση του συνδρόμου.

Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι σε αρχικά στάδια της Hp-λοίμωξης σε ασθενείς με ΜΔΣ, η επαγόμενη κυτταροκίνη TNF-α αυξάνει την απόπτωση των κυττάρων του μυελού μέσω ενεργοποίησης των κασπασών, παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου και επαγωγής οξειδωτικού stress, με αποτέλεσμα τη συντήρηση του ΜΔΣ σε πρώιμο στάδιο και την επιβραδυνόμενη ή πιθανή αναστολή της μετάπτωσης του ΜΔΣ σε λευχαιμία. Η θεωρία αυτή στηρίζεται σε μελέτη 23 ασθενών με ΜΔΣ στην οποία πιθανολογείται ότι η Hp-λοίμωξη, τουλάχιστον στα αρχικά στάδια του συνδρόμου, δυνατόν να παρεμποδίζει τη λευχαιμική μετάπτωση, επάγοντας την απόπτωση των κυττάρων του μυελού.³¹³ Από την άλλη πλευρά, υποστηρίζεται ότι η χρόνια Hp-λοίμωξη αναστέλλει την απόπτωση των κυττάρων του γαστρικού επιθηλίου και ενδεχομένως, προκαλεί λευχαιμική μετάπτωση των ΜΔΣ με μηχανισμούς που εμπλέκουν τα Treg κύτταρα και τον αντι-αποπτωτικό παράγοντα NF-κΒ.³¹⁴⁻³¹⁵

Σχετικά δεδομένα δείχνουν ότι παρατηρούνται αποπτωτικές και ανοσιακές μεταβολές ως επακόλουθο της Hp-λοίμωξης.^{133, 258} Στα πρώιμα στάδια των ΜΔΣ υφίσταται η αναφερθείσα αυξημένη απόπτωση με επακόλουθο την εμφάνιση σοβαρών κυτταροπενιών. Αντίθετα, σε μεταγενέστερα στάδια της νόσου, επισυμβαίνει λευχαιμική μετάπτωση με συνοδό αναστολή της αποπτωτικής διεργασίας στα κύτταρα του μυελού.^{19, 22, 316}

Στην οικογένεια των Bcl-2 πρωτεϊνών, περιλαμβάνονται αποπτωτικές και αντι-αποπτωτικές πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες που προκαλούν ευόδωση της απόπτωσης (ευ – αποπτωτικές) είναι οι: Bax, Bad, Bak και Bcl-Xs, ενώ οι πρωτεΐνες Bcl-2 και Bcl-xL είναι αντι-αποπτωτικές. Η έκφραση των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2 και Bcl-

xL είναι υψηλότερη στα κύτταρα μυελού των ασθενών με RAEB, RAEB-t και CMML, σε σύγκριση με την RA και την RARS.^{19, 22}

Οι ευ-αποπτωτικές πρωτεΐνες συσχετίζονται με πρώιμα στάδια ΜΔΣ, ενώ η αύξηση των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών με όψιμα στάδια ΜΔΣ. Αυξημένη έκφραση των ευ-αποπτωτικών πρωτεϊνών σχετίζεται με μεγαλύτερη επιβίωση και ελαττωμένο κίνδυνο λευχαιμικής μετάπτωσης, ενώ η έκφραση των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών στα ΜΔΣ σχετίζεται με ελαττωμένη επιβίωση.^{9, 20, 317}

Συμπερασματικά, υφίστανται αντιφατικά και μη αποσαφηνισμένα δεδομένα εμπλοκής της Hρ-λοίμωξης στα ΜΔΣ. Σκοπός της διατριβής ήταν η έρευνα πιθανής εμπλοκής της Hρ-λοίμωξης στην αιτιοπαθογένεση των ΜΔΣ και ειδικότερα η πιθανή ανεύρεση κοινών παθοφυσιολογικών μηχανισμών λοίμωξης και ΜΔΣ, μέσω των διεργασιών της αυτοανοσίας και της απόπτωσης.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

A. Σκοπός της διατριβής

Ο όρος ΜΔΣ περιλαμβάνει ετερογενή κλινικά νοσήματα, που προκαλούνται από ενδογενείς διαταραχές στο επίπεδο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου. Σε ασθενείς με ΜΔΣ διαταράσσεται η ομαλή παραγωγή των κυτταρικών σειρών από το μυελό των οστών. Ανοσοφαινοτυπικές παρεκκλίσεις από το φυσιολογικό, καθώς και διαταραχές στον αριθμό των κυττάρων του περιφερικού αίματος, είναι συχνές στο νόσημα αυτό. Η θνησιμότητα οφείλεται στις κυτταροπενίες, που οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων, αναιμία εξαρτώμενη από μεταγγίσεις και αιμορραγική διάθεση. Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά για την επιδημιολογία των ΜΔΣ, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων κινδύνου.³¹⁸

Το Hρ είναι ένα Gram αρνητικό, σπειροειδές βακτηρίδιο, που εντοπίζεται στο γαστρικό βλεννογόνο των περισσότερων ατόμων παγκοσμίως, επηρεάζοντας κυρίως τους ηλικιωμένους του αναπτυγμένου κόσμου, μεταξύ των οποίων και της Ελλάδας.³¹⁹⁻³²⁰ Πάνω από το μισό του πληθυσμού της Γης είναι μολυσμένο με το βακτήριο. Θεωρείται 1^η τάξεως καρκινογόνο, σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας, αφού είναι το κύριο αίτιο του γαστρικού καρκίνου σε όλη την υφήλιο.^{150-151, 321} Το Hρ συσχετίζεται με ποικίλα νοσήματα του ανώτερου γαστρεντερικού και με καταστάσεις που δεν αφορούν το πεπτικό σύστημα, όπως η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα ή η σιδηροπενική αναιμία.^{150, 289}

Παρόλο που τα ΜΔΣ εκδηλώνονται κυρίως στους ηλικιωμένους,³¹⁸ η πιθανότητα συσχέτισής τους με την Hρ-λοίμωξη, δεν έχει πλήρως διερευνηθεί. Επομένως, σκοπό της παρούσας διατριβής αποτελεί η διερεύνηση πιθανής αιτιολογικής συσχέτισης ανάμεσα στην Hρ-λοίμωξη και τα ΜΔΣ, μέσω εκτίμησης της παρουσίας της Hρ-λοίμωξης και μέσω μελέτης των μεταβολών των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών στο περιφερικό αίμα ασθενών με ΜΔΣ (είτε θετικών είτε αρνητικών για την Hρ-λοίμωξη), σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες.

B. Ασθενείς και μάρτυρες

Κατά τη χρονική περίοδο από το Νοέμβριο του 2006 μέχρι τον Ιούνιο του 2009 μελετήθηκαν 73 ασθενείς με ΜΔΣ, που νοσηλεύθηκαν ή προσήλθαν στα εξωτερικά ιατρεία του Αιματολογικού Τμήματος της Β' και της Δ' Παθολογικής Κλινικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.) στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιπποκράτειο. Πρόκειται για 36 άνδρες και 37 γυναίκες με μέση ηλικία τα 73 έτη (εύρος 53-88 έτη). Επιπλέον μελετήθηκαν 40 υγιείς μάρτυρες (19 άνδρες και 21 γυναίκες) με μέση ηλικία τα 68 έτη (εύρος 58-76 έτη). Όλοι οι συμμετέχοντες, αφού ενημερώθηκαν για το περιεχόμενο της έρευνας, έδωσαν συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στη μελέτη, η οποία εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του νοσοκομείου, με βάση τους διεθνείς κανόνες διεξαγωγής ερευνών.

Οι άνω ασθενείς εκτιμήθηκαν σε σχέση με την Ηρ-λοίμωξη. Όλοι οι ασθενείς πληρούσαν τα ελάχιστα διαγνωστικά κριτήρια για τα ΜΔΣ⁵³ και ταξινομήθηκαν σύμφωνα με τη WHO ταξινόμηση του 2001 για τα ΜΔΣ³⁶ και σε συνάφεια με τη νεότερη ταξινόμηση κατά WHO του 2008.⁴⁰ Για την εκτίμηση της Ηρ-λοίμωξης αποκλείστηκαν όσοι ελάμβαναν ανταγωνιστές των H₂ υποδοχέων της ισταμίνης, αναστολείς της αντλίας πρωτονίων, αντιβιοτικά, συνθετικά παράγωγα του βισμούθιου και μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) τις προηγούμενες 4 εβδομάδες από τη συμμετοχή στη μελέτη. Επίσης, οι ασθενείς αποκλείστηκαν αν προηγουμένως είχαν υποστεί γαστρική επέμβαση, αν ελάμβαναν αντιπηκτική αγωγή, αν έκαναν κατάχρηση αλκοόλ, αν εμφάνιζαν αλλεργία στην πενικιλίνη ή τις μακρολίδες, αν έπασχαν από γαστρικό καρκίνο, λοιπά νεοπλάσματα ή από σοβαρά καρδιακά, πνευμονικά, νεφρικά και ηπατικά νοσήματα.

Η ομάδα ελέγχου (υγιείς μάρτυρες) σταθμίστηκε συγκριτικά με τους ασθενείς, όσον αφορά την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση, τη γεωγραφική κατανομή, την περιοχή διαμονής, το κάπνισμα, τη χρήση αλκοόλ, την ηλικία και το φύλο. Η κοινωνικο-οικονομική κατάσταση προσδιορίστηκε με βάση την έκθεση του Παγκόσμιου Τραπεζικού Οργανισμού του 2007 (World Bank 2007 Report). Έτσι, 2 υποομάδες δημιουργήθηκαν, τόσο στους ασθενείς, όσο και στους μάρτυρες: Χαμηλό εισόδημα (λιγότερο από \$3,705 ανά έτος) και Μέσο ή Υψηλό εισόδημα (περισσότερο από \$3,706 ανά έτος). Οι ασθενείς και οι υγιείς μάρτυρες ήταν κάτοικοι είτε του νομού Θεσσαλονίκης (περιοχή της κεντρικής Βόρειας Ελλάδος με πληθυσμό περίπου 1,000,000 κατοίκων) είτε των παρακείμενων γειτονικών νομών Κιλκίς, Πέλλας, Ημαθίας, Πιερίας, Σερρών και Χαλκιδικής (περιοχή με συνολικό πληθυσμό 700.000 κα-

τοίκων). Ο πληθυσμός της μελέτης ήταν αγροτικός ή αστικός, σε σχέση με την περιοχή διαμονής.

Γ. Ερευνητικό πρωτόκολλο

Το ερευνητικό πρωτόκολλο της μελέτης εκπονήθηκε με τη συνεργασία του Αιματολογικού Τμήματος της Β' και Δ' Παθολογικής Κλινικής του Α.Π.Θ., του Γαστρεντερικού Τμήματος της Β' Παθολογικής Κλινικής του Α.Π.Θ., του Ανοσολογικού Τμήματος και του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου του Ιπποκρατείου Γενικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης.

1. Σε όλους τους ασθενείς με ΜΔΣ (73), όσο και στους υγιείς μάρτυρες (40) προσδιορίστηκε ο τίτλος των anti-Hp IgG αντισωμάτων με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA. Το όριο των 10 U/ml χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο θετικής ή αρνητικής ορολογικής ανάλυσης (cut-off value). Σε όλους τους υγιείς μάρτυρες και σε 56 από τους 73 ασθενείς με ΜΔΣ πραγματοποιήθηκε γαστροσκόπηση με ταυτόχρονη λήψη δειγμάτων βιοψίας από το βλεννογόνο του στομάχου για την εντόπιση του Hp ιστολογικά με τη χρώση Cresyl Violet, αλλά και με το CLO τεστ. Οι εναπομείναντες 17 ασθενείς με ΜΔΣ εκτιμήθηκαν με το τεστ αναπνοής INFAL. Σε αυτούς δεν πραγματοποιήθηκε ενδοσκόπηση, λόγω σοβαρότητας της κατάστασής τους. Συνολικά, τα διάφορα διαγνωστικά τεστ για το Hp περιγράφονται εκτενώς στη συζήτηση της διατριβής.

2. Κυτταρομετρία ροής σε δείγματα περιφερικού αίματος διενεργήθηκε σε 35 ασθενείς με ΜΔΣ και σε όλους τους υγιείς μάρτυρες. Στις άνω περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκαν anti-CD3, -CD4, -CD8, -CD14, -CD19, -CD34 και -CD45 αντισώματα στον κυτταρομετρητή ροής EPICS XL-MCL (Beckman Coulter) με την τεχνική ανοσοφθορισμού fluorescence-activated cell sorting (FACS) και με χρήση διπλού φθορισμού. Με αυτόν τον τρόπο προσδιορίστηκαν στο περιφερικό αίμα η αναλογία των CD4 T-βοηθητικών και CD8 T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων προς το συνολικό αριθμό των T-λεμφοκυττάρων (CD3), η αναλογία των CD19 B-λεμφοκυττάρων προς τον αριθμό των ολικών λεμφοκυττάρων (B και T), η αναλογία των CD14 μονοκυττάρων/μακροφάγων προς το συνολικό αριθμό των λευκοκυττάρων (CD45), καθώς επίσης και η αναλογία των πρόδρομων αιμοποιητικών κυττάρων (CD34), συγκριτικά με το συνολικό αριθμό των κυττάρων.

Δ. Βασικές αρχές της κυτταρομετρίας ροής

Η κυτταρομετρία ροής είναι μια σύγχρονη τεχνολογία, που επιτρέπει την ταυτόχρονη ανάλυση ποικίλων φυσικοχημικών χαρακτηριστικών ενός κυττάρου ή άλλου σωματιδίου (π.χ. κυτταρικού οργανιδίου, βακτηρίου). Τα κύτταρα εξετάζονται υπό τη μορφή εναιωρήματος, αφού προηγουμένως έχουν σημανθεί με μονοκλωνικά αντισώματα, τα οποία είναι συζευγμένα με φθορίζουσα χρωστική (φθοριόχρωμα). Τα μονοκλωνικά αντισώματα συνδέονται με τα αντίστοιχα αντιγόνα στην επιφάνεια των κυττάρων. Στη συνέχεια, ενώ τα κύτταρα ρέουν σε μονήρη στήλη, διεγείρονται από ακτίνα LASER, με αποτέλεσμα να εκπέμπουν διαφόρων εντάσεων φθορίζουσα ακτινοβολία (σκέδαση), η οποία προσλαμβάνεται από ειδικά φίλτρα, ενισχύεται από φωτοπολλαπλασιαστές και αναλύεται από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή του κυτταρομετρητή ροής.³²²

Οι κυτταρομετρητές ροής έχουν τη δυνατότητα να αναλύουν συγχρόνως 2 παραμέτρους σκέδασης: την οριζόντια (Forward Scatter, FS), που δίνει πληροφορίες για το μέγεθος των κυττάρων και την πλάγια (Side Scatter, SS), που δίνει στοιχεία για την εσωτερική δομή και κοκκίωση των κυττάρων, καθώς επίσης και 2 ή περισσότερα είδη φθορίζουσας ακτινοβολίας. Έτσι επιτυγχάνεται η διάκριση των κυττάρων σε πληθυσμούς (λεμφοκύτταρα, μονοπύρρηνα μακροφάγα, πολυμορφοπύρρηνα). Η ανάλυση των παραμέτρων FS και SS, από το λογισμικό του υπολογιστή του κυτταρομετρητή ροής, αποδίδεται οπτικά με τα σημειακά γραφήματα κυτταροδιαγράμματος (dot plots).³²³

Η φθορίζουσα ακτινοβολία επιτρέπει την αναγνώριση των κυττάρων βάσει της έκφρασης συγκεκριμένων αντιγόνων (CD μόρια) στην επιφάνειά τους. Τα βασικά είδη του φθορισμού που εκπέμπεται είναι 2: ο πράσινος φθορισμός, ο οποίος παράγεται από τη θετική αντίδραση των σεσημασμένων με ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη (fluorescein isothiocyanate, FITC) μονοκλωνικών αντισωμάτων με τα κύτταρα του δείγματος και ο κόκκινος φθορισμός, που παράγεται από τη θετική αντίδραση των σεσημασμένων με φυκοερυθρίνη (phycoerythrin, PE) μονοκλωνικών αντισωμάτων με τα κύτταρα του δείγματος. Η ένταση της φθορίζουσας ακτινοβολίας εξαρτάται από τη συγκέντρωση του υπό εξέταση αντιγόνου στην επιφάνεια του κυττάρου. Οι εκπεμπόμενοι φθορισμοί, προσλαμβανόμενοι από τον οπτικό μετρητή του κυτταρομετρητή, παράγουν αντιστοίχως 2 σήματα: το FL1 (Forward Light 1, πράσινος φθορισμός, FITC) και το FL2 (Forward Light 2, κόκκινος φθορισμός, PE), τα οποία αναλύονται

στο λογισμικό του υπολογιστή του κυτταρομετρητή και αποδίδονται οπτικά ως ιστογράμματα φθορισμού ή σημειακά γραφήματα.^{322, 324}

Ο ανοσοφαινότυπος αποτελεί την ευρύτερα χρησιμοποιούμενη εφαρμογή της κυτταρομετρίας ροής και περιλαμβάνει τον προσδιορισμό αντιγόνων επιφανείας, βάσει των οποίων προσδιορίζεται το είδος και το στάδιο διαφοροποίησης του κυττάρου. Επισημαίνονται τα πλεονεκτήματα της κυτταρομετρίας ροής, έναντι του μικροσκοπίου φθορισμού, τα οποία είναι: 1) ικανότητα ανάλυσης μεγάλου αριθμού κυττάρων, 2) δυνατότητα σύγχρονης ανάλυσης πολλών κυτταρικών υποπληθυσμών, 3) μεγάλη ταχύτητα μέτρησης (έως 10.000 κύτταρα / δευτερόλεπτο), 4) πολύ μεγάλη ευαισθησία ανάλυσης (έως 600 μόρια ανά κύτταρο), 5) μικρή ποσότητα δείγματος (100 μ l), 6) εκτύπωση των αποτελεσμάτων και διατήρησή τους στη μνήμη του υπολογιστή.³²³⁻³²⁴

E. Μέθοδοι

Η διενέργεια της κυτταρομετρίας ροής περιελάμβανε τα παρακάτω στάδια:

1. Συλλογή δειγμάτων φλεβικού αίματος από το περιφερικό αίμα (3 ml) σε αποστειρωμένα σωληνάρια με περιεχόμενο K_3 αιθυλενοδιάμινο τετραοξικό οξύ (EDTA) ως αντιπηκτικό.

2. Ανάλυση της γενικής αίματος σε αυτόματο αιματολογικό αναλυτή (Coulter Electronics, UK). Οι τιμές των αιματολογικών παραμέτρων εκφράστηκαν σε απόλυτους αριθμούς κυττάρων ανά μικρόλιτρο (μ l) αίματος. Τα δείγματα μελετήθηκαν μέσα σε 2-3 ώρες μετά τη συλλογή τους.

3. Τα ποσοστά των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών προσδιορίστηκαν με την τεχνική του άμεσου ανοσοφθορισμού. Χρησιμοποιήθηκε πάνελ από μονοκλωνικά αντισώματα σεσημασμένα με φθορίζουσα χρωστική από τον οίκο Immunotech Laboratories. Έγινε ανάμειξη σε σωληνάρια 100 μ l δείγματος αίματος με 20 μ l σεσημασμένου με FITC και με 20 μ l σεσημασμένου με PE μονοκλωνικού αντισώματος σε πλαστικό σωληνάριο των 5 ml. Ως ιστοτυπικά control ορίστηκαν μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού IgG τάξης σεσημασμένα με FITC ή με PE για τη μη προσμέτρηση στα αποτελέσματα του αρνητικού (μη ειδικού) αυτοφθορισμού, που εκπέμπεται από τα κύτταρα.

4. Ακολούθως, τα σεσημασμένα κύτταρα αναδεύθηκαν σε χαμηλή ταχύτητα και επώαστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου (25°C) για 30 λεπτά.

5. Έπειτα, έγινε λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων με 2 ml FACS λυτικού διαλύματος, στροβιλισμός σε χαμηλή ταχύτητα για 3 δευτερόλεπτα και επώαση για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.

6. Κατόπιν, τα σωληνάρια φυγοκεντρήθηκαν στα 300xg για 5 λεπτά και έγινε αναρρόφηση του υπερκείμενου.

7. Ακολούθησε διπλή πλύση των κυττάρων με 2 ml ρυθμιστικού διαλύματος Phosphate Buffered Saline (PBS) που περιείχε 0.1% αζίδιο του νατρίου (sodium azide) και έπειτα, έγινε φυγοκέντρηση στα 200xg για 5 λεπτά.

8. Τελικά, προστέθηκαν σε κάθε σωληνάριο 500 μl διαλύματος 1% παραφορμαλδεΰδης με PBS.

9. Η επεξεργασία όλων των δειγμάτων έγινε με την τεχνική του ανοσοφθορισμού FACS στον κυτταρομετρητή ροής EPICS XL-MCL (Beckman Coulter) μέσα σε 8 ώρες μετά τη φλεβοκέντηση.

Ο καθορισμός της ομάδας (διαχωρισμός) των λεμφοκυττάρων (gating) έγινε χρησιμοποιώντας τη συσχέτιση FS (μέγεθος κυττάρου) και SS (κυτταροπλασματική κοκκίωση). Στη συνέχεια, για τον έλεγχο της καθαρότητας της απομόνωσης των λεμφοκυττάρων, χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των λεμφοκυττάρων (CD45-FITC) και έναντι των μονοπύρηνων μακροφάγων (CD14-PE). Τα λεμφοκύτταρα ήταν CD45 εντόνως θετικά και CD14 αρνητικά, ενώ παρουσίαζαν χαμηλές τιμές FS και SS. Η καθαρότητα του λεμφοκυτταρικού παραθύρου ήταν 98% και ο αριθμός των κυττάρων τουλάχιστον 5000. Τα μονοπύρηννα μακροφάγα είχαν ενδιάμεση θετικότητα έναντι του CD45 και ήταν εντόνως θετικά έναντι του CD14, ενώ εμφάνιζαν τιμές FS και SS μεγαλύτερες από τα λεμφοκύτταρα και μικρότερες από τα πολυμορφοπύρηννα. Η καθαρότητα στην περίφραξη των μονοπύρηνων μακροφάγων ήταν > 90% και ο αριθμός των κυττάρων τουλάχιστον 2000.

Για τη μελέτη των βλαστών του περιφερικού αίματος έγινε gating με χρήση της συσχέτισης SS (κυτταροπλασματική κοκκίωση) και το μονοκλωνικό αντίσωμα CD45, δεδομένου ότι οι βλάστες χαρακτηρίζονται από χαμηλή έκφραση (dim) CD45 και μικρή (low) κοκκίωση. Οι αριθμοί των CD4 T-βοηθητικών λεμφοκυττάρων και των CD8 T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων υπολογίστηκαν σε σχέση με την αναλογία τους προς το CD3, το οποίο αντιπροσωπεύει το συνολικό αριθμό των T-λεμφοκυττάρων [φυσιολογικό εύρος (NR) CD4/CD3: 28-59%, (NR) CD8/CD3: 18-49%]. Οι αριθμοί των B-λεμφοκυττάρων (CD19) και των T-λεμφοκυττάρων (CD3) μετρήθηκαν σε σχέση με την αναλογία τους προς τον ολικό αριθμό των λεμφοκυττά-

ρων (NR CD19/Total: 8-20%, NR CD3/Total: 59-85%). Το NR για την αναλογία των μονοκυττάρων/μακροφάγων (CD14) σε σχέση με τον ολικό αριθμό των λευκών (CD45) ήταν 2-11%, ενώ το NR για το ποσοστό των πρόδρομων αιμοποιητικών κυττάρων (CD34) θεωρήθηκε μικρότερο από το 5% των συνολικών κυττάρων.

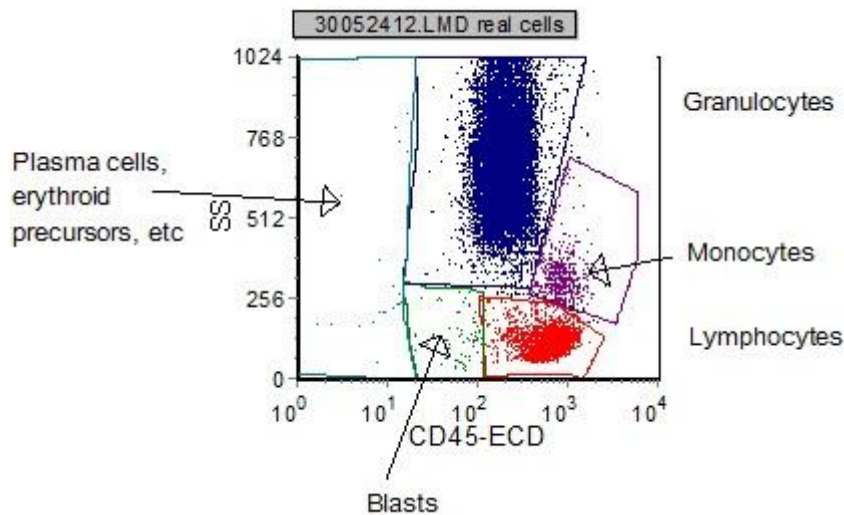
Για τη βαθμονόμηση (calibration) του κυτταρομετρητή χρησιμοποιήθηκε πρότυπο σφαιριδίων φθορισμού (Flow-Check Fluorospheres, Beckman Coulter), ενώ για την εξάλειψη της αλληλοεπικάλυψης των φθοριοχρωμάτων γινόταν αντιστάθμιση FITC με PE (FL2-%FL1) και PE με FITC (FL1-%FL2) με ειδικά σφαιρίδια φθορισμού (Cyto-Comp 1, Beckman Coulter). Στις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ισοτυπικό δείγμα ελέγχου, προκειμένου να εκτιμηθεί η μη ειδική σύνδεση των μονοκλωνικών αντισωμάτων και να τεθεί το κατώφλι μεταξύ θετικά και αρνητικά σεσημασμένων πληθυσμών. Το ισοτυπικό δείγμα ελέγχου ορίστηκε στο 2% (θετικός ουδός, cut-off).

Τα ζεύγη των μονοκλωνικών αντισωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για τις μετρήσεις ήταν τα εξής:

1. anti-MurineIgG1(FITC)/anti-IgG2a(PE);
2. anti-CD45HLeu1(FITC)/anti-CD14LeuM3(PE);
3. anti-CD3Leu4(FITC)/anti-CD4Leu3A(PE);
4. anti-CD3Leu4(FITC)/anti-CD8Leu2A(PE);
5. anti-CD45HLeu1(FITC)/anti-CD19LeuI2(PE);
6. anti-FL1Height(FITC)/anti-CD34(PE).

Η ανάλυση και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων της κυτταρομετρίας ροής, όπως και η τέλεση των γραφημάτων έγινε με το πρόγραμμα Windows Flow Cytometry WinMDI Version 2.8.

Ακολουθούν παραδείγματα υπολογισμού των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19 και CD34.



