

L'attenzione crescente alla qualità della vita dei pazienti oncologici e le problematiche legate all'utilizzo di protocolli di trattamento sempre più complessi e invasivi, cui non sempre fa seguito un significativo miglioramento della prognosi, ha visto affiancare più spesso negli ultimi anni le cosiddette terapie "biologiche" agli schemi di terapia convenzionali.

L'esperienza maturata nell'utilizzo integrato di pratiche non tossiche, come ipertermia, immunostimolazione, chemioterapia a basso dosaggio, anticorpi monoclonali, permette di affermare che una terapia biologica meno aggressiva dei tumori è possibile sia in fase iniziale che in fase avanzata.

Ciò premesso, nella presente tesi, previa introduzione dei principi generali che regolano l'impiego dell'ipertermia in campo oncologico, verrà trattato l'argomento della perfusione ipertermico-antiblastica intraperitoneale nei carcinomi del tratto gastroenterico.

GENERALITA' SULL'IMPIEGO DELL'IPERTERMIA IN CAMPO ONCOLOGICO

Nel campo della medicina si intende per ipertermia il riscaldamento dei tessuti umani oltre la soglia della temperatura biologica che di norma è di 37° C.

Un'applicazione di questo presidio risale addirittura al tempo degli antichi greci.

Nel secolo scorso, una delle prime applicazioni dell'ipertermia è stata nella cura dei sarcomi, somministrando in questi pazienti tossine batteriche in modo da innalzare la temperatura corporea (ipertermia corporea totale, metodica ormai abbandonata).

In chiave moderna negli ultimi 20 anni ha progressivamente assunto un ruolo di rilievo in campo oncologico l'ipertermia loco regionale e la chemioipertermia intraperitoneale; la prima procedura, meno invasiva rispetto alla seconda, in quanto il calore viene erogato dall'esterno con apposite apparecchiature, viene impiegata come coadiuvante, oltre che nei riguardi di alcuni tumori, anche in altre condizioni patologiche quali certe affezioni dell'apparato muscoloscheletrico (artrosi, artrite, borsiti, tendiniti, miopatie infiammatorie) e nei processi infiammatori cronici.

Per quanto riguarda il campo oncologico, l'ipertermia transcutanea locoregionale si propone ovviamente, non come alternativa, ma in associazione con chemio e radioterapia; nasce in ogni caso dall'esigenza di trovare nuove modalità di trattamento con l'obiettivo di ridurre gli effetti collaterali di certe terapie oncologiche. Lo spunto per il suo impiego è il frutto di ricerche traslazionali che hanno dimostrato che il calore nell'intervallo di temperature comprese tra 42 e 45 gradi C, è in grado di uccidere le cellule tumorali o renderle più sensibili ad alcuni farmaci ed alle radiazioni.

Attraverso l'uso di campi elettromagnetici a radiofrequenza, focalizzati da apposite antenne, l'organo bersaglio è riscaldato fino ad una temperatura vicina o superiore ai 43°, per circa 60 minuti.

Il riscaldamento alle temperature suddette, secondo i protocolli, non viene generalmente ripetuto più di tre volte alla settimana, per evitare il fenomeno della termo-tolleranza, cioè la maggiore resistenza cellulare al calore nelle 48 ore successive alla terapia.

L'interesse per l'ipertermia in oncologica si è accresciuto da quando si è visto che la radioterapia e la chemioterapia, se utilizzate in associazione con trattamenti di ipertermia, possono avere, a parità di dose, una maggiore efficacia o conservare la stessa efficacia, a dosi inferiori.

Il calore potenzia gli effetti della radioterapia e della chemioterapia sul tumore, senza aumentarne gli effetti collaterali, permettendo un significativo miglioramento nel controllo della crescita tumorale. Ciò è reso possibile dalle caratteristiche della neovascolarizzazione tumorale: i vasi tumorali, infatti, privi dell'impalcatura muscolare, non consentono, per mancanza di elasticità, quella vasodilatazione fisiologica che permette un'adeguata dissipazione del calore introdotto; in altri termini, il calore rimane intrappolato nelle lesioni tumorali generando morte cellulare. L'effetto di necrosi avviene mediante il meccanismo dell'apoptosi delle cellule neoplastiche quiescenti, che appaiono particolarmente sensibili alle alte temperature.

Il fenomeno bene si integra con l'azione delle terapie convenzionali (chemio e radioterapia) che espletano la loro azione citotossica sulle cellule in attiva proliferazione.

Un altro considerevole vantaggio dell'ipertermia è costituito dal fatto che la reattività immunitaria del malato tumorale, solitamente depressa dalla malattia stessa e/o dalle cure messe in atto per controllarla, viene potenziata dall'ipertermia: questa, mimando il meccanismo di difesa fisiologica rappresentato dalla febbre, provoca la liberazione di sostanze immunoregolatrici (citochine), le quali hanno effetto protettivo per l'organismo del malato.

Il sinergismo tra ipertermia e radiazioni dipende dalle seguenti cause:

- il calore induce un effetto citotossico diretto, dovuto alle particolari condizioni ambientali delle cellule tumorali, caratterizzate da deficit nutrizionale e di vascolarizzazione, carenza di ossigeno ed aumentata acidità;
- il calore induce un effetto radiosensibilizzante che consente di utilizzare l'ipertermia come terapia adiuvante per distruggere cellule tumorali radioresistenti;

- il calore aumenta la permeabilità cellulare, consentendo una maggiore possibilità di passaggio di farmaci all'interno della cellula.

MODERNE APPARECCHIATURE PER L'IPERTERMIA TRANSCUTANEA

(Onco-Therm)



CHEMIOIPERTERMIA INTRAPERITONEALE

(HIPEC è la sigla internazionale con cui si identifica la procedura - Hiperthermic IntraPeritoneal Chemotherapy).

A) HIPEC AD ADDOME CHIUSO

Questa modalità prevede che l'HIPEC sia effettuata dopo che la cavità addominale è stata richiusa, una volta conclusa la fase chirurgica di exeresi della malattia neoplastica endoperitoneale (asportazione del tumore primitivo e peritonectomia) .

Prima della chiusura della cavità addominale, sono posizionati 3 o 4 cateteri lunghi circa 25-30 cm, polifenestrati o del tipo spiral drain, che consentono di introdurre e contemporaneamente estrarre dalla cavità stessa la soluzione di chemioterapico.

I cateteri sono tutti introdotti attraverso controaperture della parete addominale e in genere sono posizionati con le seguenti modalità:

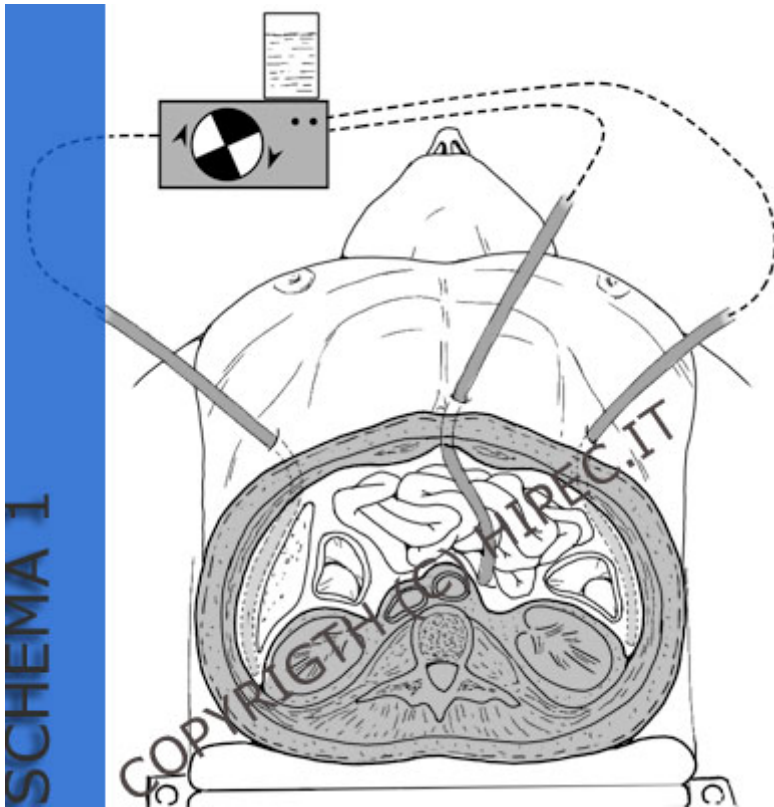
un catetere, introdotto al disotto dell'arcata costale dx, è posizionato sotto il diaframma e al di sopra del margine superiore del fegato

un catetere, introdotto a livello della fossa iliaca dx, è posizionato in corrispondenza della radice mesenteriale

un catetere , introdotto al di sotto dell'arcata costale sinistra, è posizionato al di sotto del fegato

un catetere, introdotto dalla fossa iliaca sinistra è posizionato nella pelvi.

