

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ Β. ΓΚΙΝΟΠΟΥΛΟΣ



**Κλινικές και Μοριακές Βάσεις
στην Πρόγνωση και Θεραπεία
του Καρκίνου του Πνεύμονα**

ΤΥΡΟΡΑΜΑ / ΙΑΤΡΙΚΗ







ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΒΑΣΕΙΣ
ΣΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ



Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΒΑΣΕΙΣ
ΣΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Πάτρα 2001

ISBN: 960-7620-17-8
Α' Έκδοση: Απρίλιος 2001

Εκδόσεις Tygorama
Ηρώων Πολυτεχνείου 92, Πάτρα
Τηλ: 061 / 430.730, Φαξ: 061 / 430.884
E-mail: info@tygorama.gr

Επιμέλεια: Μαρίνα Παναγιωτοπούλου
Εκτύπωση: Ταχύτυπο, Πάτρα

© 2001, Παναγ. Β. Γκινόπουλος
Μονάδα Χημειοθεραπείας
[Παθολογικό / Ογκολογικό Τμήμα]
ΠΓΝΠ «Άγιος Ανδρέας»
Τηλ: 227.322-3, Φαξ: 225787
E-mail: drginop@mail.otenet.gr

Όλα τα δικαιώματα διατηρούνται από τον εκδότη και τον συγγραφέα. Δεν επιτρέπεται αντιγραφή, παράφραση, διασκευή ή αναπαραγωγή με οποιοδήποτε μέσο, μηχανικό, ηλεκτρονικό, αντιγραφικό ή άλλο, του βιβλίου αυτού ή μέρος του χωρίς την άδεια του εκδότη, σύμφωνα με τον Ν.2121/93 και τις λοιπές περί πνευματικής ιδιοκτησίας διατάξεις.

Στην σύζυγό μου Αφροδίτη και
τους υιούς μου Βασίλειο και Γεώργιο
που με στηρίζουν.

Στους ασθενείς μου δε, που με δίδαξαν τόσα πολ-
λά με την υπόσχεση ότι θα συνεχίσω να
εργάζομαι ακατάπαυστα για την βελτίωση
της επιβίωσής τους και την ποιότητα ζωής τους.



EDITOR

Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος

Παθολόγος

Παθολόγος – Ογκολόγος

Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών

Διευθυντής της Μονάδας Χημειοθεραπείας (Παθ–Ογκ/γικό Τμ.)

Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

Αποστολόπουλος Νικόλαος

Χειρουργός, Αν. Διευθυντής Χειρουργικού Τμήματος

Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Γεωργακόπουλος Παναγιώτης

Πνευμονολόγος, Επιμελητής ΜΕΘ

Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Γιαννιός Ιωάννης

Μοριακός Ογκολόγος, Επιστ. Συνεργάτης Μονάδας Χημειοθεραπείας (Παθ – Ογκ/γικό Τμ.)

Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Γκινόπουλος Β. Παναγιώτης

Παθολόγος, Παθολόγος – Ογκολόγος, Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών,

Διευθυντής της Μονάδας Χημειοθεραπείας (Παθ – Ογκ/γικό Τμ.)

Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Θυμανού Σωτηρία

Εργαστηριακή Αιματολογία – Αιμοδοσία

Τμήμα Ιατρικής Σχολής Επιστημών Υγείας Πανεπιστήμιο Πατρών

Καρβελάς Φώτιος

Χειρουργός, Επιμελητής Α' Χειρουργικού Τμήματος
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Κοκκινόπουλος Παντελής

Μαιευτήρ – Γυναικολόγος
Μ/Γ Κλινική Διώνη, Κόρινθος

Μουζάκη Αθανασία

Επίκουρος Καθηγήτρια
Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Πατρών

Νοτόπουλος Αθανάσιος

Πυρηνικός Ιατρός, Επιμελητής Τμήματος Πυρηνικής Ιατρικής
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Πασχόπουλος Μηνάς

Λέκτορας Μαιευτικής Γυναικολογίας
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Σουγλέρη Μαρία

Ειδ. Παθολόγος, Εμπ. στην Ογκολογία, Επιμελήτρια Μονάδας Χημειοθεραπείας (Παθ– Ογκ/γικό Τμ.)
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Τσώνη Ειρήνη

Ακτινοθεραπεύτρια, Επιμελήτρια Α' Ακτινοθεραπευτικού Τμήματος
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Φελέκης Δημήτριος

Ειδικευόμενος Χειρουργικού Τμήματος
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Φραγκίδης Χρήστος

Παθολόγος, Αναπληρωτής Διευθυντής Παθολογικού Τμήματος
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Χαροκόπος Νικόλαος

Πνευμονολόγος–Φυματιολόγος, Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Πατρών
Επιστ. Συνεργάτης Μονάδας Χημειοθεραπείας (Παθ – Ογκ/γικό Τμ.)
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Χονδρομάρας Αθανάσιος

Πυρηνικός Ιατρός, Επιμελητής Α' Τμήματος Πυρηνικής Ιατρικής
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Χριστοπούλου Αθηνά

Παθολόγος, Εμπ. στην Ογκολογία, Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Πατρών
Επιμελήτρια Μονάδας Χημειοθεραπείας (Παθ – Ογκ/γικς Τμ.)
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»

Χρησιτιάς Ηλίας

Ειδ. Γαστρεντερολόγος, Ηπατολόγος, Ειδ. Παθολόγος, Διαβητολόγος,
Επιστ. Συνεργάτης Μονάδας Χημειοθεραπείας (Παθ – Ογκ/γικό Τμ.)
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας»



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η έκδοση ενός βιβλίου για τον κλινικό ιατρό με την συνεχή φροντίδα των ασθενών του είναι μια εξαιρετικά επίπονη προσπάθεια που γίνεται όμως ευκολότερη όταν διακεκριμένοι έμπειροι και καταξιωμένοι κλινικοί και μη ιατροί έχουν την καλοσύνη να συμμετάσχουν σε αυτήν όπως συνέβη και στην έκδοση της παρούσας μονογραφίας.

Ο σκοπός και η φιλοδοξία της συγγραφής αυτού του βιβλίου προς τους επιστήμονες δεν είναι να υποκαταστήσει τα ξενόγλωσσα συγγράμματα αλλά να συμπληρώσει την υπάρχουσα ελληνική βιβλιογραφία με ένα κείμενο διδακτικό, πλήρως ενημερωμένο στο αντικείμενό του.

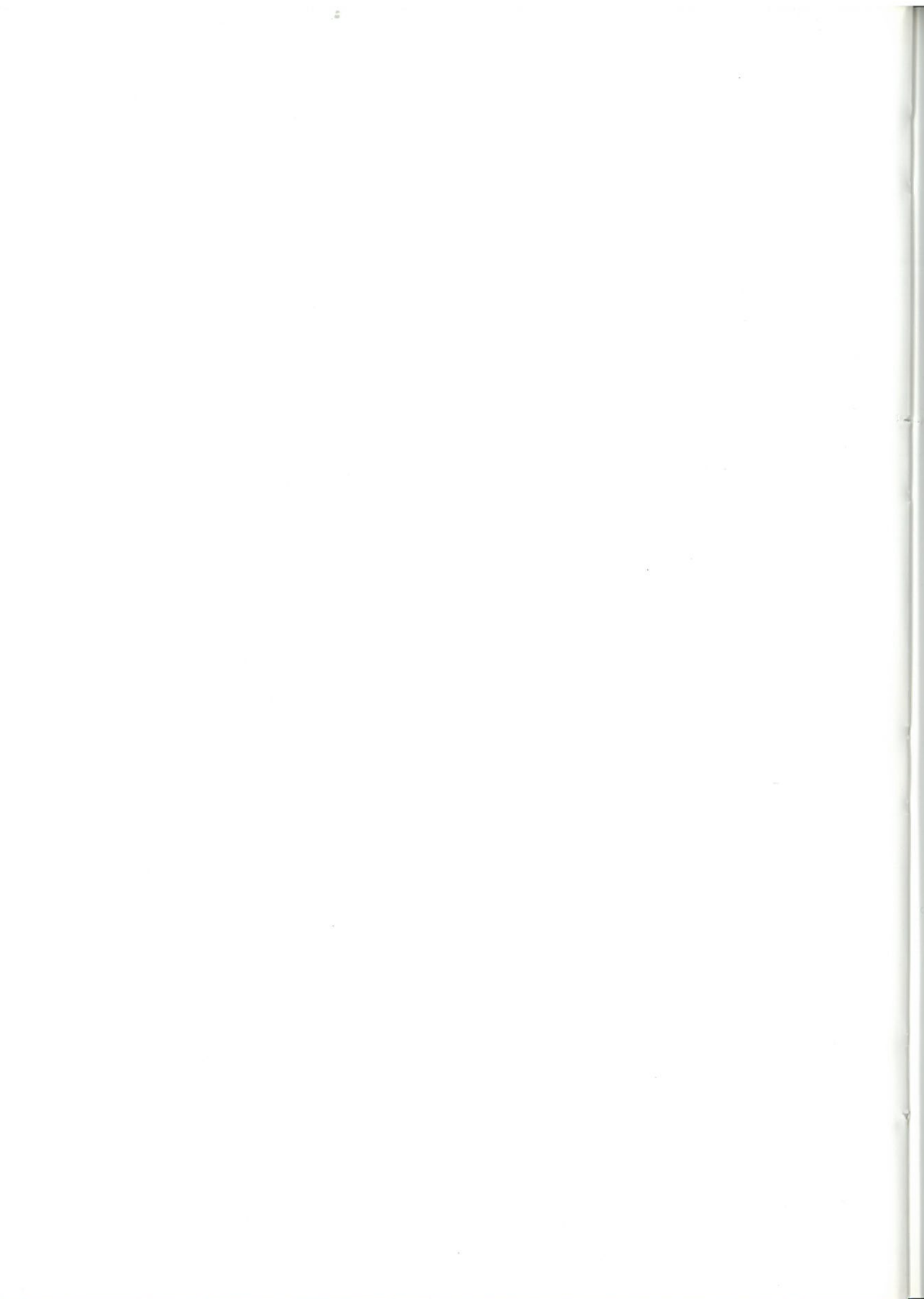
Οι «Κλινικές και Μοριακές Βάσεις στην Πρόγνωση και Θεραπεία του Καρκίνου του Πνεύμονα» στόχο έχουν να δώσουν απαντήσεις σε ερωτήματα καθημερινής πράξης ως προς την συμπεριφορά του καρκίνου του πνεύμονα και την εξέλιξη της θεραπείας του.

Η πρόοδος της Ογκολογίας τα τελευταία χρόνια βασίστηκε κυρίως στην πρόοδο της βασικής επιστήμης της «Μοριακής Ογκολογίας». Κύριος στόχος λοιπόν είναι να αναδειχθούν και να συνδεθούν οι νεότερες γνώσεις της Μοριακής Ογκολογίας με την καθημερινή κλινική πράξη στον καρκίνο του πνεύμονα.

Γνωστού όντως του αξιώματος ότι για την ορθολογική αντιμετώπιση του καρκίνου γενικότερα είναι αναγκαία η χειρουργική θεραπεία, η ακτινοθεραπεία, η χημειοθεραπεία – ανοσοθεραπεία και τελευταία ο συνδυασμός χημειοθεραπείας – γονιδιακής θεραπείας, όλες μαζί ή καθεμία στην καλώς καθοριζόμενη στιγμή. Δεδομένο που απαιτεί την γνώση αλλά και την αгаστή συνεργασία όλων των εμπλεκόμενων ειδικοτήτων.

Οι συνεχείς και ραγδαίες εξελίξεις σε ογκολογικό επίπεδο απαιτούν από την πλευρά του ιατρού, κλινικού Ογκολόγου, να γνωρίζει και να υιοθετεί στην κλινική πράξη τα επιτεύγματα της ιατρικής εφαρμοσμένης τεχνολογίας και τεχνογνωσίας όσο αφορά την διάγνωση και θεραπεία σε έναν πολύπλοκο αλγόριθμο με λεπτές ισορροπίες. Και όπως επίσης από την άλλη πλευρά ο ασθενής επιθυμεί να εμπιστεύεται και να βασίζεται στην γνώση και την αποτελεσματικότητα του ιατρού του, αλλά πολύ περισσότερο και πιο συχνά ζητά να του συμπεριφέρονται με αξιοπρέπεια και ανθρώπινο σεβασμό και επιθυμεί πάντα να θεωρείται ενεργό μέλος της όποιας θεραπευτικής προσέγγισης αποφασίζεται.

Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ερμηνεία συντομεύσεων	15
------------------------------------	----

Νέοι προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του πνεύμονα

*Αθανάσιος Νοτόπουλος, Παντελής Κοκκινόπουλος, Ηλίας Χρησιάς, Αθηνά Χριστοπούλου,
Αθανάσιος Χονδρομάρας και Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος*

Εισαγωγή	31
Δείκτης ποιότητας ζωής και λειτουργικής κατάστασης	32
Διήθηση τοπικών και περιοχικών λεμφαδένων	32
Διήθηση αγγείων	33
Μέγεθος κεντρικής ίνωσης	33
Παράγοντες αγγειογένεσης	33
Παράγοντες αύξησης	34
Παράγοντες σχετιζόμενοι με την απόπτωση	35
Επικρατούντα ογκογονίδια	36
Ογκοκατασταλτικά γονίδια	37
Κυτοκίνες	38
Παράγοντες με διηθητική-μεταστατική δράση	38
Περιεκτικότητα του σώματος σε πρωτεΐνη	38
<i>Βιβλιογραφία</i>	40

Μύθοι και πραγματικότητα για τον καρκίνο του πνεύμονα

*Αθηνά Χριστοπούλου, Μαρία Σουγλέρη, Παντελής Κοκκινόπουλος, Χρήστος Φραγκίδης,
Χαροκόπος Νικόλαος και Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος*

Εισαγωγή	45
Είναι θανατηφόρος ο καρκίνος του πνεύμονα;	46
Είναι όλοι ίδιοι οι καρκίνοι του πνεύμονα;	47

Ποια η επιρροή του καπνίσματος στον καρκίνο του πνεύμονα;	49
Αναπτύσσουν όλοι οι καπνιστές καρκίνο του πνεύμονα;	50
Υπάρχουν πρώιμα κλινικά σημεία για πρόιμη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα;	51
Είναι η ακτινογραφία θώρακος μέσο screening πρόιμης διάγνωσης;	53
Είναι οι ορατοί όζοι στην ακτινογραφία θώρακος καρκίνοι;	54
Αρνητική ακτινογραφία θώρακος αποκλείει την ύπαρξη καρκίνου;	55
Είναι δυνατή η χειρουργική αφαίρεση όλου του όγκου;	56
Πρέπει να γίνεται χημειοθεραπεία σε μεταστατικό ή υποτροπιάζοντα καρκίνο του πνεύμονα;	57
Το μικροκυτταρικό καρκίνωμα είναι ο μόνος θεραπευόμενος καρκίνος του πνεύμονα;	58
Πρέπει να θεωρείται υποτροπή του καρκίνου του πνεύμονα οποιοδήποτε κλινικό σημείο σε ασθενή με πλήρη ύφεση για καρκίνο του πνεύμονα;	59
Ένας βαρύς καπνιστής που παίρνει υψηλές δόσεις βιταμινών ή αντιοξειδωτικών μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη του καρκίνου του πνεύμονα;	60
Όταν ο καρκίνος του πνεύμονα υποτροπιάσει υπάρχει θεραπεία;	61
<i>Βιβλιογραφία</i>	62

Χειρουργική αντιμετώπιση του καρκίνου του πνεύμονα

Νικόλαος Αποστολόπουλος, Παναγιώτης Γεωργακόπουλος, Φώτης Καρβελάς, Δημήτριος Φελέκης

Εισαγωγή	67
Βασικές αρχές χειρουργικής	68
Είδη εκτομών στον καρκίνο του πνεύμονα	70

Χειρουργική προσέγγιση του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα	71
Χειρουργική προσέγγιση του μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα	73
<i>Βιβλιογραφία</i>	74

Καρκινογένεση και καρκινική ανάπτυξη

*Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος, Μηνάς Πασχόπουλος, Μαρία Σουγλέρη, Ηλίας Χρησιάς,
Αθανάσιος Νοτόπουλος, Ειρήνη Τσώνη*

Εισαγωγή	77
Απαραίτητες αλλαγές φυσιολογίας των κυττάρων που αθροιστικά καθοδηγούν την ανάπτυξη της νεοπλασίας	78
Αυτάρκεια σε σήματα ανάπτυξης	79
<i>Βιβλιογραφία</i>	84
Μη ευαισθησία σε αντιαυξητικούς παράγοντες	85
<i>Βιβλιογραφία</i>	89
Αποφυγή απόπτωσης	90
<i>Βιβλιογραφία</i>	93
Απεριόριστο δυναμικό αναδιπλασιασμού	94
<i>Βιβλιογραφία</i>	96
Αγγειογένεση	97
<i>Βιβλιογραφία</i>	99
Διήθηση ιστών και μετάσταση	100
<i>Βιβλιογραφία</i>	105
Ένα άλλο χαρακτηριστικό που βοηθά: αστάθεια γονιδιώματος	106
<i>Βιβλιογραφία</i>	110

Προοπτικές θεραπείας νεοπλασιών μέσω ανοσοτροποποίησης: νεότερα δεδομένα

Αθανασία Μουζάκη, Σωτηρία Θυμιανού

Εισαγωγή	111
Εμβολιασμός με καρκινικά κύτταρα και καρκινικά αντιγόνα	113
Ενίσχυση της ανοσίας του ξενιστή έναντι των όγκων μέσω κυτταροκινών και συνδιεγερτών	116
Μη ειδική διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος	120
Προσαρμοστική κυτταρική θεραπεία	120
Θεραπεία με αντι-ογκογονικά αντισώματα	121
Χρησιμοποίηση των δενδριτικών κυττάρων για ανοσοποίηση έναντι καρκινικών αντιγόνων	124
<i>Βιβλιογραφία</i>	126

Η γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου – Μια καινούργια εποχή αρχίζει

Ιωάννης Γιαννιός, Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος

Εισαγωγή	127
Μέθοδοι γονιδιακής θεραπείας	128
Γονιδιακή θεραπεία – Μύθοι και Πραγματικότητα	132
<i>Βιβλιογραφία</i>	135

Ολοκληρωμένη άποψη νέων παραγόντων και χημειοθεραπευτικών προσεγγίσεων στα σχήματα για το ΜΜΚΠ

Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος

Εισαγωγή	139
Θεραπευτικός στόχος: πρωτεΐνη HER2	141
Το HER2 στον καρκίνο του πνεύμονα	142
Το μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab στοχεύοντας το HER2	142
Το trastuzumab με χημειοθεραπεία	143

Μελέτες ΜΜΚΠ με trastuzumab και χημειοθεραπεία	144
Θεραπευτικός στόχος: EGFR	145
Η EGFR στον καρκίνο του πνεύμονα	145
Παράγοντες που στοχεύουν EGFR	146
Αναστολή της EGFR με χημειοθεραπεία και ακτινοβολία	146
Μελέτες ΜΜΚΠ με EGFR blockers και χημειοθεραπεία	147
Χρήση άλλων νέων στρατηγικών με χημειοθεραπεία	147
Το μέλλον της χημειοθεραπείας: κυτταροτοξικά/ βιολογικά υβριδικά σχήματα	148
<i>Βιβλιογραφία</i>	150

Καρκινογένεση και Καρκινική Ανάπτυξη

*Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος
Μηνάς Πασχόπουλος
Μαρία Σουγλέρη
Ηλίας Χρησιτιάς
Αθανάσιος Νοτόπουλος
Ειρήνη Τσώνη*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

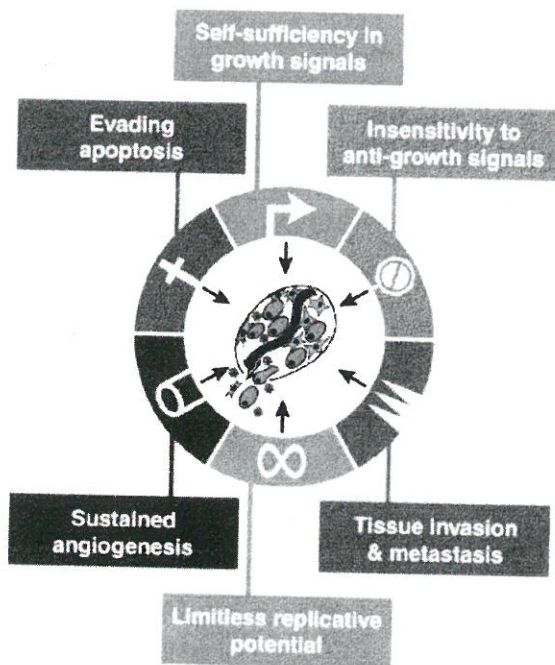
Αναλύοντας τους γονότυπους των διαφόρων καρκινικών κυττάρων στις διάφορες φάσεις εξέλιξής τους, από την αρχική έως την γενικευμένη καρκινωμάτωση του οργανισμού διαπιστώνουμε ότι βρισκόμαστε μπροστά σε ένα τεράστιο αριθμό γονοτύπων των καρκινικών κυττάρων.

Αυτός ο αριθμός είναι το αποτέλεσμα έξι (6) κύριων αρχικών αλλαγών στην φυσιολογία των κυττάρων οι οποίες αθροιστικά αλλά και με αλληλεπίδραση μεταξύ τους καθοδηγούν την ανάπτυξη της κακοήθειας. Οι αλλαγές αυτές προσδιορίζουν νέες, επίκτητες δηλαδή ιδιότητες στα καρκινικά κύτταρα.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΟΥ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΑ ΚΑΘΟΔΗΓΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑΣ

- Αυτάρκεια σε σήματα ανάπτυξης
- Μη ευαισθησία σε αντιαιζητικούς παράγοντες
- Αποφυγή απόπτωσης
- Απεριόριστο δυναμικό αναδιπλασιασμού
- Αγγειογένεση
- Διήθηση ιστών και μετάσταση

Κάθε μία από τις παραπάνω αλλαγές αντικατοπτρίζει τον υπερσκελισμό κάποιου από τους μηχανισμούς άμυνας κατά του καρκίνου που βρίσκεται είτε στα κύτταρα σαν μονάδες είτε στους ιστούς σαν σύνολο. Οι επίκτητες αυτές ιδιότητες είναι κοινές ίσως σε όλα τα είδη καρκίνου, (σχήμα 1).



Σχήμα 1

Επίκτητες ιδιότητες του καρκίνου

Φαίνεται ότι οι περισσότεροι αν όχι όλοι οι καρκίνοι αποκτούν τις ίδιες ομάδες ιδιοτήτων και λειτουργικών ικανοτήτων κατά την διάρκεια της εξέλιξης τους μέσω ποικίλων μηχανισμών και οδών εξέλιξης.

ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ 1

ΑΥΤΑΡΚΕΙΑ ΣΕ ΣΗΜΑΤΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Τα φυσιολογικά κύτταρα χρειάζονται μιτογόνα σήματα ανάπτυξης για να εισέλθουν σε φάση κυτταρικής διαίρεσης. Αυτά τα σήματα μεταφέρονται στο κύτταρο από διαμεμβρανικούς υποδοχείς που δεσμεύουν διακριτές τάξεις μορίων – μηνυμάτων και είναι:

- Διαχεόμενοι παράγοντες ανάπτυξης
- Εξωκυτταρικά συστατικά
- Μόρια που σχετίζονται με την προσκόλληση και την αλληλεπίδραση των κυττάρων μεταξύ τους, integrins (stroma)

Κανένα φυσιολογικό κύτταρο δεν μπορεί να πολλαπλασιασθεί αν δεν υπάρχουν τέτοια διεγερτικά μηνύματα.

Το πόσο πολύ εξαρτάται ο φυσιολογικός πολλαπλασιασμός των κυττάρων από τα σήματα ανάπτυξης φαίνεται από τις καλλιέργειες κυττάρων, όπου τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται μόνο όταν τους παρασχεθούν μιτογόνοι παράγοντες και το κατάλληλο υπόστρωμα για να προσδεθούν οι integrins τους (ομάδα πρωτεϊνών πρόσφυσης, που επιπρόσθετα συμμετέχουν στη μεταβίβαση σημάτων προς τον πυρήνα του κυττάρου).

Αυτή η συμπεριφορά τους (των φυσιολογικών κυττάρων) έρχεται σε αντίθεση με αυτήν των καρκινικών κυττάρων τα οποία δείχνουν μια μάλλον ανεξαρτησία ή μειωμένη εξάρτηση από τα εξωγενή μηνύματα αύξησης.

Τα καρκινικά κύτταρα παράγουν μόνα τους πολλά από τα μηνύματα ανάπτυξης που τους χρειάζονται και έτσι μειώνουν την εξάρτησή τους από το μικροπεριβάλλον του φυσιολογικού ιστού και τα ερεθίσματα που στέλνονται από αυτό. Αυτό βέβαια διαταράσσει έναν πολύ κρίσιμο μηχανισμό ομοιόστασης που σε φυσιολογικές συνθήκες λειτουργεί για να διασφαλίσει τη φυσιολογική συμπεριφορά των διαφόρων κυττάρων μέσα σε έναν ιστό (ομοιόσταση).

Η επίκτητη αυτονομία σε σήματα ανάπτυξης ήταν η πρώτη από τις 6 δυνατότητες που αποσαφηνίστηκε από τους ερευνητές, βασικά διότι τα γονίδια που ευθύνονται γι' αυτήν, είναι επικρατούντα.

Υπάρχουν τρεις κοινές στρατηγικές που οδηγούν στην αυτονομία:

- Αλλαγές των εξωκυτταρικών σημάτων ανάπτυξης
- Αλλαγές των διακυτταρικών σχημάτων αυτών των σημάτων (stroma– integrins)
- Αλλαγές των ενδοκυτταρικών κυκλωμάτων που μεταφράζουν αυτά τα σήματα

Οι περισσότεροι διαλυτοί μιτογόνοι αυξητικοί παράγοντες παράγονται από έναν τύπο κυττάρων για να προκαλέσουν τον πολλαπλασιασμό ενός άλλου τύπου κυττάρων (ετεροτυπική σηματοδότηση).

Σε αντίθεση πολλά καρκινικά κύτταρα αποκτούν την ικανότητα να συνθέτουν αυξητικά σήματα στα οποία να ανταποκρίνονται κιόλας, δημιουργώντας έτσι ένα «θετικά αυτοτροφοδοτούμενο σύστημα σηματοδότησης» (positive feedback signaling loop) που αποκαλείται «αυτοκρινής ερεθισμός».

Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η παραγωγή PDGF και TGF α από γλοιωβλαστώματα και σαρκώματα.

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

Στην κυτταρική μεμβράνη υπάρχουν υποδοχείς που μεταφέρουν το σήμα ανάπτυξης στο εσωτερικό του κυττάρου. Οι υποδοχείς είναι πρωτεΐνες που έχουν ένα τμήμα τους να βρίσκεται προς το κυτταρόπλασμα με δράση τυροσινικής κινάσης (σχήμα 2). Αυτοί οι υποδοχείς είναι στόχοι προς απορρύθμιση. Η υπερέκφραση ενός υποδοχέα βοηθά το κύτταρο να γίνει υπερευαίσθητο σε συγκεντρώσεις αναπτυξιακών παραγόντων που φυσιολογικά δεν προάγουν τον πολλαπλασιασμό (π.χ. το ογκογονίδιο HER2/neu κωδικοποιεί έναν υποδοχέα ομόλογο του υποδοχέα του EGF. Παρατηρείται ενίσχυση και υπερέκφραση του σε καρκίνο του στομάχου, του μαστού, των ωοθηκών, του παχέως εντέρου και του πνεύμονα).

Η υπερέκφραση ενός υποδοχέα μπορεί να πυροδοτήσει αυξητική σηματοδότηση ανεξάρτητη από τα μόρια «σήματα» που συνδέονται με τους υποδοχείς (ligands) (π.χ. μέσω δομικών αλλαγών των υποδοχέων).

Οι integrins είναι και υποδοχείς της επιφάνειας του κυττάρου. Πρόκειται για ετεροδιμερείς πρωτεΐνες με διπλή λειτουργία που σε φυσιολογικές συνθήκες συνδέουν τα κύτταρα με εξωκυτταρικές υπερδομές γνωστές και ως εξωκυτταρικό στρώμα (matrix). Όταν η σύνδεση αυτή είναι επιτυχημένη μεταφέρουν σήματα στο κυτταρόπλασμα που επηρεάζουν την κυτταρική συμπεριφορά (μη – από-

πτωση, εισαγωγή σε κυτταρικό κύκλο). Σε αντίθετη περίπτωση προκαλούν απόπτωση ή στάση του κυτταρικού κύκλου).

Οι πιο περίπλοκοι μηχανισμοί της επίκτητης αυτονομίας προέρχονται από αλλαγές σε συστατικά του κυτταροπλασματικού κυκλώματος που λαμβάνει και προωθεί τα σήματα που εκλύονται από υποδοχείς και ενεργοποιούνται από αναπτυξιακά σήματα και από integrins.

ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ ΚΥΚΛΩΜΑ ΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΩΘΗΣΗΣ ΣΗΜΑΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Η ομάδα SOS-Ras-Raf MAP κινάση (10) (σχήμα 2) παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτόν μηχανισμό. Στο 25% των ανθρώπινων καρκίνων οι πρωτεΐνες RAS είναι δομικά αλλαγμένες και αυτές οι αλλαγές τους επιτρέπουν να απελευθερώνουν ένα κύμα μιτογόνων σημάτων στα κύτταρα χωρίς να είναι απαραίτητος ο ερεθισμός τους από φυσιολογικούς ρυθμιστές της λειτουργίας αυτής (τα μέλη της οικογένειας των ογκογονιδίων Ras κωδικοποιούν πρωτεΐνες G ικανές, όταν περιέχουν ειδικές στερεοτυπικές μεταλλάξεις, να παραμένουν συνεχώς σε ενεργή κατάσταση μεταβίβαση σήματος).

Υπάρχει η υποψία ότι τα μονοπάτια σηματοδότησης της ανάπτυξης σε όλους τους όγκους πάσχουν από απορύθμιση. Στους πιο καλά μελετημένους όγκους (π.χ. παχέως εντέρου) περίπου οι μισοί όγκοι έχουν μεταλλαγμένα τα ογκογονίδια ras, ενώ στον καρκίνο του παγκρέατος το ποσοστό των μεταλλάξεων στα ογκογονίδια Ras ανέρχεται σε 90%. Οι υπόλοιποι όγκοι του παχέως εντέρου έχουν ελαττωματικά άλλα συστατικά στα μονοπάτια σηματοδότησης που αντιγράφουν την ενεργοποίηση του ογκογονιδίου ras. Η φύση αυτών των εναλλακτικών μηχανισμών ακόμη δεν έχει διευκρινιστεί. Τις τελευταίες δεκαετίες ανακαλύπτονται συνεχώς νέα μονοπάτια που προκύπτουν από την κεντρική ομάδα SOS-Ras-Raf-MAP κινάση (10). Αυτή η ομάδα συνδέεται και με άλλα μονοπάτια. Αυτές οι διασυνδέσεις επιτρέπουν στα εξωκυτταρικά σήματα να διεκπεραιώσουν πολλαπλά βιολογικά φαινόμενα. Π.χ. η άμεση αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης Ras με την κινάση P13 που προωθεί την επιβίωση, βοηθά τους παράγοντες ανάπτυξης να επιβάλλουν τα σήματα ανάπτυξης μέσα στο κύτταρο.

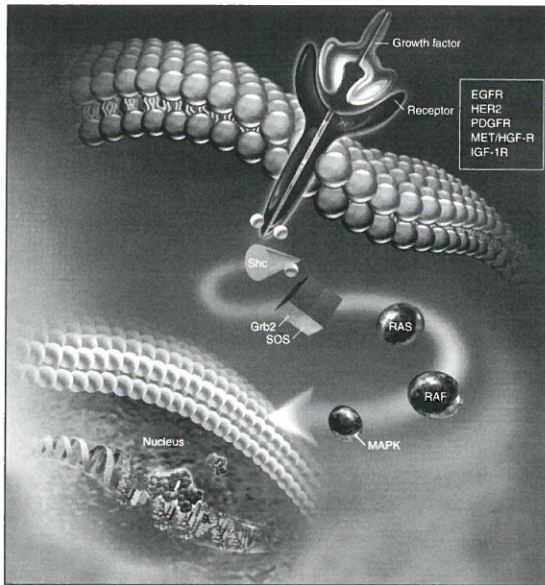
Η ενδογενής ακτινοαντοχή που παρατηρείται σε κάποιους όγκους, συσχετίζεται με φτωχότερη πρόγνωση και η βιολογική της βάση, δεν έχει πλήρως διασαφηνι-

στεί. Ο μηχανισμός της ακτινοαντοχής που σχετίζεται με το H-Ras είναι η παράταση της G2 φάσης μετά την ακτινοβόληση και συνδέεται με καταστολή της έκφρασης του cyclin B1mRNA και ελάττωση της απόπτωσης (11).

ΓΕΙΤΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Σε φυσιολογικούς ιστούς τα κύτταρα καθοδηγούνται να αυξηθούν είτε από τους κοντινούς γείτονές τους (παρακρινή σήματα) ή συστηματικά (ενδοκρινή σήματα). Το ίδιο συμβαίνει και με τα καρκινικά κύτταρα, δηλαδή μέσω ετεροτυπικής σηματοδότησης μπορεί να υποβοηθηθεί η ανάπτυξή τους. Υπάρχει επίσης η υποψία ότι πολλά από τα σήματα που καθοδηγούν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων προέρχονται από τα συστατικά του matrix (στρώμα) της καρκινικής μάζας.

Τέλος τα καρκινικά κύτταρα συνεργάζονται με τους φυσιολογικούς τους γείτονες διαφόρων τύπων φυσιολογικά κύτταρα (επιθηλιοκύτταρα – ινοβλάστες και κύτταρα ανοσολογικού συστήματος) με το να τους προκαλούν να απελευθερώνουν αθρόα σήματα ανάπτυξης. Πράγματι σε μερικούς όγκους αυτά τα συνεργαζόμενα κύτταρα μπορεί τελικά να επιβάλουν την ανάπτυξη των καρκινικών. Επίσης όπως και τα κύτταρα φλεγμονής που προσελκύονται σε περιοχές με νεοπλασία μπορεί να προωθούν και όχι να εξαλείφουν τα καρκινικά κύτταρα.



Σχήμα 2

Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των καρκινικών κυττάρων είναι η ικανότητά τους να παρουσιάζουν απεριόριστο πολλαπλασιασμό. Συνήθως αυτό προέρχεται από την υπερπαραγωγή αυξητικών παραγόντων των καρκινικών κυττάρων (π.χ. VEGF & FGF) ή και/ή την υπερέκφραση υποδοχέων αυξητικών παραγόντων (π.χ. HER, EGFR & PDGFR). Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός ξεκινά όταν οι υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας (εξωκυτταρικοί υποδοχείς) αναγνωρίζουν τους κατάλληλους αυξητικούς παράγοντες τους. Στη συνέχεια μια σειρά αντιδράσεων που διευκολύνεται από κυτταροπλασματικές πρωτεϊνικές κινάσες (π.χ. RAS, RAF, MEK, MAPK διαδοχικών σειρών) κυριαρχώντας στην ενεργοποίηση της μεταγραφής, στην πρόοδο του κυτταρικού κύκλου και στην κυτταρική διαίρεση. Το μπλοκάρισμα τέτοιων αυξητικών παραγόντων που προκαλούν μιτογονικά σήματα μπορεί να επιτευχθεί με:

- 1) Αποφυγή της ένωσης του αυξητικού παράγοντα στον υποδοχέα του, ή του διμερισμού του υποδοχέα με συγκεκριμένο παράγοντα (π.χ. ένα μονοκλωνικό αντίσωμα).
- 2) Αποφυγή της ενεργοποίησης του υποδοχέα με μικρούς μοριακούς αναστολείς, οι οποίοι συνδέουν στο ATP στην ενδοκυτταρική περιοχή του υποδοχέα.
- 3) Μπλοκάροντας κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες μειώνοντας ή περιορίζοντας τα ενεργοποιημένα μονοπάτια του δεδομένου υποδοχέα (π.χ. αποφεύγοντας το σχηματισμό και τη σύνδεση των μεμβρανών του ενεργοποιησίου RAS).

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

1. Cordon-Cardo, C., and Prives, C. (1999). At the crossroads of inflammation and tumorigenesis. *J. Exp. Med.* 190, 1367–1370.
2. Coussens, L.M., Raymond, W.W., Bergers, G., Laig-Webster, M., Behrendtsen, O., Werb, Z., Caughey, G.H., and Hanahan, D. (1999). Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis. *Genes Dev.* 13, 1382–1397.
3. Di Fiore, P.P., Pierce, J.H., Kraus, M.H., Segatto, O., King, C.R., and Aaronson, S.A. (1987). ErbB2 is a potent oncogene when over expressed in NIH/3T3 cells. *Science* 237, 178–182.
4. Downward, J. (1998). Mechanisms and consequences of activation of protein kinase B/Akt. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 262–267.
5. Fedi, P., Tronick, S.R., and Aaronson, S.A. (1997). Growth factors. In *Cancer Medicine*, J.F. Holland, R.C. Bast, D.L. Morton, E. Frei, D.W. Kufe, and R.R. Weichselbeum, eds. (Baltimore, MD: Williams and Wilkins).
6. Giancotti, F.G., and Ruoslahti, E. (1999). Integrin signaling. *Science* 285, 1028–1032.
7. Rommel, C., and Hafen, E. (1998). Ras—a versatile cellular switch. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8, 412–418.
8. Slamon, D.J., Clark, G.M., Wong, S.G., Levin, W.J., Ulrich, A., and McGuire, W.L. (1987). Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235, 177–182.
9. Yarden, Y., and Ulrich, A. (1988). EGF and erbB2 receptor overexpression in human tumors. Growth factors receptor tyrosine kinases. *Annu. Rev. Biochem.* 57, 443–478.
10. Giannios J., Ginopoulos P., Michailakis M. Bystander killing effect after induction of D2 apoptotic signs of invasive ductal breast cancer via ADCC and CPP32 cleavage after colloidal antisense ODN suppression of MT-TUBULIN-B_{III} mRNA, downmodulation of c-erbB2 by rhuMab-HER2/neu, bcl-2 phosphorylation and cytochrome-c upregulation by paclitaxel. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*;41:388, 2000.
11. Giannios J., Ginopoulos P., Michailakis M., Pergantas N., Sougleri M., Asimakopoulos Ch., Yannios M. Cleavage of c-erbB2mRNA induces D2 stage of PCD into chemoresistant comedo DCIS after recombinant defective adenovirus mediated transfer of hammerhead ribozyme (RAD-HER2-RZ) combined with vinorelbine. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*; 19:1878, 2000.

ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ 2

ΜΗ-ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΕ ΑΝΤΙ-ΑΥΞΗΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Σε ένα φυσιολογικό ιστό πολλαπλά σήματα δίνουν εντολές για μη-πολλαπλασιασμό ώστε να διατηρείται η κυτταρική ισορροπία και ομοιόσταση του ιστού. Αυτά τα σήματα περιλαμβάνουν:

- Διαλυτούς αναστολείς της ανάπτυξης
- Ακίνητους αναστολείς που βρίσκονται στο εξωκυτταρικό matrix (στρώμα) και στις επιφάνειες των γειτονικών κυττάρων

Αυτά τα σήματα όπως και τα σήματα ανάπτυξης χρειάζονται για να δράσουν, διαμεμβρανικούς υποδοχείς σε συνδυασμό με ενδοκυτταρικά κυκλώματα λήψης και μεταφοράς τους και έτσι μπλοκάρουν τον πολλαπλασιασμό με 2 τρόπους (σχήμα 4):

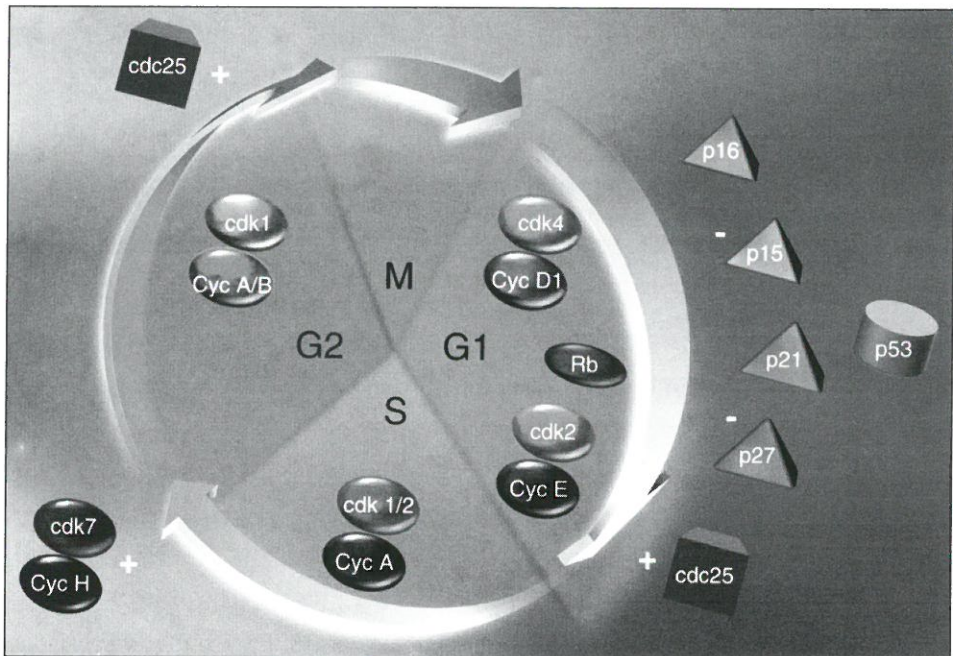
- Αναγκάζουν τα κύτταρα να βγούν από τον κυτταρικό κύκλο και να μπουν σε φάση ηρεμίας G₀ από όπου μπορούν να βγούν στο μέλλον όταν το επιτρέψουν τα εξωκυτταρικά σήματα.
- Αναγκάζουν τα κύτταρα να χάσουν οριστικά τη δυνατότητά τους για πολλαπλασιασμό με το να τα εισάγουν σε μετα – μιτωτικά στάδια, δηλαδή να διαφοροποιηθούν.

Η δυνατότητα ενός κυττάρου να ανταποκρίνεται σε αντι-αναπτυξιακά σήματα σχετίζεται με το βιολογικό ρολόι του κυτταρικού κύκλου και ειδικά με τα συστατικά του που ρυθμίζουν την είσοδο του κυττάρου στη φάση G₁(pRb).

ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΕ ΦΑΣΗ ΗΡΕΜΙΑΣ

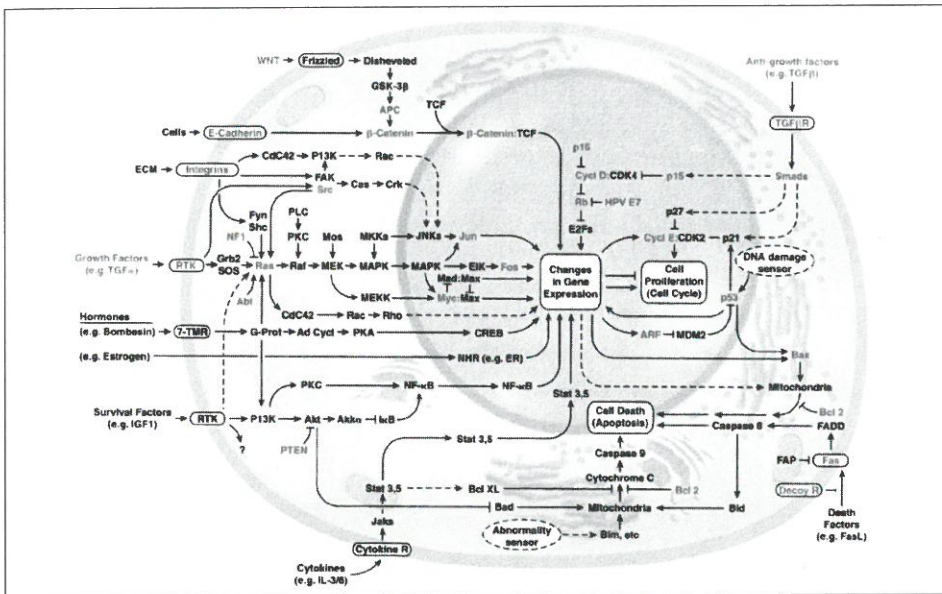
Πρωτεΐνη pRb

Σημαντικό ρόλο παίζει η πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος, pRb, και οι δύο συγγενικές της p107 και p130. Αυτή, όταν είναι υποφωσφορυλιωμένη, μπλοκάρει τον πολλαπλασιασμό με το να τροποποιεί τη λειτουργία των αντιγραφικών παραγόντων E2F που ελέγχουν την έκφραση απαραίτητων γονιδίων (π.χ. TK, Myc, Myb, DHFR, DNA πολυμεράση, κ.ά.) για την είσοδο του κυττάρου από τη φάση G₁ στη φάση S (σχήμα 3).



Σχήμα 3

Οι 4 φάσεις του κυτταρικού κύκλου είναι η M-φάση (κατάσταση ενεργούς μίτωσης), η S-φάση (κατάσταση σύνθεσης του DNA) και οι 2 G ή gar φάσεις που χωρίζουν τις άλλες φάσεις. Οι κυκλίνες και οι κυκλινοεξαρτώμενες κινάσες (cdk) κατευθύνουν την πρόοδο των κυττάρων από μία φάση σε άλλη. Αναστέλλοντας κύτταρα σε όποιο σημείο του κυτταρικού κύκλου, αναστέλλεται η πρόοδος τους μέσω του κυτταρικού κύκλου, επομένως εμποδίζεται η μίτωση και η κυτταρική διαίρεση. Ο καρκινικός καταστολέας p53 και αναστολείς κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης (p15, p16, p21, p27) είναι αρνητικοί ρυθμιστές της προόδου του κυτταρικού κύκλου, προκαλώντας παρεμπόδιση της αύξησης. Συνήθως χρησιμοποιούνται κυτταροτοξικά για μπλοκάρισμα του κυτταρικού κύκλου στις φάσεις S & G2/M. Προγράμματα εξέλιξης νέων φαρμάκων «στοχεύουν» ειδικά συστατικά του κυτταρικού κύκλου (π.χ. cdk4).



Σχήμα 4

Το ολοκληρωμένο κύκλωμα του κυττάρου

Η διαβίβαση ερεθισμάτων διαμέσου δεδομένων οδών μπορεί να προσομοιαστεί με ένα ολοκληρωμένο ηλεκτρονικό κύκλωμα σαν σύνθεση και εναισθησία, όπου την θέση των τρανζίστορς παίρνουν οι πρωτεΐνες (όπως κινάσες και φωσφατάσες) και την θέση των ηλεκτρονίων, μεταξύ των άλλων, παίρνουν οι φωσφορικές ενώσεις και τα λιπίδια.

Επιπλέον το γονίδιο Ras είναι το κέντρο αναφοράς και ελέγχου και συνδέεται μέσω πολλαπλών οδών με τον εξωκυττάριο χώρο όπου υπάρχει ένα μεγάλο φάσμα εξωκυττάρικών ερεθισμάτων αύξησης.

Παράλληλα άλλα κυκλώματα (οδοί) μεταδίδουν από τον εξωκυττάριο χώρο ένα άλλο φάσμα αντιαιζητικών και διαφοροποιητικών σημάτων που εάν λειτουργούν φυσιολογικά τα γονίδια απόπτωσης μπορεί να μεταφέρουν εντολές – αντιαιζητικές – διαφοροποιητικές ή αποκλεισμού ενεργοποίησης της απόπτωσης.

Όσο αφορά τον γενετικό προγραμματισμό αυτού του ολοκληρωμένου κυκλώματος των καρκινικών κυττάρων, ορισμένα από τα γονίδια που είναι μέχρι σήμερα γνωστά υπό η υπέρ εκφράζονται στον καρκίνο και φαίνονται στο σχήμα και τα οποία είναι: WNT, antigrowth factors (eg. TGFβ), TGFβR, E-cadherin, APC,β-catenin, integrins, p16, Cycl D, p15, Smads, Rb, HPVE7, Cycl E, p53, ARF,Bax, Bcl2, Fas, DecoyR, Src, Jun, NF1, Ras, Fos, Myc, Abl, RTK, growth factors (eg.TGFα), PTEN.

Παράγοντας TGFβ

Το σύστημα της pRb εξαρτάται από τον παράγοντα TGFβ, ο οποίος παρεμποδίζει τη φωσφορυλίωση που απενεργοποιεί την pRb. Αυτός ο παράγοντας μπλοκάρει τη φάση G1 και ειδικά σε μερικούς τύπους καταστέλλει την έκφραση του γονιδίου c-myc που ρυθμίζει τη φάση G1.

Τι γίνεται δηλαδή; Οι όγκοι χάνουν την ανταποκρισιμότητά τους στο TGFβ (αλλάζει η ποσότητα ή/και η ποιότητα των υποδοχέων του TGFβ).

Ιοί

Σε ορισμένους όγκους που επάγονται από ιούς η λειτουργία της pRb καταστέλλεται μέσω απενεργοποίησής της από διάφορες ιικές ογκοπρωτεΐνες (πχ. E1A ογκογονίδια αδενοϊού, E6 και E7 γονίδια ερπητοϊού, κά.).

Integrins

Τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να καταστείλουν την έκφραση των integrins όπως και άλλων μορίων, που είναι υπεύθυνα για τη συγκόλληση των κυττάρων, και που στέλνουν αντι-αυξητικά σήματα. Η ακτινοβολία και άλλοι βλαπτικοί προς το DNA παράγοντες, αυξάνουν – ενεργοποιούν τα επίπεδα της p53, η οποία μπλοκάρει τη φάση G1, με την επαγωγή των γονιδίων WAF1/CIP 1 και GADD45 (10,11).

ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ

Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός δεν εξαρτάται μόνο από την αποφυγή αντι-αυξητικών σημάτων. Οι ανθρώπινοι ιστοί περιορίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό με το να οδηγούν τα κύτταρα σε διαφοροποίηση.

Και βέβαια τα καρκινικά κύτταρα αναπτύσσουν διάφορους μηχανισμούς για να αποφύγουν αυτήν την τελική διαφοροποίηση.

Γονίδιο c-myc

Η πρωτεΐνη Myc αποτελεί ερέθισμα για ανάπτυξη όταν δημιουργεί συμπλέγματα με τον παράγοντα Max. Μπορεί όμως να εκτοπισθεί από εναλλακτικά συμπλέγματα του Max με τον αντιγραφικό παράγοντα Mad. Τα συμπλέγματα Mad – Max εκπέμπουν σήματα που προάγουν τη διαφοροποίηση. Όταν υπερεκφράζεται η πρωτεΐνη Myc αλλάζει η ισορροπία και ευνοείται το σύμπλεγμα Myc – Max που αναστέλλει τη διαφοροποίηση και προωθεί την ανάπτυξη. Επιπρόσθετα, το σύμπλεγμα αυτό προάγει τη διαδικασία της απόπτωσης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Chin, L., Pomerantz, J., and DePinho, R.A. (1998). The INK α /ARF tumor suppressor: one gene—two products—two pathways. *Trends Biochem. Sci.* 23, 291–296.
2. Datto, M.B., Hu, P.P., Kowlik, T.F., Yingling, J., and Wang, X.F. (1997). The viral oncoprotein E1A blocks transforming growth factor—mediated induction of p21/WAF1/Cip1 and p15/INK4B. *Mol. Cell. Biol.* 17, 2030–2037.
3. Foley, K.P., and Eisenman, R.N. (1999). Two MAD tails: what the recent knockouts of Mad1 and Mx1 tell us about the MYC/MAX/MAD network. *Biochim. Biophys. Acta* 1423, M37–47.
4. Fynan, T.M., and Reiss, M. (1993). Resistance to inhibition of cell growth by transforming growth factor and its role in oncogenesis. *Crit. Rev. Oncog.* 4, 493–540.
5. Hannon, G.J., and Beach, D. (1994). P15^{INK4B} is a potential effector of TGF β -induced cell cycle arrest. *Nature* 371, 257–261.
6. Markowitz, S., Wang, j., Meyeroff, L., Parsons, R., Sun., L., Lutterbaugh, J., Fan, R., Zborowska, E., Kinzler, K., and Vogelstein, B., et al. (1995). Inactivation of the type II TGF β -receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 268, 1336–1338.
7. Moses, H.L., Yang, E.Y., and Pietenpol, J.A. (1990). TGF β -stimulation and inhibition of cell proliferation: new mechanistic insights. *Cll* 63, 245–247.
8. Weinberg, R.A. (1995). The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 81, 323–330.
9. Zuo, L., Weger, J., Yang, Q., Goldstein, A.M., Tucher, M.A., Walker, G.J., Hayward, N., and Dracopoli, N.C. (1996). Germline mutations in the p16^{INK4A} Binding domain of CDK4 in familial melanoma. *Nat. Genet.* 12, 97–99.
10. J. Giannios, P.Ginopoulos, E. Cardamakias, N. Linardos, M. Yannios, V. Tzigounis. Combined administration of vinorelbine, wtp53 cDNA & mitoxantrone treatment induces PCD in chemoresistant cervical carcinoma. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 39:603, 1998.
11. J. Giannios, P.Ginopoulos. Induction of apoptosis in chemoresistant acute lymphocytic leukemia (ALL) cells by combined administration of PCB6+WTP53 lipofection, G1 blocker taxol and DNA intercalator doxorubicin. *Inter. Symp. Mol. Biol.* 1998 pp.36,144.

ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ 3

ΑΠΟΦΥΓΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Απόπτωση (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) – Πως γίνεται;

- Διακόπτεται η συνέχεια των κυτταρικών μεμβρανών
- Διαλύονται οι σκελετοί του κυτταροπλάσματος και του πυρήνα
- Το κυτταροπλασματικό sol εκλύεται από το κύτταρο
- Αποικοδομούνται τα χρωματοσώματα
- Διαρκεί 30 – 120 min
- Το υπόλοιπο του κυτταρικού σώματος εγκολώνεται μέσα σε 24 ώρες από τα γειτονικά κύτταρα (φαγοκυττάρωση)

Πως προκαλείται;

- Πολλά από τα σήματα που προκαλούν την απόπτωση ξεκινούν από τα μιτοχόνδρια τα οποία ανταποκρίνονται σε προαποπτωτικά σήματα με το να απελευθερώνουν το κυτόχρωμα C, έναν πιθανό καταλύτη της απόπτωσης.
- Ο αποπτωτικός μηχανισμός έχει δύο συστατικά (σχήμα 5): τους αισθητήρες, που ευθύνονται για την καταγραφή του εξωκυτταρικού και ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος και τους effectors, που επηρεάζουν τον αποπτωτικό θάνατο. Οι ανώτεροι effectors της απόπτωσης είναι μία σειρά από ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες, οι κασπάσες.
- Η ζωή των περισσότερων κυττάρων διατηρείται από σήματα επιβίωσης που προέρχονται από τη σύνδεση κυττάρου–υποστρώματος και κυττάρου–κυττάρου.
- Η απόπτωση είναι ένας από τους βασικότερους φραγμούς του καρκίνου.

ΚΑΣΠΑΣΕΣ

Υπάρχουν 2 κασπάσες κλειδοκράτορες: η 8 και η 9. Ενεργοποιούνται από «υποδοχείς θανάτου» όπως ο FAS και το κυτόχρωμα C, το οποίο απελευθερώνεται από τα μιτοχόνδρια. Ενεργοποιούν πολλές κασπάσες–effectors που εκτελούν το

πρόγραμμα του κυτταρικού θανάτου μέσω επιλεκτικής καταστροφής των υποκυτταρικών δομών, των οργανιδίων και των χρωμοσωμάτων.

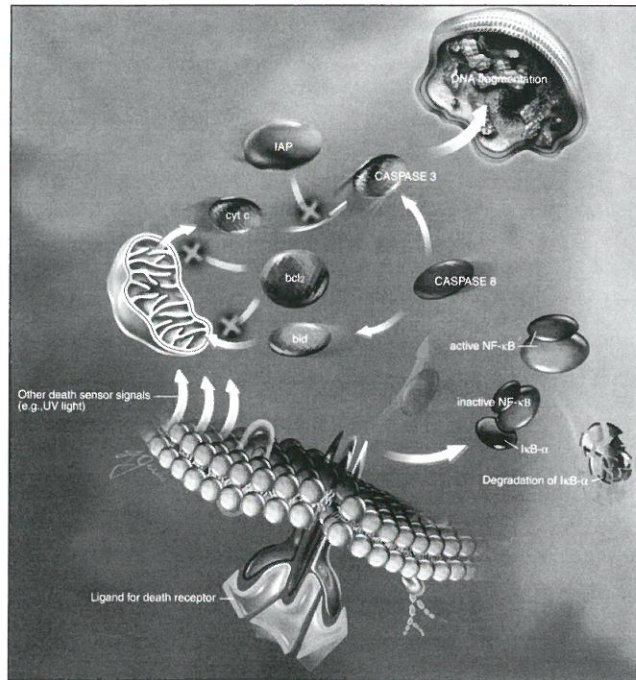
ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ

Μεταλλαγή του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 (1).

- Η λειτουργική απενεργοποίηση του γονιδίου αυτού εμφανίζεται σε περισσότερο από το 50% των ανθρώπινων καρκίνων και έχει σαν αποτέλεσμα την μετατόπιση ενός συστατικού κλειδιού του αισθητήρα της καταστροφής του DNA που μπορεί να επάγει την ομάδα effectors της απόπτωσης.

