



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)

ΤΙΤΛΟΣ ΜΔΕ:

**«Συνδυασμός μετρονομικής χημειοθεραπείας και ανοσοθεραπείας-
θεωρητική και πειραματική προσέγγιση»**

**ΗΛΙΑ ΕΛΕΝΗ
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΠΑΠΠΑΣ ΠΕΡΙΚΛΗΣ**

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)

ΤΙΤΛΟΣ ΜΔΕ:

**«Συνδυασμός μετρονομικής χημειοθεραπείας και ανοσοθεραπείας-
θεωρητική και πειραματική προσέγγιση»**

**ΗΛΙΑ ΕΛΕΝΗ
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΠΑΠΠΑΣ ΠΕΡΙΚΛΗΣ**

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017

«Η έγκριση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος).»

Ονοματεπώνυμο:

Ελένη Ηλία

Τίτλος ΜΔΕ:

**«Συνδυασμός μετρονομικής χημειοθεραπείας και ανοσοθεραπείας-
θεωρητική και πειραματική προσέγγιση»**

Ημερομηνία Παρουσίασης:

23 Φεβρουαρίου 2017

Εξεταστική Επιτροπή:

Περικλής Παππάς (Επιβλέπων)

Μαρία Κωνσταντή

Πατρώνα Βεζυράκη

Η διαδικασία επικυρώνεται από:

Τον διευθυντή του ΠΜΣ ΒΒΕ: Χαράλαμπος Αγγελίδης

Τον Πρόεδρο του Τμήματος: Μηνάς Πασχόπουλος

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον κύριο Περικλή Παππά Αναπληρωτή Καθηγητή Φαρμακολογίας και στις κυρίες Μαρία Κωνσταντή Καθηγήτρια Φαρμακολογίας και Πατρώνα Βεζυράκη Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας, της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, μέλη της τριμελούς επιτροπής. Ειδικά στον κύριο Περικλή Παππά για τις συμβουλές του και την καθοδήγησή του κατά τη διάρκεια της συγγραφής του μεταπτυχιακού διπλώματος ειδίκευσης.

Ιδιαιτέρως θα ήθελα να εκφράσω το σεβασμό μου στη μνήμη του εκλιπόντα Ευάγγελου Μπριασούλη, ο οποίος διετέλεσε Καθηγητής Ογκολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και με συμπεριέλαβε στην εργαστηριακή του ομάδα κατά της διάρκεια της εκπόνησης της προπτυχιακής μου εργασίας, ως φοιτήτρια του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Υπήρξε άριστος δάσκαλος της Ογκολογίας ειδικά, αλλά και της επιστημονικής έρευνας γενικότερα.

Ευχαριστώ επίσης την οικογένειά μου και τους φίλους μου, που με στηρίζουν πρακτικά και ψυχολογικά και μου δίνουν δύναμη όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος θα ήθελα να αφιερώσω αυτό το μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης σε όλους τους ανθρώπους, που νόσησαν από την ασθένεια του καρκίνου, πάλεψαν, νίκησαν ή ηττήθηκαν.

Ιωάννινα, Φεβρουάριος 2017

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο καρκίνος παραμένει μέχρι σήμερα, η δεύτερη συχνότερη αιτία θανάτου στο Δυτικό κόσμο (1), παρόλη την πρόοδο τόσο στις κλασσικές θεραπευτικές προσεγγίσεις, που χρησιμοποιούνται σε κλινικό επίπεδο, όσο και στις γνώσεις που αποκτώνται στις επιστήμες της Βιολογίας και της Ογκολογίας. Τα θεραπευτικά σχήματα, τα οποία χορηγούνται, έχουν βελτιώσει την επιβίωση κυρίως στις αιματολογικές κακοήθειες, αλλά για τους συμπαγείς μεταστατικούς όγκους, τα αποτελέσματα είναι λιγότερο ενθαρρυντικά (2). Οπότε η εξέλιξη των ήδη υπάρχοντων θεραπειών αλλά και η ανάπτυξη εναλλακτικών μορφών κρίνεται επιτακτική.

Εδώ και μισό αιώνα περίπου, τα χημειοθεραπευτικά χρησιμοποιούνται με τον ίδιο σχεδόν τρόπο με τον οποίο χορηγήθηκαν για πρώτη φορά, δηλαδή σε υψηλές κυτταροτοξικές δόσεις, με σκοπό τη θανάτωση όσο το δυνατόν περισσότερων καρκινικών κυττάρων (συμβατική χημειοθεραπεία) (2). Παρόλη την αρχική ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία αυτή, πολύ συχνά παρουσιάζεται αντίσταση στα φάρμακα, με αποτέλεσμα την ανάκαμψη του όγκου ακόμα και την προώθηση της μετάστασης. Η μετάσταση αποτελεί και τον κύριο λόγο πρόκλησης θανάτου στους ασθενείς με νεοπλασματικές ασθένειες. Σημαντικό είναι και το γεγονός της εμφάνισης υψηλής τοξικότητας της συμβατικής χημειοθεραπείας, σχεδόν σε όλα τα συστήματα του οργανισμού, που δυσχεραίνει την ποιότητα ζωής των ασθενών.

Στον αντίποδα της συμβατικής χημειοθεραπείας έρχεται η Μετρονομική χημειοθεραπεία, η οποία κερδίζει έδαφος τα τελευταία δεκαπέντε χρόνια, κυρίως στους μεταστατικούς καρκίνους με κακή πρόγνωση επιβίωσης (3). Πρωτοαναφέρθηκε ως μία αντιαγγειογενετική θεραπεία χορήγησης κυτταροτοξικών φαρμάκων σε χαμηλές και συνεχόμενες δόσεις, άρα και με μειωμένη τοξικότητα. Πλέον αποδεικνύεται όλο και περισσότερο η δράση της τόσο στα ίδια τα καρκινικά κύτταρα όσο και στο ανοσοποιητικό σύστημα, ενώ μπορεί να συνδυαστεί και λόγω της χαμηλής της τοξικότητας και με άλλες θεραπείες, ιδίως στη φάση της συντήρησης.

Παράλληλα η ανοσοθεραπεία έχει εμφανιστεί, ως μία ελπιδοφόρα θεραπευτική επιλογή, βασισμένη στη θεωρία ότι το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ικανό να αναγνωρίσει και να καταστρέψει τα καρκινικά κύτταρα. Ωστόσο, τα αποτελέσματα δεν ήταν τα αναμενόμενα, γεγονός που υποδηλώνει μηχανισμούς καταστολής του ανοσοποιητικού στη νόσο του καρκίνου, σηματοδοτικά μονοπάτια, που έχουν αναγνωρισθεί τα τελευταία χρόνια (4). Ο συνδυασμός Μετρονομικής

χημειοθεραπείας και ανοσοθεραπείας, έχει δείξει ενθαρρυντικά στοιχεία σε προκλινικό και κλινικό επίπεδο, με τη Μετρονομική εκτός των άλλων, να ενεργοποιεί και να ευεργετεί το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	5
A. Ιστορική αναδρομή	6
B. Η νόσος του καρκίνου	11
1. Μια Συλλογή Συγγενών Νόσων.....	11
2. «Οδηγοί» Του Καρκίνου.....	15
3. Διήθηση και Μετάσταση Του Καρκίνου	17
4. Αγγειογένεση.....	19
5. Το μικροπεριβάλλον του όγκου	23
6. Αντινεοπλασματικά φάρμακα	25
7. Καρκίνος και ανοσοποιητικό σύστημα	31
II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	34
A. Μετρονομική χημειοθεραπεία	35
1. Αντιαγγειογενετική δράση της Μετρονομικής θεραπείας	39
2. Μετρονομική χημειοθεραπεία και απευθείας επίδραση στα καρκινικά κύτταρα	40
3. Μετρονομική χημειοθεραπεία και ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων...	41
4. Μετρονομική χημειοθεραπεία και λήθαργος του όγκου	42
5. Μετρονομική χημειοθεραπεία ως θεραπεία συντήρησης.....	43
6. Μετρονομική χημειοθεραπεία και μεταστατικοί καρκίνοι	44
7. Μετρονομική χημειοθεραπεία και ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος	47
B. Ανοσοθεραπεία	54
1. Τύποι καρκινικής ανοσοθεραπείας	54
2. Σημεία ανοσιακού ελέγχου (Immune checkpoints)	60
3. Το CTLA-4 ως ανοσιακό σημείο ελέγχου	61
4. Το PD-1/PD-L1 ως ανοσιακό σημείο ελέγχου.....	62
5. Η έκφραση του PD-L 1 ως βιοδείκτης.....	66
6. Συνδυασμένη ανοσοθεραπεία	67
7. Μελλοντικές κατευθύνσεις	67
Γ. Συνδυασμός Μετρονομική χημειοθεραπείας - ανοσοθεραπείας. <i>Πειραματικά και προκλινικά δεδομένα</i>	69
1. Πειραματικά Δεδομένα	69

2. Προκλινικά δεδομένα.....	71
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	76
ABSTRACT	77
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	78
Βιβλιογραφία	80

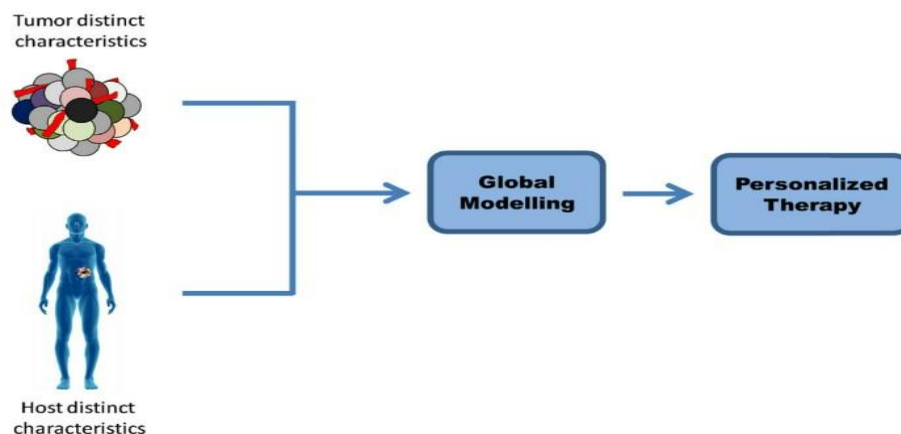
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Ιστορική αναδρομή

Η Ογκολογία την τελευταία δεκαετία, έχει επωφεληθεί από ένα όλο και αυξανόμενο αριθμό επαναστατικών καινοτομιών. Στοχεύουσες θεραπείες, βιοθεραπείες, και πιο πρόσφατα η ανοσοθεραπεία, όλες συμβάλλουν στην αύξηση του αριθμού των θεραπευτικών επιλογών για τους ασθενείς με καρκίνο (2). Κατά συνέπεια, έχουν επιτευχθεί σημαντικές βελτιώσεις και στις κλινικές εκβάσεις για μερικά νεοπλάσματα με άσχημη πρόγνωση, όπως το καρκίνωμα του πνεύμονα ή το μελάνωμα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι σύγχρονες αυτές θεραπείες δεν αποκλείουν τη χρήση κυτταροτοξικών παραγόντων, οι οποίοι ως επί το πλείστον χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό. Επίσης η χορήγηση χημειοθεραπευτικών εξακολουθεί να βασίζεται στη μέγιστη ανεκτή δόση του φαρμάκου (MTD), ένα πρότυπο που κληρονομήθηκε από θεωρίες σχεδόν μισού αιώνα πριν (2). Εναλλακτικά δοσολογικά σχήματα, όπως τα μετρονομικά σχήματα, με βάση την επαναλαμβανόμενη και τακτική χορήγηση χαμηλών δόσεων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, καθώς και η προσαρμοστική θεραπεία (διαμόρφωση της δόσης και της συχνότητας χορήγησης κυτταροτοξικών, για τον έλεγχο της εξέλιξης της νόσου και όχι για την πλήρη εξάλειψη της με οποιοδήποτε κόστος), έχουν αναδειχθεί ως πιθανές στρατηγικές για να βελτιώσουν τα ποσοστά ανταπόκρισης, μειώνοντας παράλληλα τις τοξικότητες.

Οι πρόσφατες αλλαγές στον τρόπο που αντιλαμβανόμαστε τη βιολογία και την εξέλιξη του καρκίνου, τη μεταστατική διασπορά και την οικολογία του όγκου, παράλληλα με τις εξελίξεις στον τομέα της ανοσοθεραπείας, έχουν ενισχύσει σημαντικά το ενδιαφέρον για αυτές τις εναλλακτικές προσεγγίσεις.



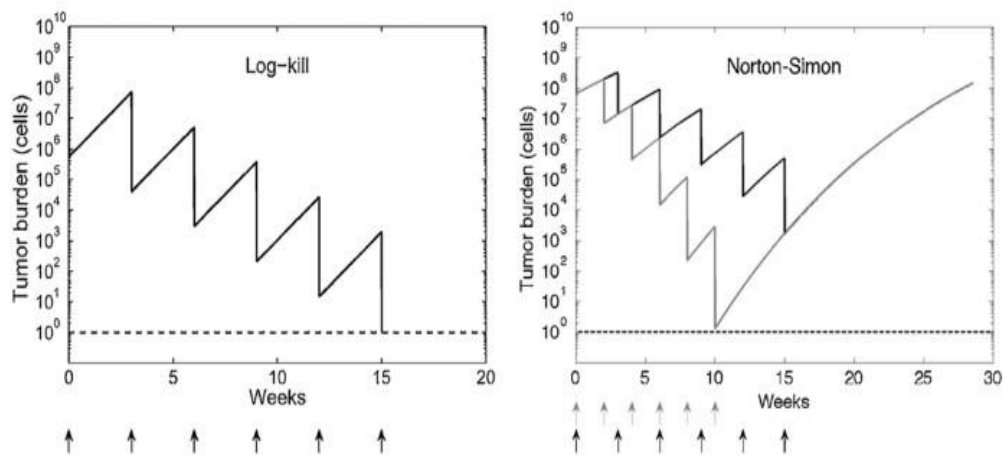
Εικόνα 1. Εξατομικευμένη Θεραπεία του καρκίνου. (2)

Οι καινοτόμες τεχνολογίες έχουν αλλάξει δραματικά τη θεραπεία του καρκίνου. Από τις βάνουσσες χειρουργικές επεμβάσεις για αιώνες, στην εισαγωγή της ακτινοθεραπείας στη δεκαετία του 1930 (5) και αυτή της χημειοθεραπείας στη δεκαετία του 1950, μπορούμε τώρα να οραματιζόμαστε την ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών για τους ασθενείς με καρκίνο, χάρη στις προόδους στη βιολογία, στη χημεία, στη φυσική, στα μαθηματικά και στην τεχνολογία.

Οι αναστολείς σημείων-ελέγχου (checkpoints) του ανοσοποιητικού, τα αντι-αγγειογόνα και οι στοχεύουσες θεραπείες έχουν ήδη εισέλθει στην κλινική με διάφορα επίπεδα επιτυχίας, ενώ οι πρωτοποριακές τεχνολογίες στην απεικόνιση και η PK/PD μοντελοποίηση βοηθούν τους κλινικούς γιατρούς στη λήψη των αποφάσεων τους σε καθημερινή βάση (2). Ωστόσο, η χημειοθεραπεία συνεχίζει να χορηγείται σήμερα σχεδόν με τον ίδιο τρόπο που χορηγούνταν πριν από πενήντα χρόνια.

Πενήντα χρόνια πριν, οι Skipper, Schabel και Wilcox ήταν οι πρώτοι (6), που εισήγαγαν θεωρητικές έννοιες για το βέλτιστο σχεδιασμό της χημειοθεραπείας. Βασιζόμενοι σε πειραματικές μελέτες που αφορούσαν τα L1210 λευχαιμικά κύτταρα - τα οποία παρουσιάζουν εκθετική αύξηση όταν αφεθούν χωρίς θεραπεία-, εισήγαγαν και απέδειξαν την log-kill επίπτωση αρκετών κυτταροτοξικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων της 6-μερκαπτοπουρίνης, της 5-φθοροουρακίλης και της βινβλαστίνης (6). Αυτή η αρχή, που βασίζεται σε μια αναλογία του νόμου της δράσεως των μαζών των κινητικών αντιδράσεων της χημείας, δηλώνει ότι η έκθεση σε μια δεδομένη ποσότητα φαρμάκου, σκοτώνει ένα σταθερό κλάσμα του πληθυσμού των καρκινικών κυττάρων, ως εκ τούτου μειώνει μια σταθερή ποσότητα σε λογαριθμική κλίμακα. Για παράδειγμα, εάν ένα φάρμακο έχει ένα log-kill αποτέλεσμα, τότε θα μειώσει έναν πληθυσμό 10^6 κυττάρων σε 10^5 κύτταρα και έναν πληθυσμό κυττάρων 10^2 σε 10^1 κύτταρα. Περαιτέρω, με βάση την πειραματική τους εργασία, στην οποία κατέδειξαν ότι η παρουσία ελάχιστης ποσότητας λευχαιμικών κυττάρων ήταν επαρκής για να οδηγήσει στο θάνατο τον ξενιστή, υποστήριξαν ότι ο στόχος της θεραπείας θα πρέπει να είναι η επίτευξη της πλήρους θεραπείας της νόσου, δηλαδή η εξάλειψη όλων των κακοήθων κυττάρων. Ωστόσο, όταν αυτή η άποψη εφαρμόστηκε στην επικουρική συστηματική θεραπεία μικρομεταστάσεων (για τον καρκίνο του μαστού, για παράδειγμα), δεν οδήγησε στα αναμενόμενα αποτελέσματα (7). Δύο σημαντικές παρατηρήσεις μπορούν να γίνουν στο έργο των Skipper et al. : 1) θεωρούσαν τα καρκινικά κύτταρα ένα ομοιογενώς ευαίσθητο πληθυσμό (δηλαδή καμία αντίσταση δε λαμβάνεται υπόψη) και 2) το πειραματικό σύστημα με το οποίο ασχολήθηκαν, περιορίστηκε σε μία μόνο λευχαιμική κυτταρική γραμμή και τα συμπεράσματά τους δε θα μπορούσαν να επεκταθούν σε συμπαγείς όγκους.

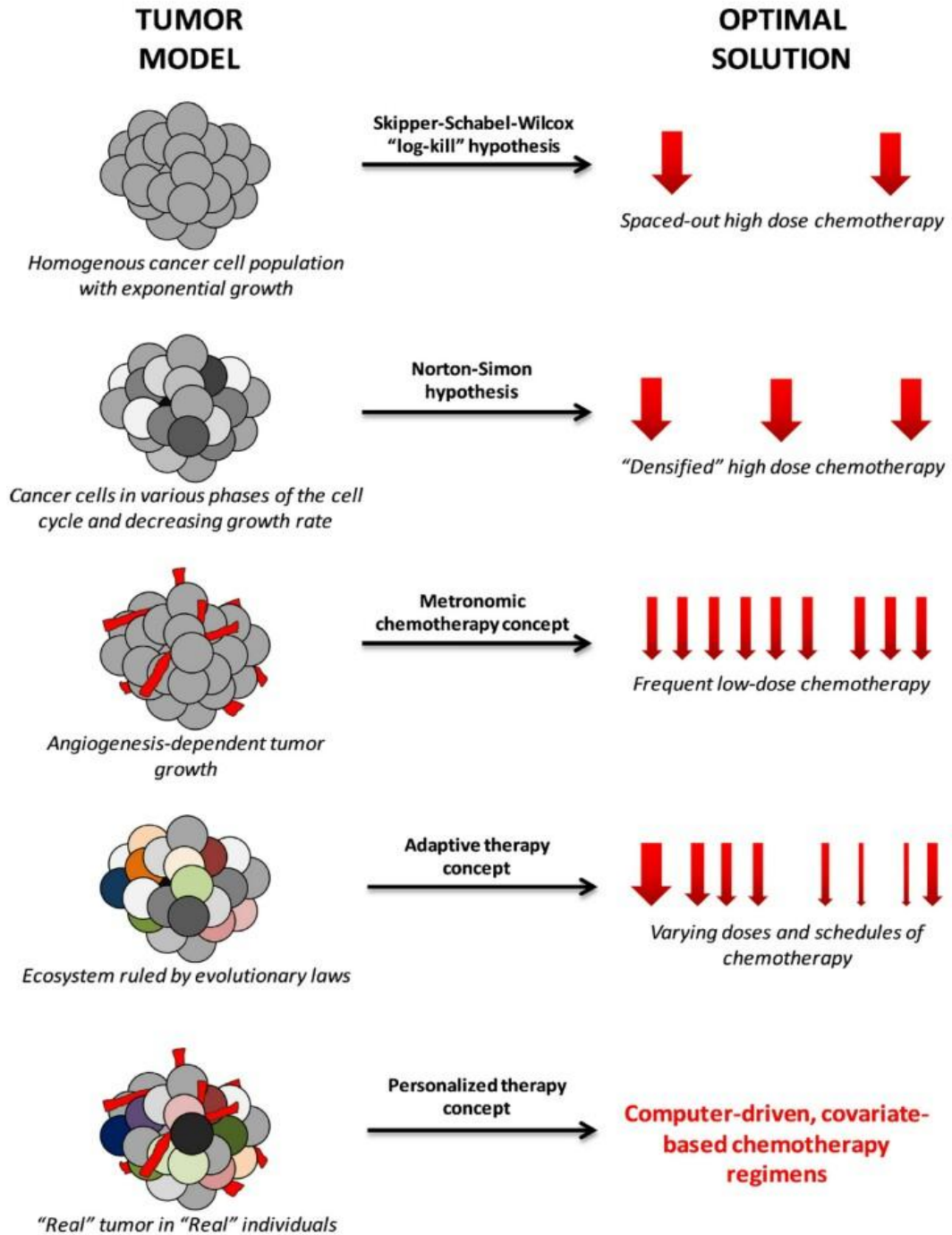
Στη δεκαετία του 1970, οι Norton και Simon (8) επανεξέτασαν τη log-kill υπόθεση των Skipper-Schabel-Wilcox, προκειμένου να την επεκτείνουν σε αυξανόμενους όγκους με μη σταθερό ειδικό ρυθμό ανάπτυξης. Πρότειναν ότι, αφού η χημειοθεραπεία βασίζεται κυρίως σε αντι-μιτωτικούς παράγοντες, θα πρέπει να είναι ενεργή μόνο όταν τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται, δηλαδή ακριβώς αυτά που συμβάλλουν στην αύξηση του όγκου. Επιπλέον, η τρέχουσα άποψη της επίδρασης της χημειοθεραπείας (log-kill) ήταν σε αντίφαση με κλινικές παρατηρήσεις (7) όπως: α) η επίδραση σε μικρούς όγκους, στην επικουρική θεραπεία, δεν ήταν τόσο έντονη όπως αναμενόταν και β) παρατηρήθηκε μειωμένη ευαισθησία στην θεραπεία ακόμα και σε πολύ μεγάλους όγκους. Αντί ενός "killing" όρου ανάλογο με τον όγκο του όγκου, πρότειναν έναν "killing" όρο ανάλογο με το ρυθμό ανάπτυξης του όγκου.



Διάγραμμα 1. Log-kill και Norton-Simon μοντέλο κυτταρικού θανάτου με κυταροστατικά φάρμακα. (2)

Κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης της χημειοθεραπείας, ο απώτερος στόχος της θεραπείας ήταν πάντα η πλήρη ίαση από την ασθένεια. Εδώ και πολλά χρόνια, υπάρχει μια αυξανόμενη τάση προς μια παραδειγματική στροφή στην κλινική ογκολογία: δεδομένης της αποτυχίας να θεραπεύσει ασθενείς που χρησιμοποιούν συμβατικές προσεγγίσεις, οι ερευνητές πρότειναν να αλλάξει ο στόχος της θεραπείας, από την πλήρη εξάλειψη του όγκου στη μακροπρόθεσμη διαχείριση της νόσου. Αυτό υποδηλώνει ότι, αντί της αναμονής για «μαγικές σφαίρες» που θα παρέχουν απόλυτη και ολοκληρωμένη λύση, θα μπορούσε κανείς να εξετάσει τη βελτιστοποίηση των ήδη χρησιμοποιούμενων θεραπευτικών εργαλείων. Προκειμένου να βελτιωθούν οι τρέχουσες θεραπείες του καρκίνου, ιστορικές έννοιες πρέπει να αναθεωρηθούν, ώστε να ληφθεί καλύτερα υπόψη η πολυπλοκότητα της νόσου, συμπεριλαμβανομένων των επιπτώσεων του μικροπεριβάλλοντος του όγκου (π.χ.

αγγειακό σύστημα και το ανοσοποιητικό σύστημα) και της κλωνικής ετερογένειας, σχετικά με την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας σε διάφορα πρωτόκολλα.



Εικόνα 2. Θεραπευτική προσέγγιση ανάλογα με τον τύπο του όγκου. (2)

Ο ρόλος του ανοσοποιητικού συστήματος στη βιολογία του καρκίνου και την ανταπόκριση στη θεραπεία αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο και έχει σημαντικές θεραπευτικές επιπτώσεις. Οι γενετικές και κυτταρικές μεταβολές, που καθορίζουν τον καρκίνο, παρέχουν στο ανοσοποιητικό σύστημα τα μέσα για να παράγουν T κυτταρικές αποκρίσεις, που αναγνωρίζουν και σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα (4). Η ανοσοθεραπεία αποτελεί τύπο θεραπείας που έχει στόχο, την τροποποίηση της δραστηριότητας του ανοσοποιητικού συστήματος και την πρόκληση αλλαγών στην ανοσολογική απάντηση απέναντι στο νεόπλασμα.

Ωστόσο, η εξάλειψη του όγκου από τα T κύτταρα πρέπει να εξισορροπηθεί με την αναγνώριση και την πρόληψη της αυτοανοσίας. Ο προσδιορισμός των ανασταλτικών σημάτων για τα T κύτταρα, που προκαλείται από τα καρκινικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένου του PD-L1 (4), έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη μιας νέας κατηγορίας ανοσοθεραπείας, που παρεμποδίζει ειδικά την αναστολή των εκτελεστικών ανοσοποιητικών κυττάρων, μέσω της αναζωογόνησης και ενδεχομένως της επέκτασης της προϋπάρχουσας αντικαρκινικής ανοσοαπόκρισης. Η παρουσία των παραγόντων καταστολής στο μικροπεριβάλλον του όγκου μπορεί να εξηγήσει την περιορισμένη αποτελεσματικότητα, που παρατηρήθηκε με προηγούμενου τύπου ανοσοθεραπείες και γιατί αυτές οι θεραπείες μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικές, σε συνδυασμό με παράγοντες, που στοχεύουν άλλα στάδια του κύκλου. Πρόσφατα κλινικά δεδομένα επιβεβαιώνουν ότι η ανοσοθεραπεία του καρκίνου είναι πιθανό να γίνει ένα βασικό μέρος της κλινικής διαχείρισης του καρκίνου και πολλά καινοτόμα φάρμακα θα εγκριθούν στο μέλλον.

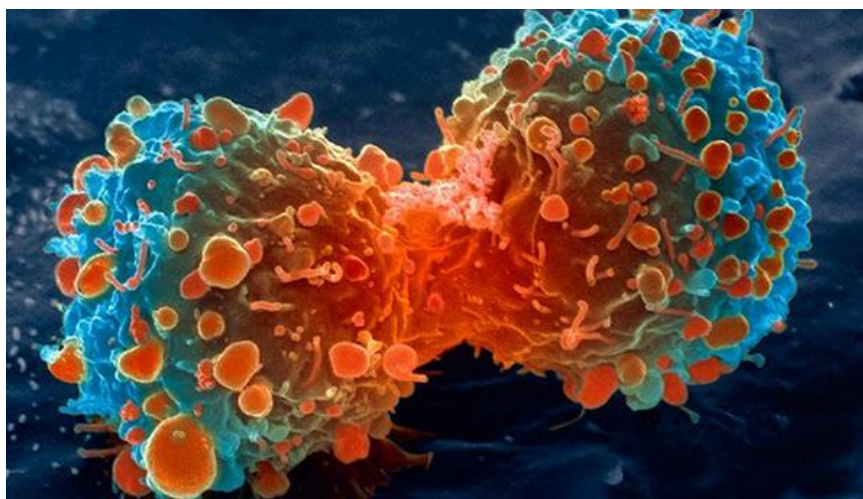
Επίσης, αρκετές προκλινικές και κλινικές μελέτες (3) έχουν δείξει ότι η αλλαγή του χρονοδιαγράμματος χορήγησης από συμβατικό σε μετρονομικό πρωτόκολλο χημειοθεραπείας έχει σημαντικές επιπτώσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα, μεταβαίνοντας από την ανοσοκαταστολή στην ανοσοδιέγερση.

B. Η νόσος του καρκίνου

1. Μια Συλλογή Συγγενών Νόσων

Ο καρκίνος, ως νόσος είναι γνωστός εδώ και χιλιάδες χρόνια, καθώς υπάρχουν σαφείς περιγραφές του σε αρχαία Αιγυπτιακά κείμενα. Είναι μία από τις κύριες αιτίες θανάτου παγκοσμίως, αντιπροσωπεύοντας 7,4 εκατομμύρια θανάτους (~13% του συνόλου των θανάτων) για το 2012 (1). Οι θάνατοι από καρκίνο αναμένεται να συνεχίσουν να αυξάνονται, με κατ'εκτίμηση 12 εκατομμύρια θανάτους το 2030. Οι συνηθέστεροι τύποι καρκίνου διαφέρουν μεταξύ ανδρών και γυναικών. Περισσότερο από το 30% των θανάτων που οφείλονται στον καρκίνο θα μπορούσε να προληφθεί με την τροποποίηση ή την αποφυγή βασικών παραγόντων κινδύνου, όπως το κάπνισμα, η παχυσαρκία, η χαμηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, η μειωμένη σωματική δραστηριότητα, η χρήση αλκοόλ, η ρύπανση από τα ορυκτά καύσιμα, κ.α (1).

Καρκίνος είναι το όνομα που δίνεται σε ένα σύνολο σχετικών μεταξύ τους ασθενειών. Σε όλους τους τύπους καρκίνου, μερικά από τα κύτταρα του σώματος αρχίζουν να διαιρούνται χωρίς διακοπή και να εξαπλώνονται στους περιβάλλοντες ιστούς (9). Ο καρκίνος μπορεί να ξεκινήσει σχεδόν οπουδήποτε στο ανθρώπινο σώμα, το οποίο αποτελείται από τρισεκατομμύρια κύτταρα. Κανονικά, τα ανθρώπινα κύτταρα αναπτύσσονται και διαιρούνται για να σχηματίσουν νέα κύτταρα, ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού. Όταν τα κύτταρα γεράσουν ή καταστραφούν, πεθαίνουν και νέα κύτταρα παίρνουν τη θέση τους.



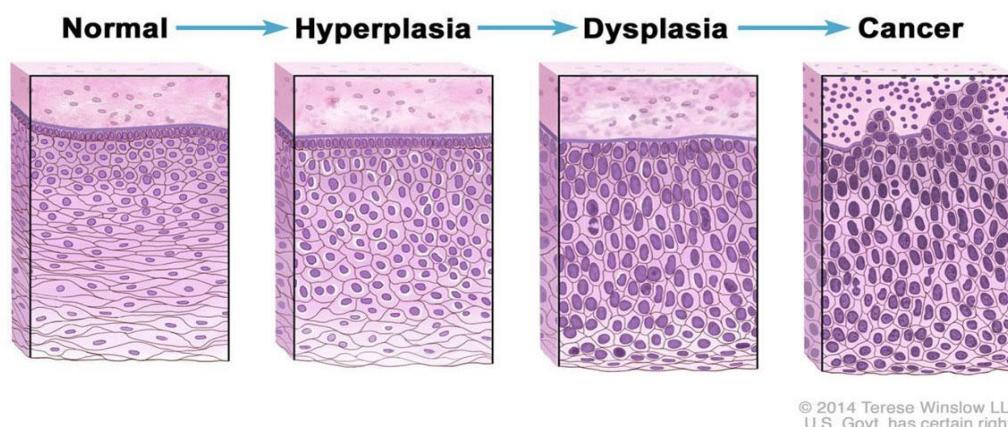
Εικόνα 3. Διαιρούμενο καρκινικό κύτταρο του πνεύμονα (9).

Στην ασθένεια του καρκίνου, ωστόσο, αυτή η μεθοδική διαδικασία καταρρέει (9). Καθώς τα κύτταρα γίνονται όλο και πιο ανώμαλα, παλιά ή κατεστραμμένα

κύτταρα επιβιώνουν ενώ πρέπει να πεθάνουν, και νέα κύτταρα σχηματίζονται όταν δε χρειάζονται. Αυτά τα επιπλέον κύτταρα αποκτούν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται χωρίς διακοπή, οδηγώντας το πιθανότερο σε αυξήσεις, που ονομάζονται όγκοι. Πολλοί καρκίνοι σχηματίζουν συμπαγείς όγκους, οι οποίοι είναι μάζες ιστού (9). Οι καρκίνοι του αίματος, όπως είναι οι λευχαιμίες, γενικά δεν σχηματίζουν συμπαγείς όγκους.