I cateteri superiori e quelli inferiori sono collegati a raccordi ad Y e quindi alla pompa della macchina per chemioipertermia.



Si procede quindi alla chiusura della parete addominale che deve risultare assolutamente stagna, per impedire la eventuale fuoriuscita di soluzione di chemioterapico durante l'HIPEC. Per ulteriore sicurezza, dopo la chiusura della parete addominale, si dispone un foglio adesivo stagno sulla parete stessa. La HIPEC inizia dopo la chiusura della parete addominale.

Inizialmente viene introdotta una soluzione inerte di circa 2500-3500 ml che funziona come priming e consente di verificare il buon funzionamento del sistema, inoltre permette di pulire efficacemente la cavità peritoneale eliminando eventuali coaguli o detriti che possano intasare i cateteri o ostacolare il buon funzionamento del sistema. La soluzione dopo pochi minuti di lavaggio di prova viene completamente evacuata e si inizia la HIPEC. La soluzione di chemioterapico è composta da circa 2500-3500 ml di destrano nella quale è veicolato il chemioterapico scelto per il trattamento.

Durante il lavaggio endoperitoneale, che dura da 30 a 90 minuti a seconda degli schemi di trattamento, il letto operatorio viene opportunamente e periodicamente regolato in modo da favorire la più ampia circuitazione della soluzione di chemioterapico. La pompa è regolata in modo da consentire la circuitazione della soluzione a regimi di 300-500 ml/min.

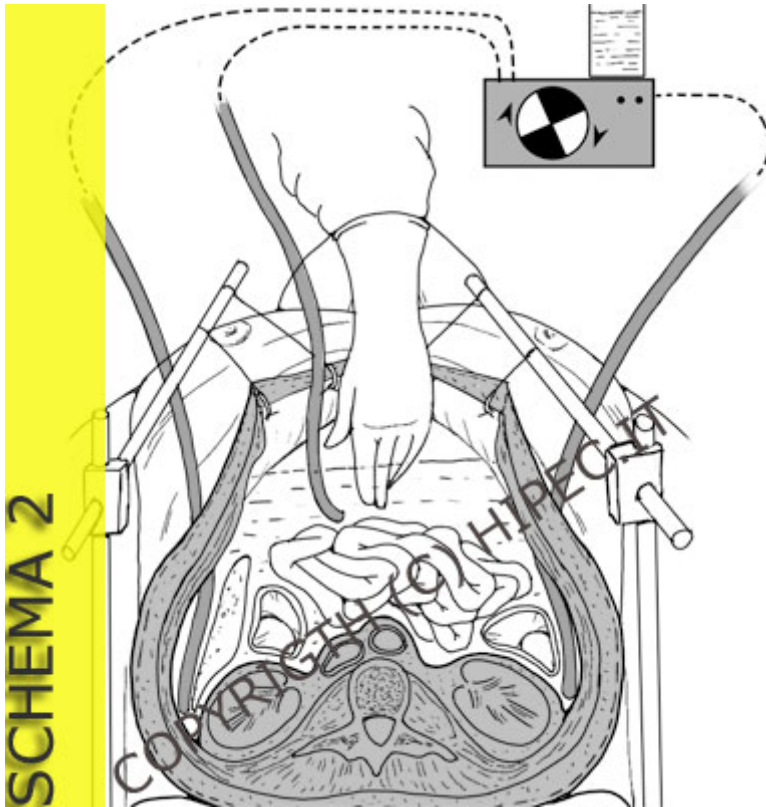
Scaduto il termine previsto, la soluzione viene completamente evacuata e si effettua un ulteriore lavaggio della cavità peritoneale con soluzione inerte.

Si verifica che non esistano sanguinamenti o fuoriuscita di secrezioni sospette e i drenaggi vengono collegati a normali buste per la raccolta delle secrezioni; saranno rimossi entro i 10 giorni successivi all'intervento.

Questa tecnica ha il vantaggio di non esporre l'ambiente della sala operatoria ed il personale ad eventuali esposizione di fumi o esalazioni derivanti dalla soluzione di chemioterapici. L'aumento della pressione addominale determinato dalla introduzione dei 2500-3500 ml di soluzione di chemioterapico, associato agli alti regimi di flusso determinati dalla pompa e dalle variazioni di posizioni ottenute con la regolazione opportunamente variata del letto operatorio durante a procedura, consentono un ottimale e completo lavaggio della cavità addominale , anche nei recessi meno accessibili.

B) HIPEC AD ADDOME APERTO

Questa modalità prevede che l'HIPEC sia effettuata prima che la cavità addominale sia richiusa . Una volta conclusa la fase chirurgica di exeresi della malattia neoplastica si posizionano i drenaggi generalmente con la stessa modalità descritta per la HIPEC ad addome chiuso. I lembi della parete addominale sono suturati sui bracci di un divaricatore autostatico opportunamente posizionato, in modo da creare una vasca aperta (coliseum technique). Un film di tessuto plastico adesivo o altro supporto opportunamente scelto ed allestito viene disposto in modo tale da chiudere e sigillare completamente l'apertura della cavità addominale. Si pratica un foro nel film e attraverso di esso il chirurgo introduce il braccio opportunamente protetto da un guanto lungo che protegge oltre il gomito.



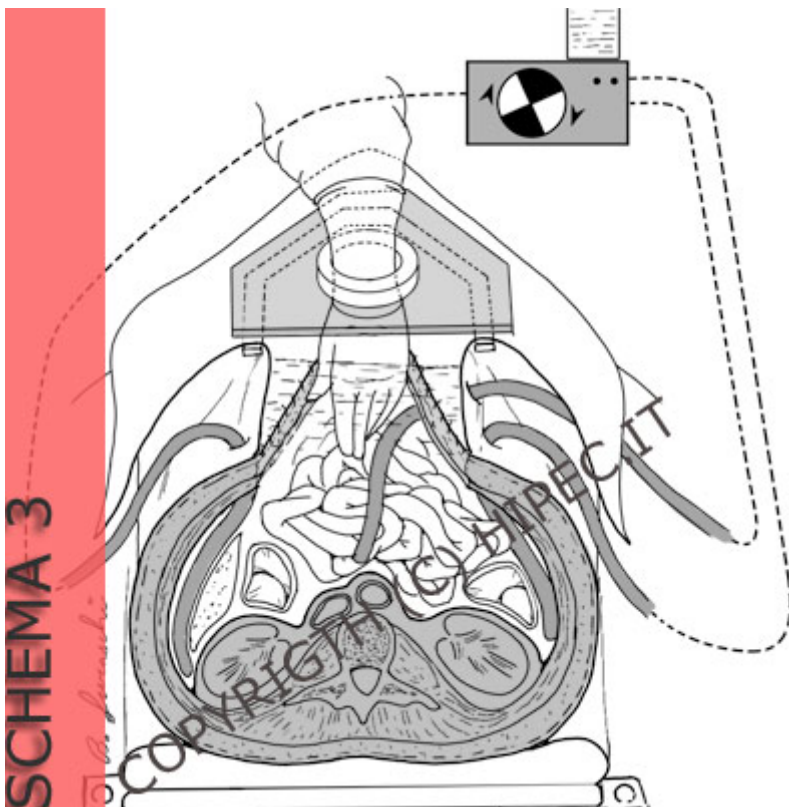
Si inizia l' HIPEC utilizzando la macchina per chemioipertermia e il chirurgo muove costantemente i visceri in modo da consentire un ottimale diffusione della soluzione di chemioterapico. Al termine del lavaggio secondo i tempi di volta in volta previsti per la specifica patologia si rimuove il sistema e si procede alla chiusura della parete addominale, dopo aver effettuato le eventuali anastomosi rese necessarie dalle procedure di exeresi viscerale messe in atto.

