



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ**

Π.Μ.Σ. «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες»

Κατεύθυνση: Μοριακή και Εφαρμοσμένη Φαρμακολογία

**«ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΑ ΛΕΜΦΩΜΑΤΑ: ΑΞΙΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΥΣ
ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΑΥΤΩΝ»**

ΚΟΛΟΒΟΥ ΑΛΙΚΗ

ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, 2020

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	4
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	4
A.1 Λεμφώματα.....	5
A.1.1. Λέμφωμα Hodgkin	5
A.1.1.1. Επιδημιολογία και παθογένεια.....	6
A.1.1.1.2. Ταξινόμηση των λεμφωμάτων Hodgkin	6
A.1.1.1.3. Κλινική εικόνα	7
A.1.1.1.4. Σταδιοποίηση	8
A.1.1.1.5. Θεραπευτικές προσεγγίσεις	9
A.1.2. Λέμφωμα non-Hodgkin.....	10
A.1.2.1. Επιδημιολογία και παθογένεια.....	10
A.1.2.2. Ταξινόμηση	11
A.1.2.3. Κλινική εικόνα	14
A.1.2.4. Σταδιοποίηση	14
A.2. Ανοσοποιητικό Σύστημα	14
A.2.1. Φυσική ανοσία.....	16
A.2.2. Επίκτητη Ανοσία (acquired immunity, adaptive immunity)	22
A.2.2.1. Χυμική ανοσοαπάντηση.....	23
A.2.2.1.1. Κύρια δομικά στοιχεία ενός αντισώματος.....	25
A.2.2.1.2. Μονοκλωνικά αντισώματα	26
A.2.2.1.3. Ενεργοποίηση Β κυττάρων.....	28
A.2.2.2. Κυτταρική ανοσοαπάντηση	31
A.2.2.2.1. Δομή και λειτουργία των μορίων του ΜHC.....	33
B. ΣΚΟΠΟΣ	38
Γ. ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ	39
Γ.1. Ανοσοθεραπεία για Hodgkin λεμφώματα.....	40
Γ.1.1. Brentuximab vedotin	40
Γ.1.1.1. Κλινική μελέτη σε ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin σταδίου III ή IV, χωρίς προηγούμενη θεραπεία (ECHELON, NCT01712490)	41
Γ.1.1.2. Κλινική μελέτη σε ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής ή εξέλιξης της νόσου μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (AETHERA, NCT01100502)	43
Γ.1.1.3. Κλινική μελέτη σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον λέμφωμα Hodgkin (NCT00848926).....	45

Γ.1.2. Αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (immune checkpoint inhibitors).....	46
Γ.1.2.1. Nivolumab.....	48
Γ.1.2.1.1. Λήψη nivolumab σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον κλασικό Hodgkin λέμφωμα (cHL) μετά από αποτυχία αυτόλογης μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων-CHECKMATE 205.....	48
Γ.1.2.2. Pembrolizumab.....	50
Γ.1.2.2. 1. Κλινική μελέτη σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον κλασικό λέμφωμα Hodgkin (KEYNOTE-087)	51
Γ.2. Ανοσοθεραπεία για non-Hodgkin λεμφώματα	53
Γ.2.1. Rituximab	53
Γ.2.1.1. Κλινική μελέτη σε υποτροπιάζον ή ανθεκτικό, CD20+ non-Hodgkin λέμφωμα (NHL) χαμηλής κακοήθειας	55
Γ.2.1.2. Κλινική μελέτη σε οζώδες CD20+ B κυτταρικό NHL προχωρημένου σταδίου, χωρίς προηγούμενη θεραπευτική αγωγή συνδυαστικά με CVP	57
Γ.2.1.3. Κλινική μελέτη σε ασθενείς με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό οζώδες B κυτταρικό NHL που είχαν λάβει χημειοθεραπεία ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με ριτουξιμάμπη (φάση συντήρησης)	59
Γ.2.1.4. Κλινική μελέτη σε διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα B-κύτταρα (DLBCL)	59
Γ.2.2. Obinutuzumab	61
Γ.2.2.1. Κλινική μελέτη σε οζώδες λέμφωμα ανθεκτικό στη ριτουξιμάμπη (GADOLIN)	61
Γ.2.3. Polatuzumab	64
Γ.2.3.1. Κλινική μελέτη σε υποτροπιάζον ή ανθεκτικό διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα B κύτταρα (DLBCL), NCT02257567	65
Γ.2.4. Θεραπεία με T λεμφοκύτταρα που φέρουν χημειοθεραπευτικό υποδοχέα (CAR).....	68
Γ.2.4.1. Axicabtagene ciloleucel	72
Γ.2.4.1.1. Κλινική μελέτη σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα B κύτταρα-ZUMA-1.....	73
Γ.2.4.2. Tisagenlecleucel.....	75
Γ.2.4.2.1. Κλινική μελέτη σε ανθεκτικό η υποτροπιάζον λέμφωμα από μεγάλα B κύτταρα (JULIET).....	76
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	78
Περίληψη.....	81
Abstract	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
Βιβλιογραφία.....	83