Αντιαποπτωτικά σήματα επιβίωσης εκπέμπονται:

- Από το μονοπάτι της P13 κινάσης AKT/PKB
- Από εξωκυτταρικούς παράγοντες όπως οι IGF -1/2 ή IL-3
- Από ενδοκυτταρικά σήματα που ξεκινούν από το RAS
- Μετά από την απώλεια του ογκοκατασταλτικού pTEN
- Από το γονίδιο Bcl-2, που ασκεί αντιαποπτωτική δράση ανεξάρτητα από τη φάση του κυτταρικού κύκλου, μπλοκάρει την απόπτωση που επάγουν τα γονίδια E1A και MYC, αλλά όχι και την απόπτωση που επάγει ο TNF (3,4)



Σχήμα 5

Τα κύτταρα υπόκεινται σε απόπτωση μέσω αισθητήρων θανάτου και αποτελέσματος. Υποδοχείς κυτταρικού «θανάτου» (π.χ. TNFR, Fas & TRAIL) είναι αισθητήρες οι οποίοι ενεργοποιούν το μονοπάτι «θανάτου». Πολλά από τα σήματα θανάτου συγκλίνουν πάνω στα μιτοχόνδρια όπου η απελευθέρωση των κυτοχρωμάτων *c* καταλύει την απόπτωση. Οι κασπάσες είναι μόρια θανάτου αποτελέσματα τα οποία μεταφέρουν τελικά το σήμα θανάτου. Η αποφυγή της απόπτωσης απαιτεί μηχανισμούς οι οποίοι αναστέλλουν την μεταφορά των σημάτων θανάτου. Οι προαποπτωτικοί effectors περιλαμβάνουν Bax, Bak & Bad. Επίσης το p53 μπορεί να προκαλέσει έκφραση του Bax και των υποδοχών «θανάτου». Οι αντιαποπτωτικοί effectors περιλαμβάνουν Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1 & A1. Το κυτοπλασμικό Bcl-2 αποτελεί «κλειδί» στην αναστολή σημάτων τα οποία συγκλίνουν πάνω στα μιτοχόνδρια, οδηγώντας σε κυτταρική επιβίωση και είναι υπερρυθμισμένο σε αρκετούς τύπους καρκίνου. Τα NF-κB και AKT σχετίζονται επίσης με την κυτταρική επιβίωση. Η NF-κB προκαλεί έκφραση γονιδίων κυτταρικής επιβίωσης συμπεριλαμβανομένων IAPs, τα οποία δένονται και αναστέλλουν συγκεκριμένες κασπάσες. Προγράμματα εξέλιξης νέων φαρμάκων έχουν «στόχο» ποικίλους αποπτωτικούς effectors.

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

1. Giannios J, Ginopoulos P. Eradication by ADCC and p53 indept-PCD of chemoresistant esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) over expressing c-erbB2 after adm. of vinorelbine encapsulated in pegylated immunoliposomes consisting of Mab-anti-HER2/neu and hexadecyl PC, downregulating c-erbB2, dTHdPase, VEGF/VPF, bcl-2 and PKC. *Gut*, 31:173, 1999.
2. J. Giannios, P.Ginopoulos, E. Cardamakis, N. Linardos, M. Yannios, V. Tzigounis. Combined administration of Vinorelbine, wtp53 cDNA & Mitoxantrone treatment induces PCD in chemoresistant cervical carcinoma. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 39:603,1998.
3. Giannios J.,Ginopoulos P. rhuMab antiHER2/neu(c-erbB2) pegylated immunoliposomes with incorporated paclitaxel induces ADCC and p53 independent PCD in stage IV human epithelial ovarian cancer. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res:*40:583,1999.
4. Giannios J.,Ginopoulos P. Ionizing-radiation (x-ray) co-administered with complexes of vinorelbine, rhu anti-HER2/neu (c-erbB2) Mabs and hexadecyl-PC induce PCD in human mBRCa via antibody dept. cell cytotoxicity (ADCC), apoptotic induced drug delivery (AIDD), radiation induced apoptosis (RIA) and PKC-inhibition. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res-NCI-EORTC*, 95:20, 1999.
5. J.Giannios, P.Ginopoulos. RhuMab Anti-HER/Neu Pegylated Immunoliposomes with Incorporated Vinorelbine Tartrate Induces P53 Independent PCD and ADDC in Chemoresistant NSCLC. *Proc.Am. Soc. Clin. Oncol.* 18:506a, 1999.
6. Giannios J.,Ginopoulos P. Adm. of vinorelbine encapsulated in anti HER2 bearing immunoliposomes induces p53 indept PCD in chemoresistant NSCLC via activation of MEKK1/SEK1/JNK/API pathway. *Eur. J. Cancer*, 35:263, 1999.
7. Ashkenazi, G., and Coussens, L.M. (2000). Apoptosis control by death and decoy receptors. *Curr. Opin. Cell Bio.* 11, 255-260.
8. Butt, A.J., Firth, S.M., and Baxter, R.C. (1999). The IGF axis and programmed cell death. *Immunol. Cell Biol.* 77, 256-262.
9. Evan, G., and Littlewood, T. (1998). A matter of life and cell death. *Science* 281, 1317-1322.
10. Giancotti, F.G., and Ruoslahti, E. (1999). Integrin signaling. *Science* 285, 1028-1032

ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ 4

ΑΠΕΡΙΟΡΙΣΤΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΑΝΑΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

Λεδομένα από κυτταροκαλλιέργειες

Όλοι οι τύποι κυττάρων των θηλαστικών έχουν ένα εσωτερικό αυτόνομο σύστημα που περιορίζει τον πολλαπλασιασμό τους. Λειτουργεί ανεξάρτητα από τη σηματοδότηση κυττάρου προς κύτταρο.

Γήρανση

Όταν οι κυτταρικοί πληθυσμοί έχουν κάνει έναν αριθμό διπλασιασμών σταματούν (senescence – γήρανση), (60 – 70 αναδιπλασιασμοί)

Crisis

- Μαζικοί κυτταρικοί θάνατοι. Κυτταρική ανωμαλία, σύντηξη χρωμοσωμάτων.
- Περίπου 1 από τα 10^7 κύτταρα αποκτά τη δυνατότητα να πολλαπλασιάζεται χωρίς όριο δηλαδή γίνεται αθάνατο.
- Άρα σε κάποιο σημείο κατά την πρόοδο όποιας δυσπλασίας (εξελισσόμενοι προκακοήθεις κυτταρικοί πληθυσμοί) εξαντλούν τον αριθμό των επιτρεπόμενων αναδιπλασιασμών τους και μπορούν να εκπληρώσουν το ογκογενετικό τους πρόγραμμα μόνο με το να σπάσουν το φραγμό της θνησιμότητας και να αποκτήσουν απεριοριστο δυναμικό αναδιπλασιασμού.

Τελομερίδια

Τα τελικά άκρα των χρωμοσωμάτων. Αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες ακολουθίες 6 ζευγαριών βάσεων. Οι επόμενες γενιές μπορεί να έχουν απώλεια 50–100 βάσεων τελομερικού DNA από τα άκρα κάθε χρωμοσώματος κατά τη διάρκεια κάθε κυτταρικού κύκλου!

Οι DNA πολυμεράσες δεν μπορούν να αναπαράγουν ολοκληρωτικά τα 3 άκρα του χρωμοσωμικού DNA κατά τη φάση S. Τα τελομερίδια χάνουν την ικανότητά τους να προστατεύουν τα τελικά άκρα του χρωμοσωμικού DNA. Τα μη προστατευμένα χρωμοσωμικά άκρα συμμετέχουν σε χρωμοσωμικές συντήξεις προκαλώντας έτσι καρυστυπική ανωμαλία (crisis) (σχήμα 6).

Τελομεράση

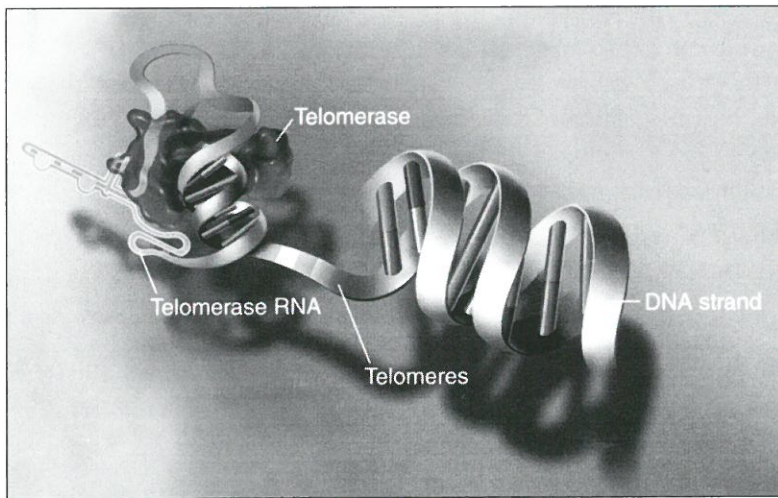
Προσθέτει επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες στα άκρα του τελομερικού DNA διατηρώντας την ακεραιότητα των τελομεριδίων

Μηχανισμός ALT

Διατηρεί τα τελομερίδια μέσω διαχρωμοσωμικών ανταλλαγών βάσει ανασυνδυασμού.

Πώς όμως υπερσκελιζεται η γήρανση;

- Αβέβαιο
- Μπορεί η γήρανση να είναι artifact της κυτταροκαλλιέργειας και να μην ανταποκρίνεται σε κυτταρικό φαινότυπο κυττάρων σε ζωντανούς ιστούς!



Σχήμα 6

Η τελομεράση είναι ένα συστατικό «κλειδί» στην αθανασία των κακοηθών κυττάρων με το να διατηρεί την ακεραιότητα των τελομεριδίων. Συνεπώς, αναστέλλοντας την τελομεράση ακυρώνει την πιθανότητα να γίνουν αθάνατα τα καρκινικά κύτταρα και έτσι η τελομεράση αποτελεί «στόχο» για ανακάλυψη νέων φαρμάκων στο μέλλον.

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

1. Bodnar, A.G., Ouellete, M., Frolkis, M, Holt, S.E., Chiu, C., Morin, G.B., Shay, J.W., Lichtsteiner, S., and Wright, W.E. (1998). Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 279, 349–352.
2. Bryan, T.M., and Cech, T.R. (1999). Telomerase and the maintenance of chromosome ends. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 318–324.
3. Bryan, T.M., Englezou, A., Gupta, J., Bacchetti, S., and Reddel, R.R. (1995). Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *EMBO J.* 14, 4240–4248.
4. Halvorsen, T.L., Leibowitz, G., and Levine, F. (1999). Telomerase activity is sufficient to allow transformed cells to escape from crisis. *Mol. Cell. Biol.* 19, 1864–1870
5. Hayflick, L. (1997). Mortality and immortality at the cellular level. A review. *Biochemistry* 62, 1180–1190.
6. Shibata, M.A., Maroulakou, I.G., Jorcyk, C.L., Gold, L.G., Ward, J.M., and Green, J.E. (1996). p53-independent apoptosis during mammary tumor progression in C3 (1)/SV40 large T antigen transgenic mice: suppression of apoptosis during the transition from neoplasia to carcinoma. *Cancer Res.* 56, 2998–3003.
7. Symonds, H., Krall, L., Remington, L., Saenz-Robles, M., Lowe, S., Jacks, T., and Van Dyke, T. (1994). p53-dependent apoptosis suppresses tumor growth and progression in vivo. *Cell* 78, 703–711.
8. Vaziri, H., and Benchimol, S. (1998). Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomerase and extended replicative life span. *Curr. Biol.* 8, 279–282.
9. Zhu, J., Wang, H., Bishop, J.M., and Blackburn, E.H. (1999). Telomerase extends the lifespan of virus-transformed human cells without net telomere lengthening. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 3723–3728.

ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ 5

ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ

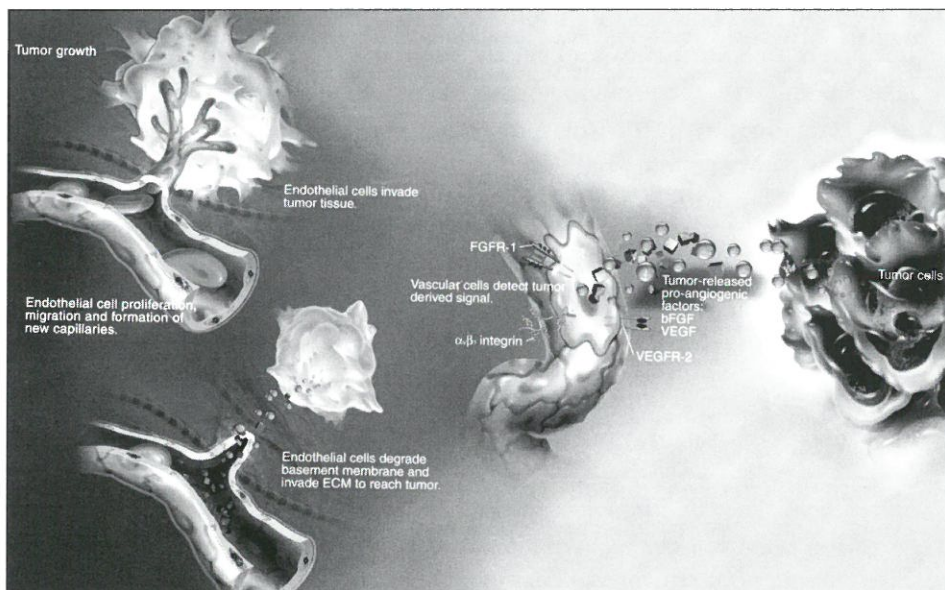
- Απαραίτητα συστατικά για την κυτταρική λειτουργία και επιβίωση (οξυγόνο και θρεπτικά υλικά) παρέχονται από το κυκλοφορικό σύστημα, γι' αυτό και όλα τα κύτταρα βρίσκονται σε απόσταση maximum 100 mm από κάποιο αιμοφόρο αγγείο κατά την διάρκεια της οργανογένεσης. Αυτή η εγγύτης είναι εξασφαλισμένη από την συντονισμένη αύξηση αγγείων και παρεγχύματος έτσι όταν ένας ιστός σχηματίζεται, η ανάπτυξη των νέων αιμοφόρων αγγείων είναι σύγχρονη και προσεκτικά ρυθμισμένη (σχήμα 7).
- Τα κύτταρα με μεγάλες δυνατότητες αναδιπλασιασμού αρχικά δεν έχουν αγγειογενετική ικανότητα.
- Υπάρχουν θετικά σήματα που ενθαρρύνουν την αγγειογένεση και αρνητικά σήματα που την μπλοκάρουν.
- Αυτοί είναι διαλυτοί παράγοντες και υποδοχείς τους βρίσκονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων.
- Οι Integrins (τα αγγεία που είναι σε εφησυχασμό εκφράζουν μία τάξη integrins ενώ αυτά που αναπτύσσονται εκφράζουν μία άλλη).
- Είναι ακόμα μόρια σύνδεσης κυττάρου – matrix και κυττάρου – κυττάρου.
- Μέχρι στιγμής έχουν ανακαλυφθεί πάνω από 24 επαγωγείς της αγγειογένεσης και άλλες τόσες ενδογενείς πρωτεΐνες με δράση ανασταλτική για την αγγειογένεση.
- Σε διαγονιδιακά ποντίκια διαπιστώθηκε ότι η αγγειογένεση ενεργοποιείται σε ενδιάμεσα στάδια πριν ολοκληρώσουν την εμφάνισή τους οι τελικοί όγκοι.

Επαγωγείς και αναστολείς

Οι όγκοι έχουν τη δυνατότητα να αλλάζουν την ισορροπία μεταξύ αγγειογενετικών επαγωγέων και αναστολέων:

- Άλλοι όγκοι έχουν αυξημένη την έκφραση των VEGF ή/και FGF (επαγωγείς) ενώ
- Άλλοι όγκοι έχουν μειωμένη την έκφραση ενδογενών (αναστολέων) όπως η β-ιντερφερόνη και η θρομβοσπονδίνη 1 ή

- Μπορεί να συμβαίνουν και τα δύο.
- Άλλος μηχανισμός είναι ο έλεγχος των εξωκυτταρικών πρωτεασών που με τη σειρά τους ελέγχουν τη βιοδιαθεσιμότητα των επαγωγέων και των αναστολέων.
- Διάφοροι ιστολογικοί τύποι κυττάρων χρησιμοποιούν διαφορετικές στρατηγικές για να ενεργοποιήσουν τον αγγειογενετικό τους διακόπτη.



Σχήμα 7

Οι όγκοι χρειάζονται οξυγόνο και τροφή, τα οποία παρέχονται από νέα αιμοφόρα αγγεία που διαπερνούν τον όγκο. Τα καρκινικά κύτταρα ενεργοποιούν τον αγγειογενετικό «διακόπτη» με το να εκκρίνει αγγειογενετικούς ενδοθηλιακούς αυξητικούς παράγοντες (VEGFs) και όξινους και βασικούς αυξητικούς παράγοντες ινοβλαστών (FGF1/2). Αυτοί οι αυξητικοί παράγοντες συνδέονται στους υποδοχείς τους (VEGFRs) πάνω στο ενδοθηλιακό κύτταρο και ενεργοποιούν μονοπάτια σημάτων που τελικά οδηγούν σε αγγείωση του όγκου. Μηνύματα που έρχονται δια μέσω υποδοχέων ιντεγκρινών συμβάλλουν επίσης στην αγγειογένεση. Αναστέλλοντας την αγγειογένεση, σταματά ο σχηματισμός αιμοφόρων αγγείων στον όγκο και έτσι σταματά να λαμβάνει τροφή που του είναι αναγκαία για να επιβιώσει. Αρκετοί αντιαγγειογενετικοί αναστολείς είναι σε εξέλιξη. Διαφέρουν στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους, στον στόχο και στον τρόπο δράσης.

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

1. Bergers, G., Javaherian, K., Lo, K.-M., Folkman, J., and Hanahan, D. (1999). Effects of angiogenesis inhibitors on multistage carcinogenesis in mice. *Science* 284, 808–812.
2. Bull, H.A., Brickell, P.M., and Dowd, P.M. (1994). Src-related protein tyrosine kinases are physically associated with the surface antigen CD36 in human dermal microvascular endothelial cells. *FEBS Lett.* 351, 41–44.
3. Fedi, P., Tronich, S.R., and Aaronson, S.A. (1997). In *Cancer Medicine*, J.F. Holland, R.C. Bast, D.L. Morton, E. Frei, D.W. Kufe, and R.R. Weichselbaum, eds. (Baltimore, MD: Williams and Wilkins).
4. Giancotti, F.G., and Ruoslahti, E. (1999). Integrin signaling. *Science* 285, 1028–2032.
5. Hynes, R.O., and Wagner, D.D. (1996). Genetic manipulation of vascular adhesion molecules in mice. *J. Clin. Invest.* 98, 2193–2195.
6. Stetler-Stevenson, W.G. (1999). Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention. *J. Clin. Invest.* 103, 1237–1241.
7. Veikkola, T. and Alitalo, K. (1999). VEGFs, receptors and angiogenesis. *Semin. Cancer Biol.* 9, 211–220.

ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ 6

ΔΙΗΘΗΣΗ ΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΤΑΣΗ

Οι μεταστάσεις είναι η αιτία για το 90% των θανάτων από καρκίνο. Η ικανότητα για διήθηση ιστών και μετάσταση βοηθά τα καρκινικά κύτταρα να αποδρούν από την αρχική μάζα του όγκου και να κάνουν νέες αποικίες στο σώμα όπου ο χώρος και τα θρεπτικά υλικά δεν αποτελούν περιοριστικό παράγοντα.

Οι νεοσχηματισμένες μεταστάσεις εμφανίζονται σαν αμαλλάματα καρκινικών κυττάρων και φυσιολογικών κυττάρων που υποστηρίζουν τα καρκινικά κύτταρα και που προέρχονται από το φυσιολογικό ιστό που τα φιλοξενεί.

Η μετάσταση όπως και ο αρχικός σχηματισμός του όγκου εξαρτάται από τις άλλες 5 επίκτητες ιδιότητες.

Η διηθητική και μεταστατική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων μπορεί να αποδοθεί είτε στην ενεργοποίηση μιας αλληλουχίας πρωτεολυτικών ενζύμων από το ίδιο το κύτταρο, είτε στη δράση των κυττάρων του στρώματος, τα οποία διεγείρονται από παράγοντες των παρακείμενων καρκινικών κυττάρων ακόμα και από γενετικές ή βιοχημικές παραμέτρους που παραμένουν ακόμη άγνωστες.

ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΥΝ ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΟΥΣ

Καδερίνες

Η πιο συνήθης αλλαγή σχετίζεται με την πρωτεΐνη ε – καδερίνη (ένα μόριο ομοτυπικής αλληλεπίδρασης που εκφράζεται στα επιθηλιακά κύτταρα) (σχήμα 8). Οι γέφυρες καδερίνης καθοδηγούν τη μετάδοση αντι – αναπτυξιακών και άλλων σημάτων μέσω κυτταροπλασματικών επαφών με τη β –κατενίνη προς ενδοκυτταρικά κυκλώματα σηματοδότησης που περιλαμβάνουν τον παράγοντα αποκωδικοποίησης Lef/Tcf. Η λειτουργία της ε – καδερίνης χάνεται στους περισσότερους επιθηλιακούς καρκίνους με μηχανισμούς που συμπεριλαμβάνουν απενεργοποίηση μέσω μεταλλαγών των γονιδίων της ε –καδερίνης ή της β –κατενίνης, καταστολή μεταγραφής ή πρωτεόλυση του εξωκυτταρικού τμήματος της καδερίνης (σχήμα 9).

Υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών (CAMs)

Εμφανίζονται αλλαγές στην έκφραση των CAMs δηλαδή στις ανοσοσφαιρίνες που παίζουν κρίσιμο ρόλο στην πορεία διήθησης ή/και μετάστασης. Η εμφανέστερη περίπτωση εμπλέκει το N-CAM που μπορεί να διατυπωθεί σαν διακόπτης της έκφρασης από μια υψηλή μορφή προσκόλλησης (στους ξένους ιστούς) σε χαμηλή μορφή προσκόλλησης.

Η φυσιολογική δηλαδή λειτουργία των CAMs είναι απαραίτητη για την καταστολή της μετάστασης (11).

Integrins

Η διήθηση στον υπό μετάσταση ιστό διευκολύνεται με το να εκφράζει το καρκινικό κύτταρο που πάει να κάνει την μετάσταση προσαρμοσμένες integrins δηλαδή το καρκινικό κύτταρο τροποποιεί τις integrins του (που είναι πάνω από 22 και με διάφορους υποτύπους η κάθε μία) στις ανάλογες integrins του ξενιστού ιστού για να έχουν την δυνατότητα σύνδεσης με τις integrins αυτού και τα άλλα στρωματικά συστατικά του matrix του ξενιστή ιστού.

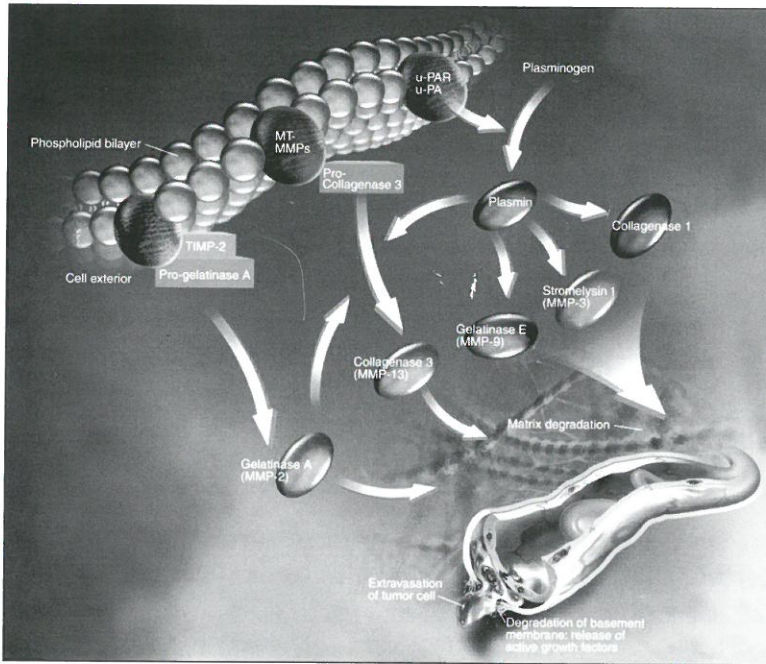
Εξωκυτταρικές πρωτεάσες

Η δεύτερη ουσιαστικά παράμετρος για την μεταστατική ικανότητα, εμπλέκει τις εξωκυτταρικές πρωτεάσες που αποδομούν το stroma-integrins. Γονίδια πρωτεασών υπερεκφράζονται από το καρκινικό κύτταρο και γονίδια αναστολέων των πρωτεασών υποεκφράζονται και άλλες αδρανείς μορφές πρωτεασών μετατρέπονται σε ενεργεί ένζυμα.

Σε άλλα καρκινώματα, εκτός των αδενοκαρκινωμάτων, αυτές οι πρωτεάσες, δεν παράγονται από τα επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα αλλά κυρίως από κύτταρα του στρώματος και άλλα φλεγμονώδη κύτταρα. Οι ενεργείς λοιπόν πρωτεάσες στο περιβάλλον του καρκινικού κυττάρου διευκολύνουν την διηθητική του ικανότητα στο γειτονικό υπόστρωμα δια μέσω των τοιχωμάτων των αιμοφόρων αγγείων και διαμέσου των στρωμάτων των επιθηλιακών κυττάρων όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες, το γονίδιο των οποίων υπερεκφράζεται σε μεγάλο αριθμό του πληθυσμού των καρκινικών κυττάρων όταν ο όγκος εμφανίζεται κλινικά σαν όγκος «Bulky» (τοπικά πολύ διογκωμένος).

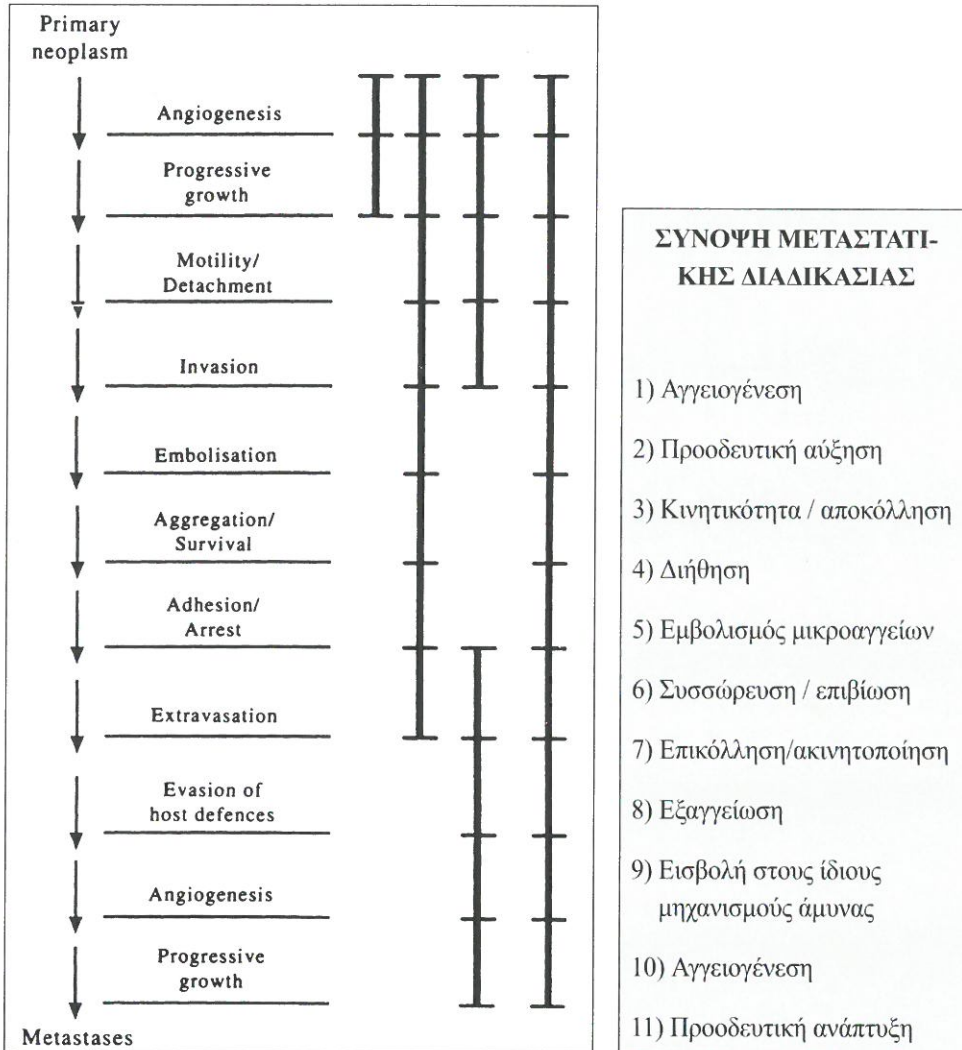
Τέλος, 1) η δράση των εξωκυττάρων πρωτεασών, 2) οι αλλαγμένες ιδιότητες των καδερινών, 3) η τροποποίηση της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών CAMs, 4) η προσαρμογή των integrins, φαίνεται να είναι ο κεντρικός παράγων στην με-

ταστατική ιδιότητα του καρκίνου. Οι μοριακοί όμως μηχανισμοί δεν είναι πλήρως γνωστοί και πρέπει να διαφέρουν από το ένα ιστικό περιβάλλον στο άλλο ιστικό περιβάλλον.