Con questa tecnica può verificarsi una fuoriuscita di soluzione di chemioterapico e possono verificarsi emanazioni di vapori o formazioni di aerosol. Nonostante le precauzioni esiste un potenziale rischio di esposizione del personale della sala operatoria alla contaminazione da parte del chemioterapico attraverso la cute, l'apparato respiratorio, digestivo od oculare. Si impone pertanto la disposizione una accurata procedura tesa a diminuire i rischi di contaminazione e la utilizzazione di presidi idonei a tutelare adeguatamente il personale e l'ambiente della sala operatoria. Tutto questo si riflette sulla durata, dal momento che l'allestimento di questo sistema comporta un prolungamento sensibile dei tempi della procedura nel suo complesso.

Va comunque sottolineato che il problema dell'esposizione è ridimensionato da studi specifici che hanno dimostrato come l'area a rischio sia molto limitata e sia delimitabile alle più dirette vicinanze rispetto alla area di intervento.

C) HIPEC CHIUSO AD ADDOME APERTO

Per contenere ulteriormente i rischi di contaminazione è stata recentemente proposta una variante tecnica (closed HIPEC with open abdomen), che ha come scopo quello di ridurre sostanzialmente i rischi di contaminazione ambientale mantenendo la possibilità di manipolare il contenuto intestinale durante l' HIPEC. Per ottenere questo risultato si utilizza uno speciale "latex" che viene fissato ai margini della incisione cutanea della laparotomia mediana opportunamente sagomata alle estremità. Il latex viene quindi fissato ermeticamente ad un supporto trasparente rigido munito di una porta di ingresso circolare, ermetica, che consente l'introduzione del braccio come per la tecnica precedente. Una volta terminato l'allestimento e introdotto il braccio si dà inizio all'HIPEC, che procede come descritto per la tecnica "Coliseum". I vantaggi previsti riguarderebbero la sostanziale diminuzione dei rischi ambientali. Anche in questo caso uno svantaggio è rappresentato dal prolungamento dei tempi di esecuzione. Non vanno sottovalutati anche i costi che risultano ovviamente amplificati trattandosi di materiale disposable.



A prescindere dalla tecnica utilizzata per l'HIPEC, non sono state dimostrate finora significative differenze riguardo alla efficacia e i diversi autori utilizzano la tecnica che ritengono migliore e per la quale hanno maggiore dimestichezza.

INDICAZIONI PER LA PROCEDURA HIPEC

Sin dagli anni '70 del secolo scorso sulla base gli studi pionieristici di De Vita e di Sugarbaker, da parte del National Cancer Institute (USA) sono stati proposti protocolli di chemioterapia intraperitoneale nei casi di recidiva da carcinosi, inizialmente per il carcinoma ovarico che tra tutti è quello con maggiore tendenza alla diffusione peritoneale, ma successivamente le indicazioni sono state estese alla carcinosi correlata al carcinoma gastrico ed al carcinoma coloretale. Ciò premesso di seguito le indicazioni alla procedura HIPEC:

- pazienti affetti da carcinosi peritoneale sottoposti a citoriduzione chirurgica ottimale (peritonectomia) ed exeresi radicale del tumore primitivo
- pazienti con mesotelioma peritoneale in cui ne sia stata effettuata una citoriduzione chirurgica ottimale
- pazienti affetti da pseudomixoma peritonei sottoposti a citoriduzione chirurgica ottimale
- pazienti affetti da carcinoma del tubo digerente complicato da perforazione (sicchè la disseminazione di cellule neoplastiche al peritoneo è inevitabile), dopo che sia stato eseguito il trattamento exeretico-ablativo del tumore primitivo e la toilette chirurgica del cavo peritoneale
- pazienti affetti da adenocarcinoma gastrico o coloretale con citologia positiva

INTERVENTO DI CITORIDUZIONE CON PERITONECTOMIA

La carcinosi peritoneale diffusa è una malattia a prognosi severa, con mortalità a sei mesi del 100% nei casi non trattati. Rappresenta l'evoluzione delle neoplasie degli organi addominali anche se, in misura minore, può presentarsi come stadio terminale di tumori extra-addominali. Rari sono i casi primitivi (mesoteliomi). L'impianto sulla superficie del peritoneo è una delle tre differenti vie di disseminazione delle neoplasie maligne assieme alla via ematica e a quella linfatica.

La carcinosi peritoneale è diventata una malattia relativamente frequente a causa dell'incremento dei casi di carcinomi del colon, dell'ovaio e dello stomaco. Infatti, il 10% circa dei pazienti affetti da carcinoma del colon (circa 50.000 nuovi casi all'anno in Italia) presenta una carcinosi peritoneale al momento della diagnosi del tumore primitivo. Il peritoneo inoltre è, dopo il fegato, il sito di diffusione neoplastica più frequente dopo trattamento curativo di un carcinoma del colon. Infatti il 10 - 35% dei pazienti con recidiva presenta una carcinosi peritoneale. Nei tumori ovarici

(circa 10.000 casi ogni anno in Italia) la carcinosi si presenta nel 75% dei casi al momento della prima diagnosi allo stadio 3 - 4. Il carcinoma gastrico presenta localizzazioni peritoneali nel 30 - 50% dei casi con malattia avanzata.

Lo sviluppo di nuove tecnologie e di presidi terapeutici chirurgici assieme a nuove disponibilità di mezzi in ambito anestesiologicalo ha consentito di trattare negli ultimi anni la carcinosi peritoneale con procedure chirurgiche aggressive asportando tutti gli organi interessati dalla malattia (ma non indispensabili per la sopravvivenza), ivi compreso il peritoneo: la cosiddetta citoriduzione con peritonectomia. Nel corso dell'intervento chirurgico viene associato un trattamento loco - regionale di chemioipertermia intraperitoneale (CIIP o HIPEC nella terminologia anglosassone).

La chemioterapia intraperitoneale nella cavità addominale dà una percentuale elevata di risposta, giacché "la barriera plasmatica-peritoneale" consente di tollerare dosi intensive di terapia. Le particelle chemioterapiche di peso molecolare elevato, come ad esempio la Mitomicina C, rimangono nella cavità addominale per lunghi periodi di tempo. Pertanto somministrando farmaci per via peritoneale si può aumentare notevolmente il tempo d'esposizione della superficie peritoneale a molecole farmacologicamente attive che attraversano il peritoneo gradualmente, ciò che non si verifica nella somministrazione per via endovenosa.

Alla chemioterapia si associa l'ipertermia che agisce in sinergismo, come dianzi già esposto, incrementando l'attività citotossica locale.

L'effetto selettivo di distruzione della cellula tumorale è ottenuto a temperature tra i 41 e 45°C.

I principali meccanismi responsabili della morte cellulare sembrano essere:

- la denaturazione proteica (con alterazioni del citoscheletro e delle membrane)
- alterazioni d'enzimi complessi (per la sintesi e la riparazione del DNA).

Alterazioni nella sintesi proteica sono state inoltre osservate in cellule sottoposte a trattamento ipertermico, accompagnate a denaturazione proteica, aggregazione di proteine alla matrice nucleare ed induzione della sintesi di proteine da shock termico (HSP: Heat Shock Proteins). Queste sono sintetizzate in risposta ad uno stress termico e sono espresse sulla superficie delle cellule tumorali. Sembrano avere un effetto sull'immunogenicità tumorale.

L'ipertermia è in grado inoltre di potenziare l'attività citotossica d'alcuni farmaci antitumorali con effetto:

1. “additivo/sopra-additivo” come avviene quando si utilizzano i farmaci composti del platino: in questi casi si osserva un incremento lineare dell’attività citotossica del farmaco all’aumentare della temperatura (da 40.5°C a 43°C)
2. “soglia” come avviene con i farmaci antibiotici antitumorali quale l’Adriamicina, in cui non si osserva potenziamento dell’attività citotossica del farmaco al di sotto di una determinata temperatura (42 - 43°C).