Οι καρκινικοί όγκοι είναι κακοήθεις, που σημαίνει ότι μπορεί να εξαπλωθούν και να εισβάλουν στους παρακείμενους ιστούς (διαδικασία διήθησης). Επιπλέον, καθώς οι όγκοι αναπτύσσονται, μερικά καρκινικά κύτταρα ίσως καταφέρουν να αποσπαστούν και να ταξιδέψουν σε απομακρυσμένα σημεία του σώματος μέσω του αίματος ή του λεμφικού συστήματος και να σχηματίσουν νέους όγκους μακριά από τον αρχικό όγκο (διαδικασία μετάστασης) (9). Σε αντίθεση με τους κακοήθεις όγκους, οι καλοήθεις όγκοι δεν εξαπλώνονται και δεν εισβάλουν σε κοντινούς ιστούς. Οι καλοήθεις όγκοι μπορεί ωστόσο μερικές φορές να είναι αρκετά μεγάλοι. Όταν αφαιρούνται, συνήθως δεν αυξάνονται ξανά, ενώ οι κακοήθεις όγκοι μερικές φορές ανακάμπτουν.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, τα φυσιολογικά κύτταρα κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες μπορούν να μετατραπούν σε καρκινικά. Πριν όμως σχηματιστούν καρκινικά κύτταρα στους ιστούς του σώματος, τα κύτταρα περνούν από μη φυσιολογικές μεταβολές, που ονομάζονται υπερπλασία και δυσπλασία. Στην υπερπλασία, υπάρχει μια αύξηση στον αριθμό των κυττάρων σε ένα όργανο ή σε έναν ιστό, τα οποία εμφανίζονται φυσιολογικά κάτω από ένα μικροσκόπιο (9). Στη δυσπλασία, τα κύτταρα φαίνονται ανώμαλα κάτω από ένα μικροσκόπιο, αλλά δεν είναι ακόμα καρκινικά. Η υπερπλασία και η δυσπλασία είναι πιθανόν να μην οδηγήσουν τελικά σε καρκίνο.



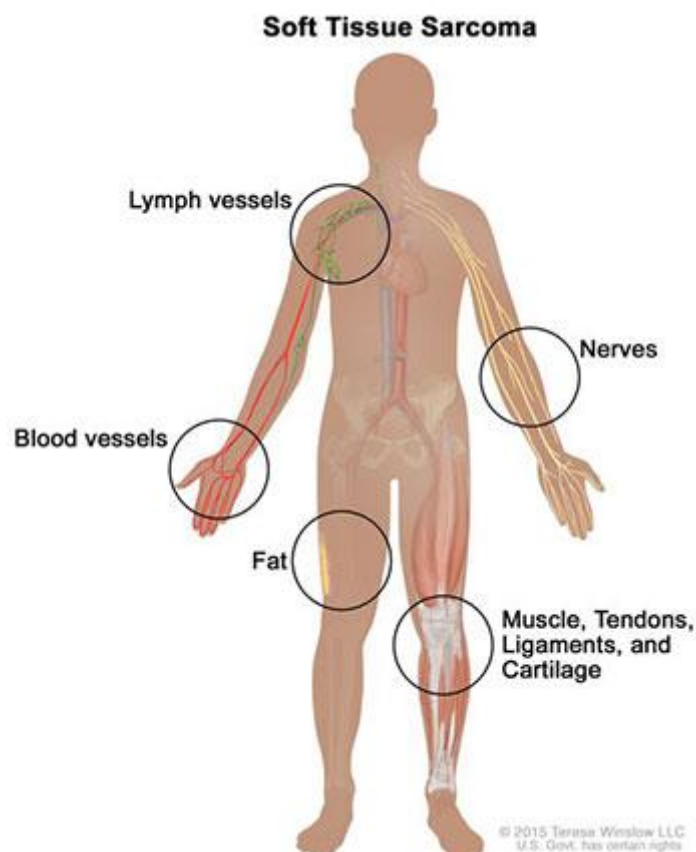
Εικόνα 4. Από το φυσιολογικό ιστό στην υπερπλασία, στη διπλασία και τελικά στον καρκίνο.

Τύποι Καρκίνου

Υπάρχουν περισσότερα από 100 είδη καρκίνου (9). Οι τύποι του καρκίνου συνήθως ονομάζονται από τα όργανα ή τους ιστούς, όπου σχηματίζονται οι όγκοι. Οι καρκίνοι μπορούν επίσης να περιγραφούν από τον τύπο του κυττάρου που τους προκαλεί όπως παραδείγματος χάριν ένα επιθηλιακό κύτταρο.

➤ Καρκίνωμα: Τα καρκινώματα είναι ο πιο κοινός τύπος καρκίνου. Σχηματίζονται από επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία είναι κύτταρα που καλύπτουν τις εσωτερικές και τις εξωτερικές επιφάνειες του σώματος. Υπάρχουν πολλοί τύποι επιθηλιακών κυττάρων οπότε και διάφοροι τύποι καρκίνου όπως το αδеноκαρκίνωμα, το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα κ.α

➤ Σάρκωμα: Τα σαρκώματα είναι καρκίνοι που σχηματίζονται στα οστά και στους μαλακούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των μυών, του λίπους, των αιμοφόρων αγγείων, των λεμφαγγείων, και του ινώδη ιστού (όπως τένοντες και σύνδεσμοι). Το οστεοσάρκωμα είναι η πιο κοινή μορφή καρκίνου του οστού.



Εικόνα 5. Είδη σαρκώματος στο ανθρώπινο σώμα.

➤ Λευχαιμία: Οι καρκίνοι που ξεκινούν στον ιστό σχηματισμού του αίματος, στο μυελό των οστών, ονομάζονται λευχαιμίες. Αυτοί οι καρκίνοι δε σχηματίζουν συμπαγείς όγκους. Αντ' αυτού, μεγάλοι αριθμοί μη φυσιολογικών λευκών αιμοσφαιρίων (κύτταρα λευχαιμίας και λευχαιμικών βλαστικών κυττάρων), συσσωρεύονται στο αίμα και στο μυελό των οστών, παραγκωνίζοντας τα φυσιολογικά κύτταρα του αίματος. Το χαμηλό επίπεδο των φυσιολογικών κυττάρων του αίματος καθιστά πιο δύσκολο για το σώμα να μεταφέρει οξυγόνο στους ιστούς του, να ελέγχει την αιμορραγία, ή να καταπολεμά τις λοιμώξεις. Οι λευχαιμίες ομαδοποιούνται ανάλογα με το πόσο γρήγορα η νόσος χειροτερεύει (οξεία ή χρόνια) και από τον τύπο του κυττάρου του αίματος από τον οποίο ξεκινά ο καρκίνος (λεμφοβλαστική ή μυελοειδής).

➤ Λέμφωμα: Το λέμφωμα είναι καρκίνος που ξεκινά σε λεμφοκύτταρα (T κύτταρα ή B κύτταρα). Στο λέμφωμα, μη φυσιολογικά λεμφοκύτταρα συσσωρεύονται σε λεμφαδένες και λεμφαγγεία, καθώς και σε άλλα όργανα του σώματος. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι λεμφώματος, το Hodgkin και το μη- Hodgkin λέμφωμα.

➤ Πολλαπλό μυέλωμα: Το πολλαπλό μυέλωμα είναι καρκίνος που ξεκινά σε κύτταρα του πλάσματος, έναν άλλο τύπο κυττάρου του ανοσοποιητικού. Τα μη φυσιολογικά κύτταρα του πλάσματος, που ονομάζονται κύτταρα μυελώματος, συσσωρεύονται στο μυελό των οστών και το σχηματίζουν όγκους μέσα σε όλα τα οστά του σώματος. Το πολλαπλό μυέλωμα ονομάζεται και νόσος του Kahler.

➤ Μελάνωμα: Το μελάνωμα είναι καρκίνος που αρχίζει στα κύτταρα που ονομάζονται μελανοκύτταρα, εξειδικευμένα κύτταρα που παράγουν μελανίνη (η χρωστική ουσία που δίνει στο δέρμα το χρώμα του). Τα περισσότερα μελανώματα σχηματίζονται στο δέρμα, άλλα μελανώματα μπορούν επίσης να σχηματιστούν σε ιστούς με χρώμα, όπως το μάτι.

➤ Όγκοι εγκεφάλου και νωτιαίου μυελού: Υπάρχουν διάφοροι τύποι όγκων του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού. Οι όγκοι αυτοί ονομάζονται ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου στο οποίο σχηματίζεται και του μέρους που πρωτοεμφανίστηκε στο κεντρικό νευρικό σύστημα.

2. «Οδηγοί» Του Καρκίνου

Ο κακοήθης μετασχηματισμός είναι μια διαδικασία που περιλαμβάνει γενετικές και επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και το θάνατο των κυττάρων (10). Σε μεταγενέστερα στάδια της ογκογένεσης, επιπρόσθετες μεταβολές ενδέχεται να επάγουν την αγγειογένεση, τη διήθηση σε γειτονικούς ιστούς και τη μετάσταση σε απομακρυσμένα σημεία. Με λίγες εξαιρέσεις, αυτή η πολυπαραγοντική και πολυσταδιακή διαδικασία εξελίσσεται για πολλά χρόνια. Οι εναρκτήριες γονιδιωματικές αλλαγές μπορεί να προκληθούν από εξωτερικούς παράγοντες (καρκινογόνες ουσίες) ή από κληρονομικούς γενετικούς παράγοντες (10). Οι περισσότερες από τις βλάβες που προκαλούνται στο γενετικό υλικό των κυττάρων, το οποίο ως ένα βαθμό είναι προστατευμένο στον πυρήνα, είναι ελάχιστες και επιδιορθώσιμες από ελεγκτικούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης, που διαθέτει το φυσιολογικό κύτταρο. Όταν όμως οι βλάβες είναι εκτεταμένες και μη αναστρέπτές και αφορούν «σημαντικά» γονίδια, αναφερόμαστε στο φαινόμενο της καρκινογένεσης. Πρόκειται για την κυτταρική εξαλλαγή που προωθείται λόγω συσσώρευσης μεταλλαγών στο DNA (10). Ως μεταλλαγή του DNA ονομάζουμε την κάθε μεταβολή της αλληλουχίας των βάσεων ενός συγκεκριμένου μορίου DNA, οι οποίες μπορεί να είναι αυθόρμητες ή επαγόμενες από χημικά μεταλλαξιογόνα και ακτινοβολίες (11).

Οι γενετικές αλλαγές, που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του καρκίνου, τείνουν να επηρεάζουν τρεις βασικούς τύπους γονιδίων: τα πρωτο-ογκογονίδια, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, και τα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA (11). Τα πιο γνωστά γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Οι αλλαγές αυτές μερικές φορές ονομάζονται «οδηγοί» του καρκίνου.

Τα πρωτο-ογκογονίδια είναι αυτά που φυσιολογικά ελέγχουν το πόσο συχνά ένα κύτταρο θα διαιρεθεί και το βαθμό με τον οποίο θα διαφοροποιηθεί. Ωστόσο, όταν αυτά τα γονίδια μεταβάλλονται με συγκεκριμένους τρόπους ή είναι περισσότερο δραστικά από το κανονικό (11), μπορούν να μετατραπούν σε γονίδια που προκαλούν καρκίνο (ή ογκογονίδια). Σήμερα αναγνωρίζονται περισσότερα από 100. Οι επιστήμονες τα έχουν διαχωρίσει σε 5 διαφορετικές τάξεις (12):

- **Αυξητικοί Παράγοντες:** Αυτά τα ογκογονίδια παράγουν ουσίες που διεγείρουν την ανάπτυξη των κυττάρων. Το πιο γνωστό από αυτά ονομάζεται *sis*. Οδηγεί σε υπερπαραγωγή μιας πρωτεΐνης που ονομάζεται Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από αιμοπετάλια (platelet-derived growth factor -PDGF).

- **Υποδοχείς των Αυξητικών Παραγόντων:** Είναι οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται ή απενεργοποιούνται από τους αυξητικούς παράγοντες. Όταν είναι

ενεργοποιημένοι, διεγείρουν την ανάπτυξη των κυττάρων. Συγκεκριμένες μεταλλάξεις αυτών των γονιδίων προκαλούν την δια παντός διέγερσή τους, ενώ σε άλλες περιπτώσεις τα γονίδια απλώς ενισχύονται. Αυτό σημαίνει ότι αντί για τα συνήθη 2 αντίγραφα γονιδίων, παράγονται μερικά ακόμα με αποτέλεσμα την παραγωγή πολλών μορίων υποδοχέων αυξητικών παραγόντων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα κύτταρα να γίνονται ιδιαίτερα επιρρεπή στα αυξητικά σήματα. Τα πιο γνωστά παραδείγματα ενισχυμένων γόνων υποδοχέων αυξητικών παραγόντων είναι τα *erb B* και *erb B-2*. Αυτά είναι γνωστά ως υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor receptor-EGFR) και human epidermal growth factor receptor 2 (HER2). Η ενίσχυση του γονιδίου *HER2* είναι μια σημαντική διαταραχή που απαντάται στο ένα τρίτο των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού.

- Μετατροπείς Σήματος: Αποτελούν την ενδιάμεση οδό μεταξύ του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα και του κυτταρικού πυρήνα, όπου το σήμα γίνεται δεκτό. Όπως και οι υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων, έτσι και αυτοί μπορούν να ενεργοποιηθούν και απενεργοποιηθούν. Δύο γνωστοί μετατροπείς σήματος είναι οι *abl* και *ras*. Το *abl* ενεργοποιείται στη χρόνια μυελογενή λευχαιμία και αποτελεί το στόχο για τα περισσότερα επιτυχή φάρμακα της νόσου (π.χ. Imatinib). Διαταραχές του *ras* βρίσκονται σε πολλές μορφές καρκίνου.

- Μεταγραφικοί Παράγοντες: Πρόκειται για τα τελικά μόρια μιας αλυσίδας που ορίζει τη διαίρεση του κυττάρου. Αυτά τα μόρια δρουν πάνω στο DNA και ελέγχουν το ποια κύτταρα είναι ενεργά στην παραγωγή RNA και πρωτεΐνης. Το πιο γνωστό από αυτά είναι το *myc*. Στον καρκίνο του πνεύμονα, τη λευχαιμία, το λέμφωμα και σε μια μεγάλη ποικιλία νεοπλασιών το *myc* συχνά ενεργοποιείται υπέρμετρα και διεγείρει την κυτταρική διαίρεση.

- Ρυθμιστές του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου: Τα μόρια αυτά εμποδίζουν τα κύτταρα από το να διαπράξουν την προγραμματισμένη αυτοκτονία όταν γίνουν παθολογικά (απόπτωση). Όταν τα γονίδια γίνουν υπερενεργά, τότε εμποδίζεται η διαδικασία της φυσιολογικής απόπτωσης. Αυτό οδηγεί στην υπερβολική ανάπτυξη των παθολογικών κυττάρων, που μπορεί να γίνουν νεοπλασματικά. Το πιο καλά χαρακτηρισμένο γονίδιο είναι το *bcl-2* και συχνά απαντάται σε κύτταρα λεμφώματος.

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι φυσιολογικά γονίδια που καταστέλλουν την κυτταρική διαίρεση, βοηθούν την επιδιόρθωση των λαθών του DNA και καθορίζουν την απόπτωση των κυττάρων (11). Όταν τα ογκοκατασταλτικά γονίδια δε δουλεύουν επαρκώς, τότε τα κύτταρα μπορούν να αναπτυχθούν ανεξέλεγκτα, οδηγώντας στην ανάπτυξη όγκων. Περίπου 30 ογκοκατασταλτικά γονίδια έχουν αναγνωρισθεί (12), όπως τα *p53*, *BRCA1*, *BRCA2*, *APC*, και *RB1*. Σημαντική διαφορά μεταξύ των

ογκογονιδίων και των ογκοκατασταλτικών γονιδίων είναι ότι τα πρώτα προέρχονται από την ενεργοποίηση των πρωτο-ογκογονιδίων, ενώ τα δεύτερα προκαλούν καρκίνο όταν είναι απενεργοποιημένα. Άλλη σημαντική διαφορά είναι (11), ότι ενώ η μεγάλη πλειοψηφία των ογκογονιδίων αναπτύσσεται από μεταλλάξεις φυσιολογικών κυττάρων (πρωτοογκογονιδίων) κατά τη διάρκεια της ζωής ενός ατόμου (επίκτητες μεταλλάξεις), οι διαταραχές των ογκοκατασταλτικών γονιδίων μπορούν να κληρονομηθούν.

Τα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA εμπλέκονται στη διόρθωση του κατεστραμμένου DNA. Κύτταρα με μεταλλάξεις σε αυτά τα γονίδια έχουν την τάση να αναπτύξουν πρόσθετες μεταλλάξεις σε άλλα γονίδια (11). Μαζί, αυτές οι μεταλλάξεις μπορεί να οδηγήσουν τα κύτταρα να εξελιχθούν σε καρκινικά.

Τέλος σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι τα τελευταία 15 χρόνια, υπεύθυνα για την πρόκληση του καρκίνου θεωρούνται και τα micro RNAs (13). Τα miRNAs είναι πολύ σημαντικά τόσο για την ανάπτυξη των βλαστοκυττάρων, όσο και για την παθογένεση του καρκίνου. Έτσι εντατικές έρευνες, που λαμβάνουν χώρα πλέον, αφορούν στο ρυθμιστικό ρόλο τους στην αυτο-ανανέωση, στον πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων. Τα miRNAs δρουν τόσο ως ογκοκατασταλτικά γονίδια, όσο και ως ογκογονίδια. Συγκεκριμένα πρότυπα έκφρασης miRNAs έχουν περιγραφεί σε αρκετούς τύπους καρκίνου (13). Παρά το γεγονός ότι δεν είναι απολύτως σαφές αν η απορρυθμισμένη έκφραση των miRNAs είναι μια αιτία ή ένα αποτέλεσμα της καρκινικής κατάστασης, η σημασία των ρυθμιστικών αυτών μορίων στον καρκίνο είναι πλέον εμφανής. Η πρώτη ένδειξη για εμπλοκή των miRNAs στον καρκίνο του ανθρώπου περιγράφεται στις μελέτες των Calin et al. (14) Κατά την αναζήτηση κάποιου ογκοκατασταλτικού γονιδίου στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (chronic lymphocytic leukemia, CLL)

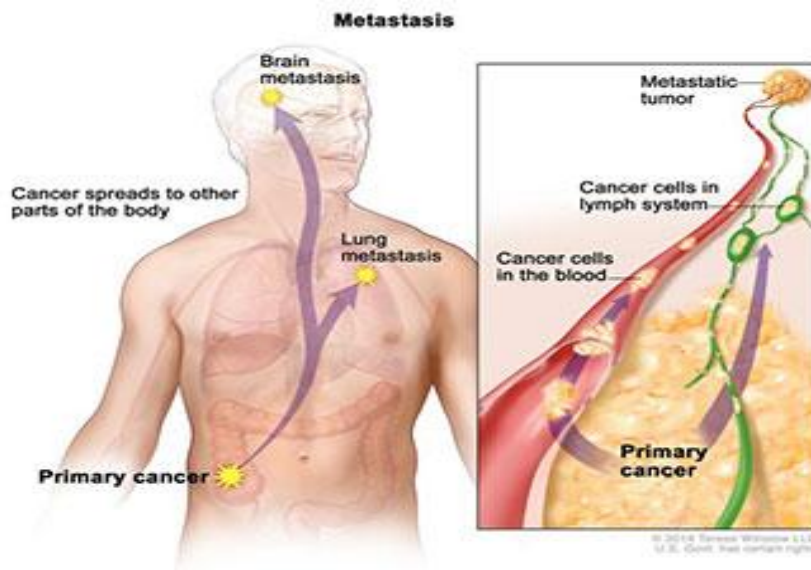
3. Διήθηση και Μετάσταση Του Καρκίνου

Η διήθηση και η μετάσταση στον καρκίνο είναι τα πλέον σοβαρά γεγονότα. Αν έλειπε η διήθηση και η μετάσταση, ο καρκίνος θα ήταν ένα καλόηθες νόσημα (9). Η πορεία της διήθησης και μετάστασης είναι πολυσταδιακή, με διαδοχικά στάδια αλληλεπιδράσεων μεταξύ όγκου και ξενιστή (12). Ο μηχανισμός που εμπλέκεται είναι πολύπλοκος. Ένα κύτταρο ή ομάδα κυττάρων πρέπει να είναι ικανά να αφήσουν τον πρωτοπαθή όγκο και να εισβάλλουν στον παρακείμενο ιστό, να επιβιώσουν σε δεύτερες θέσεις, για όσο χρόνο είναι υπό διακίνηση, να εισέλθουν στην αιματική ή

λεμφική κυκλοφορία, να εγκλωβιστούν στα τριχοειδή του νέου οργάνου, να εξαγγειωθούν από την κυκλοφορία και τελικά να πολλαπλασιαστούν και να σχηματίσουν όγκους στις απομακρυσμένες θέσεις (9). Η ανάπτυξη νέων αγγείων συμβάλλει στην αύξηση της μετάστασης και αποτελεί σημαντικό στόχο για αντιαγγειογενετικές θεραπείες.

Η διήθηση του καρκίνου αποτελεί ουσιαστικά την τοπική επέκταση των κακοηθών όγκων μέσω δύο βασικών μηχανισμών της διήθησης της βασικής μεμβράνης και της διήθησης διαμέσου υποστρώματος (9). Η τοπική διήθηση μπορεί να εμποδίζει τη λειτουργία των εμπλεκόμενων ιστών με τοπική συμπίεση, τοπική καταστροφή ή παρεμπόδιση της φυσιολογικής λειτουργικότητας του οργάνου.

Ο καρκίνος, όταν εξαπλώνεται από το σημείο όπου ξεκίνησε, σε άλλο σημείο του σώματος, ονομάζεται μεταστατικός καρκίνος (9). Η διαδικασία με την οποία τα καρκινικά κύτταρα εξαπλώνονται σε άλλα μέρη του σώματος ονομάζεται μετάσταση. Στη μετάσταση, τα καρκινικά κύτταρα ξεφεύγουν από τον πρωτογενή όγκο, ταξιδεύουν μέσω του αίματος και του λεμφικού συστήματος, και σχηματίζουν νέους όγκους (μεταστατικούς όγκους) σε άλλα μέρη του σώματος (9). Ο μεταστατικός καρκίνος έχει το ίδιο όνομα και τον ίδιο τύπο καρκινικών κυττάρων με πρωτογενή καρκίνο (5). Κάτω από το μικροσκόπιο, τα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα γενικά φαίνονται το ίδιο όπως τα κύτταρα του αρχικού όγκου. Επιπλέον, έχουν συνήθως μερικά κοινά μοριακά χαρακτηριστικά, όπως η παρουσία ειδικών χρωμοσωμικών αλλαγών. Η μετάσταση είναι το πιο σημαντικό και κρίσιμο σημείο της νόσου. Περισσότερο του 90% της νοσηρότητας και θνητότητας του καρκίνου σχετίζεται με την ανάπτυξη δεύτερου όγκου, δηλαδή τη μετάσταση σε άλλο όργανο (5). Ο ασθενής με μεταστατική νόσο συχνά υποκύπτει στη βλάβη που προκαλείται από τη διασπορά του καρκίνου (μετάσταση, μετάσταση από τη μετάσταση) ή λιγότερο συχνά από τις επιπλοκές που συνδέονται με τις κυτταροτοξικές θεραπείες. Η βελτίωση της θεραπείας και της ποιότητας ζωής των ασθενών εξαρτάται πρωταρχικώς από τον έλεγχο και την πρόληψη της διήθησης και μετάστασης.

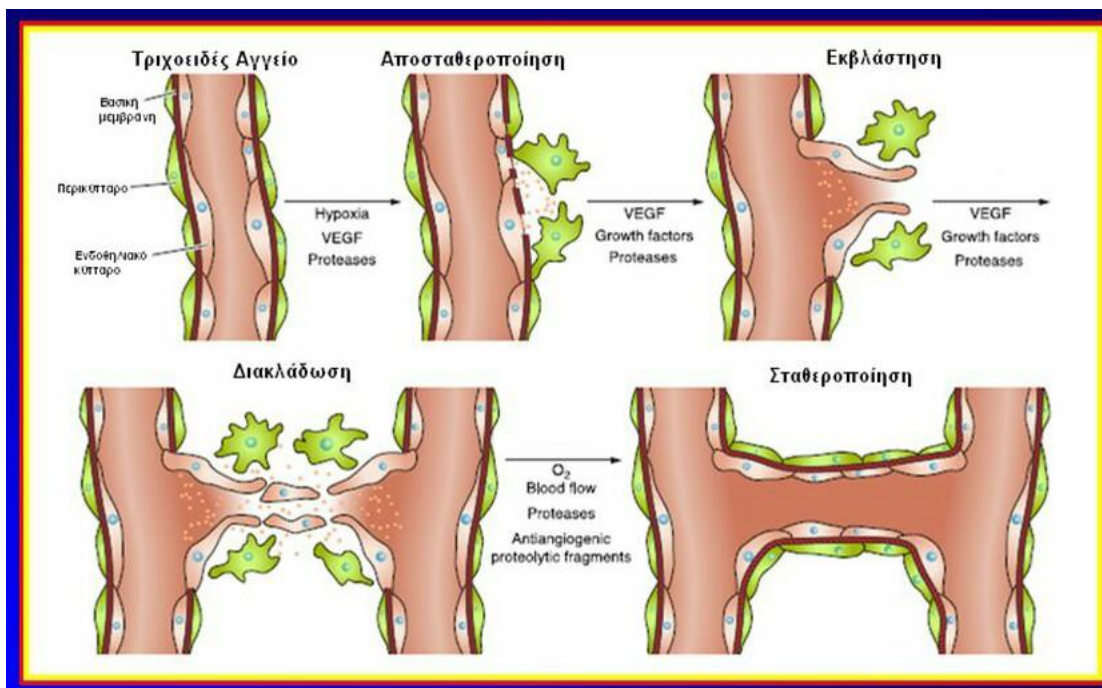


Εικόνα 6. Μετάσταση του καρκίνου μέσω του κυκλοφορικού και του λεμφικού συστήματος.

4. Αγγειογένεση

Το οξυγόνο και τα διατροφικά στοιχεία που παρέχονται δια μέσου της κυκλοφορίας του αίματος είναι απαραίτητα για τη λειτουργικότητα και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων (15). Η μείωση του οξυγόνου οδηγεί στο φαινόμενο της υποξίας, η οποία με τη σειρά της οδηγεί στο θάνατο των καρκινικών κυττάρων.

Ως απάντηση στην υποξία, τα ενδοθηλιακά και άλλα κύτταρα απελευθερώνουν αυξητικούς παράγοντες (3) στο μικροπεριβάλλον του όγκου, όπως τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF), το βασικό αυξητικό παράγοντα των ινοβλαστών (FGFb), τον προερχόμενο από αιμοπετάλια αυξητικό παράγοντα (PDGF) και την ιντερλευκίνη-8 (IL-8), οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για το σχηματισμό αιμοφόρων αγγείων. Αυτοί οι παράγοντες έχουν διαφορετικούς ρόλους στη διαδικασία αυτή, με το VEGF να ξεκινά το σχηματισμό εκβλαστήσεων και το FGFb να παρέχει τα σήματα για τον ενδοθηλιακό κυτταρικό πολλαπλασιασμό και το σχηματισμό του σωλήνα του αγγείου, που ακολουθείται από τη σταθεροποίηση του νέου αγγείου με τη βοήθεια του PDGF. Από την άλλη πλευρά, αντιαγγειογενετικοί παράγοντες, όπως η θρομβοσπονδίνη-1 (TSP-1) (3), διατηρούν την αγγειογενετική διαδικασία υπό έλεγχο. Στο πλαίσιο του καρκίνου, ωστόσο, αρκετοί αγγειογονο-διεγέρτες, όπως οι RAS, c-myc, και ο επιδερμικός υποδοχέας αυξητικού παράγοντα (EGFR), ξεπερνούν την TSP-1 αναστολή της αγγειογένεσης, οδηγώντας σε ανεξέλεγκτη απελευθέρωση σημάτων που προωθούν τη νεοαγγείωση.



Εικόνα 7. Τα στάδια της αγγειογένεσης.

Έτσι, ο σχηματισμός νέων αγγείων (αγγειογένεση) επιτρέπει την τοπική και συστηματική επέκταση της μάζας του όγκου και αναπτύσσεται από πολλαπλά μόρια, που απελευθερώνονται από τα καρκινικά κύτταρα και τα κύτταρα του στρώματος. Άρα, η ανάπτυξη του όγκου εξαρτάται από την αγγειογένεση και είναι η αρχή και το τέλος της μεταστατικής πορείας (3). Υποτίθεται ότι πρωτοπαθείς όγκοι χωρίς αγγείωση μπορούν να παραμείνουν σε νάρκη διατηρώντας το μέγεθός τους σταθερό με την ισορροπία του πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης.

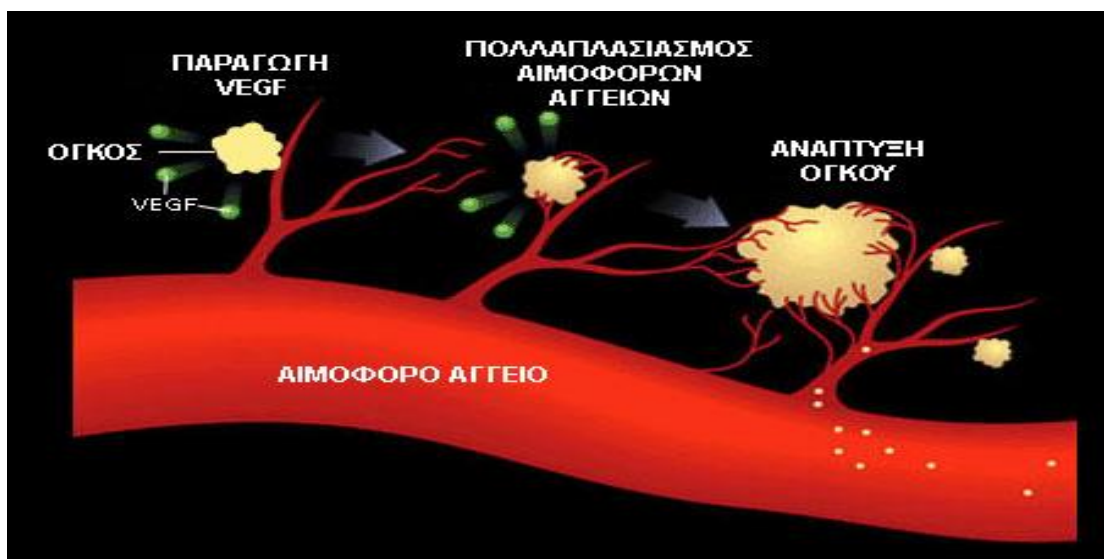
Η αγγειογένεση επιτρέπει τη διήθηση και μετάσταση του καρκίνου και ευνοεί την ανάπτυξη της μετάστασης, ειδάλλως η μετάσταση θα μπορούσε να παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση.

Η πορεία της δημιουργίας νεόπλαστων αγγείων είναι πολύπλοκη **(16)** και είναι λειτουργικά όμοια με τη διήθηση του κυττάρου και μπορεί να θεωρηθεί σαν μια μορφή ρυθμιζόμενης διήθησης-μετάστασης με ανεξάρτητα γεγονότα προσκόλλησης, πρωτεόλυσης και μετανάστευσης που χαρακτηρίζει τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων και την εμφάνιση ενεργοποιημένων ενδοθηλιακών κυττάρων.

Τα διάφορα στάδια της αγγειογένεσης που είναι παρόμοια με τα στάδια της διήθησης και μετάστασης είναι **(16)**:

- ✓ Προσκόλληση
- ✓ Πρωτεόλυση
- ✓ Διείσδυση
- ✓ Κινητικότητα-μετανάστευση

- ✓ Πολλαπλασιασμός
- ✓ Ανάπτυξη
- ✓ Αγγειογενετικοί παράγοντες
- ✓ Πρωτεΐνες του στρώματος
- ✓ Διέγερση των ενδογενών αναστολέων



Εικόνα 8. Αγγειογένεση και μετάσταση

Ειδικά μηνύματα επικοινωνίας έχουν αναγνωριστεί (ειδικά σηματοδοτικά μόρια) στα ενδοθηλιακά κύτταρα που, καθορίζουν την ειδικότητα των οργάνων. Διαφορετική έκφραση παραγόντων σύνδεσης και προσκόλλησης έχει περιγραφεί και τα ενδοθήλια έχουν διαφορετικές ικανότητες σε διαφορετικά όργανα. Πολλοί αυτοκρινείς αυξητικοί παράγοντες του όγκου δρουν ως αγγειογενετικοί παράγοντες, προκαλώντας πλειοτρόπο απάντηση σε παραγωγή ενζύμων, μετανάστευση και πολλαπλασιασμό ενδοθηλιακών κυττάρων (3). Όταν αποκτηθεί η αγγείωση, γίνεται διήθηση των γειτονικών ιστών και τα κύτταρα ακολουθούν την οδό των νεοσχηματισμένων αγγείων.

Η αγγειογένεση μπορεί να ενεργοποιηθεί από παράγοντες που προκαλούν τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι πολύ εξειδικευμένα κύτταρα που διαθέτουν ενδοκρινικές, εξωκρινικές, κυτταροπροσκολλητικές, πηκτικές και μεταφορικές λειτουργίες. Είναι από τα πιο ήρεμα κύτταρα του σώματος (16). Όμως τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα των όγκων έχουν σε σχέση με το ενδοθήλιο των φυσιολογικών ιστών, σημαντικά πιο ταχείς ρυθμούς ανάπτυξης.