Σχήμα 8

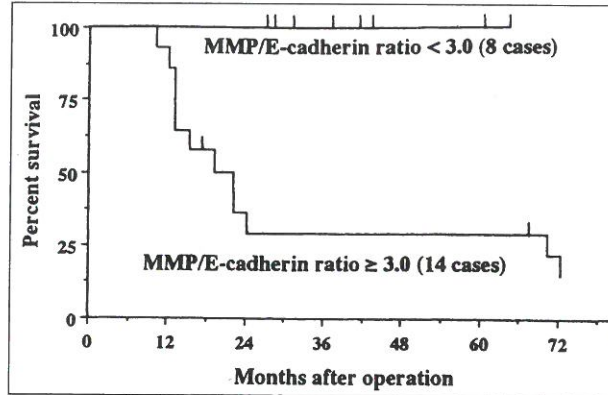
Η μετάσταση και η διήθηση εμπλέκουν πρωτοπαθή καρκινικά κύτταρα που φεύγουν από τον πρωτοπαθή όγκο, εισβάλλουν σε γειτονικούς ιστούς και μεταναστεύουν σε μακρινές εστίες. Ορισμένοι μηχανισμοί μέσω των οποίων αυτό μπορεί να γίνεται, εμπλέκουν μια αλλαγή στην έκφραση πρόσφυσης μορίων πάνω στα καρκινικά κύτταρα μετατρέποντάς τα σε λιγότερα προσφιούμενα και όπως η ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών, οι οποίες αποδομούν το εξωκυτταρικό στρώμα των πρωτεϊνών (π.χ. υαλουρονιδές - κολαγόνο), συμβάλλοντας στην διαδικασία διήθησης και μετάστασης. Επιπρόσθετα, οι εξωκυτταρικοί υποδοχείς των ιντεγκρινών που βρίσκονται στα διηθητικά και μεταστατικά καρκινικά κύτταρα, μπορούν να συνδεθούν καλύτερα με τις πρωτεΐνες αλλοιωμένου στρώματος. Οι στόχοι της εξέλιξης νέων φαρμάκων περιλαμβάνουν τις μεταλλοπρωτεϊνάσες και αναστολείς $\alpha_3\beta_3$ των ιντεγκρινών.



Εάν τα καρκινικά κύτταρα δεν είναι σε θέση να ολοκληρώσουν κάθε βήμα της διαδικασίας όπως φαίνεται στο σχήμα, τα ίδια τα κύτταρα εξολοθρεύονται. Π.χ. ένα κύτταρο που μπορεί να επηρεάσει την αγγειογένεση, αλλά δεν είναι κινητικό – διηθητικό στον δεδομένο χρόνο που χρειάζεται δεν θα παράγει μετάσταση. Γιαυτό το μεταστατικό δυναμικό κάθε κυττάρου είναι μία και χρονική συνιστώσα όλων των παραπάνω παραμέτρων που φαίνεται στο σχήμα.

(Educational Book, pp 14–15, ASCO, 2000)

**ΠΗΛΙΚΟ ΣΧΕΣΗΣ MMP/E-ΚΑΔΕΡΙΝΗ ΚΑΙ ΕΠΙΒΙΩΣΗ
ΣΤΟ ΕΞΑΙΡΕΘΕΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ**



Σχήμα 9

Συσχετισμός της επιβίωσης με το πηλίκο MMP/E-καδερίνη σε εξαιρεθέν καρκίνο του παγκρέατος, όπως φαίνεται με την μέθοδο Kaplan-Meier. Η ολική επιβίωση διαφέρει σημαντικά στην ομάδα των ασθενών με πηλίκο μικρότερο του 3.0 σε σχέση με εκείνο της ομάδας των ασθενών με πηλίκο μεγαλύτερο του 3.0 ($p = 0.001$, log-rank test).

Μετρούνται η έκφραση και των 2 μεταλλοπρωτεϊνών MMP-2 και MMP-9.

$$\text{Τύπος αναλογία} = \frac{\text{MMP-2} + \text{MMP-9}}{2 \text{ E-καδερίνη}}$$

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

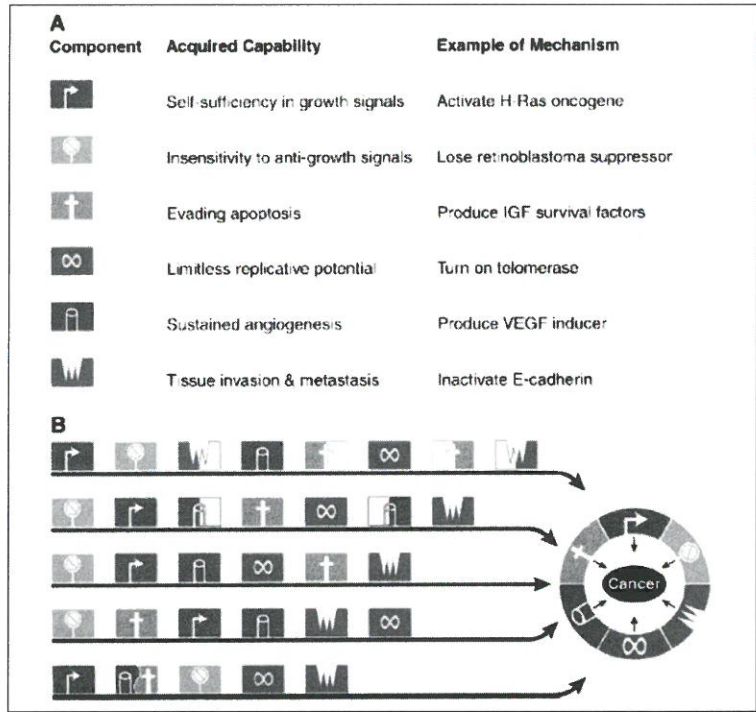
1. Cristofori, G., and Semb, H. (1999). The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumor-suppressor gene. *Trends Biochem. Sci.* 24, 73–76.
2. Aplin, A.E., Howe, A., Alahari, SK, and Juliano, R.L. (1998). Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacol. Rev.* 50, 197–263.
3. Perl, A.-K., Dahl, U., Wilgenbus, P., Cremer, H, Semb, H., and Cristofori G. (1999). Reduced expression of neural cell adhesion molecule induces metastatic dissemination of pancreatic tumor cells. *Nat. Med.* 5, 286–291.
4. Kaiser, U., Auerbach, B., and Oldenburg, M. (1996). The neural adhesion molecule NCAM in multiple myeloma. *Leuk. Lymphoma* 20, 389–395.
5. Giancotti, F.G., and Ruoslahti, E. (1999) Integrin signaling. *Science* 285, 1028–1032.
6. Varner, J.A. and Cheresch, D.A. (1996). Integrins and cancer. *Curr. Opin. Cell Biol.* 8, 724–730.
7. Stetler-Stevenson, W.G. (1999). Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention. *J. Clin. Invest.* 103, 1237–1241.
8. Bergers, G., and Coussens, L.M. (2000). Extrinsic regulators of epithelial tumor progression: metalloproteinases. *Curr. Opin. Genet. Dev.* In press.
9. Coussens, L.M., and Werb, Z. (1996). Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem. Biol.* 3, 895–904.
10. Fogar, P., Basso, D., Pasquali, C., De Paoli, C., Sperti, C., Roveroni, G., Pedrazzoli, G., and Plebani, M. (1997). Neural cell adhesion molecule (N-CAM) in gastrointestinal neoplasias. *Anticancer Res.* 17, 1227–1230.
11. Perl A.-K., Dahl U., Wilgenbus, P., Cremer, H., Semb, H., and Cristofori, G. (1999). Reduced expression of neural cell adhesion molecule induces metastatic dissemination of pancreatic tumor cells. *Nat. Med.* 5, 286–291.

ΕΝΑ ΑΚΟΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΟ ΠΟΥ ΒΟΗΘΑ

ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ

- Αυτό το επίκτητο χαρακτηριστικό τοποθετείται ξεχωριστά από τα άλλα έξι, καθώς αντιπροσωπεύει το μέσο που βοηθά τους αναπτυσσόμενους πληθυσμούς των προ – καρκινικών κυττάρων να φτάσουν στα τελικά έξι σημεία.
- Το γονιδίωμα των καρκινικών κυττάρων αποκτά αυξημένη μεταλλαξιμότητα. Φαίνεται ότι τα συστήματα που εμποτεύουν τη σταθερότητα του γονιδιώματος εμφανίζουν κάποια δυσλειτουργία.
- Η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53 σαν ανταπόκριση σε κάποια ζημιά του DNA προκαλεί ή τη στάση του κυτταρικού κύκλου ώστε να επιτραπεί η επιδιόρθωση του DNA ή την απόπτωση αν η ζημιά είναι εκτεταμένη.
- Η λειτουργία του συστήματος της p53 χάνεται στους περισσότερους αν όχι σε όλους τους καρκίνους.
- Η απόπτωση μπορεί να είναι επίσης «όχημα» γονιδιακής αστάθειας καθώς το DNA από τα αποπτωτικά κύτταρα μπορεί να ενσωματωθεί στα γειτονικά κύτταρα μετά από φαγοκυττάρωση των αποπτωτικών σωματιδίων από τα διπλανά κύτταρα και εμφάνιση του φαινομένου «bystandart effect». Έτσι στην περίπτωση απώλειας από τα καρκινικά κύτταρα των μηχανισμών απόπτωσης είτε μέσω του μονοπατιού του p53 ή «μη p53» απόπτωσης, η ίδια η χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία που προκαλεί ζημιά (βλάβη έτη περαιτέρω) στο DNA το οποίο δεν δύναται μετά να οδηγηθεί σε απόπτωση. Έτσι στο κύτταρο προκαλείται περαιτέρω επιδείνωση της βιολογικής συμπεριφοράς του με σοβαρή κλινική χημειοαντοχή και αντοχή στην ακτινοθεραπεία.
- Η υπερέκφραση του γονιδίου MDR-1 και της παραγόμενης ATP-εξαρτώμενης πρωτεΐνης – μεταφορέα, προκαλεί την ενεργό έξοδο χημειοθεραπευτικών παραγόντων από το κύτταρο και τη μη ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή. Τα ραδιοφάρμακα Tc-99m-tetrafosmin και Tc-99m-sestamibi μελετώνται ως πιθανοί in vivo δείκτες ανάπτυξης ακτινοαντοχής ή multiple drug resistance.
- Από τα παραπάνω συνάγεται ότι πέρα από τις υφιστάμενες μεθόδους μορφολογικής απεικόνισης, λειτουργικής απεικόνισης (διαταραχές αιμάτωσης/μεταβολισμού πέριξ/εντός όγκων, σύνδεση με υποδοχείς επιφάνειας, κ.ά.) έμφαση πρέπει να δοθεί σε:

- A) Χαρτογράφηση γονιδιώματος με ταυτοποίηση των γονιδίων που εκφράζονται στους διάφορους όγκους και υποτύπους τους.
- B) Ανίχνευση πρώιμων φυσιολογικών διαταραχών (βιοχημικών και πρωτεϊνικών) που προσδιορίζουν την αρχική διαδικασία της καρκινογένεσης π.χ. είναι γνωστό ότι η λειτουργική κατάληξη των γενετικών δομών και διεργασιών γύρω από αυτά δεν είναι τίποτα άλλο από έκφραση μιας δεδομένης πρωτεΐνης ενδοκυττάριας διαμεμβρανικής ή εξωκυττάριας. Ο καθορισμός λοιπόν αυτών των ειδικών πρωτεϊνών, θα μπορεί να μας οδηγεί στην συγκεκριμένη γονιδιακή αλλοίωση ή τον αρχικό μηχανισμό πρόκλησης της νόσου. Αυτά συνιστούν ίσως τα βασικά βήματα στην πολύπλευρα συντονισμένη πορεία για την πρόιμη διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου (σχήμα 10).
- Γ) Η έρευνα στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μεταλλαγμένων γενετικά κακόηθων κυττάρων και των «υποστηρικτών αυτών» των ποικίλων φυσιολογικών κυττάρων (ινοβλάστες – επιθηλιακά κύτταρα, κύτταρα ανοσοποιητικού συστήματος) θα αποδειχθεί κρίσιμη στην κατανόηση της παθογένεσης του καρκίνου και στην εξέλιξη νέων αποτελεσματικών θεραπειών (σχήμα 11).



Σχήμα 10

Ουσιαστικά μέχρι σήμερα είναι αποδεκτό το μοντέλο ότι για την καρκινογένεση – πρόοδο νόσου απαιτείται η απόκτηση και των 6 ιδίων (σε όλους του καρκίνους) επίκτητων ιδιοτήτων.

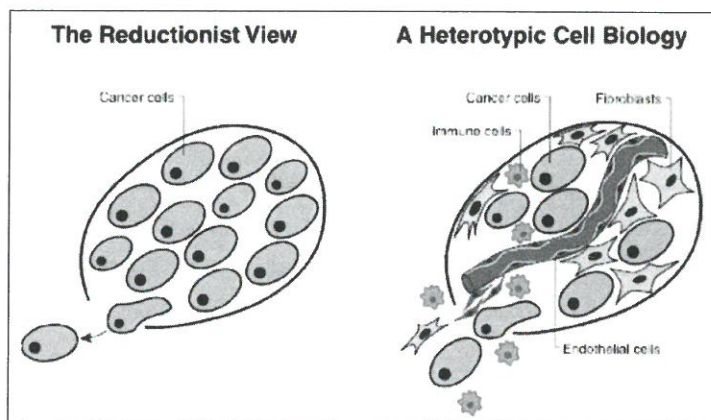
Οι ιδιότητες αυτές (οι επίκτητες) ενεργοποιούνται σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό και κατά ποικίλη χρονική σειρά και έκταση. Έτσι η σειρά με την οποία αυτές οι ιδιότητες εμφανίζονται είναι ποικίλη μέσα σε όλο το φάσμα των καρκινικών τύπων και υποτύπων.

Επίσης σε μερικούς καρκίνους συγκεκριμένη γενετική βλάβη μπορεί να προσφέρει περισσότερες από μία ιδιότητες μειώνοντας έτσι παράλληλα τον αριθμό των «βημάτων» γνωστών μεταλλάξεων που απαιτούνται για την ολοκλήρωση της καρκινογένεσης.

Έτσι η απώλεια της λειτουργίας π.χ. της καταστολής που προσφέρει το p53 μπορεί να διευκολύνει και την αγγειογένεση αλλά και την αντίσταση στην απόπτωση (π.χ. στην οδό με τα 5 βήματα που φαίνονται στο σχήμα) όπως ακόμα και να ενισχυθεί το χαρακτηριστικό της αστάθειας του γονιδιώματος.

Σε άλλους όγκους μια ιδιότητα μπορεί να εμφανισθεί μόνο μέσα από δύο ή περισσότερες ευδιάκριτες γενετικές αλλαγές αυξάνοντας έτσι τον συνολικό αριθμό των μεταλλάξεων που απαιτούνται για την ολοκλήρωση της καρκινογένεσης και πρόοδο της νόσου.

Έτσι συμβαίνει στην οδό με τα 8 βήματα που φαίνεται στο σχήμα (διήθηση – μετάσταση – αντίσταση σε απόπτωση) απαντάται το κάθε ένα σε 2 βήματα.

**Σχήμα 11**

Η έρευνα στον καρκίνο σήμερα καθοδηγείται κυρίως από μια υπεραπλουστευμένη επικέντρωση μόνο στα καρκινικά κύτταρα και στα γονίδια που είναι μέσα σε αυτά, που αναμφίβολα μέχρι σήμερα έχει παράγει αρκετή γνώση.

Κοιτώντας όμως στο μέλλον πιστεύουμε ότι νέα σημαντικά δεδομένα θα έλθουν μελετώντας τους όγκους ως «συμπλέγματα ιστών» μέσα στους οποίους μεταλλαγμένα καρκινικά κύτταρα έχουν στην «υπηρεσία τους» πολλαπλούς τύπους φυσιολογικών κυττάρων που συνεισφέρουν με την φυσιολογική λειτουργία τους ως ενεργοί συνεργάτες στην νεοπλασματική εξέλιξη.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lengauer, C., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B. (1998). Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 396, 643–649.
2. Levine, A.J. (1997), p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88, 323–331.
3. Loeb, L.A. (1991). Mutator phenotype may be required for multistep carcinogenesis. *Cancer Res.* 51, 3073–3079.
4. Holmgren, L., Szeles, A., Rajnavolgyi, E., Folkman, J., Klein, G., Ernberg, I., and Falk, KI, (1999). Horizontal transfer of DNA by the uptake of apoptotic bodies. *Blood* 93, 3956–3963.
5. Giannios J. Ginopoulos P. Eradication by ADCC and p53 indept-PCD of chemoresistant esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) over expressing c-erbB2 after adm. of vinorelbine encapsulated in pegylated immunoliposomes consisting of Mab-anti-HER2/neu and hexadecyl PC, downregulating c-erbB2, dTHdPase, VEGF/VPF, bcl-2 and PKC. *Un. Eur. Gastr. W.*, 1999, p. 208.
6. J. Giannios, P. Ginopoulos. Induction of PCD in chemoresistant NSCLC after combined administration of cytostatic paclitaxel, cytotoxic etoposide and colloidal plasmid PCB6+WTP53. *Intern. Canc. Congr.* 1998 pp. 669–678.

Προοπτικές θεραπείας νεοπλασιών μέσω ανοσοτροποποίησης: Νεότερα δεδομένα

Αθανασία Μουζάκη
Σωτηρία Θυμιανού

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι όγκοι εκφράζουν αντιγόνα επιφανείας τα οποία αναγνωρίζονται από το ανοσοποιητικό σύστημα. Μερικοί όγκοι είναι σε μικρό βαθμό ανοσογονικοί και τότε οι ανοσοαποκρίσεις αποτυγχάνουν να εμποδίσουν την ανάπτυξη τους. Το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να ενεργοποιηθεί έτσι ώστε να καταστρέφει αποτελεσματικά τους όγκους

- Τα αντιγόνα των όγκων που αναγνωρίζονται από τα CTLs αποτελούν τους βασικούς επαγωγείς καθώς και τους στόχους για την αντι-ογκογονική ανοσία. Τα αντιγόνα αυτά περιλαμβάνουν προϊόντα μεταλλαγμένων ογκογονιδίων και φυσιολογικές κυτταρικές πρωτεΐνες των οποίων η έκφραση στους όγκους έχει απορυθμιστεί ή αυξηθεί ή, σπανιότερα, ελαττωθεί –αν πρόκειται για ογκογονίδια που καταστέλλουν την μεταγραφή
- Οι ανοσολογικές αποκρίσεις που είναι ικανές να καταστρέφουν τα κύτταρα των όγκων αποτελούνται από CTLs, NK και ενεργοποιημένα μακροφάγα. Ο ρόλος αυτών των τελεστικών ανοσολογικών μηχανισμών στο να προστατεύουν τα άτομα από τους όγκους δεν είναι πλήρως ορισμένος

- Οι όγκοι διαφεύγουν των ανοσοαποκρίσεων μέσω μηχανισμών όπως: (1) Αρνητική ρύθμιση της έκφρασης των μορίων του MHC, στον άνθρωπο HLA, (2) επιλογή κυττάρων που δεν εκφράζουν αντιγόνα του όγκου, (3) παραγωγή ανοσοκατασταλτικών ουσιών, (4) επαγωγή ανθεκτικότητας στα αντιγόνα του όγκου και (5) επαγωγή απόπτωσης των ανοσοποιητικών κυττάρων του ξενιστή και κυρίως των CTLs
- Η ανοσοθεραπεία για τους όγκους είναι σχεδιασμένη έτσι ώστε να απελευθερώνει ενεργές ανοσοαποκρίσεις έναντι των όγκων αυτών ή να χορηγεί ογκο-ειδικούς ανοσολογικούς τελεστές στους ασθενείς. Οι ανοσοαποκρίσεις μπορούν να ενισχύονται ενεργά μέσω εμβολιασμού με κύτταρα του όγκου ή αντιγόνα, χορήγηση στους όγκους που είναι τροποποιημένοι να εκφράζουν υψηλά επίπεδα συνδιεγερτών ή κυτταροκινών οι οποίες διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των T κυττάρων και συστηματική χορήγηση κυτταροκινών. Οι προσεγγίσεις για ανοσοθεραπεία περιλαμβάνουν επίσης τη χορήγηση αντιογκογονικών αντισωμάτων, αντισωμάτων ενωμένων με τοξικά φάρμακα (ανοσοτοξίνες) καθώς και ογκο-αντιδρώντα T και NK κύτταρα που απομονώθηκαν από ασθενείς και διευρύνθηκαν σε καλλιέργεια με αυξητικούς παράγοντες. Τέλος, η χρησιμοποίηση των δενδριτικών κυττάρων για ανοσοποίηση έναντι καρκινικών αντιγόνων αποτελεί την πιο πρόσφατη και πολλά υποσχόμενη μέθοδο εμβολιασμού.

Πιο αναλυτικά:

Η δυνατότητα θεραπείας ασθενών με καρκίνο μέσω ανοσολογικών προσεγγίσεων, αποτελεί μεγάλη πρόκληση για τους ανοσολόγους που ασχολούνται με τον καρκίνο. Το μεγάλο ενδιαφέρον που παρατηρείται σχετικά με την ανοσολογική θεραπευτική προσέγγιση είναι ότι οι τρέχουσες θεραπείες του καρκίνου βασίζονται σε φάρμακα που σκοτώνουν τα διαιρούμενα κύτταρα ή που σταματούν την κυτταρική διαίρεση. Οι θεραπείες αυτές όμως έχουν καταστρεπτικά αποτελέσματα και στα φυσιολογικά διαιρούμενα κύτταρα των καρκινοπαθών. Σαν αποτέλεσμα, η θεραπεία των καρκίνων μπορεί να προκαλέσει νοσηρότητα ή/και θνησιμότητα.

Οι ανοσοαποκρίσεις έναντι των όγκων μπορεί να είναι ειδικές των καρκινικών αντιγόνων και δεν θα πρέπει να βλάπτουν τα περισσότερα φυσιολογικά κύτταρα. Συνεπώς, η ανοσοθεραπεία έχει τη δυνατότητα να αποτελεί την πιο ειδική θεραπεία όγκων. Τα πλεονεκτήματα τόσο της κατανόησης του ανοσοποιητικού συστήματος όσο και του καθορισμού αντιγόνων πάνω στα καρκινικά κύτταρα,

έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων στρατηγικών θεραπείας. Η ανοσοθεραπεία των όγκων στοχεύει στην ενίσχυση της ασθενούς ανοσοαπόκρισης του ξενιστή έναντι των όγκων (ενεργή ανοσία) ή στην χορήγηση ογκοειδικών αντισωμάτων ή T κυττάρων, μια μορφή παθητικής ανοσίας. Παρακάτω περιγράφονται μερικοί τρόποι ανοσοθεραπείας των όγκων που έχουν ήδη δοκιμαστεί στο παρελθόν ή ερευνώνται τώρα.

ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ

Διέγερση των ενεργών ανοσοαποκρίσεων του ξενιστή έναντι των όγκων:

Οι πιο πρώιμες προσπάθειες που έγιναν για την προώθηση της αντι-ογκογονικής ανοσίας, βασίζονταν σε μη ειδική διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος. Πιο πρόσφατα, εμβόλια τα οποία αποτελούνται από σκοτωμένα κύτταρα του όγκου ή από αντιγόνα του όγκου, έχουν χορηγηθεί σε ασθενείς και βρίσκεται σε εξέλιξη η ανάπτυξη στρατηγικών για την ενίσχυση των ανοσοαποκρίσεων έναντι του όγκου. Η ανοσοποίηση των ατόμων που φέρουν όγκους, με σκοτωμένα κύτταρα όγκου ή καρκινικά αντιγόνα μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την ενίσχυση των ανοσοαποκρίσεων έναντι του όγκου.

Η ταυτοποίηση πεπτιδίων που αναγνωρίζονται από κυτταροτοξικά κύτταρα ειδικά των όγκων και η κλωνοποίηση των γονιδίων που κωδικοποιούν ογκο-ειδικά αντιγόνα που αναγνωρίζονται από τα κυτταροτοξικά κύτταρα, μας έχουν εφοδιάσει με πολλά μόρια που είναι υποψήφια για εμβόλια. Μία από τις πιο πρώιμες προσεγγίσεις εμβολίων, η οποία ακόμη δοκιμάζεται, είναι η ανοσοποίηση με καθαρισμένα αντιγόνα του όγκου μαζί με ανοσοενισχυτικά.

Πιο πρόσφατα έχουν γίνει προσπάθειες για την ανοσοποίηση καρκινοπαθών με ειδικευμένα APCs, όπως είναι τα δενδριτικά κύτταρα που έχουν απομονωθεί από ασθενείς και είτε επωάστηκαν με καρκινικά αντιγόνα είτε διαμολύνθηκαν με τα γονίδια που κωδικοποιούν τα αντιγόνα αυτά δηλ. μέσω ένεσης των πλασμιδίων που περιέχουν τα cDNAs που κωδικοποιούν τα καρκινικά αντιγόνα (εμβόλια DNA, βλ. Πίνακα 1). Τα εμβόλια αυτά, που βασίζονται είτε στα δενδριτικά κύτταρα, είτε στο DNA, μπορεί να αποτελούν τους καλύτερους τρόπους για την εισαγωγή κυτταροτοξικών αποκρίσεων επειδή τα κωδικοποιημένα αντιγόνα συνθέτονται στο κυτταρόπλασμα και μπαίνουν στο μονοπάτι αντιγονοπαρουσίασης MHC τάξης I.

Για αντιγόνα τα οποία είναι μοναδικά των όγκων, όπως τα αντιγόνα που παράγονται μέσω τυχαίων σημειακών μεταλλάξεων των κυτταρικών γονιδίων, αυτοί οι τρόποι εμβολιασμού δεν είναι πρακτικοί επειδή απαιτούν ταυτοποίηση των αντιγόνων από κάθε όγκο. Από την άλλη, καρκινικά αντιγόνα που είναι κοινά για πολλούς όγκους, όπως το MAGE, η τυροσινάση, τα αντιγόνα gp100 των μελανωμάτων καθώς και οι μεταλλαγμένες πρωτεΐνες Ras και p53 πολλών όγκων, δυνητικά είναι χρήσιμα ανοσογόνα για όλους τους ασθενείς με συγκεκριμένες μορφές καρκίνου. Πράγματι, δοκιμές εμβολίων με τη χρήση τέτοιων αντιγόνων διεξάγονται ήδη σε μια ποικιλία όγκων. Ένας περιορισμός στη θεραπεία των ήδη εγκατεστημένων όγκων με τέτοια εμβόλια, είναι ότι τα εμβόλια αυτά πρέπει να δρουν θεραπευτικά και όχι απλά παρεμποδιστικά και συνεπώς συχνά είναι αρκετά δύσκολο να επαχθεί μια αρκετά δυνατή ανοσοαπόκριση η οποία θα καταστρέφει όλα τα κύτταρα των αναπτυσσόμενων όγκων.

Η ανάπτυξη, ιϊκά επαγόμενων όγκων, μπορεί να παρεμποδιστεί μέσω προληπτικού εμβολιασμού με ιϊκά αντιγόνα ή εξασθενημένους ζωντανούς ιούς. Η προσέγγιση αυτή είναι επιτυχής στο να μειώνει τη συχνότητα του ιού λευχαιμίας των αιλουροειδών, που επάγει αιματολογικές κακοήθειες στις γάτες, καθώς και στην παρεμπόδιση ανάπτυξης του λεμφώματος που ονομάζεται «ασθένεια του Marek» στα κοτόπουλα και που προκαλείται από τον ιό του έρπητα. Στους ανθρώπους, το εξελισσόμενο πρόγραμμα εμβολιασμού έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) μπορεί να ελαττώνει τη συχνότητα του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος που σχετίζεται με τη μόλυνση με τον ιό HBV.