I migliori effetti di chemiosensibilizzazione termica si ottengono quando il calore ed il farmaco vengono somministrati simultaneamente o con breve intervallo intercorrente. Il potenziamento termico dell’attività dei farmaci antitumorali si basa su modificazioni, indotte dal calore nella farmacodinamica e farmacocinetica del composto, rilevanti per il suo effetto antitumorale.

Nei casi di carcinosi diffusa interessanti più organi l’intervento maggiore è rappresentato dall’asportazione del peritoneo parietale, del grande e del piccolo omento, della milza, del colon, dell’utero e delle ovaie oltre che della neoplasia primitiva e nell’introduzione nella cavità addominale di soluzione ipertermica con farmaci chemioterapici.

In caso di disseminazione localizzata della carcinosi si può procedere alla peritonectomia distrettuale.

Il grado di disseminazione della carcinosi a carico del peritoneo viene valutata attraverso una misurazione che prende il nome di indice di carcinosi peritoneale “PCI” che valuta l’estensione della malattia. Tale indice viene definito dopo la completa esplorazione della cavità addominale.

I chemioterapici penetrano più facilmente nelle cellule neoplastiche quando la temperatura raggiunge i 42 gradi e quando i noduli metastatici sono inferiori a 2.5 mm.

In particolare, per quanto riguarda il carcinoma gastrico, in corso dell’intervento chirurgico viene effettuato un prelievo citologico del liquido peritoneale e un prelievo istologico della sierosa peritoneale in estemporanea, e in caso di risposta positiva si procede oltre all’asportazione del tumore alla peritonectomia completa o distrettuale a seconda della localizzazione, associata come detto alla HIPEC.

Nei casi in cui è presente una carcinosi peritoneale diffusa con interessamento del mesentere non è indicato alcun trattamento chirurgico radicale né tanto meno chemioipertermia.

Questo moderno approccio terapeutico, secondo la letteratura più recente, ha migliorato la sopravvivenza e ha ridotto le recidive.

CARCINOSI DA CA GASTRICO

Nel carcinoma gastrico, la modalità di diffusione ai linfonodi è la più frequente, ma nel 10-20% dei casi sono presenti noduli di carcinosi al momento della diagnosi. Inoltre nonostante interventi chirurgici di resezione gastrica o di gastrectomia totale etichettati R0, all'incirca nel 60% dei casi di carcinoma gastrico T4, si osserverà la recidiva peritoneale in forma di carcinosi. Soprattutto a rischio l'istotipo con le caratteristiche del carcinoma diffuso secondo la classificazione di Lauren (la terminologia più recente lo definisce "carcinoma a cellule non coese", a differenza del carcinoma del tipo intestinale che tende ad accrescersi in maniera espansiva).

Il trattamento chirurgico è l'unico approccio terapeutico in grado di ottenere, anche da solo, la guarigione dal tumore. Infatti nel cancro gastrico precoce la terapia chirurgica può essere risolutiva e la sopravvivenza a 5 anni può raggiungere il 95%. Purtroppo più della metà dei tumori gastrici viene diagnosticata in fase avanzata e solo il 20% dei malati si presenta con malattia resecabile e chirurgicamente guaribile. Di conseguenza i fattori che determinano la tattica chirurgica sono:

- il grado di infiltrazione del tumore e la sua estensione nella parete dello stomaco.
- l'interessamento dei linfonodi.
- l'infiltrazione degli organi e delle strutture contigue.
- la carcinosi peritoneale.
- le metastasi al fegato.
- il tipo istologico del tumore.
- le condizioni generali del paziente.

Per questi motivi in tutti i tumori del tratto gastrointestinale all'atto dell'intervento è indicato eseguire nella donna la ovariectomia profilattica ed in entrambi i sessi la citologia peritoneale in forma di washing e biopsie random del peritoneo, per svelare appunto un eventuale iniziale diffusione microscopica al peritoneo.

Recentemente sono stati pubblicati i dati di un trial randomizzato prospettico su 248 pazienti affetti da carcinoma gastrico, nei quali la HIPEC era stata associata alla chirurgia tradizionale; i risultati

della sopravvivenza a distanza sono stati statisticamente significativi per le neoplasie avanzate, con sopravvivenza a 5 anni del 49% nei pazienti sottoposti a CIIP associata a chirurgia rispetto al 18% nei pazienti con sola chirurgia. E' quindi fortemente ipotizzabile un miglioramento nelle incidenze delle recidive locali e delle sopravvivenze globali nel cancro dello stomaco avanzato, associando asportazione di organo, peritonectomia distrettuale e chemioterapia locoregionale. In definitiva siamo di fronte ad una rivoluzione di pensiero: se le carcinosi peritoneali non sono più considerate malattie sistemiche incurabili, la peritonectomia associata a chemioterapia intraperitoneale ed ipertermia ne rappresenta la risposta terapeutica più razionale e moderna.

CARCINOSI DA CA COLON

Interessanti risultati sono stati recentemente pubblicati da Glehen riguardanti uno studio retrospettivo condotto su 506 pazienti sottoposti a peritonectomia ed HIPEC; a questo studio hanno concorso i più importanti centri italiani. La sopravvivenza mediana globale è stata di 19,2 mesi; i pazienti che hanno ottenuto una citoriduzione completa, hanno avuto una prognosi migliore con una sopravvivenza mediana di 32,4 mesi. La completezza della citoriduzione si è rivelata essere una variabile statisticamente significativa ($p < .001$). Infine, Verwaal- Zoetmuller e coll. hanno condotto uno studio prospettico in cui 105 pazienti affetti da CP da carcinoma coloretale. Il braccio sperimentale prevedeva la CCR associata alla HIPEC, seguita da chemioterapia sistemica mentre il braccio controllo prevedeva la terapia standard con chemioterapia sistemica (5-fluorouracile-leucovorin) con o senza chirurgia palliativa. Il gruppo sperimentale ha presentato un vantaggio di sopravvivenza significativo rispetto al gruppo controllo.

L'HIPEC nel carcinoma coloretale con le appropriate indicazioni costituisce pertanto un presidio terapeutico estremamente importante. Contestualmente all'intervento di resezione colica vengono eseguito anche l'eventuale trattamento di metastasi con resezioni epatiche o mediante termoablazione con radiofrequenza.

NUOVE PROSPETTIVE PER L'IMPIEGO DELL'HIPEC

Ci sono studi in corso rivolti ad identificare nel preoperatorio di pazienti con carcinoma gastrointestinale, quelli a rischio di carcinosi, selezionando ad esempio quelli con citologia peritoneale positiva. La positività della citologia peritoneale infatti è un indice prognostico negativo che riduce la sopravvivenza a 5 anni, perché esprime un rischio di recidiva peritoneale del tumore e perché testimonia un tumore in stadio avanzato. L'esame della citologia peritoneale, eseguito nel preoperatorio, potrà pertanto venire utilizzato per programmare sin dal 1° intervento chirurgico, in

caso di positività citologica ma in assenza di carcinosi manifesta, la combinazione con la chemioipertermia intraperitoneale (HIPEC).

La realizzazione routinaria di questi studi richiederebbe l'esecuzione preoperatoria di una videolaparoscopia di stadiazione, in modo tale da esplorare la superficie peritoneale, escludere la presenza macroscopica di carcinosi (chè in tal caso è già indicato praticare la peritonectomia e l'HIPEC) ed effettuare il rilievo dello studio citologico (mediante washing o aspirazione di eventuale versamento ascitico). I risultati attesi sono di vedere ridotta in maniera significativa l'incidenza delle recidive peritoneali, soprattutto per il carcinoma coloretale che manifesta una buona chemiosensibilità; per il carcinoma gastrico le aspettative sono minori.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

La procedura HIPEC rappresenta oggi un presidio estremamente importante, indispensabile quando ci si cimenta con i tumori del tratto gastrointestinale, in stadio avanzato, con carcinosi peritoneale, macroscopicamente evidente o soltanto rilevabile a livello microscopico. E' una procedura complessa che dati i costi e l'impiego di professionalità specializzate, si può attuare solo in pochi ospedali di riferimento per ogni singola regione. La peritonectomia rientra tra gli interventi di chirurgia maggiore e richiede un notevole impegno orario per la sala operatoria. L'HIPEC integra l'atto chirurgico di exeresi del tumore primitivo e della peritonectomia secondo i canoni dianzi riportati e richiede personale medico ed infermieristico dedicato alla metodica.