Η παραγωγή αγγειογενετικών παραγόντων γίνεται από πολλούς τύπους κυττάρων (16), όπως ινοβλάστες, μακροφάγα, αιμοπετάλια, μαστοκύτταρα, καρκινικά

κύτταρα κ.λπ. Οι σημαντικότεροι αγγειογενετικοί παράγοντες είναι:

- 1) Αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών: όξινος (a-FGF) και βασικός(b-FGF)
- 2) Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF)
- 3) Αυξητικός παράγοντας α και β μετασχηματισμού (TGFa, TGFb)
- 4) Αγγειογενίνη
- 5) Ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγοντας
- 6) Ιντερλευκίνη
- 7) Αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας των ενδοθηλιακών κυττάρων (PD-EGF)
- 8) Πλειοτροπίνη
- 9) Προλιφερίνη
- 10) Φολιστατίνη
- 11) Μεσοκίνη
- 12) Αυξητικός παράγοντας των πολυμορφοπύρηνων
- 13) Προσταγλαδίνη E

Οι περισσότεροι αυξητικοί παράγοντες είναι ισχυροί μιτογόνοι και χημειοτακτικοί παράγοντες, δρουν στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, διεγείρουν την ανάπτυξη και την κινητικότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων, αυξάνουν την έκκριση πρωτεασών και ανιχνεύονται σε ελάχιστες ποσότητες σε φυσιολογικούς ιστούς, ενώ παράγονται σε μεγάλες ποσότητες από τα καρκινικά κύτταρα. Οι διαφορές μεταξύ φυσιολογικής και καρκινικής αγγειογένεσης είναι σημαντικές.

Τα αγγεία του όγκου συγκρινόμενα με τα φυσιολογικά αγγεία φυσιολογικών ιστών έχουν σημαντικές διαφορές (15), όπως διαφορετική κυτταρική σύνθεση των αγγείων του όγκου, διαφορετική σύνθεση της βασικής μεμβράνης, της ακεραιότητας και διαπερατότητα της, με διαφορά στις οπές της, που εύκολα διαπερνώνται από τα καρκινικά κύτταρα. Μερικές από αυτές τις διαφορές είναι εμφανείς, όπως π.χ. τα αγγεία του όγκου είναι διασταλμένα, σακκοειδή, γιγαντιαία με αρτηριοφλεβώδεις επικοινωνίες, με καρκινικά κύτταρα στην ενδοθηλιακή στιβάδα. Τα αγγεία του όγκου παρουσιάζουν διαρροή με εύκολη διαπερατότητα από τα καρκινικά κύτταρα που εισέρχονται στην κυκλοφορία σε υψηλά επίπεδα λόγω της λύσης της συνέχειας της βασικής μεμβράνης (16). Η οργάνωση των αγγείων διαφέρει από θέση σε θέση και η ανάπτυξη του τριχοειδούς κυμαίνεται από 0,23-0,8mm ημερησίως εξαρτώμενη από το είδος του όγκου. Το φυσιολογικό τριχοειδές αγγείο περιέχει 1-2 ενδοθηλιακά κύτταρα ανά αγκύλη, ενώ του όγκου περιέχει 5-10 (15). Ο πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων του όγκου είναι περίπου 100 φορές μεγαλύτερος από των φυσιολογικών ιστών. Μία επιπλέον βασική διαφορά είναι η συνεχής και ανεξέλεγκτη εστιακή αγγειογένεση. Η αγγειακή φάση επιτρέπει την ανάπτυξη του όγκου και αυξάνει τον αριθμό των κυττάρων που πολλαπλασιάζονται. Τα κύτταρα έχουν τη

δυνατότητα έντονης διεισδυτικότητας και καταπίεσης των φυσιολογικών ιστών και αυξημένη δυνατότητα μετάστασης.

Με την έναρξη της αγγειογένεσης, προκαλούνται συμπτώματα στον ασθενή π.χ. άλγη οστών, καχεξία, παράδοση έκκριση αντιδιουρητικής ορμόνης (16). Τα καρκινικά κύτταρα διασπείρονται δια μέσου και του λεμφικού συστήματος στους επιχώριους λεμφαδένες και τελικά σε μεγάλα λεμφαγγεία και επανεισέρχονται στην αιματική κυκλοφορία. Τα λεμφαγγεία του καρκίνου δεν έχουν μελετηθεί εμπειρισττωμένα πιθανόν λόγω έλλειψης μοριακών δεικτών. Εν τούτοις, η λεμφαγγειογένεση φαίνεται να είναι σημαντική στη μετάσταση του καρκίνου. Μορφολογικές μελέτες αποδεικνύουν διατακτικές και διαπερατές μεταβολές των λεμφαγγείων στην περιφέρεια ανάλογες με των αιμοφόρων αγγείων, αλλά εντός του όγκου, τα λεμφαγγεία φαίνονται συμπιεσμένα και μη λειτουργικά.

Μείωση παροχής οξυγόνου μέσω διάχυσης στα καρκινικά κύτταρα που απέχουν >200 μm από τα τριχοειδή



Υποξία → κυτταρικός θάνατος → αναστολή ανάπτυξης

Αγγειογένεση



Περαιτέρω ανάπτυξη του όγκου και
αύξηση του μεγέθους

Σχήμα 1. Από την υποξία στο μικροπεριβάλλον του όγκου, στην αγγειογένεση.

5. Το μικροπεριβάλλον του όγκου

Γενικά, ένας όγκος αποτελείται από έναν ετερογενή πληθυσμό καρκινικών κυττάρων, που διαφέρουν ως προς το σχετικό στάδιο διαφοροποίησής τους. Το εξωτερικό ενός όγκου περιλαμβάνει πλήρως διαφοροποιημένα κύτταρα, τα οποία είναι ευαίσθητα στην ακτινοβολία και τη χημειοθεραπεία (2). Αυτό συμβαίνει λόγω της θέσης τους κοντά στο μη ογκογόνο μικροπεριβάλλον και την επαρκή ροή αίματος, που οφείλεται στην επαγόμενη αγγειογένεση. Η επόμενη περιοχή, προς το κέντρο

του όγκου, περιλαμβάνει προγονικά κύτταρα (progenitor cells) που μπορούν να υποστούν έναν περιορισμένο αριθμό μιτωτικών διαιρέσεων, για να σχηματίσουν αρκετά θυγατρικά κύτταρα. Αυτά τα θυγατρικά κύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν στη συνέχεια σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων, βάσει των μικροπεριβαλλόντων τους. Στο κέντρο του όγκου βρίσκονται τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs), που είναι τόσο δομικά όσο και λειτουργικά διακριτά από τα υπόλοιπα κύτταρα μέσα στον όγκο (3). Κάθε CSC έχει την ικανότητα να υφίσταται αυτο-ανανεωτική μίτωση, όπου το ένα ή και τα δύο από τα θυγατρικά κύτταρα διατηρούν την ταυτότητα του βλαστοκυττάρου. Το άλλο θυγατρικό κύτταρο μπορεί να γίνει προγονικό κύτταρο, που υφίσταται ορισμένους μιτωτικούς κύκλους, μέχρι να καταστεί διαφοροποιημένο καρκινικό κύτταρο. Τα CSCs εμφανίζουν ταχύτατους ρυθμούς διαφοροποίησης όταν καλλιεργούνται. Έτσι, είναι δύσκολη η διατήρηση ενός πληθυσμού *in vitro*, που να είναι εμπλουτισμένος σε CSCs.

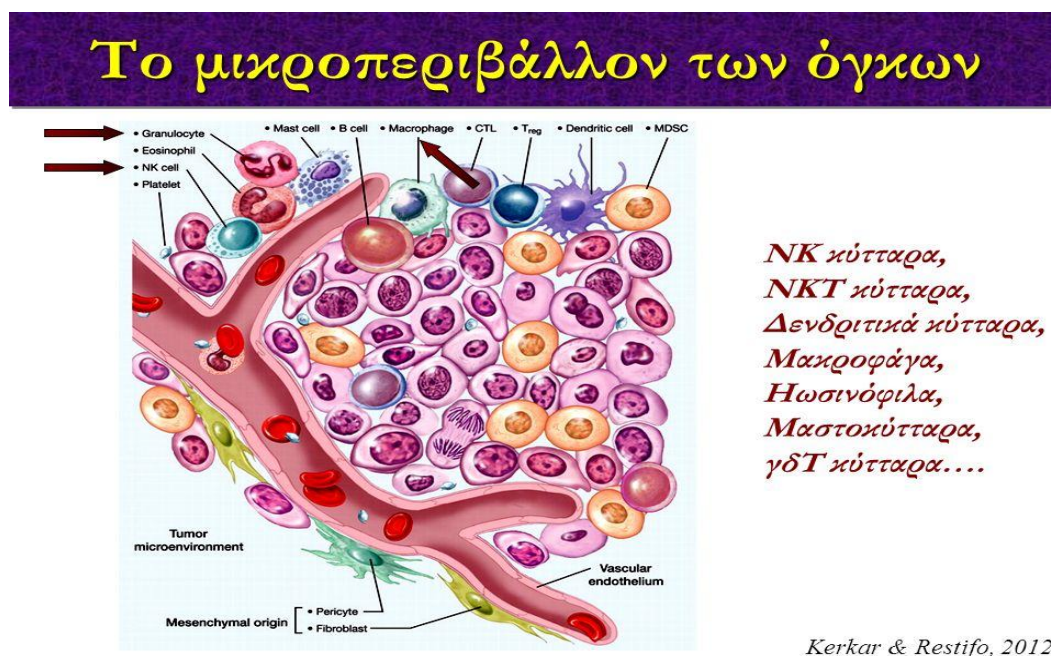
Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις για τον καρκίνο προς το παρόν συμβάλλουν στη μείωση του μεγέθους του όγκου. Όμως, είναι απίθανο να οδηγήσουν σε μακροπρόθεσμη υποχώρηση της νόσου, όσο δεν στοχεύονται τα CSCs (3). Ωστόσο, τα καρκινικά βλαστοκύτταρα είναι δύσκολο να στοχευτούν λόγω των ενδογενών τους ιδιοτήτων. Χαρακτηρίζονται από την ανθεκτικότητά τους σε αντικαρκινικές θεραπείες και τη δυνατότά τους να επαναδημιουργούν πληθυσμούς. Μπορούν να αναγεννήσουν έναν όγκο μετά από χημειοθεραπεία και ακτινοβολήση. Το χαρακτηριστικό της ανθεκτικότητάς τους σε πολλαπλά φάρμακα συσχετίζεται με την υπερέκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν μεμβρανικές πρωτεΐνες, οι οποίες λειτουργούν ως αντλίες εκροής. Οι ίδιες οι πρωτεΐνες ρυθμίζονται από ενεργές ρίζες οξυγόνου μέσα στο κύτταρο, που μπορεί να ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο του ιστού και επίσης μεταξύ των ιστών.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το μικροπεριβάλλον του όγκου αποτελείται και από φυσιολογικά κύτταρα του οργανισμού (15), τα οποία ανεξάρτητα της νόσου του καρκίνου "κατοικούν" στα αγγεία και στα τριχοειδή του εκάστοτε ιστού. Τα κύτταρα αυτά συμμετέχουν στην εξέλιξη της κακοήθειας, στην ανάπτυξη μεταστάσεων, και στην εξαλλαγή καλοηθών κυττάρων, έπειτα βέβαια όλων των απαραίτητων ενδιάμεσων σταδίων, που μετατρέπουν τη μορφολογία και τις ιδιότητές τους από φυσιολογικές σε καρκινικές (π.χ Επιθηλιακή Μεσεγχυματική Μετάπτωση) .

Τα γεγονότα αυτά προκύπτουν από τις διαφορές μεταξύ του στρώματος που περιβάλλει τα διηθητικά νεοπλάσματα και του στρώματος αντίστοιχων φυσιολογικών ιστών (15). Το φυσιολογικό στρώμα αποτελείται από κυτταρικά στοιχεία και συστατικά της εξωκυττάριας ουσίας. Περιλαμβάνει ινοβλάστες, φλεγμονώδη κύτταρα (λεμφοκύτταρα, μακροφάγα ή μαστοκύτταρα), λιποκύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα,

ενδοθηλιακά κύτταρα αγγείων και νευρικά κύτταρα. Κυρίαρχο ρόλο κατέχουν οι ινοβλάστες: παράγουν εξωκυττάρια ουσία και εκκρίνουν ρυθμιστικούς παράγοντες για την ομοιόσταση κυττάρων και μικροπεριβάλλοντος. Η εξωκυττάρια ουσία αποτελεί ένα δομικό σύμπλεγμα γλυκοπρωτεϊνών και πρωτεογλυκανών και μία δεξαμενή ρυθμιστικών μορίων, κυρίως αυξητικών παραγόντων, που επηρεάζουν τα γειτονικά κύτταρα (16).

Φυσιολογικά, οι παραπάνω επιδράσεις έχουν ευεργετικό χαρακτήρα, επειδή συγκρατούν την επιθηλιακή στιβάδα εντός της βασικής μεμβράνης (16). Ακόμα και στην περίπτωση υπερπλασίας επιθηλιακών κυττάρων, με ή χωρίς χαρακτηριστικά ατυπίας, το φυσιολογικό στρώμα έχει την ικανότητα να αναστρέψει την εκτροπή του γειτονικού ιστού.



Εικόνα 9. Το μικροπεριβάλλον του όγκου.

6. Αντινεοπλασματικά φάρμακα

Ο αριθμός των αντινεοπλασματικών (ή αντικαρκινικών ή κυτταροστατικών) φαρμάκων, που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία των κακοήθων νεοπλασιών, έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια (17). Τα φάρμακα αυτά χορηγούνται από το

στόμα, ενδομυϊκός ή ενδοφλεβίως, αλλά και σπανιότερα ενδορραχιαίως ή ενδαρτηριακώς. Μερικά από αυτά χορηγούνται και τοπικώς σε κακοήθεις δερματικές παθήσεις.

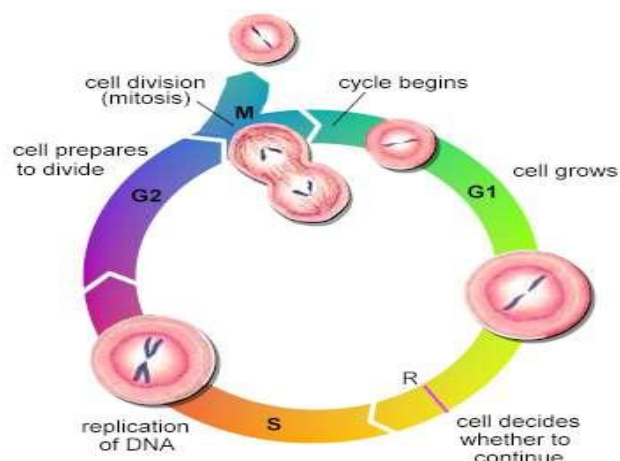
Γενικώς, τα αντινεοπλασματικά φάρμακα ταξινομούνται σε διάφορες κατηγορίες (18). Ως προς τον μηχανισμό δράσης των χημειοθεραπευτικών αντινεοπλασματικών φαρμάκων τα περισσότερα δεν καταστρέφουν ευθέως τα κύτταρα του όγκου, αλλά παρεμβαίνουν στη διαίρεση των κυττάρων ή επάγουν ενεργό κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Δρουν όχι μόνο στα καρκινικά κύτταρα, αλλά σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού, με αποτέλεσμα τα κυτταροστατικά φάρμακα να εμφανίζουν τοξικότητα.

Οι ανεπιθύμητες ενέργειές τους είναι πολλές (17), από όλα σχεδόν τα συστήματα και όργανα του σώματος. Ιδιαίτέρως αναφέρεται η μυελοτοξικότητα, που εκδηλώνεται με λευκοπενία, θρομβοπενία και αναιμία. Άλλες παρενέργειες είναι η ναυτία και ο έμετος, η γαστρεντερική τοξικότητα, η αλωπεκία, το μεταβολικό σύνδρομο, η επίδραση στις γονάδες, ενώ κάποια από αυτά είναι ικανά να προκαλέσουν μεταλλαξιογένεση ακόμα και καρκινογένεση.

Τα αντινεοπλασματικά φάρμακα σήμερα χορηγούνται κυρίως σε συνδυασμούς μεταξύ τους (17). Στόχος των συνδυασμών αυτών είναι να καθυστερήσει η ανάπτυξη αντοχής από τα καρκινικά κύτταρα και να επιτευχθεί αθροιστική ή συνεργική δράση χωρίς υπέρμετρη αύξηση της τοξικότητας.

Η ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στα χημειοθεραπευτικά είναι ανάλογη της ταχύτητας ανάπτυξης του όγκου και αντιστρόφως ανάλογη του μεγέθους του όγκου (17). Εξαρτάται από την ενδεχόμενη αντίσταση των κυττάρων (σύμφυτη και επίκτητη). Επίκτητη ανοσία επιτυγχάνεται μέσω της επαγωγής του μεταβολισμού των φαρμάκων, της επιδιόρθωσης του DNA, της αλλαγής των ιδιοτήτων μορίων στόχων, ενώ είναι πιθανό να προκύψει και πολλαπλή αντίσταση με ενεργοποίηση της μεμβρανικής P-γλυκοπρωτεΐνης, που λειτουργεί ως "αντλία αποβολής" των κυτταροστατικών φαρμάκων.

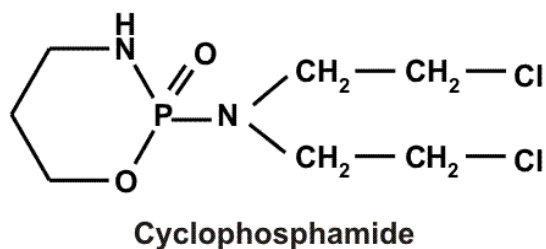
Όπως ήδη αναφέρθηκε, τα αντινεοπλασματικά φάρμακα επεμβαίνουν στον κυτταρικό κύκλο και κάθε κατηγορία είναι συνήθως ειδική για μία συγκεκριμένη φάση του κύκλου αυτού (18).



Εικόνα 10. Οι φάσεις του κυτταρικού κύκλου.

Οι βασικές κατηγορίες των αντινεοπλασματικών φαρμάκων (17), (18) και ο αντίστοιχος μηχανισμός δράσης τους είναι:

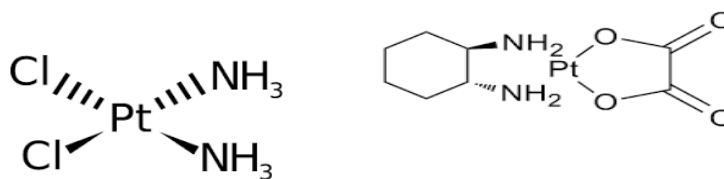
1. Αλκυλιωτικοί παράγοντες: προκαλούν αλκυλίωση κοντινών μορίων γουανίνης του DNA, δημιουργώντας σταυροδεσμούς και παραβιάζουν έτσι τον αναδιπλασιασμό του. Δρουν στην προαντιγραφική φάση G1. (π.χ. κυκλοφωσφαμίδη, ιφωσφαμίδη, χλωραμβουκίλη)



Εικόνα 11. Χημική δομή κυκλοφωσφαμίδης.

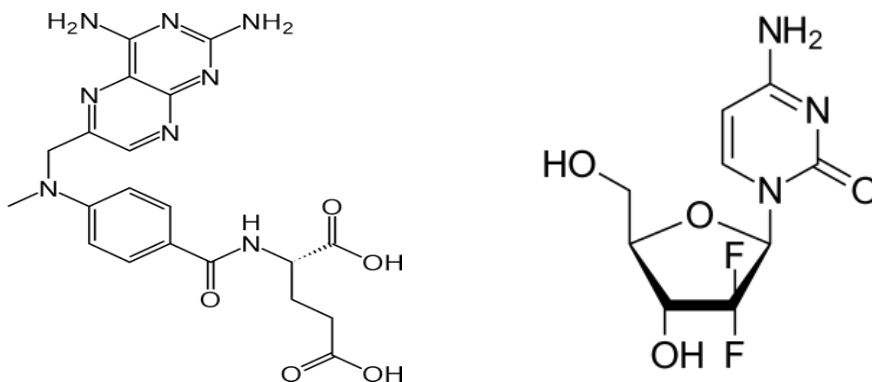
2. Ενώσεις λευκόχρυσου: προκαλούν ομοιοπολική σύνδεση κοντινών μορίων γουανίνης ή αδενίνης, μέσα στην ίδια αλυσίδα του DNA ή

ανάμεσα στις δύο αλυσίδες. Δρουν στην προαντιγραφική φάση G1. (π.χ. σισπλατίνη, οξαλιπλατίνη)



Εικόνα 12. Χημική δομή σισπλατίνης και οξαλιπλατίνης (αντίστοιχα από αριστερά).

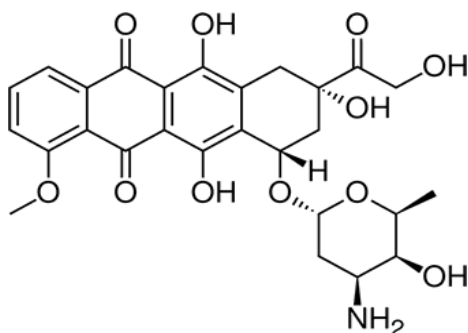
3. Αντιμεταβολίτες: ενσωματώνονται στο νεοσχηματιζόμενο υλικό του πυρήνα ή ανταγωνίζονται ουσιώδη ένζυμα, αφού έχουν δομή παρόμοια με τους φυσιολογικούς μεταβολίτες, βλάπτοντας έτσι την κυτταρική λειτουργία και διαίρεση. Εδώ ανήκουν τα ανάλογα του φυλλικού οξέος (π.χ. μεθοτρεξάτη), της πουρίνης (π.χ. κλαδριβίνη) και της πυριμιδίνης (π.χ. κυταραβίνη, 5-φθοριουρακίλη, καπεσιταβίνη και γεμισιταβίνη). Δρουν στη φάση S σύνθεσης του DNA.



Εικόνα 13. Χημική δομή μεθοτρεξάτης και γεμισιταβίνης (αντίστοιχα από αριστερά).

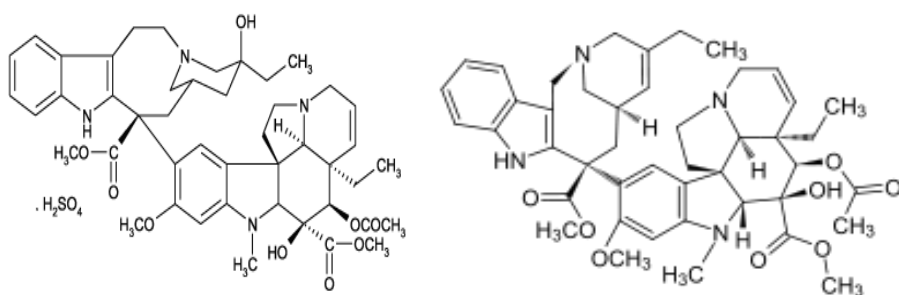
4. κυτταροτοξικά αντιβιοτικά: είναι συνήθως προϊόντα στελεχών του στρεπτομύκητα. Ενσωματώνονται και δρουν βλαπτικά στο DNA και RNA του κυτάρου, όπως η ακτινοβολία. Ονομάζονται και ανθρακυκλίνες και μπορούν να αναστέλλουν σημαντικά κυτταρικά ένζυμα όπως οι DNA-τοποϊσομεράσες. Δρουν σε διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου,

όπως τη G1 και την S. (π.χ. δοξοροβουκίνη, μιτομυκίνη, ακτινομυκίνη, βλεομυκίνη)



Εικόνα 14. Χημική δομή δοξοροβουκίνης.

5. φυτικά προϊόντα: εδώ ανήκουν βασικές κατηγορίες αντινεοπλασματικών:
- α) Αλκαλοειδή του φυτού *Camptotheca acuminata* (π.χ. ιρινοτεκάνη, τοποτεκάνη), αναστέλλουν τη δράση της τοποϊσομεράσης I. β) Συστατικά του φυτού *Podophyllum peltatum* (π.χ. ετοποσίδη, τενιποσίδη), εμποδίζουν τη δράση της τοποϊσομεράσης II. γ) Αλκαλοειδή του φυτού *Vinca rosea* (π.χ. βινβλαστίνη, βινκριστίνη, βινδεσίνη, βινoreλβίνη), παρεμποδίζουν τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης και της ενσωμάτωσής της στους μικροσωληνίσκους, διακόπτοντας τη μιτωτική διαίρεση. δ) Παρόμοια δράση έχουν και οι ταξάνες, που προέρχονται από το θάμνο του γένους *Taxus* (π.χ. πακλιτεξάλη, δοσεταξέλη). Δρουν στις φάσεις M και S.



Εικόνα 15. Χημική δομή βινβλαστίνης και βινoreλμπίνης (αντίστοιχα από αριστερά).

6. άλλα χημειοθεραπευτικά: η αμσακρίνη που παρεμβάλλεται στο DNA ενώ αναστέλλει και την τοποϊσομεράση II, η υδροξουρία που αναστέλλει την αναγωγή των ριβονουκλεοτιδίων προς δεοξυριβονουκλεοτίδια

7. ορμονικά και συναφή: εδώ ανήκουν τα ανδρογόνα, τα οιστρογόνα, τα προγεσταγόνα και τα ανταγωνιστικά ορμονών και τα ανάλογα των εκλυτικών ορμονών του υποθαλάμου. (π.χ. καλσιτονίνη)

7. Καρκίνος και ανοσοποιητικό σύστημα

α. Κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος

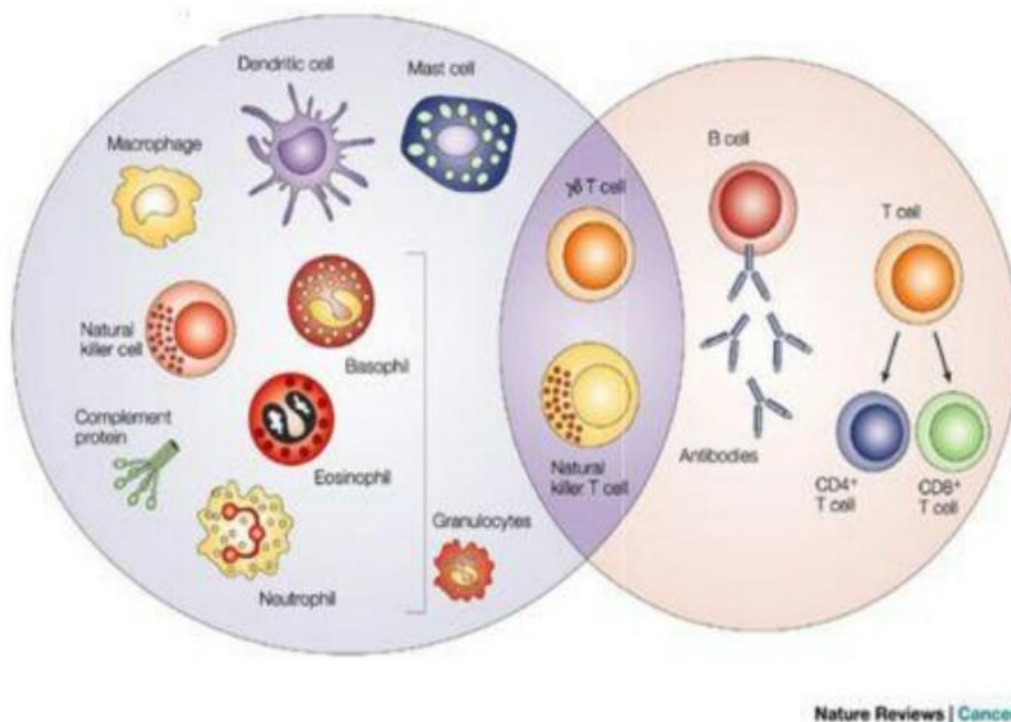
Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ένα σύστημα οργάνων και βιολογικών μηχανισμών, υπεύθυνο για την άμυνα του οργανισμού (19). Το ανοσοποιητικό σύστημα αποτελείται από πολλά διαφορετικά όργανα και ιστούς. Τα σημαντικότερα από αυτά είναι ο μυελός των οστών, και ο θύμος αδένας. Σε αυτά δημιουργούνται και αναπτύσσονται τα ειδικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Δευτερεύοντα όργανα του ανοσοποιητικού συστήματος είναι οι αμυγδαλές, ο σπλήνας, τα λεμφογάγγλια κ.α.

Το ανοσοποιητικό σύστημα αποτελείται από δύο βασικές ομάδες κυττάρων, τα κύτταρα της λεμφικής σειράς (λεμφοκύτταρα) και τα κύτταρα της μυελικής σειράς (19).

1. Τα λεμφοκύτταρα περιλαμβάνουν τα Β-λεμφοκύτταρα, τα Τ-λεμφοκύτταρα, καθώς επίσης και τα μεγάλα κοκκιώδη κύτταρα (ή φυσικά φονικά κύτταρα ΝΚ). Τα λεμφοκύτταρα παράγονται στο μυελό των οστών και είναι δύο ειδών, Τ-λεμφοκύτταρα και Β-λεμφοκύτταρα. Τα Β-λεμφοκύτταρα διαθέτουν στη μεμβράνη τους ένα μόριο αντισώματος. Τα Τ-λεμφοκύτταρα διαθέτουν στη μεμβράνη τους έναν υποδοχέα δέσμευσης αντιγόνου. Όταν ένα Β κύτταρο συναντήσει ένα αντιγόνο διαιρείται γρήγορα και διαφοροποιείται σε Β-κύτταρο μνήμης και Β-κύτταρο τελεστή ή πλασματοκύτταρο. Τα πλασματοκύτταρα παράγουν μεγάλη ποσότητα αντισωμάτων που δρουν πάνω στο αντιγόνο και το καταστρέφουν. Τα κύτταρα Τ όταν συναντήσουν αντιγόνο εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες, τις κυτοκίνες. Οι παράγοντες αυτοί ενεργοποιούν τα Β-κύτταρα καθώς και τα Τc-κύτταρα τα οποία καταστρέφουν τα κύτταρα του ίδιου του οργανισμού που έχουν υποστεί αλλοιώσεις.

2. Τα κύτταρα της μυελικής σειράς αποτελούνται από τα μονοκύτταρα / μακροφάγα, τα δένδριτικά κύτταρα (DCs), τα ουδετερόφιλα, τα ηωσινόφιλα και τα βασεόφιλα.

Τα κύτταρα παρουσίασης αντιγόνου (APCs) βοηθούν τα Τ-λεμφοκύτταρα να αναγνωρίσουν διάφορα αντιγόνα. Ως APC, χαρακτηρίζονται τα μακροφάγα, τα δένδριτικά κύτταρα και τα Β-λεμφοκύτταρα.



Εικόνα 16. Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.

β. Τα Τ λεμφοκύτταρα

Τα Τ κύτταρα (θυμοκύτταρα) και τα Β κύτταρα (θυλακο-προερχόμενα κύτταρα) είναι τα κύρια κυτταρικά συστατικά της προσαρμοστικής ανοσολογικής απόκρισης (19). Τα Τ κύτταρα εμπλέκονται στην κυτταρική ανοσία ενώ τα Β κύτταρα είναι κυρίως υπεύθυνα για τη χυμική ανοσία.

Ως απάντηση σε παθογόνους οργανισμούς, μερικά Τ κύτταρα, που ονομάζονται Τ βοηθητικά κύτταρα (φαινοτυπικός δείκτης: TCRαβ, CD3 και CD4), παράγουν κυτοκίνες, που κατευθύνουν την ανοσολογική απόκριση, ενώ άλλα κύτταρα Τ, που ονομάζονται κυτταροτοξικά (φαινοτυπικός δείκτης: TCRαβ, CD3 και CD8) Τ κύτταρα (CTLs), παράγουν τοξικά κοκκία, τα οποία περιέχουν ισχυρά ένζυμα που επάγουν το θάνατο στα παθογόνα- μολυσμένα κύτταρα (19). Τα CTLs είναι ικανά να στραφούν έναντι και των καρκινικών κυττάρων, τα οποία στην κυτταρική επιφάνειά τους εκφράζουν ειδικά καρκινικά αντιγόνα, τα οποία αναγνωρίζονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα αλλά και από τα ίδια τα CTLs, καταστρέφοντάς τα τελικά. Η μεσολαβούμενη από τα CTLs κυτταροτοξικότητα προκαλεί τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο του κυττάρου στόχου (19), μέσω της απελευθέρωσης των κυτοκινών (όπως TNF-α και IFN-γ), την παραγωγή πρωτεϊνών

που επάγουν την απόπτωση και του μηχανισμού αποκοκκίωσης κυτταρολυτικών πρωτεϊνών. Μετά την ενεργοποίησή τους T κύτταρα (όπως και τα B) αφήνουν μια μόνιμη κληρονομιά των αντιγόνων που αντιμετωπίζουν, υπό την μορφή των κυττάρων μνήμης.

Μια ειδική υποκατηγορία των T βοηθητικών κυττάρων (20), Τα T ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs με φαινοτυπικό δείκτη: TCRαβ, CD3, CD4 και CD25), ασκεί κατασταλτική δράση στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος. Με αυτό τον τρόπο, τα Tregs, καταφέρνουν να διατηρούν την ομοιόσταση της ανοσολογικής απάντησης καθώς και την ανοχή σε αυτή.