Πίνακας 1: Εμβόλια

Τύπος εμβολίου	Παρασκευή εμβολίου	Ζωικά μοντέλα	Κλινικές δοκιμές
Εμβόλιο νεκρού όγκου	Κύτταρα νεκρού όγκου + ανοσοενισχυτικά Κυτταρικά λύματα όγκου + ανοσοενισχυτικά	Μελάνωμα, καρκίνος του εντέρου, άλλοι. Σάρκωμα	Μελάνωμα, καρκίνος του εντέρου. Μελάνωμα
Καθαρισμένα αντιγόνα όγκου	Αντιγόνα μελανώματος Heat shock πρωτεΐνες	Μελάνωμα Διάφοροι	Μελάνωμα Μελάνωμα, νεφρικός καρκίνος, σάρκωμα
Ειδικευμένα εμβόλια βασισμένα σε APC	Δενδριτικά κύτταρα σηματοδοτημένα με αντιγόνα του όγκου Δενδριτικά κύτταρα διαμολυσμένα με γονίδια που εκφράζουν αντιγόνο του όγκου	Μελάνωμα, B κυτταρικό λέμφωμα, σάρκωμα Μελάνωμα, καρκίνος του παχέως εντέρου	Μελάνωμα, non-Hodgkin's lymphoma, καρκίνος του προστάτη, άλλοι Διάφορα καρκινώματα
Εμβόλια ενισχυμένα με κυτταροκίνες και συνδιεγέρτες	Κύτταρα του όγκου διαμολυσμένα με κυτταροκίνη ή B7 γονίδια APC διαμολυσμένα με γονίδια κυτταροκινών και σηματοδοτημένα με αντιγόνα του όγκου	Νεφρικός καρκίνος, σάρκωμα, B κυτταρική λευχαιμία, καρκίνος του πνεύμονα	Μελάνωμα, σάρκωμα, άλλοι Μελάνωμα, νεφρικός καρκίνος, άλλοι
Εμβόλια DNA	Ανοσοποίηση με πλασμίδια που κωδικοποιούν αντιγόνα του όγκου	Μελάνωμα	Μελάνωμα
Ίικα οχήματα	Αδενοϊοί, ιϊκά εμβόλια που κωδικοποιούν αντιγόνα του όγκου ± κυτταροκίνες	Μελάνωμα, σάρκωμα	Μελάνωμα

ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΟΓΚΩΝ ΜΕΣΩ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΔΙΕΓΕΡΤΩΝ

Η κυτταρο-ρυθμιζόμενη ανοσία έναντι των όγκων, μπορεί να ενισχυθεί μέσω της έκφρασης συνδιεγερτών και κυτταροκινών στα κύτταρα του όγκου καθώς και με την χορήγηση στα άτομα που φέρουν όγκους, κυτταροκινών οι οποίες διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων και των φυσικών φονικών κυττάρων (NK):

Τα κύτταρα του όγκου μπορούν να επάγουν ασθενείς ανοσοαποκρίσεις επειδή δεν έχουν συνδιεγερτικά μόρια, συνήθως δεν εκφράζουν μόρια MHC τάξης II και συνεπώς δεν ενεργοποιούν τα T βοηθητικά κύτταρα. Δύο δυναμικές προσεγγίσεις για την ενίσχυση των αποκρίσεων του ξενιστή έναντι των όγκων είναι 1) να προκληθεί τεχνητά συνδιέγερση για τα ογκοειδικά κύτταρα και 2) να δοθούν εξωγενώς κυτταροκίνες που μπορούν να ενισχύσουν την T κυτταρική ενεργοποίηση αντικαθιστώντας έτσι τις λειτουργίες των T βοηθητικών κυττάρων. Εξάλλου, πολλές κυτταροκίνες έχουν τη δυνατότητα να ενισχύουν τις μη ειδικές φλεγμονώδεις αποκρίσεις, οι οποίες από μόνες τους μπορεί να έχουν αντι-ογκογονική δράση.

Η ικανότητα ενίσχυσης της T κυτταρικής συνδιέγερσης για την αντιογκογονική ανοσοθεραπεία έχει δείχτει με πειράματα που έχουν γίνει σε ζώα στα οποία τα κύτταρα του όγκου διαμολύνθηκαν με γονίδια που κωδικοποιούν τα συνδιεγερτικά μόρια B7 και χρησιμοποιήθηκαν για τον εμβολιασμό ζώων. Αυτά τα κύτταρα του όγκου που εκφράζουν το B7, επάγουν προστατευτική ανοσία έναντι μη τροποποιημένων κυττάρων του όγκου που ενύονται σε μια πιο απομακρυσμένη θέση. Οι επιτυχείς αυτές προσπάθειες με τα πειραματικά μοντέλα όγκων έχουν οδηγήσει σε θεραπευτικές δοκιμές στις οποίες ένα δείγμα όγκου ενός ασθενή που έχει αναπαραχθεί *in vitro*, διαμολύνεται με συνδιεγερτικά γονίδια, ακτινοβολείται και επανεισάγεται στον ασθενή. Τέτοιες προσεγγίσεις μπορεί να επιτυγχάνουν ακόμη κι αν τα ανοσογονικά γονίδια που εκφράζονται στους όγκους είναι άγνωστα.

Για την ενίσχυση των προσαρμοστικών και των έμφυτων ανοσοαποκρίσεων έναντι των όγκων είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν κυτταροκίνες. Τα κύτταρα του όγκου μπορούν να διαμολυνθούν με γονίδια κυτταροκινών έτσι ώστε να αναπτυχθούν οι δράσεις των κυτταροκινών εκεί όπου απαιτούνται (βλ. Πίνακα 2). Για παράδειγμα, όταν οι όγκοι τρωκτικών που διαμολύνονται με IL-2, IL-4, IFN- γ ή τον παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων των μακροφάγων (GM-CSF), τα γονίδια ενύονται στα ζώα, οι όγκοι απορρίπτονται ή αρχίζουν να

αυξάνονται και κατόπιν υποχωρούν. Σε μερικές περιπτώσεις, πυκνά φλεγμονώδη διηθήματα συσσωρεύονται γύρω από τους όγκους που εκκρίνουν κυτταροκίνες και η φύση των διηθημάτων ποικίλλει ανάλογα με την εκκρινόμενη κυτταροκίνη. Σε αρκετές από τις μελέτες αυτές, η ένεση των όγκων που εκκρίνουν κυτταροκίνες επάγουν ειδική T-κυτταρικά ρυθμιζόμενη ανοσία σε επακόλουθες επιθέσεις από μη τροποποιημένα καρκινικά κύτταρα. Συνεπώς η τοπική παραγωγή κυτταροκινών μπορεί να διευκολύνει τις T κυτταρικές αποκρίσεις έναντι των αντιγόνων του όγκου, και οι όγκοι που εκφράζουν κυτταροκίνες μπορεί να δρουν σαν δραστικά εμβόλια έναντι των όγκων. Βρίσκονται σε εξέλιξη αρκετές κλινικές δοκιμές με όγκους που έχουν διαμολυνθεί με γονίδια κυτταροκινών σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο.

Πίνακας 2: Ανοσοθεραπεία με κύτταρα όγκου διαμολυσμένα με γονίδια κυτταροκινών

Κυτταροκίνη	Απόρριψη του όγκου σε ζώα	Φλεγμονώδες διήθημα	Ανοσία (παραματικές μελέτες)	Κλινικές δοκιμές
IL-2	Ναί-ρυθμιζόμενη από τα T κύτταρα	Λεμφοκύτταρα ουδετερόφιλα	Σε μερικές περιπτώσεις νεφρικού καρκίνου, μελάνωμα	Νεφρικός καρκίνος, μελάνωμα
IL-4	Ναί	Εωσονόφιλα, μακροφάγα	Βραχείας διάρκειας ανοσία	Μελάνωμα, νεφρικός καρκίνος
IFN-γ	Ποικίλουσα	Μακροφάγα, άλλα κύτταρα	Μερικές φορές	
TNF	Ποικίλουσα	Ουδετερόφιλα λεμφοκύτταρα	Όχι	
GM-CFS	Ναί	Μακροφάγα, άλλα κύτταρα	Ναί (μακράς διάρκειας T κυτταρική ανοσία)	Νεφρικός καρκίνος
IL-3	Μερικές φορές	Μακροφάγα, άλλα κύτταρα	Μερικές φορές	

Οι κυτταροκίνες μπορούν ακόμη να χορηγούνται συστηματικά για τη θεραπεία διάφορων ανθρώπινων όγκων (βλ. Πίνακα 3). Ο τύπος της πειραματικής θεραπείας γίνεται εφικτός όταν χρησιμοποιούνται καθαρά παρασκευάσματα κυτταροκινών σε ικανές ποσότητες. Η μεγαλύτερη κλινική εμπειρία προέρχεται από την IL-2 που είτε χορηγήθηκε μόνη της σε υψηλές δόσεις, είτε σε συνδυασμό με προσαρμοσμένη κυτταρική ανοσοθεραπεία. Μετά τη χορήγηση της IL-2, αυξάνονται οι αριθμοί των T, B και των NK κυττάρων του αίματος, καθώς επίσης και η κυτταρική ενεργότητα των NK κυττάρων ενώ οι συγκεντρώσεις των TNF, IL-1 και INF- γ στον ορό μειωτοποιούνται. Ενδεχομένως η IL-2 να δρά διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό και την αντιογκογονική ενεργότητα των NK κυττάρων καθώς και των CTLs. Ο περιορισμός μιας τέτοιας θεραπείας έγκειται στο ότι μπορεί να είναι σε υψηλό βαθμό τοξική και να προκαλεί πυρετό, πνευμονικό οίδημα και αγγειακό σόκ. Αυτές οι παρενέργειες προκαλούνται επειδή η IL-2 διεγείρει την παραγωγή από τα T κύτταρα, άλλων κυτταροκινών όπως του TNF και της INF- γ οι οποίες δρουν στο αγγειακό επιθήλιο καθώς και σε άλλους τύπους κυττάρων.

Η IL-2 έχει καταστεί αποτελεσματική στην επαγωγή μετρήσιμων αποκρίσεων στην υποχώρηση του όγκου σε περίπου 10% των ασθενών με προχωρημένο μελάνωμα και νεφρικό κυτταρικό καρκίνωμα και αποτελεί αποδεκτή θεραπεία για τους καρκίνους αυτούς. Η INF- γ μπορεί να είναι αποτελεσματική έναντι τέτοιων όγκων διότι δεν επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, αυξάνει την κυττολυτική ενεργότητα των NK κυττάρων και την έκφραση του MHC τάξης I σε διάφορους τύπους κυττάρων. Κλινικές δοκιμές της κυτταροκίνης αυτής έδειξαν ότι μπορεί να επάγει την υποχώρηση των νεφρικών καρκινωμάτων, του μελανώματος, του σαρκώματος Karosi, πολλών λεμφωμάτων καθώς και της τριχωτής κυτταρικής λευχαιμίας (όγκος της B κυτταρικής σειράς). Σήμερα η INF- γ χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία για τη θεραπεία του μελανώματος.

Άλλες κυτταροκίνες όπως ο TNF και η INF- γ είναι αποτελεσματικά αντι-ογκογονικά φάρμακα σε μοντέλα ζώων αλλά η χρήση τους σε ασθενείς είναι περιορισμένη εξαιτίας των σοβαρών παρενεργειών που προκαλούν. Σε μερικές κλινικές δοκιμές, ο TNF χορηγείται με έγχυση σε απομονωμένα μέρη του σώματος ασθενών με μελάνωμα ή σάρκωμα και περιορίζεται μόνο σ' αυτό το μέρος. Η δυνατότητα της IL-12 να ενισχύει τις T και NK κυτταρο-ρυθμιζόμενες ανοσοαποκρίσεις έχει οδηγήσει σε πρώιμες δοκιμές σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο.

Αιμοποιητικοί αυξητικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των GM-CSF, G-CSF και της IL-11, χρησιμοποιούνται σε πρωτόκολλα θεραπείας καρκίνων για βραχείες χρονικές περιόδους ουδετεροπενίας και θρομβοκυτταροπενίας μετά τη χημειοθεραπεία ή την αυτόλογη μεταμόσχευση μυελού των οστών.

Πίνακας 3: Συστηματική θεραπεία όγκων με κυτταροκίνες

Κυτταροκίνη	Απόρριψη του όγκου σε ζώα	Κλινικές δοκιμές	Παρενέργειες
IL-2	Ναί	Μελάνωμα, νεφρικός καρκίνος, καρκίνος του παχέως εντέρου Περιορισμένη επιτυχία (15% ρυθμός απόκρισης)	Αγγειακή διαρροή, σόκ, πνευμονικό οίδημα
TNF	Μόνο με τοπική χορήγηση	Σάρκωμα, μελάνωμα	Σύνδρομο σηπτικού σοκ
IL-12	Ποικίλουσα	Δοκιμές τοξικότητας (φάση I) στο μελάνωμα, άλλες	Ανώμαλη ηπατική λειτουργία
IL-6	Μελάνωμα	Νεφρικός καρκίνος (κανένα ορατό πλεονέκτημα)	Πυρετός, ανώμαλη ηπατική λειτουργία, τοξικότητα ΚΝΣ, υπόταση
GM-CSF	Όχι	Στη ρουτίνα χρησιμοποιείται για την υποκίνηση αναγέννησης του μυελού των οστών	Πόνος των οστών

ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Οι ανοσολογικές αποκρίσεις έναντι των όγκων πιθανά να ενεργοποιούνται μέσω τοπικής χορήγησης φλεγμονωδών ουσιών ή μέσω συστηματικών θεραπειών με ουσίες που λειτουργούν σαν πολυκλωνικοί ενεργοποιητές των λεμφοκυττάρων: Μη ειδική ανοσολογική ενεργοποίηση των ασθενών με όγκο, ενύοντας φλεγμονώδεις ουσίες, όπως το μυκοβακτηρίδιο του bacillus Calmette–Guérin (BCG) στις θέσεις ανάπτυξης του όγκου, έχει δοκιμαστεί για πολλά χρόνια. Το μυκοβακτηρίδιο BCG ενεργοποιεί τα μακροφάγα υποκινώντας έτσι τη μακροφαγικά–ελεγχόμενη φόνευση των κυττάρων του όγκου. Επιπλέον, τα βακτήρια λειτουργούν σαν ανοσοενισχυτικά και μπορεί να διεγείρουν τις Τ κυτταρικές αποκρίσεις έναντι των αντιγόνων του όγκου. Μια άλλη προσέγγιση για την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού είναι η χορήγηση χαμηλών δόσεων δραστικών αντισωμάτων anti–CD3. Σε μελέτες μεταμοσχεύσιμων όγκων που έγιναν σε ζώα, η θεραπεία αυτή έχει σαν αποτέλεσμα την πολυκλωνική ενεργοποίηση των Τ κυττάρων και συνακόλουθα την παρεμπόδιση αύξησης του όγκου. Πρώιμες κλινικές δοκιμές με αντίσωμα anti–CD3 σε ασθενείς με διάσπαρτους όγκους βρίσκονται σε εξέλιξη. Οι θεραπείες με τις κυτταροκίνες που αναφέρθηκαν, αντιπροσωπεύουν μια άλλη μέθοδο ενίσχυσης των ανοσοαποκρίσεων μ' έναν μη–ειδικό τρόπο.

Παθητική ανοσοθεραπεία για όγκους με Τ κύτταρα και αντισώματα:

Η παθητική ανοσοθεραπεία περιλαμβάνει τη μεταφορά των τελεστών του ανοσοποιητικού, συμπεριλαμβανομένων των Τ κυττάρων των ειδικών του όγκου καθώς και των αντισωμάτων, σε ασθενείς. Η παθητική ανοσοποίηση έναντι των όγκων είναι ταχύτατη αλλά δεν οδηγεί σε μακρόβια ανοσία. Αρκετές προσεγγίσεις παθητικής ανοσοθεραπείας δοκιμάζονται με ποικίλλουσα επιτυχία.

ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η προσαρμοστική κυτταρική θεραπεία είναι η μεταφορά καλλιεργημένων κυττάρων του ανοσοποιητικού που έχουν αντι–ογκογονική δράση σ' έναν ξενιστή που φέρει όγκο: Τα κύτταρα που πρόκειται να μεταφερθούν επεκτείνονται από τα λεμφοκύτταρα των ασθενών με τον όγκο. Ένα πρωτόκολλο προσαρμοστικής κυτταρικής ανοσοθεραπείας είναι η δημιουργία ενεργοποιημένων φονικών κυττάρων LAK μέσω μετακίνησης λευκοκυττάρων του περιφερικού αίματος από τους ασθενείς με όγκο, καλλιέργειάς τους σε υψηλές συγκεντρώσεις IL–2 και

ακολουθώς επανένεσης των κυττάρων LAK πάλι στους ασθενείς. Τα LAK κύτταρα προέρχονται κυρίως από NK κύτταρα. Η προσαρμοστική θεραπεία με αυτόλογα LAK κύτταρα, σε συνδυασμό με in vivo χορήγηση IL-2 ή χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, έχει δώσει εντυπωσιακά αποτελέσματα στα ποντίκια, με υποχώρηση των συμπαγών όγκων.

Σε ανθρώπους, οι θεραπευτικές δοκιμές με κύτταρα LAK έχουν περιοριστεί σε ειδικές περιπτώσεις μεταστατικού καρκίνου και η αποτελεσματικότητα της προσέγγισης αυτής ποικίλλει από ασθενή σε ασθενή. Μια τροποποίηση της προσέγγισης αυτής είναι η απομόνωση λεμφοκυττάρων TIL που διηθούν τον όγκο, από το φλεγμονώδες διήθημα που βρίσκεται μέσα και γύρω από το συμπαγή όγκο, τα οποία αποκτώνται μέσω χειρουργικής εκτομής δείγματος και επέκταση των TILs με καλλιέργειά τους παρουσία IL-2. Η λογική της παραπάνω προσέγγισης είναι ότι τα TILs μπορούν να εμπλουτιστούν για ογκοειδικά και για ενεργοποιημένα NK κύτταρα. Οι ανθρώπινες δοκιμές με θεραπεία TIL βρίσκονται σε εξέλιξη.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΑΝΤΙ-ΟΓΚΟΓΟΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Τα ογκο-ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα μπορεί να είναι χρήσιμα για ειδική ανοσοθεραπεία όγκων:

Η δυνατότητα χρήσης των αντισωμάτων σαν «μαγικές σφαίρες» έχει έλξει τους ερευνητές εδώ και πολλά χρόνια και ακόμη αποτελεί μια πολύ ενεργή περιοχή έρευνας. Τα αντιογκογονικά αντισώματα καταπολεμούν τους όγκους με τους ίδιους τελεστικούς μηχανισμούς που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των μικροβίων, συμπεριλαμβανομένης της ψονοποίησης και της φαγοκύτωσης καθώς και της ενεργοποίησης του συστήματος του συμπληρώματος. Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για το προϊόν του ογκογονιδίου Her-2/Neu, που εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα σε μερικούς καρκίνους, παρουσιάζει επιτυχία σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού και τώρα έχει εγκριθεί για κλινική χρήση. Εκτός από την απελευθέρωση τελεστικών μηχανισμών ανοσίας, το αντίσωμα anti-Her-2/Neu αλληλεπιδρά με λειτουργίες της αύξησης που σηματοδοτεί το μόριο Her-2/Neu. Επειδή τα αντιογκογονικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται σε ανθρώπινες θεραπείες είναι συνήθως μονοκλωνικά αντισώματα ποντικών, συχνά συμβαίνει ανοσολογικά απόκριση που έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων Ig anti-mouse τα οποία μπορεί να προκαλούν αυξημένη εκκαθάριση των αντιογκογονικών αντισωμάτων ή να εμποδίζουν τη δέσμευση του θεραπευτικού φαρμάκου στο στόχο του. Ένας τρόπος αποφυγής αυτού

του προβλήματος είναι η χρήση «ανθρωποποιημένων» αντισωμάτων που αποτελούνται από διάφορες περιοχές ενός μονοκλωνικού αντισώματος ποντικού ειδικού για το αντιγόνο του όγκου συνδυασμένο με ανθρώπινα Fc τμήματα.

Ένα από τα πιο δύσκολα προβλήματα που ανακύπτουν με τη χρήση των αντιογκογονικών αντισωμάτων, είναι η απώλεια των αντιγονικών ποικιλιών των καρκινικών κυττάρων τα οποία δεν εκφράζουν πια τα αντιγόνα που αναγνωρίζονται από τα αντισώματα. Ένας τρόπος αποφυγής αυτού του προβλήματος ίσως είναι η χρήση «κοκτέιλ» αντισωμάτων ειδικών για διαφορετικά αντιγόνα που εκφράζονται πάνω στον ίδιο όγκο.

Πολλές ποικιλίες αντιογκογονικών αντισωμάτων έχουν φτιαχτεί σαν μια προσπάθεια βελτίωσης της αποτελεσματικότητας τους (βλ. Πίνακα 4). Τα ογκο-ειδικά αντισώματα μπορούν να συνδεθούν με τοξικά μόρια, ραδιοϊσότοπα και αντιογκογονικά φάρμακα έτσι ώστε να υποκινηθεί η απελευθέρωση αυτών των κυτταροτοξικών φαρμάκων ειδικά στον όγκο.

Τοξίνες όπως η rizin ή η τοξίνη της διφθερίτιδας είναι πιθανοί αναστολείς της πρωτεϊνοσύνθεσης και μπορεί να είναι αποτελεσματικές σε υπερβολικά χαμηλές δόσεις αν μεταφέρονται στους όγκους προσκολλημένες πάνω σε αντι-ογκογονικά αντισώματα. Τέτοιοι συνδυασμοί ονομάζονται ανοσοτοξίνες. Η προσέγγιση αυτή απαιτεί ιονικό δεσμό μεταξύ της τοξίνης και ενός μορίου αντι-ογκογονικού αντισώματος χωρίς απώλεια της τοξικότητας ή της ειδικότητας του αντισώματος. Η συστηματικά ενυόμενη ανοσοτοξίνη ενδοκυττώνεται από τα κύτταρα του όγκου και το τοξικό μέρος της προωθείται στην ενδοκυττάρια θέση δράσης της.

Αρκετές πρακτικές δυσκολίες πρέπει να ξεπεραστούν έτσι ώστε αυτή η τεχνική να επιτύχει. Η ειδικότητα του αντισώματος πρέπει να είναι τέτοια ώστε να μην δεσμεύεται στα μη καρκινικά κύτταρα. Μια ικανή ποσότητα του αντισώματος πρέπει να φτάσει τον κατάλληλο όγκο-στόχο πριν καθαριστεί από το αίμα από τα φαγοκυτικά κύτταρα που φέρουν τον Fc υποδοχέα. Οι τοξίνες, τα φάρμακα ή τα ραδιοϊσότοπα που προσκολλώνται στο αντίσωμα πρέπει να έχουν συστηματικές δράσεις σαν αποτέλεσμα της κυκλοφορίας μέσω φυσιολογικών ιστών. Για παράδειγμα, η ηπατοτοξικότητα και τα σύνδρομα αγγειακής διαρροής αποτελούν συνηθισμένα προβλήματα της θεραπείας με ανοσοτοξίνες. Η χορήγηση των ανοσοτοξινών μπορεί να επιδρά σε αποκρίσεις του αντισώματος έναντι των τοξινών και των ενυόμενων αντισωμάτων. Εξαιτίας αυτών των πρακτικών δυσκολιών, οι κλινικές δοκιμές των ανοσοτοξινών έχουν ποικίλη και μέτρια επιτυχία.

Αντι-ιδιοτυπικά αντισώματα έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία Β κυτταρικών λεμφωμάτων που εκφράζουν επιφανειακά Ig με ειδικούς ιδιότυπους. Ο ιδιότυπος αποτελεί ένα υψηλής ειδικεύσης αντιγόνο του όγκου από το γεγονός ότι εκφράζεται μόνο σε νεοπλαστικούς κλώνους των Β κυττάρων και κάποτε έλπιζαν ότι τα αντι-ιδιοτυπικά αντισώματα θα ήταν αποτελεσματικά φάρμακα με απόλυτη ειδικότητα στον όγκο. (Τα αντι-ιδιοτυπικά αντισώματα δημιουργούνται μέσω της ανοσοποίησης κουνελιών με τα καρκινικά Β κύτταρα του ασθενούς και ακολούθως στερώντας από τον ορρό όλες τις άλλες ανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες). Η προσέγγιση αυτή δεν έχει γίνει γενικά αποδεκτή, κυρίως εξαιτίας της επιλεκτικής έκβασης των κυττάρων του όγκου με τους τροποποιημένους ιδιότυπους τα οποία δεν δεσμεύουν το αντι-ιδιοτυπικό αντίσωμα. Κατά ένα μέρος, το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να αντικατοπτρίζει τον υψηλό ρυθμό της σωματικής μεταλλαγής των Ig γονιδίων και το γεγονός ότι η επιφάνεια των Ig δεν είναι απαραίτητη για την αύξηση του όγκου.

Αντιογκογονικά αντισώματα χρησιμοποιούνται επίσης και για την απομάκρυνση των καρκινικών κυττάρων από το μυελό των οστών πριν την αυτόλογη μεταμόσχευση μυελού των οστών. Στο πρωτόκολλο αυτό, ένα μέρος από το μυελό των οστών του ασθενούς απομακρύνεται. Τα κύτταρα του μυελού των οστών που απομακρύνονται από τον ασθενή, κατεργάζονται με αντισώματα ή ανοσοτοξίνες ειδικές για τα αντιγόνα του όγκου έτσι ώστε να θανατωθούν τα κύτταρα του όγκου. Ο κατεργασμένος μυελός των οστών που δεν έχει πια καρκινικά κύτταρα μεταμοσχεύεται πάλι στον ασθενή έτσι ώστε να ανασυγκροτήσει το αιμοποιητικό σύστημα που καταστράφηκε από την ακτινοβολία και τη χημειοθεραπεία.

Πίνακας 4: Αντιγονογενετικά αντισώματα για ανοσοθεραπεία

Ειδίκευση Αντισώματος	Μορφή του Χρησιμοποιούμενου Αντισώματος	Κλινικές δοκιμές
Her-2/Neu	Ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό ποντικού	Καρκίνος του μαστού (εγκεκριμένο για κλινική χρήση) .
CD20 (B κυτταρικός δείκτης)	Ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό ποντικού	B κυτταρικό λέμφωμα
CD10	Ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό ποντικού, ανοσοτοξίνη	B κυτταρικό λέμφωμα, στη ρουτίνα χρησιμοποιείται για τον καθαρισμό του μυελού των οστών από τα υπολείμματα των κυττάρων του όγκου
CEA	Ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό ποντικού	Γεστρεντερικοί καρκίνοι, καρκίνος του πνεύμονα
CA-125	Μονοκλωνικό ποντικού	Καρκίνος των ωοθηκών
GD ₃ ganglioside	Ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό ποντικού	Μελάνωμα

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΔΕΝΔΡΙΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΓΙΑ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ

Το ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον σχετικά με τα καρκινικά εμβόλια και η πρόοδος στην κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που σχετίζονται με τις ανοσοαποκρίσεις, έχουν οδηγήσει σε πρωτοποριακές μελέτες που εμπλέκουν δενδριτικά κύτταρα (ΔΚ), σπάνια κύτταρα με μια μοναδική ικανότητα να απορροφούν, επεξεργάζονται και να παρουσιάζουν τα αντιγόνα μ' έναν τρόπο υψηλής απόδοσης, σαν παίχτες-κλειδιά στην πρωταρχική ανοσοαπόκριση και ακόμη και στην παθο-

γένεση της αυτοανοσίας. Επιπλέον, σήμερα είναι σαφές ότι η ενεργοποίηση των ΔΚ αποτελεί το συνηθισμένο μονοπάτι της διαδικασίας έναρξης μιας αντι-ογκογονικής ανοσοαπόκρισης που προκαλείται από μια ποικιλία καρκινικών εμβολίων.

Υπάρχουν δύο προσεγγίσεις για την τιθάσευση της αντι-ογκογονικής απόκρισης που προκαλείται από τα ΔΚ: (1) Τα ΔΚ απομονώνονται από το μυελό των οστών ή το αίμα, όπου αποτελούν το 0,1% των κυττάρων, και στη συνέχεια διαμολύνονται *in vitro* με DNA ή RNA που κωδικοποιεί αντιγόνα του όγκου ή εμπλουτίζονται με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες ή πεπτίδια ή οδηγούνται σε σύντηξη με τα καρκινικά κύτταρα. Άπαξ και αυτά τα κατασκευασμένα ΔΚ χορηγηθούν πάλι στον ξενιστή η υπόθεση είναι ότι θα κινηθούν προς ειδικευμένα μικροπεριβάλλοντα των δευτερευόντων λεμφοειδών οργάνων όπου εκεί συμβαίνει η δημιουργία των ανοσοαποκρίσεων. Πειραματικά αποτελέσματα και μικρής κλίμακας πιλοτικές μελέτες σε ανθρώπους, υποστηρίζουν το μοντέλο αυτό, όμως μελέτες κατέδειξαν ότι ο εμβολιασμός με ΔΚ θα μπορούσε να προκαλέσει οξεία αυτοάνοση νόσο όταν τα αντιγόνα του όγκου δεν είναι αυστηρά ογκο-ειδικά. (2)

Εναλλακτικά, τα συστατικά μιας φλεγμονώδους απόκρισης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη στόχευση των ΔΚ *in vivo*, όπου ασθενείς εμβολιάζονται με υβριδικές πρωτεΐνες που αποτελούνται από αντιγόνα του όγκου ή DNA που κωδικοποιεί μία μεταλλαγμένη πρωτεΐνη του όγκου. Είναι σημαντική η επιλογή των υποψήφιων αντιγόνων του όγκου. Στην επιλογή ενός αντιγόνου του όγκου, είναι κρίσιμο να επιλεγεί ένα που επεξεργάζεται φυσιολογικά και παρουσιάζεται πάνω στην επιφάνεια του κυττάρου του όγκου. Για παράδειγμα, ένα καλό υποψήφιο αντιγόνο είναι το TERT, ένα κυτταρικό ένζυμο που διατηρεί το μήκος των τελομερών και που εκφράζεται σε ποσοστό μεγαλύτερο του 85% στους ανθρώπινους καρκίνους. Πολλά νέα αντιγόνα όγκων είναι σίγουρο ότι θα ανακαλυφθούν μέσω της expression array analysis και της ολοκλήρωσης του Human Genome Project. Η μάχη με τον καρκίνο θα διευκολυνθεί με την ανάπτυξη νέων και απλοποιημένων στρατηγικών προμήθειας εμβολίων και στόχευσης ειδικών κυττάρων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS (Eds), Cellular and Molecular Immunology, 4th ed., 2000, WB Saunders co, pp.384–403.
2. Biragyn A, Kwak LW (2000). Designer cancer vaccines are still in fashion. *Nature Medicine*, 6(9):966–968.
3. Weiner LM, Adams GP (2000). New approaches to antibody therapy. *Oncogene*, 19(53):6144–6151.
4. Romero et al & Ridell et al, (2000). Immune monitoring in cancer immunotherapy & Application of T cell immunotherapy for human viral and malignant diseases. In Ernst Schering Res Found Workshop, 30:53–73 & 75–97.
5. Pietersz GA, Apostolopoulos V, McKenzie IF (2000). Generation of cellular immune responses to antigenic tumor peptides. *Cell. Mol. Life Sci.*, 57(2):290–310.