BIBLIOGRAFIA

- 1. Young-Fadok TM, Wolff BG, Nivatvongs S, Metzger PP, Ilstrup DM**
 Prophylactic oophorectomy in colorectal carcinoma: preliminary results of a randomized, prospective trial.
Dis Colon Rectum. 1998 Mar; 41 (3):277-83; discussion 283-5.
- 2. Sugarbaker PH.**
 Patient selection and treatment of peritoneal carcinomatosis from colorectal and appendiceal cancer.
World J Surg. 1995;19:235-240.
- 3. Rosen HR, Jatzko G, Repse S, Potrc S, Neudorfer H, Sandbichler P, Zacherl J, Rabl H, Holzberger P, Lisborg P, Czejka M.**
 Adjuvant intraperitoneal chemotherapy with carbon-adsorbed mitomycin in patients with gastric cancer: results of a randomized multicenter trial of the Austrian Working Group for Surgical Oncology.
J Clin Oncol. 1998 Aug;16(8):2733-8
- 4. Crookes, P; Leichman, C G; Leichman, L; Tan, M; Laine, L; Stain, S; Baranda, J; Casagrande, Y; Groshen, S; Silberman, H**
 Systemic chemotherapy for gastric carcinoma followed by postoperative intraperitoneal therapy: a final report.
1997 May;79(9):1767-1775, Cancer — id: 164169, year: 1997, vol: 79, page: 1767
- 5. Tsujitani S, Okuyama T, Watanabe A, Abe Y, Maehara Y, Sugimachi K.**
 Intraperitoneal cisplatin during surgery for gastric cancer and peritoneal seeding.
Anticancer Res. 1993 Sep-Oct;13(5C):1831-4
- 6. Yu W, Whang I, Suh I, Averbach A, Chang D, Sugarbaker PH.**
 Prospective randomized trial of early postoperative intraperitoneal chemotherapy as an adjuvant to resectable gastric cancer.
Ann Surg. 1998 Sep;228(3):347-54
- 7. Elias DM, Pocard M.**
 Treatment and prevention of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer.
Surg Oncol Clin N Am. 2003 Jul;12(3):543-59

8. Jayne DG, Fook S, Loi C, Seow-Choen F.

Peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer.

Br J Surg. 2002 Dec;89(12):1545-50

9. Gonzalez RJ, Mansfield PF.

Adjuvant and neoadjuvant therapy for gastric cancer.

Surg Clin North Am. 2005 Oct;85(5):1033-51

10. Newman E, Potmesil M, Ryan T, Marcus S, Hiotis S, Yee H, Norwood B, Wendell M, Muggia F, Hochster H.

Neoadjuvant chemotherapy, surgery, and adjuvant intraperitoneal chemotherapy in patients with locally advanced gastric or gastroesophageal junction carcinoma: a phase II study.

Semin Oncol. 2005 Dec;32(6 Suppl 9):S97-100

11. Yu W, Whang I, Chung HY, Averbach A, Sugarbaker PH.

Indications for early postoperative intraperitoneal chemotherapy of advanced gastric cancer: results of a prospective randomized trial.

World J Surg. 2001 Aug;25(8):985-90

12. Sugarbaker PH

Surgical management of locally recurrent and metastatic colorectal cancer

in Atlas of Surgical Oncology, CP Karakousis et al (eds). Philadelphia, Saunders, 1995, pp 671-692.

13. Sugarbaker PH

Peritoneal Carcinomatosis: Principles of Management.

Kluwer, Boston, 1996

14. Sugarbaker PH

Peritoneal carcinomatosis from appendiceal cancer: A paradigm for treatment of abdomino-pelvic dissemination of gastrointestinal malignancy.

Acta Chirurgica Austriaca 28:4-8, 1996

15. Sugarbaker PH

Peritonectomy procedures, In Peritoneal Carcinomatosis: Principles of Management, PH Sugarbaker (ed);

Boston, Kluwer, 1996, pp 235-262,

16. Sugarbaker PH, Graves T, DeBruijn EA, Cunliffe WJ Mullins RE, Hull WE, Oliff L, Schlag P

Rationale for early postoperative intraperitoneal chemotherapy (EPIC) in patients with advanced gastrointestinal cancer.

Cancer Res 50:5790-5794, 1990

17. Sugarbaker PH, Gianola FJ, Speyer JL, Wesley R, Barofsky I, Meyers CE

Prospective randomized trial of intravenous versus intraperitoneal 5-fluorouracil in patients with advanced primary colon or rectal cancer.

Surgery 98:414-421, 1985

18. Sugarbaker PH, Yonemura Y

Clinical Pathway for the Management of Resectable Gastric Cancer with Peritoneal Seeding: Best Palliation with a Ray of Hope for Cure.

Oncology 58:96, 2000

19. Sugarbaker PH et al

Management of pseudomyxoma peritonei of appendiceal origin.

Adv Surg 30:233-280, 1997

20. Sugarbaker PH, Schellinx MET, Chang D, Koslowe P, von Meyerfeldt

Peritoneal carcinomatosis from adenocarcinoma of the colon.

World J Surg 20:585-592, 1996

Altre referenze bibliografiche sull'argomento

1) Alonso K., Pontiggia P., Sabato A. et al: Systemic hyperthermia in the treatment of HIV related disseminated Kaposi's Sarcoma. Long term follow-up of patients treated with low flow extracorporeal perfusional hyperthermia. *Am. J. Clin. Oncol.* , 17: 353, 1994

2) Di Filippo F., Carlini S., Cavaliere F., Giannarelli D., Cavallero L. et al: The role of hyperthermic perfusion in the treatment of tumors of the extremities. In: "Consensus on hyperthermia for the 1990's". *Adv. Exp. Med. And Biol.* Vol 267, Plenum Press 1990

3) Leveen H., Wapnick G., Piccone V.A., Falk G. and Ahmed N.: Tumor eradication by radiofrequency thermotherapy. *Jama* , 235, 2198, 1976

- 4) Streffer C.: Metabolic changes during and after hyperthermia. *Int. Journal of hyperthermia* , 1: 305, 1985
- 5) Pontiggia P., Mc Laren J., Baronzio G., Freitas I.: The biological response to heat. In: "Consensus on hyperthermia for the 1990's", *Adv. Exp. Med. And Biol . Vol. 267*, Plenum Press, 1990.
- 6) Dahl O.: Mechanisms of thermal enhancement of chemotherapeutic cytotoxicity in hyperthermia and oncology. Urano and Douple Eds. VPS Utrecht, 1994
- 7) Pontiggia P. Mathè G.: A new mode of cancer cell death induced by hyperthermia and non specific (macrophagic) cancer immunotherapy: lysosomal exocytosis. *Biomed . Pharmacother.:* 48, 331, 1994
- 8) Pontiggia P., Barni S. Mathè G., Bertone V. Pontiggia E.: Lysosomal exocytosis induced by hyperthermia: a new model of cancer death II- Effect on peritoneal macrophages. *Biomed. Pharmacother .* 49, 1995
- 9) Los G., Van Vugt MJH, Pinedo HM: Response of peritoneal solid tumors after intraperitoneal chemohyperthermia treatment with Cisplatin or Carboplatin. *Br. J. Cancer* 1994; 69. 235-41
- 10) Rau B., Wust P., Hohenberger P., Loffel H.M., Below C. et al: Preoperative hyperthermia combined with radiochemotherapy in locally advanced rectal cancer. *Annals of Surgery* 227, 3, 380-389; 1998
- 11) Reitbroek R., Schglthuis M, bakker P., Van Dijk J, Postma A. et al: Phase II trial of weekly locoregional hyperthermia and Cisplatin in patients with previously irradiated recurrent carcinoma of uterine cervix. *Cancer* 1997; 79: 935-43
- 12) Lucchetti F., Burattini S., Ferri P., Papa S., Falcieri E.: Actin involvement in apoptotic chromatin changes of hemopoietic cells undergoing hyperthermia. *Apoptosis* 2002 ; 7(2): 143-52
- 13) Wachsberger P., Burd R. Wahl M, Leeper D.B.: Betulinic acid sensitization of low pH adapted human melanoma cells to hyperthermia. *Int. J. Hyperthermia* 2002; 18 (2): 153-64
- 14) Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O., Dieing A.,Kerner T. et al: The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit. Rev. Oncol. Hematol* 2002; 43 (1): 33-56