Θεωρείται όμως, ότι τα Tregs διαδραματίζουν και καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη της πορείας του όγκου, αφού ασκούν κατασταλτική δράση στο μηχανισμό της ανοσοεπιτήρησης (20). Συγκεκριμένα καταστέλλουν την ειδική, έναντι των όγκων, δράση των T CD8+ και T CD4+ κυττάρων, μέσω αδιευκρίνιστων μηχανισμών, που περιλαμβάνουν την άμεση κυτταρική επαφή ή και την παραγωγή παραγόντων όπως η IL-10. Η κατασταλτική δράση τους επεκτείνεται και στα υπόλοιπα κύτταρα της ανοσοεπιτήρησης (NK και B κύτταρα).

Το αποτέλεσμα της δράσης των Tregs είναι η προαγωγή του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων (19). Η συχνότητα εμφάνισης τους στο μικροπεριβάλλον του όγκου φαίνεται να είναι μεγαλύτερη, από ότι η κυκλοφορία τους στο περιφερικό αίμα. Διαθέτουν την ικανότητα να επιβιώνουν για μακρά χρονικά διαστήματα, απουσία αντιγονικού ερεθίσματος. Χωρίζονται σε δύο κατηγορίες (20):

α) Αυτά που παράγονται στο θύμο αδέν, όπως και τα υπόλοιπα T κύτταρα και είναι αποτέλεσμα ομοιοστατικών μηχανισμών και ονομάζονται φυσικά ρυθμιστικά κύτταρα (nTregs).

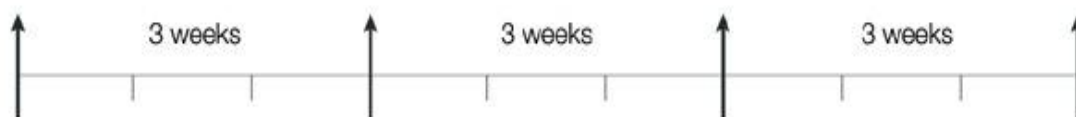
β) Αυτά που παράγονται στην περιφέρεια είτε από επιπλέον σήματα από αυτά που δέχονται τα nTregs είτε από ανεξάρτητα μονοπάτια και ονομάζονται επαγώγιμα ρυθμιστικά κύτταρα (aTregs).

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Μετρονομική χημειοθεραπεία

Η πρώτη αναφορά χρήσης χημειοθεραπείας, η οποία στοχεύει στην αγγειογένεση του όγκου, πραγματοποιήθηκε το 1971 από το Judah Folkman (21). Όμως πέρασαν τριάντα χρόνια, ώστε να γίνει αποδεκτή από την επιστημονική κοινότητα, η χρήση "γνήσιων" αντιαγγειογενετικών παραγόντων για τη θεραπεία συγκεκριμένα του καρκίνου του μαστού και του εντέρου (3). Στη συνέχεια αποδείχθηκε, πως και αρκετά από τα ήδη γνωστά κυτταροτοξικά φάρμακα, που χρησιμοποιούνται κατά κόρον στη συμβατική χημειοθεραπεία, μπορούν να στραφούν εναντίον της αγγειογένεσης του όγκου, όταν χορηγηθούν σε χαμηλές και επαναλαμβανόμενες δόσεις.

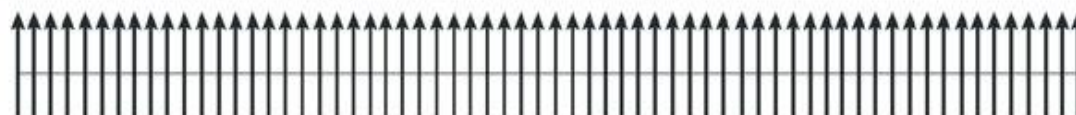
a MTD pulsatile chemotherapy (every 3 weeks)



b Metronomic chemotherapy – lower dose on a weekly basis



c Metronomic chemotherapy – lower dose on a daily basis



Nature Reviews | Cancer

Εικόνα 17. Μοντέλο χορήγησης α) MTD χημειοθεραπείας, b) Μετρονομικής χημειοθεραπείας σε εβδομαδιαία βάση, c) Μετρονομικής χημειοθεραπείας σε ημερήσια βάση.

Έτσι μόλις το 2000, χρησιμοποιείται για πρώτη ο όρος της Μετρονομικής χημειοθεραπείας από την ομάδα του Hanahan et al (22), για να περιγράψει το κοινό - κατά σύμπτωση- σχέδιο της αντιαγγειογενετικής θεραπείας ,που παρουσίασαν σχεδόν ταυτόχρονα, δύο διαφορετικές ερευνητικές ομάδες, αυτές του Browder et al. (23) και του Klement et al. (24). Το όνομά της χρησιμοποιήθηκε, ώστε να παραπέμπει στο μετρονόμο της μουσικής, ο οποίος χωρίζει το χρόνο με την ηχητική

λειτουργία του σε ίσα χρονικά διαστήματα. Με τον όρο Μετρονομική χημειοθεραπεία (MC), αναφερόμαστε πλέον στη συχνή, σταθερή χορήγηση κυτταροτοξικών φαρμάκων, σε δόσεις όμως σημαντικά πιο χαμηλές από αυτές που χρησιμοποιούνται στη συμβατική χημειοθεραπεία (CC) και χωρίς διαλείμματα μεταξύ των δόσεων (3). Στη συμβατική χημειοθεραπεία τα κυτταροτοξικά φάρμακα χορηγούνται σε ή σχεδόν στη μέγιστη ανεκτή δόση (MTD) για τον οργανισμό, για συγκεκριμένη χρονική περίοδο (συνήθως 3-4 εβδομάδων), η οποία ονομάζεται κύκλος και κάθε κύκλος ακολουθείται από ένα διάλειμμα της θεραπείας, κατά το οποίο δίνεται η δυνατότητα στον ασθενή να ανακάμψει από τις ανεπιθύμητες ενέργειες των φαρμάκων (18). Στη διάρκεια αυτών των διαλειμμάτων έχει αποδοθεί όμως και η ικανότητα των όγκων να αναπτύσσονται ξανά, παρότι την πιθανή αρχική μείωση τους κατά τη θεραπεία, μιας και δίνεται η ευκαιρία στα ενδοθηλιακά κύτταρα να κινητοποιηθούν, και να συμβάλλουν στην αγγειογένεση στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Το γεγονός αυτό, αποτελεί και έναν από τους λόγους της αποτυχίας της συμβατικής χημειοθεραπείας. Αξίζει να σημειωθεί, πως αν και γενικά λέμε ότι στη Μετρονομική χημειοθεραπεία χρησιμοποιούμε χαμηλές δόσεις, όμως επειδή αποτελεί θεραπεία μακράς διάρκειας, τελικά στον οργανισμό ίσως συσσωρευτούν ποσότητες φαρμάκων, ίσων ή και μεγαλύτερων με αυτών της συμβατικής χημειοθεραπείας.

Στο διάστημα αυτών των ετών μέχρι και σήμερα έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες ορολογίες, οι οποίες περιγράφουν σχεδιασμό χημειοθεραπείας ίδιο με αυτό της Μετρονομικής (3), όπως "αντι-αγγειογενετική θεραπεία χαμηλής δόσης", "χημειοθεραπεία συντήρησης χαμηλής δόσης" και "μετρονομικός σχεδιασμός αντικαρκινικής θεραπείας". Η χρήση διαφορετικών ορολογιών δε βοήθησε ώστε να γίνει γρήγορα και ευθέως γνωστός ο όρος Μετρονομική, και καθιστά δύσκολη τη συγκέντρωση ερευνών, που ουσιαστικά αναφέρονται σε ίδιο πρότυπο σχεδιασμού θεραπείας.

Η εισαγωγή της Μετρονομικής χημειοθεραπείας άνοιξε το δρόμο για την ανάπτυξη μιας καλώς ανεκτής θεραπείας, η οποία έχει το πλεονέκτημα της από του στόματος χορήγησης ήδη εγκεκριμένων φαρμάκων -γεγονός που τη καθιστά και μια αρκετά φθηνή επιλογή- και η οποία μπορεί να αποτρέψει την πρόοδο του όγκου για μεγάλο χρονικό διάστημα (3). Στην κλινική πράξη η Μετρονομική χημειοθεραπεία συνδυάζεται συχνά με μη-χημειοθεραπευτικά φάρμακα, τα οποία αναπτύχθηκαν αρχικά για άλλους θεραπευτικούς στόχους εκτός του καρκίνου. Αυτή η προσέγγιση χρησιμοποιεί ήδη εγκεκριμένα φάρμακα και ονομάζεται επανατοποθέτηση ή αναπροσανατολισμός φαρμάκων και συγκριτικά με την κλασσική μέθοδο ανάπτυξης φαρμάκων, διαθέτει τα πλεονεκτήματα του περιορισμένου ρίσκου και της οικονομίας χρόνου και κόστους (3). Ένα παράδειγμα αποτελούν οι αναστολείς της COX-2, οι

οποίοι χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό με Μετρονομική χημειοθεραπεία σε ένα μεγάλο αριθμό κλινικών ερευνών. Αλλά φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν σε μετρονομικά πρωτόκολλα ήταν η θαλιδομίδη, η μετφορμίνη, το ρετινοϊκό οξύ, οι στατίνες και η ραπαμυκίνη (25)(Πίνακας 2).

Στην πραγματικότητα ο αναπροσανατολισμός φαρμάκων και η Μετρονομική χημειοθεραπεία μοιράζονται κάποια κοινά χαρακτηριστικά, που αποτελούν και πλεονεκτήματα: η από του στόματος χορήγηση, το χαμηλό κόστος και το ασφαλές προφίλ ακόμα και σε μακρά έκθεση. Αρχικά η Μετρονομική χημειοθεραπεία θεωρήθηκε ότι διαθέτει μόνο αντιαγγειογενετική δράση στους όγκους. Τα τελευταία χρόνια αποδεικνύεται όλο και με περισσότερες έρευνες, πως πρόκειται για μία θεραπεία πολλαπλών κυτταρικών στόχων, κρίσιμων τόσο για την αναστολή της ανάπτυξης του όγκου όσο και για την παρεμπόδιση της εμφάνισης αντίστασης στη θεραπεία αλλά και της πιθανής ανάκαμψης του καρκίνου. Διευκρινίζοντας μελλοντικά της ακριβείς δράσεις της ενάντια στον καρκίνο, θα είναι δυνατός ο συνδυασμός της με άλλους τύπους αντικαρκινικής θεραπείας, προχωρώντας έτσι ένα βήμα πιο πέρα την προσωποποιημένη θεραπεία και αλλάζοντας τον τρόπο χρήσης της κλινικά.

Σημεία-κλειδιά της Μετρονομικής χημειοθεραπείας

- ✓ Στηρίζεται στη συχνή χορήγηση χαμηλών δόσεων χημειοθεραπευτικών.
- ✓ Μη-τοξική, φθηνή στρατηγική χημειοθεραπείας για πολλούς τύπους καρκίνου.
- ✓ Αρχικά θεωρήθηκε αμιγώς αντιαγγειογενετική θεραπεία, πλέον αφορά μια πολλαπλών στόχων θεραπευτική προσέγγιση.
- ✓ Συνδυάζεται με τον αναπροσανατολισμό φαρμάκων και με στοχεύουσες θεραπείες.
- ✓ Αποτελεί μέρος της προσωποποιημένης θεραπείας.

Πίνακας 1. Σύνοψη πλεονεκτημάτων της Μετρονομικής χημειοθεραπείας

Metronomic chemotherapy and drug repositioning in adults					
Patient population/ disease setting	Type of study	n	Treatment regimen	Efficacy	Best response
Advanced cancer ¹⁵⁶	Phase II	69	Cyclophosphamide (oral, daily), methotrexate (oral, twice weekly), celecoxib (oral, daily)	RR: 0%; CB: 34%	SD: 23/67
Advanced breast cancer ¹⁵⁷	Phase I	15	Cyclophosphamide (oral, daily), celecoxib (oral, daily)	RR: 7%; CB: 47%	PR: 1/15
Metastatic prostate cancer ^{*158}	Retrospective	28	Cyclophosphamide (oral, daily), dexamethasone (oral, daily)	RR: 43%; CB: 61%	PSA response: 12/28
Castration-resistant prostate cancer ^{*159}	Retrospective	17	Cyclophosphamide (oral daily)+ketoconazole (oral, daily), alternate every week with etoposide (oral, daily)+estramustine (oral, daily), prednisone (oral, daily)	RR: 65%; CB: 65%	PSA response: 11/27
Castration-resistant prostate cancer ^{*160}	Retrospective	28	Cyclophosphamide (oral, daily), capecitabine (oral, daily, 2 weeks on/2 weeks off), thalidomide (oral, daily), prednisone (oral, daily)	RR: 36%; CB: 57%	PSA response: 10/28
ER+ advanced breast cancer ¹⁶¹	Retrospective	33	Cyclophosphamide (oral, daily), methotrexate (oral, twice weekly), fulvestrant (IM monthly)	RR: 3%; CB: 56%	PR: 1/32
Metastatic breast cancer ¹⁶²	Phase II	47	Docetaxel (weekly), capecitabine (oral, daily), celecoxib (oral, daily)	RR: 34%; CB: 42%	PR: 13/38
Advanced head and neck cancer ¹⁶³	Retrospective	57	Methotrexate (oral, weekly), celecoxib (oral, daily)	RR: 16%; CB: 88%	CR: 2/57– PR: 7/57
Advanced refractory gastrointestinal cancer ¹⁶⁴	Phase II	38	High-dose cyclophosphamide (IV day 1), cyclophosphamide (oral, daily), tegafur/uracil (oral, daily), celecoxib (oral, daily)	RR: 0%; CB: 45%	SD: 17/38
Elderly patients with inoperable or metastatic soft tissue sarcoma ¹⁶⁵	Retrospective	26	Cyclophosphamide (oral, daily, 1 week on/1 week off), prednisone (oral, daily, 1 week on/1 week off)	RR: 27%; CB: 69%	CR: 1/26– PR: 6/26
Refractory/relapsed lymphoma ¹⁶⁶	Retrospective	122	Cyclophosphamide (oral, daily), etoposide (oral, daily), procarbazine (oral, daily), prednisone (oral, daily)	RR: 75%; CB: >75%	CR: 46/122– PR: 45/122
Refractory/relapsed multiple lymphoma ¹⁶⁷	Retrospective	186	Doxorubicin (continuous IV for 16 days), cisplatin (continuous IV for 16 days), thalidomide (oral, daily), dexamethasone (oral, 3x/week), bortezomib (IV 3x/week), rapamycin (oral, daily)	RR: 43%; CB: 81%	CR: 11/186– PR: 77/186
Metastatic melanoma ¹⁶⁸	Phase II	17	Paclitaxel (weekly continuous infusion for 4 days), celecoxib (oral, daily)	RR: 6%; CB: 24%	PR: 1/17
Metastatic hormone-refractory prostate cancer ¹⁶⁹	Phase II	23	Cyclophosphamide (oral, daily), prednisolone (oral, daily)	RR: 26%; CB: 48%	PSA response: 6/23

*Response evaluated based on PSA levels (PR =>25% decrease in PSA). Abbreviations: CB, clinical benefit; CR, complete response; IM, intramuscularly; IV, intravenous; NA, not available; PD, progressive disease; PR, partial response; PSA, prostate-specific antigen; RR, response rate; SD, stable disease.

Πίνακας 2. Κλινικές δοκιμές Μετρονομικής χημειοθεραπείας σε συνδυασμό με αναπροσανατολισμό φαρμάκων (3).

1. Αντιαγγειογενετική δράση της Μετρονομικής Θεραπείας

Το κλασικό αντιαγγειογενετικό παράδειγμα της μετρονομικής χημειοθεραπείας έχει τις ρίζες του στην αρχική υπόθεση των Folkman (21) και Kerbel (26). Στοχεύοντας στα ταχέως διαιρούμενα ενδοθηλιακά κύτταρα του όγκου, η Μετρονομική χημειοθεραπεία είναι σε θέση να στοχεύσει έμμεσα τόσο στα ευαίσθητα όσο και στα ανθεκτικά στα φάρμακα καρκινικά κύτταρα, καταστρέφοντας τα υπάρχοντα αιμοφόρα αγγεία και αποτρέποντας τη νεοαγγειογένεση, οδηγώντας έτσι σε υποξία και σε έλλειψη θρεπτικών συστατικών.

Οι αντιαγγειογενετικές επιδράσεις της μετρονομικής χημειοθεραπείας μπορούν επίσης να επιτευχθούν από φάρμακα ή από ένα συνδυασμό φαρμάκων, που προκαλούν αύξηση στον ενδογενή αναστολέα της αγγειογένεσης, τη θρομβοσπονδίνη-1 (THBS1) (27), θέτοντας σε κίνδυνο το αγγειογενετικό δυναμικό των ενδοθηλιακών κυττάρων, επάγοντας την απόπτωση στα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα (CECs) και/ή μπλοκάροντας την κινητοποίηση των ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων.

Το 2000 οι πρώτες έρευνες, που πρότειναν την αντιαγγειογενετική δράση κυτταροστατικών φαρμάκων, όταν αυτά χορηγούνται σε χαμηλές και συνεχείς δόσεις, έγιναν από δύο διαφορετικές ομάδες, του Browder et al. (23) και του Klement et al. (24). Η παράλληλη χορήγηση αντιαγγειογενετικών μορίων έδρασε συνεργιστικά και στις δύο ομάδες. Οι Browder et al (23), χορήγησαν χαμηλές δόσεις -χωρίς διαλείμματα- κυκλοφωσφαμίδης σε καρκινικά κύτταρα ποντικού, τα οποία είχαν αποκτήσει ανθεκτικότητα στο ίδιο φάρμακο, όταν αυτό χορηγήθηκε με το συμβατικό πρότυπο. Παρατηρήθηκε μείωση του όγκου, που οφειλόταν στην απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων, τα οποία στη διάρκεια του συμβατικού πρωτόκολλου είχαν τη δυνατότητα να αναπτυχθούν, εξαιτίας των διαλειμμάτων από τη θεραπεία και να οδηγήσουν σε αγγειογένεση. Παρόμοια οι Klement et al. (24) χορήγησαν βινβλαστίνη με μετρονομικό σχεδιασμό και κατάφεραν να αναστείλουν την ανάπτυξη του όγκου, μέσω της αναστολής της αγγειογένεσης. Από τα δύο αυτά πειράματα προέκυψε και ο πρώτος επίσημος τρόπος σχεδιασμού και χορήγησης ενός μετρονομικού πρωτόκολλου.

Τα χρόνια που ακολούθησαν, διάφορες έρευνες απέδειξαν ότι η Μετρονομική χημειοθεραπεία είναι ικανή να αναστείλει την απελευθέρωση προϊόντων, που οδηγούν στην αγγειογένεση. Ένας τέτοιος παράγοντας είναι και ο HIF-1 (3), γνωστός για την επαγωγή της μετάφρασης γονιδίων βασικών αυξητικών παραγόντων (όπως VEGF, FGFb και IL-8). Πρόσφατα αποδείχθηκε πως αναστέλλεται η δράση του μέσω χαμηλών δόσεων δοξορβουκίνης και πακλιταξέλης (27).

Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι η αντιαγγειογένεση οδηγεί σε υποξικές συνθήκες στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Η υποξία θεωρείται πως παίζει καθοριστικό ρόλο στη δευτερεύουσα αντίσταση (3), που αναπτύσσεται τόσο στη συμβατική όσο και στη Μετρονομική χημειοθεραπεία.

Τέλος αξίζει να αναφερθούν πειράματα, που έχουν πραγματοποιηθεί με χρήση ναυομοριακών μετρονομικών συγκεντρώσεων βινορελβίνης, ενός φαρμάκου που στοχεύει στη μικροτουμπουλίνη των κυττάρων και χρησιμοποιείται ευρέως στη θεραπεία του καρκίνου (27). Αποδείχθηκε η αντιαγγειογενετική της δράση μέσω της αναστολής του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων, αλλά και της παρεμβολής της στη διαμόρφωση και στην εκβλάστηση των μικροσωληνίσκων των κυττάρων. Εξαιτίας της πολύ χαμηλής συγκέντρωσης του φαρμάκου και της μετρονομικής χορήγησης, εκτός από την κλινική αποτελεσματικότητα της βινορελβίνης, απετράπησαν και οι τοξικές της παρενέργειες. Όσον αφορά την αποτελεσματικότητά της σε υποξικό περιβάλλον, αποδείχθηκε ότι η μετρονομική βινορελβίνη δεν έχασε την ικανότητά της να αναστέλλει την ενδοθηλιακή κυτταρική μετανάστευση αλλά και την εκβλάστηση και τη διαμόρφωση των μικροσωληνίσκων. Αντίθετα μειώθηκε η αποτελεσματικότητά της στην αναστολή του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων. Όμως αυτό το φαινόμενο είναι αναστρέψιμο όταν απενεργοποιηθεί η πρωτεΐνη Akt.

2. Μετρονομική χημειοθεραπεία και απευθείας επίδραση στα καρκινικά κύτταρα

Συσσωρευμένα στοιχεία δείχνουν ότι η Μετρονομική χημειοθεραπεία είναι ικανή επίσης να ασκεί άμεσες επιδράσεις σε καρκινικά κύτταρα. Οι Folkins et al. (28) έδειξαν ότι η μετρονομική κυκλοφωσφαμίδη μείωσε σημαντικά τον αριθμό της πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας σφαίρας του όγκου, που σχηματίζονται από κύτταρα γλοιώματος, από όγκους που είχαν υποστεί αγωγή με φάρμακο.

Επιπλέον, μια μείωση του αριθμού των προδρόμων CD133 + κυττάρων και των τριπλά θετικών CD133 + / CD44 + / CD24 + καρκινικών βλαστικών κυττάρων, αποδείχθηκε σε ανθρώπινα καρκινικά παγκρεατικά ξενομοσχεύματα, που έλαβαν θεραπεία με μετρονομική κυκλοφωσφαμίδη. Μακροχρόνια έκθεση *in vitro* καρκινικών κατάρων του προστάτη και του ορθού, σε πακλιταξέλη και ετοποσίδη οδήγησε στη δημιουργία ανθεκτικών κυττάρων στο φάρμακο, μέσω επιγενετικών μηχανισμών. Είναι ενδιαφέρον ότι, αυτά τα ανθεκτικά κύτταρα εμφάνισαν μειωμένη ογκογονικότητα *in vivo*, με λιγότερα CD44 + κύτταρα σε σύγκριση με τον πληθυσμό

της προγονικής κυτταρικής σειράς. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η Μετρονομική χημειοθεραπεία μπορεί να στοχεύσει και στα CD44 + καρκινικά κύτταρα και/ή στα καρκινικά βλαστικά κύτταρα.

3. Μετρονομική χημειοθεραπεία και ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων

Οι όγκοι θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη ως ένα μικρό, ξεχωριστό, Δαρβινικό "οικοσύστημα", στο οποίο ζουν και πολλαπλασιάζονται διαφορετικοί τύποι κυττάρων (15). Εκτός από τα διάφορα είδη κυττάρων, όπως τα ενδοθηλιακά ή κύτταρα του ανοσοποιητικού, το πιο πιθανό είναι να υπάρχουν και διαφορετικοί κλώνοι καρκινικών κυττάρων, μιας και μαζί με τα απλά καρκινικά κύτταρα συναντάμε συχνά στους όγκους και βλαστικά καρκινικά κύτταρα, τα οποία είναι ικανά να διαφοροποιηθούν σε διάφορους καρκινικούς κλώνους. Έτσι δημιουργείται το μικροπεριβάλλον του όγκου, που χαρακτηρίζεται τόσο από γενετική όσο και από φαινοτυπική ετερογένεια.

Όπως μέσα σε ένα οικοσύστημα, έτσι και στο μικροπεριβάλλον του όγκου, οι διαφορετικοί τύποι κυττάρων ανταγωνίζονται για χώρο και θρεπτικά συστατικά (3). Στη συμβατική χημειοθεραπεία, με τις υψηλές κυτταροτοξικές δόσεις, σκοτώνονται οι ευαίσθητοι κλώνοι στα φάρμακα, επιβιώνουν όμως οι ανθεκτικοί, οι οποίοι αν και λιγότεροι σε αριθμό αρχικά, εκμεταλλεύονται με αυτό τον τρόπο την ευκαιρία να αναπτυχθούν και να συμβάλουν στην αντίσταση στη χημειοθεραπεία.

Πρόσφατες έρευνες απέδειξαν, πως η χορήγηση κυτταροστατικών φαρμάκων σε χαμηλές δόσεις μπορεί να διαφύγει της αντίστασης των καρκινικών κυττάρων (3). Αφού η Μετρονομική χημειοθεραπεία στοχεύει κυρίως στην αγγειογένεση του όγκου, η οποία αποσκοπεί στην τροφοδότηση των καρκινικών κυττάρων σε οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά, μέσω της αναστολής της ουσιαστικά αποδυναμώνονται όλοι οι κυτταρικοί πληθυσμοί, μαζί και οι ανθεκτικοί κλώνοι, οπότε αποτρέπεται η αντίσταση στα χημειοθεραπευτικά.

Το φαινόμενο αυτό επιτυγχάνεται σε μεγαλύτερο βαθμό, όταν η Μετρονομική χημειοθεραπεία κυτταροστατικών φαρμάκων συγχωρηγείται με άλλους αναστολείς της αγγειογένεσης (π.χ. TNP-470 και DC101) (27). Με τον τρόπο αυτό ακόμα και τα διάφορα σήματα για την επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων μπλοκάρονται και προλαμβάνεται έτσι, ακόμα περισσότερο, η νεοαγγείωση των όγκων.

Είναι σημαντικό και παράλληλα ανησυχητικό όμως, ότι ακόμα και στη Μετρονομική χημειοθεραπεία, κάποιες φορές είναι πιθανόν να παρατηρηθεί αντίσταση στα φάρμακα (27). Στην περίπτωση αυτή η αντίσταση είναι μικρής έντασης. Πιθανοί μηχανισμοί, που έχουν προταθεί, αποτελούν τα ίδια τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα, αλλά και η υποξία που προκαλείται μέσω της αντιαγγειογένεσης και μπορεί ίσως να δώσει ώθηση ξανά στα ενδοθηλιακά κύτταρα να κινητοποιηθούν.

Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα, όπως και τα αντίστοιχα φυσιολογικά, είναι αδιαφοροποίητα και κάτω από συγκεκριμένα εξωτερικά ερεθίσματα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε εξειδικευμένα κύτταρα (3). Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα συναντώνται στους περισσότερους τύπους καρκίνου και διαθέτουν κάποιες ξεχωριστές ιδιότητες. Μπορούν να διαφοροποιηθούν επανειλημμένως και διαθέτουν εγγενώς αυξημένους μηχανισμούς αντιμετώπισης και αποκατάστασης ζημιών του DNA, ιδιότητες που τα καθιστούν δύσκολα σε εξάλειψη. Προσδίδουν ουσιαστικά την ικανότητα στους όγκους να ανακτηθούν, παράγοντας διαφοροποιημένους απογόνους. Τα χαρακτηριστικά αυτά τα καθιστούν ανθεκτικά στις περισσότερες παραδοσιακές θεραπευτικές προσεγγίσεις και λιγότερο στη Μετρονομική χημειοθεραπεία.

Τέλος σε μελέτες (3), που έχουν πραγματοποιηθεί στον καρκίνο του προστάτη, παρατηρήθηκε αύξηση των παραγόντων ANXA3, TXNDC5 και της καθεψίνης B, τα οποία ίσως συμβάλουν στην εμφάνιση της αντίστασης και πρέπει να μελετηθούν περαιτέρω μελλοντικά.

4. Μετρονομική χημειοθεραπεία και λήθαργος του όγκου

Ο λήθαργος (ή ηρεμία) του όγκου είναι αποτέλεσμα της παύσης του κυτταρικού κύκλου ή της καθιέρωσης μιας κατάστασης δυναμικής ισορροπίας, στην οποία ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός ισορροπεί ανάμεσα σε μια φάση επαγωγής του και της απόπτωσης (27). Λαμβάνει χώρα και στα αρχικά στάδια του καρκίνου, αλλά ακόμα και κατά τη διάρκεια της μετάστασης και συνήθως χωρίζεται σε τρία στάδια: αγγειογενετικός λήθαργος, κυτταρικός λήθαργος και ανοσοποιητική επιτήρηση. Ο λήθαργος του όγκου αποτελεί έναν κρίσιμο μηχανισμό για τους ασθενείς με καρκίνο, ο οποίος εξηγεί τόσο την επίτευξη κλινικής ύφεσης όσο και την καθυστερημένη ανάκαμψη του όγκου.

Από το 1972 ο Folkman (21) πρότεινε ότι οι όγκοι χωρίς αγγεία μπορούν να διατηρηθούν σε κατάσταση λήθαργου. Οπότε μια αναμενόμενη σκέψη είναι ότι ίσως

η Μετρονομική χημειοθεραπεία έχει τη δυνατότητα μέσω της αναστολής της αγγειογένεσης, να επάγει το λήθαργο του όγκου.

Σημαντικό ρόλο όμως στο φαινόμενο του λήθαργου παίζει κ η ανοσοποιητική επιτήρηση των καρκινικών κυττάρων (3). Το ανοσοποιητικό σύστημα διαθέτει τους μηχανισμούς, οι οποίοι μπορούν να εξαλείφουν τα καρκινικά κύτταρα. Όταν κάποια από αυτά ξεφεύγουν του ελέγχου του ανοσοποιητικού, τότε παρατηρείται διαταραχή στην κατάσταση ισορροπίας του λήθαργου του όγκου. Η Μετρονομική χημειοθεραπεία, όπως θα συζητηθεί και στη συνέχεια, έχει την ικανότητα να ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό ενάντια του καρκίνου, δρώντας έτσι ως ένας εναλλακτικός μηχανισμός, που προάγει το λήθαργο του όγκου.

Παρόλα αυτά μέχρι σήμερα δεν έχει αποδειχθεί πλήρως ο τρόπος με τον οποίο δρα η Μετρονομική χημειοθεραπεία στο λήθαργο του όγκου, οπότε περισσότερες στους μηχανισμούς αυτούς, είναι απαραίτητες.

5. Μετρονομική χημειοθεραπεία ως θεραπεία συντήρησης

Η θεραπεία συντήρησης δίνεται στην πρόληψη της εξέλιξης ή/και της υποτροπής μετά τον καρκίνο (18). Έχει δοκιμαστεί επιτυχώς σε συνδυασμό με την πρωταρχική θεραπεία. Αρκετοί αντικαρκινικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, των εμβολίων ή των αντισωμάτων, μπορούν να δοθούν για μεγάλη χρονική περίοδο. Ο στόχος της θεραπείας συντήρησης είναι να παρατείνει την επιβίωση του ασθενή, διατηρώντας παράλληλα την ποιότητα ζωής. Η Μετρονομική χημειοθεραπεία είναι ένας καλός υποψήφιος ως θεραπεία συντήρησης, επειδή είναι συνήθως καλά ανεκτή, μπορεί να χορηγηθεί από του στόματος και έχει σχετικά χαμηλό κόστος.

Η ικανότητά της να στοχεύει την αγγειογένεση, τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα και να ρυθμίζει το ανοσοποιητικό σύστημα, παρέχει μια ευκαιρία ώστε να ξεπεραστεί η αντίσταση στη θεραπεία και η εξέλιξη μιας καθυστερημένης ανάπτυξης του όγκου. Πολλά προκλινικά μοντέλα (3) υπογράμμισαν τις δυνατότητες της Μετρονομικής χημειοθεραπείας ως συμπληρωματική θεραπεία είτε σε ένα σχήμα χημειοθεραπείας που αλλάζει μεθόδους είτε στη μικρομεταστατική νόσο.

Στην κλινική, η θεραπεία συντήρησης έχει χρησιμοποιηθεί για δεκαετίες στο νευροβλάστωμα και στη λευχαιμία, και αυτή τη στιγμή δοκιμάζεται στο ραβδομυοσάρκωμα. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της τυχαιοποιημένης μελέτης CAIRO3 (3), έδειξαν ότι μια θεραπεία συντήρησης με καπεσιταβίνη και μπεβασιζουμάμπη μετά από έξι CAPOX-B κύκλους, ήταν αποτελεσματική έναντι του

μεταστατικού καρκίνου του παχέος εντέρου και οδήγησε σε αύξηση του PFS σε σύγκριση με την παρατήρηση μόνο (8,5 μήνες έναντι τεσσάρων μηνών; $p < 0,0001$), χωρίς να διακυβεύεται η ποιότητα της ζωής των ασθενών. Σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του ορθού, η χρήση της μπεβασιζουμάμπης σε θεραπεία συντήρησης δεν έδειξε οποιαδήποτε οφέλη, αναφέροντας ότι η βελτιωμένη επιβίωση στην CAIRO3, θα μπορούσε να αποδοθεί στην ημερήσια καπεσιταβίνη χαμηλής δόσης.

Μελέτες φάσης III βρίσκονται σε εξέλιξη (3), συμπεριλαμβανομένης της CAMELLIA μελέτης, που συγκρίνει μετρονομική και διαλείπουσα χορήγηση καπεσιταβίνης, σε ασθενείς με HER2-αρνητικό μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Σε ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού, η SYSUCC-001 δοκιμή συγκρίνει την πρότυπη επικουρική θεραπεία μόνη της ή σε συνδυασμό με θεραπεία συντήρησης με χρήση μετρονομικής καπεσιταβίνης. Οι δοκιμές αυτές ίσως να επιβεβαιώσουν τη δυνητική συμβολή της Μετρονομικής χημειοθεραπείας στη θεραπεία συντήρησης και στη βελτίωση του ποσοστού επιβίωσης των ασθενών.