Η γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου Μια καινούργια εποχή αρχίζει «Novus ordo seculorum»

Ιωάννης Γιαννιός
Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Υπάρχουν περίπου 300 ετερογενή είδη καρκίνου από 50 διαφορετικά όργανα και ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού, από τα οποία το καθένα έχει το δικό του κυτταρικό τύπο. Ο καρκίνος οφείλεται σε απενεργοποίηση της απόπτωσης ή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου λόγω ανισορροπίας χημικών σημάτων μεταξύ ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων οδηγώντας τα κύτταρα σε ανεξέλεγκτη διαίρεση και μεταστατική εξάπλωση ενώ σε συγκεκριμένες ασθένειες ανοσολογικής φύσεως, υπερβολική απόπτωση προκαλεί ζημιά στους φυσιολογικούς ιστούς. Κάθε μέρα, κατά προσέγγιση 50–70 δισεκατομμύρια κύτταρα από τα 100 τρισεκατομμύρια κύτταρα, εκτός των ερυθρών αιμοσφαιρίων που υπάρχουν στον οργανισμό του μέσου ενήλικα, φθείρονται λόγω του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Κυτταρικός θάνατος μέσα σε αυτοανανεωμένους ιστούς σαν αυτούς του δέρματος, εντέρου και μυελού των οστών είναι αναγκαίος για να δοθεί χώρος στα δισεκατομμύρια των νέων κυττάρων που παράγονται καθημερινά. Τόσο μεγάλη είναι η ροή των κυττάρων δια μέσου του σώματος μας όπου μέσα στο χρονικό διάστημα ενός τυπικού έτους, ο κάθε ένας από εμάς θα παράγει και παραλλήλως θα αποβάλλει μία μάζα κυττάρων ίση με σχεδόν ολόκληρο το σωματικό μας βάρος.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Τα κύτταρα εκριζώνονται δια προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου ή απόπτωση και εκτελούνται από ορισμένες ενδοκυτταρικές πρωτεάσες. Αντίθετα από τυχαίους κυτταρικούς θανάτους προκαλούμενους από τραύμα, οι φυσιολογικοί κυτταρικοί θάνατοι προκαλούν τεμαχισμό των κυττάρων σε σωματίδια εγκλειόμενων σε μεμβράνες, τα οποία φαγοκυτταρώνονται από γειτονικά κύτταρα αποφεύγοντας φλεγμονώδεις αντιδράσεις.

Ανωμαλίες στους μηχανισμούς που ελέγχουν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο παρατείνουν την χρονική διάρκεια ζωής των κυττάρων συνεισφέροντας στην νεοπλασμική εξάπλωση ανεξαρτήτως της κυτταρικής διαίρεσης.

Επιπλέον διαταραχές στους μηχανισμούς φυσιολογικής απόπτωσης (PCD) προκαλούν καρκινογένεση με το να δημιουργούν ένα περιβάλλον γενετικής αστάθειας και συγκέντρωση γονιδιακών μεταλλάξεων προκαλώντας ανθεκτικότητα στις καταστρεπτικές αντιδράσεις του ανοσοποιητικού συστήματος και απειθεία στα ελεγχόμενα σημεία του κυτταρικού κύκλου τα οποία υπό κανονικές συνθήκες θα προκαλούσαν απόπτωση.

Όλα αυτά διευκολύνουν την κυτταρική επιβίωση ανεξαρτήτως επίδρασης αυξητικών παραγόντων/ορμονών. Επίσης κατά την διάρκεια μετάστασης ελαττώνεται η εξάρτηση οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών προκαλώντας ανθεκτικότητα στην χημειοθεραπεία και ακτινοβολία.

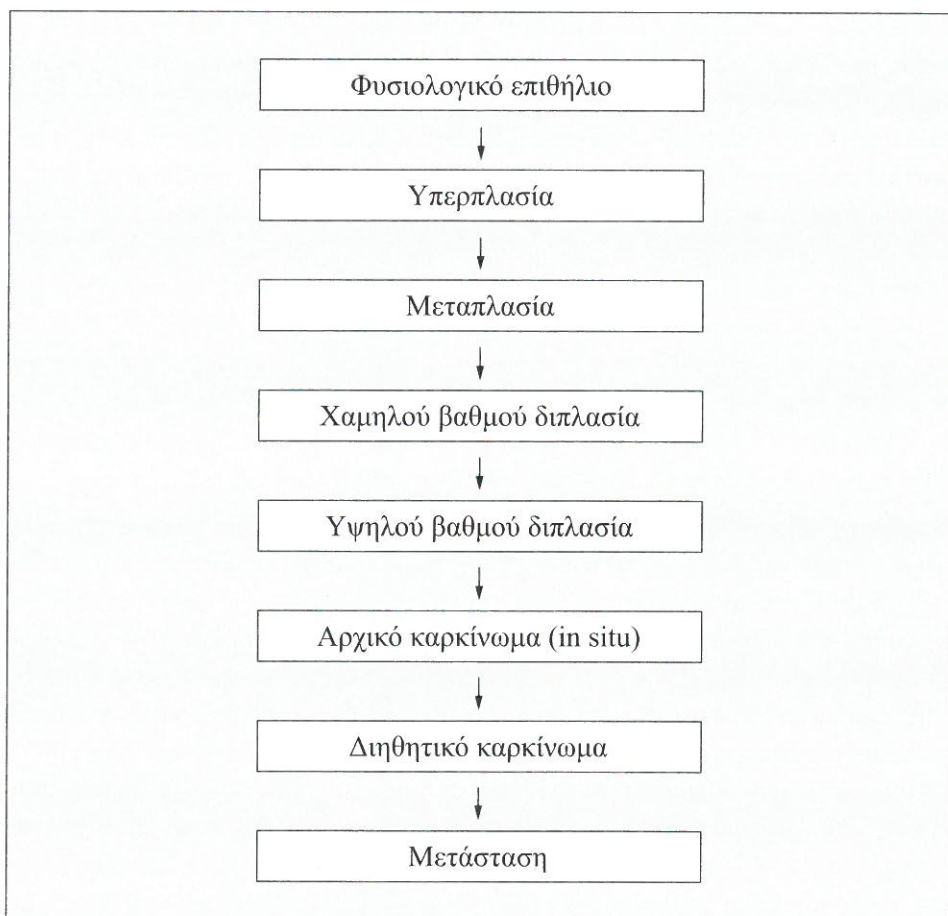
Η κυτταρική επιβίωση είναι αντιστρόφως ανάλογη με την αύξηση του όγκου λόγω του ότι πολλά καρκινικά κύτταρα απομακρύνονται από τα αιμοφόρα αγγεία, γεγονός που τα οδηγεί στην νέκρωση σύμφωνα με την σχήματος S αυξητική καμπύλη του Gombertz, όπου η μάζα αντιπαρατίθεται του χρόνου διότι κλινικά όταν ένας όγκος 10gm διπλασιάζεται κάθε 2 ημέρες όπως κάνει ένα ατομικό κύτταρο θα έπρεπε να ζυγίζει πάνω από 1kg μέσα σε δύο εβδομάδες και πάνω από 100kg σε άλλες δύο εβδομάδες. Σήμερα οι αντικαρκινικές θεραπείες έχουν σχεδιαστεί δια να σταματούν και να σκοτώνουν καρκινικά κύτταρα αλλά δυστυχώς δεν είναι επιλεκτικές.

Η παραδοσιακή χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία σκοτώνουν χωρίς διαφοροποίηση όλα τα ταχέως διαιρούμενα κύτταρα τα οποία περιλαμβάνουν αμφοτέρα φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα.

Τοιουτοτρόπως η χρησιμότητα της ακτινοβολίας και χημειοθεραπείας περιορίζεται από τοξικότητα στα φυσιολογικά κύτταρα κυρίως στον μυελό των οστών,

στην γαστρεντερική οδό και δέρμα.

Με την απόπτωση το σώμα αποβάλλει κατεστραμμένα κύτταρα από καθιερωμένες αντικαρκινικές θεραπείες των οποίων δεν είναι δυνατή η επιδιόρθωσή τους. Όταν όμως στα κύτταρα αυτά με το κατεστραμμένο DNA, υπάρχει αυξημένη έκφραση ογκογονιδίων (1,5) ή μεταλλαγμένα ογκοκατασταλτικά γονίδια (2,4,16), τότε δεν δίνεται αποπτωτικό σήμα με συνέπεια την επιβίωση του κυττάρου στο οποίο εάν είναι καρκινικό αυξάνεται ο βαθμός κακοήθειας, ανευπλοειδίας και ραδιο- ή χημειο- ανθεκτικότητας καθώς μειώνεται το επίπεδο διαφοροποίησης, ενώ εάν είναι φυσιολογικό μετατρέπεται σύμφωνα με την κάτωθι πολυφασική διαδικασία σε καρκινικό κύτταρο (3):



Από την στιγμή που έχουμε φθάσει στις καρκινικές αυτές καταστάσεις μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε την γονιδιακή θεραπεία σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία, βιοανοσοθεραπεία (6) και ακτινοθεραπεία (8) παρακάμπτοντας ανθεκτικούς μηχανισμούς και οδηγώντας τα καρκινικά κύτταρα σε ανεπανόρθωτο στάδιο του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (PCD) από όπου παρατηρείται σχηματισμός αποπτωτικών σωματιδίων τα οποία φαγοκυτταρώνονται από APC κύτταρα ή γειτονικά καρκινικά κύτταρα (9).

Η γονιδιακή θεραπεία επεμβαίνει στην μεταγωγή σήματος, παράγοντες μεταγραφής, έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, δομή χρωματίνης, πυρηνική μήτρα, ρυθμιστικές ακολουθίες, DNA αντιγραφή, επιδιόρθωση και ανασυνδυασμό με τελικό σκοπό την επίτευξη της απόπτωσης (7,10).

Η επιτυχία των θεραπευτικών προσεγγίσεων εξαρτάται από την στόχευση του ιστού μέσα στο ανθρώπινο σώμα, μεταφορά διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης, απελευθέρωση από το ενδόσωμα (11), εισαγωγή στον πυρήνα, τύλιγμα του μεταφερόμενου γονιδίου μέσα στην χρωματίνη, πλοκή των ρυθμιστικών τμημάτων με παράγοντες μεταγραφής, αυτόνομο αναδιπλασιασμό ή κατεύθυνση σε συγκεκριμένες θέσεις ενσωμάτωσης μέσα στην χρωματίνη του ξενιστή γονότυπου, απομόνωση από την ενέργεια της χρωματίνης στα σημεία ολοκλήρωσης χρησιμοποιώντας οριακά στοιχεία, MARs, διάρκεια και επίπεδο μεταγραφής του γονιδίου, εξαγωγή στο κυτταρόπλασμα και μετάφραση στο mRNA, ενδεχόμενη προσθήκη ηγετικών ακολουθιών στο γονιδιακό επίπεδο δια πρωτεϊνικής έκκρισης, μεταφραστικές μεταβολές, και ανοσογένεση της εκφραζόμενης θεραπευτικής πρωτεΐνης ή ιογενείς πρωτεΐνες. Όλες αυτές οι διαδικασίες είναι σημεία προς βελτίωση στις εφαρμογές της γονιδιακής θεραπείας.

Βελτίωση σε έκαστη διαδικασία δύναται να επαυξήσει χιλιάδες και εκατομμύρια φορές το επίπεδο θεραπευτικών πρωτεϊνών που συντίθεται στα κύτταρα μεταγωγής καθώς και σε ανθρώπινους ιστούς. Δημοσιεύσεις στην γονιδιακή θεραπεία περιλαμβάνουν μεταφορικά συστήματα γονιδίων όπως είναι οι ρετροϊοί, ανασυνδυασμένοι αδενοϊοί (12), BV, HIV, HSV, ιοί ευλογιάς, φακοϊοί, ανθρώπινα τεχνητά χρωμοσώματα, λοιμώδη χρωμοσώματα θηλαστικών, «starburst» δενδρίτες, ενδοθηλιακά κύτταρα, λιπώδη χρωμοσώματα θηλαστικών, «starburst» δενδρίτες, ενδοθηλιακά κύτταρα, λιπώδη χρωμοσώματα (4,14), κατιονικά λιπίδια, νέα πολυμερή ή γυμνό DNA με τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα του κάθε συστήματος όπως είναι η ενσωμάτωση μέσα στο χρωμόσωμα του ξενιστή κατά του επισωματικού αναδιπλασιασμού, χωρητικότητα φορτίου δια ξένο DNA και επαγωγή ανοσοαπάντησης που οδηγεί στην εξάλειψη των θεραπευτικώς μεταγωγημένων κυττάρων.

Μεγάλη πρόοδος έχει επιτευχθεί στην ογκολογική ανοσοθεραπεία (5,15) και DNA εμβόλια, μεταγωγή των κυττάρων ασθενούς *ex vivo* με γονίδια κυτοκινών (GM-GSF, IL-12, IL-2, IL-4, IL-7, IFN- γ , TNF α) προς ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος δια να εξολοθρεύσει τα καρκινικά κύτταρα μετά από εμβολιασμό (17), και στην πιθανότητα εκρίζωσης του καρκίνου με μεταφορά φυσιικού τύπου (wt) ογκοκατασταλτικών γονιδίων (p53, Rb, BRCA1, E1A, p16), αντικωδογόνα ογκογονίδια (19,21,34) (c-fos, c-myc, k-ras, HER2, bcl-2), γονίδια αυτοκτονίας (HSV-tk, κυτοσίνη απαμινάση) και νέες στρατηγικές επάνω σε συνθετικά μόρια νουκλεϊνικού οξέος (αντικωδογόνο τριπλό ριβοένζυμο) με εφαρμογές στην γονιδιακή θεραπεία.

Επίσης μεγάλη πρόοδος έχει επιτευχθεί στην γονιδιακή θεραπεία κατά της αγγειογένεσης (20) και μετάστασης όπου οι ερευνητές έχουν παρέμβει στα μοριακά στάδια των ενδοκυτταρικών σημάτων που ελέγχουν μίτωση, απόπτωση (22), σύνθεση λεμφοκινών, αλλαγές στις πρωτεΐνες της πλασματικής μεμβράνης και εκκρινόμενων πρωτεϊνών όπου συμβάλλουν στην κυτταρική προσκόλληση και αποκόλληση προκαλώντας «ανώικης» (23) που είναι ένα είδος απόπτωσης, κυτταρική ρύθμιση και πρωτεόλυση. Ως αγγειογενετικοί και μεταστατικοί αναστολείς έχουν χρησιμοποιηθεί πληθώρα γονιδιακών προϊόντων όπως είναι τα FOS, JUN, IL-2, IL-6, IFN- γ , KAI1, ME491, MRP1, NCAM, NME1/NME2, TIMPs, PAIs, Adenovirus 5 E1A, ED1, ChD1, GD-AIF, AGM 1470, TSP, TIMP-1, TIMP-2, MMP, BRMSI κ.ά.

Η γονιδιακή θεραπεία αναφέρεται στους μοριακούς μηχανισμούς περικλείοντας χρήση νεοπλασματικών εξειδικευμένων προαγωγέων οι οποίοι εκφράζουν γονίδια μέσα σε ένα συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο, συνδεόμενα μόρια όπως είναι τα πεπτίδια τα οποία αναγνωρίζουν επιφανειακά μόρια δια να κατευθύνουν έναν γονιδιακό φορέα προς ένα συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο και θεραπευτικά μόρια τα οποία επιτρέπουν την ενεργοποίηση ή μη γονιδίων όπως είναι το bcl-2, MDR-1, MRP (24), p21, p16, bax, bcl-xs, E2F, IGF-1, VEGF-1, VEGF-D, αγγειοστατίνη, CFTR, LDL-R, TGF-b, pp125, env of MMTV, CYPIA1, el FYE, MAP, cyclin D1, cox 11, Rac 1, BAP-1, bFGF, MUC1, MUC2, OCT3, p15, IGF-IR, Mdm2, Raf-1, Rak, p73, ER- β , Fas, MAD2, MAR, CKS, Rho, nm23 κ.ά.

Η γονιδιακή θεραπεία πρέπει να είναι συμπληρωματική της κάθε καθιερωμένης αντικαρκινικής θεραπείας με απώτερο σκοπό την επίτευξη της ανεπανόρθωτης D2 (25) αποπτωτικής φάσης από όπου γειτονικά κύτταρα εκρίζώνονται μετά από φαγοκυττάρωση αποπτωτικών σωματιδίων. Σε περιπτώσεις ακτινο-(26) ή χημειο-

ανθεκτικότητας (7,27) πρέπει να ανιχνεύονται οι ενδογονιδιακές μεταλλάξεις και να αντιμετωπίζονται με γονιδιακή παρέμβαση (28) ώστε μετά από την καθιερωμένη θεραπεία να ενεργοποιείται επιτυχώς ο αποπτωτικός μηχανισμός (13, 29, 30, 31, 32, 33). Μέχρι τώρα έχουν εγκριθεί πάνω από 1.000 πρωτόκολλα γονιδιακής θεραπείας από την RAC του NIH και ευρίσκονται στις κλινικές μελέτες φάσεως I, II και III σε πολλά νοσοκομεία παγκοσμίως και κυρίως στην Αμερική.

Περισσότεροι από 5.000 ασθενείς έχουν συμμετάσχει σε κλινικές δοκιμές γονιδιακής θεραπείας. Η ανάπτυξη πρωτοκόλλων επιτυχούς γονιδιακής θεραπείας και στρατηγικές δια την προσέγγιση των καρκινικών κυττάρων του όγκου και αποτελεσματικής έκφρασης του μεταφερόμενου γονιδίου έχει φέρει μια άνευ προηγουμένου επανάσταση στην μοριακή ιατρική.

Τα πρώτα προϊόντα γονιδιακής θεραπείας αναμένεται να πάρουν έγκριση από το FDA τον επόμενο χρόνο και οι πωλήσεις στην φαρμακευτική αγορά θα ξεπεράσουν τα 45 δισεκατομμύρια δολάρια μέχρι το 2010. Αυτό το ποσοστό θα αυξάνεται συνεχώς καθότι αναμένουμε μέχρι το 2003 την πλήρη αποκωδικοποίηση των 100.000 γονιδίων της ευχρωματίνης του ανθρώπινου γονότυπου που αποτελείται από 6 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων των 100 τρισεκατομμυρίων κυττάρων εκτός των κυττάρων του αίματος (RBC) του ανθρώπινου σώματος στα αμέσως επόμενα έτη.

Στο κάθε γονίδιο μπορεί να υπάρχουν έως και 5.000 πιθανές αλλοιώσεις και επειδή λιγότερο από 10 είναι αρκετές δια να δημιουργήσουν διάφορους τύπους άκρωσ επιθετικού καρκίνου όπως είναι το ΜΜΚΠ, θα είμαστε μάρτυρες μιας νέας επαναστατικής επιστημονικής εποχής που είναι στην γένεση της.

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ: ΜΥΘΟΙ ΚΑΙ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ

«Novus ordo seculorum». Μια καινούργια εποχή τώρα αρχίζει! Η γονιδιακή θεραπεία αντιστοιχεί με το ιατρικό ισοδύναμο του να έχουμε φτάσει στην σελήνη. Που βρισκόμαστε τώρα; Η μαγεία της γονιδιακής θεραπείας είναι ακόμα ανώριμη, αλλά έχει όμως ξεκινήσει. Οι επιστήμονες έχουν σύμφωνα με την HGP επιτυχώς προσδιορίσει το 97% του ανθρώπινου DNA σε μορφή επικαλυπτόμενων τεμαχίων. Η αλήθεια όμως είναι ότι μόνο το 25% της γνωστής αλληλουχίας έχει ολοκληρωθεί και ότι περίπου το 60% της ίδιας αλληλουχίας είναι σε ένα ημιτελές στάδιο προσδιορισμού με υπαρκτά λάθη και κενά. Παρόλα αυτά έχουν πα-

ραχθεί δεδομένα τα οποία ξεπερνούν τα 20 δισεκατομμύρια βάσεις. Βέβαια το να ολοκληρωθεί το σχέδιο όλων των γονιδίων που ευρίσκονται στα χρωμοσώματα και να προσδιοριστούν οι λειτουργίες τους είναι ακόμα χρονικά πολύ μακριά. Παρόλα αυτά σήμερα υπάρχουν χιλιάδες πρωτόκολλα γονιδιακής θεραπείας βασιζόμενα στα ήδη δεδομένα τα οποία τελούν υπό έρευνα σε δημόσια και ιδιωτικά ινστιτούτα. Δεν υπάρχει αμφιβολία δια την τρομερή δυναμικότητα της γονιδιακής θεραπείας κατά του καρκίνου η οποία μπορεί να συγκριθεί με ιατρικά επιτεύγματα του παρελθόντος όπως είναι οι ασηπτικές διαδικασίες, αντιβιοτικά, εμβόλια και μεταμόσχευση ιστών.

Η γονιδιακή θεραπεία δυστυχώς δεν αποτελεί την μαγική σφαίρα που θα εκριζώσει από μόνη της τον καρκίνο. Περισσότερη έμφαση επ' αυτού θα δοθεί στην συνέχεια του κειμένου. Πολλές φαρμακευτικές εταιρείες που ασχολούνται με γονιδιακή θεραπεία έχουν καταλάβει ότι πρέπει να αναπτύξουν διαφορετικά συστήματα δια διαφορετικούς κυτταρικούς στόχους επενδύοντας σημαντικά στον μελλοντικό ρόλο της γονιδιακής θεραπείας. Πρέπει όμως πρώτα να ξεπεράσουν ενδοκυτταρικούς φραγμούς (πχ. πλασμική μεμβράνη, ενδόσωμα, NPC) και εξωκυτταρικούς φραγμούς, όπως είναι οι φραγμοί των διαφόρων ιστών (BBB), πρωτεάσες και νουκλεάσες που υπάρχουν στον ορό του αίματος, αντιδράσεις του ανοσοποιητικού συστήματος και κυρίως φαγοκυττάρωση από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα τα οποία αποτελούν το RES σύστημα.

Με τον ρυθμό της σημερινής έρευνας όλα δείχνουν ότι η γονιδιακή θεραπεία και γενικώς η μοριακή ιατρική θα παίξει πολύ σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση του καρκίνου μέσα στο 21ο αιώνα.

Πρέπει όμως πρώτα να καταλάβουμε ότι η γονιδιακή θεραπεία μας βοηθάει να εξατομικεύσουμε αντικαρκινικές θεραπείες στις βιολογικές ανάγκες του κάθε ογκολογικού ασθενή αλλά μόνο όταν η γονιδιακή θεραπεία συμπληρώνει τις ατέλειες άλλων αντικαρκινικών θεραπειών όπως είναι η χημειοθεραπεία, ακτινοβολία, χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων, βιοθεραπεία, φωτοδυναμική θεραπεία, βραχυθεραπεία, ηλεκτροχημειοθεραπεία κ.ά.

Τα σημερινά σχήματα χημειοθεραπείας παρόλο που έχουν κυτταροστατικές και κυταροτοξικές δράσεις δεν είναι αποτελεσματικά όταν υπάρχουν αυξημένες εκφράσεις ογκογονιδίων όπως είναι το HER2/neu, bcl-2, Ras, Myb ή απενεργοποιημένα ογκοκατασταλτικά γονίδια σαν το p53, RB1, BRCA-1, VHL, WT1, NF1 κ.ά. διότι απλώς απενεργοποιούν τον αποπτωτικό μηχανισμό στα καρκινικά κύτταρα. Η γο-

νιδιακή θεραπεία από μόνη της δεν μπορεί να εκριζώσει τα καρκινικά κύτταρα, ούτε μπορεί να αντιστρέψει τον καρκινικό φαινότυπο όπως λανθασμένα πιστευότο.

Επίσης η γονιδιακή θεραπεία στις περιπτώσεις που επανορθώνει ή αναπληρώνει αλλοιωμένα ογκοκατασταλτικά γονίδια πρέπει να επαναλαμβάνεται διότι η επαναφορά της φυσιολογικής έκφρασης του γονιδίου είναι παροδική. Στην περίπτωση του αλλοιωμένου ογκοκατασταλτικού γονιδίου *mtp53* μετά από γονιδιακή θεραπεία αντικατάστασης του με *wtp53*, διατηρεί την φυσιολογική έκφραση του μόνο για χρονικό διάστημα 15 ημερών. Έτσι καταρρίπτονται πολλοί μύθοι της γονιδιακής θεραπείας. Το ίδιο συμβαίνει και στην μείωση της έκφρασης ογκογονιδίων, μεταστατικών και αγγειογενετικών γονιδίων.

Επίσης πολλά χημειοθεραπευτικά φάρμακα συναντούν άμεση ανθεκτικότητα σε αυξημένες εκφράσεις ογκογονιδίων όπως είναι το *bcl-2* ή *HER2/neu* απαγορεύοντας τον αποπτωτικό μηχανισμό. Το τελικό αποτέλεσμα της κάθε γονιδιακής θεραπείας αποβλέπει στην επίτευξη της τελικής και ανεπανόρθωτης D2 αποπτωτικής φάσης όπου τα καρκινικά κύτταρα διασπώνται σε αποπτωτικά σωματίδια τα οποία φαγοκυτταρώνονται από γειτονικά καρκινικά κύτταρα που οδηγούνται και αυτά με την σειρά τους σε αποπτωτικό θάνατο.

Έτσι παρατηρείται το φαινόμενο του «bystander killing effect» με το οποίο αποφεύγονται φλεγμονώδεις παρενέργειες. Δια όλους αυτούς τους λόγους πρέπει να υιοθετήσουμε την γονιδιακή θεραπεία σαν μία συμπληρωματική θεραπεία των καθιερωμένων αντικαρκινικών θεραπειών.

Επίσης δεν πρέπει να αγνοούμε ότι ο καρκίνος είναι γονιδιακή ασθένεια και ότι ο καθένας από εμάς έχει μέσα στο γονιδίωμά του τουλάχιστον 6 μεταλλαγμένα γονίδια. Η λογική και ο ενθουσιασμός είναι πανίσχυρα για το μέλλον της γονιδιακής θεραπείας εναντίον του καρκίνου.

Πρέπει να αρχίσουμε να σκεπτόμαστε πως θα χρησιμοποιήσουμε στο μέλλον όλη αυτήν την γονιδιακή πληροφόρηση και γενικώς την μοριακή ιατρική, η οποία θα επηρεάσει τις αποφάσεις όχι μόνο των ιατρών αλλά και των πολιτικών, νομικών και κάθε απλού πολίτη γιατί θα έχει άμεσο αντίκτυπο όχι μόνο στην δική του ζωή αλλά και των απογόνων του.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Giannios J, Ginopoulos P. Eradication by ADCC and p53 indept-PCD of chemoresistant esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) over expressing c-erbB2 after adm. of vinorelbine encapsulated in pegylated immunoliposomes consisting of Mab-anti-HER2/neu and hexadecyl PC, downregulating c-erbB2, dThdPase, VEGF/VPF, bcl-2 and PKC. *Gut*, 31:173, 1999.
2. J. Giannios, P.Ginopoulos, E. Cardamakis, N. Linardos, M. Yannios, V. Tzigounis. Combined administration of Vinorelbine, wtp53 cDNA & Mitoxantrone treatment induces PCD in chemoresistant cervical carcinoma. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 39:603,1998.
3. Giannios J, et al. Genetics of gastrointestinal malignancies. Editorial: *Hellenic Journal of Gastreterology* 9 (2):111, 1996.
4. Song K, Li Z, Seth P, Cowan KH, Sinha BK. Sensitization of cis-platinum by a recombinant adenovirus vector expressing wild-type p53 gene in human ovarian carcinomas. *Oncol Res* 1997;9(11-12):603-9.
5. Neill AJ, Staunton MJ, Gaffney EF. Apoptosis occurs independently of bcl-2 and p53 over expression in non small cell lung carcinoma. *Histopathology* 1996 Jul; 29(1):45-50.
6. Giannios J.,Ginopoulos P. rhuMab antiHER2/neu(c-erbB2) pegylated immunoliposomes with incorporated paclitaxel induces ADCC and p53 independent PCD in stage IV human epithelial ovarian cancer. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res*:40:583,1999.
7. Lai SL, Perng RP, Hwang J. p53 gene status modulates the chemosensitivity of non small cell lung cancer cells. *J Biomed Sci* 2000 Jan-FEB;7(1):64-70.
8. Giannios J.,Ginopoulos P. Ionizing-radiation (x-ray) co-administered with complexes of vinorelbine, rhu anti-HER2/neu (c-erbB2) Mabs and hexadecyl-PC induce PCD in human mBRCA via antibody dept. cell cytotoxicity (ADCC), apoptotic induced drug delivery (AIDD), radiation induced apoptosis (RIA) and PKC-inhibition. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res-NCI-EORTC*, 95:20, 1999.
9. Giannios J.,Ginopoulos P., Michailakis M. Bystander killing effect after induction of D2 apoptotic signs of invasive ductal breast cancer via ADCC and CPP32 cleavage after colloidal antisense ODN supression of MT-TUBULIN-B_{III} m-RNA, down-modulation of c-erbB2 by rhuMab-HER2/neu, bcl-2 phosphorylation and cytochrome - c upregulation by paclitaxel. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res*;41:388,2000.