- 15) Yuguchi T., Saito M., Yokoyama Y, Nagata T. Sakamoto T. Tsukada K.: Combined use of hyperthermia and irradiation cause antiproliferative activity and cell death to human esophageal carcinoma cells: mainly cycle examination. *Hum. Cell* 2002; 15 (1) 33-42
- 16) Wust P. Hildebrandt B., Sreenivasa G., Rau B. Gellermann J. et al: Hyperthermia in combined treatment of cancer. *Lancet Oncol* 2002; 3 (8); 487-97
- 17) Li G.C., Mivechi N. and Weitzel G.: Heat shock proteins, thermotolerance and their relevance for clinical hyperthermia. *Int. J. Hyperthermia* 1995; 11, 459-488
- 18) Field SB, Franconi C, editors. *Physics and Technology of Hyperthermia* . Boston: Nijhoff, 1987
- 19) RA Read and JS Bedford. Thermal tolerance *Br J Radiol* 1980. 53: 920-921
- 20) Hahn GM, Adwankar MK, Basrur VS, Anderson RL. Survival of cells exposed to anticancer drugs after stress. In: Pardue ML, Feramisco JR, Lindquist S. *Stress-Induced Proteins* . New York, NY: Liss; 1989. p. 223-233
- 21) Hiraoka and GM Hahn. Changes in pH and blood flow induced by glucose and their effects on hyperthermia with or without BCNU in RIF-1 tumours *Int J Hypertherm* 1990. 6: 97-103
- 22) Morimoto RI, Tissieres A, Georgopoulos C. *Stress Proteins in Biology and Medicine*. Cold Spring Harbor, New York. 1990.
- 23) HI Robins, A Hugander, and JD Cohen. Whole body hyperthermia in the treatment of neoplastic disease *Radiol Clin North Am* 1989. 27: 603-610.
- 24) TV Samulski, ST Clegg, S Das, J MacFall, and DM Prescott. Application of new technology in clinical hyperthermia *Int J Hypertherm* 1994. 10: 389-394.
- 25) JR Oleson, TV Samulski, KA Leopold, ST Clegg, MW Dewhirst, RK Dodge, and SL George. Sensitivity of hyperthermia trial outcomes to temperature and time: implications for thermal goals of treatment *Int J Radiat Oncol . Biol Phys* 1993. 25: 289-297.
- 26) DS Kapp and R Cox. Thermal treatment parameters are most predictive of outcome in patients with single tumor nodules per treatment field in recurrent adenocarcinoma of the breast *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995. 33: 887-899.

- 27) J van der Zee, GC van Rhoon, JL Wike-Hooley, NS Faithfull, and HS Reinhold. Whole-body hyperthermia in cancer therapy: a report of a phase I-II study *Eur J Cancer Clin Oncol* 1983. 19: 1189-1200.
- 28) M Serin, HS Erkal, and A Cakmak. Radiation therapy, cisplatin and hyperthermia in combination in management of patients with recurrent carcinomas of the head and neck with metastatic cervical lymph nodes *Int J Hyperthermia* 1999. 15: 371-381.
- 29) CC Vernon. International Collaborative Hyperthermia Group. Radio therapy with or without hyperthermia in the treatment of superficial localized breast cancer: results from five randomized controlled trials *Int J Radiol Oncol Biol Phys* 1996. 35: 731-744.
- 30) J Overgaard, D Gonzalez Gonzalez, MCCM Hulshof, G Arcangeli, O Dahl, O Molls, and SM Bentzen. Randomized trial of hyperthermia as adjuvant to radiotherapy for recurrent or metastatic malignant melanoma *Lancet* 1995. 345: 540-543.
- 31) R Valdagni and M Amichetti. Report of long-term follow-up in a randomized trial comparing radiation therapy and radiation therapy plus hyperthermia to metastatic lymph-nodes in Stage IV head and neck patients *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994. 28: 163-169.
- 32) IA Petersen and DS Kapp. Local hyperthermia and radiation therapy in the retreatment of superficially located recurrences in Hodgkin's disease *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990. 18: 603-611
- 33) T Sakamoto, H Katoh, T Shimizu, I Yamashita, S Takemori, K Tazawa, and M Fujimaki. Clinical results of treatment of advanced esophageal carcinoma with hyperthermia in combination with chemoradiotherapy *Chest* 1997. 112: 1487-1493.
- 34) LH Hartwell and TA Weinert. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events *Science* 1989. 246: 629-634.
- 35) DO Morgan. Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors *Ann Rev Cell Dev Biol* 1997. 13: 261-291.
- 36) G Zugmaier and ME Lippman. Effects of TGF beta on normal and malignant mammary epithelium *Ann N Y Acad Sci* 1990. 593: 272-275.
- 37) BJ Druker, HJ Mamon, and TM Roberts. Oncogenes, growth factors, and signal transduction *N Engl J Med* 1989. 321: 1383-1391.

- 38) AB Pardee. G1 events and regulation of cell proliferation *Science* 1989. 246: 603-608.
- 39) DW Goodrich, NP Wang, YW Qian, EY Lee, and WH Lee. The retinoblastoma gene product regulates progression through the G1 phase of the cell cycle *Cell* 1991. 67: 293-302.
- 40) S Barni, P Pontiggia, V Bertone, R Vaccarone, MG Siulvotti, E Pontiggia, G Mathè. Hyperthermia-induced cell death by apoptosis in myeloma cells. *Biomed Pharmacother* 2001; 55: 170-3
- 41) V Bertone, S Barni, MG Silvotti, I Freitas, G Mathè et al. Hyperthermic effect on the human metastatic liver: a TEM study. *Anticancer Res.* 1997; 17: 4713-6
- 42) A Amundson, TG Myers, AJ Fornace, and Jr. Roles for p53 in growth arrest and apoptosis: putting on the brakes after genotoxic stress *Oncogene* 1998. 17: 3287-3299
- 43) JI Fabrikant and J Cherry. The kinetics of cellular proliferation in normal and malignant tissues. V. Analysis of labeling indices and potential tissue doubling times in human tumor cell populations *J Surg Oncol* 1969. 1: 23-47.
- 44) K Fukuda, T Iwasaka, and T Hachisuga et al . Immunocytochemical detection of S-phase cells in normal and neoplastic cervical epithelium by anti-BrdU monoclonal antibody *Anal Quant Cytol Histol* 1990. 12: 135-138.
- 45) L Teodori, ML Trinca, and W Goehde et al . Cytokinetic investigation of lung tumors using the anti-bromodeoxyuridine (BUdR) monoclonal antibody method: comparison with DNA flow cytometric data *Int J Cancer* 1990. 45: 995-1001.
- 46) G Weber. Biochemical strategy of cancer cells and the design of chemotherapy: G. H. A. Clowes Memorial Lecture *Cancer Res* 1983. 43: 3466-3492.
- 47) R Juliano. Cooperation between soluble factors and integrin-mediated cell anchorage in the control of cell growth and differentiation *Bioessays* 1996. 18: 911-917.
- 48) M Hall and G Peters. Genetic alterations of cyclins, cyclin-dependent kinases, and Cdk inhibitors in human cancer *Adv Cancer Res* 1996. 68: 67-108.
- 49) CJ Sherr. Cancer cell cycles *Science* 1996. 274: 1672-1677.
- 50) A Kamb. Cyclin-dependent kinase inhibitors and human cancer *Curr Top Microbiol Immunol* 1998. 227: 139-148