6. Μετρονομική χημειοθεραπεία και μεταστατικοί καρκίνοι

Η Μετρονομική χημειοθεραπεία μπορεί να αλληλεπιδράσει με το μεταστατικό καταρράκτη και να είναι αποτελεσματική στην προχωρημένη μεταστατική νόσο. Συγκεκριμένα, η Μετρονομική χημειοθεραπεία μόνη της ή σε συνδυασμό με τους αναστολείς της τυροσινικής κινάσης, έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη μεταστατική εξάπλωση, σε μεγάλο αριθμό ξеноμοσχευμάτων αλλά και σε αυθόρμητα μεταστατικά μοντέλα, συμπεριλαμβανομένων του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, του νευροβλαστώματος, και των καρκίνων του παγκρέατος, των ωοθηκών και του παχέος εντέρου. (3)

Ως εκ τούτου, μπορεί κανείς να υποθέσει ότι αυτή η προσέγγιση είναι σε θέση να παρεμποδίζει μια ή περισσότερες από τις βιολογικές διεργασίες που εμπλέκονται στη μετάσταση, όπως η κυτταρική μετανάστευση, η εισβολή, η ενδαγγείωση και η εξαγγείωση, η αντοχή σε *anoikis* απόπτωση και η προσαρμογή σε ένα νέο μικροπεριβάλλον. Σε όλες αυτές τις διεργασίες καθοριστικό ρόλο παίζει η ενεργοποίηση διαφόρων τυροσινικών κινασών.

Αυτές οι προκλινικές μελέτες δείχνουν ότι η Μετρονομική χημειοθεραπεία ίσως αποδειχθεί χρήσιμη στην επικουρική θεραπεία, ακόμη και σε προϋπάρχοντες μεταστατικούς καρκίνους. Ο Kerbel και οι συνεργάτες του (26) ανέπτυξαν εξελιγμένα μετεγχειρητικά μοντέλα ποντικών με προχωρημένο μεταστατικό καρκίνο του μαστού

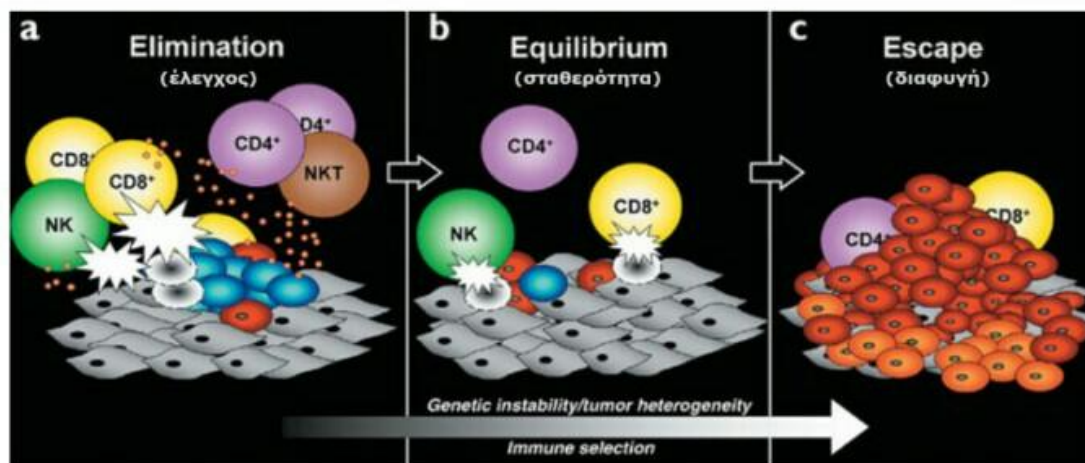
και απέδειξαν, ότι η Μετρονομική χημειοθεραπεία σε συνδυασμό με σουνιτινίνη, διπλασίασε σημαντικά την επιβίωση, σε σύγκριση με τη χορήγηση μόνο Μετρονομικής χημειοθεραπείας, μόνο σουνιτινίνης ή σε συνδυασμό αυτής με χημειοθεραπεία MTD. Είναι ενδιαφέρον ότι η ευνοϊκή επίδραση στη μετάσταση έχει επίσης αναφερθεί σε κλινικό επίπεδο όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα. (Πίνακας 3)

Pure metronomic chemotherapy studies in adults					
Patient population/ disease setting	Type of study	n	Treatment regimen	Efficacy	Best response
Recurrent metastatic breast/ lung/prostate cancer ⁸⁸	Phase I	73	Navelbine (oral, 3x/week)	RR: 5% CB: 20%	PR: 4/73
Advanced refractory NSCLC ⁸⁹	Phase II	46	Navelbine (oral, 3x/week)	RR: 11% CB: 30%	PR: 5/46
Advanced refractory cancer ⁹⁰	Phase I	19	Navelbine (oral, 3x/week)	RR: 5% CB: 10%	PR: 1/19
Metastatic breast cancer in elderly patients ⁹¹	Phase II	34	Navelbine (oral, 3x/week)	RR: 38% CB: 68%	CR: 2/34– PR: 11/34
Metastatic breast cancer ⁹²	Phase I	36	Navelbine (oral, every 2 days), capecitabine (oral, daily, 2 weeks on/1 week off)	RR: 33% CB: 63%	CR: 2/36– PR: 10/36
Advanced refractory gastric cancer in elderly patients ⁹³	Phase II	45	Capecitabine (oral, daily, 4 weeks on/ 1 week off)	RR: 21% CB: 51%	PR: 9/43
Refractory/relapsing metastatic breast cancer ⁹⁴	Phase II	60	Capecitabine (oral daily)	RR: 24% CB: 86%	CR: 3/58– PR: 11/58
HER2-negative metastatic breast cancer ⁹⁵	Phase II	51	Cyclophosphamide (oral, twice daily, 2 weeks on/1 week off), capecitabine (oral, twice daily, 2 weeks on/1 week off)	RR: 44% CB: 58%	CR: 4/45– PR: 16/45
Refractory/relapsing metastatic breast cancer ⁹⁶	Phase II	68	Cyclophosphamide (oral, daily, 2 weeks on/1 week off), capecitabine (oral, daily, 2 weeks on/1 week off)	RR: 30% CB: 53%	CR: 1/66– PR: 19/66
Glioblastoma and recurrent grade III glioma ⁹⁷	Phase II	47	Temozolomide (oral, daily)	RR: 11% CB: 39%	PR: 4/38
Recurrent glioblastoma ⁹⁸	Retrospective	27	Temozolomide (oral, daily, 1 week on/ 1 week off)	RR: 11% CB: 30%	PR: 3/20
Advanced solid tumours ⁹⁹	Phase II	24	Cyclophosphamide (oral, daily)	NA	NA
Metastatic breast cancer ¹⁰⁰	Phase II	60	Cyclophosphamide (oral, daily), capecitabine (oral, twice daily)	RR: 22% CB: 57%	CR: 1/60– PR: 12/60
Metastatic castration- resistant prostate cancer ¹⁰¹	Phase II	58	Cyclophosphamide (oral, daily), methotrexate (oral, 2x/week)	RR: 18% CB: 41%	PR: 3/17 PSA response: 15/58
Metastatic hormonal- resistant breast cancer ¹⁰²	Retrospective	61	Cyclophosphamide (oral, daily) ± methotrexate (oral, twice weekly)	RR: 18% CB: 52%	PR: 11/61
Recurrent metastatic breast cancer ¹⁰³	Phase II	40	Irinotecan (IV weekly, 3 weeks on/1 week off), tegafur-gimeracil-oteracil (oral, 5x/week, 3 weeks on/1 week off)	RR: 47% CB: 97%	CR: 1/34– PR: 15/34
Recurrent/metastatic colorectal cancer ¹⁰⁴	Phase II	45	Irinotecan (IV weekly, 3 weeks on/1 week off), fluoropyrimidine S-1 (oral, 5x/week, 3 weeks on/1 week off)	RR: 49% CB: 84%	CR: 1/45– PR: 21/45
Abbreviations: CB, clinical benefit; CR, complete response; NA, not available; NSCLC: non-small-cell lung cancer; PD, progressive disease; PR, partial response; RR, response rate; SD, stable disease.					

Πίνακας 3. Μετρονομική χημειοθεραπεία σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο (3)

7. Μετρονομική χημειοθεραπεία και ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος

Η σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος και του καρκίνου εξηγείται εν μέρη από τη θεωρία της ανοσοδιαμόρφωσης. Η ανοσοδιαμόρφωση είναι μια δυναμική διεργασία που αποτελείται από τρεις φάσεις (Εικόνα 17). (20) Η πρώτη φάση είναι η φάση της εξάλειψης. Αυτό το στάδιο αναφέρεται στην αναγνώριση και στην καταστροφή των καρκινικών κυττάρων από το ανοσοποιητικό σύστημα. Η φάση της εξάλειψης ακολουθείται από τη φάση της ισορροπίας, μια φάση λειτουργικού λήθαργου. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, καρκινικά κύτταρα με λιγότερο ανοσογονικούς φαινότυπους επικρατούν και έτσι καθιερώνεται μια ισορροπία μεταξύ εξάλειψης και ανοσολογικής ανοχής. Τελικά οι όγκοι καταφέρνουν να ξεφύγουν από τον ανοσολογικό έλεγχο (29). Αυτή η τελευταία φάση ονομάζεται ανοσολογική διαφυγή και βασίζεται σε κυτοκίνες (TGFb, VEGF, IL-6), σε κατασταλτικά κύτταρα (MDSC), σε ρυθμιστικά T κύτταρα (Tregs) και στην απόκτηση ανθεκτικών φαινότυπων από τα καρκινικά κύτταρα (π.χ. απώλεια αντιγόνων) (30). Μια αποτελεσματική προσέγγιση της ανοσοθεραπείας απαιτεί την αναστολή των διαδικασιών που εμπλέκονται στην ανοσολογική διαφυγή και η Μετρονομική χημειοθεραπεία φαίνεται να αναχαιτίζει αυτά τα κατασταλτικά δίκτυα με πολλαπλούς τρόπους, όπως συζητούνται παρακάτω.



Εικόνα 18. Τα στάδια της ανοσοδιαμόρφωσης.

α. Επίδραση στα T ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs)

Τα Tregs είναι ανοσοκατασταλτικά T κύτταρα που εκφράζουν CD4, FOXP3 και CD25 (31). Έχουν προταθεί ως αναστολείς της επαγωγής και του πολλαπλασιασμού των T εκτελεστικών κυττάρων σε μια αντιγόνο-ειδική ανοσολογική φάση (32). Είναι υπεύθυνα για την αυτο-ανοχή, προλαμβάνοντας με αυτό τον τρόπο τις αυτοάνοσες αντιδράσεις, αλλά παίζουν επίσης βασικό ρόλο στην αποτυχία επίτευξης μιας αποτελεσματικής ανοσολογικής απάντησης έναντι των όγκων (33). Συγκεκριμένα αναστέλλουν τα εκτελεστικά T κύτταρα μέσω είτε της επαφής κυττάρου με κύτταρο είτε εκκρίνοντας διαλυτούς παράγοντες (34).

Διάφορα χημειοθεραπευτικά δείχνουν ότι μειώνουν τον αριθμό των Tregs κυττάρων, όταν χορηγούνται με μετρονομικό τρόπο. Μέσα σε αυτό το πλαίσιο, το πιο καλά χαρακτηρισμένο φάρμακο είναι η κυκλοφωσφαμίδη. Οι Ghiringhelli *et al.* έδειξαν ότι μονή δόση κυκλοφωσφαμίδης, οδήγησε σε δραστική μείωση των CD4/CD25 ρυθμιστικών T κυττάρων και αύξησε έτσι την αποτελεσματικότητα ενός τύπου ανοσοθεραπείας, η οποία αποτελούνταν από μια διαδερμική ένεση καρκινικών κυττάρων αναμιγμένων με το BCG εμβόλιο σε μοντέλο ποντικού με εντερικό καρκίνωμα (35). Οι Lutsiak *et al.* εκτός από τη μείωση στον αριθμό των κυττάρων έδειξαν ότι χαμηλή δόση κυκλοφωσφαμίδης κατέστρεψε και τη λειτουργικότητα των Tregs και ενεργοποίησε την έκφραση των GITR και FOXP3, που μεσολαβούν στη λειτουργία τους (36). Η εκλεκτική μείωση των Tregs συγκριτικά με τα T βοηθητικά και T κυτταροτοξικά κύτταρα πιθανόν στηρίζεται στον περιορισμό των ενδοκυτταρικών επιπέδων του ATP, που έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη σύνθεση γλουταθειόνης, διαταράσσοντας έτσι την αποτοξίνωση των κυττάρων (37). Επιπλέον τα Tregs φαίνεται να είναι εκλεκτικά στη χαμηλή δόση κυκλοφωσφαμίδης, εξαιτίας ελαττωμάτων στην επιδιόρθωση του DNA, σύμφωνα με τους Heylman *et al* (38).

Παρόλο τα ενθαρρυντικά προκλινικά στοιχεία, οι κλινικές έρευνες απέδωσαν αντιφατικά αποτελέσματα. Ghiringhelli *et al.* (39) , η μετρονομική δόση 50mg κυκλοφωσφαμίδης δύο φορές την ημέρα για μία εβδομάδα ακολουθούμενη από μία εβδομάδα κενού, για ένα μήνα θεραπείας ήταν αποτελεσματική στο να μειώσει τα ρυθμιστικά T κύτταρα σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο. Σε αντίθεση οι Ge *et al.* ανέφεραν ότι 50mg κυκλοφωσφαμίδης, η οποία χορηγείται ημερησίως, οδήγησε μόνο σε μια μικρή μείωση των Tregs, σε ένα διάστημα παρακολούθησης τριών μηνών, σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού (40). Οι Ellebaek *et al.* έδειξαν ότι 50mg κυκλοφωσφαμίδης δύο φορές την ημέρα για μία εβδομάδα, ακολουθούμενη από μία εβδομάδα διαλείμματος, απέτυχε να μειώσει τον αριθμό των Tregs κυττάρων, σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα, οι οποίοι έλαβαν και

εμβόλιο δενδριτικών κυττάρων (41). Από την άλλη μεριά ο συνδυασμός μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης και θεραπείας με ογκολυτικό ιό, μείωσε τα Tregs κύτταρα σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο, μετά από ένα μήνα θεραπείας (42). Αυτά τα αντικρουόμενα αποτελέσματα μπορούν να συσχετιστούν με τις διαφορές στο σχεδιασμό και στο συνδυασμό στρατηγικών θεραπείας που χρησιμοποιήθηκαν.

Εκτός της κυκλοφωσφαμίδης, διάφορα άλλα χημειοθεραπευτικά έχουν αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν τη μείωση των Tregs. Χαμηλές δόσεις της πακλιταξέλης κατέστειλε επιλεκτικά τον κυτταρικό αριθμό και τη λειτουργικότητα των Tregs μέσω της μειο-ρύθμισης της bcl-2 χωρίς να επηρεάζει τα εκτελεστικά T κύτταρα στο 3LL Lewis μοντέλο όγκου (43). Χαμηλές δόσεις του αντιμεταβολίτη γεμισιταβίνη επίσης μείωσαν τον κυτταρικό αριθμό των Tregs και βελτίωσαν την επιβίωση των πειραματόζων, σε μοντέλο ορθοτοπικού πορογενούς παγκρεατικού αδενοκαρκινώματος ποντικού (44). Όμως οι Koumarianou *et al.* (45) έδειξαν μια αύξηση στα Tregs σε ασθενείς που έλαβαν είτε στάνταρ είτε μετρονομική είτε με παράγοντες καταστροφής-DNA ή με μιτωτικούς παράγοντες. Οι ερευνητές υποστήριξαν ότι τα διαφορετικά αποτελέσματα αποτελούν ένα σύνολο του τρόπου σχεδιασμού και χορήγησης της θεραπείας, του τύπου και του σταδίου του καρκίνου αλλά ακόμα και της ανοσολογικής κατάστασης των ασθενών κατά τη διάρκεια της θεραπείας.

β. Ανοσογονικός κυτταρικός θάνατος (ICD)

Ανάλογα με το εναρκτήριο ερέθισμα, ο καρκινικός κυτταρικός θάνατος μπορεί να είναι ανοσογονικός ή μη ανοσογονικός. Ο ανοσογονικός κυτταρικός θάνατος (ICD) αναφέρεται στον τύπο του ρυθμιζόμενου κυτταρικού θανάτου που είναι σε θέση να προκαλέσει ανοσολογικές αποκρίσεις έναντι του καρκίνου (46).

Ο ICD περιλαμβάνει αλλαγές στη σύνθεση της κυτταρικής επιφάνειας καθώς και την απελευθέρωση διαλυτών μεσολαβητών, που εμφανίζονται με μια καθορισμένη χρονική αλληλουχία. Τέτοια σήματα στοχεύουν μια σειρά από υποδοχείς, που εκφράζονται από τα δενδριτικά κύτταρα, με σκοπό να διεγείρουν την παρουσίαση των καρκινικών αντιγόνων στα T κύτταρα.

Ειδικότερα, στηρίζεται στην απελευθέρωση των μοριακών μοτίβων που σχετίζονται με καταστροφές (DAMPs) από τα καρκινικά κύτταρα που υφίστανται απόπτωση, μετά από έκθεση σε ορισμένες κυτταροτοξικές προσβολές (47). Τα DAMPs, περιλαμβάνουν τις πρωτεΐνες που εμφανίζονται στην κυτταρική επιφάνεια είτε των στρεσαρισμένων είτε των θανόντων κυττάρων (όπως η καλρετικουλίνη και οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ, HSPs), τα τμήματα των λιπιδίων που αναστρέφονται

από το εσωτερικό μεμβρανικό φύλλο στο εξωτερικό μεμβρανικό φύλλο (όπως η φωσφατιδυλοσερίνη), τις πρωτεΐνες που απελευθερώνονται μέσα στο υπερκείμενο υγρό των κυττάρων (όπως η HMGB1), καθώς και τα νουκλεϊκά οξέα και τα προϊόντα της αποδόμησής τους (ολιγονουκλεοτίδια, νουκλεοτίδια, νουκλεοζίτες, ουρικό οξύ), τα οποία εμφανίζονται στον εξωκυτταρίο χώρο.

Στη συνέχεια, τα DAMPS επιστρατεύουν τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) για να αναλάβουν και να επεξεργαστούν αυτά τα σήματα και να παρουσιάσουν τα αντιγόνα που σχετίζονται με το θάνατο του κυττάρου προς τα T κύτταρα, προωθώντας έτσι μια προσαρμοστική ανοσολογική απόκριση κατά του όγκου (48).

Παρόλο που όλα τα χημειοθεραπευτικά επάγουν την απόπτωση, μόνο μερικά είναι ικανά να επιστρατεύσουν τα DAMPs και να οδηγήσουν σε ανοσογονικό κυτταρικό θάνατο (49). Οι ανθρακυκλίνες επάγουν τις πρωτεΐνες HSP70 και HSP90, καθώς και την καλρετικουλίνη, που αποτελούν σήματα "eat me" για τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα στη λευχαιμία και στους καρκίνους του προστάτη και των ωοθηκών και οδηγούν στην έκκριση της HMGB1, η οποία παίζει προ-φλεγμονώδη ρόλο (50). Επιπλέον η οξιλα-πλατίνα ενεργοποιεί τον ICD στα καρκινικά κύτταρα του εντέρου επάγοντας την έκκριση καλρετικουλίνης και την απελευθέρωση HMGB1, ενώ η cis-πλατίνα όχι (51). Τέλος η κυκλοφωσφαμίδη επάγει την έκκριση των παραπάνω παραγόντων και μέσω της ενεργοποίησης των δενδριτικών κυττάρων αλλά και της εκκίνησης της δράσης των T κυττάρων σε μοντέλα λεμφώματος και μελανώματος ποντικού (52).

Δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες μέχρι σήμερα, για την αποτελεσματικότητα της Μετρονομικής χημειοθεραπείας στον ICD. Αν όντως αποδειχθεί, θα ενισχύσει το σκεπτικό της ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω της χορήγησης χαμηλών δόσεων των χημειοθεραπευτικών (53). Επιπλέον, η κλινικά σημαντικές μετρονομικές συγκεντρώσεις διαφόρων κατηγοριών χημειοθεραπευτικών, που προσδιορίζονται από φαρμακοκινητικές μελέτες, θα μπορούσαν να εξεταστούν για την ικανότητα τους να επάγουν ανοσογονικό κυτταρικό θάνατο σε διάφορους τύπους καρκινικών κυττάρων (54).

γ. Δενδριτικά Κύτταρα(DCs)

Τα χημειοθεραπευτικά φαίνεται να έχουν και μία άμεση επίδραση στα δενδριτικά κύτταρα (DCs), εκτός της έμμεσης ενεργοποίησής τους μέσω της επαγωγής του ICD (55). Οι Tanaka *et al.* (56) απέδειξαν ότι η βινβλαστίνη ήταν το πιο αποτελεσματικό φάρμακο στην επαγωγή της ωρίμανσης των DCs *in vitro*

ανάμεσα σε 54 χημειοθεραπευτικά και η τοπική -μέσα στον όγκο- ένεση βινβλαστίνης προήγαγε τόσο την ωρίμανση των DCs, όσο και την T κυτταρική ανοσία. Σε αυτή την έρευνα η βινβλαστίνη φαίνεται να έχει δύο δράσεις: και άμεση επίδραση στα καρκινικά κύτταρα σκοτώνοντας αλλά και την έμμεση καταστροφή τους μέσω του ανοσοποιητικού. Η βινβλαστίνη, η μεθοτρεξάτη, η δοξορουβικίνη και η πακλιτεξάλη έχουν επίσης δείξει ενίσχυση της αντιγονοπαρουσιαστικής λειτουργίας των DCs σε χαμηλές μη κυτταροτοξικές δόσεις, μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου της IL-2 (57).

δ. Κατασταλτικά κύτταρα προερχόμενα από το μυελό (MDSC)

Τα κατασταλτικά κύτταρα προερχόμενα από το μυελό (MDSC) αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό από ανώριμα κύτταρα της γενεαλογικής σειράς του μυελού, με κατασταλτικές επιδράσεις τόσο στην έμφυτη όσο και στη προσαρμοστική ανοσία (58). Σε φυσιολογικές συνθήκες τα MDSC παραμένουν στο μυελό των οστών και διαφέρουν από τα μακροφάγα, τα κοκκιοκύτταρα και τα δενδριτικά, ενώ στον καρκίνο ή στη φλεγμονή διηθούν τον όγκο ή τις φλεγμονώδεις περιοχές αντίστοιχα, για να αναστείλουν την T και NK κυτταρική ενεργότητα μέσω των NO, ROS, RNS και της παραγωγής κυτοκινών (59). Υπάρχουν πολλές υποομάδες των MDSC. Γενικά στον ανθρώπινο φαινότυπο συναντώνται οι CD11b+, CD33+, HLA-PR0- πληθυσμοί. Υπάρχουν και τα μορφολογικά παρόμοια με κοκκιοκύτταρα G-MDSC, που εκφράζουν CD15 και τα παρόμοια με μονοκύτταρα (M-MDSC), που εκφράζουν CD14 (60).

Η ρύθμιση των MDSC για την αποτελεσματική ανοσοθεραπεία του καρκίνου και η εξάλειψη των MDSC με χημειοθεραπεία είναι αρκετά υποσχόμενη (61). Τα ανάλογα νουκλεοσιδίων αποτελούν τις κύριες γνωστές ουσίες για τη μείωση των MDSC. Η γεμισιταβίνη εκλεκτικά καταστρέφει τα MDSC της σπλήνας, χωρίς να μειώνει τον αριθμό άλλων ανοσοποιητικών κυττάρων αυξάνοντας επίσης την αντικαρκινική δράση των T και NK κυττάρων σε ποντίκια που φέρουν όγκους (62). Πιο πρόσφατα η γεμισιταβίνη φαίνεται να μειώνει τα MDSC και να ωθεί την εξάπλωση των T κυττάρων σε μοντέλο ποντικού με μαστικό καρκίνωμα (63). Οι Hansis *et al.* έδειξαν ότι η εβδομαδιαία χορήγηση της γεμισιταβίνης γρήγορα μείωσε τα MDSC επίπεδα σε μοντέλο πορογενούς παγκρεατικού αδενοκαρκινώματος ποντικού (64). Παρόλα αυτά ακολούθησε ανάκαμψη της κινητοποίησης των MDSC, η οποία αναστράφηκε τελικά με τη χρήση μετρονομικής γεμισιταβίνης. Ο συνδυασμός

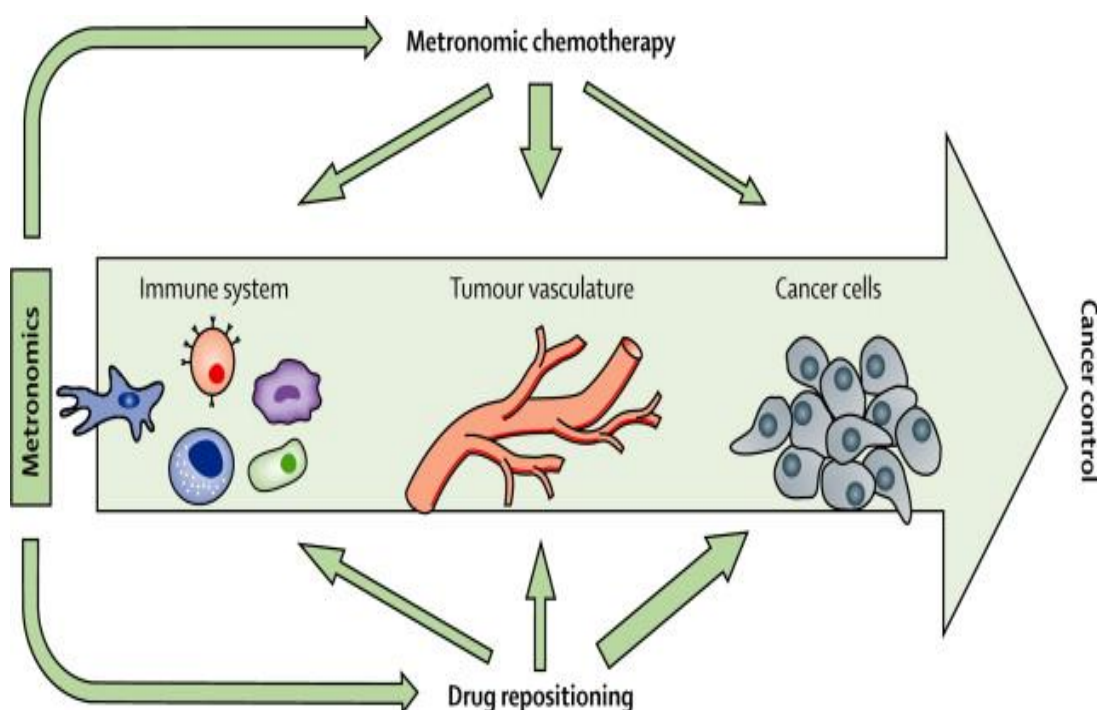
μετρονομικής αγωγής και εβδομαδιαίας χορήγησης γεμισταβίνης, βελτίωσε την έκβαση της θεραπείας. Επίσης οι Vincent *et al.* (65) έδειξαν ότι οι χαμηλές δόσεις του 5-FU, οι οποίες δεν είναι άμεσα κυτταροτοξικές στα καρκινικά κύτταρα, εκλεκτικά σκότωσαν τα MDSC, ενίσχυσαν την κυτταροτοξική ανοσία έναντι του όγκου και ανέστειλαν την ανάπτυξη του όγκου σε ποντίκια. Επιπλέον το 5-FU ήταν πιο αποτελεσματικό στο να προκαλέσει το θάνατο των MDSC σε σύγκριση με τη γεμισταβίνη.

Η ικανότητα της μείωσης των MDSC έχει αποδοθεί και σε άλλα χημειοθεραπευτικά. Μία πολύ χαμηλή κυτταροτοξική δόση της πακλιταξέλης μείωσε τον αριθμό των MDSC και αύξησε τη CD8 δραστηριότητα σε όγκους, αναστέλλοντας την ανάπτυξή τους και βελτίωσε την επιβίωση των ποντικών σε μοντέλο μελανώματος (66). Επίσης ο συνδυασμός μετρονομικής γεμισταβίνης και μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης εξασθένησε τα MDSC και τα Tregs, που μεσολαβούν στην ανοσοκαταστολή σε ποντικούς (67).

Παρόλα αυτά, σε μια πρόσφατη τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή φάσης II υπήρξαν παράδοξα αποτελέσματα (68). Η Μετρονομική κυκλοφωσφαμίδα συνδυασμένη με προσωποποιημένο εμβόλιο πεπτιδίου, οδήγησε στην αυξο-ρύθμιση των MDSC σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με προηγούμενες αναφορές, που έδειξαν ότι η χημειοθεραπεία βασισμένη σε κυκλοφωσφαμίδα, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των MDSC, μέσω της ώθησης χρόνιας φλεγμονής (69). Έτσι η σωστή επιλογή τόσο των ίδιων των χημειοθεραπευτικών όσο και των συνδυασμών τους, είναι κρίσιμη για την επιτυχία της ανοσορύθμισης μέσω της Μετρονομικής χημειοθεραπείας. Με σκοπό να πετύχουν όσο το δυνατόν περισσότερους στόχους του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, οι Wang *et al.* μελέτησαν την επίδραση του συνδυασμού μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης και λεναλιδομίδης. Ο συνδυασμός αυτός ρύθμιζε τα MDSC και Tregs, μειώνοντας τα (70). Στο πείραμα σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη, ο συνδυασμός αυτός ήταν αποτελεσματικό στη μείωση των MDSC, όχι όμως και των Tregs.

Εν κατακλείδι, η Μετρονομική χημειοθεραπεία μπορεί να επηρεάσει άμεσα τα καρκινικά κύτταρα, το αγγειακό σύστημα του όγκου και αλλά και το ίδιο το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού. Είναι σημαντικό, ότι μπορούν να υπάρξουν συνδυασμοί μεταξύ των τριών αυτών πεδίων, οι οποίες θα ενισχύσουν περαιτέρω τα αντικαρκινικά αποτελέσματα αυτής της θεραπευτικής προσέγγισης.

Η κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην ενδογενή και στην επίκτητη αντίσταση στη μετρονομική χημειοθεραπεία παραμένει αρκετά περιορισμένη. Περισσότερες έρευνες πρέπει να αφιερωθούν στην αποκρυπτογράφηση των μηχανισμών, καθώς αυτές οι μελέτες θα μπορούν όχι μόνο να αυξήσουν τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα αλλά και να εντοπίσουν πιο αξιόπιστους βιοδείκτες ώστε να επιλέγονται οι ασθενείς ή/και ο τρόπος παρακολούθησης της θεραπείας.



Εικόνα 19. Σχεδιάγραμμα επιδράσεων και αλληλεπιδράσεων της Μετρονομικής χημειοθεραπείας, του αναπροσανατολισμού των φαρμάκων, της αγγειογένεσης, του ανοσοποιητικού συστήματος και των καρκινικών κυττάρων, για τον έλεγχο του όγκου.

B. Ανοσοθεραπεία

Η ανοσοθεραπεία είναι η θεραπευτική μέθοδος (20), που χρησιμοποιεί το ανοσοποιητικό σύστημα, στον αγώνα κατά ορισμένων ασθενειών όπως ο καρκίνος. Η χρήση του ανοσοποιητικού μας συστήματος στην θεραπεία του καρκίνου, μπορεί να γίνει με δύο τουλάχιστον τρόπους:

- Με την διέγερση του συστήματος και την «επίθεσή» του στα καρκινικά κύτταρα.
- Με την χορήγηση παραγόντων, όπως π.χ. συνθετικές πρωτεΐνες, που ενισχύουν την ανοσιακή απάντηση.

Τα τελευταία δέκα χρόνια, η ανοσοθεραπεία αποτελεί σημαντικό μέρος των θεραπευτικών προσεγγίσεων στη μάχη με τον καρκίνο και έχει αλλάξει τη θεραπευτική αντιμετώπιση και την πορεία ορισμένων μορφών καρκίνου με πολύ κακή πρόγνωση, όπως το μεταστατικό μελάνωμα (4). Η διεξαγωγή μεθοδικής και εντατικής έρευνας, έχει σαν αποτέλεσμα την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών παραγόντων με διαφορετικούς τρόπους επίδρασης στο ανοσοποιητικό σύστημα, με τελικό στόχο την συνολική αντιμετώπιση του καρκίνου στο μέλλον. Η ανοσοθεραπεία δεν δρα σε όλους τους καρκίνους. Μπορεί να έχει σημαντική δράση σε ορισμένα νεοπλασμάτα σαν μονοθεραπεία ή να είναι δραστική σε άλλα μόνο σε συνδυασμό με άλλες θεραπευτικές μεθόδους.