10. Giannios J., et al. Molecular aspects of breast and ovarian cancer. *European Journal of Gynaecological Oncology* XVIII n5:387,1997.
11. Giannios J., et al. TEM study of chemogene therapy induced apoptosis in human chemoresistant colon cancer cells. *European Microscopy and Analysis*;62:5,1999.
12. Giannios J., Ginopoulos P., Michailakis E., Pergantas N., Sougleri M., Assimakopoulos Ch.,Yannios M.Cleavage of c-erbB2mRNA induces D2 stage of PCD into chemoresistant comedo DCIS after recombinant defective adenovirus mediated transfer of hammerhead ribozyme (RAD-HER2-RZ) combined with vinorelbine. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*;19:1878, 2000.
13. Koboyashi T, Sawa H, Morikawa J, Zhang W, Shiku H. Bax induction activates apoptotic cascade via mitochondrial cytochrome c release and bax overexpression enhances apoptosis induced by chemotherapeutic agents in DLD-1 colon cancer cell. *Jpn J Cancer Res* 2000 Dec;91(12):1264-1268.
14. J.Giannios,P.Ginopoulos, M.A. Dimopoulos. Induction of PCD in ALL cells after combined wtp53 lipofection, vinorelbine treatment and radiation. *Proc. Am. Soc. Hematology*:3679, 1998.
15. Giannios J., Ginopoulos P. RhuMAb Anti-HER/Neu Pegylated Immunoliposomes with Incorporated Vinorelbine Tartrate Induces P53 Independent PCD and ADCC in Chemoresistant NSCLC. *Proc.Am. Soc. Clin. Oncol.* 18:506a, 1999.
16. Lavarino C, Pilotti S, Oggionni M, Gatti L, Perego P, Bresciani G, Pierotti MA, Scambia G, Ferrandina G, Fagotti A, Mangioni C, Lucchini V, Vecchione F, Bolis G, Scarfone G, Zunino F. p53 gene status and response to platinum/paclitaxel-based chemotherapy in advanced ovarian carcinoma. *J Clin Oncol* 2000 Dec 1;18(23):3936-45.
17. Giannios J., et al. Immunoliposomal vinorelbine (ILV) with linked antiHER2 Mabs ECD IgG1 eradicates metastatic breast Ca cells over expressing HER2 via PCD and ADCC. *Annals of Oncology*, Vol 11, Suppl4:42,2000.
18. Giannios J., et al. Apoptotic induction of radioresistant malignant glial tumor cells exhibiting mtp53 after combined adm. of liposomal plasmid wtp53 c DNA gene of PCMV-Neo Bam vector and radiotherapy. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res -NCI-EORTC.*511:104,1999.

19. Giannios, J., Ginopoulos P. AntiHER2 Mab plus calcicheamicin immunoconjugate linked on liposomal vinorelbine tartrate induces ADCC and apoptosis in HER2 positive NSCLC. *Lung Cancer*, 29:121,2000.
20. Giannios J., et al. Antisense adenoviral gene therapy against VEGF mRNA blocks angiogenesis and subsequent metastatic tumor growth in vivo after open surgery in animals with primary invasive breast cancer. *Proc. Of European Society of Surgical Oncology*:36, 2000.
21. Weill D, Mack M, Roth J, Swisher S, Proksch S, Merritt J, Nemunaitis J. Adenoviral – mediated p53 transfer to non small cell lung cancer through endobronchial injection. *Chest* 2000 Oct;118(4):966–70.
22. Giannios, J., Ginopoulos P. Adm. of vinorelbine encapsulated in anti HER2 bearing immunoliposomes induces p53 dependent PCD in chemoresistant NSCLC via activation of MEKK1/SEK1/JNK/API pathway. *Eur. J. Cancer*, 35:263, 1999.
23. Giannios, J., Ginopoulos P. Immunochemogene Tx consisting of recombinant adenovirus transfection of wt PTEN/MMAC1/TEP1 and pegylated liposomal transfer of vinorelbine with linked anti HER2/neu Mabs induced ADCC, complement dependent cytotoxicity and PCD in breast Ca overexpressing AKT2. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Research*;42:4381, 2000.
24. Giannios J, et al. Multidrug resistance in cancer chemotherapy (Editorial), *Archives of Hellenic Medicine* 141:22, 1997.
25. Giannios J., et al. Apoptotic induction via CPP32/ caspase-3 pathway of chemoresistant HCC exhibiting MRP-2 and EGFR after treatment with humanized anti- EGFR MAb fusogenic liposomal vinorelbine. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res–NCI–EORTC*, 81:18, 1999.
26. Giannios J., Ginopoulos P. Apoptotic induced vinorelbine delivery (AIDD) mediated by electrochemotherapy (ECT) and radiation induced apoptosis (RIA) caused by radiation enhanced wtp53 cDNA gene transfer (REGT) eradicated radioresistant NSCLC cells with mutant p53. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res–NCI–EORTC*, 138:29, 1999.
27. Giannios J., et al. Combined chemotherapeutic and gene (wtp-53) treatment in human chemoresistant epithelial ovarian cancer cells, stage IV. *Gynaecological Frontline Research. Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavia* 76:167, 1997.

28. Giannios J, et al. Eradication of chemoresistant ovarian cancer in combination with gene and cytotoxic therapy. *Eur. J. Cancer*, 33:361, 1997.
29. Giannios J, et al. Antibody mediated cytotoxic therapy eradicates chemoresistant breast cancer. *Eur. J. Cancer*, 33:357, 1999.
30. Giannios J., et al. Antibody guided cytokine therapy (AGCT) in chemoresistant human breast cancer. *Eur. J. Cancer* 33:17, 1997.
31. Giannios J, et al. Induction of apoptosis via the CPP32/caspase-3 pathway of glioblastoma multiforme (GBM) after adm. of fusogenic immunoliposomes composed of PKC inhibitor hexadecyl-PC with linked anti EGFR Mab and entrapped bcl-2 phosphorothioated antisense oligodeoxynucleotides (ODNs): *Proc. Am. Assoc. Cancer Research -NCI- EORTC*: 581:119, 1999.
32. Giannios, J., Ginopoulos P. HMG-CoA inhibitor lovastatin sensitizes highly aggressive breast carcinoma to PCD induced by vinorelbine upregulating BAX, p53 and downregulating RhoA-GTPase, bcl-2. *Eur. J. Cancer*, 35:319, 1999.
33. Giannios, J., Ginopoulos P. Induction of PCD in tamoxifen resistant oestrogen receptor positive (ER) advanced breast cancer after combined therapy with ER antisense oligonucleotides and vinorelbine tartrate encapsulated in DRV liposomes. *Eur. J. Cancer* 36 suppl 4:103, 2000.
34. Giannios J., Ginopoulos P. induction of PCD in chemoresistant NSCLC after combine administration of cytostatic paclitaxel, cytotoxic etoposide and colloidal plasmid PCB6+WTP53. *Proc. Inter. Canc. Cong.* 1998 p.p669-678.

Ολοκληρωμένη άποψη νέων παραγόντων και χημειοθεραπευτικών προσεγγίσεων στα σχήματα για το ΜΜΚΠ

Παναγιώτης Β. Γκινόπουλος

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πρώτη 10ετία νέου αιώνα και εξακολουθεί η κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο στον βιομηχανικά ανεπτυγμένο κόσμο να είναι ο καρκίνος του πνεύμονα.

Ο ΜΜΚΠ, αποτελεί περίπου το 80% των ιστολογικών τύπων και πάνω από το 70% των περιπτώσεων παρουσιάζεται σε στάδιο ανεγχείρητο κατά την διάγνωση (1). Η μεγάλη πλειοψηφία δηλαδή των περιπτώσεων είναι υπονήφια για χημειοθεραπευτική προσέγγιση ή παρηγορητική θεραπευτική προσέγγιση (με υποστήριξη και ακτινοθεραπεία).

Όσο αφορά την χημειοθεραπευτική προσέγγιση θα μπορούσαμε να την χωρίσουμε σε 4 περιόδους:

Την 1η μέχρι το 1980 με βάση τους αλκυλιούχους παράγοντες η οποία όμως καλλιέργησε ένα κλίμα απογοήτευσης διότι όχι μόνο δεν βελτίωσε τα αποτελέσματα αλλά σε αρκετές μελέτες έδειξε μέχρι και επιδείνωση της ποιότητας ζωής και ίσως μείωση της επιβίωσης (2).

Η 2η περίοδος αρχίζει με την είσοδο της πλατίνας, CDDP (3,4) στην θεραπευτική φαρέτρα του ογκολόγου κατά την 10ετία του 1980 η οποία άλλαξε τα δεδομένα. Από τότε και εφεξής οι περισσότερες μελέτες ομιλούν για βελτίωση της ποιότητας ζωής και μικρή αύξηση της επιβίωσης (5).

Η 3η περίοδος αρχίζει την 10ετία του 1990 με την είσοδο των ταξανών στην θεραπευτική προσέγγιση του ΜΜΚΠ τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών (6) έδωσαν μια νέα ώθηση ακόμα περισσότερο στην αισιοδοξία για πιο αποτελεσματική αντιμετώπιση του ΜΜΚΠ.

Η 4η περίοδος φαίνεται να είναι η πρώτη δεκαετία του αιώνα μας που ξεκινά από την βάση ότι η συνδυασμένη χημειοθεραπεία στον καρκίνο του πνεύμονα ελέγχει τα συμπτώματα, επεκτείνει την διάρκεια ζωής και διευκολύνει θεραπείες σε ασθενείς σε τοπικά προχωρημένη νόσο (νέο-επικουρική θεραπεία) πριν την χειρουργική επέμβαση. Αυτό έχει γίνει η στάνταρ θεραπεία και γενικά προτείνεται ως αρχική θεραπεία που ταιριάζει σε ασθενείς σε προχωρημένα στάδια ΜΜΚΠ. Παρά τα οφέλη της παραπάνω στάνταρ θεωρούμενης θεραπείας, πολλοί ασθενείς ακόμα αποτυγχάνουν αρχικά να ανταποκριθούν, λίγοι ανταποκρίνονται πλήρως και ουσιαστικά όλοι οι ασθενείς τελικά «παραδίνονται» σε υποτροπή ή μετάσταση της νόσου. Οι μεταστάσεις είναι ίσως η «νέμεση».

Πολλοί θεωρούν ότι τα καρκινικά κύτταρα που δεν μπορούμε να «ξεριζώσουμε» είτε είναι ανθεκτικά εξ αρχής είτε αποκτούν επίκτητη ανθεκτικότητα σε κυτταροτοξικούς παράγοντες. Υποστήριξη της θεωρίας ότι είναι εξ αρχής ανθεκτικά στην χημειοθεραπεία είναι η παρατήρηση ότι λίγοι ασθενείς των οποίων η καλύτερη αρχική ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία είναι η πρόοδος νόσου, που στη συνέχεια θα ανταποκριθούν σε επακόλουθη 2ης γραμμής χημειοθεραπεία (7,8,9).

Προσθέτοντας ένα τρίτο κυτταροτοξικό παράγοντα σε συνδυασμό δύο φαρμάκων αυξάνει την τοξικότητα αλλά δεν παρατείνει την επιβίωση (10). Μπορεί ίσως να αυξηθεί η συνολική ανταπόκριση με την προσθήκη βινορελμπίνης (3).

Η ικανότητα της ακτινοβολίας να στρέφεται στην μικρομετάσταση είναι «έμφυτα» περιορισμένη, και η προσθήκη της στο χημειοθεραπευτικό πρόγραμμα αυξάνει την τοξικότητα. Η μέχρι σήμερα εμπειρία δείχνει ότι η προσθήκη περισσότερων κυτταροτοξικών φαρμάκων ή ακτινοβολίας σε συνδυασμούς δύο ενεργών φαρμάκων σε μια προσπάθεια να εμποδιστούν και να θεραπευτούν οι περαιτέρω μικρο ή μακρο-μεταστάσεις δεν δικαιολογεί περαιτέρω μελέτες με αυτό το σκεπτικό.

Πως μπορούμε να διατηρήσουμε τα οφέλη που πετύχαμε μέχρι τώρα με την συνδυασμένη χημειοθεραπεία και να προχωρήσουμε μπροστά;; Θα πρέπει να δώσουμε τώρα προτεραιότητα σε μελέτες που επιδίδονται στο αντικείμενο της μετάστασης και διαλέγουν στρατηγικές που επιτίθονται στις μεταστάσεις μέσω άλ-

λων μηχανισμών από την κυτταροτοξική χημειοθεραπεία.

Ιδεατά, αυτές οι νέες προσεγγίσεις θα πρέπει να ολοκληρώνονται με ασφάλεια και λογική που να αυξάνουν τα οφέλη της χημειοθεραπείας. Αυτή η προσέγγιση πρέπει να προσφέρει την πιθανότητα να αυξηθεί η γραμμή πάνω από αυτή της ανταπόκρισης (40%) και επιβίωσης (μέση 8 μήνες, 35% σε ένα χρόνο) που επιτεύχθηκε με συνδυασμούς με σισπλατίνη και ταζάνες των δύο τελευταίων 10ετιών ή την χρήση 2^{ης} γραμμής χημειοθεραπείας (7,8,9).

Εξελίξεις στην κατανόηση του καρκίνου γενικά και συγκεκριμένα του καρκίνου του πνεύμονα έχουν αναγνωρίσει πιθανούς στόχους και θεραπείες με τα παραπάνω κριτήρια για χρήση με την χημειοθεραπεία. Πολλές μοριακές ανωμαλίες έχουν αναγνωριστεί στο ΜΜΚΠ. Ένας αριθμός διαφορετικών στρατηγικών, όπως η γονιδιακή θεραπεία και χημειοθεραπεία και τα antisense oligonucleotides, ερευνούνται (11). Οι δύο υποδοχείς που έχουν αναγνωριστεί στο ΜΜΚΠ, για τους οποίους θεραπείες στόχων έχουν ευρέως μελετηθεί και είναι τώρα διαθέσιμοι, είναι ο υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) και η 185-kd πρωτεΐνη κωδικοποιημένη από το πρωτοογκογονίδιο HER2/neu, που ονομάζεται HER2. Αυτοί οι δύο υποδοχείς είναι μέλη της ίδιας οικογένειας υποδοχέων αυξητικών παραγόντων και μέχρι σήμερα, στοχεύοντας αυτά τα μόρια έχουν δοθεί μεγαλύτερες επιτυχίες σε κλινικό επίπεδο.

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΣ ΣΤΟΧΟΣ: ΠΡΩΤΕΪΝΗ HER2

Το ανθρώπινο EGFR HER2/neu, γνωστό επίσης ως c-erbB-2, είναι ένα πρωτοογκογονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17q21(12,13,14,15,16). Το HER2/neu κωδικοποιεί ένα υποδοχέα διαμεμβρανικής γλυκοπρωτεΐνης με δράση κίνησης τυροσίνης που ονομάζεται HER2. Η ενεργοποίηση ενός υποδοχέα με την ετεροδιμερή σύνθεση του που εμπεριέχει την πρωτεΐνη HER2 προκαλεί κυτταρική αύξηση και διαίρεση. Αρκετά στοιχεία υποστηρίζουν έναν απευθείας ρόλο για την έκφραση του HER2 στην παθογένεση του όγκου. Η υπερέκφραση του c-erbB-2 σε κύτταρα ποντικών κατέληξε σε κακοήθη μεταμόρφωση δηλαδή καρκινογένεση (17,18). Διαγονιδιακά ποντίκια που εκφράζουν υψηλά επίπεδα μεταλλαγμένου neu αναπτύσσουν καρκίνο (19). Ειδικά αντισώματα για την εξωκυτταρική περιοχή της βασική πρωτεϊνικής μεμβράνης κωδικοποιούνται από το γονίδιο neu ή από το ανθρώπινο γονίδιο HER2, αναστέλλουν την αύξηση των όγκων που εκφράζει το γονίδιο (13,14,15,16,20).

ΤΟ HER2 ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Πολλοί ανθρώπινοι όγκοι υπερεκφράζουν το HER2 (21,22,23,24,25). Η υπερέκφραση του HER2 στον καρκίνο του πνεύμονα συμβαίνει στο 20–25% των περιπτώσεων (26,27). Όπως σε άλλους καρκίνους, κλινικά δεδομένα (28,29) στο καρκίνο του πνεύμονα συνιστούν ότι η υπερέκφραση του HER2 μπορεί να δώσει κακή πρόγνωση. Σε μία μελέτη, 55 χειρουργικά δείγματα εκτιμήθηκαν για την πρωτεΐνη HER2 με ανοσοϊστοχημική ανάλυση (29). Συνολικά το 30% των δειγμάτων ήταν θετικό, περιλαμβάνοντας 38% αδενοκαρκινώματα, 36% πλακώδες καρκίνωμα και 0% μεγάλα κύτταρα. Σε μια πολύπλευρη ανάλυση, η υπερέκφραση του HER2 συνδέθηκε με μικρότερη επιβίωση ανεξαρτήτου ηλικίας, απώλειας βάρους, χαρακτηριστικών πρωτοπαθούς όγκου, παρουσία μεταστάσεων, προχωρημένο στάδιο και μέγεθος όγκου. Το επίπεδο της έκφρασης του HER2 έδειξε επίσης ότι είναι ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για υποτροπή, επιβίωση ελεύθερης νόσου, και χρόνου μέχρι υποτροπής, σε 94 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική αφαίρεση με θεραπευτικό σκοπό (28). Άλλοι συγγραφείς έχουν αντικρούσει την προγνωστική αξία του HER2 (30,31,32). Όγκοι με υπερέκφραση του HER2 συνήθως παρουσιάζουν εγγενή αντίσταση στα φάρμακα, κάνοντας έτσι την θεραπεία με χημειοθεραπεία λιγότερο αποτελεσματική. Σε 20 κυτταρικές σειρές MMΚΠ, η ευαισθησία στη σισπλατίνη, μιτομυκίνη και ετοποσιδίη, σχετίζεται με τον βαθμό έκφρασης του γονιδίου HER2/neu ($r=.67$ σε .86 ασθενείς, $p<.005$), (33). Η χημειοανθεκτικότητα έχει επιδειχθεί στο HER2/neu-μεταφερόμενο γονίδιο σε κυτταρικές σειρές ανθρώπινου καρκίνου του πνεύμονα, δείχνοντας έτσι ένα δυνατό συσχετισμό με αυτό το γονίδιο (34).

ΤΟ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΟ ΑΝΤΙΣΩΜΑ TRASTUZUMAB ΣΤΟΧΕΥΟΝΤΑΣ ΤΟ HER2

Τα μονοκλωνικά αντισώματα ποντικών (MABs) που παράγονται ενάντια της εξωκυτταρικής περιοχής του υποδοχέα του HER2 αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων που υπερεκφράζουν HER2. Τα καλύτερα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν με Mab 4D5, τα οποία προάγουν αντιπολλαπλασιαστικά αποτελέσματα *in vitro*, ενάντια σε ανθρώπινες σειρές καρκινικών κυττάρων που υπερεκφράζουν το HER2 (35). Αυτό το αντίσωμα δεν έχει επίδραση σε κυτταρικές σειρές που δεν υπερεκφράζουν τον υποδοχέα. Σε μια δο-

σοεξαρτώμενη φάση τα 4D5 αντισώματα ποντικού αναστέλλουν την αύξηση των ανθρώπινων κυτταρικών σειρών ΜΜΚΠ που φυσικά εξέφραζαν HER2 ή μεταφέρθηκαν με HER2/neu (36). Η trastuzumab (Herceptin, Genetech, Inc, South San Francisco, CA), η ανθρώπινη εκδοχή του 4D5, κατασκευάστηκε εισάγοντας σε συμπληρωματικές προσδιοριζόμενες περιοχές του MAb 4D5 μέσα στην ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη G1. Η trastuzumab συνδέεται με την εξωκυτταρική περιοχή του υποδοχέα του HER2 με τρεις φορές περισσότερη συγγένεια από ότι το Mab 4D5. Η trastuzumab μπορεί να συγκριθεί με την MAb 4D5 στην αναστολή του πολλαπλασιασμού της SK-BR-3 γραμμής καρκινικών κυττάρων. Πάντως, αντίθετα από το MAb 4D5, προκαλεί αντισωμοεξαρτώμενη κυτταροτοξικότητα ενάντια σειρών καρκινικών κυττάρων σε παρουσία ανθρώπινων περιφερικών μονοκυτταρικών κυττάρων αίματος. Δύο μελέτες φάσεως I έχουν διεξαχθεί σε ασθενείς με όγκους που υπερεκφράζουν HER2, συμπεριλαμβανομένου ΜΜΚΠ. Μελέτες φάσεως II της trastuzumab σε γυναίκες με μεταστατικό καρκίνο του μαστού που υπερεκφράζουν το HER2 ανέφεραν διαρκείς ανταποκρίσεις (37). Το USFDA (United States Food and Drug Administration) βασιζόμενο σε αυτές τις μελέτες μονοθεραπείας και σε μία μελέτη συνδυασμού του trastuzumab με πακλιταξέλη, ενέκρινε το trastuzumab για ασθενείς με καρκίνο του μαστού των οποίων οι όγκοι υπερεκφράζουν το HER2 και κυκλοφορεί ήδη και στην Ελλάδα με την κοινή ονομασία «Herceptin».

ΤΟ TRASTUZUMAB ΜΕ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Τα βελτιωμένα κυτταροτοξικά αποτελέσματα των χημειοθεραπευτικών παραγόντων όταν συνδυάζονται με trastuzumab, αποδείχθηκαν αρχικά σε προκλινικά μοντέλα. Η trastuzumab ανέστειλε τη αύξηση των κυττάρων που φυσικά υπερέκφραζαν HER2 στην καλλιέργεια, και αυτό το αποτέλεσμα ενισχύθηκε με την προσθήκη της πακλιταξέλης (38). Σε xenograft μοντέλο, ο συνδυασμός πακλιταξέλης και trastuzumab απέφερε μεγαλύτερη αναστολή αύξησης από ότι με τον κάθε παράγοντα μόνο του και στο τέλος του πειράματος είδαν και κάποια ζώα ελεύθερα νόσου. Μία τυχαιοποιημένη μελέτη σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού, με πακλιταξέλη και trastuzumab, συγκρινόμενη με πακλιταξέλη μόνο, επέδειξε βελτιωμένο χρόνο ως την πρόοδο (6.7 v 2.5 μήνες, $p < .0001$), ολική ανταπόκριση (38% v 15%, $p < .001$), διάρκεια ανταπόκρισης (8.3 v 4.3 μήνες), και 1 χρόνο επιβίωση (73% v 61%, $p = .08$), (39).

ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΜΚΠ ΜΕ TRASTUZUMAB ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Ο ΜΜΚΠ υπερεκφράζει το HER2 σε 20–25% των περιπτώσεων. Αυτό σχετίζεται με εγγενή χημειοανθεκτικότητα (drug resistance) και φτωχότερη πρόγνωση. Προκλινικά δεδομένα δείχνουν ότι το αντίσωμα 4D5 μπορεί να αναστείλει την αύξηση των σειρών καρκινικών κυττάρων καρκίνου του πνεύμονος που υπερεκφράζουν το HER2. Όπως περιγράφηκε παραπάνω, μια τυχαιοποιημένη κλινικά μελέτη σε γυναίκες με μεταστατικό καρκίνο του μαστού που υπερεκφράζουν HER2 επέδειξαν ευεργετικά αποτελέσματα με την προσθήκη της trastuzumab στην πακλιταξέλη, βελτιώνοντας τον χρόνο για την πρόοδο, την ανταπόκριση και την επιβίωση συγκρινόμενα με την πακλιταξέλη μόνη της. Αφότου η δοσεξατέλη και η πακλιταξέλη έχουν αποδειχθεί ως τους δύο από τους πιο δραστικούς παράγοντες ενάντια στο ΜΜΚΠ, ο συνδυασμός της trastuzumab με αυτούς τους παράγοντες είναι ένα λογικό βήμα. Στο Memorial Sloan–Kettering Cancer Center διεξάγεται μια τυχαιοποιημένη μελέτη φάσεως II με trastuzumab συνδυασμένη με δοσεξατέλη ή πακλιταξέλη, σε εβδομαδιαία χορήγηση σε ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ. Η μελέτη και των δύο συνδυασμών θα επιτρέψει απευθείας εκτιμήσεις ανταπόκρισης και τοξικότητας και έτσι, θα επιτραπεί ο καθορισμός του καταλληλότερου σχήματος για μελλοντικές έρευνες.

Το Eastern Cooperative Oncology Group μελετά το συνδυασμό πακλιταξέλης και καρβοπλατίνης με trastuzumab ως αρχική θεραπεία σε ασθενείς με ΜΜΚΠ των οποίων οι όγκοι υπερεκφράζουν την πρωτεΐνη HER2. Το Cancer and Leukemia Group B τώρα διεξάγει μελέτη φάσεως II με trastuzumab μόνη της σε αντίστοιχους ασθενείς.

Αυτή και άλλες μελέτες θα καθορίσουν τον ρόλο της trastuzumab στην θεραπεία του ΜΜΚΠ και θα προσδιορίσουν κατά πόσο οι βελτιώσεις στα αποτελέσματα που είδαμε ξεχωριστά στο μεταστατικό καρκίνο του μαστού, μπορούν να αντιγραφούν στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Συμπληρωματικά θέματα που απευθύνονται σε αυτές τις μελέτες θα είναι ο αναμενόμενος προσδιορισμός της επίπτωσης και του βαθμού της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης HER2 στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και η μέτρηση της έκφρασης της πρωτεΐνης HER2 και η ενίσχυση του γονιδίου HER2/neu στο μεταστατικό όγκο, προκαταβάλλει δεκτικότητα στην βιοψία ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ. Μέχρι τώρα, η κατάσταση του HER2 στον καρκίνο του πνεύμονα έχει μετρηθεί σχεδόν αποκλειστικά σε δείγματα πρωτοπαθή όγκου εξαιρεθέντα. Η αβεβαιότητα παραμένει ως προς

το ακριβή μηχανισμό των αντικαρκινικών αποτελεσμάτων της trastuzumab στον άνθρωπο. Απαιτείται πρόσθετη μελέτη για να καθορίσει τα αντικαρκινικά αποτελέσματα της trastuzumab που λαμβάνουν χώρα μόνο ως αποτέλεσμα της σύνδεσής τους στο HER2. Άλλα πεδία έρευνας περιλαμβάνουν την εξέλιξη μικρών μορίων που μπλοκάρουν τον διμερισμό και/ή την ενεργοποίηση του HER2 και καθορίζουν τον ρόλο του HER3 και HER4 στην μετατροπή των σημάτων.

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΣ ΣΤΟΧΟΣ: EGFR

Η EGFR είναι μια γλυκοπρωτεΐνη η οποία αποτελείται από μία εξωκυτταρική περιοχή σύνδεσης και μία ενδοκυττάρια που περιέχει δραστηριότητα κινάσης της τυροσίνης. Όταν ένας παράγων όπως ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF) ή ο transforming αυξητικός παράγοντας άλφα (TGF α), συνδεθούν στον υποδοχέα, οι κινάσες EGFR αυτοφωσφορυλιώνουν τα υπόλοιπα των τυροσινών, τα οποία οδηγούν σε μια αλυσίδα ενδοκυτταρικών γεγονότων καταλήγοντας σε αύξηση και πολλαπλασιασμό. Τα EGFRs βρίσκονται σε φυσιολογικά κύτταρα του δέρματος, του κερατοειδή χιτώνα, του νεφρού, των ωοθηκών, του συστήματος αγωγής καρδιακού μυός, του πνεύμονα και του ήπατος.