- 51) DW Goodrich and WH Lee. The molecular genetics of retinoblastoma *Cancer Surveys* 1990. 9: 529-554
- 52) C Prives and PA Hall. The p53 pathway *J Pathol* 1999. 187: 112-126.
- 53) M Akashi and HP Koeffler. Li-Fraumeni syndrome and the role of the p53 tumor suppressor gene in cancer susceptibility *Clin Obstet Gynecol* 1998. 41: 172-199
- 54) N Weidner, PR Carroll, J Flax, W Blumenfeld, and J Folkman. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma *Am J Pathol* 1993. 143: 401-409.
- 55) N Weidner, JP Semple, WR Welch, and J Folkman. Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma *N Engl J Med* 1991. 324: 1-8.
- 56) LR Bernstein and LA Liotta. Molecular mediators of interactions with extracellular matrix components in metastasis and angiogenesis *Curr Opin Oncol* 1994. 6: 106-113.
- 57) B Mintz and RA Fleischman. Teratocarcinomas and other neoplasms as developmental defects in gene expression *Adv Cancer Res* 1981. 34: 211-278.
- 58) MF Pittenger, AM Mackay, and SC Beck et al . Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells *Science* 1999. 284: 143-147.
- 59) JJ Wille Jr , PB Maercklein, and RE Scott. Neoplastic transformation and defective control of cell proliferation and differentiation *Cancer Res* 1982. 42: 5139-5146.
- 60) DB Rifkin and D Moscatelli. Recent developments in the cell biology of basic fibroblast growth factor *J Cell Biol* 1989. 109: 1-6.
- 61) E Rozengurt. Early signals in the mitogenic response *Science* 1986. 234: 161-166
- 62) HL Moses, EY Yang, and JA Pietenpol. TGF-beta stimulation and inhibition of cell proliferation: new mechanistic insights *Cell* 1990. 63: 245-247.
- 63) M Peter and I Herskowitz. Joining the complex: cyclin-dependent kinase inhibitory proteins and the cell cycle [comment] *Cell* 1994. 79: 181-184.
- 64) CJ Sherr. G1 phase progression: cycling on cue [see comments] *Cell* 1994. 79: 551-555.
- 65) JL Bennington. Cellular kinetics of invasive squamous carcinoma of the human cervix *Cancer Res* 1969. 29: 1082-1088.

- 66) V Castronovo, M Kusaka, A Chariot, J Gielen, and M Sobel. Homeobox genes: potential candidates for the transcriptional control of the transformed and invasive phenotype *Biochem Pharmacol* 1994. 47: 137-143
- 67) A McCormick and J Campisi. Cellular aging and senescence *Curr Opin Cell Biol* 1991. 3: 230-234.
- 68) R Singal and GD Ginder. DNA methylation *Blood* 1999. 93: 4059-4070.
- 69) AP Feinberg and B Vogelstein. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts *Nature* 1983. 301: 89-92.
- 70) SE Goetz, B Vogelstein, SR Hamilton, and AP Feinberg. Hypomethylation of DNA from benign and malignant human colon neoplasms *Science* 1985. 228: 187-190.
- 71) M Carlsson, TH Totterman, P Matsson, and K Nilsson. Cell cycle progression of B-chronic lymphocytic leukemia cells induced to differentiate by TPA *Blood* 1988. 71: 415-421
- 72) Gorstein F, Thor A. Tumor markers in diagnostic pathology. In *Clinics in Laboratory Medicine*. Edited by F Gorstein, A Thor. Philadelphia: WB Saunders, 1990.
- 73) M Reiss, C Gamba-Vitalo, and AC Sartorelli. Induction of tumor cell differentiation as a therapeutic approach: preclinical models for hematopoietic and solid neoplasms *Cancer Treat Rep* 1986. 70: 201-218
- 74) Waxman S, Rossi GB, Takaku F. *The Status of Differentiation Therapy of Cancer*. New York: Raven, 1988.
- 75) M Andreeff, R Stone, and J Michaeli et al . Hexamethylene bisacetamide in myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia: A Phase II clinical trial with a differentiation-inducing agent *Blood* 1992. 80: 2604-2609.
- 76) TR Breitman, SJ Collins, and BR Keene. Terminal differentiation of human promyelocytic leukemic cells in primary culture in response to retinoic acid *Blood* 1981. 57: 1000-1004.
- 77) BA Chabner. Biological basis for cancer treatment [comment] *Ann Intern Med* 1993. 118: 633-637.
- 78) BD Cheson, DM Jasperse, HG Chun, and MA Friedman. Differentiating agents in the treatment of human malignancies *Cancer Treat Rev* 1986. 13: 129-145.

- 79) M Andreeff, S Jiang, and X Zhang et al . Expression of bcl-2-related genes in normal and AML progenitors: changes induced by chemotherapy and retinoic acid *Leukemia* 1999. 13: 1881-1892.
- 80) WK Hong, SM Lippman, and LM Itri et al . Prevention of second primary tumors with isotretinoin in squamous-cell carcinoma of the head and neck [see comments] *N Engl J Med* 1990. 323: 795-801.
- 81) FL Meyskens Jr . Coming of age the chemoprevention of cancer [editorial; comment] [see comments] *N Engl J Med* 1990. 323: 825-827.
- 82) JD Rowley, JC Aster, and J Sklar. The clinical applications of new DNA diagnostic technology on the management of cancer patients *JAMA* 1993. 270: 2331-2337.
- 83) JC Reed. Dysregulation of apoptosis in cancer *J Clin Oncol* 1999. 17: 2941-2953.
- 84) MO Hengartner and HR Horvitz. Programmed cell death in *Caenorhabditis elegans* *Curr Opin Genet Dev* 1994. 4: 581-586.
- 85) K Hofmann, P Bucher, and J Tschopp. The CARD domain: a new apoptotic signalling motif *Trends Biochem Sci* 1997. 22: 155-156.
- 86) P Li, D Nijhawan, and I Budihardjo et al . Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade *Cell* 1997. 91: 479-489
- 87) JJ Chou, H Matsuo, H Duan, and G Wagner. Solution structure of the RAIDD CARD and model for CARD/CARD interaction in caspase-2 and caspase-9 recruitment *Cell* 1998. 94: 171-180.
- 88) K Kuida, TF Haydar, and CY Kuan et al . Reduced apoptosis and cytochrome c-mediated caspase activation in mice lacking Caspase 9 *Cell* 1998. 94: 325-337.
- 89) DW Nicholson and NA Thornberry. Caspases: killer proteases *Trends Biochem Sci* 1997. 22: 299-306.
- 90) RV Talanian, C Quinlan, and S Trautz et al . Substrate specificities of caspase family proteases *J Biol Chem* 1997. 272: 9677-9682.
- 91) NA Thornberry, TA Rano, and EP Peterson et al . A combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis *J Biol Chem* 1997. 272: 17907-17911.

- 92) MP Boldin, TM Goncharov, YV Goltsev, and D Wallach. Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in Fas/APO-1- and TNF receptor-induced cell death *Cell* 1996. 85: 803-815.
- 93) M Muzio, AM Chinnaiyan, and FC Kischkel et al . FLICE, a novel FADD1-homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95 (Fas/APO-1) death-inducing signaling complex *Cell* 1996. 85: 817-827.
- 94) L Faleiro, R Kobayashi, H Fearnhead, and Y Lazebnik. Multiple species of CPP32 and Mch2 are the major active caspases present in apoptotic cells *EMBO J* 1997. 16: 2271-2281.
- 95) M MacFarlane, K Cain, XM Sun, ES Alnemri, and GM Cohen. Processing/activation of at least four interleukin-1 beta converting enzyme-like proteases occurs during the execution phase of apoptosis in human monocytic tumor cells *J Cell Biol* 1997. 37: 469-479.
- 96) SM Srinivasula, T Fernandes-Alnemri, and J Zangrilli et al . The CED-3/interleukin-1 beta converting enzyme-like homolog Mch6 and the lamin-cleaving enzyme Mch2 alpha are substrates for the apoptotic mediator CPP32 *J Biol Chem* 1996. 271: 27099-27106.
- 97) X Liu, CN Kim, J Yang, R Jemmerson, and X Wang. Induction of apoptotic programin cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c *Cell* 1996. 86: 147-157.
- 98) J Yang, X Liu, and K Bhalla et al . Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked [see comments] *Science* 1997. 275: 1129-1132.
- 99) DR Green and JC Reed. Mitochondria and apoptosis *Science* 1998. 281: 1309-1312.
- 100) DR Green. Apoptotic pathways: the roads to ruin *Cell* 1998. 94: 695-698.
- 101) H Sakahira, M Enari, and S Nagata. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis [see comments] *Nature* 1998. 391: 96-99.
- 102) N Fujita, A Nagahashi, K Nagashima, S Rokudai, and T Tsuruo. Acceleration of apoptotic cell death after the cleavage of Bcl-XL protein by caspase-3-like proteases *Oncogene* 1998. 17: 1295-1304.
- 103) EH Cheng, DG Kirsch, and RJ Clem et al . Conversion of bcl-2 to a Bax-like death effector by caspases *Science* 1997. 278: 1966-1968.