1. Τύποι καρκινικής ανοσοθεραπείας

Οι βασικοί τύποι ανοσοθεραπείας στον καρκίνο είναι:

1. Εμβόλια: (20) Είναι γνωστό στους περισσότερους ότι τα εμβόλια χορηγούνται σε υγιείς ανθρώπους για την πρόληψη λοιμώξεων. Στα εμβόλια αυτού του τύπου χρησιμοποιούνται εξασθενημένοι ιοί ή μικρόβια, τα οποία ενεργοποιούν την έναρξη της ανοσολογικής απάντησης. Στην Ογκολογία κάποια εμβόλια χρησιμοποιούνται στην πρόληψη καρκίνων, που οφείλονται σε ιούς, όπως τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papilloma Virus – HPV), που είναι υπεύθυνος για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, του λάρυγγα, του πρωκτού κ.ά. ή τον ιό της Ηπατίτιδας Β, που θεωρείται υπεύθυνος για τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο. Εμβόλια, που προφυλάσσουν από λοιμώξεις με τέτοιους ιούς, συμβάλουν στην πρόληψη και των συγκεκριμένων καρκίνων. Τα εμβόλια αυτά (π.χ. Cervarix, Gardasil) ανήκουν

στην κατηγορία των παραδοσιακών εμβολίων και χρησιμεύουν μόνο για τους καρκίνους, που οφείλονται σε λοιμώξεις.

Εκτός όμως από την πρόληψη, ορισμένα εμβόλια χρησιμοποιούνται στην θεραπεία κάποιων καρκίνων. Τα συγκεκριμένα εμβόλια προσπαθούν να προκαλέσουν την κινητοποίηση και την επίθεση του ανοσιακού συστήματος κατά των καρκινικών κυττάρων. Στη δημιουργία τέτοιων εμβολίων χρησιμοποιούνται καρκινικά κύτταρα, μέρη κυττάρων ή καθαρά αντιγόνα. Ορισμένα εμβόλια χρησιμοποιούν κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος του ίδιου του ασθενούς. Τα συγκεκριμένα εμβόλια επιτίθενται στα καρκινικά κύτταρα με ένα ή περισσότερα αντιγόνα. Είναι γνωστό ότι ο καρκίνος είναι αποτέλεσμα πολλαπλών μεταλλάξεων, οι οποίες μπορεί να είναι διαφορετικές σε κάθε ασθενή. Επομένως η εξατομίκευση της θεραπείας με εμβόλια, αποτελεί αντικείμενο μελλοντικών μελετών.

Ένας τύπος εμβολίου για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού κατά του καρκίνου, που συναντάται συχνά σε προκλινικά και κλινικά στάδια και αξίζει να αναφερθεί, είναι το εμβόλιο δενδριτικών κυττάρων. Μόλις πρόσφατα (2010) έχει εγκριθεί από τον FDA των ΗΠΑ και αποτελεί μια ανοσολογική θεραπεία, η οποία εκμεταλλεύεται το ίδιο το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού για την καταπολέμηση του καρκίνου. Τα ίδια τα δενδριτικά κύτταρα είναι ανοσιακά κύτταρο, που ο ρόλος είναι η αναγνώριση, η επεξεργασία και η παρουσίαση των ξένων αντιγόνων στα T-κύτταρα. Αν και τα δενδριτικά κύτταρα είναι ισχυρά κύτταρα, δεν είναι συνήθως παρόντα σε επαρκή ποσότητα για να καταστεί δυνατή μια ισχυρή ανοσοαπόκριση. Η δενδριτική κυτταρική θεραπεία περιλαμβάνει τη συγκομιδή των κυττάρων του αίματος (μονοκύτταρα) από έναν ασθενή και την επεξεργασία τους στο εργαστήριο για την παραγωγή δενδριτικών κυττάρων, τα οποία στη συνέχεια θα δοθούν πίσω στον ασθενή, ώστε να επιτραπεί μια μαζική συμμετοχή δενδριτικών κυττάρων για την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος.

2. Μονοκλωνικά αντισώματα: (20) Ένας από τους τρόπους επίθεσης του ανοσοποιητικού σε ξένες ουσίες είναι η δημιουργία αντισωμάτων, δηλαδή ειδικών πρωτεϊνών, που εξουδετερώνουν άλλες πρωτεΐνες – εισβολείς, τα αντιγόνα. Το 1975 οι George Kohler και Cesar Milstein, βραβεύθηκαν με το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας, για την δημιουργία αθάνατων αντισωμάτων κατά γνωστών αντιγόνων, από την σύντηξη κυτταρικών σειρών μυελώματος με B κύτταρα ποντικού. Το 1988 ο Greg Winter και η ομάδα του κατάφεραν να βρουν την τεχνική για την παρασκευή εξανθρωποποιημένων μονοκλωνικών αντισωμάτων, που μοιάζουν πολύ με τα ανθρώπινα.

Για την δημιουργία ενός εξειδικευμένου μονοκλωνικού αντισώματος, οι ερευνητές πρέπει πρώτα να εντοπίσουν το κατάλληλο αντιγόνο, στο οποίο θα

επιτεθεί το αντίσωμα. Στον καρκίνο αυτό δεν είναι πάντα εύκολο. Πολλά μονοκλωνικά αντισώματα έχουν εγκριθεί και κυκλοφορούν τις τελευταίες δύο δεκαετίες και κάποια από αυτά έχουν αλλάξει την πορεία ορισμένων καρκίνων. Σε ποσοστό 20-30%, του καρκίνου του μαστού υπερεκφράζεται ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER-2). Η υπερέκφραση του HER-2 σχετίζεται με επιθετικό φαινότυπο και κακή πρόγνωση. Η τραστοζουμάμπη, ένα ανασυνδυασμένο μονοκλωνικό αντίσωμα, που δεσμεύεται από το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα του HER-2, έχει αλλάξει την πορεία και την πρόγνωση τόσο του μεταστατικού όσο και του πρώιμου καρκίνου του μαστού. Δύο μονοκλωνικά αντισώματα, που δεσμεύονται από τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, EGFR (σετουξιμάμπη, πανιτουμουμάμπη) είναι δραστικά στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Ένα άλλο αντίσωμα, η μπεβασισουμάμπη (Avastin), που αναστέλλει την δημιουργία νέων αγγείων μέσω της δράσης του στον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF), έχει πάρει έγκριση και χορηγείται με επιτυχία στον μεταστατικό καρκίνο του πνεύμονα, του παχέος εντέρου και του νεφρού. Τέλος το μονοκλωνικό αντίσωμα ριτουξιμάμπη, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του υποτροπιάζοντος μη Hodgkin λεμφώματος. Υπάρχουν μονοκλωνικά αντισώματα, που ασκούν την δράση τους μέσω σύνδεσης με άλλους παράγοντες όπως ραδιοϊσότοπα ή χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Ένα παράδειγμα σύνδεσης με χημειοθεραπευτικό παράγοντα είναι το φάρμακο TDM-1 (Kadcyla), ένα αντίσωμα, που στοχεύει την πρωτεΐνη HER-2, και συνδέεται με το χημειοθεραπευτικό DM-1, για την αντιμετώπιση του μεταστατικού καρκίνου του μαστού με ενίσχυση της πρωτεΐνης HER-2.

3. Αναστολείς των σημείων ανοσιακού ελέγχου (Immune Checkpoint Inhibitors): (71) Όταν εντοπίζεται ένα «ξένο» κύτταρο, το ανοσοποιητικό σύστημα του επιτίθεται, χρησιμοποιώντας σημεία ελέγχου, μόρια δηλαδή ορισμένων ανοσοκυττάρων, που χρειάζεται να δραστηριοποιηθούν (ή να αδρανοποιηθούν) προκειμένου να ξεκινήσει η ανοσιακή απάντηση στον εισβολέα, προφυλάσσοντας τα υγιή κύτταρα. Τα καρκινικά κύτταρα όμως, είναι αρκετά «πονηρά», ώστε να βρίσκουν τρόπους να χρησιμοποιούν αυτά τα «οδοφράγματα» για να αποφύγουν ή να αποκρούσουν την επίθεση του ανοσοποιητικού.

Την τελευταία πενταετία, αναπτύχθηκαν νέα πολλά υποσχόμενα φάρμακα, που στοχεύουν τα σημεία ελέγχου και επιτρέπουν την επίθεση των λεμφοκυττάρων και την τελική καταστροφή του καρκινικού κυττάρου. Φάρμακα όπως η νοβολουμάμπη ή η πεμπροζιλουμάμπη, είναι πολύ δραστικά στην αντιμετώπιση του μεταστατικού μελανώματος, επιτρέποντας σε κάποιους ασθενείς να ζήσουν πολύ περισσότερο με καλή ποιότητα ζωής. Φαίνεται από τελευταίες μελέτες, ότι είναι δραστικά και σε άλλους καρκίνους όπως ο καρκίνος του πνεύμονα, του νεφρού και

του παχέος εντέρου. Διεξάγονται πολλές μελέτες συνδυασμών με άλλα φάρμακα, που υπόσχονται πολλά για την αντιμετώπιση ορισμένων τουλάχιστον μορφών καρκίνου, που είχαν πολύ μικρές δυνατότητες αντιμετώπισης με πολύ πτωχά αποτελέσματα μέχρι σήμερα. Με τα σημερινά δεδομένα αντιμετωπίζουμε το μέλλον με αισιοδοξία και μπορούμε πλέον να πούμε ότι το 70% των καρκίνων ξεπερνάει την πενταετή επιβίωση, γεγονός, που σε πολλές περιπτώσεις σημαίνει ίαση.

Όμως τα φάρμακα αυτά είναι αποτελεσματικά μόνο για το 20-25% όλων των νεοπλασμάτων. Επίσης, είναι ικανά να προκαλέσουν αυτοανοσία στους ασθενείς με απόκριση. Οι παρενέργειες αυτή τη στιγμή αντιμετωπίζονται, σε μερικούς ασθενείς, με τη χρήση στεροειδών, αλλά μελετώντας περισσότερο αυτά τα σηματοδοτικά μονοπάτια, μελλοντικά ίσως κάποιες τοξικότητες αποκλειστούν.

Ένας λόγος, που οι περισσότεροι καρκίνοι δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία με τους αναστολείς των σημείων ανοσιακού ελέγχου, είναι ότι τα καρκινικά κύτταρα αναστέλλουν μια πληθώρα σηματοδοτικών μονοπατιών, που επηρεάζουν την T-κυτταρική λειτουργία. Εκτός από τα θεραπευτικά, που έχουν ήδη εγκριθεί και χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη και στοχεύουν στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού μέσω των C..... και PD-1/PD-L1, ήδη μελετώνται φάρμακα και για άλλα σημεία ανοσιακού ελέγχου, όπως τα IDO, CD40, OX40, TIM-3, LAG-3 και KIR. Σε κλινικές δοκιμές θα χρησιμοποιηθούν μόνο τους ή σε συνδυασμό με τα PD-1/PD-L1 φάρμακα, και μερικά από αυτά πιθανό να εγκριθούν μέσα στα επόμενα χρόνια.

4. Κυτοκίνες: (20) Οι κυτοκίνες αποτελούν μία από τις 100 ομάδες πρωτεϊνών, οι οποίες παράγονται πρωτογενώς από τα λευκά αιμοσφαίρια. Παρέχουν μηνύματα για να ρυθμίσουν ανοσολογικά θέματα της κυτταρικής αύξησης και της λειτουργίας της φλεγμονής, αλλά και των ειδικών ανοσολογικών αντιδράσεων. Κάθε κυτοκίνη εκκρίνεται από ένα ειδικό κύτταρο σε αντίδραση έναντι του ειδικού ερεθίσματος. Στην ανοσοθεραπεία δύο τύποι κυτοκινών χρησιμοποιούνται ως θεραπευτικά, οι ιντερφερόνες και οι ιντερλευκίνες.

Οι ιντερφερόνες είναι κυτοκίνες, που υπάρχουν φυσιολογικά μέσα στο σώμα μας. Υπάρχουν διάφορα είδη ιντερφερονών. Το είδος, που χρησιμοποιείται συνήθως στη θεραπεία του καρκίνου, ονομάζεται ιντερφερόνη άλφα (IFN α -2a και IFN α -2b). Οι ιντερφερόνες μπορεί να εμποδίζουν απευθείας τα καρκινικά κύτταρα ή μπορεί να διεγείρουν άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι ιντερφερόνες χρησιμοποιούνται σε μια σειρά παθήσεων, όπως η λευχαιμία τριχωτών κυττάρων, τα μελανώματα, η χρόνια μυελογενής λευχαιμία και το σάρκωμα Kaposi που σχετίζεται με την ασθένεια του AIDS. Μελετώνται επίσης για πιθανή χρήση στη θεραπεία μεταστατικού καρκίνου των νεφρών και στο μη Hodgkin λέμφωμα.

Όπως και οι ιντερφερόνες, οι ιντερλευκίνες είναι ένας τύπος κυτοκίνης. Η ιντερλευκίνη 2 (IL-2), η πιο ευρέως μελετημένη ιντερλευκίνη, δουλεύει διεγείροντας άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, που μπορούν να καταστρέψουν καρκινικά κύτταρα. Έχει εγκριθεί για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου των νεφρών και του μεταστατικού μελανώματος και μελετάται ως θεραπεία για διάφορους άλλους καρκίνους.

5. Αυξητικοί παράγοντες: (20) Αντί να δουν απευθείας στα καρκινικά κύτταρα, οι αυξητικοί παράγοντες (CSFs), διευκολύνουν την παραγωγή λευκών αιμοσφαιρίων. Η χημειοθεραπεία συνήθως δυσχεραίνει τις λειτουργίες του μυελού των οστών, συμπεριλαμβανομένης και της παραγωγής λευκών αιμοσφαιρίων, αιμοπεταλίων και ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ο μειωμένος αριθμός αυτών των κυττάρων κάνει τον οργανισμό πιο ευάλωτο σε μολύνσεις. Οι αυξητικοί παράγοντες μπορεί να επιτρέψουν την καλύτερη ανοχή της χημειοθεραπείας με μικρότερες πιθανότητες ανάπτυξης μόλυνσης ή με λιγότερη κόπωση που οφείλεται στην αναιμία που προέρχεται από την χημειοθεραπεία.

Ο ρόλος του ανοσοποιητικού συστήματος στον έλεγχο του καρκίνου αποτελεί θέμα συζητήσεων για την επιστημονική κοινότητα πάνω από έναν αιώνα. Το πεδίο της ανοσολογίας του καρκίνου έχει προχωρήσει με τη γνώση που λαμβάνεται από τις μελέτες σε πειραματόζωα, από τις συσσωρευμένες κλινικές παρατηρήσεις και από τη μεταφραστική έρευνα. Είναι ενδιαφέρον ότι, αρχής γενομένης του 1900 και για τα επόμενα 50 έτη, τρεις κύριες θεωρίες έχουν προταθεί, ώστε να συμβάλλουν στην κατανόησή μας στις επιδράσεις του ανοσοποιητικού συστήματος στη νόσο του καρκίνου.

Η πρώτη θεωρία προτάθηκε από τον Paul Ehrlich ως η προστατευτική δράση του ανοσοποιητικού στον καρκίνο, ακολουθούμενη από την έννοια της "ανοσοεπιτήρησης του καρκίνου" ("cancer immunosurveillance") των Burnet and Thomas και πρόσφατα από την έννοια της "ανοσοδιαμόρφωσης του καρκίνου" ("cancer immunoediting") από τους Schreiber, Old and Smyth's. Η "ανοσοεπιτήρηση του καρκίνου" στην αρχή σήμαινε απλά ότι το ανοσοποιητικό σύστημα συμμετέχει στα πρώτα στάδια του κυτταρικού μετασχηματισμού και ότι διαθέτει αποκλειστικά προστατευτικό ρόλο. Πλέον, με τον όρο «ανοσοδιαμόρφωση του καρκίνου» περιγράφονται καλύτερα τόσο οι θετικές όσο και οι αρνητικές μορφές δράσεις της ανοσολογικής απόκρισης καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης των όγκων. Αυτή η διαδικασία μπορεί ενδεχομένως να οδηγήσει στην πλήρη εξάλειψη ορισμένων όγκων, αλλά μπορεί επίσης να δημιουργήσει μια μη προστατευτική ανοσολογική κατάσταση σε άλλους όγκους, ευνοώντας πιθανόν με αυτό τον τρόπο την ανάπτυξη ανοσολογικής διαφυγής. Ως εκ τούτου, η κατανόηση της κατάστασης και της

αλληλεπίδρασης μεταξύ του μικροπεριβάλλοντος του όγκου και του ανοσοποιητικού συστήματος έχει καθοριστική σημασία για τις αντικαρκινικές στρατηγικές της ανοσοθεραπείας.

Η διείσδυση T CD8+ κυττάρων σε ορισμένους ανθρώπινους όγκους συνδέεται με βελτιωμένη κλινική έκβαση. Συσσωρευμένα στοιχεία δείχνουν ότι οι όγκοι μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ομάδες: στους μη ευαίσθητους ανοσολογικά όγκους και στους ευαίσθητους ανοσολογικά όγκους (ή αλλιώς: στους όγκους με μη φλεγμονώδη φαινότυπο ή στους όγκους με φλεγμονώδη φαινότυπο), με βάση την παρουσία ή απουσία του διείσδυσης ανοσοποιητικών κυττάρων. Οι κλινικά ανιχνεύσιμοι όγκοι συνήθως έχουν ήδη αναπτύξει μηχανισμούς για να αποφύγουν μία ανοσολογική απόκριση. Ο μηχανισμός ανοσοποιητικής διαφυγής μπορεί να είναι διαφορετικός για κάθε τύπο όγκου, ο οποίος μπορεί να περιλαμβάνει μία ή πολλαπλές βαθμίδες του κύκλου καρκίνου-ανοσίας. Οι όγκοι, οι οποίοι δεν είναι ευαίσθητοι ανοσολογικά ίσως προκαλούνται από ένα χαμηλό φορτίο μετάλλαξης, από τη δημιουργία ανοσολογικής ανοχής έναντι αυτο-αντιγόνων και από την έλλειψη των απαραίτητων χημειοκινών και άλλων μορίων απαραίτητων για την αυτοκατευθυνόμενη διείσδυση των T κυττάρων σε καρκινικές περιοχές. Σε αντίθεση, η εξέλιξη των ανοσολογικά ευαίσθητων (αποκρινόμενων) όγκων με διείσδυση των T κυττάρων υποδηλώνει μια ανεπαρκή ανταπόκριση, που είναι πιθανόν να οφείλεται τόσο σε ενδογενή ανοσολογική αναστολή των T κυττάρων όσο και σε εξωγενή σχετική με τον όγκο ανοσοκαταστολή των T κυττάρων. Η εσωτερική ανοσοκαταστολή των T κυττάρων περιλαμβάνει τη διακοπή της δράσης και την εξάντληση των ενεργοποιημένων T κυττάρων μέσω ενδογενών μορίων των σημείων του ανοσιακού ελέγχου (immune checkpoints) συμπεριλαμβανομένων, του σχετικού με τα T κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα αντιγόνου 4 (CTLA-4), της πρωτεΐνης του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1), της ανοσοσφαιρίνης βλεννίνης-3 T κυττάρου (TIM-3) και του γονιδίου-3 ενεργοποίησης λεμφοκυττάρων (LAG-3). Η έκκριση εξωγενών ανασταλτικών μορίων όπως του TOP-β, της IL-10 και της 2,3 δυοεξυγενάσης της ινδολοαμίνης (IDO) θα μπορούσε να έχει άμεσες αρνητικές επιπτώσεις στην λειτουργία των T κυττάρων στο μικροπεριβάλλον του όγκου και στη στρατολόγηση των αντι-φλεγμονωδών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ανεκτικογόνων αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, των T ρυθμιστικών κυττάρων (Tregs) και των κατασταλτικών κυττάρων που προέρχονται από το μυελό (MDSCs). Αυτά τα κατασταλτικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος μπορούν επίσης να αναστείλουν και τις ενέργειες των κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων.

Μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση είναι αυτή, που θα καταφέρει να εμποδίσει τους παραπάνω ανοσοκατασταλτικούς μηχανισμούς για να αυξήσει τη

λειτουργία των ενδογενών αντικαρκινικών Τ κυττάρων, τα οποία μπορούν να προσφέρουν μια ισχυρά και αποτελεσματική κλινική ανταπόκριση. Αντισώματα αποκλεισμού εναντίον μορίων του σημείου ελέγχου των Τ κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων του CTLA-4 και του PD-1/PD-L1 άξονα σε μόνο- ή συνδυασμούς θεραπειών έχουν φέρει επαναστατικό αέρα στο σημερινό πρότυπο θεραπείας του καρκίνου, σε διάφορους τύπους καρκίνου, όπως το μελάνωμα, το μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC), τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης και το Hodgkin λέμφωμα. Οι ευαίσθητοι ανοσολογικά όγκοι είναι πιο πιθανό να ανταποκριθούν σε αυτές τις θεραπείες αντισωμάτων αποκλεισμού, από ότι οι ανοσολογικά μη ευαίσθητοι όγκοι.

2. Σημεία ανοσιακού ελέγχου (Immune checkpoints)

Η ανοσολογική απάντηση των Τ κυττάρων ρυθμίζεται μέσω "on and off" διακοπών, που ονομάζονται "immune checkpoints" (σημεία ανοσιακού ελέγχου), τα οποία φυσιολογικά προστατεύουν τον οργανισμό από πιθανές βλάβες κατά τη διάρκεια των ανοσολογικών αποκρίσεων. Ο κύριος διακόπτης για την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων, θεωρείται ότι είναι ο CTLA-4. Το γονίδιο, που εκφράζει το CTLA-4 κλωνοποιήθηκε πρώτη φορά το 1987. Παραλλαγές στο γονίδιο αυτό έχουν συνδεθεί με τον εξαρτώμενο από την ινσουλίνη σακχαρώδη διαβήτη, με τη νόσο του Graves, με τη θυρεοειδίτιδα του Hashimoto, με την κοιλιοκάκη, με το συστηματικό ερυθηματώδη λύκο και με άλλες αυτοάνοσες ασθένειες. Τα επόμενα χρόνια αποσαφηνίστηκαν και άλλα checkpoints του ανοσοποιητικού, όπως το PD-1/PDL-1, με διαφορετικούς μηχανισμούς μεταξύ τους.

Συνοπτικά, η διαδικασία της ενεργοποίησης ενός κυτταροτοξικού Τ-λεμφοκυττάρου από ένα αντιγόνο, περιλαμβάνει την παρουσίαση του αντιγόνου στο MHC II σύμπλεγμα ενός δενδριτικού κυττάρου που θα αλληλεπιδράσει με τον TCR υποδοχέα ενός Τ-λεμφοκυττάρου που θα οδηγήσει στην ανάπτυξη ειδικών για το αντιγόνο υποδοχέων στο Τ-λεμφοκύτταρο. Παράλληλα της αλληλεπίδρασης MHC/TCR πρέπει να υπάρχει σύνδεση και άλλων ευοδωτικών προσδετών του δενδριτικού κυττάρου στο Τ-λεμφοκύτταρο όπως είναι το CD80/86 στο CD28 για να ενισχυθεί το σηματοδοτικό μονοπάτι και να επαχθεί και η έκφραση της IL-2 που θα ενισχύσει την διέγερση και επέκταση του κλώνου των ειδικών Τ-κυττάρων. Παράλληλα, βέβαια επάγονται και κατασταλτικά σηματοδοτικά μόρια όπως είναι το CTLA-4 που δρουν ανταγωνιστικά του CD28 για σύνδεση στο CD80/86 ώστε να περιοριστεί η έκταση της ανοσιακής απόκρισης.

3. Το CTLA-4 ως ανοσιακό σημείο ελέγχου

Ακριβώς αυτό το μηχανισμό που αποτελεί το πρώτο σημείο ελέγχου της ειδικής T-ανοσίας μπορούμε να εκμεταλλευθούμε θεραπευτικά στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου (72). Η ανάπτυξη αντι-CTLA-4 αντισωμάτων είχε ως συνέπεια την απελευθέρωση της ενεργοποίησης των T- λεμφοκυττάρων από την κατασταλτική δράση του CTLA-4 οπότε και την αυξημένη δράση των κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων στους όγκους (73). Το πρώτο αντι-CTLA-4 αντίσωμα με κλινική δράση, η ιπιλιμουμάμπη έδειξε μεγάλη κλινική αποτελεσματικότητα στο μελάνωμα. Σε μια φάσης III τυχαιοποιημένη μελέτη σε σύγκριση με το πεπτιδικό εμβόλιο gp100 κατέδειξε σημαντικό όφελος στην συνολική επιβίωση των ασθενών με μελάνωμα, που είχαν λάβει προηγούμενη αγωγή. Αντίστοιχα σημαντικό όφελος από τη θεραπεία με ιπιλιμουμάμπη καταδείχθηκε όταν το φάρμακο συνδυάστηκε με δακαρβαζίνη στην πρώτη γραμμή, σε σύγκριση με μονοθεραπεία με δακαρβαζίνη.

Αυτό που θα πρέπει να σημειωθεί ιδιαίτερα από τις μελέτες της ιπιλιμουμάμπης δεν είναι μόνο η σημαντική αύξηση της συνολικής επιβίωσης των ασθενών, αλλά και το γεγονός ότι η ουρά της καμπύλης επιβίωσης των ασθενών που έλαβαν ιπιλιμουμάμπη εμφανίζει "πλατώ" μετά 3 χρόνια, καταδεικνύοντας ότι το φάρμακο προφέρει μακροχρόνια ύφεση – και πιθανώς θεραπεία – σε έναν αριθμό ασθενών που προσεγγίζει το 22%, όπως φάνηκε σε πρόσφατη μετανάλυση (73). Αντίστοιχο όφελος κατέδειξε η χρήση ιπιλιμουμάμπης ως επικουρική θεραπεία σε ασθενείς με στάδιο III μελανώματος. Η προσθήκη της ιπιλιμουμάμπης αύξησε το διάστημα μέχρι την υποτροπή της νόσου από 17,1 μήνες σε ασθενείς που πήραν εικονικό φάρμακο, στους 26,1 (HR=0,75, p=0,0013). Βέβαια, η μελέτη αυτή δέχθηκε κριτική καθώς η ιπιλιμουμάμπη συγκρίθηκε με εικονικό φάρμακο και όχι με την INF- γ , που χρησιμοποιείται στην επικουρική θεραπεία του μελανώματος. Επιπλέον, στο σκέλος της ιπιλιμουμάμπης υπήρχαν 5 θάνατοι σχετιζόμενοι με τη θεραπεία. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για να εισαχθεί το φάρμακο αυτό και ως επικουρική θεραπεία του μελανώματος. Η χρήση της ανοσοθεραπείας με ιπιλιμουμάμπη ανέδειξε και μια σειρά νέων τοξικοτήτων που σχετίζονται με την υπερενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος (73).

Οι κυριότερες σχετιζόμενες με την ανοσοθεραπεία ανεπιθύμητες ενέργειες είναι η δερματολογική τοξικότητα (εξάνθημα, κνησμός, λεύκη), η ηπατική τοξικότητα (ηπατίτιδα, αύξηση τρανσαμινασών), εντεροκολίτιδα και ενδοκρινοπάθειες (υποφυσίτιδα, θυρεοειδίτιδα, επινεφριδιακή ανεπάρκεια) (72). Η επέκταση της χρήσης της ιπιλιμουμάμπης έχει βοηθήσει ώστε οι τοξικότητες αυτές να

διαγιγνώσκονται πλέον έγκαιρα και να είναι καλύτερα διαχειρίσιμες με τη χρήση ανοσοκατασταλτικών ή και τη διακοπή του φαρμάκου.

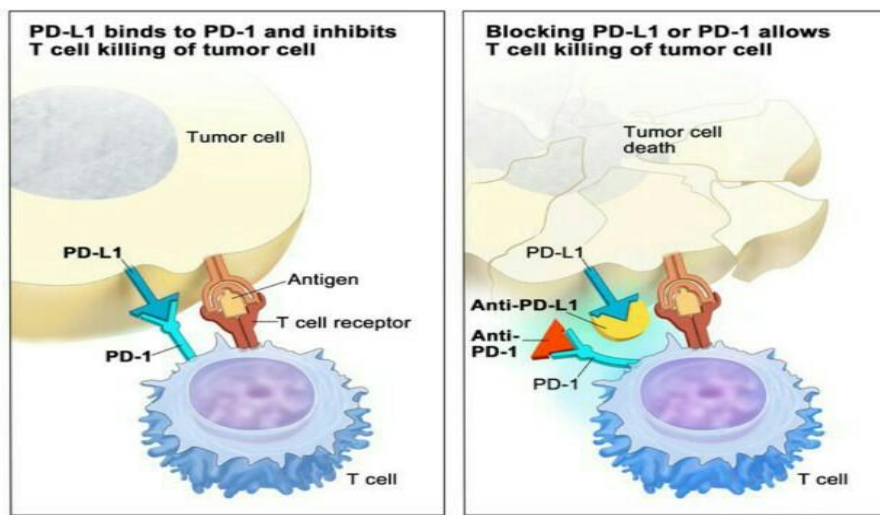
Ένα άλλο αντι-CTLA-4 αντίσωμα (73), η τρεμελιμουμάμπη απέτυχε να δείξει όφελος στην συνολική επιβίωση σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα που δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία όταν συγκρίθηκε με χημειοθεραπεία με δακαρβαζίνη ή τεμοζολαμίδη και δεν έχει πάρει έγκριση στο μελάνωμα. Το φάρμακο αυτό όμως έχει αποτελεσματικότητα σε ασθενείς με μεσοθηλίωμα και πήρε πρόσφατα έγκριση από τον FDA. Αντίστοιχα και η ιπιλιμουμάμπη (73) έχει δοκιμαστεί και σε άλλα νεοπλασμάτα όπως είναι ο καρκίνος του πνεύμονα και του προστάτη χωρίς όμως να δείξει όφελος στην συνολική επιβίωση, παρότι οι μετα-αναλύσεις έδειξαν πιθανά όφελος σε συγκεκριμένες ομάδες πληθυσμού.

4. Το PD-1/PD-L1 ως ανοσιακό σημείο ελέγχου

Ένα δεύτερο σημείο ελέγχου της ανοσιακής απόκρισης είναι αυτό μεταξύ του ενεργοποιημένου T-λεμφοκυττάρου και του οργάνου στόχου. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως τα καρκινικά κύτταρα εκφράζουν διάφορους ανασταλτικούς συνδέτες στην επιφάνειά τους, αποτρέποντας τη δράση των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων (71). Το κυριότερα από αυτά, είναι ο συνδέτης PD-L1 που συνδέεται με τον υποδοχέα PD-1 (Programmed Death 1) του λεμφοκυττάρου. Η ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι είτε του υποδοχέα (PD-1) είτε του προσδέματος (PD-L1) έχει σαν συνέπεια την διακοπή της κατασταλτικής επίδρασης επί των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων εκλύοντας την αντινεοπλασματική ανοσιακή απόκριση (74).

Το PD-1/PD-L1 immune checkpoint είναι λειτουργικό σε περιφερικούς ιστούς και χρησιμεύει ως αρνητικός ρυθμιστής των T κυττάρων, ώστε να βοηθήσει στον έλεγχο των τοπικών φλεγμονωδών αποκρίσεων και στη διατήρηση της αυτο-ανοχής. Ο PD-1 εκφράζεται στα ενεργοποιημένα T-κύτταρα, στα κύτταρα φυσικούς φονείς NK, και στα B κύτταρα. Δύο γνωστά του προσδέματα είναι ο PD-L1 (B7-H1) και ο PD-L2 (B7-DC) (74). Ο PD-L1 εκφράζεται ιδιοσυστατικά και σε ένα υποσύνολο μακροφάγων, αλλά μπορεί να αυξο-ρυθμίζεται γρήγορα από έναν αριθμό διαφορετικών ιστών και από όγκους, σε απόκριση στην ιντερφερόνη γ και σε άλλους μεσολαβητές της φλεγμονής. Ο PD-L2 εκφράζεται σε μακροφάγα και δένδριτικά κύτταρα, αν και είναι οι επιπτώσεις του στην επιτήρηση των T κυττάρων δεν είναι τόσο καλά κατανοητές (74). Η PD-L2 έκφραση από όγκους, ως μηχανισμός της ανοσοποιητικής διαφυγής, έχει επίσης περιγραφεί. Επιπρόσθετα, όταν υπάρχει μειωμένη έκφραση του PD-1, ο PD-L 1 μπορεί να δεσμευτεί στο CD80 στα

ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα. Οι παρατηρούμενες διαφορές στην κλινική δράση αλλά και στους τύπους των ανεπιθύμητων παρενεργειών από το ανοσοποιητικό σύστημα, που σχετίζονται μεταξύ των αντι-PD-1 και των αντι-PD-L1 ίσως οφείλονται στην αλληλεπίδραση μεταξύ PD-L 1 και CD80, καθώς και σε ένα πιθανό δεύτερο υποδοχέα για τον PD-L2.