Η EGFR ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Οι EGFRs υπερεκφράζονται στον ΜΜΚΠ. Σε μια σειρά δειγμάτων εξαιρεθέντων πρωτοπαθών όγκων, η EGFR είχε εκφραστεί στο 93% και η TGF α στο 86%. Η EGFR είχε υπερεκφραστεί σε 45% και η TGF α είχε υπερεκφραστεί σε 61%. Η υπερέκφραση της EGFR συνέβη σε 36% μη επιθηλιακούς και 58% σε επιθηλιακούς καρκίνους (40). Η εξωκυτταρική περιοχή της EGFR μπορεί να εντοπιστεί στα ούρα του 50% των ασθενών με ΜΜΚΠ, περιλαμβάνοντας 6 από 10 επιθηλιακούς και 3 από 8 μη επιθηλιακούς καρκίνους (41). Ανιχνεύσιμη EGFR βρέθηκε πιο συχνά σε ασθενείς με μεταστατικούς επιθηλιακούς καρκίνους από ότι σε αυτούς με πρωτοπαθή νόσο. Αυτά τα δεδομένα προτείνουν ότι η EGFR είναι ένα υποδοχέας ζωτικής σημασίας στον καρκίνο του πνεύμονα.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΤΟΧΕΥΟΥΝ EGFR

Οι συσχετισμοί της EGFR με τον καρκίνο του πνεύμονα οδήγησαν στην υπόθεση ότι ο αποκλεισμός της EGFR μπορεί να εμποδίσει την αύξηση του καρκίνου του πνεύμονα. Αυτή η υπόθεση έχει οδηγήσει σε τουλάχιστον δύο στρατηγικές απενεργοποίησης της EGFR: χρήση ενός MAbs (αντιστρώματος) που προσκολλάται στο εξωκυτταρικό πεδίο σύνδεσης και μπλοκάρει τις κινάσες τυροσίνης που βρίσκονται στο ενδοκυττάριο τμήμα του υποδοχέα. Το MAbs C225 (cetuximab) και οι αναστολείς κινάσης τυροσίνης του μη πεπτιδίου EGFR και τα μη πεπτιδία EGFR τυροσινικινάσης αναστολείς, CP-358, 774 και ZD1839 (Iressa, Astra Zeneca, Wilmington, DE) είναι οι πιο ευρέως μελετημένες θεραπείες στον άνθρωπο. Κάθε μία έχει δείξει ότι μπλοκάρεται ιδιαίτερα η ενεργοποίηση της EGFR με EGF και TGF α και αναστέλλεται ο πολλαπλασιασμός των ανθρώπινων κυτταρικών σειρών και των μοντέλων (xenografts) που υπερεκφράζουν την EGFR (42). Τα CP-358, 774 και cetuximab μπλοκάρουν την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου στη G1 και προκαλούν απόπτωση (43,44). Η MAbs 225 ζώου (45) (murine Mab 225) και η ανθρώπινη /χημική φόρμα του C225 (cetuximab) έχουν δοκιμαστεί στον άνθρωπο. Η πρόσληψη από τον όγκο είναι δόσοεξαρτώμενη και έχει παρατηρηθεί με ραδιοϊσοτοπικά αντισώματα. Τα CP-358, 774 (46) και ZD1839 (47,48) εκτιμούνται τώρα σε ασθενείς. Οι αναστολείς των EGFR έχουν ελάχιστη τοξικότητα. Αναστρέψιμα εξανθήματα δέρματος και διάρροια φαίνεται να είναι δόσοεξαρτώμενα με τα μη πεπτιδικά συστατικά. Αντιδράσεις υπερευαισθησίας και εξανθήματα έχουν παρατηρηθεί με την cetuximab. Μείζονες διαρκείς αντικειμενικές υποστροφές έχουν τεκμηριωθεί σε ασθενείς με ανθεκτικό ΜΜΚΠ που αντιμετωπίστηκαν με ZD1839 μόνο (48).

ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ EGFR ΜΕ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Τα αντικαρκινικά αποτελέσματα και του cetuximab και του ZD1839 ενισχύονται όταν τα συστατικά συνδυάζονται με κυτταροτοξική χημειοθεραπεία (49,50,51). Το ZD1839 ενίσχυσε σημαντικά την αποτελεσματικότητα της σισπλατίνης, καρβοπλατίνης, δόσοεξατέλης, πακλιταξέλης, δοξορουμπικίνης και της αντιφολικής εδατρεξάτης σε καλλιέργειες ανθρώπινων γραμμών καρκινικών κυττάρων πνεύμονα αναστολείς A549, LX-1 και SK-LC-16. Ο συνδυασμός του ZD1839 και της

βινορελμπίνης ήταν τοξική στα ποντίκια (51). Μειώσεις και ολικές ανταποκρίσεις περιγράφηκαν σε ασθενείς με καρκίνο κεφαλής-τραχήλου, στους οποίους δόθηκε cetuximab σε συνδυασμό με ακτινοβολία (52) και σισπλατίνη (53). Πλήρης ύφεση παρατηρήθηκε επίσης με τον συνδυασμό cetuximab με σισπλατίνη σε ασθενείς με ενδείξεις προόδου νόσου όταν λάμβαναν σισπλατίνη μόνο.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΜΚΠ ΜΕ EGFR BLOCKERS ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Το MAb cetuximab και οι αναστολείς υποδοχέων τυροσίνης κινάσης CP-358,744 και ZD1839 μπλοκάρουν την EGF που προκαλεί πολλαπλασιασμό και μπορούν να αναστείλουν την αύξηση εγκατεστημένων καρκινικών κυττάρων σε xenografts γνωστά ότι υπερεκφράζουν την EGFR. Αυτά τα τρία συστατικά μπορούν να δοθούν με ασφάλεια σε κατάλληλες βιολογικές δόσεις που μπορούν να κορέσουν τον EGFR και να μπλοκάρουν την δραστηριότητα της EGFR κινάσης τυροσίνης. Υποστροφές καρκίνων έχουν παρατηρηθεί με ZD1839 μόνο και cetuximab συνδυασμένο με ακτινοβολία και σισπλατίνη. Με τα εντυπωσιακά αντικαρκινικά αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν όταν οι EGFR blockers είναι συνδυασμένοι με χημειοθεραπεία, οι προσπάθειες είναι τώρα καθ' οδόν για να δούμε κατά πόσο τα προκλινικά ευρήματα μπορούν να αντιγραφούν σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Μία μελέτη φάσεως I/II είναι τώρα σε εξέλιξη στο Memorial Sloan-Kettering Cancer Center συνδυάζοντας ZD1839 με καρβοπλατίνη και πακλιταξέλη ως αρχική θεραπεία σε ασθενείς με ΜΜΚΠ. Βασισμένη στα αποτελέσματα φάσεως I, μία μελέτη με ZD1839 μόνο σχεδιάζεται για ασθενείς με προοδευτικό ΜΜΚΠ μετά αφού η αρχική θεραπεία αποτύχει. Σαν μέρος αυτών των μελετών, ο συσχετισμός των αντικαρκινικών αποτελεσμάτων με τον βαθμό της υπερέκφρασης του EGFR σε καρκινικά δείγματα επίσης θα εκτιμηθεί. Όσο αφορά το trastuzumab, πειράματα «καθορισμού στόχων» είναι επίσης αναγκαία για να αποδείξουν ότι τα αντικαρκινικά αποτελέσματα του ZD1839 και του cetuximab ωφελούν μόνο και απευθείας επειδή μπλοκάρουν τον EGFR.

ΧΡΗΣΗ ΑΛΩΝ ΝΕΩΝ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΩΝ ΜΕ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι βελτιώσεις στην ανταπόκριση και επιβίωση που επιδείχθηκαν με την trastuzumab συν την πακλιταξέλη σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο του μαστού είχαν προβλεφτεί σε προκλινικές μελέτες αυτού του συνδυασμού. Αυτή η

επιτυχία ώθησε στην εξέταση της αποτελεσματικότητας άλλων προσεγγίσεων βασιζόμενων στην βιολογία με χημειοθεραπεία, και τα δύο στο εργαστήριο και σε ασθενείς με καρκίνο. Αυτά περιλαμβάνουν αναστολείς της farnesyl transferase (54), αναστολείς στρώματος μεταλλοπρωτεΐναςών (55,56), γονιδιακή θεραπεία υποκατάστασης wtp53 διαμέσου φορέων αδενοϊών ή λιποσωμάτων (11,57,58,59,60,62,63), οι ONYX-015 εξασθετισμένοι αδενοϊοί που εισάγουν p53 σε κύτταρα που το υποεκφράζουν, και παράγοντες που στοχεύουν αγγειογενετικούς ενδοθηλιακούς αυξητικούς παράγοντες (61). Σε κάθε περίπτωση η κυτταροτοξική χημειοθεραπεία ενισχύει τα αντικαρκινικά αποτελέσματα της νέας προσέγγισης. Κλινικές μελέτες είναι τώρα καθ' οδόν για να προσδιορίσουν κατά πόσο μπορεί να αποδειχτεί προκλινική συνεργία στους ασθενείς.

Μια άλλη νέα θεωρία (του συγχρονισμού) χρησιμοποιεί παράγοντες που επηρεάζουν τον κυτταρικό κύκλο (θα θυμήσουμε στο παρελθόν μελέτες με 1) αντιοιστρογόνα, 2) οιστρογόνα, 3) χημειοθεραπεία) ή τα μεταβολικά μονοπάτια για να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων. Η flavopiridol μπλοκάρει κυκλινοεξαρτώμενες κινάσες και έτσι οδηγεί σε σταμάτημα του κυτταρικού κύκλου στις G1/S ή G2/M φάσεως (62,63). Όταν η flavopiridol χορηγείται μετά από ένα ειδικό παράγοντα κυτταρικού κύκλου (όπως η πακλιταξέλη) παρατηρούνται ενισχυμένα αντικαρκινικά αποτελέσματα σε προκλινικό επίπεδο (64). Όταν η flavopiridol χορηγείται μετά από μιτομυκίνη, η απόπτωση προκαλούμενη από τη μιτομυκίνη είναι ενισχυμένη (65). Κλινικές μελέτες που δοκιμάζουν αυτές τις θεωρίες είναι σε εξέλιξη.

ΤΟ ΜΕΜΟΝ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ:

ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΑ/ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΒΡΙΔΙΚΑ ΣΧΗΜΑΤΑ

Τώρα έχουμε την ικανότητα να εξελίξουμε κατευθυνόμενες θεραπείες με κυτταροτοξικά φάρμακα. Η εμπειρία με την trastuzumab και την πακλιταξέλη σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο του μαστού δείχνουν ότι οι ελπίδες μας για αυτήν την προσέγγιση δεν ήταν αβάσιμες. Για να εκπληρώσουμε αυτό το κατόρθωμα στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα θα απαιτηθεί μια προσπάθεια κοινά αποδεκτή και κλινική έρευνα. Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τις προκλινικές πληροφορίες σαν την «πρώτη προσέγγιση» για να αναπτύξουμε υβριδικά σχήματα. Πάντως, η επιλογή των παραγόντων, των δόσεων και επιπτώσεων δεν μπορεί να προβλεφτούν εξ ολοκλήρου από εργαστηριακές μελέτες και γιαυτό θα απαι-

τηθούν ανοικτές μελέτες φάσεως I, ακόμα και πριν να μπορούμε να προσδιορίσουμε κατά πόσο αυτές οι νέες θεραπείες θα είναι περισσότερο αποτελεσματικές. Αυτές οι μελέτες μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για πειράματα σχεδιασμένα για επικύρωση στόχων για να αποδειχθεί ότι η υποστροφή των όγκων που παρατηρούνται είναι τα απευθείας και μόνο αποτελέσματα της επίθεσης στο μονοπάτι ή τον υποδοχέα που επιλέχτηκε. Αν αυτό επαληθευτεί ίσως να είναι προτιμότερο και αναγκαίο ένα τεστ σε δείγμα όγκου από ασθενείς πριν τη θεραπεία για να διαλεχτούν αυτοί που ξεχωριστά θα είναι περισσότερο πιθανό να επωφεληθούν από μία «προσέγγιση στόχου». Αυτές οι μεσολαβήσεις θα προσθέσουν πολυπλοκότητα και θα αυξήσουν το κόστος των κλινικών μελετών και σε ανθρώπινο και σε χρηματικό επίπεδο. Τα ενδεχόμενα κέρδη για τους ασθενείς μας πάντως αξίζουν αυτήν την επένδυση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, et al. Cancer Statistics 1998, *Cancer J Clin* 486–489, 1998.
2. Non Small Cell Lung Cancer Collaborative Group: Chemotherapy in non small cell lung cancer: Meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. *Br Med J* 311: 899–909, 1995.
3. P. Ginopoulos, N.S.Mastronikolis, J.Giannios, A.Karana, V.Siabi, F.Karvelas, S. Rathosis, N.Apostolopoulos, A.Mastorakou. A phase II study with vinorelbine, gemcitabine and cisplatin in the treatment of patients with stage IIIb–IV non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 23(1999):31–37.
4. P. Ginopoulos, K.Spyropoulos, D. Kardamakis, D.Dougenis, A.Onyenadum, C.H.Gogos, E.Solomou, K.Chrysanthopoulos. Advanced non small cell lung cancer chemotherapy: a randomized trial of two active regimens (MVP and PE). *Cancer Letters* 119, 1997: 241–247.
5. Billingham LS, Cullen MH, Woods J, et al. Mitomycin, ifosfamide and cisplatin in non small cell lung cancer. Results of a randomized trial evaluating palliation and quality of life. *Lung cancer* 18(suppl 1):9, 1997.
6. P. Ginopoulos N.S.Mastronikolis, J.Giannios, A.Karana, T.Papadas, V.Alivissatos, N.Apostolopoulos, S.Rathosis and F.Karvelas. Paclitaxel and Carboplatin in advanced non small cell lung cancer: a phase II study. *Eur. J. Oncol*, vol 4, n1pp15–20, 1999.
7. Shepherd F, Ramlau R, Mattson K, et al: Randomized study of taxotere (TAX) versus best supportive care (BSC) in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients previously treated with platinum-based chemotherapy. *Proc Am Soc Clin Oncol* 18:463a, 1999 (abstr 1784).
8. Fossella F, DeVore R, Kerr R, et al: Phase III trial of docetaxel 100 mg/m² or 75 mg/m² vs vinorelbine/ifosfamide for non-small cell lung cancer (NSCLC) previously treated with platinum-based chemotherapy (PBC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 18:460a, 1999 (abstr 1776).
9. Crino L, Mosconi AM, Scagliotti GV, et al: Gemcitabine as second-line treatment for advanced non-small cell lung cancer: A phase II trial. *J Clin Oncol* 17:2081–2085, 1999.

10. Gralla RJ, Lee JS, Kris MG, et al: Multicenter, randomized trials comparing the combination of edatrexate, mitomycin, and vinblastine (EMV) with mitomycin and vinblastine (MV) in 673 patients with stage III and IV non-small cell lung cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 13:347, 1994 (abstr 1161).
11. J. Giannios and P. Ginopoulos. Induction of PCD chemoresistant NSCLC after combined administration of cytostatic paclitaxel, cytotoxic etoposide and colloidal plasmid PCB6+WTP53. *Inter. Canc. Congr.* 1998 pp669-678, 1998.
12. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, et al: Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 230: 1132-1139, 1985.
13. J. Giannios and P. Ginopoulos. rhuMab antiHER2/neu (c-erbB2) pegylated immunoliposomes with incorporated paclitaxel induces ADCC and p53 independent PCD in stage IV human epithelial ovarian cancer. *Am Assoc Can Res*, 40:3842, 1999.
14. J. Giannios and P. Ginopoulos. rhuMab anti-HER/neu pegylated immunoliposomes with incorporated vinorelbine tartrate induces p53 independent PCD and ADCC in chemoresistant NSCLC. *Am Soc Clin Oncol* vol 18:1950, 1999.
15. J. Giannios and P. Ginopoulos. Administration of vinorelbine encapsulated in anti-HER2 bearing immunoliposomes induces p53 indept. PCD in chemoresistant NSCLC via activation of MEKK1/SEK1/JNK/AP1 pathway. *Eur C Conf* vol35:1044, 1999.
16. J. Giannios, E. Michailakis, P. Ginopoulos. anti-HER2 Mab plus calicheamicin immunoconjugate linked on liposomal vinorelbine tartrate induces ADCC and apoptosis in HER2 positive NSCLC. *Wor Conf Lung Cancer* 2000, vol 29 suppl1:400,121.
17. DiFiore PP, Pierce JH, Kraus MH, et al: ErbB-2 is a potent oncogene when overexpressed in NIH/3T3 cells. *Science* 237:178-182, 1986.
18. Hudziak RM, Schlessinger J, Ullrich A: Increased expression of the putative growth factor receptor p18HER2 causes transformation and tumorigenesis of NIH 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84:7159-7163, 1987.
19. Muller W, Sinn E, Patengale P, et al: Single-step induction of mammary adenocarcinoma in transgenic mice bearing the activated c-neu oncogene. *Cell* 54:105-115, 1988.

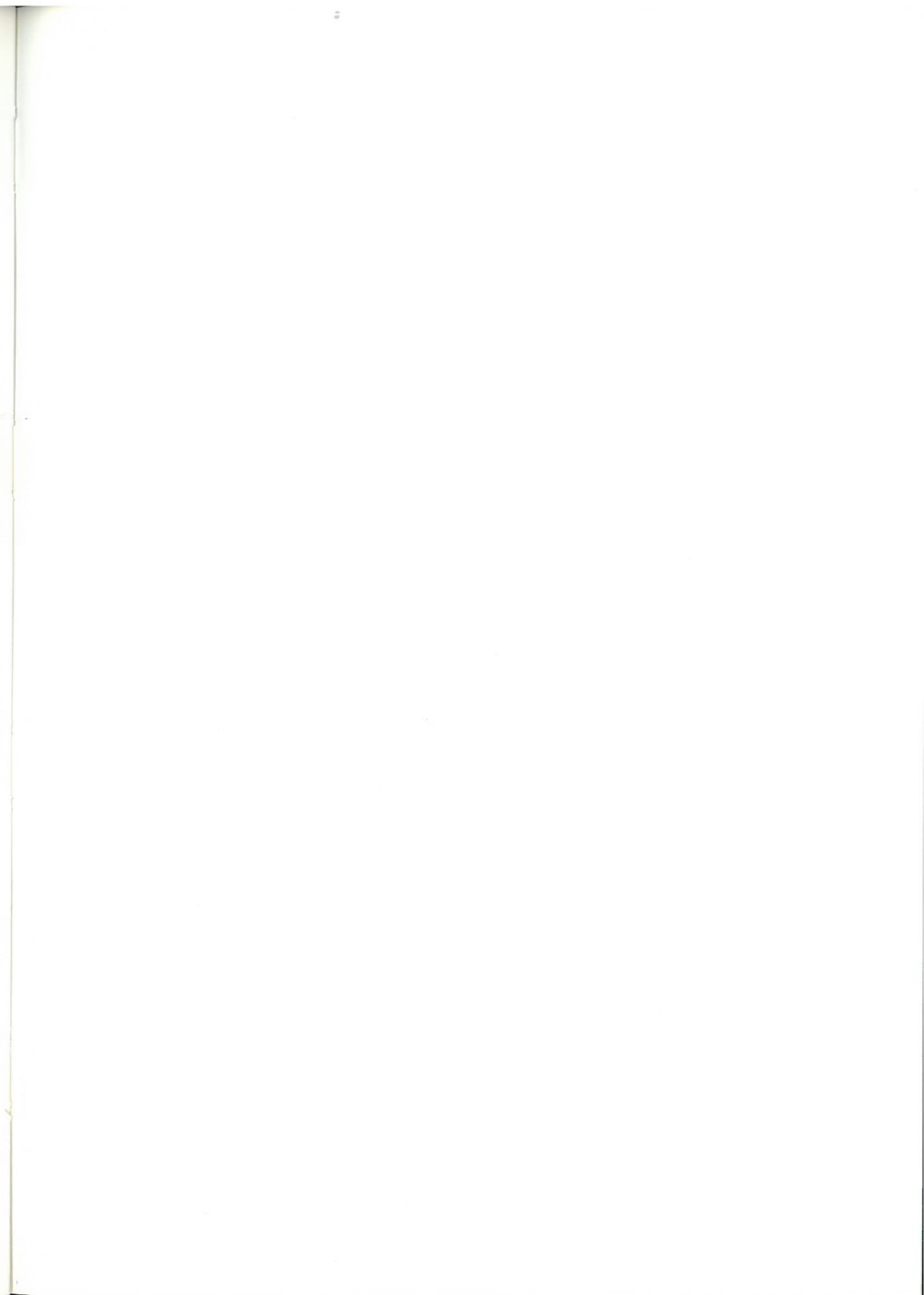
20. Drebin JA, Winget M, Greene MI: Monoclonal antibodies specific for the neu oncogene product directly mediate anti-tumor effects in vivo. *Oncogene* 2:387-394, 1988.
21. Slamon DJ, Gogolphin W, Jones LA, et al: Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 244:707-712, 1989.
22. Hetzel DJ, Wilson TO, Keeney GL, et al: HER-2/neu expression: A major prognostic factor in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 47:179-185, 1992.
23. Saffari B, Jones LA, el-Naggar A, et al: Amplification and overexpression of HER-2/neu (c-erbB2) in endometrial cancers: Correlation with overall survival. *Cancer Res* 55: 5693-5698, 1995.
24. Yonemura Y, Ninomiva I, Ohoyama S, et al: Expression of c-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma: Immunoreactivity for c-erbB-2 protein is an independent indicator of poor short-term prognosis in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 67:2914-2918, 1991.
25. Press MF, Pike MC, Hung G, et al: Amplification and overexpression of HER-2/neu in carcinomas of the salivary gland: Correlation with poor prognosis. *Cancer Res* 54:5675- 5682, 1994.
26. Pastorino U, Sozzi G, Miozzo M, et al: Genetic changes in lung cancer. *J Cell Biochem Suppl* 17F:237-248, 1993.
27. Salgia R, Skarin AT: Molecular abnormalities in lung cancer. *J Clin Oncol* 16:1207-1217, 1998.
28. Diez M, Pollan M, Maestro M, et al: Prediction of recurrence by quantification of p185neu protein in non-small cell lung cancer tissue. *Br J Cancer* 75:684-689, 1997.
29. Kern JA, Schwartz DA, Nordberg JE, et al: p185 neu expression in human lung adenocarcinomas predicts short-ened survival. *Cancer Res* 50:5184-5187, 1990.
30. Greatens TM, Niehans GA, Rubins JB, et al: Do molecular markers predict survival in non-small cell lung cancer? *Am J Respir Crit Care Med* 157:1093-1097, 1998.
31. MacKinnon M, Kerr KM, King G, et al: p53, c-erbB-2, and nm23 expression have no prognostic significance in primary pulmonary adenocarcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg* 11:838-842, 1997.

32. Pfeiffer P, Clausen PP, Andersen K, et al: Lack of prognostic significance of epidermal growth factor receptor and the oncoprotein p185HER-2 in patients with systemically untreated non-small cell lung cancer: An immunohistochemical study on cryosections. *Br J Cancer* 74:86-91, 1996.
33. Tsai C, Chang K, Perng R, et al: Correlation of intrinsic chemoresistance of non-small cell lung cancer cell lines with HER-2/neu gene expression but not with ras gene mutations. *J Natl Cancer Inst* 85:897-901, 1993.
34. Tsai C, Yu D, Chang K, et al: Enhanced chemoresistance by evaluation of p185 neu levels in HER-2/neu-transfected human lung cancer cells. *J Natl Cancer Inst* 87:682-684, 1995.
35. Lewis GD, Figari I, Fendly B, et al: Differential responses of human tumor cell lines to anti-p185^{HER2} monoclonal antibodies. *Cancer Immunol Immunother* 37:255-263, 1993.
36. Kern J, Torney L, Weiner D, et al: Inhibition of human lung cancer cell line growth by an anti-p185^{HER2} antibody. *Am J Respir Cell Mol Biol* 9:448-454, 1993.
37. Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, et al: Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185^{HER2} monoclonal antibody in patients with HER2/neu overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 14:737-744, 1996.
38. Baselga J, Norton L, Albanell J, et al: Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. *Cancer Res* 58:2825-2831, 1998.
39. Slamon D, Leyland-Jones B, Shack S: Addition of Herceptin [tm] (humanized anti-HER2 antibody) to 1st line chemotherapy for HER2 overexpressing metastatic breast cancer (HER2+/MBC) markedly increases anticancer activity: A randomized, multinational controlled phase III trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 17:98a, 1998 (abstr 377).
40. Ruach V, Baselga J, Cordon-Cardo C, et al: Differential expression of the epidermal growth factors receptor and its ligands in primary non-small cell lung cancers and adjacent benign lung. *Cancer Res* 53:2379-2385, 1993.
41. Witters LM, Curley EM, Kumar R, et al: Epidermal growth factor receptor ectodomain in the urine of patients with squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 1:551-557, 1995.

42. Woodburn JR, Barker AJ, Gibson KH, et al: ZD1839, an epidermal growth factor tyrosine kinase inhibitor selected for clinical development. *Proc Am Assoc Cancer Res* 38:633, 1997.
43. Moyer JD, Barbacci EG, Iwata KK, et al: Induction of apoptosis and cell cycle arrest by CP-358, 774, an inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase (EGFR-TK). *Cancer Res* 57:4838-4848, 1997.
44. Huang S-M, Bock JM, Harari PM: Epidermal growth factor receptor blockade with C225 modulates proliferation, apoptosis, and radiosensitivity in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Res* 59:1935-1940, 1999.
45. Divgi CR, Kris M, Real FX, et al: Phase I and imaging trial of indium 111-labeled anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody 225 in patients with squamous cell lung carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 83:97-104, 1991.
46. Karp D, Silberman S, Csudai R, et al: Phase I dose escalation study of epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase (TK) inhibitor CP-358,774 in patients with advanced solid tumors. *Proc Am Soc Clin Oncol* 18:388a, 1999 (abstr 1499).
47. Baselga J, LoRusso P, Herbst R, et al: A pharmacokinetic-pharmacodynamic trial of ZD1839 (Iressa), a novel oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase (EGFR-TK) inhibitor, in patients with 5 selected tumor types (a phase I/II trial of continuous once-daily treatment. *Clin Cancer Res* 5:3736s, 1999 (suppl) (abstr 29).
48. Kris M, Ranson M, Ferry D, et al: Phase I study of oral ZD1839 (Iressa), a novel inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase (EGFR-TK): Evidence of good tolerability and activity. *Clin Cancer Res* 5:3749s-3750s, 1999 (suppl) (abstr 99).
49. Baselga J, Norton L, Masui H, et al: Antitumor effects of doxorubicin in combination with anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies. *J Natl Cancer Inst* 85:1327-1333, 1993.
50. Fan Z, Baselga J, Masui H, et al: Antitumor effect of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies plus cis-diamminedichloroplatinum on well established A431 cell xenografts. *Cancer Res* 53:4637-4642, 1993.
51. Sirotiak FM, Miller VA, Scher HI, et al: Efficacy of cytotoxic agents against human tumor xenografts is markedly enhanced by co-administration of ZD1839 (Iressa), an inhibitor of EGF receptor tyrosine kinase. *Clin Cancer Res* 5:3749s, 1999 (suppl) (abstr 98).

52. Ezekiel MP, Bonner JA, Robert F, et al: Phase I trial of chimerized anti-epidermal growth factor receptor (anti-EGFr) antibody in combination with either once-daily or twice-daily irradiation. for locally advanced head and neck malignancies. *Proc Am Soc Clin Oncol* 18:388a, 1999 (abstr 1501).
53. Mendelsohn J, Shin DM, Donato N, et al: A phase I study of chimerized anti-epidermal growth factor receptor (EGFr) monoclonal antibody, C225, in combination with cisplatin (CDDP) in patients (PTS) with recurrent head and neck squamous cell carcinoma (SCC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 18:389a, 1999 (abstr 1502).
54. Moasser MM, Sepp-Lorenzino L, Kohl NE, et al: Farnesyl transferase inhibitors cause enhanced mitotic sensitivity to Taxol and epothilones. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:1369-1374, 1998.
55. Giavazzi R, Garafalo A, Ferri C, et al: Batimastat, a synthetic inhibitor of matrix metalloproteinases, potentiates the antitumor activity of cisplatin in ovarian carcinoma xenografts. *Clin Cancer Res* 4:985-992, 1998.
56. Chambers AF, Matrisian LM: Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *J Natl Cancer Inst* 89:1260-1270, 1997.
57. Fujiwara T, Grimm EA, Mukhopadhyay T, et al: Induction of chemosensitivity in human lung cancer cells in vivo by adenovirus-mediated transfer of the wild-type p53 gene. *Cancer Res* 54:2287-2291, 1994.
58. Swisher SG, Roth JA, Lawrence DD, et al: Adenoviral-mediated p53 gene transfer in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 16:437a, 1997 (abstr 1565).
59. Swisher SG, Rother JA, Nemunaitis J, et al: Adenovirus-mediated p53 gene transfer in advanced non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 91:763-771, 1999.
60. J. Giannios, E. Cardamakis, P. Ginopoulos, N. Linardos, M. Yiannios, V. Tzigounis. Combined administration of vinorelbine, wtp53cDNA and mitoxantrone treatment induces PCD in chemoresistant cervical carcinoma. *Proc Am Ass Clin Oncol*, vol 39, 1998.
61. Kim DH, Heise C, Magold G, et al: ONYX-015, a selectively replicating adenovirus, has antitumoral activity following IV administration alone and in combination with chemotherapy, *Proc Am Soc Clin Oncol* 16:437a, 1997 (abstr 1564).

62. J. Giannios and P. Ginopoulos. Induction of apoptosis in chemoresistant acute lymphocytic leukemia (ALL) cells by combined administration of PCB6+wtp53 lipofection, G1 blocker taxol and DNA intercalator doxorubicin. *Inter Symp Mol Biol Hematop*, 36/44, 1998.
63. J. Giannios and P. Ginopoulos. Induction of PCD in chemoresistant multiple myeloma by combined administration of PCB6+WTP53 lipofection G1 blocker taxol and DNA intercalator doxorubicin. *Eur Conf Apopt*, pp 163,1998.
64. Motwani M, Delohery TM, Schwartz GK: Sequential dependent enhancement of caspase activation and apoptosis by flavopiridol on paclitaxel-treated human gastric and breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 5:1876-1883, 1999.
65. Schwartz GK, Farsi K, Maslak P, et al: Potentiation of apoptosis by flavopiridol in mitomycin-C-treated gastric and breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 3:1467-1472, 1997.



ISBN 960-7620-17-8



9 789607 620170