Εικόνα 25: Στον άξονα X τοποθετείται το CD45 (αντιγόνο λευκοκυττάρων) και στον άξονα Y το side scatter (SS), που αντιπροσωπεύει την κυτταροπλασματική κοκκίωση. Φαίνονται οι θέσεις κατανομής των βλαστικών κυττάρων, κοκκιοκυττάρων, μονοκυττάρων και λεμφοκυττάρων.³²⁵

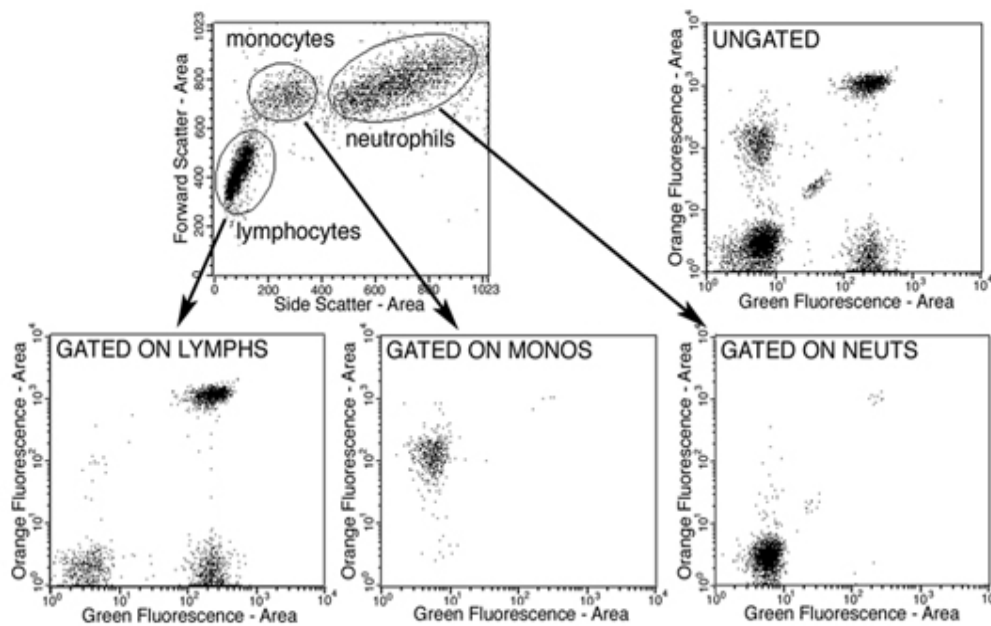
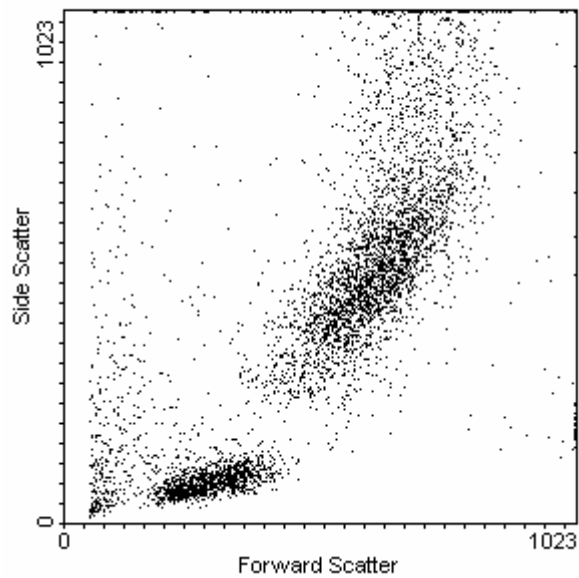
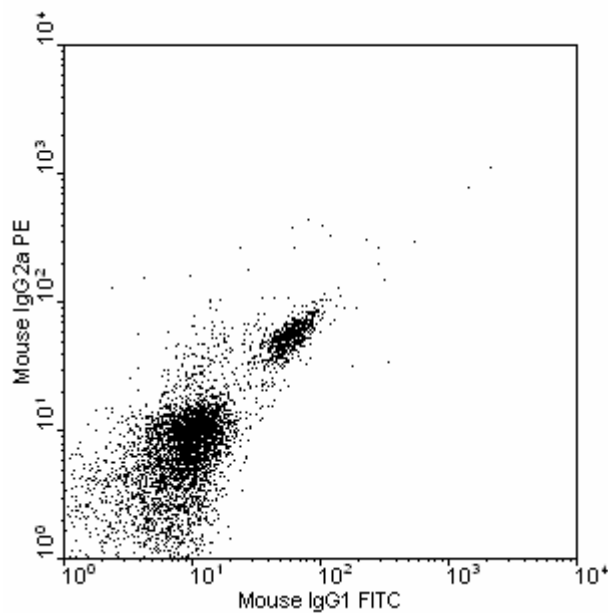


Figure 12, Givan Flow Intro for Hawley and Hawley

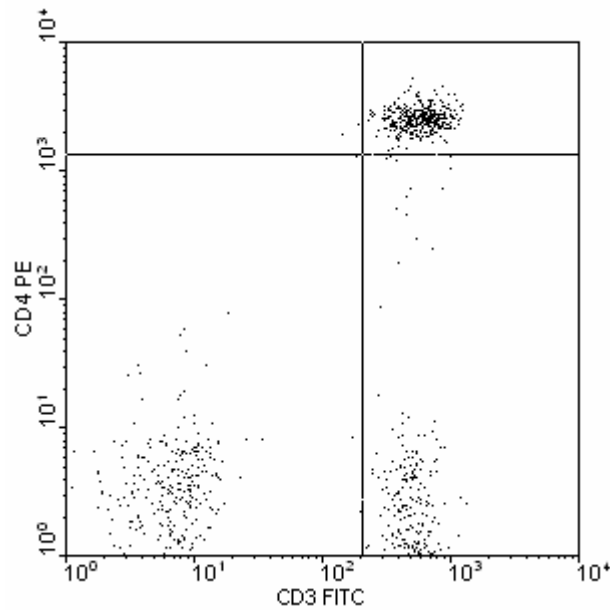
Εικόνα 26: Στον άξονα X τοποθετείται το side scatter (SS), που αντιπροσωπεύει την κυτταροπλασματική κοκκίωση και στον άξονα Y το forward scatter (FS), που αντιστοιχεί στο μέγεθος του κυττάρου. Φαίνονται οι θέσεις κατανομής των κοκκιοκυττάρων, μονοκυττάρων και λεμφοκυττάρων.³²⁵



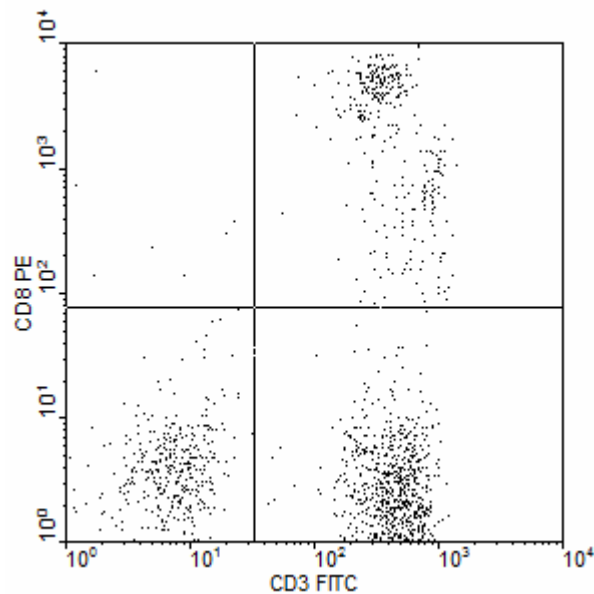
Εικόνα 27: Στον άξονα X τοποθετείται το forward scatter (FS), που αντιστοιχεί στο μέγεθος του κυττάρου και στον άξονα Y το side scatter (SS), που αντιπροσωπεύει την κυτταροπλασματική κοκκίωση.



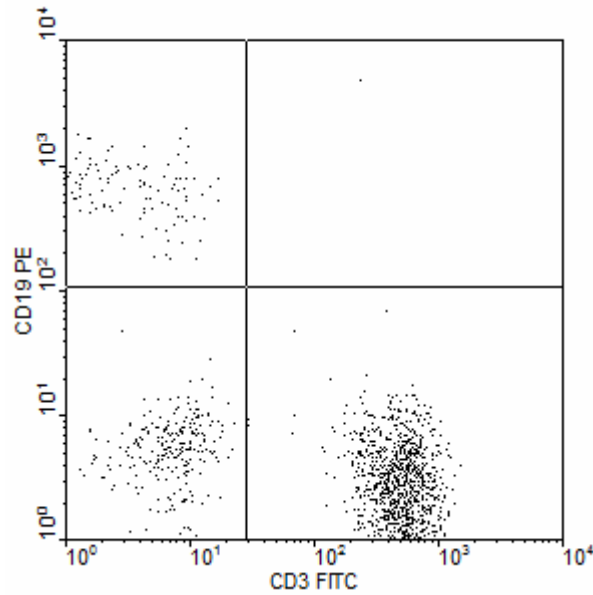
Εικόνα 28: Στον άξονα X τοποθετείται το Mouse IgG1 FITC και στον άξονα Y το Mouse IgG2a PE, που αντιπροσωπεύουν το ισοτυπικό δείγμα ελέγχου, προκειμένου να εκτιμηθεί η μη ειδική σύνδεση των μονοκλωνικών αντισωμάτων και να τεθεί το κατώφλι μεταξύ θετικά και αρνητικά σεσημασμένων πληθυσμών.



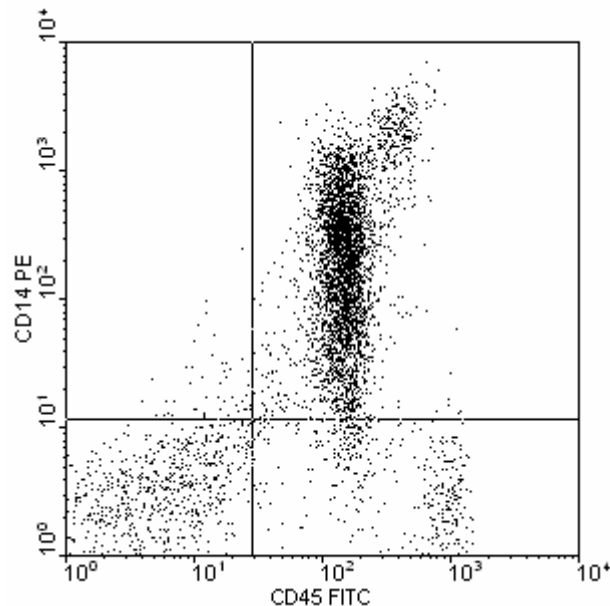
Εικόνα 29: Στον άξονα X τοποθετείται το CD3 FITC και στον άξονα Y το CD4 PE. Ο αριθμός των CD4 T-βοηθητικών λεμφοκυττάρων (που είναι CD4+ και CD3+) αντιστοιχεί στο άνω δεξιά τεταρτημόριο και υπολογίστηκε σε σχέση με την αναλογία προς το CD3, το οποίο αντιπροσωπεύει το συνολικό αριθμό των T-λεμφοκυττάρων [φυσιολογικό εύρος (NR) CD4/CD3: 28-59%].



Εικόνα 30: Στον άξονα X τοποθετείται το CD3 FITC και στον άξονα Y το CD8 PE. Ο αριθμός των CD8 T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων (που είναι CD8+ και CD3+) αντιστοιχεί στο άνω δεξιά τεταρτημόριο και υπολογίστηκε σε σχέση με την αναλογία προς το CD3, το οποίο αντιπροσωπεύει το συνολικό αριθμό των T-λεμφοκυττάρων [φυσιολογικό εύρος (NR) CD8/CD3: 18-49%].

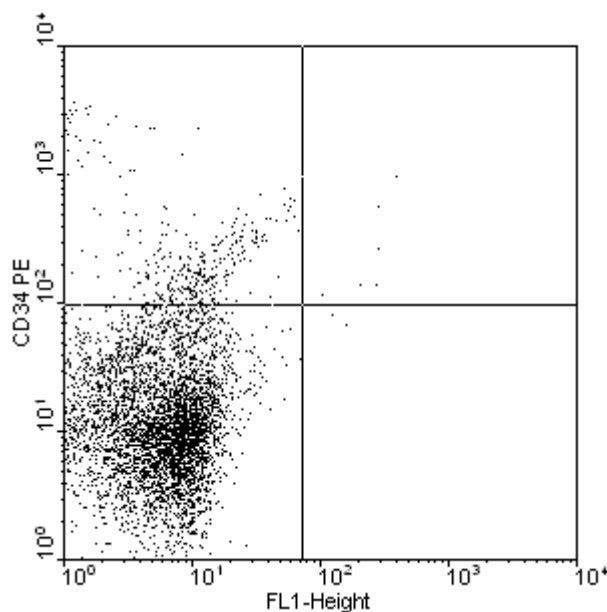


Εικόνα 31: Στον άξονα X τοποθετείται το CD3 FITC και στον άξονα Y το CD19 PE. Ο αριθμός των CD19 B-λεμφοκυττάρων (που είναι CD19+ και CD3-) αντιστοιχεί στο άνω αριστερά τεταρτημόριο, ενώ ο αριθμός των CD3 T-λεμφοκυττάρων (που είναι CD19- και CD3+) αντιστοιχεί στο κάτω δεξιά τεταρτημόριο. Οι αριθμοί των B-λεμφοκυττάρων (CD19) και των T-λεμφοκυττάρων (CD3) μετρήθηκαν σε σχέση με την αναλογία τους προς τον ολικό αριθμό των λεμφοκυττάρων (NR CD19/Total: 8-20%, NR CD3/Total: 59-85%).



Εικόνα 32: Στον άξονα X τοποθετείται το CD45 FITC και στον άξονα Y το CD14 PE. Ο αριθμός των μονοκυττάρων/μακροφάγων (CD14+ CD45+) αντιστοιχεί στο άνω δεξιά τεταρτημόριο. Το NR για την αναλογία των μονοκυττάρων/μακροφάγων (CD14/Total: 8-20%, NR CD45/Total: 59-85%).

ρων/μακροφάγων (CD14) σε σχέση με τον ολικό αριθμό των λευκών (CD45) είναι 2-11%.



Εικόνα 33: Στον άξονα X τοποθετείται το FL1-Height και στον άξονα Y το CD34 PE. Τα βλαστικά κύτταρα (CD34+ FL1-Height-) βρίσκονται στο άνω αριστερά τεταρτημόριο. Το NR για το ποσοστό των πρόδρομων αιμοποιητικών κυττάρων (CD34) θεωρήθηκε μικρότερο από το 5% των συνολικών κυττάρων.

ΣΤ. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 16.0. Χρησιμοποιήθηκαν οι στατιστικές δοκιμασίες Mann-Whitney non-parametric U test, η δοκιμασία χ^2 (Chi-square test) με τη διόρθωση Yates, τα odds ratios (αναλογίες πιθανοτήτων), τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (confidence intervals) και η δοκιμασία Student's t-test. Για τον έλεγχο κανονικότητας χρησιμοποιήθηκαν τα τεστ Kolmogorov-Smirnov και Shapiro-Wilk. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0,05$.

II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δεν υπήρξε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και τους υγιείς μάρτυρες σε σχέση με την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση (εισόδημα), τη γεωγραφική κατανομή, την περιοχή διαμονής, το κάπνισμα, τη χρήση αλκοόλ, την ηλικία και το φύλο (Πίνακας 15). Για τις συγκρίσεις χρησιμοποιήθηκε η στατιστική μέθοδος χ^2 (Chi square test – χ τετράγωνο).

Χαρακτηριστικά	Ασθενείς	Ποσοστό%	Μάρτυρες	Ποσοστό%	P-Value
Εισόδημα					
Χαμηλό	29	39,7	12	30	
Μέσο ή Υψηλό	44	60,3	28	70	0,41
Γεωγραφική Κατανομή					
Θεσσαλονίκη	31	42,5	16	40	
Γειτονικοί Νομοί	42	57,5	24	60	0,956
Περιοχή Διαμονής					
Αγροτική	25	34,2	10	25	
Αστική-Προάστια	48	65,8	30	75	0,421
Κάπνισμα					
Καπνιστές	32	43,8	21	52,5	
Μη-Καπνιστές	41	56,2	19	47,5	0,493
Χρήση Αλκοόλ					
Ναι	64	87,7	32	80	
Όχι	9	12,3	8	20	0,415
Ηλικία (έτη)					
<70	14	19,2	10	25	
≥70	59	80,8	30	75	0,629
Φύλο					
Γυναίκες	37	50,7	21	52,5	
Άνδρες	36	49,3	19	47,5	1

Πίνακας 15: Χαρακτηριστικά των ασθενών και των μαρτύρων με βάση την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση, τη γεωγραφική κατανομή, την περιοχή διαμονής, το κάπνισμα, τη χρήση αλκοόλ, την ηλικία και το φύλο.

Τρεις ασθενείς με ΜΔΣ δεν προσήλθαν στο follow-up και αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Το H_p εντοπίστηκε στο 79,45% (58/73) των ασθενών με ΜΔΣ και στο 45% (18/40) των μαρτύρων, με την παρουσία του H_p βακτηρίου ιστολογικά ή με το INFAl τεστ ή με την H_p ορολογική ανάλυση ($\chi^2=12.407$, $p=0,000$, odds ratio=0,21, 95% CI=0,09-0,49, Πίνακας 16).

Ομοίως, το Hr εντοπίστηκε στο 75,34% (55/73) των ασθενών με ΜΔΣ και στο 45% (18/40) των μαρτύρων, με την παρουσία του Hr βακτηρίου ιστολογικά ή με το INFAI τεστ ($\chi^2=9.119$, $p=0,003$, odds ratio=0,27, 95% CI=0,12-0,61, Πίνακας 16). Ειδικότερα, η σοβαρότητα της κατάστασης 17 ασθενών με ΜΔΣ δεν επέτρεψε τη διενέργεια ενδοσκόπησης και η εκτίμηση της Hr-λοίμωξης έγινε με το τεστ αναπνοής INFAI, παράλληλα με τον προσδιορισμό του τίτλου των anti-Hr IgG αντισωμάτων με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA.

Η συχνότητα της Hr-λοίμωξης ήταν 80,36% (45/56) στους ασθενείς με ΜΔΣ και 45% (18/40) στους μάρτυρες, όπως επιβεβαιώθηκε από την παρουσία του Hr ιστολογικά ($\chi^2=11.411$, $p=0,001<0,05$, Πίνακας 16). Η αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio) για την ενδεχόμενη συσχέτιση του Hr με τα ΜΔΣ ήταν 0,2 και τα διαστήματα εμπιστοσύνης (95% CI) είχαν εύρος από 0,08 έως 0,5. Επίσης, 75,34% (55/73) των ασθενών και 40% (16/40) των μαρτύρων ήταν θετικοί σε σχέση με την Hr ορολογική ανάλυση ($\chi^2=12.349$, $p=0,000<0,05$, odds ratio=0,22, 95% CI=0,1-0,5, Πίνακας 16). Θετικότητα του INFAI τεστ αναπνοής παρατηρήθηκε στο 57,69% (30/52) των ασθενών και μόνο στο 35% (14/40) των μαρτύρων ($p=0,051$), ενώ θετικό τεστ ουρεάσης γαστρικού βλεννογόνου (CLO) βρέθηκε στο 60,71% (34/56) των ασθενών και σε 40% (16/40) των μαρτύρων ($p=0,073$) (Πίνακας 16).³²⁶

Οι 73 ασθενείς με ΜΔΣ που εκτιμήθηκαν με κυτταρομετρία ροής ταξινομήθηκαν κατά WHO (2001): RA 17, RARS 6, RCMD 15, RCMD-RS 3, RAEB1 9, RAEB2 15, MDS/MPD 8. Η παρακολούθησή τους διήρκεσε τουλάχιστον 3 έτη (36 μήνες) με την εξαίρεση όσων κατέληξαν σε μικρότερο διάστημα. 16 ασθενείς εμφάνισαν λευχαιμική εκτροπή (21,9%) με μέσο χρόνο 14 μήνες (εύρος 3-28 μήνες) από τη στιγμή της διάγνωσης. Οι τελευταίοι ασθενείς ταξινομήθηκαν προ της λευχαιμικής μετάπτωσης κατά WHO (RAEB2 12, RAEB1 4) και κατέληξαν όλοι σε μέσο χρόνο 6 μηνών (εύρος 2-8 μήνες) από τη λευχαιμική εκτροπή. Συνολικά, 48 ασθενείς είναι ζώντες ως σήμερα και 25 έχουν καταλήξει, οι 16 από λευχαιμική εκτροπή μετά την αρχική διάγνωση (RAEB1 ή RAEB2) και οι 9 από επιπλοκές σχετιζόμενες με τις βαριές κυτταροπενίες του ΜΔΣ μετά την ακόλουθη αρχική ταξινόμηση: RA 5, RAEB1 2 και MDS/MPD 2. Η διάμεση συνολική επιβίωση όλων των ασθενών με ΜΔΣ ήταν 36,15 μήνες (εύρος 3-63 μήνες).

	ΜΔΣ ασθενείς (n=73)	Υγιείς Μάρτυρες (n=40)	Odds Ratio (95% CI)	P value
Ηλικία (έτη) [μέση (εύρος)]	73 (53-88)	68 (58-76)		p>0,05
Φύλο (άνδρες/γυναίκες)	36/37	19/21		p>0,05
¹³C-ουρεάση τεστ αναπνο- ής-θετικό - INFAI	30/52 (57,69%)	14/40 (35%)	0,4 (0,17-0,93)	p=0,051
Τεστ ουρεάσης γαστρικού βλεννογόνου θετικό - CLO	34/56 (60,71%)	16/40 (40%)	0,43 (0,19-0,99)	p=0,073
Anti-Hp IgG > 10 U/ml	55/73 (75,34%)	16/40 (40%)	0,22 (0,1-0,5)	p=0,000
Ιστολογική παρουσία του Hp	45/56 (80,36%)	18/40 (45%)	0,2 (0,08-0,5)	p=0,001
Ιστολογική παρουσία του Hp ή INFAI τεστ θετικό	55/73 (75,34%)	18/40 (45%)	0,27 (0,12-0,61)	p=0,003
Ιστολογική παρουσία του Hp ή INFAI τεστ θετικό ή Anti-Hp IgG > 10 U/ml	58/73 (79,45%)	18/40 (45%)	0,21 (0,09-0,49)	p=0,000

Πίνακας 16: Θετικότητα της Hp-λοίμωξης σε ασθενείς με ΜΔΣ και σε υγιείς μάρτυρες, συγκριτικά με τα διάφορα διαγνωστικά τεστ. Ο όρος CI (confidence intervals) αναφέρεται σε διαστήματα εμπιστοσύνης. Με κίτρινο χρώμα επισημαίνονται οι στατιστικώς σημαντικές διαφορές, όπου p<0,05.

Οι 35 ασθενείς με ΜΔΣ που εκτιμήθηκαν με κυτταρομετρία ροής ταξινομήθηκαν κατά WHO (2001): RA 7, RARS 3, RCMD 5, RCMD-RS 2, RAEB1 1, RAEB2 14, MDS/MPD 3 (Πίνακας 17). Η παρακολούθησή τους διήρκεσε τουλάχιστον 3 έτη (36 μήνες) με την εξαίρεση όσων κατέληξαν σε μικρότερο διάστημα. Εννιά ασθενείς εμφάνισαν λευχαιμική εκτροπή (25,7%) με μέσο χρόνο 12,75 μήνες (εύρος 3-28 μή-

νες) από τη στιγμή της διάγνωσης. Οι τελευταίοι ασθενείς ταξινομήθηκαν ως RAEB2 προ της λευχαιμικής μετάπτωσης και κατέληξαν όλοι σε μέσο χρόνο 5 μηνών (εύρος 2-8 μήνες) από τη λευχαιμική εκτροπή. Συνολικά, 22 ασθενείς είναι ζώντες ως σήμερα και 13 έχουν καταλήξει, οι 9 από λευχαιμική εκτροπή μετά την αρχική RAEB2 διάγνωση και οι 4 από επιπλοκές σχετιζόμενες με τις βαριές κυτταροπενίες του ΜΔΣ μετά την ακόλουθη αρχική ταξινόμηση: RA 1, RAEB2 2 και MDS/MPD 1. Η διάμεση συνολική επιβίωση όλων των ασθενών με ΜΔΣ, στους οποίους έγινε κυτταρομετρία ροής ήταν 38,44 μήνες (εύρος 3-63 μήνες).

MDS/WHO	ΑΣΘΕΝΕΙΣ
RA	7
RARS	3
RCMD	5
RCMD-RS	2
RAEB1	1
RAEB2	14
MDS/MPD	3
Σύνολο	35

Πίνακας 17: Ταξινόμηση κατά WHO (2001) ασθενών με ΜΔΣ, που εκτιμήθηκαν με κυτταρομετρία ροής.

Τα αποτελέσματα της κυτταρομετρίας ροής στους ασθενείς με ΜΔΣ και στους μάρτυρες φαίνονται αντίστοιχα στους Πίνακες 18 και 19. Δεν υπήρξε συσχέτιση ανάμεσα στη συνολική έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD34, τη λευχαιμική εκτροπή, το θάνατο και την Ηρ-λοίμωξη στους ασθενείς με ΜΔΣ ($p>0,05$). Δηλαδή, στους άνω 35 ασθενείς στους οποίους έγινε κυτταρομετρία ροής, δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συνολική έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD34, τη λευχαιμική εκτροπή και το θάνατο, είτε αυτοί ήταν θετικοί είτε αρνητικοί στην Ηρ-λοίμωξη, με βάση την ιστολογία, που αποτελεί το διαγνωστικό gold standard.³²⁶

Σε αντίθεση με την αναμενόμενη ελαττωμένη αναλογία των Β-λεμφοκυττάρων στα ΜΔΣ, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες,³²⁷⁻³²⁸ 6/35 ασθενείς (17,14%) με εντοπισμένη Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά ή με το INFAI τεστ, εμφάνιζαν φυσιολογική ή αυξημένη έκφραση του CD19 ($p<0.05$). Επιπλέον, αντίθετα με την αναμενόμενη χαμηλή

αναλογία των ολικών T-λεμφοκυττάρων στα ΜΔΣ, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες,³²⁸ 19/35 ασθενείς (54,3%) είχαν φυσιολογική έκφραση του CD3. Από αυτούς τους 19 ασθενείς, οι 14 εμφάνιζαν εντοπισμένη Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά ή με το INFAI τεστ ($p<0,05$).³²⁶

Επιπρόσθετα, σε αντίθεση με την αναμενόμενη χαμηλή αναλογία των CD4 T-βοηθητικών κυττάρων στα ΜΔΣ, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες,³²⁸ υψηλή συχνότητα της Ηρ-λοίμωξης εντοπίστηκε ιστολογικά (15/20, $p<0,05$) μεταξύ των 20 ασθενών που είχαν φυσιολογική έκφραση του CD4. Έλλειψη της έκφρασης CD4, CD8 και CD19 εμφάνισαν 8/35 ασθενείς (22,86%). Πέντε από αυτούς ήταν θετικοί για την Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά ή με το INFAI τεστ. Η έκφραση του CD14 ήταν εκτός του φυσιολογικού εύρους σε 14/35 περιπτώσεις (40%). Από τους 14 αυτούς ασθενείς, 9 ήταν θετικοί για την Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά. Ακόμα, στις 9/35 περιπτώσεις (25,7%), όπου παρατηρήθηκε λευχαιμική εκτροπή, η έκφραση του CD34 ήταν αυξημένη. Επτά ασθενείς από αυτούς (77,8%) ήταν θετικοί για την Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά ή με το INFAI τεστ. Επισημαίνεται, ότι στο σύνολο των ασθενών, 16/73 (21,9%) εμφάνισαν λευχαιμική εκτροπή με 12/16 (75%) θετικούς για την Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά ή με το INFAI τεστ. Τελικά, σε αντίθεση με την αναμενόμενη ελαττωμένη αναλογία των CD8 T-κυτταροτοξικών κυττάρων σε πρώιμα στάδια ΜΔΣ σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες,³²⁸⁻³²⁹ 5/35 (14,29%) ασθενείς με ιστολογικά εντοπισμένη Ηρ-λοίμωξη και πρώιμο στάδιο ΜΔΣ (RA, RARS), εμφάνιζαν φυσιολογική έκφραση του CD8 ($p<0,05$).