- 104) RA MacCorkle, KW Freeman, and DM Spencer. Synthetic activation of caspases: artificial death switches Proc Natl Acad Sci U S A 1998. 95: 3655-3660.
- 105) RJ Clem and LK Miller. Control of programmed cell death by the baculovirus genes p35 and iap Mol Cell Biol 1994. 14: 5212-5222.
- 106) N Roy, MS Mahadevan, and M McLean et al . The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in individuals with spinal muscular atrophy Cell 1995. 80: 167-178.
- 107) AG Uren, M Pakusch, CJ Hawkins, KL Puls, and DL Vaux. Cloning and expression of apoptosis inhibitory protein homologs that function to inhibit apoptosis and/or bind tumor necrosis factor receptor-associated factors PNAS 1996. 93: 4974-4978.
- 108) HR Stennicke, QL Deveraux, and EW Humke et al . Caspase-9 can be activated without proteolytic processing J Biol Chem 1999. 274: 8359-8362.
- 109) QL Deveraux, N Roy, and HR Stennicke et al . IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases EMBO J 1998. 17: 2215-2223
- 110) J Dierlamm, M Baens, and I Wlodarska et al . The apoptosis inhibitor gene API2 and a novel 18q gene, MLT, are recurrently rearranged in the t(11;18)(q21;q21)p6 associated with mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas Blood 1999. 93: 3601-3609.
- 111) A Greiner, H Seeberger, C Knorr, P Starostik, and HK Muller-Hermelinck. MALT-type B-cell lymphomas escape the sensing FAS-mediated apoptosis Blood 1998. 92: 484a.
- 112) G Ambrosini, C Adida, and DC Altieri. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma Nat Med 1997. 3: 917-921.
- 113) F Li, G Ambrosini, and EY Chu et al . Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin Nature 1998. 396: 580-584.
- 114) I Tamm, Y Wang, E Sausville, DA Scudiero, N Vigna, T Oltersdorf, and JC Reed. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs Cancer Res 1998. 58: 5315-5320.
- 115) CD Lu, DC Altieri, and N Tanigawa. Expression of a novel antiapoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas Cancer Res 1998. 58: 1808-1812.

- 116) H Kawasaki, DC Altieri, and CD Lu et al . Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer *Cancer Res* 1998. 58: 5071-5074.
- 117) G Ambrosini, C Adida, G Sirugo, and DC Altieri. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting *J Biol Chem* 1998. 273: 11177-11182.
- 118) C Adida, PL Crotty, and J McGrath et al . Developmentally regulated expression of the novel cancer anti-apoptosis gene survivin in human and mouse differentiation *Am J Pathol* 1998. 152: 43-49.
- 119) CA Smith, T Farrah, and RG Goodwin. The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation, and death *Cell* 1994. 76: 959-962.
- 120) S Nagata. Apoptosis by death factor *Cell* 1997. 88: 355-365.
- 121) M Hahne, D Rimoldi, and M Schroter et al . Melanoma cell expression of Fas(Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape *Science* 1996. 274: 1363-1366.
- 122) S Nagata and P Golstein. The Fas death factor *Science* 1997. 267: 1449-1456.
- 123) AM Chinnaiyan, K O'Rourke, M Tewari, and VM Dixit. FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis *Cell* 1995. 81: 505-512.
- 124) AM Chinnaiyan, CG Tepper, and MF Seldin et al . FADD/MORT1 is a common mediator of CD95 (Fas/APO1) and tumor necrosis factor receptor-induced apoptosis *J Biol Chem* 1996. 271: 4961-4965.
- 125) M Muller, S Wilder, and D Bannasch et al . p53 activates the CD95 (APO-1/Fas) gene in response to DNA damage by anticancer drugs *J Exp Med* 1998. 188: 2033-2045.
- 126) LB Owen-Schaub, W Zhang, and JC Cusack et al . Wild-type human p53 and a temperature-sensitive mutant induce Fas/APO-1 expression *Mol Cell Biol* 1995. 15: 3032-3040.
- 127) J Ogasawara, R Watanabe-Fukunaga, and M Adachi et al . Lethal effect of the anti-fas antibody in mice *Nature* 1993. 364: 806-809.
- 128) P Schneider, N Holler, and JL Bodmer et al . Conversion of membrane-bound Fas(CD95) ligand to its soluble form is associated with downregulation of its proapoptotic activity and loss of liver toxicity *J Exp Med* 1998. 187: 1205-1213.

- 129) J Kitson, T Raven, and YP Jiang et al . A death-domain-containing receptor that mediates apoptosis *Nature* 1996. 384: 372-375.
- 130) AM Chinnaiyan, K O'Rourke, and GL Yu et al . Signal transduction by DR3, a death domain-containing receptor related to TNFR-1 and CD95 *Science* 1996. 274: 990-992.
- 131) Y Hitoshi, J Lorens, and SI Kitada et al . Toso, a cell surface, specific regulator of Fas-induced apoptosis in T cells *Immunity* 1998. 8: 461-471.
- 132) RW Johnstone, E Cretney, and MJ Smyth. P-glycoprotein protects leukemia cells against caspase-dependent, but not caspase-independent, cell death *Blood* 1999. 93: 1075-1085.
- 133) WD Thomas and P Hersey. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induces apoptosis in Fas ligand-resistant melanoma cells and mediates CD4 T cell killing of target cells *J Immunol* 1998. 161: 2195-2200.
- 134) V Snell, K Clodi, and S Zhao et al . Activity of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in haematological malignancies *Br J Cancer* 1997. 99: 624.
- 135) M Andreeff, G Wong, B Koziner, E Espiritu, and B Clarkson. Non B-Non T acute lymphoblastic leukemia (ALL): evidence for complete b cell differentiation of a quiescent subpopulation and their response to induction therapy *Proc Am Assoc Cancer Res* 1985. 26: 28.
- 136) MM Keane, SA Ettenberg, MM Nau, EK Russell, and S Lipkowitz. Chemotherapy augments TRAIL-induced apoptosis in breast cell lines *Cancer Res* 1999. 59: 734-741.
- 137) P Golstein. Cell death: trail and its receptors *Curr Biol* 1997. 7: R750-R753.
- 138) H Walczak, RE Miller, and K Ariail et al . Tumoricidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vivo [see comments] *Nat Med* 1999. 5: 157-163.
- 139) L Gibson, SP Holmgreen, and DC Huang et al . Bcl-w, a novel member of the bcl-2 family, promotes cell survival *Oncogene* 1996. 13: 665-675.
- 140) E Yang, J Zha, and J Jockel et al . Bad, a heterodimeric partner for Bcl-XL and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell death *Cell* 1995. 80: 285-291.
- 141) M JJ Hunter, BL Bond, and TG Parslow. Functional dissection of the human Bcl2 protein: sequence requirements for inhibition of apoptosis *Mol Cell Biol* 1996. 16: 877-883.

142) C Borner, I Martinou, and C Mattmann et al . The protein bcl-2 alpha does not require membrane attachment, but two conserved domains to suppress apoptosis J Cell Biol 1994. 126: 1059-1068.

143) T Ito, X Deng, B Carr, and WS May. Bcl-2 phosphorylation required for anti-apoptosis function J Biol Chem 1997. 272: 11671-11673.

144) MV Blagosklonny, T Schulte, P Nguyen, J Trepel, and LM Neckers. Taxol-induced apoptosis and phosphorylation of Bcl-2 protein involves c-Raf-1 and represents a novel c-Raf-1 signal transduction pathway Cancer Res 1996. 56: 1851-1854