Εικόνα 20. Σύνδεση του PD-L1 στον PD-1 και απενεργοποίηση του T κυτταροτοξικού κυττάρου (αριστερά). Μπλοκάρισμα των PD-L1 και PD-1 οδηγεί σε ενεργοποίηση του T κυτταροτοξικού κυττάρου, έναντι του καρκινικού (δεξιά). (74)

Η πρώτη, σε άνθρωπο, έκθεση του αντι-PD-1 σε συμπαγείς όγκους, περιλάμβανε 39 ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα, NSCLC, καρκίνωμα νεφρικών κυττάρων (RCC), καρκίνο του προστάτη και καρκίνο του παχέος εντέρου, που έλαβαν MDX1106 (νιβολουμάμπη) (74). Παρατηρήθηκε δραστηριότητα έναντι του όγκου και πληρότητα του PD-1 υποδοχέα, ενώ οι μελέτες έδειξαν ένα μεγαλύτερο από το αναμενόμενο χρόνο ημίσειας ζωής για τον παράγοντα. Αυτά τα ευρήματα έγινε προσπάθεια να επαναληφθούν σε μεγαλύτερη ομάδα 296 ασθενών, και οι αναλογίες πιθανοτήτων (OR), όπως ορίζεται από το RECIST, παρατηρήθηκαν τροποποιημένες σε 26 από τους 94 (28%), 14 από τους 76 (18%) και 9 από τους 33 (27%) ασθενείς, οι οποίοι είχαν προηγουμένως λάβει βαριές θεραπείες, και έπασχαν από μελάνωμα, NSCLC, και RCC, αντίστοιχα. Ένα πρόσθετο υποσύνολο ασθενών κατέδειξε και παρατεταμένη σταθεροποίηση της νόσου (74). Τροποποιημένες OR δεν παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με καρκίνο του ορθού ή του προστάτη. Οι αποκρίσεις στη θεραπεία είχαν μακρά διάρκεια, με περίπου 2/3 αυτών, να διαρκεί για τουλάχιστον ένα έτος. Γενικά, το προφίλ ασφάλειας ήταν αποδεκτό.

PD-1 and PD-L1 inhibitors in clinical development.			
Target	Biologic agent	Class	Company
PD-1	AMP-224	PD-L2 IgG2a fusion protein	Amplimmune/GlaxoSmith Klein
	AMP-514 (MEDI0680)	PD-L2 fusion protein	Amplimmune/GlaxoSmith Klein
	Nivolumab (Opdivo, BMS-936558, MDX1105)	Human IgG4	Bristol-Meyers Squibb
	Pidilizumab (CT-011)	Humanized IgG1k	Cure Tech
	Pembrolizumab (MK-3475, lambrolizumab)	Humanized IgG4	Merck
PD-L1	BMS-936559 (MDX1105)	Human IgG4	Bristol-Meyers Squibb
	MEDI4736	Humanized IgG1k	MedImmune/AstraZeneca
	MPDL3280A	Human IgG1k	Roche
	MSB0010718C	Human IgG1	Merck

Πίνακας 4. Αναστολείς των PD-1 και PD-L1 σε κλινικό επίπεδο. (74)

Δύο αντι-PD1 αντισώματα η πεμπρολιζουμάμπη και η νιβολουμάμπη έχουν δείξει εξαιρετικά αποτελέσματα, ήδη από τις φάσεις I μελέτες τους και έχουν πάρει έγκριση από τις ρυθμιστικές αρχές (74). Συγκεκριμένα, η πεμπρολιζουμάμπη έχει πάρει ήδη έγκριση από τον FDA για ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα, που η νόσος τους έχει υποτροπιάσει μετά από προηγούμενη θεραπεία με ιπιλιμουμάμπη. Αντίστοιχα, η νιβολουμάμπη έχει πάρει ένδειξη τόσο στο μεταστατικό μελάνωμα μετά από θεραπεία με ιπιλιμουμάμπη, όσο και στο πλακώδες καρκίνωμα του πνεύμονα σε προ-θεραπευμένους ασθενείς. Τόσο η νιβολουμάμπη όσο και η πεμπρολιζουμάμπη έχουν επιδείξει δραστηριότητα και σε ασθενείς με μελάνωμα, που δεν έχουν πάρει κάποια θεραπεία και πιθανώς θα λάβουν στο μέλλον έγκριση και ως πρώτης γραμμής θεραπεία του μελανώματος. Η νιβολουμάμπη έχει συγκριθεί στην πρώτη γραμμή σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα χωρίς *BRAF* μεταλλάξεις, με τη χημειοθεραπεία με δακαρβαζίνη και έχει δείξει σημαντικό όφελος στην επιβίωση (73% μονοετής επιβίωση στο σκέλος της νιβολουμάμπης έναντι 42% στο σκέλος της δακαρβαζίνης), ενώ πρόσφατα ανακοινώθηκε, στο AACR του 2015, φάσης III μελέτη που συνέκρινε στην πρώτη γραμμή την πεμπρολιζουμάμπη με την ιπιλιμουμάμπη σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα (74). Στη μελέτη αυτή (KEYNOTE-006) φάνηκε ότι η πεμπρολιζουμάμπη υπερέχει της ιπιλιμουμάμπης τόσο στο διάστημα ελεύθερου της νόσου όσο και στη συνολική επιβίωση.

Πέραν των εγκεκριμένων ενδείξεων, η αντι-PD1/PD-L1 θεραπεία έχει θεαματικά αποτελέσματα και σε μια σειρά άλλων νεοπλασιών (75). Έτσι, η χρήση της νιβολουμάμπης σε ασθενείς με τη νόσο του Hodgkin, που είχαν λάβει διάφορες θεραπείες και αρκετοί είχαν υποβληθεί και σε αυτόλογη μεταμόσχευση, έδειξε ανταποκρίσεις στο 87% των ασθενών και κλινικό όφελος στο σύνολο των ασθενών που έλαβαν το φάρμακο. Μάλιστα, αρκετοί ασθενείς μπόρεσαν να οδηγηθούν σε αυτόλογη μεταμόσχευση λόγω της εξαιρετικής ανταπόκρισης, που εμφάνισαν με τη νιβολουμάμπη. Ανταποκρίσεις στο φάρμακο αυτό, έχουν επίσης διαπιστωθεί σε

ασθενείς με διαυγοκυτταρικό καρκίνο του νεφρού και καρκίνο των ωοθηκών. Αντίστοιχα, στη φάση I μελέτη της πεμπρολιζουμάμπης (75) διαπιστώθηκαν ανταποκρίσεις σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, στο 30% των ασθενών με αδеноκαρκίνωμα στομάχου, στο 24% των ασθενών με ουροθηλιακό καρκίνο και στο 20% των ασθενών με καρκίνο κεφαλής τραχήλου. Η σημασία αυτών των ανταποκρίσεων μάλιστα μεγεθύνεται, καθώς οι ασθενείς αυτοί είχαν λάβει αρκετές προηγούμενες θεραπείες και η διάρκεια των ανταποκρίσεων πλησιάζει σε αρκετούς ασθενείς τον ένα χρόνο. Στο μεταστατικό καρκίνο της ουροδόχου κύστης έχει επίσης δραστηριότητα και το αντι-PD-L1 αντίσωμα MPDL3280A με ποσοστά ανταπόκρισης 43% στους ασθενείς με θετική έκφραση του PD-L1 στον όγκο. Το αντίσωμα αυτό ανακοινώθηκε στο AACR 2015, ότι έχει δραστηριότητα και σε ασθενείς με τριπλά αρνητικό μεταστατικό καρκίνο μαστού. Τέλος σε φάση εξέλιξης είναι και το αντι-PD-L1 αντίσωμα MEDI4260 με θετικά αποτελέσματα ήδη στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα σε φάσης I μελέτη.

Περαιτέρω τυχαιοποιημένες μελέτες αυτών των αντισωμάτων σε διάφορα νεοπλασμάτα θα καταδείξουν το πραγματικό όφελος από την ανοσοθεραπεία ώστε να επιτρέψουν τη χρήση της και σε άλλους όγκους. Ήδη τρέχουν μελέτες κλινικής φάσης III για το μελάνωμα και για το NSCLC και τα αποτελέσματά τους αναμένονται άμεσα (NCT02220894, NCT01905657, NCT02041533 κ.α.) (75). Θα πρέπει να τονιστεί ότι η στόχευση του ανοσολογικού μηχανισμού στο επίπεδο του όγκου (anti-PD1/PD-L1 θεραπείες) υπερέχει της στόχευσης στο επίπεδο της ενεργοποίησης του T- λεμφοκυττάρου και αναφορικά με τις σχετιζόμενες με την ανοσοθεραπεία ανεπιθύμητες ενέργειες. Τόσο η πεμπρολιζουμάμπη όσο και η νιβολουμάμπη χαρακτηρίζονται από πολύ λιγότερες ανεπιθύμητες παρενέργειες καθώς δεν είναι γενικευμένη η ενεργοποίηση και η στόχευση του ανοσοποιητικού συστήματος. Η πλειοψηφία των ασθενών που λαμβάνουν αναστολή PD-1/PD-L1 παρουσιάζουν πιο ήπιες ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως κόπωση, εξανθήματα, διάρροιες.

Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι το κλινικό όφελος από την ανοσοθεραπεία εκτείνεται αρκετά μετά την διακοπή αυτής της θεραπείας, πιθανότατα λόγω της ανάπτυξης ανοσιακής μνήμης, που αποτρέπει την επανεμφάνιση καρκινικών κυττάρων. Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι η ανοσοθεραπεία του καρκίνου βρίσκεται ακόμη στα αρχικά στάδια εξέλιξής της και η βαθύτερη κατανόηση των μηχανισμών λειτουργίας του ανοσοποιητικού θα επιφέρει ακόμη καλύτερα αποτελέσματα στο μέλλον.

5. Η έκφραση του PD-L 1 ως βιοδείκτης

Μία από τις βασικές παρατηρήσεις σε αυτές τις μελέτες ήταν η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του PD-L 1 στο μικροπεριβάλλον του και η απόκριση στη θεραπεία. Αυτό το χαρακτηριστικό γνώρισμα για πρώτη φορά τονίστηκε από τους Toralian et al., το 2012 (76), οι οποίοι παρατήρησαν ότι από τους 42 ασθενείς, που μελετήθηκαν με πολλαπλούς διαφορετικούς τύπους στερεού όγκου, 36% αυτών που ο PD-L 1 ανιχνεύθηκε στην επιφάνεια των κυττάρων του όγκου με ανοσοϊστοχημία, έδειξαν μια τροποποιημένη OR στη νιβολουμάμπη, ενώ κανείς από τους ασθενείς, που ήταν αρνητικοί στην έκφραση του PD-L 1 (-), δεν έδειξε απόκριση στη θεραπεία. Σε μια μελέτη παρακολούθησης, δείγματα από αρχεία ασθενών, που είχαν ήδη λάβει θεραπεία, αναλύθηκαν και για άλλους παράγοντες πέραν της PD-L 1 έκφρασης των καρκινικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της PD-L 1 έκφρασης σε διηθητικά ανοσοκύτταρα, της PD-1 και της PD-L2 έκφρασης, και τέλος απλά με την παρουσία ανοσοαπόκρισης του ξενιστή στον όγκο. Η καρκινική κυτταρική έκφραση του PD-L1 παρέμεινε το μόνο χαρακτηριστικό με την πιο υψηλή συσχέτιση με την απόκριση των ασθενών. Αυτή η γενική παρατήρηση, του συσχετισμού μεταξύ της έκφρασης του PD-L1 και της ανταπόκρισης στη θεραπεία, έχει παραμείνει αξιοσημείωτα σταθερή στις μελέτες που ακολούθησαν, ανεξάρτητα από τον τύπο του στερεού όγκου, που μελετήθηκαν, από τον αριθμό των προ-θεραπευμένων δειγμάτων που μελετήθηκαν, από τη μέθοδο IHC ή το αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε, από τον παράγοντα που δοκιμάστηκε (αντι-PD-1 ή αντι-PD-L1), το όριο της «θετικότητας» (πιο συχνά 1% ή 5%), ή ακόμη και τον κυτταρικό τύπο που σημείωσε (κύτταρα του όγκου έναντι διηθητικών κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος) έκφραση PD-L1.

Όταν συνοψιστούν οι δημοσιευμένες μελέτες σχετικά με τους συμπαγείς όγκους, 1.400 ασθενείς δοκιμάστηκαν στη θεραπεία, και κατά μέσο όρο το 45% των ασθενών, οι οποίοι είναι PD-L 1 (+), έδειξαν τροποποιημένη OR, Σχήμα 1. Αξίζει να σημειωθεί, ότι και το 15% των PD-L 1 (-) ασθενών επίσης είχαν απόκριση. Αυτά τα συλλογικά αποτελέσματα έχουν αποδεικνύουν, ότι για αυτή την κατηγορία των θεραπειών, παρόλο το υψηλό ποσοστό των PD-L1 (-) ασθενείς που είχαν απόκριση, συνηγορούν υπέρ της χρήσης της έκφρασης του PD-L1 από την ανοσοϊστοχημία, ως μοναδικός βιολογικός δείκτης για την επιλογή των ασθενών.

6. Συνδυασμένη ανοσοθεραπεία

Ο όρος "double immune checkpoint inhibition" αφορά στο συνδυασμό αντισωμάτων κατά του CTLA-4 και του PD-1/PD-L1 (75). Το θεωρητικό πλεονέκτημα έγκειται στο γεγονός ότι, καθώς προκαλούν άρση της ανοσοκαταστολής μέσω διαφορετικών στόχων, ενδεχομένως να έχουν αθροιστική ή και συνεργική δράση, όταν συγχωρηγούνται.

Σε μια μελέτη φάσης I (75), η νιβολουμάμπη και η ιπιλιμουμάμπη χορηγήθηκαν ταυτόχρονα ή διαδοχικά. Η ταυτόχρονη θεραπεία συνδυάστηκε με ένα ποσοστό αντικειμενικής ανταπόκρισης της τάξης του 40%, έναντι 20% της διαδοχικής, με τις περισσότερες ανταποκρίσεις να είναι μεγάλης διάρκειας. Ωστόσο, η μεγαλύτερη δραστηριότητα συνοδεύεται και από μεγαλύτερη τοξικότητα.²⁸ Ο σχετικός συνδυασμός αποτελεί αντικείμενο μιας μελέτης φάσης III (NCT01844505) και μιας μελέτης φάσης II (NCT01927419) (75).

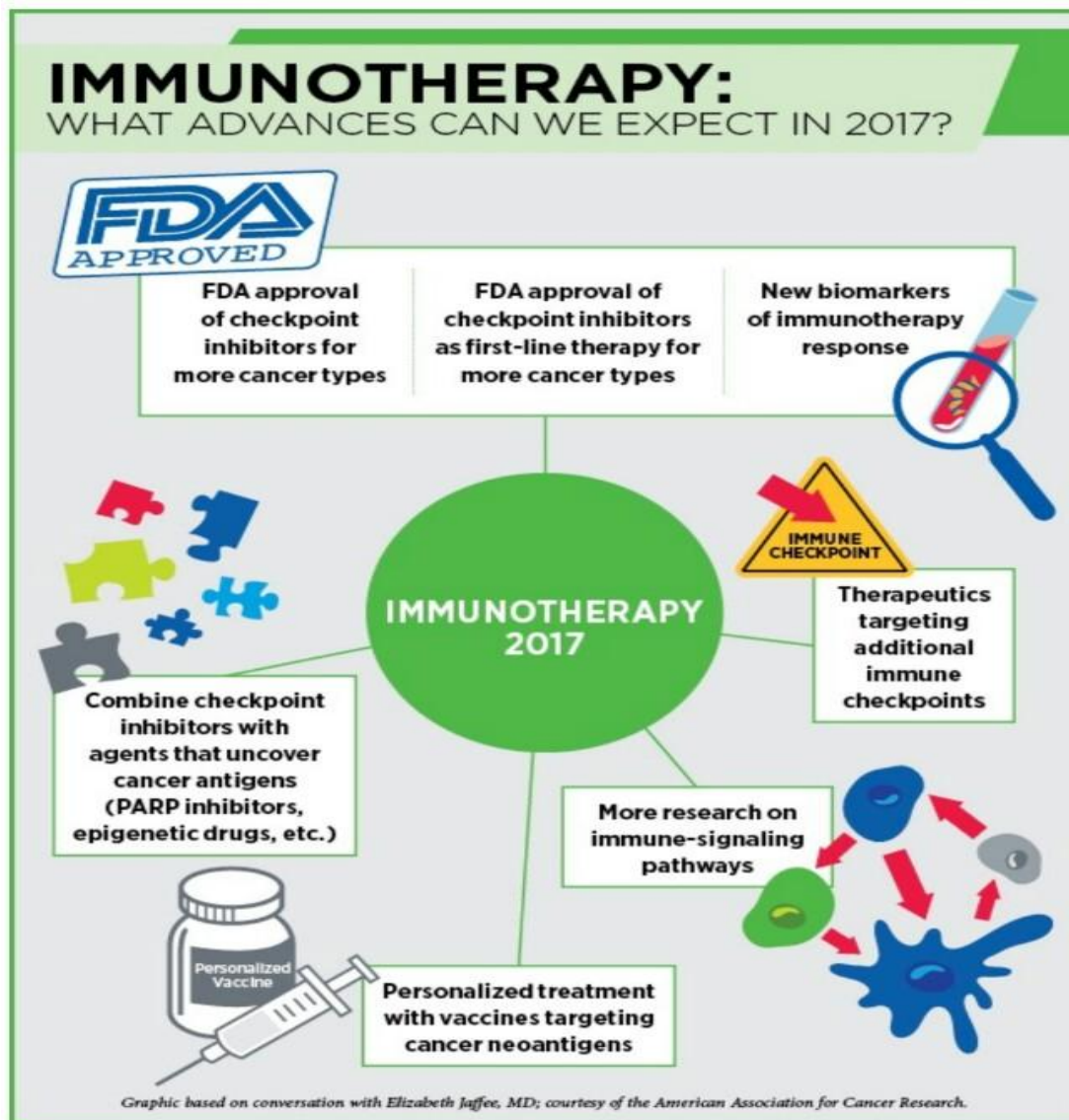
7. Μελλοντικές κατευθύνσεις

Πιθανές διαφορές είτε στην αποτελεσματικότητα είτε στο προφίλ ασφάλειας μεταξύ των παραγόντων που μπλοκάρουν τον PD-1 και εκείνων που εμποδίζουν τον PD-L1, πιθανότατα θα απαιτήσουν "head-to-head" δοκιμές, προτού διευκρινιστούν πλήρως. Η μελλοντική κλινική ανάπτυξη του κάθε ένα παράγοντα θα περιλαμβάνει και τον εντοπισμό πρόσθετων τύπων όγκων, που πιθανόν να ανταποκριθούν στη θεραπεία, για παράδειγμα, το Merkel κυτταρικό καρκίνωμα και το καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας (72).

Ο συνδυασμός με άλλους checkpoint παράγοντες έχει αποδειχθεί ότι έχει αξιόλογο αποτέλεσμα, όπως στην περίπτωση της νιβολουμάμπης και της ιπιλιμουμάμπης (αντι-CTLA-4) για τη θεραπεία του προχωρημένου μελανώματος και του RCC, και η περαιτέρω ανάπτυξη θα επιβάλλει την προσπάθεια μείωσης της έντασης των ανεπιθύμητων παρενεργειών από το ανοσοποιητικό, που παρατηρούνται με το συγκεκριμένο συνδυασμό (74).

Τα αποτελέσματα των δοκιμών των αντι-PD-1/PD-L1 μαζί με άλλους immune checkpoint παράγοντες όπως LAG3 και το TIM3 είναι πολυαναμενόμενα και ένα επιπρόσθετο όφελος ίσως ακόμη υλοποιηθεί και με το συνδυασμό των αντι-PD-1 και αντι-PD-L1. Άλλοι συνδυασμοί περιλαμβάνουν την προσθήκη των καρκινικών εμβολίων, στοχευμένων αναστολέων, και χημειοθεραπειών (72).

Μία πληρέστερη κατανόηση της πολύπλοκης αλληλεπίδρασης μεταξύ της του ξενιστή και του μικροπεριβάλλοντος του όγκου θα καταστήσει δυνατή την υλοποίηση μιας ολοκληρωμένης αντικαρκινικής θεραπείας μέσω αυτών της συναρπαστικής νέας κατηγορίας παραγόντων.



Εικόνα 21. Εξελίξεις στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου, που αναμένονται μέσα στο 2017.

Γ. Συνδυασμός Μετρονομική χημειοθεραπείας - ανοσοθεραπείας. Πειραματικά και προκλινικά δεδομένα

1. Πειραματικά Δεδομένα

Υπό το πρίσμα των μελετών, που περιγράφουν την ισχυρή αντιαγγειογενετική ικανότητα ενός κυτταροτοξικού φαρμάκου, όταν αυτό χορηγείται με ένα μετρονομικό μοντέλο, η ερευνητική ομάδα του Hermans et al., το 2003 (77), μελέτησε τη συνεργιστική δράση μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης μαζί με ειδική αντικαρκινική ανοσοθεραπεία, σε μοντέλο μελανώματος ποντικού.

Η μελέτη ανέδειξε ένα από τα σημαντικά πλεονεκτήματα της μετρονομικής φαρμακευτικής αγωγής, δηλαδή τη μειωμένη τοξικότητα που επιτρέπει ως ένα βαθμό τη λειτουργία του ανοσοποιητικού και ως εκ τούτου, τη δυνατότητα να συνδυαστεί η μετρονομική χημειοθεραπεία με την ανοσοθεραπεία.

Συγκεκριμένα, έδειξαν ότι η μετρονομική δόσολογία κυκλοφωσφαμίδης συνδυάστηκε πολύ αποτελεσματικά με την αντικαρκινική ανοσοθεραπεία, που χορηγήθηκε με τη μορφή ένεσης ανασυνδυασμένων φορέων, που κωδικοποιούν ένα ογκο-ειδικό αντιγόνο. Έτσι αυτός ο θεραπευτικός συνδυασμός θα μπορούσε δυνητικά να εφαρμοστεί σε μια ποικιλία νεοπλασιών, για τις οποίες έχουν προσδιοριστεί καρκινικά αντιγόνα.

Παρόλα αυτά, η ισορροπία μεταξύ της επαγωγής μίας αποτελεσματικής ανοσίας από την κυκλοφωσφαμίδα και της διατήρησης ενός χαμηλού τοξικού ανοσολογικού προφίλ, ήταν πολύ λεπτή σύμφωνα με τους ερευνητές. Ακόμα και με τη χρήση μετρονομικού πρωτοκόλλου, παρατηρούταν μια μείωση στον αριθμό των T CD8+ κυττάρων, που κυκλοφορούσε στο αίμα των ποντικών. Όμως συνολικά η μετρονομική κυκλοφωσφαμίδα σε συνδυασμό με το ενεργοποιημένο ανοσοποιητικό μέσω της ανοσοθεραπείας είχε τα καλύτερα αποτελέσματα στην αναστολή ανάπτυξης του όγκου, από ότι η ανοσοθεραπεία σε συνδυασμό με συμβατική χορήγηση της κυκλοφωσφαμίδης, ή από ότι η ανοσοθεραπεία μόνη της ή από ότι η μετρονομική μονοθεραπεία κυκλοφωσφαμίδης. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων, έδειξε τελικά ότι περισσότερα T κυτταροτοξικά κύτταρα επιβίωναν όταν η κυκλοφωσφαμίδα χορηγούνταν μετρονομικά από ότι με συμβατικό τρόπο, επιβεβαιώνοντας τη θεωρία του χαμηλού τοξικού προφίλ.

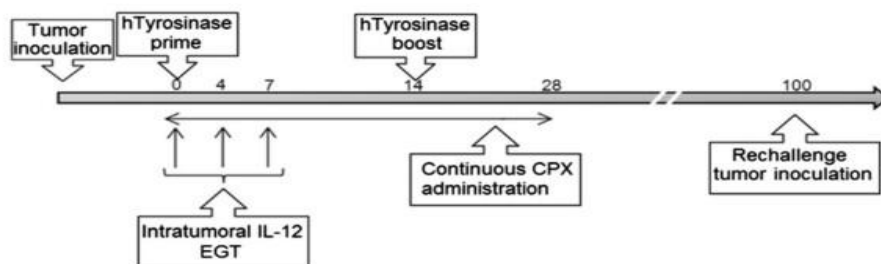
Μια άλλη σημαντική παρατήρηση των ερευνητών ήταν η εξής: όταν χορηγούσαν τη συνδυασμένη θεραπεία σε πειραματόζωα, που δεν έπασχαν από καρκίνο, η ανταπόκριση των T κυτταροτοξικών κυττάρων, ήταν πολύ πιο άμεση και υψηλότερη από ότι αυτή στα ποντίκια που έπασχαν από μελάνωμα. Οι ερευνητές

υπέθεσαν, παρότι δεν ήταν ακόμη γνωστός ο ακριβής μηχανισμός, την ύπαρξη σηματοδοτικών μονοπατιών, που αναστέλλουν τη δράση των CD8+ κυττάρων ακόμα και με την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού μέσω του ειδικού καρκινικού αντιγόνου. Πιθανόν ο μηχανισμός αυτός να ήταν κάποιο σημείο έλεγχου του ανοσοποιητικού.

Το 2014, μία άλλη ερευνητική ομάδα, αυτή του Denies et al. (78), μελέτησε τη συνδυασμένη θεραπεία της μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης με ανοσοθεραπεία, που περιλάμβανε γονιδιακή θεραπεία με ιντερλευκίνη-12 (IL-12) και DNA εμβόλιο ανθρώπινης τυροσινάσης (hTyr), σε μοντέλο μελανώματος ποντικού B16.

Σκοπός της έρευνας ήταν να αποδείξουν τυχόν ενίσχυση της γονιδιακής θεραπείας της IL-12, με τη χρήση μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης και του εμβολίου hTyr. Η ιντερλευκίνη-12 είναι μία κυτοκίνη, της οποίας η δράση εστιάζει στο σύμφυτο σκέλος του ανοσοποιητικού συστήματος και συγκεκριμένα στα NK κύτταρα, ρυθμίζοντας την έκκριση των κυτοκινών τους και την αποτελεσματικότητά τους. Επίσης φαίνεται να έχει επίδραση και στα T κυτταροτοξικά κύτταρα, επάγοντας την ενεργοποίησή τους και διαδραματίζοντας έτσι ρόλο και στην προσαρμοστική ανοσία. Τέλος η IL-12 έχει και αντιαγγειογενετική δράση, αναστέλλοντας κυρίως την κατασταλτική δράση των MDSC (κατασταλτικά κύτταρα προερχόμενα από το μυελό).

Από τη μεριά τους τα εμβόλια DNA, όπως αυτό της hTyr, έχουν το πλεονέκτημα της επαγωγής, μαζί με την παράλληλη χυμική ανοσολογική απόκριση, μιας δυνατής κυτταρικής ανοσοαπόκρισης, επειδή το αντιγόνο συντίθεται ενδογενώς μέσα στα ίδια τα κύτταρα, ενισχύοντας τελικά και την ανοσιακή μνήμη των T και B κυττάρων. Η μετρονομική κυκλοφωσφαμίδα χρησιμοποιήθηκε από την ερευνητική ομάδα, έχοντας ως στόχο τη μείωση του αριθμού των T ρυθμιστικών κυττάρων. Η επιλεκτική καταστροφή των Tregs έγκειται στο γεγονός ότι τα Tregs, όπως έχει ήδη αναφερθεί, έχουν χαμηλές ενδοκυττάρειες συγκεντρώσεις ATP, οπότε και μικρή σύνθεση γλουταθειόνης, το οποίο αποτελεί ένα σημαντικό αποτοξινωτικό μονοπάτι για την κυκλοφωσφαμίδα. Το μοντέλο χορήγησης της συνδυασμένης θεραπείας φαίνεται στην εικόνα 22.



Schematic representation of the experimental set-up: Treatment began when the smallest diameter of the tumor reached 3–5 mm, and consisted of three intratumoral IL-12 electro-gene treatments (EGT), two vaccinations with human tyrosinase plasmid (hTyrosinase) and metronomic cyclophosphamide (CPX). After 100 days, cured mice were rechallenged.

Εικόνα 22. Το μοντέλο χορήγησης της συνδυασμένης θεραπείας της ερευνητικής ομάδας του Denies. (78)

Οι τελικές παρατηρήσεις της ερευνητικής ομάδας ήταν οι παρακάτω: ταχεία συρρίκνωση του όγκου παρατηρήθηκε στα περισσότερα ποντίκια μετά την ενδο-ογκική γονιδιακή θεραπεία με IL-12, λόγω διέγερσης των NK κυττάρων. Όταν η μετρονομική κυκλοφωσφαμίδη συνδυάστηκε με τη γονιδιακή θεραπεία της IL-12, η επιβίωση σε ποντίκια, που δεν είχαν λάβει πριν θεραπεία, ενισχύθηκε και η προσθήκη του εμβολίου αύξησε την απόκριση στη θεραπεία. Το γεγονός αυτό οδήγησε σε μια σημαντική αύξηση της συνολικής επιβίωσης στους εμβολιασμένους ποντικούς, σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες θεραπείας. Οι ποντικοί που επιβίωσαν και τους μεταφέρθηκε ξανά, ξενομόσχευμα μελανώματος, έδειξαν μια απάντηση μνήμης Β κυττάρων, οι οποίοι είχαν λάβει αρχικά IL-12 γονιδιακή θεραπεία μόνη της ή σε συνδυασμό με μετρονομική κυκλοφωσφαμίδη, ενώ τόσο Β όσο και Τ κυτταρική απόκριση μέσω μνήμης, παρατηρήθηκε μόνο στα εμβολιασμένα με DNA ποντίκια.

Μετά από αυτά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε ποντίκια, ένα περαιτέρω βήμα προς την κλινική επικύρωση αυτής της συνδυασμένης θεραπείας είναι η δοκιμή της σε αυθόρμητα προκύπτοντες όγκους σκύλων.

2. Προκλινικά δεδομένα

Οι Ανοσολόγοι έχουν χρησιμοποιήσει με μετρονομικό μοντέλο αντικαρκινικούς παράγοντες, ώστε να διαμορφώσουν το ανοσοποιητικό σύστημα τόσο μέσα όσο και έξω από το πεδίο του καρκίνου, για δεκαετίες. Παρ' όλα αυτά, επικρατεί έλλειψη επικοινωνίας μεταξύ των Ανοσολόγων του καρκίνου, των Βιολόγων του καρκίνου, των όγκο-φαρμακολόγων και των κλινικών Ογκολόγων (3). Στο πεδίο της Μετρονομικής χημειοθεραπείας, αυτό απεικονίζεται με τη σπάνια χρήση του όρου «μετρονομική» στον τομέα της έρευνας και της επανεξέτασης άρθρων που επικεντρώνονται στις ανοσολογικές επιδράσεις της χημειοθεραπείας, και στην καθυστερημένη αναγνώριση του σημαντικού ρόλου του ανοσοποιητικού συστήματος στο μηχανισμό δράσης της Μετρονομικής χημειοθεραπείας από τους ειδικούς στο πεδίο αυτό. Αυτή η έλλειψη έχει εμποδίσει τη βέλτιστη ανάπτυξη του συνδυασμού της Μετρονομικής χημειοθεραπείας με την ανοσοθεραπεία. Όμως, οι πρόσφατες κλινικές μελέτες έχουν δείξει, ότι αυτού του είδους η προσέγγιση είναι πολύ ενθαρρυντική τόσο για την ενίσχυση όσο και για τη διατήρηση της αντικαρκινικής δράσης της Μετρονομικής χημειοθεραπείας αλλά και της ανοσοθεραπείας.

Οι Lasalvai-Prisco et al (79). σχεδίασαν μια τυχαιοποιημένη μελέτη, που συγκρίνει την αποτελεσματικότητα της συμβατικής MTD χημειοθεραπείας μόνη της

και σε συνδυασμό με "μία αγωγή, που επάγει την αντιαγγειογένεση και την αντικαρκινική ανοσία", σε ασθενείς με προχωρημένο στάδιο καρκίνου και με κακή πρόγνωση. Αυτό το σχήμα επαγωγής αποτελείτο από μετρονομική κυκλοφωσφαμίδα, σελεκοξίμπη, N-ακετυλοκυστείνη, παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων και αυτόλογα καρκινικά αντιγόνα.

Η προσθήκη του επαγωγικού σχήματος Μετρονομικής/ανοσοθεραπείας είχε ως αποτέλεσμα, αυξημένη συνολική επιβίωση και στους τρεις πληθυσμούς ασθενών (18 μήνες έναντι 10 μήνες για τον καρκίνο του παγκρέατος $P = 0,036$, 17 μήνες έναντι 12 μηνών για NSCLC $P = 0,042$, 20 μήνες έναντι 17 μήνες για τον ορμονο-ανθεκτικό καρκίνο του προστάτη $P = 0,048$). Οι τοξικές επιδράσεις και η ποιότητα ζωής ήταν παρόμοια και στις δύο ομάδες θεραπείας, ενώ η αύξηση της επιβίωσης συσχετίστηκε με σημαντική μείωση του αριθμού των Tregs και της έκφρασης του VEGF καθώς και σε αυξήσεις στα επίπεδα της αγγειοστατίνης και στον αριθμό των ενεργοποιημένων δενδριτικών κυττάρων. Ωστόσο, δεν υπάρχουν πληροφορίες με το σχετικά PFS και τα ποσοστά ανταπόκρισης, αποκλείοντας έτσι τα οριστικά συμπεράσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα αυτής της στρατηγικής.

Σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα, η προσθήκη μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης και σελεκοξίμπης σε εμβόλιο δενδριτικών κυττάρων και IL-2 διπλασίασε τον αριθμό των ασθενών, που εμφάνισαν σταθερότητα στη νόσο και σημαντικά αυξημένη συνολική επιβίωση στους 6 μήνες σε σύγκριση με μία προηγούμενη δοκιμή χωρίς κυκλοφωσφαμίδα και σελεκοξίμπη (80). Παραδόξως, η αυξημένη αποτελεσματικότητα αυτού του συνδυασμού δε συσχετίστηκε με μείωση των Tregs, όπως αναμένεται με τη χρήση της μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης. Σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού, η προσθήκη ενός αντι-ιδιότυπου εμβολίου στη χορήγηση μετρονομικής κυκλοφωσφαμίδης και μεθοτρεξάτης οδήγησε σε εκπληκτικά χαμηλά ποσοστά ανταπόκρισης (14%), αλλά επίσης και σε εντυπωσιακή επιβίωση ελεύθερης από συμβάντα (EFS) και σε συνολική επιβίωση (10 και 13 μήνες αντίστοιχα) (81). Σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού, αυτοί που έλαβαν ογκολυτικό ιό ως θεραπεία από μόνη της, είχαν χειρότερα αποτελέσματα σε σύγκριση με τους ασθενείς, που έλαβαν τον ιό είτε με MTD κυκλοφωσφαμίδα, είτε με μετρονομική κυκλοφωσφαμίδα ή και με τους δύο τρόπους. Είναι ενδιαφέρον, ότι η αγωγή, που χρησιμοποίησε την εναλλαγή των δύο τύπων χημειοθεραπείας, φαινόταν να είναι η καλύτερη επιλογή σε αυτόν τον ετερογενή πληθυσμό των ασθενών, με υψηλό ποσοστό κλινικού οφέλους 77% να έχει παρατηρηθεί στο 1 έτος (82). Παρ' όλα αυτά, οι μηχανισμοί που βρίσκονται πίσω από αυτά τα αποτελέσματα είναι ακόμα ασαφείς, και θα μπορούσαν εν μέρει να σχετίζονται με τη μείωση των Tregs, χωρίς να έτσι διακυβεύεται η κυτταροτοξική απάντηση των T κυττάρων, στις

ομάδες που έλαβαν μετρονομική κυκλοφωσφαμίδη, γεγονός που δεν ισχύει στην ομάδα με την υψηλή δόση κυκλοφωσφαμίδης. Ο "χημειο-διακόπτης" που χρησιμοποιήθηκε στη μία ομάδα μπορεί επίσης να είχε όφελος από την άμεση αντικαρκινική δράση της υψηλής δόσης της κυκλοφωσφαμίδης (83).

Επίσης οι Walter et al. (84) ανέφεραν διαρκή υψηλά ποσοστά ανταπόκρισης αλλά και κλινικό όφελος (36% και 76%, αντίστοιχα) σε ασθενείς με υποτροπιάζοντα ή και εξελισσόμενο μεταστατικό καρκίνωμα νεφρικών κυττάρων, όταν συνδυάστηκε η πιογλιταζόνη, ένας αντιφλεγμονώδης παράγοντας (ετορικοξίμπη), ένας ανοσορυθμιστής (IFNα) και η μετρονομική καπεσιταβίνη, σε αντίθεση με την περιορισμένη αποτελεσματικότητα, που έχουν όλες αυτές οι ουσίες όταν χρησιμοποιούνται μόνες τους.

Τα διαθέσιμα κλινικά δεδομένα (Πίνακας 5), αν και αραιά, υποδεικνύουν ότι ο συνδυασμός Μετρονομικής χημειοθεραπείας και ανοσοθεραπείας, είναι μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση, που μπορεί να αυξήσει τη δραστηριότητα της ανοσοθεραπείας, παρατείνοντας παράλληλα την επίδραση της Μετρονομικής χημειοθεραπείας. Περισσότερα προκλινικά δεδομένα απαιτούνται για να κατανοήσουμε καλύτερα τον τρόπο ανάπτυξης συνεργιστικών συνδυασμών, ώστε να εφαρμοστούν με επιτυχία και στην κλινική.

Metronomic chemotherapy and immunotherapy studies in adults					
Patient population/ disease setting	Type of study	n	Treatment regimen	Efficacy	Best response
Refractory tumours ¹⁴⁹	Retrospective	17	Oncolytic virus + temozolomide	RR: 6%; CB: 76%	PR: 1/17
Refractory tumours ¹⁵⁰	Pilot	8	Oncolytic virus	RR: NA; CB: 22%	NA
		21	Oncolytic virus + MC cyclophosphamide	RR: NA; CB: 61%	NA
		7	Oncolytic virus + MTD cyclophosphamide	RR: NA; CB: 55%	NA
		7	Oncolytic virus + oncolytic virus + MTD and MC cyclophosphamide	RR: NA; CB: 77%	NA
Recurrent ovarian cancer ¹⁵¹	Pilot	6	Vaccine* + bevacizumab + cyclophosphamide	RR: 33%; CB: 66%	PR: 2/6
Unresectable pancreas/lung/ prostate cancer ¹⁵²	Randomized phase I/II	Arm G1: 30	Standard chemotherapy	NA	NA
		Arm G2: 30	Standard chemotherapy + cyclophosphamide + celecoxib + G-CSF + n-acetylcystein + tumour antigens	NA	NA
Metastatic melanoma ¹⁵³	Phase II	28	DC vaccine + IL2 + cyclophosphamide + celecoxib	RR: 0%; CB: 57%	SD: 16/28
Metastatic breast cancer ¹⁵⁴	Pilot	21	Vaccine [†] + cyclophosphamide + methotrexate	RR: 24%; CB: 62%	CR: 2/21– PR: 3/21
Metastatic renal cell carcinoma ¹⁵⁵	Phase II	45	Pioglitazone + etoricoxib + IFN + capecitabine	RR: 36%; CB: 76%	CR: 4/45– PR: 12/45

*Autologous lysate-pulsed dendritic cell vaccination and adoptive transfer of vaccine-primed ex vivo co-stimulated T cells. [†]1E10 anti-idiotypic. Abbreviations: CB, clinical benefit; CR, complete response; DC, dendritic-cell; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; IFN, interferon; IL, interleukin; MC, metronomic chemotherapy; MTD, maximum tolerated dose; NA, not available; PD, progressive disease; PR, partial response; RR, response rate; SD, stable disease.

Πίνακας 5. Προκλινικά δεδομένα συνδυασμού Μετρονομικής χημειοθεραπείας και ανοσοθεραπείας. (3)

Συνοψίζοντας, σχεδόν 17 χρόνια μετά την πρωτο-εμφάνισή της, η Μετρονομική χημειοθεραπεία αποκτά αυξανόμενο ενδιαφέρον από τους βιολόγους, τους φαρμακολόγους και τους κλινικούς ιατρούς (3). Η πρόσφατη ανακάλυψη της φύσης των πολλαπλών στόχων αυτής της προσέγγισης και ο επιτυχημένος συνδυασμός της με την επανατοποθέτηση των φαρμάκων, με τις στοχεύουσες θεραπείες και με την όλο και πιο αναπτυσσόμενη πορεία της ανοσοθεραπείας, έχουν ανοίξει το δρόμο για την επέκταση της εξατομικευμένης χημειοθεραπείας (27).

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η Μετρονομική χημειοθεραπεία δε θεωρείται ανταγωνιστής της χημειοθεραπείας, που αντιπροσωπεύει το παλιό παραδοσιακό "τοξικό" τρόπο θεραπείας του καρκίνου (2). Αντ' αυτού, ο συνδυασμός των δύο αυτών χημειοθεραπευτικών προσεγγίσεων μπορεί να διευρύνει το φάσμα των εφαρμογών των αντικαρκινικών φαρμάκων, αυξάνοντας παράλληλα την αποτελεσματικότητα της θεραπείας.

Από τη μεριά της, η ανοσοθεραπεία αποτελεί ένα από τα πιο σύγχρονα εργαλεία, που διαθέτει η επιστημονική κοινότητα έναντι των νεοπλασμάτων (20). Η κατανόηση των μηχανισμών και των σηματοδοτικών μονοπατιών, που βρίσκονται πίσω από το κατασταλμένο ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού, κατά τη διάρκεια του καρκίνου, έχει ήδη ξεκινήσει και αναμένεται να κορυφωθεί μέσα στα επόμενα χρόνια (4).

Ο συνδυασμός της Μετρονομικής χημειοθεραπείας και της ανοσοθεραπείας χρησιμοποιείται πλέον σε προκλινικό και κλινικό επίπεδο, με τη Μετρονομική να δείχνει ενίσχυση της αποτελεσματικότητας της ανοσοθεραπείας και ανοίγοντας το δρόμο για το σχεδιασμό και την έγκριση φαρμακευτικών αγωγών, με αυξημένη και παρατεταμένη αποτελεσματικότητα αλλά και με μειωμένη τοξικότητα (3).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Ογκολογία, την τελευταία δεκαετία έχει επωφεληθεί από ένα όλο και αυξανόμενο αριθμό επαναστατικών καινοτομιών. Αναστολείς ανοσιακών σημείων ελέγχου, αντι-αγγειογόνα και στοχεύουσες θεραπείες έχουν ήδη εισέλθει στην κλινική με διάφορα επίπεδα επιτυχίας. Από την άλλη πλευρά, η συμβατική κυτταροτοξική χημειοθεραπεία φαίνεται να έχει φθάσει σε φάση «πлатώ» στην αποτελεσματικότητα, για τους περισσότερους μεγάλους συμπαγείς όγκους. Εναλλακτικά δοσολογικά σχήματα όπως τα μετρονομικά σχήματα, με βάση την επαναλαμβανόμενη και τακτική χορήγηση χαμηλών δόσεων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, έχουν αναδειχθεί ως πιθανές στρατηγικές για τη βελτίωση των ποσοστών απόκρισης, μειώνοντας παράλληλα τις τοξικότητες. Οι πρόσφατες αλλαγές στον τρόπο με τον οποίο υποθέτουμε τη βιολογία και την εξέλιξη του καρκίνου, τη μετάσταση και την οικολογία του όγκου, παράλληλα με τις πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της ανοσοθεραπείας, έχουν ενισχύσει σημαντικά το ενδιαφέρον για αυτές τις εναλλακτικές προσεγγίσεις. Η απόδειξη της πολυ-στοχευμένης φύσης της Μετρονομικής χημειοθεραπείας και η δυνατότητα συνδυασμού της με τα επανατοποθετημένα φάρμακα, τις στοχεύουσες θεραπείες και την ανοσοθεραπεία έχουν ανοίξει το δρόμο για την επέκταση των εξατομικευμένων χημειοθεραπειών ακρίβειας. Επιπλέον, η ανοσοθεραπεία του καρκίνου έχει ταχέως μεταβάλλει τα παραδοσιακά πρότυπα θεραπείας και έχει επεκτείνει το θεραπευτικό τοπίο για τους ασθενείς με καρκίνο. Ωστόσο, παρά την τρέχουσα επιτυχία αυτών των θεραπειών, δεν ανταποκρίνονται όλοι οι ασθενείς στην ανοσοθεραπεία και ακόμη και εκείνοι που ανταποκρίνονται, συχνά εμφανίζουν τοξικότητες. Μια υποσχόμενη προσέγγιση είναι το μπλοκάρισμα των ανοσοκατασταλτικών μηχανισμών, όπως ο CTLA-4 και ο PD-1 / PD-L1 άξονας, ώστε να αυξηθεί η λειτουργία των ενδογενών αντικαρκινικών Τ κυττάρων, τα οποία μπορούν να προσφέρουν μία ισχυρή και αποτελεσματική κλινική απόκριση. Ένας από τους κύριους στόχους της Μετρονομικής χημειοθεραπείας είναι να γείρει την ανοσολογική ισορροπία από την ανοσοκαταστολή στην ανοσοδιέγερση και έτσι η Μετρονομική χημειοθεραπεία έχει ήδη συνδυαστεί με διάφορους τύπους ανοσοθεραπείας, με διάφορες αποκρίσεις. Παρ' όλα αυτά, η θέση της Μετρονομικής χημειοθεραπείας από μόνη της ή σε συνδυασμό με την ανοσοθεραπεία στην καταπολέμηση του καρκίνου, πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω.

ABSTRACT

Oncology has benefited from an increasingly growing number of groundbreaking innovations over the last decade. Immune checkpoint inhibitors, anti-angiogenics and targeted therapies have already entered the clinic with various level of success. On the other hand, conventional cytotoxic chemotherapy appears to have reached a plateau in efficacy for most major solid cancers. Alternative dosing schedules such as metronomic regimens, based upon the repeated and regular administration of low doses of chemotherapeutic drugs, have emerged as possible strategies to improve response rates while reducing toxicities. The recent changes in paradigm in the way we theorize cancer biology and evolution, metastatic spreading and tumor ecology, alongside the recent advances in the field of immunotherapy, have considerably strengthened the interest for these alternative approaches. The evidence of the multi-targeted nature of Metronomic chemotherapy and the possible combination with repositioned drugs, targeted therapies and immunotherapy have paved the way for the expansion of personalized precision chemotherapy. Furthermore, cancer immunotherapies are rapidly changing traditional treatment paradigms and expanding the therapeutic landscape for cancer patients. However, despite the current success of these therapies, not all patients respond to immunotherapy and even those that do, often experience toxicities. A promising approach is to block the immunosuppressive mechanisms, such as CTLA-4 and the PD-1/PD-L1 axis, to augment the function of endogenous antitumor T cells, which can deliver a robust and effective clinical response. One of the main objectives of Metronomic chemotherapy is to tilt the immunological balance from immunosuppression to immunostimulation and so Metronomic chemotherapy has already been combined with several types of immunotherapy, with variant responses. Nevertheless, the position of Metronomic therapy alone or combined with immunotherapy in cancer fight, should to be further explored.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

5-FU: 5-Fluorouracil

APCs: Antigen presenting cells

aTregs: adaptive Regulatory T cells

B7-H1: B7 homolog 1

CC: Conventional Chemotherapy

CECs: Circulating endothelial cells

CLL: Chronic lymphocytic leukemia

CSCs: Cancer stem cells

CSFs: Colony-stimulating factors

CTL-4: Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4

CTLs: Cytotoxic T cells

DCs: Dendritic cells

EFS: Event-free survival

EGFR: Epidermal growth factor receptor

erbB-2: Receptor tyrosine-protein kinase

FDA: US Food and Drug Administration

FGFb: Basic fibroblast growth factor

HER-2: human epidermal growth factor receptor 2

HPV: Human papilloma virus

HR: Hazard ratio

hTyr: homotyrosine

ICD: Immunogenic cell death

IFNa: Interferon α

IFNa-2a: Interferon α -2a

IFNa-2b: Interferon α -2b

IFN γ : Interferon γ

IL-2: Interleukin-2

IL-6: Interleukin-6

IL-8: Interleukin-8

IL-12: Interleukin-12

MC: Metronomic Chemotherapy

MDSC: Myeloid-derived suppressor cell

miRNAs: micro-RNAs

MTD: Maximum tolerated dose

NK: Natural killer cells

NSCLC: Non-small cell lung cancer

nTregs: natural Regulatory T cells

PD-1: Programmed death 1

PDGF: Platelet-derived growth factor

PD-L1: Programmed death-ligand 1

PD-L2: Programmed death-ligand 2

TNF α : Tumor necrosis factor α

Tregs: Regulatory T cells

TSP-1: Thrombospondin-1

VEGF: Vascular endothelial growth factor

Βιβλιογραφία

1. **Sebastien Antonia, Jacques Ferlaya, Isabelle Soerjomatarama, Ariana Znaora, Ahmedin Jemal, Freddie Bray.** Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends. *European Urology*. 2017, Vol. 71, 1, pp. 96-108.
2. **Sébastien Benzekrya, Eddy Pasquier, Dominique Barbolosi, Bruno Lacarelle, Fabrice Barlési, Nicolas Andre, Joseph Ciccolini.** Metronomic reloaded: Theoretical models bringing chemotherapy. *Seminars in Cancer Biology*. 2015, 35, pp. 53-61.
3. **Nicolas André, Manon Carré and Eddy Pasquier.** Metronomics: towards personalized chemotherapy? *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2014, 11, pp. 413-430.
4. **Jianda Yuan, Priti S. Hegde, Raphael Clynes, Periklis G. Foukas, Alexandre Harari, Thomas O. Kleen, Pia Kvistborg, Cristina Maccalli.** Novel technologies and emerging biomarkers for personalized cancer immunotherapy. *Journal for Immunotherapy of Cancer*. 2016, 4, pp. 1-25.
5. **S., Mukherjee.** The Emperor of All Maladies: A Biography of Cancer. *Reprint ed. New York*. 2011.
6. **Skipper HE, Schabel FM, Wilcox WS.** Experimental evaluation of potential anticancer agents XIII On the criteria and kinetics associated with “curability” of experimental leukemia. *Cancer Chemother Rep*. 1964, 35, pp. 1-11.
7. **Early Breast Cancer Trialists’ Collaborative Group (EBCTCG).** Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy 133 randomised trials involving 31,000 recurrences and 24,000 deaths among 75,000 women. *Lancet*. 1992, 339, pp. 1-15.
8. **Norton L, Simon R.** Tumor size, sensitivity to therapy, and design of treatment schedules. *Cancer Treat Rep*. 1977, 61, pp. 1307-1317.
9. **R., King.** *Cancer Biology*. 2nd. Essex : Pearson Education, 2000.
10. **Russell, Peter J.** *iGenetics: A Mendelian Approach*. New York : Pearson, 2006. Vol. 2.
11. **Watson, J.D., et al.** *Recombinant DNA, Genes and Genomes-A Short Course*. 3d. New York : W.H. Freeman and Company, 2007.
12. **Croce, Carlo M.** Oncogenes and cancer. *NEJM*. 2008, 358, pp. 501-511.
13. **Calin Ga, Dumitru Cd, Shimizu M, Bichi R, ZUPO S, Noch E et al.** Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002, 99, pp. 15524–15529 .
14. **Calin Ga, Liu Cg, Sevignani C, Ferracin M, Felli N, Dumitru Cd et al.** MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004, 101, pp. 11755–11760.

15. **M., Lynn.** The Tumor and its Microenvironment: How they communicate, and why it's important. A talk . 2007 .
16. **Sund M, Kalluri R.** Tumor stroma derived biomarkers in cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2009, 28., pp. 177-183.
17. **Ophardt C.** *Cancer Drugs I.* s.l. : Elmhurst, 2005.
18. **J., Priestman T.** *Cancer Chemotherapy: An Introduction.* 3d. Berlin : Springer-Verlag, 1989.
19. **TF, Gajewski.** Cancer immunotherapy. *Mol. Oncol.* 2012, 6, pp. 242-250.
20. **Chen DS, Mellman I.** Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity.* 2013, 39, σσ. 1-10.
21. **Folkman, J.** Tumour angiogenesis: therapeutic implications. *N. Engl. J. Med.* 1971, 285, pp. 1161-1182.
22. **Hanahan, D. et al.** Less is more, regularly:metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumour angiogenesis in mice. *J. Clin. Invest.* 2000, 105, σσ. 1045-1047.
23. **Browder, T. et al.** Anti-angiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. *Cancer Res.* 2000, 60, pp. 1878-1886.
24. **Klement, G. et al.** Continuous low-dose therapy with vinblastine and VEGF receptor-2 antibody induces sustained tumour regression without overt toxicity. *J. Clin. Invest.* 2000, 105, pp. 15-24.
25. **Pasquier, E. et al.** Metronomic chemotherapy:new rationale for new directions. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2010, 7, pp. 455-465.
26. **Kerbel, R. S. & Kamen, B. A.** The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy. *Nat. Rev. Cancer.* 2004, 4, pp. 423-436.
27. **Eirini Biziota, Leonidas Mavroeidis, Eleftheria Hatzimichael, Periklis Pappas.** Metronomic chemotherapy: A potent macerator of cancer by inducing angiogenesis suppression and antitumor immune activation. [ed.] 1-9. *Cancer Letters.* 2016.
28. **Folkins, C. et al.** Anticancer therapies combining anti-angiogenic and tumour cell cytotoxic effects reduce the tumour stem-like cell fraction in glioma xenograft tumours. *Cancer Res.* 2007, 67.
29. **L. Zitvogel, A. Tesniere, G. Kroemer.** Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat. Rev. Immunol.* 2006, 6, pp. 715-727.
30. **D.S. Vinay, E.P. Ryan, G. Pawelec, W.H. Talib, J. Stagg, E. Elkord, et al.** Immune evasion in cancer: mechanistic basis and therapeutic strategies. *Semin. Cancer Biol.* 2015, 35, pp. 185-198.

31. **S. Sakaguchi, K. Wing, Y. Onishi, P. Prieto-Martin, T. Yamaguchi.** Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int. Immunol.* 2009, 21, pp. 1105-1111.
32. **Corthay, How do regulatory T cells work?** How do regulatory T cells work? *Scand. J. Immunol.* 70 (2009) 326-336. *Scand. J. Immunol.* 2009, 70, pp. 326-336.
33. **K. Oleinika, R.J. Nibbs, G.J. Graham, A.R. Fraser.** Suppression, subversion and escape: the role of regulatory T cells in cancer progression. *Clin. Exp. Immunol.* 2013, 171, pp. 36-45.
34. **Zou, W.** Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2006, 6, pp. 295-307.
35. **F. Ghiringhelli, N. Larmonier, E. Schmitt, A. Parcellier, D. Cathelin, C. Garrido, et al.** CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative. *Eur. J. Immunol.* 2004, 34, pp. 336-344.
36. **M.E. Lutsiak, R.T. Semnani, R. De Pascalis, S.V. Kashmiri, J. Schlom, H. Sabzevari.** Inhibition of CD4⁺CD25⁺ T regulatory cell function implicated in enhanced immune response by low-dose cyclophosphamide. *Blood.* 2005, 105, pp. 2862-2868.
37. **J. Zhao, Y. Cao, Z. Lei, Z. Yang, B. Zhang, B. Huang.** Selective depletion of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells by low-dose cyclophosphamide is explained by reduced intracellular ATP levels. *Cancer Res.* 2010, 70, pp. 4850-4858.
38. **D. Heylmann, M. Bauer, H. Becker, S. van Gool, N. Bacher, K. Steinbrink, et al.** Human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells are sensitive to low dose cyclophosphamide: implications for the immune response. *PLoS One.* 2013, 8.
39. **F. Ghiringhelli, C. Menard, P.E. Puig, S. Ladoire, S. Roux, F. Martin.** Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer Immunol. Immunother.* 2007, 56.
40. **Y. Ge, C. Domschke, N. Stoiber, S. Schott, J. Heil, J. Rom, et al.** Metronomic cyclophosphamide treatment in metastasized breast cancer patients: immunological effects and clinical outcome. *Cancer Immunol.* 2012, 61, pp. 353-362.
41. **J. E. Ellebaek, L. Engell-Noerregaard, T.Z. Iversen, T.M. Froesig, S. Munir, S.R. Hadrup, et al.** Metastatic melanoma patients treated with dendritic cell vaccination, Interleukin-2 and metronomic cyclophosphamide: results from a phase II trial. *Cancer Immunol. Immunother.* 2012, 61, pp. 1791-1804.
42. **V. Cerullo, I. Diaconu, L. Kangasniemi, M. Rajecki, S. Escutenaire, A. Koski, et al.** Immunological effects of low-dose cyclophosphamide in cancer patients treated with oncolytic adenovirus. *Mol. Ther.: The Journal of the American Society of Gene Therapy* 2011, 19, pp. 1737-1746.

43. **N. Liu, Y. Zheng, Y. Zhu, S. Xiong, Y. Chu.** Selective impairment of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells by paclitaxel is explained by Bcl-2/ Bax mediated apoptosis. *Int. Immunopharmacol.* 2011, 11, pp. 212-219.
44. **I. Shevchenko, S. Karakhanova, S. Soltek, J. Link, J. Bayry, J. Werner, et al.** Low-dose gemcitabine depletes regulatory T cells and improves survival in the orthotopic Panc02 model of pancreatic cancer. *Int. J. Cancer.* 2013, 133, pp. 98-107.
45. **A. Koumarianou, M.I. Christodoulou, P. Patapis, I. Papadopoulos, E. Liakata, A. Giagini, et al.** The effect of metronomic versus standard chemotherapy on the regulatory to effector T-cell equilibrium in cancer patients. *Exp. Hematol. Oncol.* 2014, 3.
46. **G. Kroemer, L. Galluzzi, O. Kepp, L. Zitvogel.** Immunogenic cell death in cancer therapy. *Annu. Rev. Immunol.* 2013, 31, pp. 51-72.
47. **O. Kepp, L. Galluzzi, I. Martins, F. Schlemmer, S. Adjemian, M. Michaud, et al.** Molecular determinants of immunogenic cell death elicited by anticancer chemotherapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2011, 30, pp. 61-69.
48. **O. Kepp, L. Senovilla, I. Vitale, E. Vacchelli, S. Adjemian, P. Agostinis, et al.** Consensus guidelines for the detection of immunogenic cell death. *Oncoimmunology.* 2014, 3.
49. **M. Obeid, A. Tesniere, F. Ghiringhelli, G.M. Fimia, L. Apetoh, J.L. Perfettini, et al.** Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nat. Med.* 2007, 13, pp. 54-61.
50. **J. Fucikova, P. Kralikova, A. Fialova, T. Brtnicky, L. Rob, J. Bartunkova, et al.** Human tumor cells killed by anthracyclines induce a tumor-specific immune response. *Cancer Res.* 2011, 71, pp. 4821-4833.
51. **A. Tesniere, F. Schlemmer, V. Boige, O. Kepp, I. Martins, F. Ghiringhelli, et al.** Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin. *Oncogene.* 2010, 29, pp. 482-491.
52. **G. Schiavoni, A. Sistigu, M. Valentini, F. Mattei, P. Sestili, F. Spadaro, et al.** Cyclophosphamide synergizes with type I interferons through systemic dendritic cell reactivation and induction of immunogenic tumor apoptosis. *Cancer Res.* 2011, 71, pp. 768-778.
53. **K. Pietras, D. Hanahan.** A multitargeted, metronomic, and maximum tolerated dose "chemo-switch" regimen is antiangiogenic, producing objective responses and survival benefit in a mouse model of cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005, 23, pp. 939-952.
54. **G. Bocci, R.S. Kerbel.** Pharmacokinetics of metronomic chemotherapy: a neglected but crucial aspect. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2016, 13, pp. 659-673.
55. **H. Tanaka, H. Matsushima, N. Mizumoto, A. Takashima.** Classification of chemotherapeutic agents based on their differential in vitro effects on dendritic cells. *Cancer Res.* 2009, 69, pp. 6978-6986.

56. **H. Tanaka, H. Matsushima, A. Nishibu, B.E. Clausen, A. Takashima.** Dual therapeutic efficacy of vinblastine as a unique chemotherapeutic agent capable of inducing dendritic cell maturation. *Cancer Res.* 2009, 69, pp. 6987-6994.
57. **G.V. Shurin, I.L. Tourkova, R. Kaneno, M.R. Shurin.** Chemotherapeutic agents in noncytotoxic concentrations increase antigen presentation by dendritic cells via an IL-12-dependent mechanism. *J. Immunol.* 2009, 183, pp. 137-144.
58. **D.I. Gabrilovich, S. Nagaraj.** Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2009, 9, pp. 162-174.
59. **S. Nagaraj, D.I. Gabrilovich.** Tumor escape mechanism governed by myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Res.* 2008, 68, pp. 2561-2563.
60. **J.I. Youn, D.I. Gabrilovich.** The biology of myeloid-derived suppressor cells: the blessing and the curse of morphological and functional heterogeneity. *Eur. J. Immunol.* 2010, 40, pp. 2969-2975.
61. **R. Wesolowski, J. Markowitz, W.E. Carson 3rd.** Myeloid derived suppressor cells - a new therapeutic target in the treatment of cancer. *J. Immunother. Cancer.* 2013, 1.
62. **E. Suzuki, V. Kapoor, A.S. Jassar, L.R. Kaiser, S.M. Albelda.** Gemcitabine selectively eliminates splenic Gr-1⁺/CD11b⁺ myeloid suppressor cells in tumor-bearing animals and enhances antitumor immune activity. *Clin. Cancer Res.* 2005, 11, pp. 6713-6721.
63. **H.K. Le, L. Graham, E. Cha, J.K. Morales, M.H. Manjili, H.D. Bear.** Gemcitabine directly inhibits myeloid derived suppressor cells in BALB/c mice bearing 4T1 mammary carcinoma and augments expansion of T cells from tumor-bearing mice. *Immunopharmacol.* 2009, 9, pp. 900-909.
64. **E. Hasnis, D. Alishekevitz, S. Gingis-Veltski, R. Bril, E. Fremder, T. Voloshin, et al.** Anti-Bv8 antibody and metronomic gemcitabine improve pancreatic adenocarcinoma treatment outcome following weekly gemcitabine therapy. *Neoplasia.* 2014, 16, pp. 501-510.
65. **J. Vincent, G. Mignot, F. Chalmin, S. Ladoire, M. Bruchard, A. Chevriaux, et al.** 5-Fluorouracil selectively kills tumor-associated myeloid-derived suppressor cells resulting in enhanced T cell-dependent antitumor immunity. *Cancer Res.* 2010, 70, pp. 3052-3061.
66. **A. Sevko, T. Michels, M. Vrohligs, L. Umansky, P. Beckhove, M. Kato, et al.** Antitumor effect of paclitaxel is mediated by inhibition of myeloid-derived suppressor cells and chronic inflammation in the spontaneous melanoma model. *J. Immunol.* 2013, 190, pp. 2464-2471.
67. **M. Tongu, N. Harashima, H. Monma, T. Inao, T. Yamada, H. Kawauchi, et al.** Metronomic chemotherapy with low-dose cyclophosphamide plus gemcitabine can induce anti-tumor T cell immunity in vivo. *Immunother.* 2013, 62, pp. 383-391.
68. **M. Noguchi, F. Moriya, N. Koga, S. Matsueda, T. Sasada, A. Yamada, et al.** A randomized phase II clinical trial of personalized peptide vaccination with metronomic low-dose cyclophosphamide in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 2016, 65, pp. 151-160.

69. **A. Sevko, M. Sade-Feldman, J. Kanterman, T. Michels, C.S. Falk, L. Umansky, et al.** Cyclophosphamide promotes chronic inflammation-dependent immunosuppression and prevents antitumor response in melanoma. *J. Invest. Dermatol.* 2013, 133, pp. 610-619.
70. **J. Wang, T.R. McGuire, H.C. Britton, J.K. Schwarz, F.R. Loberiza, J.L. Meza, et al.** Lenalidomide and cyclophosphamide immunoregulation in patients with metastatic, castration-resistant prostate cancer. *Clin. Exp. Metastasis.* 2015, 32, pp. 111-124.
71. **Abhisek Swaika, William A. Hammond, Richard W. Joseph.** Current state of anti-PD-L1 and anti-PD-1 agents in cancer therapy. *Molecular Immunology.* 2015, 67, pp. 4-17.
72. **Paul E. Hughes, Sean Caenepeel, and Lawren C. Wu,.** Targeted Therapy and Checkpoint Immunotherapy Combinations for the Treatment of Cancer. *CellPress.* 2016, Vol. 37, 7.
73. **Axel, Hoos.** Development of immuno-oncology drugs--from CTL-4 to the next generations. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2016, 15.
74. **Taube, Joel Sunshine and Janis M.** PD-1/PD-L1 inhibitors. *Current opinion in Pharmacology.* 2015, 23, σσ. 32-38.
75. **Han, Lieping Chen and Xue.** Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future. *The Journal of Clinical Investigation.* 2015, Vol. 125, 9.
76. **Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC McDermott DF, Powderly JD, Carvajal RD, Sosman JA, Atkins MB et. al.** Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 2012, 366, σσ. 2443-2454.
77. **Hermans I, Chong T, Palmowski M, Harris A, Cerundolo V.** Synergistic effect of dosing cyclophosphamide combined with specific immunotherapy in a murine melanoma model. *Cancer Research.* 2003, 63, pp. 8408-8413.
78. **Denies, Sofie.** Combination of interleukin-12 gene therapy, metronomic cyclophosphamide and DNA cancer vaccination directs all arms of the immune system towards tumor eradication. *Journal of Controlled Release.* 2014, 187, σσ. 175-182.
79. **Lasalvia-Prisco, E. et al.** Addition of an induction regimen of antiangiogenesis and antitumor immunity to standard chemotherapy improves survival in advanced malignancies. *Med. Oncol.* 2012, 29, pp. 3626-3633.
80. **Ellebaek, E. et al.** Metastatic melanoma patients treated with dendritic cell vaccination, Interleukin-2 and metronomic cyclophosphamide results from a phase II trial. *Cancer Immunol. Immunother.* 2012, 61, pp. 1791-1804.
81. **Soriano, J. L. et al.** Metronomic cyclophosphamide and methotrexate chemotherapy combined with 1E10 anti-idiotypic vaccine in metastatic breast cancer. *Int. J. Breast Cancer.* 2011.
82. **Cerullo, V. et al.** Immunological effects of low-dose cyclophosphamide in cancer patients treated with oncolytic adenovirus. *Mol. Ther.* 2011, 19, pp. 1737-1746.

83. **Khan, O. A. et al.** Continuous low-dose cyclophosphamide and methotrexate combined with celecoxib for patients with advanced cancer. *Br J Cancer*. 2011, Vol. 104, 12, pp. 1822-1827.
84. **Walter, B. et al.** Pioglitazone, etoricoxib, interferon- α , and metronomic capecitabine for metastatic renal cell carcinoma: final results of a prospective phase II trial. *Med Oncol*. 2012, 2, pp. 799-805.