Η έκφραση του CD19, που αντιπροσωπεύει την αναλογία των Β-λεμφοκυττάρων στο ΠΑ ήταν ελαττωμένη στους ασθενείς με ΜΔΣ (Mean: 22,10) σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες (Mean: 51,91) ($p<0,05$) (Mann-Whitney U test). Ομοίως, η έκφραση του CD8, ήταν ελαττωμένη στους ασθενείς με ΜΔΣ (Mean: 27,80) σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες (Mean: 46,93) ($p<0,05$) (Mann-Whitney U test). Η έκφραση του CD3, ήταν ελαττωμένη στους ασθενείς με ΜΔΣ (Mean: 58,6029) σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες (Mean: 70,6675) ($p<0,05$) (Student's t-test). Τέλος, η έκφραση του CD34 διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ (Mean: 48,69) και στους υγιείς μάρτυρες (Mean: 28,65), καθώς $p<0,05$ (Mann-Whitney U test).

Αντίθετα, η έκφραση του CD4 δε διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ (Mean: 34,7260) και στους υγιείς μάρτυρες (Mean: 41,0575) ($p>0,05$) (Student's t-test). Ακόμα, η έκφραση του CD14 δε διαφέρει στατιστικώς

σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ (Mean: 38,27) και στους υγιείς μάρτυρες (Mean: 37,76), καθώς $p = 0,919 > 0,05$ (Mann-Whitney U test).

MDS/WHO	ABS H.PYLORI	ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ	CD4/CD3 28-59%	CD8/CD3 18-49%	CD19/ Total 8-20%	CD3/ Total 59-85%	CD14/ CD45 2-11%	CD34 <5%
1.RAEB2/AML	3,6 (-)	(-)	42	37	4	76	1	35
2.RAEB1	12 (+)	(+)	43,6	24,5	3	68	4,4	0
3.RAEB2/AML	3 (-)	(-)	59,3	23,6	2	87	6,5	35
4.RARS	11 (+)	(+)	55	12,5	5,6	69	6	0
5.RCMD	14,8 (+)	(+)	44	21	4	68	7	2
6.RAEB2/AML	178 (+)	(+)	61	8,5	4	70	3,5	7
7.RAEB2/AML	84,3 (+)	(+)	2	2	1	4	1	60
8.RAEB2	99 (+)	(+)	47	22	5	70	5	4
9.RA	147 (+)	(+)	31	31	2	65	7	5
10.MDS/MPD	125 (+)	(+)	54	20	8	76	0,2	10
11.RAEB2/AML	150 (+)	(+)	33	12	11	50	12	8
12.RAEB2/AML	7,9 (-)	(+)	0,3	0,1	0,1	50,5	0,3	8
13.RCMD	32 (+)	(+)	15	0,1	1	45	48	0
14.RA	8,2 (-)	(+)	55	8,9	7,1	62,6	9,9	7
15.RA	200 (+)	(+)	29,8	0,1	2	35,7	4,8	4
16.RAEB2/AML	61 (+)	(+)	45,5	51,6	2,9	87	1,4	5
17.RAEB2	150 (+)	(+)	52,5	19,1	9,2	75,1	0,3	2
18.RCMD RS	135 (+)	(+)	13	0,4	0,1	37	0,4	1
19.RAEB2	3,6 (-)	(-)	0,1	50,4	3,2	51,8	0,6	9
20.RAEB2/AML	102,5 (+)	(+)	17,3	7,9	48,7	27,2	7,2	22
21.RCMD	6 (-)	(-)	46,7	15,5	18,29	59	0,8	4
22.RARS	28 (+)	(+)	39,4	35,3	1,3	72	15,24	2
23.RAEB2/AML	81 (+)	(+)	32,25	24,3	0,1	58	10,9	38
24.RCMD	150 (+)	(+)	42,56	27	10,7	73,2	0,1	1
25.MDS/MPD	4,6 (-)	(-)	0,1	0,1	5,57	35	15,3	1
26.MDS/MPD	150 (+)	(+)	30	59	2	61	7	6
27.RA	47,2 (+)	(+)	23	0,1	1	57	6	5
28.RAEB2	6 (-)	(-)	36	21	1	80	10	5
29.RARS	16 (+)	(+)	49	23,6	6	68	5	4
30.RAEB2	3,8 (-)	(-)	17	13	17	25	11	11
31.RA	3,8 (-)	(-)	46	13	2	60	4	18
32.RCMD RS	43 (+)	(+)	47	24	11	69	3	2
33.RA	150 (+)	(+)	36	21	8	54	10	28
34.RCMD	124 (+)	(+)	13	18	4	29	43	33
35.RA	10,8 (+)	(+)	57	15	3	76	8	13

Πίνακας 18

A/A	ABS H.PYLORI	ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ	CD4/CD3 28-59%	CD8/CD3 18-49%	CD19/Total 8-20%	CD3/Total 59-85%	CD14/CD45 2-11%	CD34 <5%
1	19,2 (+)	(+)	44,2	22,8	16,2	68,3	12,6	2
2	0,8 (-)	(-)	44	37	10	75	4	4
3	3 (-)	(-)	49	19	17	61	6	5
4	4,2 (-)	(-)	52	42	8	83	10	4
5	55 (+)	(+)	35	23	12	65	3	2
6	65 (+)	(+)	29	40	15	64	5	2
7	1 (-)	(-)	47	25	14	67	4	1
8	6,7 (-)	(+)	42	23	17	78	9	1
9	150 (+)	(+)	43	28	12	72	3	4
10	3 (-)	(-)	38	28	11	80	2	5
11	100 (+)	(+)	52	20	9	62	2	3
12	2 (-)	(-)	54	20	10	65	6	3
13	2 (-)	(-)	50	26	13	68	7	4
14	47 (+)	(+)	35	36	18	71	2	1
15	7 (-)	(+)	41	38	9	64	5	2
16	104 (+)	(+)	29	17,4	13	67	6	2
17	2 (-)	(-)	42	16	9	71	3,5	3
18	4,1 (-)	(-)	35	23	9,5	70	4,9	4
19	3 (-)	(-)	33	30	16,4	64	3	4
20	39 (+)	(+)	40	24	17	69	6	1
21	2,5 (-)	(-)	51	26	11	68	6	2
22	123 (+)	(+)	37	29	12	63	8	2
23	0,4 (-)	(-)	32	33	12,7	72	7,1	3
24	1,2 (-)	(-)	38	36	12,9	70	6	2
25	101 (+)	(+)	47	32	15	68,5	8	1
26	121 (+)	(+)	43	23	15	72	5	1
27	98 (+)	(+)	37,6	25	14,3	74,8	6,5	3
28	45 (+)	(+)	37,2	27	18,7	70	6,8	2
29	33 (+)	(+)	39	29	9	65,3	4	2
30	42 (+)	(+)	45	19,8	12,3	68,2	5	3
31	47 (+)	(+)	46,3	26	14,3	69,4	5	2
32	5 (-)	(-)	49,1	32	13,9	65,5	5	3
33	3 (-)	(-)	39,9	33,1	16,9	62	8	1
34	5 (-)	(-)	38,5	30	17,2	80	7,5	1
35	7 (-)	(-)	37	31	13,1	79,5	3,5	4
36	2,5 (-)	(-)	35,5	22,3	12,8	78,2	2,5	1
37	1,5 (-)	(-)	40	24,6	15,5	77,5	6,5	1
38	3,5 (-)	(-)	41	27,6	16,2	76	7	1
39	3 (-)	(-)	36,8	22,8	18	80	7	0
40	5 (-)	(-)	37,2	25	19	82,5	4	1

Πίνακας 19: Αποτελέσματα κυτταρομετρίας ροής περιφερικού αίματος (ΠΑ) των ασθενών με ΜΔΣ (Πίνακας 18) και των υγιών μαρτύρων (Πίνακας 19). Ο τίτλος των anti-*H.pylori* IgG αντισωμάτων του ορού έχει ως όριο θετικότητας (cut-off value) τα 10 U/ml. Ο όρος ιστολογία αναφέρεται στο gold standard διάγνωσης της Hp-

λοίμωξης και σχετίζεται με την ιστολογική ανίχνευση του βακτηριδίου με τη χρώση Cresyl Violet σε υλικό βιοψιών βλεννογόνου στομάχου. Η ένδειξη AML δίδεται στους ασθενείς που υπέστησαν λευχαιμική εκτροπή μετά την αρχική διάγνωση ΜΔΣ. Οι αριθμοί των CD4 T-βοηθητικών λεμφοκυττάρων και των CD8 T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων υπολογίστηκαν σε σχέση με την αναλογία τους προς το CD3, το οποίο αντιπροσωπεύει το συνολικό αριθμό των T-λεμφοκυττάρων [φυσιολογικό εύρος (NR) CD4/CD3: 28-59%, (NR) CD8/CD3: 18-49%]. Οι αριθμοί των B-λεμφοκυττάρων (CD19) και των T-λεμφοκυττάρων (CD3) μετρήθηκαν σε σχέση με την αναλογία τους προς τον ολικό αριθμό των λεμφοκυττάρων (NR CD19/Total: 8-20%, NR CD3/Total: 59-85%). Το NR για την αναλογία των μονοκυττάρων/μακροφάγων (CD14) σε σχέση με τον ολικό αριθμό των λευκών (CD45) ήταν 2-11%, ενώ το NR για το ποσοστό των πρόδρομων αιμοποιητικών κυττάρων (CD34) θεωρήθηκε μικρότερο από το 5% των συνολικών κυττάρων.

III. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για τις συγκρίσεις ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και τους υγιείς μάρτυρες σε σχέση με την Ηρ-λοίμωξη με βάση την ανίχνευσή της με τα διάφορα διαγνωστικά τεστ χρησιμοποιήθηκε η στατιστική μέθοδος χ^2 (Chi square test – χ τετράγωνο) με τη διόρθωση Yates. Σε περίπτωση που ο αναμενόμενος αριθμός συχνοτήτων ήταν < 5 , χρησιμοποιήθηκε η ακριβής δοκιμασία κατά Fisher's (Fisher's exact test). Ακόμα χρησιμοποιήθηκαν τα odds ratios (αναλογίες πιθανοτήτων) και τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (confidence intervals). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0,05$.³³⁰ Τα ευρήματα της ακόλουθης στατιστικής ανάλυσης παρουσιάζονται εκτενώς στον Πίνακα 16.

ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

mdsornot * histol Crosstabulation

		Count		
		histol		Total
		negative	positive	
mdsornot	mds	11	45	56
	control	22	18	40
Total		33	63	96

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	12,931(b)	1	,000		
Continuity Correction(a)	11,411	1	,001		
Likelihood Ratio	13,013	1	,000		
Fisher's Exact Test				,000	,000
Linear-by-Linear Association	12,796	1	,000		
N of Valid Cases	96				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 13,75.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for mdsornot (mds / control)	,200	,081	,495
For cohort histol = negative	,357	,196	,650
For cohort histol = positive	1,786	1,238	2,576
N of Valid Cases	96		

INFAI TEST

mdsornot * infai Crosstabulation

		Count		
		infai		
		negative	positive	Total
mdsornot	mds	22	30	52
	control	26	14	40
Total		48	44	92

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4,666(b)	1	,031		
Continuity Correction(a)	3,801	1	,051		
Likelihood Ratio	4,718	1	,030		
Fisher's Exact Test				,037	,025
Linear-by-Linear Association	4,615	1	,032		
N of Valid Cases	92				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 19,13.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for mdsornot (mds / control)	,395	,169	,925
For cohort infai = negative	,651	,440	,962
For cohort infai = positive	1,648	1,018	2,670
N of Valid Cases	92		

ANTIΣΩΜΑΤΑ ANTI-Hp IgG

mdsornot * abs2 Crosstabulation

		Count		
		abs2		Total
		negative	positive	
mdsornot	mds	18	55	73
	control	24	16	40
Total		42	71	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	13,821(b)	1	,000		
Continuity Correction(a)	12,349	1	,000		
Likelihood Ratio	13,737	1	,000		
Fisher's Exact Test				,000	,000
Linear-by-Linear Association	13,699	1	,000		
N of Valid Cases	113				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 14,87.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for mdsornot (mds / control)	,218	,095	,499
For cohort abs2 = negative	,411	,256	,660
For cohort abs2 = positive	1,884	1,261	2,814
N of Valid Cases	113		

CLO TEST

mdsornot * clo Crosstabulation

		Count		
		clo		Total
		negative	positive	
mdsornot	mds	22	34	56
	control	24	16	40
Total		46	50	96

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4,012(b)	1	,045	,062	,036
Continuity Correction(a)	3,225	1	,073		
Likelihood Ratio	4,036	1	,045		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	3,970	1	,046		
N of Valid Cases	96				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 19,17.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for mdsornot (mds / control)	,431	,188	,989
For cohort clo = negative	,655	,434	,989
For cohort clo = positive	1,518	,983	2,343
N of Valid Cases	96		

ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΕΙΤΕ INFAT TEST

		Count		
		hisinfai		Total
		negative	positive	
mdsornot	mds	18	55	73
	control	22	18	40
Total		40	73	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	10,404(b)	1	,001		
Continuity Correction(a)	9,119	1	,003		
Likelihood Ratio	10,274	1	,001		
Fisher's Exact Test				,002	,001
Linear-by-Linear Association	10,311	1	,001		
N of Valid Cases	113				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 14,16.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for mdsornot (mds / control)	,268	,118	,608
For cohort hisinfai = negative	,448	,275	,731
For cohort hisinfai = positive	1,674	1,160	2,416
N of Valid Cases	113		

ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΕΙΤΕ INFAI TEST ΕΙΤΕ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ANTI-Hp IgG

		Count		
		hisinfab		
		neg	pos	Total
mdsornot	mds	15	58	73
	control	22	18	40
Total		37	76	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	13,928(b)	1	,000		
Continuity Correction(a)	12,407	1	,000		
Likelihood Ratio	13,705	1	,000		
Fisher's Exact Test				,000	,000
Linear-by-Linear Association	13,804	1	,000		
N of Valid Cases	113				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 13,10.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for mdsornot (mds / control)	,212	,091	,492
For cohort hisinfab = neg	,374	,220	,635
For cohort hisinfab = pos	1,766	1,229	2,536
N of Valid Cases	113		

Στη συνέχεια παρατίθεται ο τρόπος με τον οποίο έγινε η στάθμιση ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και τους υγιείς μάρτυρες σε σχέση με την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση (εισόδημα), τη γεωγραφική κατανομή, την περιοχή διαμονής, το κάπνισμα, τη χρήση αλκοόλ, την ηλικία και το φύλο (Πίνακας 15). Για τις συγκρίσεις χρησιμοποιήθηκε η στατιστική μέθοδος χ^2 (Chi square test – χ τετράγωνο).

mdsornot * age70 Crosstabulation

		Count		
		age70		
		kato apo 70	pano apo 70	Total
mdsornot	mds	14	59	73
	control	10	30	40
Total		24	89	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,524(b)	1	,469		
Continuity Correction(a)	,233	1	,629		
Likelihood Ratio	,515	1	,473		
Fisher's Exact Test				,480	,311
Linear-by-Linear Association	,519	1	,471		
N of Valid Cases	113				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8,50.

mdsornot * sexfm Crosstabulation

		Count		
		sexfm		
		female	male	Total
mdsornot	mds	37	36	73
	control	21	19	40
Total		58	55	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,034(b)	1	,854		
Continuity Correction(a)	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,034	1	,854		
Fisher's Exact Test				1,000	,505
Linear-by-Linear Association	,034	1	,854		
N of Valid Cases	113				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 19,47.

mdsornot * socio Crosstabulation

		Count		
		socio		
		low	medium or high	Total
mdsornot	mds	29	44	73
	control	12	28	40
	Total	41	72	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,057(b)	1	,304		
Continuity Correction(a)	,678	1	,410		
Likelihood Ratio	1,072	1	,300		
Fisher's Exact Test				,413	,206
Linear-by-Linear Association	1,048	1	,306		
N of Valid Cases	113				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 14,51.

mdsornot * geogra Crosstabulation

		Count		
		geogra		
		thessaloniki	neighbour	Total
mdsornot	mds	31	42	73
	control	16	24	40
	Total	47	66	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,065(b)	1	,799		
Continuity Correction(a)	,003	1	,956		
Likelihood Ratio	,065	1	,799		
Fisher's Exact Test				,844	,480
Linear-by-Linear Association	,064	1	,800		
N of Valid Cases	113				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 16,64.

mdsornot * residen Crosstabulation

		Count		
		residen		
		rural	urban	Total
mdsornot	mds	25	48	73
	control	10	30	40
Total		35	78	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,033(b)	1	,309		
Continuity Correction(a)	,646	1	,421		
Likelihood Ratio	1,054	1	,305		
Fisher's Exact Test				,396	,212
Linear-by-Linear Association	1,024	1	,312		
N of Valid Cases	113				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12,39.

mdsornot * smoking Crosstabulation

		Count		
		smoking		
		smokers	non smokers	Total
mdsornot	mds	32	41	73
	control	21	19	40
Total		53	60	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,779(b)	1	,377		
Continuity Correction(a)	,470	1	,493		
Likelihood Ratio	,779	1	,378		
Fisher's Exact Test				,433	,246
Linear-by-Linear Association	,772	1	,380		
N of Valid Cases	113				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 18,76.

mdsornot * alcohol Crosstabulation

		Count		
		alcohol		
		yes	no	Total
mdsornot	mds	64	9	73
	control	32	8	40
Total		96	17	113

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,190(b)	1	,275		
Continuity Correction(a)	,665	1	,415		
Likelihood Ratio	1,153	1	,283		
Fisher's Exact Test				,285	,206
Linear-by-Linear Association	1,179	1	,278		
N of Valid Cases	113				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6,02.

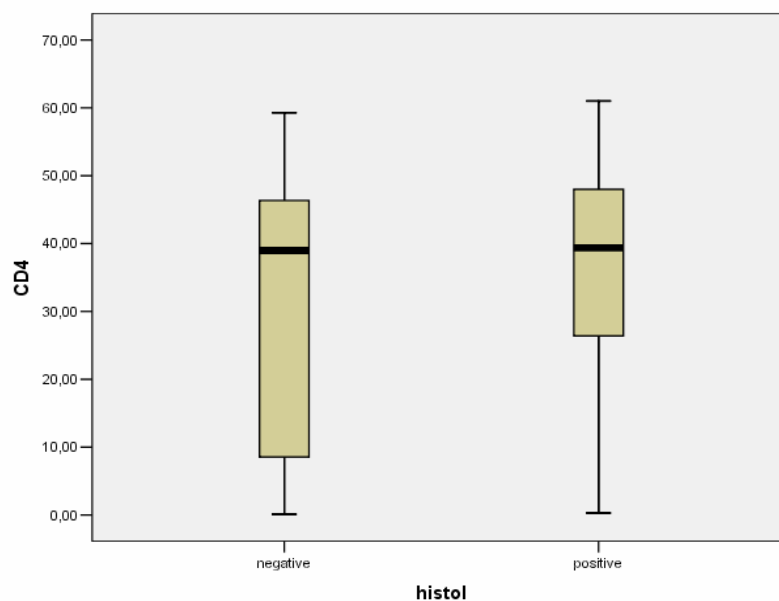
Οι 35 ασθενείς με ΜΔΣ, ανάλογα με την ιστολογική διάγνωση της Ηρ-λοίμωξης χωρίστηκαν σε θετικούς (27/35) και σε αρνητικούς (8/35). Μελετήθηκε αν η έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19 και CD34 στους άνω ασθενείς, παρουσίαζε διαφορές ανάλογα με τη θετικότητα ή όχι στην Ηρ-λοίμωξη. Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος κανονικότητας κατά Shapiro-Wilk, διότι επρόκειτο για δείγμα < 50 ασθενών (35). Επειδή $p < 0,05$ για τα CD3, CD8, CD14, CD19 και CD34, οι μεταβλητές αυτές ήταν μη κανονικά κατανομημένες σε σχέση με την ιστολογική διάγνωση της Ηρ-λοίμωξης. Άρα χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική ανάλυση Mann-Whitney U test για την περαιτέρω μελέτη τους. Αντίθετα, το $p > 0,05$ για το CD4 (κανονικά κατανομημένο), επομένως έγινε χρήση της δοκιμασίας Student's t-test για τη μελέτη του σε σχέση με την ιστολογική διάγνωση της Ηρ-λοίμωξης. Παρακάτω παρατίθενται το τεστ κανονικότητας και τα αντίστοιχα θηκογράμματα (boxplots).

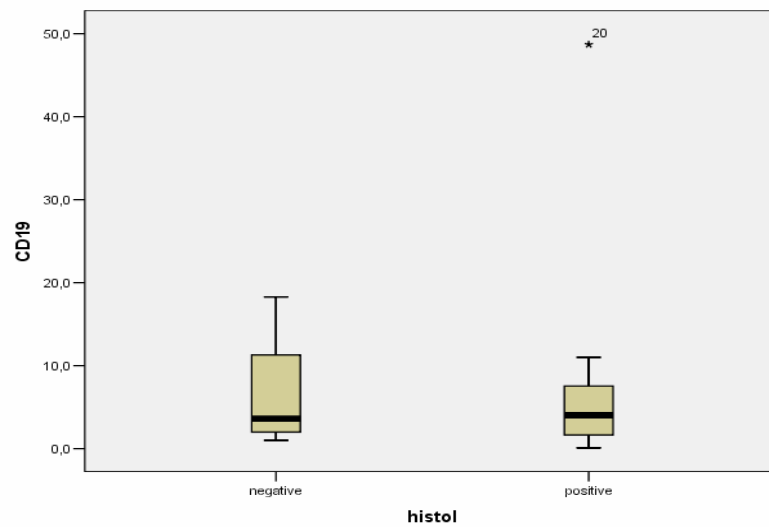
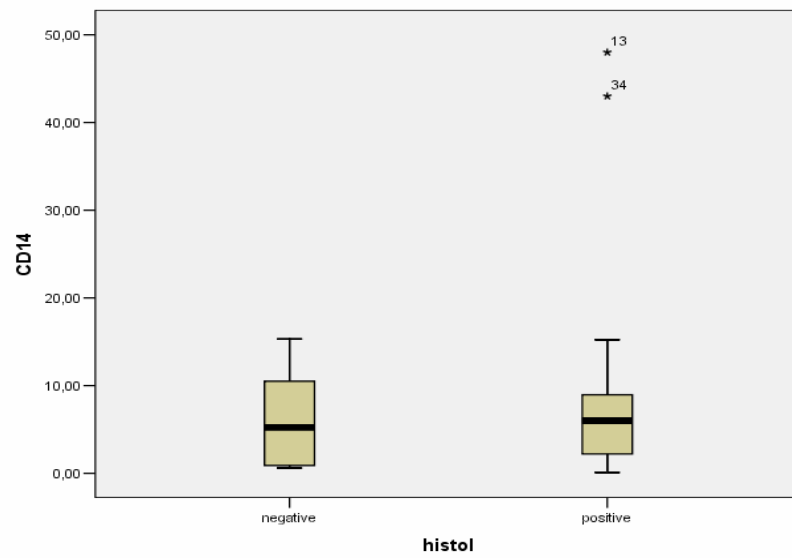
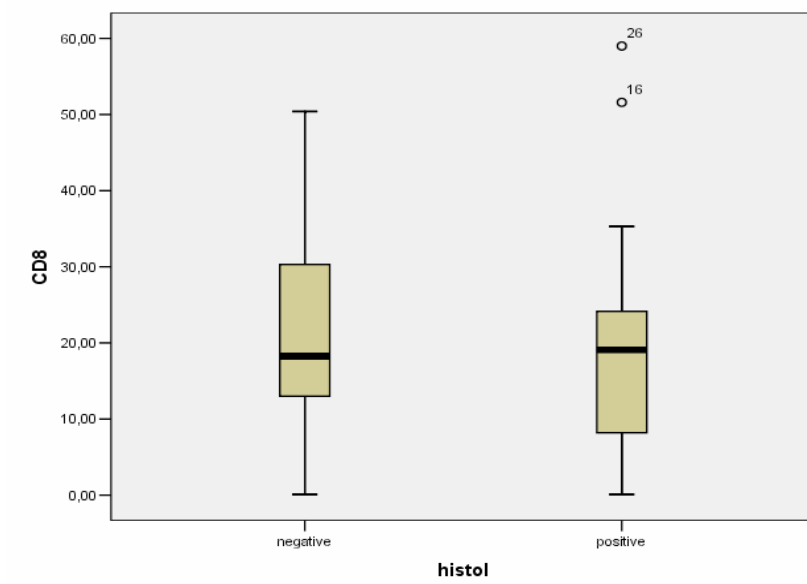
Tests of Normality

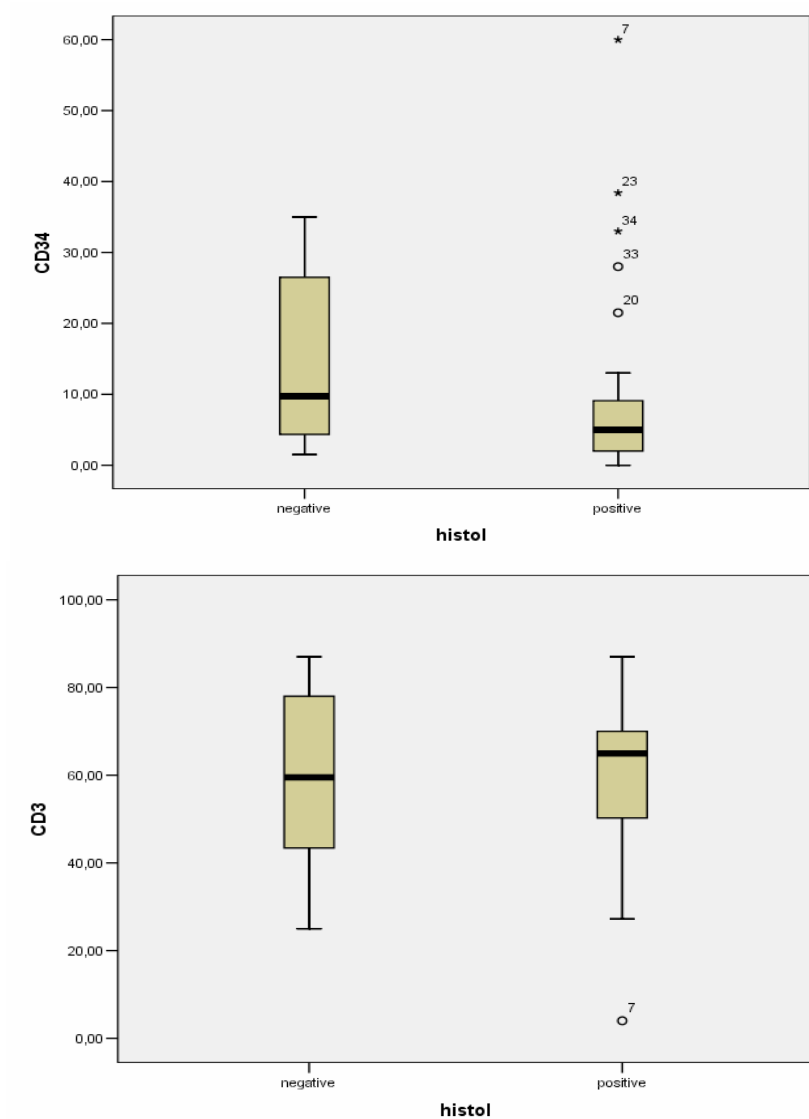
histol		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CD4	negative	,215	8	,200*	,889	8	,230
	positive	,134	27	,200*	,943	27	,141
CD8	negative	,202	8	,200*	,940	8	,613
	positive	,148	27	,131	,904	27	,017
CD14	negative	,200	8	,200*	,900	8	,289
	positive	,265	27	,000	,621	27	,000
CD19	negative	,311	8	,022	,746	8	,007
	positive	,261	27	,000	,526	27	,000
CD34	negative	,233	8	,200*	,832	8	,062
	positive	,299	27	,000	,690	27	,000
CD3	negative	,155	8	,200*	,952	8	,733
	positive	,178	27	,029	,899	27	,012

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction







Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
CD4	Equal variances assumed	1,575	,218	-,670	33	,507	-4,95963	7,40121	20,01751	10,09825
	Equal variances not assumed			-,577	9,551	,577	-4,95963	8,59063	24,22344	14,30418

Παρατηρούμε ότι το Sig. (2-tailed) = 0,507 > 0,05, δηλαδή η έκφραση του CD4 δε διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ που έχουν την Ηρ-λοίμωξη και σε αυτούς που δεν την έχουν (Student's t-test).

Test Statistics(b)

	CD8	CD14	CD19	CD34	CD3
Mann-Whitney U	95,500	107,000	98,000	74,500	104,500
Wilcoxon W	473,500	485,000	476,000	452,500	482,500
Z	-,492	-,039	-,394	-1,318	-,138
Asymp. Sig. (2-tailed)	,623	,969	,693	,188	,891
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,630(a)	,985(a)	,714(a)	,192(a)	,893(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: histol

Ομοίως, η έκφραση των CD3, CD8, CD14, CD19 και CD34 δε διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ που έχουν την Ηρ-λοίμωξη και σε αυτούς που δεν την έχουν, καθώς τα αντίστοιχα p είναι μεγαλύτερα από 0,05 (Mann-Whitney U test).

Κατόπιν, με το κριτήριο χ^2 διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ που έχουν την Ηρ-λοίμωξη και σε αυτούς που δεν την έχουν, ως προς τη λευχαιμική εκτροπή και ως προς την τελική έκβαση (θάνατος ή μη). Τα αντίστοιχα p είναι μεγαλύτερα από 0,05. Τα ανωτέρω συμπεράσματα παραθέτονται στους ακόλουθους πίνακες.

Crosstab

		Count		
		ENDPOINT		Total
		ALIVE	DEATH	
histol	negative	6	2	8
	positive	19	8	27
Total		25	10	35

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,065(b)	1	,799		
Continuity Correction(a)	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,066	1	,797		
Fisher's Exact Test				1,000	,589
Linear-by-Linear Association	,063	1	,802		
N of Valid Cases	35				

a Computed only for a 2x2 table

b 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,29.

Crosstab

		Count		
		ektropi		
		ektropi	oxi ektropi	Total
histol	negative	2	6	8
	positive	7	20	27
Total		9	26	35

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,003(b)	1	,958		
Continuity Correction(a)	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,003	1	,958		
Fisher's Exact Test				1,000	,670
Linear-by-Linear Association	,003	1	,959		
N of Valid Cases	35				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,06.

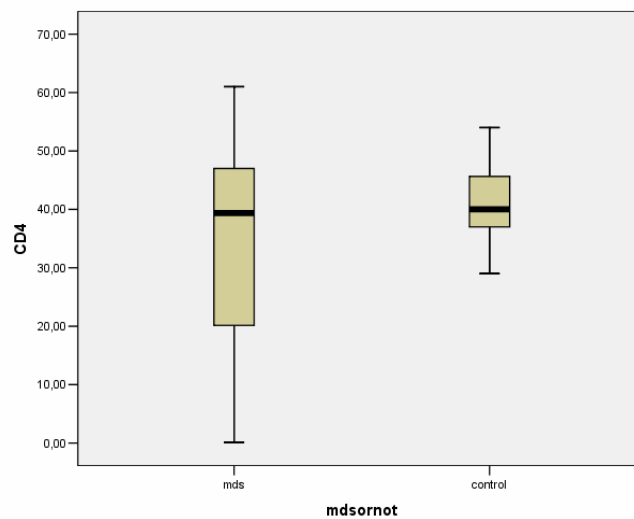
Κατόπιν μελετήθηκε αν η έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19 και CD34 παρουσίαζε διαφορές ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και στους υγιείς μάρτυρες. Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος κανονικότητας κατά Kolmogorov-Smirnov, διότι επρόκειτο για δείγμα > 50 ασθενείς. Επειδή $p < 0,05$ για τα CD8, CD14, CD19 και CD34, οι μεταβλητές αυτές ήταν μη κανονικά κατανομημένες σε σχέση με την ύπαρξη ή όχι ΜΔΣ. Άρα χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική ανάλυση Mann-Whitney U test για την περαιτέρω μελέτη τους. Αντίθετα, το $p > 0,05$ για τα CD3 και CD4 (κανονικά κατανομημένα), επομένως έγινε χρήση της δοκιμασίας Student's t-test για τη μελέτη τους σε σχέση με την ύπαρξη ή όχι ΜΔΣ. Παρακάτω παρατίθενται το τεστ κανονικότητας και τα αντίστοιχα θηκογράμματα (boxplots).

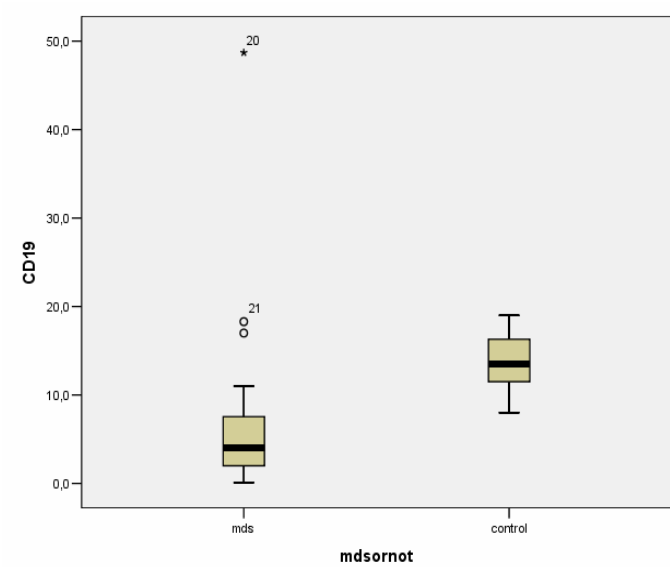
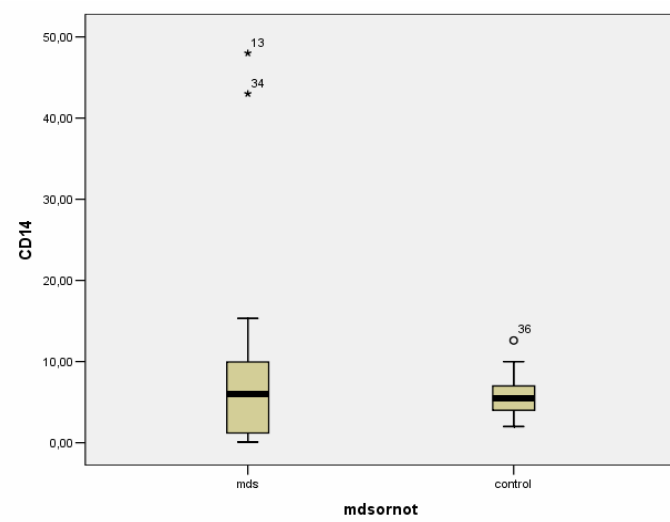
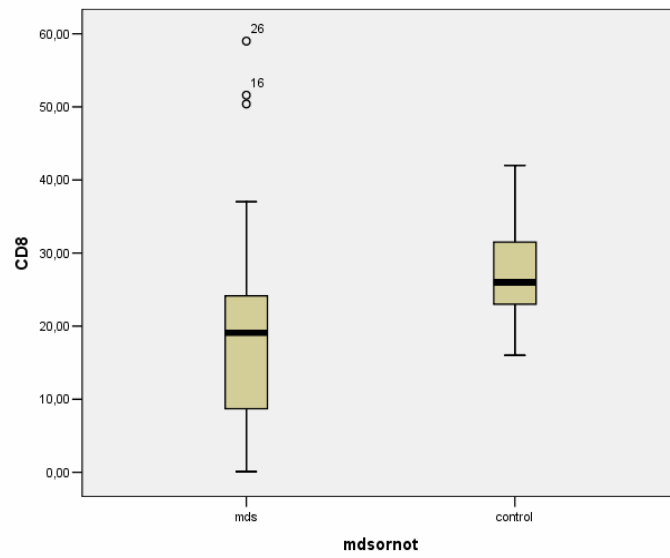
Tests of Normality

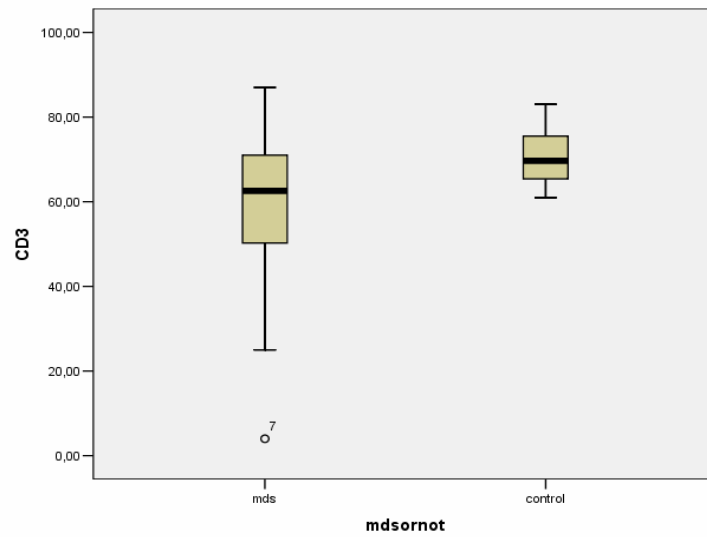
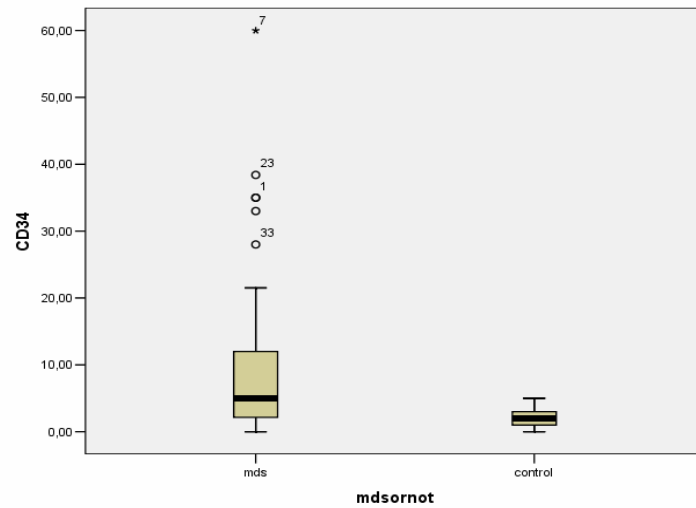
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CD4	mds	,141	35	,077	,926	35	,021
	control	,091	40	,200*	,973	40	,452
CD8	mds	,154	35	,034	,915	35	,010
	control	,108	40	,200*	,971	40	,381
CD14	mds	,239	35	,000	,636	35	,000
	control	,097	40	,200*	,957	40	,132
CD19	mds	,243	35	,000	,591	35	,000
	control	,097	40	,200*	,961	40	,181
CD34	mds	,265	35	,000	,742	35	,000
	control	,175	40	,003	,907	40	,003
CD3	mds	,146	35	,057	,931	35	,030
	control	,118	40	,168	,946	40	,056

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction







Group Statistics

	mdsornot	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
CD4	mds	35	34,7260	18,23678	3,08258
	control	40	41,0575	6,32374	,99987
CD3	mds	35	58,6029	19,07070	3,22354
	control	40	70,6675	6,15461	,97313

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
CD4	Equal variance assumed	35,121	,000	-2,060	73	,043	-6,33150	3,07291	2,45579	-,20721
	Equal variance not assumed			-1,954	41,134	,058	-6,33150	3,24068	2,87555	,21255
CD3	Equal variance assumed	26,445	,000	-3,785	73	,000	12,06464	3,18726	8,41684	-5,71245
	Equal variance not assumed			-3,583	40,188	,001	12,06464	3,36722	8,86905	-5,26023

Επειδή $\text{Sig.} = 0,000 < 0,05$ θα χρησιμοποιηθεί το $\text{Sig.}(2\text{-tailed})$ της δεύτερης γραμμής $= 0,058 > 0,05$, δηλαδή η έκφραση του CD4 δε διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και στους υγιείς μάρτυρες (Student's t-test).

Επειδή $\text{Sig.} = 0,000 < 0,05$ και για το CD3 θα χρησιμοποιηθεί το $\text{Sig.}(2\text{-tailed})$ της δεύτερης γραμμής $= 0,001 < 0,05$, δηλαδή η έκφραση του CD3 διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και στους υγιείς μάρτυρες (Student's t-test).

Test Statistics^a

	CD14	CD19	CD34	CD8
Mann-Whitney U	690,500	143,500	326,000	343,000
Wilcoxon W	1510,500	773,500	1146,000	973,000
Z	-,101	-5,914	-4,001	-3,793
Asymp. Sig. (2-tailed)	,919	,000	,000	,000

a. Grouping Variable: mdsornot

Η έκφραση των CD8, CD19 και CD34 διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και στους υγιείς μάρτυρες, καθώς τα αντίστοιχα p είναι μικρότερα από 0,05 (Mann-Whitney U test). Αντίθετα, η έκφραση του CD14 δε διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και στους υγιείς μάρτυρες, καθώς $p = 0,919 > 0,05$ (Mann-Whitney U test).

Ranks

	mdsornot	N	Mean Rank	Sum of Ranks
CD14	mds	35	38,27	1339,50
	control	40	37,76	1510,50
	Total	75		
CD19	mds	35	22,10	773,50
	control	40	51,91	2076,50
	Total	75		
CD34	mds	35	48,69	1704,00
	control	40	28,65	1146,00
	Total	75		
CD8	mds	35	27,80	973,00
	control	40	46,93	1877,00
	Total	75		

IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Μετά την αρχική του περιγραφή από τους Warren και Marshall στην ιατρική επιθεώρηση Lancet το 1983,¹¹³ το H_p έχει συσχετιστεί με ποικίλα νοσήματα του ανώτερου πεπτικού και με διαταραχές, που περιλαμβάνουν το MALT λέμφωμα, την ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (ITP), τη σιδηροπενική αναιμία και την αναιμία οφειλόμενη σε έλλειψη της βιταμίνης B12.^{150, 331}

Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε, για πρώτη φορά, υψηλότερη συχνότητα της H_p-λοίμωξης σε μια ομάδα Ελλήνων ασθενών με ΜΔΣ σε σύγκριση με ομάδα ελέγχου υγιών μαρτύρων, που δεν παρουσίαζε διαφορές σε σχέση με την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση (εισόδημα), τη γεωγραφική κατανομή, την περιοχή διαμονής, το κάπνισμα, τη χρήση αλκοόλ, την ηλικία και το φύλο.

Το αίτιο του παραπάνω ευρήματος είναι άγνωστο. Αυτό το αποτέλεσμα θα μπορούσε να καταδεικνύει έναν κοινό αιτιολογικό παράγοντα, που καθιστά τα άτομα επιρρεπή τόσο στο ΜΔΣ, όσο και στην H_p-λοίμωξη ή να υπαινίσσεται ότι το H_p θα ήταν δυνατό να επηρεάσει την παθοφυσιολογία του ΜΔΣ. Θα μπορούσε επίσης να υποτεθεί ότι η χρόνια H_p-λοίμωξη είναι αιτιολογικός παράγοντας για το ΜΔΣ. Άλλη πιθανότητα είναι ότι η H_p-λοίμωξη θα μπορούσε να προκαλεί τις συχνές ουδετεροπενίες που παρατηρούνται στους ασθενείς με ΜΔΣ.

Η παρούσα μελέτη δεν αποδεικνύει την ύπαρξη αιτιολογικής συσχέτισης (σχέση αιτίου-αιτιατού), καθώς αυτή απαιτεί την υποστροφή της πορείας του ΜΔΣ μετά από εκκρίζωση της H_p-λοίμωξης. Επισημαίνεται η δυσχέρεια της μελέτης πιθανής συσχέτισης ανάμεσα στην H_p-λοίμωξη και στο ΜΔΣ, λόγω της παρουσίας πληθώρας μεταβλητών στον οργανισμό. Πρόσθετη επιπλέον δυσκολία αποτελεί ο προσδιορισμός των αιματολογικών και ανοσολογικών βλαβών που οφείλονται στο ΜΔΣ και ο διαχωρισμός τους από τις αντίστοιχες που οφείλονται στην H_p-λοίμωξη.

Στην παρούσα μελέτη, η H_p-λοίμωξη προσδιορίστηκε με την ιστολογική εντόπιση του βακτηριδίου σε υλικό βλεννογόνου βιοψιών στομάχου με τη χρώση Cresyl Violet, γεγονός που αποτελεί το gold standard για τη διάγνωση της λοίμωξης,³²⁰ όπως επίσης και με το τεστ αναπνοής ¹³C-ουρεάσης (INFAI τεστ) και ορολογικά, με τον προσδιορισμό του τίτλου των anti-H_p IgG αντισωμάτων. Η συχνότητα της H_p-λοίμωξης της ομάδας των μαρτύρων της μελέτης μας είναι παρόμοια και συγκρίσιμη με την αντίστοιχη αναφερόμενη από άλλους ερευνητές σε ελληνικές ομάδες και άλλους εθνικούς πληθυσμούς, με τη χρήση της οροδιαγνωστικής μεθόδου.³³²⁻³³³

Η μελέτη μας στηρίχτηκε κυρίως στην ιστολογία για την τεκμηρίωση της διάγνωσης της Ηρ-λοίμωξης. Παρότι η καλλιέργεια αποτελεί το θεωρητικό gold standard για την εντόπιση του βακτηριδίου, εντούτοις έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει εξαιρετική συσχέτιση της λοίμωξης με την ιστολογική ταυτοποίηση.³³⁴ Η καλλιέργεια του βακτηριδίου παρουσιάζει δυσκολίες, λόγω της ιδιαιτερότητας της Ηρ-λοίμωξης και δεν είναι περισσότερο ειδική ή ευαίσθητη μέθοδος διάγνωσης, σε σύγκριση με την ιστολογική ανάλυση.³³⁵⁻³³⁶

Συνεπώς, για τις περισσότερες μελέτες, η βιοψία του βλεννογόνου και η ιστολογική εκτίμηση του υλικού για την παρουσία γαστρίτιδας και Ηρ, είναι το gold standard για τη διάγνωση της Ηρ-λοίμωξης,^{120, 280} ενώ το τεστ ουρεάσης γαστρικού βλεννογόνου (CLO τεστ) είναι μη ειδικό και εμφανίζει ελαττωμένη ευαισθησία ειδικά στους ηλικιωμένους.³³⁷ Η τεχνική της βιοψίας του βλεννογόνου είναι χρήσιμη, επειδή λόγω της οπτικής επαφής του ενδοσκόπου με το γαστρικό βλεννογόνο, εντοπίζονται οι περιοχές με διαβρωτική γαστρίτιδα, όπως επίσης και βλάβες τύπου MALT λεμφώματος, για λήψη υλικού. Εντούτοις, υπάρχουν μειονεκτήματα που θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν. Το βακτηρίδιο έχει ανομοιόμορφη κατανομή, ειδικά στη βάση του στομάχου, με επακόλουθο να απαιτούνται βιοψίες σε πάνω από 2 ανατομικές περιοχές για αξιόπιστα αποτελέσματα. Απαραίτητη είναι η ενδοσκόπηση και η διάγνωση λαμβάνεται αρκετές μέρες μετά τη βιοψία, μέχρι να ολοκληρωθεί η χρώση Cresyl Violet.^{120, 334}

Το παρεμβατικό τεστ CLO στηρίζεται στην αρχή της επώασης υλικού βιοψιών βλεννογόνου στομάχου σε μέσο που περιέχει ουρία και τη χρωστική φαινόλη (phenol red), ουσία που μεταβάλλει χρώση σε pH 6 ή μεγαλύτερο. Το pH υπερβαίνει το 6 όταν το Ηρ, ο οργανισμός που ομοιάζει με καμπυλοβακτηρίδιο στην προκειμένη περίπτωση, μεταβολίζει την ουρία σε αμμωνία, μέσω του ενζύμου ουρεάση που παράγει.³³⁷

Ωστόσο, απαιτείται ενδοσκόπηση του ανώτερου πεπτικού για τη λήψη δειγμάτων προς ιστολογική μελέτη του Ηρ και αυτή η μέθοδος είναι δαπανηρή και ενδέχεται να οδηγήσει σε επιπλοκές στους ηλικιωμένους ασθενείς, καθώς οι τελευταίοι έχουν μεγαλύτερη συχνότητα συνοδών νοσημάτων, όπως χρόνιες καρδιοπάθειες, πνευμονικά νοσήματα ή κακοήθειες, συμπεριλαμβανομένων και των ΜΔΣ.^{335, 338} Οι περισσότεροι ασθενείς με ΜΔΣ είναι ηλικιωμένοι.³³⁹ Επομένως, για διαγνωστικούς σκοπούς και για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας εκρί-

ζωσης του H_p, μη παρεμβατικά τεστ, όπως τα τεστ αναπνοής και τα ορολογικά τεστ ανίχνευσης αντισωμάτων, συνιστώνται συχνά στην πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας.

Το τεστ αναπνοής ¹³C-ουρεάσης INFAI είναι μη παρεμβατικό και αξιόπιστο.³³⁶ Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο ότι το H_p εκκρίνει ουρεάση, η οποία μετατρέπει την ουρία σε αμμωνία, παράγοντας συγχρόνως διοξείδιο του άνθρακα. Σεσημασμένος άνθρακας (άνθρακας -13 ή -14) είναι συνδεδεμένος με ουρία η οποία εμπεριέχεται σε διάλυμα που πίνει ο ασθενής. Αν το H_p έχει αποικήσει τον στόμαχο, τότε το βακτήριο θα διασπάσει την ουρία με αποτέλεσμα την εκπνοή σεσημασμένου διοξειδίου του άνθρακα το οποίο και μετράται. Στην αντίθετη περίπτωση, η ουρία δεν διασπάται αφού δεν υπάρχει το μικρόβιο και ακολουθεί τη φυσιολογική μεταβολική οδό. Αυτό το τεστ είναι ακριβές και ασφαλές.³⁴⁰

Παρότι απαιτεί νηστεία, ψευδώς θετικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν από την παρουσία ουρεάσης στη στοματική κοιλότητα και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα επισυμβαίνουν, αν έχουν χρησιμοποιηθεί αντιβιοτικά τις προηγούμενες 4 εβδομάδες.³⁴¹ Το πλεονέκτημα του INFAI τεστ είναι ότι παρέχει άμεσα αποτελέσματα και χρειάζεται λίγο χρόνο. Επιπλέον, όπως και η ιστολογική εξέταση με βιοψία, είναι πολύ ακριβής και επιβεβαιώνει την ύπαρξη ή την απουσία ενεργού H_p-λοίμωξης τη στιγμή της εξέτασης. Εφόσον χρειαστεί, η εξέταση της αναπνοής μπορεί να πραγματοποιηθεί πολλές φορές, ώστε να διαπιστωθεί αν το βακτήριο έχει εκριζωθεί μετά τη θεραπεία. Άλλο μειονέκτημα αυτής της εξέτασης, είναι ότι το αποτέλεσμα μπορεί να είναι ανακριβές αν ο ασθενής λαμβάνει αναστολείς αντλίας πρωτονίων.³⁴¹ Στη μελέτη μας εφαρμόσαμε το τεστ αυτό στους 17 ασθενείς με ΜΔΣ, στους οποίους δεν έγινε ενδοσκόπηση, λόγω της σοβαρότητας της κατάστασής τους.

Από την άλλη, ενώ το ορολογικό τεστ αποδεικνύει την ύπαρξη αντισωμάτων έναντι του H_p, δεν μπορεί να διαχωρίσει αν πρόκειται για παλιά ή και πρόσφατη λοίμωξη. Το ορολογικό τεστ δεν αποτελεί ασφαλές τεστ για να διαπιστωθεί αν έχει επιτευχθεί η εκρίζωση του H_p, καθώς ο ρυθμός πτώσης των anti-H_p IgG αντισωμάτων μετά την εκρίζωση, δεν είναι γνωστός. Ο ασθενής θα πρέπει να παρακολουθείται τουλάχιστον για εξάμηνο, προκειμένου να διαπιστωθεί αξιολογήσιμη πτώση στον τίτλο των αντισωμάτων. Ακόμα, το όριο θετικότητας – αρνητικότητας των anti-H_p IgG αντισωμάτων (cut-off value) δεν είναι σαφές και ενδέχεται να ποικίλλει στα διάφορα εργαστήρια.³³⁶

Μια διάκριση ανάμεσα σε παλιά ή πρόσφατη λοίμωξη είναι σημαντική, διότι η ενεργός H_p-λοίμωξη επάγει χυμικές και κυτταρικές ανοσιακές αποκρίσεις, οι οποίες

μέσω μοριακής μιμικής και ομόλογων επιτόπων, δίνουν διασταυρούμενες αντιδράσεις με αντιγόνα του ξενιστή, με αποτέλεσμα να επιδεινώνονται οι ιστικές βλάβες.³⁴² Τονίζεται ότι όλο και περισσότερο γίνεται φανερός ο ρόλος των ανοσολογικών αποκρίσεων στην έναρξη και την εξέλιξη του ΜΔΣ.^{316, 343} Επιπρόσθετα, η εκρίζωση της Ηρ-λοίμωξης θα μπορούσε να καθυστερήσει την πρόοδο τέτοιων νοσημάτων, ιδιαίτερα σε αρχικά στάδια. Επισημαίνεται βέβαια, ότι δεν είναι γνωστά τα αποτελέσματα και από την έκθεση στο παρελθόν του οργανισμού στην Ηρ-λοίμωξη, ακόμα και αν η ίδια δεν είναι ενεργός τη στιγμή της μελέτης.

Η Ηρ-λοίμωξη συσχετίζεται στενά με την ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα (ΙΘΠ).²⁸⁹ Έχουν αναφερθεί παρατεταμένες αποκρίσεις του αριθμού των αιμοπεταλίων στην εκρίζωση του Ηρ σε Καναδούς ασθενείς με ΙΘΠ.³⁴⁴ Έχει προταθεί ανοσολογικός μηχανισμός για την ερμηνεία του φαινομένου στην άνω περίπτωση. Αντίσωμα έναντι της ουρεάσης Β του Ηρ δίνει διασταυρούμενη αντίδραση με τη γλυκοπρωτεΐνη ΙΙα των αιμοπεταλίων και έτσι προκαλείται καταστροφή των τελευταίων.³⁴⁵

Είναι γνωστός ο ρόλος της Ηρ-λοίμωξης στην παθογένεια των MALT λεμφωμάτων. Ειδικότερα, η λοίμωξη αυξάνει τον κίνδυνο πρόκλησης πρωτοπαθούς γαστρικού λεμφώματος (primary gastric lymphoma), ιδιαίτερα δε τον κίνδυνο πρόκλησης B-MALT λεμφώματος.^{169, 223, 346} Το Ηρ επάγει την έκφραση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-xL στα B-λεμφοκύτταρα in vivo και in vitro και τα καθιστά ανθεκτικά στην απόπτωση.²³⁰ Υφεση των MALT λεμφωμάτων παρατηρείται στην πλειονότητα των περιπτώσεων μετά τη θεραπεία εκρίζωσης της Ηρ-λοίμωξης.²²⁵ Επιπλέον, υφίσταται πιθανότητα συσχέτισης ανάμεσα στο Ηρ και στα πρωτοπαθή δερματικά MALT λεμφώματα.²²⁶

Υποστηρίζεται ότι σε αναλογία ασθενών με μονοκλωνική γαμμοπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας (MGUS), εμπλέκεται η Ηρ-λοίμωξη, μέσω χρόνιου αντιγονικού ερεθισμού.³⁰² Ωστόσο, δεν έχει παρατηρηθεί υποχώρηση της MGUS μετά την εκρίζωση του Ηρ.³⁰³ Επιπλέον, βρέθηκε ότι υψηλή συχνότητα Ηρ-λοίμωξης και MGUS παρατηρείται σε ασθενείς με χρόνια ιδιοπαθή ουδετεροπενία.³⁰⁴ Οι ασθενείς αυτοί παρουσιάζουν σπληνομεγαλία, η οποία αποδίδεται στην Ηρ-λοίμωξη.³⁰⁵ Τέλος, αναφέρονται περιστατικά τόσο πρωτοπαθούς γαστρικού πλασματοκυττώματος,³⁰⁶ όσο και πρωτοπαθούς εξωγαστρικού λεμφώματος θυρεοειδούς τύπου MALT,³⁴⁷ τα οποία υφέθηκαν πλήρως μετά τη θεραπεία εκρίζωσης.

Σχετικά με την αποπτωτική διεργασία και την Ηρ-λοίμωξη, έχει δειχθεί ότι το Ηρ μέσω εκφράσεως FasL, επάγει την απόπτωση των T-λεμφοκυττάρων που εκφρά-

ζουν Fas υποδοχέα, με αποτέλεσμα την επιμονή της λοίμωξης.²²⁷ Η Ηρ-λοίμωξη, ως κύρια αιτία καρκινογένεσης, διεγείρει αρχικά την Fas-αποπτωτική οδό που ευθύνεται για πρόωπη βλάβη και ατροφία του γαστρικού βλεννογόνου. Με την εξέλιξη της νόσου, η λοίμωξη σχετίζεται με αντίσταση του γαστρικού επιθηλίου στην απόπτωση με αποτέλεσμα να αναδεικνύονται μεταπλαστικοί και δυσπλαστικοί αδένες, που οδηγούν στην ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος.²²⁸⁻²²⁹

Στην παρούσα μελέτη, επισημαίνεται ότι οι αριθμοί των CD4 T-βοηθητικών λεμφοκυττάρων και των CD8 T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων υπολογίστηκαν σε σχέση με την αναλογία τους προς το CD3, το οποίο αντιπροσωπεύει το συνολικό αριθμό των T-λεμφοκυττάρων [φυσιολογικό εύρος (NR) CD4/CD3: 28-59%, (NR) CD8/CD3: 18-49%]. Οι αριθμοί των B-λεμφοκυττάρων (CD19) και των T-λεμφοκυττάρων (CD3) μετρήθηκαν σε σχέση με την αναλογία τους προς τον ολικό αριθμό των λεμφοκυττάρων (NR CD19/Total: 8-20%, NR CD3/Total: 59-85%). Το NR για την αναλογία των μονοκυττάρων/μακροφάγων (CD14) σε σχέση με τον ολικό αριθμό των λευκών (CD45) ήταν 2-11%, ενώ το NR για το ποσοστό των πρόδρομων αιμοποιητικών κυττάρων (CD34) θεωρήθηκε μικρότερο από το 5% των συνολικών κυττάρων. Τονίζεται ότι οι άνω αριθμοί δεν αποτελούν τον απόλυτο αριθμό των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών και των βλαστών στο ΠΑ, αλλά την αναλογία αυτών που εκφράζεται με ποσοστά.

Σχετικά με την αναλογία των B-λεμφοκυττάρων και των T-λεμφοκυττάρων στο ΠΑ ασθενών με ΜΔΣ, τα αποτελέσματά μας δεν έδειξαν συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD34, τη λευχαιμική εκτροπή, την τελική έκβαση (κατάληξη στο θάνατο ή επιβίωση) και την Ηρ-λοίμωξη. Δηλαδή, στους 35 ασθενείς στους οποίους έγινε κυτταρομετρία ροής, δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συνολική έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD34, τη λευχαιμική εκτροπή και την τελική έκβαση (κατάληξη στο θάνατο ή επιβίωση), είτε αυτοί ήταν θετικοί είτε αρνητικοί στην Ηρ-λοίμωξη, με βάση την ιστολογία, που αποτελεί το διαγνωστικό gold standard.

Έχουμε αναφέρει προηγουμένως συσχέτιση της ηλικίας (<72 έτη), του ποσοστού βλαστών του μυελού των οστών (>5%) και της παγκυτταροπενίας με τη λευχαιμική εκτροπή των ΜΔΣ.⁶⁸ Ωστόσο, ελαττωμένη αναλογία των B-λεμφοκυττάρων (CD19) και των T-λεμφοκυττάρων (CD3), όπως επίσης και των CD4 T-βοηθητικών κυττάρων στους ασθενείς με ΜΔΣ, παράλληλα με χαμηλό αριθμό CD8 T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων σε πρώιμα στάδια ΜΔΣ στο ΠΑ,³²⁸ δεν παρατηρή-

θηκαν σε σημαντική μερίδα ασθενών της μελέτης, στατιστικώς σημαντικά θετικών στην Ηρ-λοίμωξη.

Συνεπώς, σε αντίθεση με την αναμενόμενη ελαττωμένη αναλογία των Β-λεμφοκυττάρων στα ΜΔΣ στο ΠΑ, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες,³²⁷⁻³²⁸ 6/35 ασθενείς (17,14%) με εντοπισμένη Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά ή με το INFAI τεστ, εμφάνιζαν φυσιολογική ή αυξημένη έκφραση του CD19 ($p<0,05$). Επιπλέον, αντίθετα με την αναμενόμενη χαμηλή αναλογία των ολικών Τ-λεμφοκυττάρων στα ΜΔΣ στο ΠΑ, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες,³²⁸ 19/35 ασθενείς (54,3%) είχαν φυσιολογική έκφραση του CD3. Από αυτούς τους 19 ασθενείς, οι 14 εμφάνιζαν εντοπισμένη Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά ή με το INFAI τεστ ($p<0,05$).

Ακόμα, σε αντίθεση με την αναμενόμενη χαμηλή αναλογία των CD4 Τ-βοηθητικών κυττάρων στα ΜΔΣ στο ΠΑ, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες,³²⁸ υψηλή συχνότητα της Ηρ-λοίμωξης εντοπίστηκε ιστολογικά (15/20, $p<0,05$) μεταξύ των 20 ασθενών που είχαν φυσιολογική έκφραση του CD4. Επιπλέον, σε αντίθεση με την αναμενόμενη ελαττωμένη αναλογία των CD8 Τ-κυτταροτοξικών κυττάρων σε πρώιμα στάδια ΜΔΣ στο ΠΑ σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες,³²⁸⁻³²⁹ 5/35 (14,29%) ασθενείς με ιστολογικά εντοπισμένη Ηρ-λοίμωξη και πρώιμο στάδιο ΜΔΣ (RA, RARS), εμφάνιζαν φυσιολογική έκφραση του CD8 ($p<0,05$).

Έτσι, ενδιαφέρον εύρημα αποτελεί η στατιστικώς σημαντικά αυξημένη συχνότητα της Ηρ-λοίμωξης που εντοπίζεται στους ασθενείς με ΜΔΣ που εμφανίζουν φυσιολογική έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14 και CD19 στο ΠΑ, σε αντίθεση με την αναμενόμενη βιβλιογραφία για τα ΜΔΣ.³²⁸ Το γεγονός αυτό υπαινίσσεται ότι η λοίμωξη θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για αυτές τις παρατηρούμενες διαφορές από τα αναμενόμενα αποτελέσματα και ότι θα ήταν δυνατό να συμμετέχει στην παθογένεια του ΜΔΣ με μηχανισμό που δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί.^{326, 348} Συνολικά, παρατηρήθηκε σημαντική απόκλιση στην αναλογία των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών στο ΠΑ, σε αντίθεση με την αναμενόμενη αναλογία για τα ΜΔΣ, γεγονός που αποδόθηκε στην Ηρ-λοίμωξη.

Δευτερεύουσας σημασίας σύγκριση έγινε ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και στους υγιείς μάρτυρες σε σχέση με την έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19 και CD34, διότι εδώ δεν υπολογίζεται η επίδραση της Ηρ-λοίμωξης. Η έκφραση των CD19, CD8 και CD3 στο ΠΑ ήταν αναμενόμενα ελαττωμένη στους ασθενείς με ΜΔΣ σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες ($p<0,05$ σε όλες τις περιπτώσεις).³²⁸ Ομοίως, η έκφραση του CD34 είναι στατιστικώς σημαντικά αυξημένη στους ασθενείς με ΜΔΣ,

σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες ($p < 0,05$). Η άνοδος του CD34 στους ασθενείς με ΜΔΣ, σε σύγκριση με τους μάρτυρες αποδίδεται στους 9 ασθενείς, που υπέστησαν λευχαιμική εκτροπή. Αντίθετα, η έκφραση του CD4 και του CD14 δε διαφέρει στατιστικώς σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς με ΜΔΣ και στους υγιείς μάρτυρες ($p > 0,05$). Το τελευταίο αποδίδεται στη στατιστική διακύμανση των τιμών, καθώς η έκφραση του CD4 είναι ελαττωμένη στους ασθενείς με ΜΔΣ, συγκριτικά με τους μάρτυρες, αλλά αυτή η ελάττωση δεν είναι στατιστικώς σημαντική.

Δεν υπήρχε πυρετός ή ενδείξεις ενεργής βακτηριακής (πνευμονία), ιογενούς ή μυκητιασικής λοίμωξης κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής της κυτταρομετρίας ροής. Προηγούμενες μελέτες που εξέτασαν τον αριθμό των λεμφοκυττάρων στο ΠΑ ασθενών με ΜΔΣ με κυτταρομετρία ροής, δεν έλαβαν υπόψη τους ότι μια χρόνια λοίμωξη, όπως η Ηρ-λοίμωξη, θα μπορούσε να τροποποιήσει τα αποτελέσματα. Παρόλο που οι λοιμώξεις είναι συχνές στους ασθενείς με ΜΔΣ, λόγω των παρατηρούμενων κυτταροπενιών, δε διαπιστώθηκε αυξημένη συχνότητα άλλης βακτηριακής, ιογενούς ή μυκητιασικής λοίμωξης, πλην της Ηρ-λοίμωξης, στην ομάδα των ασθενών της μελέτης.

Μεγάλη ποικιλία μορίων, κυττάρων και μηχανισμών εμπλέκονται στο ανοσιακό σύστημα, άρρηκτα συνδεδεμένα στο χώρο και στο χρόνο. Η πλήρης αποσαφήνιση των ανοσολογικών βλαβών στα ΜΔΣ σε συνδυασμό με όσες οφείλονται στην Ηρ-λοίμωξη αποτελεί πρόκληση. Ποικίλες ανοσολογικές διαταραχές έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με ΜΔΣ, όπως ελάττωση στον αριθμό των ολικών Τ-λεμφοκυττάρων, κυρίως λόγω μείωσης του αριθμού των CD4 Τ-βοηθητικών κυττάρων, χαμηλή αναλογία CD4/CD8, χαμηλή δραστηριότητα των κυττάρων φονέων, μειωμένη παραγωγή κυτταροκινών, όπως IFN-α και IL-2, ελαττωματική κυτταροτοξικότητα των Τ-λεμφοκυττάρων, παθολογικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ Τ και Β κυττάρων, ελαττωματικές Τ-κυτταρικές αποκρίσεις στα μιτογόνα και διαταραχές στις ανοσοσφαιρίνες.³²⁸
³⁴⁹ Επίσης, αυξημένη απόπτωση παρατηρείται στη μυελική, την ερυθρά και τη μεγακαρυοκυτταρική σειρά στο μυελό των οστών ασθενών με πρώιμο στάδιο ΜΔΣ, γεγονός που οδηγεί σε αναποτελεσματική αιμοποίηση.³⁵⁰

Παρόλο που τα λεμφοκύτταρα δεν περιλαμβάνονται στον κακοήθη κλώνο στις περισσότερες περιπτώσεις των ΜΔΣ, η λεμφοπενία είναι ένα συχνό εύρημα στα ΜΔΣ.³²⁷ Η απόπτωση στο μυελό των οστών στα ΜΔΣ έχει αναφερθεί να είναι αυξημένη στα Β-λεμφοκύτταρα, αλλά όχι στα Τ-λεμφοκύτταρα.³⁵⁰ Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η απόπτωση των Τ κυττάρων στο ΠΑ είναι αυξημένη, ειδικά στα ΜΔΣ υψηλού κινδύνου.³²⁷ Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με ΜΔΣ παρουσιάζουν αρκετές

Τ κυτταρικής αρχής επεκτάσεις (expansions), οι οποίες είναι πολυκλωνικές στην υποομάδα CD4 και ολιγοκλωνικές στην υποομάδα CD8. Τα ανωτέρω ευρήματα θα μπορούσαν να αντανakλούν την εκλεκτική εμπλοκή των κυτταροτοξικών Τ κυττάρων στα ΜΔΣ είτε ως συμβολή στην άνοση επιτήρηση εναντίον του νεοπλασματικού αιτίου είτε ως αυτοαντίδραση έναντι των αιμοποιητικών πρόδρομων κυττάρων.³⁵¹

Με βάση τα παραπάνω, πρώτοι διατυπώσαμε την υπόθεση ότι η Ηρ-λοίμωξη θα μπορούσε να προστατεύσει ή να καθυστερήσει τη λευχαιμική μετατροπή των ΜΔΣ με τη διατήρηση αυξημένων αποπτωτικών διεργασιών στο μυελό των οστών, μέσω διέγερσης της παραγωγής του TNF-α στο ΠΑ. Τα υψηλά επίπεδα TNF-α σχετίζονται με ενεργοποίηση των κασπασών και του αποπτωτικού θανάτου των κυττάρων του μυελού, μέσω αυξημένης παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου, γεγονός που οδηγεί σε οξειδωτικό stress. Είναι γνωστό ότι η αυξημένη απόπτωση συνδέεται με πρώιμα στάδια ΜΔΣ, ενώ η λευχαιμική μετάπτωση επισυμβαίνει μετά από αναστολή της αποπτωτικής διεργασίας στο μυελό.³¹³ Παρόλο που αυτή η ιδέα ενδέχεται να είναι σωστή, πιθανότατα αντιπροσωπεύει μόνο τη μια πλευρά του νομίσματος. Έτσι, αν και η λοίμωξη εξασκεί κάποιο βαθμό προ-αποπτωτικής δραστηριότητας στα αρχικά στάδια ΜΔΣ, οι αντι-αποπτωτικές ιδιότητές της είναι εύλογο να υπερισχύουν σε βάθος χρόνου, υπονοώντας τον πιθανό διπλό ρόλο της στα ΜΔΣ.³¹⁵

Η πλειοψηφία των ασθενών που υπέστησαν λευχαιμική εκτροπή (12/16, 75%) ήταν θετικοί για την Ηρ-λοίμωξη ιστολογικά ή με το INFAI τεστ. Έτσι, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δεν υποστηρίζουν την υπόθεση του πιθανού προστατευτικού ρόλου του βακτηριδίου στη λευχαιμική μετάπτωση του ΜΔΣ, αλλά αντίθετα υπονοούν ότι η λοίμωξη ενδεχομένως εμπλέκεται στη λευχαιμική εκτροπή των ΜΔΣ. Μεγαλύτερες μελέτες απαιτούνται για τη λήψη ασφαλών συμπερασμάτων.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η Ηρ λοίμωξη εμφανίζει αυξημένη συχνότητα σε παθήσεις που επιπολάζουν στους ηλικιωμένους, όπως είναι η νόσος Alzheimer²⁷⁴ και το γλαύκωμα.²⁷⁹ Στις άνω παθήσεις προστίθενται και τα ΜΔΣ, γεγονός που αποτελεί εύρημα της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Ωστόσο, οι ανοσολογικές διαταραχές και η αυξημένη συχνότητα της Ηρ λοίμωξης στους άνω ασθενείς θα μπορούσαν να οφείλονται στις ετερογενείς αιματολογικές διαταραχές που εντοπίζονται στα ΜΔΣ, λόγω της ιδιαίτερης φύσης του νοσήματος.

Συμπερασματικά, η αυξημένη συχνότητα της Ηρ-λοίμωξης ανάμεσα σε Έλληνες ασθενείς με ΜΔΣ είναι ένα ενδιαφέρον εύρημα, το οποίο υπαινίσσεται ότι θα μπορούσε να υπάρχει συνδετικός κρίκος μεταξύ της λοίμωξης και του ΜΔΣ. Το απο-

τέλεσμα αυτό απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αποδείξεις υπάρχουσας αιτιολογικής σχέσης ανάμεσα στην Hρ-λοίμωξη και τα ΜΔΣ, παρότι μια τέτοια πιθανότητα δεν μπορεί να αποκλειστεί τελείως. Η υπόθεση της χρόνιας Hρ-λοίμωξης που προκαλεί συνεχή διέγερση, κόπωση, stress και εξάντληση των αποθεμάτων του μυελού των οστών, οδηγώντας σε διαταραχές που ενδεχομένως διευκολύνουν την πρόκληση του ΜΔΣ, είναι ελκυστική.³²⁶

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε, για πρώτη φορά, σημαντικά υψηλότερη συχνότητα της Ηρ-λοίμωξης σε μια ελληνική ομάδα ασθενών με ΜΔΣ σε σύγκριση με ομάδα ελέγχου υγιών μαρτύρων, που δεν παρουσίαζε διαφορές σε σχέση με την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση (εισόδημα), τη γεωγραφική κατανομή, την περιοχή διαμονής, το κάπνισμα, τη χρήση αλκοόλ, την ηλικία και το φύλο.

2. Το αίτιο του παραπάνω ευρήματος είναι άγνωστο. Αυτό το αποτέλεσμα θα μπορούσε να καταδεικνύει έναν κοινό αιτιολογικό παράγοντα, που καθιστά τα άτομα επιρρεπή τόσο στο ΜΔΣ όσο και στην Ηρ-λοίμωξη ή να υπαινίσσεται ότι το Ηρ θα ήταν δυνατό να επηρεάσει την παθοφυσιολογία του ΜΔΣ. Θα μπορούσε να υποτεθεί ακόμη ότι η χρόνια Ηρ-λοίμωξη είναι αιτιολογικός παράγοντας για το ΜΔΣ. Άλλη πιθανότητα είναι ότι η Ηρ-λοίμωξη θα μπορούσε να προκαλεί τις συχνές ουδετεροπενίες που παρατηρούνται στους ασθενείς με ΜΔΣ. Η παρούσα μελέτη δεν αποδεικνύει την ύπαρξη αιτιολογικής συσχέτισης (σχέση αιτίου-αιτιατού), καθώς αυτή απαιτεί την υποστροφή της πορείας του ΜΔΣ μετά από εκρίζωση της Ηρ-λοίμωξης. Επισημαίνεται η δυσχέρεια της μελέτης πιθανής συσχέτισης ανάμεσα στην Ηρ-λοίμωξη και στο ΜΔΣ, λόγω της παρουσίας πληθώρας μεταβλητών στον οργανισμό. Πρόσθετη επιπλέον δυσκολία αποτελεί ο προσδιορισμός των αιματολογικών και ανοσολογικών βλαβών που οφείλονται στο ΜΔΣ και ο διαχωρισμός τους από τις αντίστοιχες που οφείλονται στην Ηρ-λοίμωξη.

3. Η μελέτη μας στηρίχτηκε κυρίως στην ιστολογική εντόπιση του βακτηριδίου σε υλικό βλεννογόνου βιοψιών στομάχου με τη χρώση Cresyl Violet, γεγονός που αποτελεί το gold standard για τη διάγνωση της λοίμωξης. Η συχνότητα της Ηρ-λοίμωξης της ομάδας των μαρτύρων της μελέτης μας είναι παρόμοια και συγκρίσιμη με την αντίστοιχη αναφερόμενη από άλλους ερευνητές σε ελληνικές ομάδες και άλλους εθνικούς πληθυσμούς, με τη χρήση της οροδιαγνωστικής μεθόδου. Επιλέξαμε το μη παρεμβατικό και αξιόπιστο τεστ αναπνοής ^{13}C -ουρεάσης INFAI στους 17 ασθενείς με ΜΔΣ, στους οποίους δεν έγινε ενδοσκόπηση, λόγω της σοβαρότητας της κατάστασής τους.

4. Σχετικά με την αναλογία των B-λεμφοκυττάρων και των T-λεμφοκυττάρων στο ΠΑ, τα σχετικά αποτελέσματά μας στο σύνολο των ασθενών με ΜΔΣ, δεν έδειξαν συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, τη λευχαιμική εκτροπή, την τελική έκβαση (κατάληξη στο θάνατο ή επιβίωση) και την Ηρ-λοίμωξη. Δηλαδή, στους 35 ασθενείς στους οποίους έγινε κυτταρομετρία ροής, δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στη συνολική έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD34, τη λευχαιμική εκτροπή και την τελική έκβαση (κατάληξη στο θάνατο ή επιβίωση), είτε αυτοί ήταν θετικοί είτε αρνητικοί στην Ηρ-λοίμωξη, με βάση την ιστολογία, που αποτελεί το διαγνωστικό gold standard.

5. Ωστόσο, ελαττωμένη αναλογία των B-λεμφοκυττάρων (CD19) και των T-λεμφοκυττάρων (CD3), όπως επίσης και των CD4 T-βοηθητικών κυττάρων στους ασθενείς με ΜΔΣ, παράλληλα με χαμηλό αριθμό CD8 T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων σε πρώιμα στάδια ΜΔΣ στο ΠΑ, δεν παρατηρήθηκαν σε σημαντική μερίδα ασθενών της μελέτης, στατιστικώς σημαντικά θετικών στην Ηρ-λοίμωξη. Έτσι, ενδιαφέρον εύρημα αποτελεί η στατιστικώς σημαντικά αυξημένη συχνότητα της Ηρ-λοίμωξης στους ασθενείς με ΜΔΣ που εμφανίζουν σημαντική απόκλιση στην αναλογία των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών στο ΠΑ, σε αντίθεση με την αναμενόμενη βιβλιογραφία για τα ΜΔΣ. Το γεγονός αυτό υπαινίσσεται ότι η λοίμωξη θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για αυτές τις παρατηρούμενες διαφορές από τα αναμενόμενα αποτελέσματα και ότι θα ήταν δυνατό να συμμετέχει στην παθογένεια του ΜΔΣ με μηχανισμό που δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί.

6. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δεν υποστηρίζουν την υπόθεση του πιθανού προστατευτικού ρόλου του βακτηριδίου στη λευχαιμική μετάπτωση του ΜΔΣ, αλλά αντίθετα υπονοούν ότι η λοίμωξη ενδεχομένως εμπλέκεται στη λευχαιμική εκτροπή των ΜΔΣ. Μεγαλύτερες μελέτες απαιτούνται για τη λήψη περισσότερο ασφαλών συμπερασμάτων, καθώς ο αριθμός των ασθενών που εκτιμήθηκαν είναι μικρός.

7. Συμπερασματικά, η αυξημένη συχνότητα της Ηρ-λοίμωξης ανάμεσα σε Έλληνες ασθενείς με ΜΔΣ είναι ένα ενδιαφέρον εύρημα, το οποίο υπαινίσσεται ότι θα μπορούσε να υπάρχει συνδετικός κρίκος μεταξύ της λοίμωξης και του ΜΔΣ. Το άνω αποτέλεσμα απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αποδείξεις υπάρ-

χουσας αιτιολογικής σχέσης ανάμεσα στην Ηρ-λοίμωξη και τα ΜΔΣ, παρότι μια τέτοια πιθανότητα δεν μπορεί να αποκλειστεί τελείως. Η υπόθεση της χρόνιας Ηρ-λοίμωξης που προκαλεί συνεχή διέγερση, κόπωση, stress και εξάντληση των αποθεμάτων του μυελού των οστών, οδηγώντας σε διαταραχές που ενδεχομένως διευκολύνουν την πρόκληση του ΜΔΣ, είναι ελκυστική.

VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο όρος ΜΔΣ περιλαμβάνει ετερογενή κλωνικά νοσήματα, που προκαλούνται από ενδογενείς διαταραχές στο επίπεδο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου. Σε ασθενείς με ΜΔΣ διαταράσσεται η ομαλή παραγωγή των κυτταρικών σειρών από το μυελό των οστών. Ανοσοφαινοτυπικές παρεκκλίσεις από το φυσιολογικό, καθώς και διαταραχές στον αριθμό των κυττάρων του περιφερικού αίματος, είναι συχνές στο νόσημα αυτό. Η θνησιμότητα οφείλεται στις κυτταροπενίες, που οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων, αναιμία εξαρτώμενη από μεταγγίσεις και αιμορραγική διάθεση. Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά για την επιδημιολογία των ΜΔΣ, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων κινδύνου.

Το H_p είναι ένα Gram αρνητικό, σπειροειδές βακτηρίδιο, που εντοπίζεται στο γαστρικό βλεννογόνο των περισσότερων ατόμων παγκοσμίως, επηρεάζοντας κυρίως τους ηλικιωμένους του αναπτυγμένου κόσμου, μεταξύ των οποίων και της Ελλάδας. Πάνω από το μισό του πληθυσμού της Γης είναι μολυσμένο με το βακτήριο. Θεωρείται 1^{ης} τάξεως καρκινογόνο, σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας, αφού είναι το κύριο αίτιο του γαστρικού καρκίνου σε όλη την υφήλιο. Το H_p συσχετίζεται με ποικίλα νοσήματα του ανώτερου γαστρεντερικού και με καταστάσεις που δεν αφορούν το πεπτικό σύστημα, όπως η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα ή η σιδηροπενική αναιμία.

Σε 73 ασθενείς με ΜΔΣ, όσο και σε 40 υγιείς μάρτυρες προσδιορίστηκε ο τίτλος των anti-H_p IgG αντισωμάτων. Σε όλους τους υγιείς μάρτυρες και σε 56 από τους 73 ασθενείς με ΜΔΣ πραγματοποιήθηκε γαστροσκόπηση με ταυτόχρονη λήψη δειγμάτων βιοψίας από το βλεννογόνο του στομάχου για την εντόπιση του H_p ιστολογικά με τη χρώση Cresyl Violet, αλλά και με το CLO τεστ. Οι εναπομείναντες 17 ασθενείς με ΜΔΣ εκτιμήθηκαν με το τεστ αναπνοής INFAI, το οποίο έγινε και σε όλες λοιπές περιπτώσεις ασθενών ήταν εφικτό. Ακόμα, κυτταρομετρία ροής σε δείγματα περιφερικού αίματος διενεργήθηκε σε 35 ασθενείς με ΜΔΣ και σε όλους τους υγιείς μάρτυρες. Στις άνω περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκαν anti-CD3, -CD4, -CD8, -CD14, -CD19, -CD34 και -CD45 αντισώματα στον κυτταρομετρητή ροής EPICS XL-MCL (Beckman Coulter) με την τεχνική ανοσοφθορισμού fluorescence-activated cell sorting (FACS) και με χρήση διπλού φθορισμού.

Όταν συγκρίθηκε με τους μάρτυρες, η H_p-λοίμωξη εντοπίστηκε: (α) ορολογικά στο 75,34% των ασθενών (p=0,000), (β) με το INFAI τεστ στο 57,69% των α-

σθενών, (γ) με το CLO τεστ στο 60,71% των ασθενών και (δ) με ιστολογική επιβεβαίωση στο 80,36% των ασθενών ($p=0,001$). Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην Hρ-λοίμωξη και στην έκφραση των CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, τη λευχαιμική εκτροπή και το θάνατο. Ωστόσο, σε 20 περιπτώσεις, εντοπίστηκε σημαντική απόκλιση στην αναλογία των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών, σε αντίθεση με την αναμενόμενη αναλογία λόγω του ΜΔΣ, γεγονός που πιθανότατα αποδόθηκε στην Hρ-λοίμωξη.

Συμπερασματικά, η αυξημένη συχνότητα της Hρ-λοίμωξης ανάμεσα σε Έλληνες ασθενείς με ΜΔΣ είναι ένα ενδιαφέρον εύρημα, το οποίο υπαινίσσεται ότι θα μπορούσε να υπάρχει συνδετικός κρίκος μεταξύ της λοίμωξης και του ΜΔΣ ή ότι το Hρ θα ήταν εφικτό να επηρεάζει την παθοφυσιολογία του ΜΔΣ. Το άνω αποτέλεσμα απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση. Είναι δυνατή η ύπαρξη ενός κοινού παράγοντα που καθιστά τα άτομα επιρρεπή τόσο στην Hρ-λοίμωξη, όσο και στο ΜΔΣ. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αποδείξεις υπάρχουσας αιτιολογικής σχέσης ανάμεσα στην Hρ-λοίμωξη και τα ΜΔΣ, παρότι μια τέτοια πιθανότητα δεν μπορεί να αποκλειστεί τελείως. Η υπόθεση της χρόνιας Hρ-λοίμωξης που προκαλεί συνεχή διέγερση, κόπωση, stress και εξάντληση των αποθεμάτων του μυελού των οστών, οδηγώντας σε διαταραχές που ενδεχομένως διευκολύνουν την πρόκληση του ΜΔΣ, είναι ελκυστική.

VII. SUMMARY

Myelodysplastic syndromes (MDS) are defined as heterogeneous clonal disorders, caused by intrinsic defects in hematopoietic stem cells; the term MDS includes a diverse group of diseases in which the bone marrow production of blood cells is disrupted. Immunophenotypic aberrancies, along with disorders in the number of peripheral blood (PB) cells are common in this disease. Patients suffer morbidity from associated cytopenias leading to an increased risk of infection, transfusion-dependent anemia and bleeding. In spite of the wealth of information on therapeutic options, little is known about the epidemiology of MDS including risk factors.

H. pylori (Hp) is a curved spiral gram negative bacterium that colonizes the gastric mucosa of most humans worldwide, mainly affecting older adults in the developed world including Greece; more than half of the world's population is infected with this bacterium. It is listed as a class I carcinogen according to World Health Organization, being the leading cause of gastric cancer worldwide. It is associated with various upper gastrointestinal diseases and extra-digestive conditions including idiopathic thrombocytopenic purpura or iron-deficiency anemia. The number of important studies revealing such associations suggests that pathogenic mechanisms may link this infection with many diseases of unknown etiology.

To determine the frequency of *Helicobacter pylori* infection (Hp-I) in 73 patients with myelodysplastic syndromes (MDS) and 40 controls, Hp serologic analysis and ¹³C-urease breath test (INFAI) were evaluated. Gastric mucosal biopsy specimens were obtained for Hp-I presence by rapid urease test (CLO) and Cresyl violet staining. Peripheral blood (PB) flow cytometry for CD3, CD4, CD8, CD14, CD19 and CD34 was conducted in 35 patients and in controls.

When compared with controls, Hp-I was detected by: (a) serology in 75.34% of patients ($p=0.000$), (b) INFAI in 57.69% of patients, (c) CLO in 60.71% of patients and (d) histological confirmation in 80.36% of patients ($p=0.001$). No correlation between expression of CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, leukaemic transformation or death and Hp-I was observed. However, in 20 cases, significant variation in the PB lymphocytic proportion was ascertained, in contrast to the expected MDS ratio, possibly attributed to Hp-I.

In conclusion, the increased prevalence of Hp-I among the MDS patients is an interesting finding, hinting that there might be a link between Hp-I and MDS and re-

quiring further investigation. This may indicate a common factor causing susceptibilities to both MDS and Hp-I or that Hp might influence MDS pathophysiology. However, there is no evidence of an existing causal relationship between Hp-I and MDS, although such a possibility cannot be entirely ruled out. The prospect of a chronic Hp-I causing continuous stimulation, fatigue and distress of the bone marrow deposits, thereby leading to alterations facilitating the induction of MDS, is intriguing.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Hoffman R**, Benz EJ, Shatill SJ, Furie B, Silberstein LE, McGlave P, Heslop H. Hematology/Basic Principles and Practice, 5th Edition: p. 1051-1072. Churchill/Livingston, Elsevier, Philadelphia, 2009.
2. **Πάγκαλης Α. Γεράσιμος**. Αιματολογία στην Κλινική Πράξη, 1^η Έκδοση: σελ. 523-536. Εκδόσεις Πασχαλίδης, Αθήνα, 2008.
3. **Γκιρτοβίτης Ι. Φώτιος**. Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, 1^η Έκδοση. Εκδόσεις Ζανδές, Θεσσαλονίκη, 2006.
4. **Aul C**, Gattermann N, Schneider W. Age – related Incidence and other Epidemiological aspects of Myelodysplastic Syndromes. Br J Haematol 1992; 82: 358-367.
5. **Γκιρτοβίτης Ι. Φώτιος**. Ποσοτικές μεταβολές των γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης των αιμοπεταλίων και επίδρασή τους στη λειτουργία αυτών στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2005.
6. **Καϊάφα Α. Γεωργία**. Μελέτη των μορίων CD55 και CD59 στις κυτταροπενίες των μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2005.
7. **Bennett JM**. Myelodysplastic syndromes: update on classification. 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS), Patras, Greece. Leuk Res 2009; 33(Suppl. 1): S6-S8.
8. **Matsuda A**, Germing U, Jinnai I, Misumi M, Kuendgen A, Knipp S, et al. Difference in clinical features between Japanese and German patients with refractory anemia in myelodysplastic syndromes. Blood 2005; 106: 2633-2640.
9. **Διαμαντίδης Α. Μιχαήλ**, Ιωαννίδου – Παπαγιαννάκη Ελισσάβετ. Διπλωματική Εργασία στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Εξειδίκευσης στην Ιατρική Ερευνητική Μεθοδολογία με θέμα: Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα – νεότερα δεδομέ-

να: Αναδρομική, παθολογική και κλινική ανάλυση των περιστατικών των τελευταίων ετών της Β' Παθολογικής Κλινικής Ιπποκρατείου Νοσοκομείου Ιατρικής Σχολής Α.Π.Θ. Θεσσαλονίκη, Ιούνιος 2006.

10. **West RR**, Stafford DA, White AD, Bowen DT, Padua RA. Cytogenetic abnormalities in the myelodysplastic syndromes and occupational or environmental exposure. *Blood* 2000; 95: 2093-2097.

11. **Nisse C**, Haguenoer JM, Grandbastien B, Preudhomme C, Fontaine B, Brillet JM, et al. Occupational and environmental risk factors of the myelodysplastic syndromes in the North of France. *Br J Haematol* 2001; 112: 927-935.

12. **Lichtman MA**, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. *Williams Hematology*, 7th Edition: p. 1157-1181. McGraw-Hill Medical, New York, 2006.

13. **Strom SS**, Vélez-Bravo V, Estey EH. Epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 2008; 45: 8-13.

14. **Rigolin GM**, Cuneo A, Roberti MG, Bardi A, Bigoni R, Piva N, et al. Exposure to myelotoxic agents and myelodysplasia: case control study and correlation with clinicobiological findings. *Br J Haematol* 1998; 103: 189-197.

15. **Platzbecker U**, Meredyth-Stewart M, Ehninger G. The pathogenesis of myelodysplastic syndromes (MDS). *Cancer Treat Rev* 2007; 33(Suppl.1): S53-S58.

16. **Valent P**, Wieser R. Update on genetic and molecular markers associated with myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma* 2009; 50: 341-348.

17. **Ζούμπος Κ. Νικόλαος**. Παθογένεια μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων – νεώτερα δεδομένα. 16^ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο. *Haema*, 2005; 8(Suppl.): 133-135.

18. **Raskind WH**, Steinmann L, Najfeld V. Clonal development of myeloproliferative disorders: clues to hematopoietic differentiation and multistep pathogenesis of cancer. *Leukemia* 1998; 12: 108-116.

19. **Parker JE**, Mufti GJ, Rasool F, Mijovic A, Devereux S, Pagliuca A. The role of apoptosis, proliferation and the Bcl-2-related proteins in the myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia secondary to MDS. *Blood* 2000; 96: 3932-3938.

20. **Kurotaki H**, Tsushima Y, Nogai K, Yagihashi S. Apoptosis, bcl-2 expression and p53 accumulation in myelodysplastic syndrome, myelodysplastic-syndrome-derived acute myelogenous leukemia and de novo acute myelogenous leukemia. *Acta Haematol* 1999; 102: 115-123.

21. **Hellström-Lindberg E**, Kanter-Lewensohn L, Ost A. Morphological changes and apoptosis in bone marrow from patients with myelodysplastic syndromes treated with granulocyte-CSF and erythropoietin. *Leuk Res* 1997; 21: 415-425.

22. **Boudard D**, Vasselon C, Berthéas MF, Jaubert J, Mounier C, Reynaud J, et al. Expression and prognostic significance of Bcl-2 family proteins in myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 2002; 70: 115-125.

23. **Kerbaux DB**, Deeg HJ. Apoptosis and antiapoptotic mechanisms in the progression of myelodysplastic syndrome. *Exp Hematol* 2007; 35: 1739-1746.

24. **Briatore F**, Barrera G, Pizzimenti S, Toaldo C, Casa CD, Laurora S, et al. Increase of telomerase activity and hTERT expression in myelodysplastic syndromes. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 883-889.

25. **Ohshima K**, Karube K, Shimazaki K, Kamma H, Suzumiya J, Hamasaki M, et al. Imbalance between apoptosis and telomerase activity in myelodysplastic syndromes: possible role in ineffective hemopoiesis. *Leuk Lymphoma* 2003; 44: 1339-1346.

26. **Greenberg PL**, Young NS, Gattermann N. Myelodysplastic Syndromes. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2002; 136-161.
27. **Bernasconi P**. Molecular pathways in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: relationships and distinctions-a review. Br J Haematol 2008; 142: 695-708.
28. **Bennett JM**, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, et al. The French – American – British (FAB) Co – operative Group. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. Br J Haematol 1982; 51: 189-199.
29. **Mufti GJ**. Pathobiology, classification, and diagnosis of myelodysplastic syndrome. Best Pract Res Clin Haematol 2004; 17: 543-557.
30. **Heaney ML**, Golde DW. Myelodysplasia. N Engl J Med 1999; 340: 1649-1660.
31. **Onida F**, Kantarjian HM, Smith TL, Ball G, Keating MJ, Estey EH, et al. Prognostic factors and scoring systems in chronic myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of 213 patients. Blood 2002; 99: 840-849.
32. **Germing U**, Strupp C, Meckenstock G, Giagounidis A, Minning H, Aul C. Clinical course, morphology and prognosis of chronic myelomonocytic leukemia. Med Klin (Munich) 1999; 94: 467-472.
33. **Nösslinger T**, Reisner R, Grüner H, Tüchler H, Nowotny H, Pittermann E, et al. Dysplastic versus proliferative CMML – a retrospective analysis of 91 patients from a single institution. Leuk Res 2001; 25: 741-747.
34. **Voglová J**, Chrobák L, Neuwirtová R, Malasková V, Straka L. Myelodysplastic and myeloproliferative type of chronic myelomonocytic leukemia – distinct subgroups or two stages of the same disease? Leuk Res 2001; 25: 493-499.

35. **Harris NL**, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting – Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3835-3849.

36. **Jaffe ES**, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization Classification of tumours: Pathology and Genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 3rd Edition, International Agency for Research on Cancer (IARC Press), Lyon, 2001.

37. **Vardiman JW**, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002; 100: 2292-2302.

38. **Γαλανόπουλος Α.**, Παπαδάκη Ε., Συμεωνίδης Α., Παππά Β., Κυριαζή Β. Τμήμα ΜΔΣ και Μυελικής Ανεπάρκειας. Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα. Κατευθυντήριες Οδηγίες για Ταξινόμηση, Πρόγνωση και Θεραπεία. Αθήνα, 2009.

39. **Greenberg P**, Anderson J, de Witte T, Estey E, Fenaux P, Gupta P, et al. Problematic WHO reclassification of myelodysplastic syndromes. Members of the International MDS Study Group. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3447-3452.

40. **Swerdlow SH**, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th Edition: p. 87-107. International Agency for Research on Cancer (IARC Press), Lyon, 2008.

41. **Vardiman JW**, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114: 937-951.

42. **Della Porta MG**. Myelodysplastic syndromes with marrow fibrosis. 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS), Patras, Greece. *Leuk Res* 2009; 33(Suppl. 1): S14-S15.

43. **Bowen DT.** Chronic myelomonocytic leukemia: lost in classification? *Hematol Oncol* 2005; 23: 26-33.

44. **Elliott MA.** Chronic neutrophilic leukemia and chronic myelomonocytic leukemia: WHO defined. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006; 19: 571-593.

45. **Emanuel PD.** Juvenile myelomonocytic leukemia and chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2008; 22: 1335-1342.

46. **Bourantas KL,** Tsiara S, Panteli A, Milionis C, Christou L. Pleural effusion in chronic myelomonocytic leukemia. *Acta Haematol* 1998; 99: 34-37.

47. **Yamazaki E,** Kanai M, Sakai R, Sakamoto H, Ishigatsubo Y. Chronic myelomonocytic leukemia with pleural effusion as the first clinical sign. *Rinsho Ketsueki* 2005; 46: 217-219.

48. **Watanabe N,** Takahashi T, Sakamoto Y, Tanaka Y, Kurata M, Matsushita A, et al. Pleural involvement in the course of chronic myelomonocytic leukemia and the development of multiple colonic perforation due to leukemic infiltration in the acute leukemia phase. *Rinsho Ketsueki* 2004; 45: 546-550.

49. **Strupp C,** Germing U, Trommer I, Gattermann N, Aul C. Pericardial effusion in chronic myelomonocytic leukemia (CMML): a case report and review of the literature. *Leuk Res* 2000; 24: 1059-1062.

50. **Braga D,** Manganoni AM, Boccaletti V, Pancera C, Maracolo D, Facchetti F, et al. Specific skin infiltration as first sign of chronic myelomonocytic leukemia with an unusual phenotype. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 804-807.

51. **Hamidou MA,** Boumalassa A, Larroche C, El Kouri D, Blétry O, Grolleau JY. Systemic medium-sized vessel vasculitis associated with chronic myelomonocytic leukemia. *Semin Arthritis Rheum* 2001; 31: 119-126.

52. **Kouides PA**, Bennett JM. Transformation of chronic myelomonocytic leukemia to acute lymphoblastic leukemia: case report and review of the literature of lymphoblastic transformation of myelodysplastic syndrome. *Am J Hematol* 1995; 49: 157-162.

53. **Valent P**, Horny HP. Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from ICUS and IDUS: update and open questions. *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 548-553.

54. **Valent P**, Horny HP, Bennett JM, Fonatsch C, Germing U, Greenberg P, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference. *Leuk Res* 2007; 31: 727-736.

55. **Tuzuner N**, Cox C, Rowe JM, Watrous D, Bennett JM. Hypocellular myelodysplastic syndromes (MDS): new proposals. *Br J Haematol* 1995; 91: 612-617.

56. **Nand S**, Godwin JE. Hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Cancer* 1988; 62: 958-964.

57. **Γεωργούλης Ε. Ιωάννης**. Αιματολογία – Διαγνωστικές Προσεγγίσεις, 2^η έκδοση: σελ. 291-292, 327-334. Θεσσαλονίκη, Οκτώβριος 2003.

58. **Kouides PA**, Bennett JM. Understanding the myelodysplastic syndromes. *The Oncologist* 1997; 2: 389-401.

59. **Greenberg P**, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International Scoring System for Evaluating Prognosis in Myelodysplastic Syndromes. *Blood* 1997; 89: 2079-2088.

60. **Malcovati L**, Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, Boni M, Travaglini E, et al. Prognostic factors and life expectancy in myelodysplastic syndromes classified according to WHO criteria: a basis for clinical decision making. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7594-7603.

61. **Malcovati L**, Germing U, Kuendgen A, Della Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3503-3510.

62. **Sullivan SA**, Marsden KA, Lowenthal RM, Jupe DM, Jones ME. Circulating CD34+ cells: an adverse prognostic factor in the myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 1992; 39: 96-101.

63. **Oriani A**, Annaloro C, Soligo D, Pozzoli E, Cortelezzi A, Lambertenghi Deliliers G. Bone marrow histology and CD34 immunostaining in the prognostic evaluation of primary myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1996; 92: 360-364.

64. **Fenaux P**, Morel P, Lai JL. Cytogenetics in myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 1996; 33: 127-138.

65. **Wang H**, Wang XQ, Xu XP, Lin GW. Cytogenetic evolution correlates with poor prognosis in myelodysplastic syndrome. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 196: 159-166.

66. **Heilig CE**, Löffler H, Mahlknecht U, Janssen JW, Ho AD, Jauch A, et al. Chromosomal instability correlates with poor outcome in patients with myelodysplastic syndromes irrespectively of the cytogenetic risk group. *J Cell Mol Med* 2009; in press. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00905.x

67. **Sanz GF**, Sanz MA. Prognostic factors in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 1992; 16: 77-79.

68. **Diamantidis MD**, Ioannidou – Papagiannaki E, Tsapournas G, Klonizakis P, Haralambidou – Vranitsa S, Klonizakis I. Myelodysplastic Syndromes (MDS): Factors increasing probability for leukaemic transformation in a greek series of patients from a single institution. Abstracts of the 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS). *Leuk Res* 2009; 33(Suppl. 1): S104.

69. **Kerkhofs H**, Hermans J, Haak HL. Utility of the FAB classification for myelodysplastic syndromes: investigation of prognostic factors in 237 cases. *Br J Haematol* 1987; 65: 73-77.

70. **González-Medina I**, Bueno J, Torrequebrada A, López A, Vallespi T, Massagué I. Two groups of chronic myelomonocytic leukaemia: myelodysplastic and myeloproliferative. Prognostic implications in a series of a single center. *Leuk Res* 2002; 26: 821-824.

71. **Chen B**, Ma Y, Xu X, Wang X, Qin W, Ji M, et al. Analyses on clinical characteristic and prognoses of 41 patients with chronic myelomonocytic leukemia in China. *Leuk Res* 2010; 34: 458-462.

72. **National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology**. Myelodysplastic Syndromes 2009; Version 2.2010.

73. **Jensen PD**, Heickendorff L, Pedersen B, Bendix-Hansen K, Jensen FT, Christensen T, et al. The effect of iron chelation on haemopoiesis in MDS patients with transfusional iron overload. *Br J Haematol* 1996; 94: 288-299.

74. **Hellström-Lindberg E**. Efficacy of erythropoietin in the myelodysplastic syndromes: A meta-analysis of 205 patients from 17 studies. *Br J Haematol* 1995; 89: 67-71.

75. **Mantovani L**, Lentini G, Hentschel B, Wickramanayake PD, Loeffler M, Diehl V, et al. Treatment of Anaemia in Myelodysplastic Syndromes with Prolonged Administration of Recombinant Human Granulocyte Colony Stimulating Factor and Erythropoietin. *Br J Haematol* 2000; 109: 367-375.

76. **Kasper C**, Zahner J, Sayer HG. Recombinant human erythropoietin in combined treatment with granulocyte- or granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2002; 128 497-502.

77. **Bowen D**, Culligan D, Jowitt S, Kelsey S, Mufti G, Oscier D, et al. Guidelines for the diagnosis and therapy of adult myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2003; 120: 187-200.

78. **Sekeres MA**, Fu AZ, Maciejewski JP, Golshayan AR, Kalaycio ME, Kattan MW. A Decision analysis to determine the appropriate treatment for low-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2007; 109: 1125-1132.

79. **Saunthararajah Y**, Nakamura R, Wesley R, Wang QJ, Barrett AJ. A simple method to predict response to immunosuppressive therapy in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2003; 102: 3025-3027.

80. **Wang SA**, Pozdnyakova O, Jorgensen JL, Medeiros LJ, Stachurski D, Anderson M, et al. Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with myelodysplastic syndromes and related bone marrow diseases, with emphasis on diagnostic pitfalls and caveats. *Haematologica* 2009; 94: 29-37.

81. **Maciejewski JP**, Rivera C, Kook H, Dunn D, Young NS. Relationship between bone marrow failure syndromes and the presence of glycoposphatidyl inositol-anchored protein-deficient clones. *Br J Haematol* 2001; 115: 1015-1022.

82. **Dunn DE**, Tanawattanacharoen P, Boccuni P, Nagakura S, Green SW, Kirby MR, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure syndromes. *Ann Int Med* 1999; 131: 401-408.

83. **Kaiafa G**, Papadopoulos A, Ntaios G, Saouli Z, Savopoulos C, Tsesmeli N, et al. Detection of CD55- and CD59-deficient granulocytic populations in patients with myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol* 2008; 87: 257-262.

84. **Wang H**, Chuhjo T, Yasue S, Omine M, Nakao S. Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome. *Blood* 2002; 100: 3897-3902.

85. **Alessandrino EP**, Amadori S, Barosi G, Cazzola M, Grossi A, Liberato LN, et al. Evidence- and consensus-based practice guidelines for the therapy of primary myelodysplastic syndromes. A statement from the Italian Society of Hematology. *Haematologica* 2002; 87: 1286-306.

86. **Galili N** & Raza A. Immunomodulatory drugs in myelodysplastic syndromes. *Expert Opin Investig Drugs* 2006; 15: 805-813.

87. **Hellström-Lindberg E**. Low-risk MDS; transfusion therapy, growth factors and the European view on lenalidomide. 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS), Patras, Greece. *Leuk Res* 2009; 33(Suppl. 1): S26-S27.

88. **Giagounidis A**. Management of del(5q) MDS. 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS), Patras, Greece. *Leuk Res* 2009; 33(Suppl. 1): S27.

89. **Valent P**. Revealing the pathogenesis of the 5q- syndrome. *Eur J Clin Invest* 2008; 38: 539-540.

90. **Fenaux P**. Inhibitors of DNA Methylation: Beyond Myelodysplastic Syndromes. *Nat Clin Pract Oncol* 2005; 2(Suppl 1): S36-S44.

91. **Gore SD**. Six (or more) Drugs in Search of a Mechanism: DNA Methyltransferase and Histone Deacetylase Inhibitors in the Treatment of Myelodysplastic Syndromes. *J Natl Compr Canc Netw* 2006; 4: 83-90.

92. **Ravoet C**, Mineur P, Robin V, Debusscher L, Bosly A, André M, et al. Farnesyl transferase inhibitor (lonafarnib) in patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukaemia: a phase II study. *Ann Hematol* 2008; 87: 881-885.

93. **Feldman EJ**, Cortes J, DeAngelo DJ, Holyoake T, Simonsson B, O'Brien SG, et al. On the use of lonafarnib in myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2008; 22: 1707-1711.

94. **Braun T**, Fenaux P. Farnesyltransferase inhibitors and their potential role in therapy for myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2008; 141: 576-586.

95. **Scott BL**, Ramakrishnan A, Storer B, Becker PS, Petersdorf S, Estey EH, et al. Prolonged responses in patients with MDS and CMML treated with azacitidine and etanercept. *Br J Haematol* 2010; 148: 944-947.

96. **Saba HI**. Myelodysplastic Syndromes in the Elderly: The role of growth factors in management. *Leuk Res* 1996; 20: 203-219.

97. **Economopoulos T**, Papageorgiou E, Stathakis N, Constantinidou M, Parharidou A, Kostourou A, et al. Treatment of high risk myelodysplastic syndromes with idarubicin and cytosine arabinoside supported by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Leuk Res* 1996; 20: 385-390.

98. **De Witte T**, Sanz G. HSCT for myelodysplasia in adults. *The EBMT Handbook. Haematopoietic stem cell transplantation*, 5th Edition: p. 380-387. European School of Haematology, Paris, France, 2008.

99. **Cutler CS**, Lee SJ, Greenberg P, Deeg HJ, Pérez WS, Anasetti C, et al. A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low – risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood* 2004; 104: 579-585.

100. **Kröger N**, Bornhäuser M, Ehninger G, Schwerdtfeger R, Biersack H, Sayer HG, et al. Allogeneic stem cell transplantation after a fludarabine/busulfan-based reduced-intensity conditioning in patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2003; 82: 336-342.

101. **Cheson BD**, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD, et al. Clinical application and proposal for modification of the Interna-

tional Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2006; 108: 419-425.

102. **Nimer SD.** MDS: A stem cell disorder – But what exactly is wrong with the primitive hematopoietic cells in this disease? *Hematology Am Soc Hematol Educ program* 2008; 43-51.

103. **Nolte F, Hofmann WK.** Myelodysplastic syndromes: molecular pathogenesis and genomic changes. *Ann Hematol* 2008; 87: 777-795.

104. **Pellagatti A, Cazzola M, Giagounidis A, Perry J, Malcovati L, Della Porta MG, et al.** Deregulated gene expression pathways in myelodysplastic syndrome hematopoietic stem cells. *Leukemia* 2010; 24: 756-764.

105. **Gorczyca W & Emmons FN.** Myelodysplastic Syndromes. *Atlas of differential diagnosis in neoplastic hematopathology*, 2nd Edition, p: 375-391. Inform healthcare, 2008, London, UK.

106. **Carroll IM, Khan AA, Ahmed N.** Revisiting the pestilence of *Helicobacter pylori*: insights into geographical genomics and pathogen evolution. *Infect Genet Evol* 2004; 4: 81-90.

107. **Everhart JE.** Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 559-579.

108. **Malaty HM, El-Kasabany A, Graham DY, Miller CC, Reddy SG, Srinivasan SR, et al.** Age at acquisition of *Helicobacter pylori* infection: a follow-up study from infancy to adulthood. *Lancet* 2002; 359: 931-935.

109. **Woodward M, Morrison C, McColl K.** An investigation into factors associated with *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Epidemiol* 2000; 53: 175-181.

110. **McColl KE.** Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2010; 362: 1597-1604.

111. **Fock KM**, Ang TL. Epidemiology of Helicobacter pylori infection and gastric cancer in Asia. J Gastroenterol Hepatol 2010; 25: 479-486.

112. **Χατζόπουλος Ν. Δημήτριος**. Ανοσοϊστοχημική, ανοσολογική και γενετική μελέτη σε εξειδικευμένη εντερική μεταπλασία γαστροοισοφαγικής συμβολής. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2007.

113. **No Authors Listed**. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983; 1: 1273-1275.

114. **Petersen AM**, Krogfelt KA. Helicobacter pylori: an invading microorganism? A review. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 36: 117-126.

115. **Ζαβός Χρήστος**. Γενετικοί και μοριακοί παράγοντες συσχέτισεως λοιμώξεως από Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού και γλαυκώματος. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2010.

116. **Queiroz DMM**, Luzzza F. Epidemiology of Helicobacter Pylori Infection. Helicobacter 2006; 11(Suppl.1): S1-S5.

117. **Chmiela M**, Michetti P. Inflammation, immunity, vaccines for Helicobacter infection. Helicobacter 2006; 11(Suppl. 1): 21-26.

118. **Mcneil W**. Infection with Helicobacter Pylori, coronary heart disease, cardiovascular risk factors and systemic inflammation. 2010. <http://www.cheapmedicinechest.com/infection-with-helicobacter-pyloricoronary-heart-disease-cardiovascular-risk-factors-and-systemic-inflammation.html>

119. **Κουντουράς Ιωάννης**. Πρωτεΐνες βιολογικών υγρών: Εργαστηριακή διερεύνηση και κλινικές εφαρμογές. Σεμινάριο Ανοσολογίας 2000; 18^{ος} Κύκλος: 236-240.

120. **Peterson WL**, Graham DY. *Helicobacter pylori*; in: Feldman M, Schar-schmidt B, Sleisenger MH (ed): *Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management*. Philadelphia, Saunders, 1998; ed 6th: 604-619.

121. **Graham DY**, Sung JJY. *Helicobacter pylori*; in: Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH (ed): *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia, W.B. Saunders, 2006; ed 8th: 1049-1066.

122. **Panes J**, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell interactions: molecular mechanisms and implications in gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 1999; 114: 1066-1090.

123. **Jones NL**, Sherman PM. *Helicobacter pylori*-epithelial cell interactions: from adhesion to apoptosis. *Can J Gastroenterol* 1999; 13: 563-566.

124. **Bai H**, Li Q, Liu X, Li Y. Characteristics and interactions of *Helicobacter pylori* and *H. pylori*-infected human gastroduodenal epithelium in peptic ulcer: a transmission electron microscopy study. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 82-88.

125. **Tsai HF**, Hsu PN. Interplay between *Helicobacter pylori* and immune cells in immune pathogenesis of gastric inflammation and mucosal pathology. *Cell Mol Immunol* 2010; 7: 255-259.

126. **Ernst P**. Review article: the role of inflammation in the pathogenesis of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13(Suppl 1): 13-18.

127. **Lee JS**, Paek NS, Kwon OS, Hahm KB. Anti-inflammatory actions of probiotics through activating suppressor of cytokine signaling (SOCS) expression and signaling in *Helicobacter pylori* infection: a novel mechanism. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 194-202.

128. **Naumann M**, Wessler S, Bartsch C, Wieland B, Covacci A, Haas R, et al. Activation of activator protein 1 and stress response kinases in epithelial cells colonized by *Helicobacter pylori* encoding the *cag* pathogenicity island. *J Biol Chem*

by *Helicobacter pylori* encoding the *cag* pathogenicity island. *J Biol Chem* 1999; 274: 31655-31662.

129. **Conlin VS**, Curtis SB, Zhao Y, Moore ED, Smith VC, Meloche RM, et al. *Helicobacter pylori* infection targets adherens junction regulatory proteins and results in increased rates of migration in human gastric epithelial cells. *Infect Immun* 2004; 72: 5181-5192.

130. **Melo Barbosa HP**, Martins LC, Dos Santos SE, Demachki S, Assumpção MB, Aragão CD, et al. Interleukin-1 and TNF-alpha polymorphisms and *Helicobacter pylori* in a Brazilian Amazon population. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1465-1471.

131. **Yoo EJ**, Park SY, Cho NY, Kim N, Lee HS, Kim D, et al. Influence of IL1B polymorphism on CpG island hypermethylation in *Helicobacter pylori*-infected gastric cancer. *Virchows Arch* 2010; 456: 647-652.

132. **Marshall BJ**, Barrett LJ, Prakash C, McCallum RW, Guerrant RL. Urea protects *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori* from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology* 1990; 99: 697-702.

133. **Szczepanik M**. Interplay between *Helicobacter Pylori* and the immune system. Clinical implications. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57(Suppl 3): 15-27.

134. **Gerhard M**, Lehn N, Neumayer N, Borén T, Rad R, Schepp W, et al. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 12778-12783.

135. **Nishioka M**, Takeuchi H, Con SA, Uehara Y, Nishimori I, Okumiya T, et al. The mechanical binding strengths of *Helicobacter pylori* BabA and SabA adhesins using an adhesion binding assay-ELISA, and its clinical relevance in Japan. *Microbiol Immunol* 2010; 54: 442-451.

136. **Segal ED**, Cha J, Lo J, Falkow S, Tompkins LS. Altered states: involvement of phosphorylated CagA in the induction of host cellular growth changes by *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 14559-14564.
137. **Devi RS**, Kist M, Vani G, Devi CS. Effect of methanolic extract of *Terminalia arjuna* against *Helicobacter pylori* 26695 lipopolysaccharide-induced gastric ulcer in rats. *J Pharm Pharmacol* 2008; 60: 505-514.
138. **Yokota S**, Ohnishi T, Muroi M, Tanamoto K, Fujii N, Amano K. Highly-purified *Helicobacter pylori* LPS preparations induce weak inflammatory reactions and utilize Toll-like receptor 2 complex but not Toll-like receptor 4 complex. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007; 51: 140-148.
139. **Shimoyama T**, Crabtree JE. Bacterial factors and immune pathogenesis in *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998; 43(suppl1): S2.
140. **Kottakis F**, Kouzi-Koliakou K, Pendas S, Kountouras J, Choli-Papadopoulou T. Effects of mastic gum *Pistacia lentiscus* var. *Chia* on innate cellular immune effectors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 143-149.
141. **Kountouras J**, Gavalas E, Deretzi G, Boziki M, Zavos C, Chatzopoulos D, et al. *Helicobacter pylori* with or without its neutrophil-activating protein may be the common denominator associated with multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Mult Scler* 2010; 16: 376-377.
142. **Hussein NR**, Argent RH, Marx CK, Patel SR, Robinson K, Atherton JC. *Helicobacter pylori* dupA is polymorphic, and its active form induces proinflammatory cytokine secretion by mononuclear cells. *J Infect Dis* 2010; 202: 261-269.
143. **Maciorkowska E**, Kaczmarek M, Panasiuk A, Kondej-Muszynska K, Kemonai A. Soluble adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, P-selectin in children with *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6745-6750.

144. **Svensson H**, Hansson M, Kilhamn J, Backert S, Quiding-Järbrink M. Selective upregulation of endothelial E-selectin in response to *Helicobacter pylori*-induced gastritis. *Infect Immun* 2009; 77: 3109-3116.
145. **Isomoto H**, Moss J, Hirayama T. Pleiotropic actions of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA. *Tohoku J Exp Med* 2010; 220: 3-14.
146. **Terebiznik MR**, Raju D, Vázquez CL, Torbricki K, Kulkarni R, Blanke SR, et al. Effect of *Helicobacter pylori*'s vacuolating cytotoxin on the autophagy pathway in gastric epithelial cells. *Autophagy* 2009; 5: 370-379.
147. **Raju D**, Jones NL. Methods to monitor autophagy in *H. pylori* vacuolating cytotoxin A (VacA)-treated cells. *Autophagy* 2010; 6: 138-143.
148. **D'Elia MM**, Montecucco C, de Bernard M. VacA and HP-NAP, Ying and Yang of *Helicobacter pylori*-associated gastric inflammation. *Clin Chim Acta* 2007; 381: 32-38.
149. **Parsonnet J**, Friedman GD, Orentreich N, Vogekman H. Risk of gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 297-301.
150. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. New concepts of molecular biology on gastric carcinogenesis. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1305-1312.
151. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D, Katsinelos P. New aspects of *Helicobacter pylori* infection involvement in gastric oncogenesis. *J Surg Res* 2008; 146: 149-158.
152. **Li SD**, Kersulyte D, Lindley IJ, Neelam B, Berg DE, Crabtree JE, et al. Multiple genes in the left half of the *cag* pathogenicity island of *Helicobacter pylori* are required for tyrosine kinase-dependent transcription of interleukin-8 in gastric epithelial cells. *Infect Immun* 1999; 67: 3893-3899.

153. **Malfertheiner P**, Schultze V, Rosenkranz B, Kaufmann SH, Ulrichs T, Novicki D, et al. Safety and immunogenicity of an intramuscular *Helicobacter pylori* vaccine in noninfected volunteers: a phase I study. *Gastroenterology* 2008; 135: 787-795.
154. **Peek RM**, Fiske C, Wilson KT. Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiol Rev* 2010; 90: 831-858.
155. **Loguercio S**, Dian C, Flagiello A, Scannella A, Pucci P, Terradot L, et al. In HspA from *Helicobacter pylori* vicinal disulfide bridges are a key determinant of domain B structure. *FEBS Lett* 2008; 582: 3537-3541.
156. **Kawahara Y**, Yokota K, Mizuno M, Yunoki N, Uesu T, Okada H, et al. Antibodies to human gastric epithelial cells and heat shock protein 60 in *Helicobacter pylori* positive mucosa associated lymphoid tissue lymphoma. *Gut* 1999; 45: 20-23.
157. **De Luca A**, Baldi A, Russo P, Todisco A, Altucci L, Giardullo N, et al. Coexpression of *Helicobacter pylori*'s proteins CagA and HspB induces cell proliferation in AGS gastric epithelial cells, independently from the bacterial infection. *Cancer Res* 2003; 63: 6350-6356.
158. **Lin CS**, He PJ, Tsai NM, Li CH, Yang SC, Hsu WT, et al. A potential role for *Helicobacter pylori* heat shock protein 60 in gastric tumorigenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 392: 183-189.
159. **Lim JW**, Kim KH, Kim H. alphaPix interacts with *Helicobacter pylori* CagA to induce IL-8 expression in gastric epithelial cells. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 1166-1172.
160. **Naito M**, Eguchi H, Goto Y, Kondo T, Nishio K, Ishida Y, et al. Associations of plasma IL-8 levels with *Helicobacter pylori* seropositivity, gastric atrophy, and IL-8 T-251A genotypes. *Epidemiol Infect* 2010; 138: 512-518.

161. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptotic and anti-angiogenic strategies in liver and gastrointestinal malignancies. *J Surg Oncol* 2005; 90: 249-259.
162. **Mazzucchelli L**, Blaser A, Kappeler A, Schärli P, Laissie JA, Baggiolini M, et al. BCA-1 is highly expressed in *Helicobacter pylori*-induced mucosa-associated lymphoid tissue and gastric lymphoma. *J Clin Invest* 1999; 104: R49-54.
163. **Sugimoto M**, Furuta T, Yamaoka Y. Influence of inflammatory cytokine polymorphisms on eradication rates of *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1725-1732.
164. **Pilpilidis I**, Kountouras J, Zavos C, Katsinelos P. Upper gastrointestinal carcinogenesis: *H. pylori* and stem cell cross-talk. *J Surg Res* 2010; [Epub ahead of print].
165. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 242-249.
166. **Kountouras J**, Kouklakis G, Zavos C, Chatzopoulos D, Moschos J, Molyvas E, et al. Apoptosis, inflammatory bowel disease and carcinogenesis: overview of international and Greek experiences. *Can J Gastroenterol* 2003; 17: 249-258.
167. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptosis in hepatitis C. *J Viral Hepat* 2003; 10: 335-342.
168. **D'Elia MM**, Andersen LP. *Helicobacter pylori* inflammation, immunity, and vaccines. *Helicobacter* 2007; 12(Suppl.1): 15-19.
169. **Bussiere FI**, Chaturvedi R, Asim M, Hoek KL, Cheng Y, Gainor J, et al. Low multiplicity of infection of *Helicobacter pylori* suppresses apoptosis of B lymphocytes. *Cancer Res* 2006; 66: 6834-6842.
170. **Caruso R**, Pallone F, Monteleone G. Emerging role of IL-23/IL-17 axis in *H. pylori*-associated pathology. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5547-5551.

171. **Tan ZY**, Bealgey KW, Fang Y, Gong YM, Bao S. Interleukin-23: immunological roles and clinical implications. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 733-735.
172. **Chen W**, Shu D, Chadwick VS. Helicobacter pylori infection in interleukin-4-deficient and transgenic mice. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 987-992.
173. **Correa P**. Gastric neoplasia. *Curr Gastroenterol Rep* 2002; 4: 463-470.
174. **Bauditz J**, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S, et al. Production of IL-12 in gastritis relates to infection with Helicobacter pylori. *Clin Exp Immunol* 1999; 117: 316-323.
175. **Nielsen OH**, Horn T, Prifti S, Peichl P, Scheibel JH, Lindley IJ, et al. Gastric mucosal interleukin-8 and IL-8 antibody concentrations related to prevailing Helicobacter pylori infections. A Danish-Albanian study. *Dan Med Bull* 1999; 46: 249-252.
176. **Portal-Celhay C**, Perez-Perez GI. Immune responses to Helicobacter pylori colonization: mechanisms and clinical outcomes. *Clin Sci (Lond)* 2006; 110: 305-314.
177. **Malfitano AM**, Cahill R, Mitchell P, Frankel G, Dougan G, Bifulco M, et al. Helicobacter pylori has stimulatory effects on naive T cells. *Helicobacter* 2006; 11: 21-30.
178. **Beswick EJ**, Pinchuk IV, Das S, Powell DW, Reyes VE. Expression of the programmed death ligand 1, B7-H1, on gastric epithelial cells after Helicobacter pylori exposure promotes development of CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ regulatory T cells. *Infect Immun* 2007; 75: 4334-4341.
179. **Berstad AE**, Høgåsen K, Bukholm G, Moran AP, Brandtzaeg P. Complement activation directly induced by Helicobacter pylori. *Gastroenterology* 2001; 120: 1108-1116.

180. **Kountouras J**, Halkides F, Chatzopoulos D, Boura P, Tsakiri I, Euthimiades A, et al. Decrease in plasma fibrinogen after eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with coronary heart disease. *Hellenic J Gastroenterol* 1997; 10: 113-117.
181. **Kountouras J**. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*. *Gut* 1998; 42: 900.
182. **Ojetti V**, Armuzzi A, De Luca A, Nucera E, Franceschi F, Candelli M, et al. *Helicobacter pylori* infection affects eosinophilic cationic protein in the gastric juice of patients with idiopathic chronic urticaria. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 125: 66-72.
183. **Aydemir SA**, Tekin IO, Numanoglu G, Borazan A, Ustundag Y. Eosinophil infiltration, gastric juice and serum eosinophil cationic protein levels in *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis and gastric ulcer. *Mediators Inflamm* 2004; 13: 369-372.
184. **Milman N**, Rosenstock S, Andersen L, Jørgensen T, Bonnevie O. Serum ferritin, hemoglobin, and *Helicobacter pylori* infection: a seroepidemiologic survey comprising 2794 Danish adults. *Gastroenterology* 1998; 115: 268-274.
185. **Yuan W**, Li Yumin, Yang Kehu, Ma Bin, Guan Quanlin, Wang D, et al. Iron deficiency anemia in *Helicobacter pylori* infection: meta-analysis of randomized controlled trials. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 665-676.
186. **Yang HB**, Sheu BS, Wang JT, Lin ST, Wu JJ. Serological responses of FliA and small-molecular-weight proteins of *Helicobacter pylori*: correlation with the presence of the gastric MALT tissue. *Helicobacter* 2004; 9: 81-86.
187. **Michelis R**, Sela S, Sbeit W, Cohen HI, Reshef R. Decreased TFF2 expression in the gastric antrum in patients infected with CagA-positive *Helicobacter pylori*. *Isr Med Assoc J* 2009; 11: 11-15.

188. **Moncur PH.** Helicobacter pylori is associated with reduced expression of the gastroprotective trefoil peptides TFF1 and TFF2 in human gastric mucosa. Gut 1999; 45(Suppl III): A39.
189. **Wroblewski LE,** Shen L, Ogden S, Romero-Gallo J, Lapierre LA, Israel DA, et al. Helicobacter pylori dysregulation of gastric epithelial tight junctions by urease-mediated myosin II activation. Gastroenterology 2009; 136: 236-246.
190. **Dunn BE.** Disruption of tight junction proteins mediated by H. pylori extracts. Gut 1999; 45(Suppl III): A19.
191. **Nardone G,** Staibano S, Rocco A, Mezza E, D'armiento FP, Insabato L, et al. Effect of Helicobacter pylori infection and its eradication on cell proliferation, DNA status, and onco gene expression in patients with chronic gastritis. Gut 1999; 44: 789-799.
192. **Lan J,** Xiong YY, Lin YX, Wang BC, Gong LL, Xu HS, et al. Helicobacter pylori infection generated gastric cancer through p53-Rb tumor-suppressor system mutation and telomerase reactivation. World J Gastroenterol 2003; 9: 54-58.
193. **Yamasaki E,** Wada A, Kumatori A, Nakagawa I, Funao J, Nakayama M, et al. Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin induces activation of the proapoptotic proteins Bax and Bak, leading to cytochrome c release and cell death, independent of vacuolation. J Biol Chem 2006; 281: 11250-11259.
194. **Shirin H,** Moss SF. Helicobacter pylori induced apoptosis. Gut 1998; 43: 592-594.
195. **Lin WC,** Tsai HF, Kuo SH, Wu MS, Lin CW, Hsu PI, et al. Translocation of Helicobacter pylori CagA into Human B lymphocytes, the origin of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Cancer Res 2010; 70: 5740-5748.
196. **Alves MK,** Lima VP, André AR, Ferreira MV, Barros MA, Rabenhorst SH. p27KIP1 expression in gastric cancer: differential pathways in the histological sub-

types associated with *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 409-420.

197. **Kuzushita N**, Rogers AB, Monti NA, Whary MT, Park MJ, Aswad BI, et al. p27kip1 deficiency confers susceptibility to gastric carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected mice. *Gastroenterology* 2005; 129: 1544-1556.

198. **Shirin H**. The cyclin dependent kinase inhibitor p27kip1, a putative tumor suppressor gene, is reduced by *Helicobacter pylori*: an early event in gastric carcinogenesis. *Gut* 1999; 45(Suppl III): A67.

199. **Shirin H**, Sordillo EM, Kolevska TK, Hibshoosh H, Kawabata Y, Oh SH, et al. Chronic *Helicobacter pylori* infection induces an apoptosis-resistant phenotype associated with decreased expression of p27(kip1). *Infect Immun* 2000; 68: 5321-5328.

200. **Lai LH**, Sung JJ. *Helicobacter pylori* and benign upper digestive disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 261-279.

201. **International Agency for Research on Cancer**. Infection with *Helicobacter pylori*. IARC Working Group (Monographs) on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon, France, 1994; 61: 177-240.

202. **Milutinovic AS**, Todorovic V, Milosavljevic T, Micev M, Spuran M, Drndarevic N. Somatostatin and D cells in patients with gastritis in the course of *Helicobacter pylori* eradication: a six-month, follow-up study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 755-766.

203. **Hentschel E**, Brandstätter G, Dragosics B, Hirschl AM, Nemec H, Schütze K, et al. Effect of ranitidine and amoxicillin plus metronidazole on the eradication of *Helicobacter pylori* and the recurrence of duodenal ulcer. *N Engl J Med* 1993; 328: 308-312.

204. **Kapadia CR.** Gastric atrophy, metaplasia, and dysplasia: a clinical perspective. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36(5 Suppl): S29-S36.

205. **Koh TJ,** Wang TC. Tumors of the stomach; in: Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH (ed): *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia, W.B. Saunders, 2002; ed 7th: 829-855.

206. **Κουντουράς Ιωάννης.** Επιδημιολογία και γενετικοί παράγοντες γαστρικού καρκίνου. Πρακτικά 3^{ου} Ετήσιου Σεμιναρίου Κλινικής Ογκολογίας. Θεσσαλονίκη, 2003.

207. **Zabaleta J,** Camargo MC, Piazuelo MB, Fontham E, Schneider BG, Sicinski LA, et al. Association of interleukin-1beta gene polymorphisms with precancerous gastric lesions in African Americans and Caucasians. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 163-171.

208. **Rad R,** Dossumbekova A, Neu B, Lang R, Bauer S, Saur D, et al. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 2004; 53: 1082-1089.

209. **Meining A,** Morgner A, Miehle S, Bayerdörffer E, Stolte M. Atrophy-metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence in the stomach: a reality or merely an hypothesis? *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001; 15: 983-998.

210. **Matysiak-Budnik T,** Mégraud F. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Eur J Cancer* 2006; 42: 708-716.

211. **Uemura N,** Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-789.

212. **Leung WK**, Lin SR, Ching JY, To KF, Ng EK, Chan FK, et al. Factors predicting progression of gastric intestinal metaplasia: results of a randomised trial on *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 2004; 53: 1244-1249.

213. **Malfertheiner P**, Sipponen P, Naumann M, Moayyedi P, Mégraud F, Xiao SD, et al; Lejondal H. pylori-Gastric Cancer Task Force. *Helicobacter pylori* eradication has the potential to prevent gastric cancer: a state-of-the-art critique. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2100-2115.

214. **Σγούρας Διονύσιος**. Μοριακοί μηχανισμοί καρκινογένεσης και Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού. Πρακτικά 12^{ου} ελληνικού συνεδρίου για το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού: σελ. 35-44, Αθήνα, 2007.

215. **Παπαβασιλείου Ευστάθιος**. Συσχέτιση ελικοβακτηριδίου του πυλωρού και γαστρικού καρκίνου. Η εκρίζωση του ελικοβακτηριδίου βοηθά στην πρόληψη του γαστρικού καρκίνου; Πρακτικά 12^{ου} ελληνικού συνεδρίου για το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού: σελ. 21-34, Αθήνα, 2007.

216. **Κουντουράς Ιωάννης**. Τα ΙΦΝΕ ως προκαρκινωματώδης κατάσταση. Μετεκπαιδευτικά μαθήματα «Παθήσεις παχέος εντέρου». Ελληνική Γαστρεντερολογική Εταιρεία, Τμήμα Βορείου Ελλάδος «Μακεδονία». Θεσσαλονίκη 2004: 101-114.

217. **Van der Woude CJ**, Kleibeuker JH, Jansen PL, Moshage H. Chronic inflammation, apoptosis and (pre-)malignant lesions in the gastro-intestinal tract. *Apoptosis* 2004; 9: 123-130.

218. **Xia HH**, Talley NJ. Apoptosis in gastric epithelium induced by *Helicobacter pylori* infection: implications in gastric carcinogenesis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 16-26.

219. **Houghton J**, Stoicov C, Nomura S, Rogers AB, Carlson J, Li H, et al. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science* 2004; 306: 1568-1571.

220. **Yoshida N**, Granger DN, Evans DJ Jr, Evans DG, Graham DY, Anderson DC, et al. Mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation. Gastroenterology 1993; 105: 1431-1440.
221. **Sobala GM**, Schorah CJ, Sanderson M, Dixon MF, Tompkins DS, Godwin P, et al. Ascorbic acid in the human stomach. Gastroenterology 1989; 97: 357-363.
222. **Parsonnet J**, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, et al. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. N Engl J Med 1994; 330: 1267-1271.
223. **Parvez T**, Behani A, Ali A. Primary gastric lymphoma. J Coll Physician Surg Pak 2007; 17: 36-40.
224. **Fischbach W**, Goebeler-Kolve ME, Dragosics B, Greiner A, Stolte M. Long term outcome of patients with gastric marginal zone B cell lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue (MALT) following exclusive Helicobacter pylori eradication therapy: experience from a large prospective series. Gut 2004; 53: 34-37.
225. **Wündisch T**, Mösch C, Neubauer A, Stolte M. Helicobacter Pylori eradication in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: Results of a 196-patient series. Leuk Lymphoma 2006; 47: 2110-2114.
226. **Mandekou-Lefaki I**, Delli FS, Kountouras I, Athanasiou E, Mattheou-Vakali G. Primary cutaneous MALT-type lymphoma and Helicobacter Pylori: a possible relationship. J Eur Acad Dermatol Venereol 2006; 20: 606-608.
227. **Wang J**, Brooks EG, Bamford KB, Denning TL, Pappo J, Ernst PB. Negative selection of T cells by Helicobacter pylori as a model for bacterial strain selection by immune evasion. J Immunol 2001; 167: 926-934.
228. **Stoicov C**, Cai X, Li H, Klucsevsek K, Carlson J, Saffari R, et al. Major histocompatibility complex class II inhibits fas antigen-mediated gastric mucosal cell

apoptosis through actin-dependent inhibition of receptor aggregation. *Infect Immun* 2005; 73: 6311-6321.

229. **He XX**, Hu PJ, Wong BC, Lam SK, Xia HH. Chronic *Helicobacter pylori* infection induces apoptosis-resistance in gastric epithelial cells. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2003; 83: 42-45.

230. **Morgner A**. *Helicobacter*-induced expression of bcl-xL on B-lymphocytes in the mouse model. Apoptosis inhibition as an important step in the development of gastric MALT lymphoma. *Gut* 1999; 45(Suppl III): A1.

231. **Selgrad M**, Kandulski A, Malfertheiner P. Dyspepsia and *Helicobacter pylori*. *Dig Dis* 2008; 26: 210-214.

232. **Souza RC**, Lima JH. *Helicobacter pylori* and gastroesophageal reflux disease: a review of this intriguing relationship. *Dis Esophagus* 2009; 22: 256-263.

233. **Malfertheiner P**. *Helicobacter pylori* eradication does not exacerbate gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* 2004; 53: 312-313.

234. **Werdmuller BF**, Loffeld RJ. *Helicobacter pylori* infection has no role in the pathogenesis of reflux esophagitis. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 103-105.

235. **Sharma P**. *Helicobacter pylori*: a debated factor in gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis* 2001; 19: 127-133.

236. **Matysiak-Budnik T**, Laszewicz W, Lamarque D, Chaussade S. *Helicobacter pylori* and non-malignant diseases. *Helicobacter* 2006; 11(Suppl.1): 27-31.

237. **Pondugula K**, Wani S, Sharma P. Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma in adults: long-term GERD or something else? *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9: 468-474.

238. **Moayyedi P**, Talley NJ. Gastro-oesophageal reflux disease. *Lancet* 2006; 367: 2086-2100.

239. **Yamaji Y**, Mitsushima T, Ikuma H, Okamoto M, Yoshida H, Kawabe T, et al. Inverse background of *Helicobacter pylori* antibody and pepsinogen in reflux oesophagitis compared with gastric cancer: analysis of 5732 Japanese subjects. *Gut* 2001; 49: 335-340.

240. **Haruma K**, Mihara M, Okamoto E, Kusunoki H, Hananoki M, Tanaka S, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* increases gastric acidity in patients with atrophic gastritis of the corpus-evaluation of 24-h pH monitoring. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 155-162.

241. **Ackermack P**, Kuipers EJ, Wolf C, Breumelhof R, Seldenrijk CA, Timmer R, et al. Colonization with cagA-positive *Helicobacter pylori* strains in intestinal metaplasia of the esophagus and the esophagogastric junction. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1719-1724.

242. **Kuipers EJ**, Nelis GF, Klinkenberg-Knol EC, Snel P, Goldfain D, Kolkman JJ, et al. Cure of *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux oesophagitis treated with long term omeprazole reverses gastritis without exacerbation of reflux disease: results of a randomised controlled trial. *Gut* 2004; 53: 12-20.

243. **Raghunath AS**, Hungin AP, Wooff D, Childs S. Systematic review: the effect of *Helicobacter pylori* and its eradication on gastro-oesophageal reflux disease in patients with duodenal ulcers or reflux oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 733-744.

244. **Moayyedi P**, Feltbower R, Brown J, Mason S, Mason J, Nathan J, et al. Effect of population screening and treatment for *Helicobacter pylori* on dyspepsia and quality of life in the community: a randomised controlled trial. Leeds HELP Study Group. *Lancet* 2000; 355: 1665-1669.

245. **Harvey RF**, Lane JA, Murray LJ, Harvey IM, Donovan JL, Nair P. Bristol Helicobacter Project. Randomised controlled trial of effects of Helicobacter pylori infection and its eradication on heartburn and gastro-oesophageal reflux: Bristol helicobacter project. *BMJ* 2004; 328: 1417.

246. **Laine L**, Dhir V. Helicobacter pylori eradication does not worsen quality of life related to reflux symptoms: a prospective trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1143-1148.

247. **O'Morain CA**, Qasim A. Motion--Helicobacter pylori worsens GERD: arguments for the motion. *Can J Gastroenterol* 2002; 16: 611-614.

248. **Schwizer W**, Thumshirn M, Dent J, Guldenschuh I, Menne D, Cathomas G, et al. Helicobacter pylori and symptomatic relapse of gastro-oesophageal reflux disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2001; 357: 1738-1742.

249. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. H pylori infection and reflux oesophagitis. *Gut* 2004; 53: 912.

250. **Ishiki K**, Mizuno M, Take S, Nagahara Y, Yoshida T, Yamamoto K, et al. Helicobacter pylori eradication improves pre-existing reflux esophagitis in patients with duodenal ulcer disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 474-479.

251. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Less H. pylori not necessarily more GERD. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 249-250.

252. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Induction of interleukin-8 expression by Helicobacter pylori infection in patients with endoscopy-negative gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2500-2501.

253. **Labenz J**, Blum AL, Bayerdörffer E, Meining A, Stolte M, Börsch G. Curing Helicobacter pylori infection in patients with duodenal ulcer may provoke reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1997; 112: 1442-1447.

254. **McColl KE**, Dickson A, El-Nujumi A, El-Omar E, Kelman A. Symptomatic benefit 1-3 years after *H. pylori* eradication in ulcer patients: impact of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 101-105.
255. **Jakobs R**, Riemann JF. *cagA*-positive *Helicobacter pylori* strains and gastroesophageal reflux disease: still puzzling? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 635-637.
256. **Goh KL**. Changing trends in gastrointestinal disease in the Asia-Pacific region. *J Dig Dis* 2007; 8: 179-185.
257. **Bahmanyar S**, Zendehdel K, Nyrén O, Ye W. Risk of oesophageal cancer by histology among patients hospitalised for gastroduodenal ulcers. *Gut* 2007; 56: 464-468.
258. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptosis and autoimmunity as proposed pathogenetic links between *Helicobacter Pylori* infection and idiopathic achalasia. *Med Hypotheses* 2004; 63: 624-629.
259. **Lord RV**, Frommer DJ, Inder S, Tran D, Ward RL. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in 160 patients with Barrett's oesophagus or Barrett's adenocarcinoma. *Aust N Z J Surg* 2000; 70: 26-33.
260. **Weston AP**, Badr AS, Topalovski M, Cherian R, Dixon A, Hassanein RS. Prospective evaluation of the prevalence of gastric *Helicobacter pylori* infection in patients with GERD, Barrett's esophagus, Barrett's dysplasia, and Barrett's adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 387-394.
261. **Vicari JJ**, Peek RM, Falk GW, Goldblum JR, Easley KA, Schnell J, et al. The seroprevalence of *cagA*-positive *Helicobacter pylori* strains in the spectrum of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 50-57.
262. **Ferrández A**, Benito R, Arenas J, García-González MA, Sopeña F, Alcedo J, et al. *CagA*-positive *Helicobacter pylori* infection is not associated with decreased risk

of Barrett's esophagus in a population with high H. pylori infection rate. BMC Gastroenterol 2006; 6: 7.

263. **Goldblum JR**, Richter JE, Vaezi M, Falk GW, Rice TW, Peek RM, et al. Helicobacter pylori infection, not gastroesophageal reflux, is the major cause of inflammation and intestinal metaplasia of gastric cardiac mucosa. Am J Gastroenterol 2002; 97: 302-311.

264. **Peitz U**, Hackelsberger A, Günther T, Clara L, Malfertheiner P. The prevalence of Helicobacter pylori infection and the pattern of gastritis in Barrett's esophagus. Dig Dis 2001; 19: 164-169.

265. **Nakajima S**, Hattori T. Oesophageal adenocarcinoma or gastric cancer with or without eradication of Helicobacter pylori infection in chronic atrophic gastritis patients: a hypothetical opinion from a systematic review. Aliment Pharmacol Ther 2004; 20 (Suppl 1): 54-61.

266. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Pathogenetic links between colorectal neoplasia and Barrett's esophagus. Gastrointest Endosc 2006; 64: 298.

267. **Machida-Montani A**, Sasazuki S, Inoue M, Natsukawa S, Shaura K, Koizumi Y, Kasuga Y, Hanaoka T, Tsugane S. Atrophic gastritis, Helicobacter pylori, and colorectal cancer risk: a case-control study. Helicobacter 2007; 12: 328-332.

268. **Diamantidis M**, Tsapournas G, Kountouras J, Zavos C. New aspects of regulatory signaling pathways and novel therapies in pancreatic cancer. Curr Mol Med 2008; 8: 12-37.

269. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Helicobacter pylori infection and the risk for coronary artery disease. Saudi Med J 2004; 25: 679-681.

270. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. A concept on the role of Helicobacter pylori infection in autoimmune pancreatitis. J Cell Mol Med 2005; 9: 196-207.

271. **Kountouras J**, Zavos C, Gavalas E, Boziki M, Katsinelos P. Helicobacter pylori may hold a variable role in multiple sclerosis based on ethnicity. Med Hypotheses 2008; 71: 614-615.

272. **Gavalas E**, Kountouras J, Deretzi G, Boziki M, Grigoriadis N, Zavos C, et al. Helicobacter pylori and multiple sclerosis. J Neuroimmunol 2007; 188: 187-189.

273. **Kountouras J**, Tsolaki M, Boziki M, Gavalas E, Zavos C, Stergiopoulos C, et al. Association between Helicobacter pylori infection and mild cognitive impairment. Eur J Neurol 2007; 14: 976-982.

274. **Kountouras J**, Tsolaki M, Gavalas E, Boziki M, Zavos C, Karatzoglou P, et al. Relationship between Helicobacter Pylori infection and Alzheimer disease. Neurology 2006; 66: 938-940.

275. **Kountouras J**, Zavos C, Gavalas E, Boziki M, Chatzopoulos D, Katsinelos P. Normal-tension glaucoma and Alzheimer's disease: Helicobacter pylori as a possible common underlying risk factor. Med Hypotheses 2007; 68: 228-229.

276. **Kountouras J**, Gavalas E, Zavos C, Stergiopoulos C, Chatzopoulos D, Kapetanakis N, et al. Alzheimer's disease and Helicobacter pylori infection: Defective immune regulation and apoptosis as proposed common links. Med Hypotheses 2007; 68: 378-388.

277. **Lee WY**, Yoon WT, Shin HY, Jeon SH, Rhee PL. Helicobacter pylori infection and motor fluctuations in patients with Parkinson's disease. Mov Disord 2008; 23: 1696-1700.

278. **Kountouras J**, Deretzi G, Grigoriadis N, Zavos C, Boziki M, Gavalas E, et al. Guillain-Barré syndrome. Lancet Neurol 2008; 7: 1080-1081.

279. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Induction of apoptosis as a proposed pathophysiological link between glaucoma and Helicobacter pylori infection. Med Hypotheses 2004; 62: 378-381.

280. **Kountouras J**, Zavos C, Chatzopoulos D. Primary open-angle glaucoma: pathophysiology and treatment. *Lancet* 2004; 364: 1311-1312.
281. **Kountouras J**, Zavos C, Gavalas E, Tzilves D. Challenge in the pathogenesis of autoimmune pancreatitis: potential role of *Helicobacter pylori* infection via molecular mimicry. *Gastroenterology* 2007; 133: 368-369.
282. **Ece F**, F Hatabay N, Erdal N, Gedik C, Guney C, Aksoy F. Does *Helicobacter pylori* infection play a role in lung cancer? *Respir Med* 2005; 99: 1258-1262.
283. **Malfertheiner P**, Mégraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, et al. European *Helicobacter Pylori* Study Group (EHPSG). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-180.
284. **Bazzoli F**. Key points from the revised Maastricht consensus report: the impact of general practice. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13(Suppl2): S3-S7.
285. **Miwa H**, Ohkura R, Murai T, Sato K, Nagahara A, Hirai S, et al. Impact of rabeprazole, a new proton pump inhibitor, in triple therapy for *Helicobacter pylori* infection- comparison with omeprazole and lansoprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 741-746.
286. **Catalano F**, Branciforte G, Catanzaro R, Bentivegna C, Cipolla R, Nuciforo G, et al. Comparative treatment of *Helicobacter pylori* positive duodenal ulcer using pantoprazole at low and high doses versus omeprazole in triple therapy. *Helicobacter* 1999; 4: 178-184.
287. **Laheij RJ**, Rossum LG, Jansen JB, Straatman H, Verbeek AL. Evaluation of treatment regimens to cure *Helicobacter pylori* infection- a meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 857-864.

288. **Houben MH**, van de Beek D, Hensen EF, Craen AJ, Rauws EA, Tytgat GN. A systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy- the impact of antimicrobial resistance on eradication rates. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 1047-1055.
289. **Solnick JV**, Franceschi F, Roccarina D, Gasbarrini A. Extragastric manifestations of *Helicobacter Pylori* infection – Other *Helicobacter* species. *Helicobacter* 2006; 11(Suppl.1): 46-51.
290. **Hershko C**, Ronson A, Souroujon M, Maschler I, Heyd J, Patz J. Variable hematologic presentation of autoimmune gastritis: age-related progression from iron deficiency to cobalamin depletion. *Blood* 2006; 107: 1673-1679.
291. **Shimada T**, Hiraishi T. Iron deficiency anemia and *H. Pylori*. *Nippon Rinsho* 2008; 66: 584-589.
292. **Barabino A**. *Helicobacter pylori*-related iron deficiency anemia: a review. *Helicobacter* 2002; 7: 71-75.
293. **Cardenas VM**, Mulla ZD, Ortiz M, Graham DY. Iron deficiency and *Helicobacter Pylori* infection in the United States. *Am J Epidemiol* 2006; 163: 127-134.
294. **Γεωργιάδης Δημοσθένης**, Μανωλακόπουλος Σπήλιος. Ποιες εξωγαστρικές εκδηλώσεις της ελικοβακτηριδιακής λοίμωξης έχουν κλινική σημασία; Πρακτικά 12^{ου} ελληνικού συνεδρίου για το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού: σελ. 131-141, Αθήνα, 2007.
295. **Hershko C**, Ronson A. Iron deficiency, *Helicobacter* infection and gastritis. *Acta Haematol* 2009; 122: 97-102.
296. **De Korwin JD**. Does *Helicobacter pylori* infection play a role in extragastric diseases? *Presse Med* 2008; 37: 525-534.

297. **Franchini M**, Cruciani M, Mengoli C, Pizzolo G, Veneri D. Effect of Helicobacter pylori eradication on platelet count in idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 237-246.
298. **Veneri D**, De Matteis G, Solero P, Federici F, Zanuso C, Guizzardi E, et al. Analysis of B- and T-cell clonality and HLA class II alleles in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: correlation with Helicobacter Pylori infection and response to eradication treatment. *Platelets* 2005; 16: 307-311.
299. **Stasi R**, Rossi Z, Stipa E, Amadori S, Newland AC, Provan D. Helicobacter Pylori eradication in the management of patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Med* 2005; 118: 414-419.
300. **Kuwana M**, Ikeda Y. Helicobacter pylori and immune thrombocytopenic purpura: unsolved questions and controversies. *Int J Hematol* 2006; 84: 309-315.
301. **Stasi R**, Provan D. Helicobacter pylori and chronic ITP. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 206-211.
302. **Malik AA**, Ganti AK, Potti A, Levitt R, Hanley JF. Role of Helicobacter pylori infection in the incidence and clinical course of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1371-1374.
303. **Rajkumar SV**, Kyle RA, Plevak MF, Murray JA, Therneau TM. Helicobacter pylori infection and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol* 2002; 119: 706-708.
304. **Papadaki HA**, Pontikoglou C, Stavroulaki E, Minadakis G, Eliopoulos DA, Pyrovolaki K, et al. High prevalence of Helicobacter pylori infection and monoclonal gammopathy of undetermined significance in patients with chronic idiopathic neutropenia. *Ann Hematol* 2005; 84: 317-320.

305. **Papadaki HA**, Pontikoglou C, Eliopoulos DG, Pyrovolaki K, Spyridaki R, Eliopoulos GD. Helicobacter pylori infection is probably the cause of chronic idiopathic neutropenia (CIN)-associated splenomegaly. Am J Hematol 2006; 81: 142-144.
306. **Papadaki HA**, Skordilis P, Minadakis G, Roussomoustakaki M, Katrinakis G, Psyllaki M, et al. Complete regression of primary gastric plasmacytoma following Helicobacter pylori eradication. Ann Hematol 2003; 82: 589-592.
307. **Szczepanik AB**, Zaleska M, Wiszniewski A, Wislawski S, Misiak A, Maryniak R, et al. Helicobacter pylori infection in patients with haemophilia in Poland: prevalence and risk of upper gastrointestinal bleeding. Haemophilia 2005; 11: 376-379.
308. **Choe BH**, Kim JY, Lee JH, Kim JM, Chu MA, Cho SM, et al. Upper gastrointestinal bleeding in children with haemophilia: a clinical significance of Helicobacter pylori infection. Haemophilia 2010; 16: 277-280.
309. **Lehtinen M**, Ogmundsdottir HM, Bloigu A, Hakulinen T, Hemminki E, Gudnadottir M, et al. Associations between three types of maternal bacterial infection and risk of leukemia in the offspring. Am J Epidemiol 2005; 162: 662-667.
310. **Κουντουράς Ι.**, Χαραλαμπίδου Σ., Τουλούμης Λ., Καρατζόγλου Π., Ζαβός Χ., Ταμπακόπουλος Μ., κ.α. Συσχέτιση H. Pylori λοιμώξεως και μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων (ΜΔΣ). Annals of Gastroenterology 2004; 17(Suppl.): 24.
311. **Διαμαντίδης Μ.**, Ιωαννίδου – Παπαγιαννάκη Ε., Τσαπουρνάς Γ., Κυργίδης Α., Μανδαλά Ε., Φρυδά – Μιχαηλίδου Ι., κ.α. H.Pylori λοίμωξη και αιματολογικά νοσήματα. Annals of Gastroenterology 2007; 20(Suppl.): 64.
312. **Matsukawa Y**, Sawada S, Sawada U. Improvement of anemia by H.Pylori eradication in a patient with myelodysplastic syndrome. Med Hypotheses 2006; 67: 423.

313. **Diamantidis MD**, Ioannidou-Papagiannaki E, Kountouras J, Mandala E, Klonizakis P, Frida-Michailidou I, et al. Helicobacter Pylori infection might protect from the leukaemic transformation of myelodysplastic syndromes. Med Hypotheses 2008; 71: 159-160.

314. **Διαμαντίδης Μ.**, Τσαπουρνάς Γ., Κυργίδης Α., Κουντουράς Ι., Μανδαλά Ε., Χαραλαμπίδου – Βρανίτσα Σ., κ.α. Ανοσολογικές διαταραχές και ανοσοτροποποιητικές θεραπείες σε ασθενείς με μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (ΜΔΣ). Ο ρόλος της H.Pylori λοιμώξεως στους άνω ασθενείς. Συστηματική ανασκόπηση και ανάδειξη νέων δεδομένων. Ανοσία 2007; 3: 231.

315. **Zavos C**. A revision of the possible dual role of Helicobacter pylori in myelodysplastic syndrome. Med Hypotheses 2008; 71: 161.

316. **Diamantidis M**, Dimoudis S, Klonizakis P, Badekas K, Koutourli K, Haralambidou-Vranitsa S, et al. The role of apoptosis and current therapeutic challenges in myelodysplastic syndromes. Hippokratia 2007; 11: 178-182.

317. **Zhang Z**, Xie J. Expression of Fas, FasL and Bcl-2 and apoptosis of bone marrow CD34+ cells in patients with myelodysplastic syndrome. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi 2003; 11: 274-277.

318. **Nguyen PL**. The myelodysplastic syndromes. Hematol Oncol Clin North Am 2009; 23: 675-691.

319. **Kountouras J**, Mylopoulos N, Boura P, Bessas C, Chatzopoulos D, Venizelos J, et al. Relationship between Helicobacter pylori infection and glaucoma. Ophthalmology 2001; 108: 599-604.

320. **Kountouras J**, Mylopoulos N, Chatzopoulos D, Zavos C, Boura P, Konstas AG, et al. Eradication of Helicobacter pylori may be beneficial in the management of chronic open-angle glaucoma. Arch Intern Med 2002; 162: 1237-1244.

321. **Kountouras J**, Zavos C, Diamantidis MD, Deretzi G, Grigoriadis N, Tsapournas G, et al. A concept of *Helicobacter pylori* and stress-secreted mast cells' potential involvement in brain metastases. *J Neuroimmunol* 2009; 209: 121-122.

322. **Σκένδρος Παναγιώτης**. Ανοσιακή απόκριση και συνδιέγερση στη βρουκέλλωση. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2005.

323. **Κυριακοπούλου Γ. Ιωάννα**. In vitro μελέτη της επίδρασης της quercetin στα κύτταρα της οξείας μυελογενούς λευχαιμίας. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2008.

324. **Αντωνίτσης Ν. Πολυχρόνης**. Μελέτη της μετατροπής των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων σε μυοκαρδιακά κύτταρα εντός συστήματος υγρής καλλιέργειας μακράς διάρκειας. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2007.

325. **Gregori G**, Ragheb K, Robinson JP. Introduction to WinMDI 2.8 (J. Trotter 1993-1998) for the Analysis of Flow Cytometry Listmode Data Files. *Purdue University Cytometry Laboratories* 2004; 1-28.

326. **Diamantidis MD**, Ioannidou-Papagiannaki E, Kountouras J, Mandala E, Tsapournas G, Frida-Michailidou I, et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Greek patients with myelodysplastic syndromes. *Acta Haematol* 2010; 124: 141-149.

327. **Neuwirtova R**, Karban J. The decrease of B lymphocytes in MDS – what is the significance of it? Abstracts of the 9th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. *Leuk Res* 2007; 31(Suppl 1): S70.

328. **Marisavljevic D**, Kraguljac N, Rolovic Z. Immunologic abnormalities in myelodysplastic syndromes: clinical features and characteristics of the lymphoid population. *Med Oncol* 2006; 23: 385-392.

329. **Shioi Y**, Tamura H, Yokose N, Satoh C, Dan K, Ogata K. Increased apoptosis of circulating T cells in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2007; 31: 1641-1648.

330. **Pallant J.** SPSS Survival Manual. A step by step guide to data analysis using SPSS for Windows (Versions 10 and 11). Open University Press 2001; McGraw-Hill Education: Berkshire, United Kingdom and New York, U.S.A.

331. **Cines DB,** Liebman H, Stasi R. Pathobiology of secondary immune thrombocytopenia. *Semin Hematol* 2009; 46(1 Suppl 2): S2-S14.

332. **No Authors Listed.** Epidemiology of, and risk factors for, *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. The EUROGAST Study Group. *Gut* 1993; 34: 1672-1676.

333. **Apostolopoulos P,** Vafiadis-Zouboulis I, Tzivras M, Kourteas D, Katsilambros N, Archimandritis A. *Helicobacter pylori* (H pylori) infection in Greece: the changing prevalence during a ten-year period and its antigenic profile. *BMC Gastroenterol* 2002; 2: 11.

334. **Weinstein WM.** Gastritis and gastropathies; in: Sleisenger MH, Fordtran JS (ed): *Gastrointestinal Disease: Pathology, Diagnosis, Management*. Philadelphia, Saunders, 1993; ed 5th: 545-571.

335. **Young HS,** Keeffe EB. Complications of gastrointestinal endoscopy; in: Sleisenger MH, Fordtran JS (ed): *Gastrointestinal Disease: Pathology, Diagnosis, Management*. Philadelphia, Saunders, 1993; ed 5th: 301-316.

336. **Fennerty MB.** *Helicobacter pylori*. *Arch Intern Med* 1994; 154: 721-727.

337. **Abdalla AM,** Sordillo EM, Hanzely Z, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Holt PR, et al. Insensitivity of the CLOtest for *H. pylori*, especially in the elderly. *Gastroenterology* 1998; 115: 243-244.

338. **Mönkemüller K,** Fry LC, Malfertheiner P, Schuckardt W. Gastrointestinal endoscopy in the elderly: current issues. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 821-827.

339. **Ria R**, Moschetta M, Reale A, Mangialardi G, Castrovilli A, Vacca A, et al. Managing myelodysplastic symptoms in elderly patients. *Clin Interv Aging* 2009; 4: 413-423.
340. **Dzierzanowska-Fangrat K**, Lehours P, Mégraud F, Dzierzanowska D. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2006; 11(Suppl.1): 6-13.
341. **Pathak CM**, Bhasin DK, Khanduja KL. Urea breath test for *Helicobacter pylori* detection: present status. *Trop Gastroenterol* 2004; 25: 156-161.
342. **Kountouras J**. *Helicobacter pylori*: an intruder involved in conspiring glaucomatous neuropathy. *Br J Ophthalmol* 2009; 93: 1413-1415.
343. **Kordasti SY**, Afzali B, Lim Z, Ingram W, Hayden J, Barber L, et al. IL-17-producing CD4(+) T cells, pro-inflammatory cytokines and apoptosis are increased in low risk myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 2009; 145: 64-72.
344. **Jackson SC**, Beck P, Buret AG, O'Connor PM, Meddings J, Pineo G, et al. Long term platelet responses to *Helicobacter pylori* eradication in Canadian patients with immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2008; 88: 212-218.
345. **Bai Y**, Wang Z, Bai X, Yu Z, Cao L, Zhang W, et al. Cross-reaction of antibody against *Helicobacter pylori* urease B with platelet glycoprotein IIIa and its significance in the pathogenesis of immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2009; 89: 142-149.
346. **Ferrucci PF**, Zucca E. Primary gastric lymphoma pathogenesis and treatment: what has changed over the past 10 years? *Br J Haematol* 2007; 136: 521-538.
347. **Arima N**, Tsudo M. Extragastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma showing the regression by *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Br J Haematol* 2003; 120: 790-792.

348. **Diamantidis MD**, Ioannidou – Papagiannaki E, Kountouras J, Mandala E, Tsapournas G, Frida – Michailidou I, et al. Does *Helicobacter pylori* infection participate in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes (MDS)? Abstracts of the 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. Leuk Res 2009; 33(Suppl 1): S103-S104.

349. **Cukrová V**, Neuwirtová R, Dolezalová L, Belicková M, Bartůňková J, Jonášová A, et al. Defective cytotoxicity of T lymphocytes in myelodysplastic syndrome. Exp Hematol 2009; 37: 386-394.

350. **Amin HM**, Jilani I, Estey EH, Keating MJ, Dey AL, Manshouri T, et al. Increased apoptosis in bone marrow B lymphocytes but not T lymphocytes in myelodysplastic syndrome. Blood 2003; 102: 1866-1868.

351. **Fozza C**, Contini S, Galleu A, Simula MP, Viridis P, Bonfigli S, et al. Patients with myelodysplastic syndromes display several T-cell expansions, which are mostly polyclonal in the CD4(+) subset and oligoclonal in the CD8(+) subset. Exp Hematol 2009; 37: 947-955.