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία με τίτλο: «Ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις στα λεμφώματα: αξιοποιώντας τους μηχανισμούς του ανοσοποιητικού συστήματος για την αντιμετώπιση αυτών» εκπονήθηκε στα πλαίσια της ειδίκευσης «Μοριακής και Εφαρμοσμένης Φαρμακολογίας» του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες» του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Πρόκειται για μια βιβλιογραφική μελέτη στην οποία καταγράφονται τρόποι αντιμετώπισης των Hodgkin και των non-Hodgkin λεμφωμάτων μέσω της ανοσοθεραπείας, η οποία έχει αναπτυχθεί δραστικά τα τελευταία χρόνια και έχει συμβάλει στην αύξηση του ποσοστού επιβίωσης σε ασθενείς για τους οποίους δεν υπήρχε θεραπεία.

Η εργασία αυτή αποτελεί την επισφράγιση των μεταπτυχιακών μου σπουδών που πραγματοποίησα στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, συνεχίζοντας τον προπτυχιακό κύκλο σπουδών στη Φαρμακευτική του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Για την επίτευξη αυτού πολύτιμη στάθηκε η συμβολή διαφόρων μελών της πανεπιστημιακής κοινότητας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Φαρμακολογίας, κ. Παππά Περικλή για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος. Ιδιαίτερα θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την υπομονή και την έμπρακτη βοήθεια του, προκειμένου να ολοκληρωθεί η μελέτη.

Ακόμη, ευχαριστώ θερμά την Επίκουρη Καθηγήτρια Αιματολογίας, κα. Ελευθερία Χατζημιχαήλ για την πολύτιμη βοήθεια που μου πρεσέφερε. Ήταν πάντα πρόθυμη να απαντήσει σε κάθε μου απορία, με ενθάρρυνε κάθε φορά που προέκυπταν δυσκολίες και κινητοποιούσε τη σκέψη μου δίνοντας μου νέα ερεθίσματα με έμφαση στην επιστημονική ακρίβεια.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Καθηγητή Βιολογίας, κ. Χαράλαμπο Αγγελίδη για τις υποδείξεις του και τη γόνιμη συνεργασία μας.

Ακόμη, ευχαριστώ θερμά την κα. Βεζυράκη, υπεύθυνη του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών για την καθοδήγησή και τη στήριξη.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια και τους φίλους μου για τη σταθερή υποστήριξή τους, οι οποίοι συνέβαλλαν με το δικό τους τρόπο στην ολοκλήρωση της μελέτης.

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A.1 Λεμφώματα

Τα λεμφώματα αποτελούν μια ετερογενή ομάδα κακοήθων αιματολογικών νεοπλασιών τα οποία αναπτύσσονται κυρίως στους λεμφαδένες και στο σπλήνα. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις διηθούν και εξωαδενικά όργανα όπως τον μυελό των οστών, το ήπαρ, το κεντρικό νευρικό σύστημα και το πεπτικό σύστημα. (Hoffbrand et al, 2014)

Τα λεμφώματα χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: στα Hodgkin (HL) και στα non-Hodgkin λεμφώματα (NHL). Παρόλο που οι φαινότυποι και οι θεραπευτικές προσεγγίσεις μπορεί να διαφέρουν, τα συμπτώματα μπορεί να είναι παρόμοια μεταξύ τους. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν λεμφαδενοπάθεια, η οποία δεν είναι επώδυνη, πυρετό, νυκτερινές εφιδρώσεις, κνησμό και ανεξήγητη απώλεια βάρους. Σε περίπτωση διήθησης εξωλεμφαδενικού οργάνου τα συμπτώματα είναι σχετικά με το όργανο που προσβάλλεται, π.χ. επιγαστραλγία σε λέμφωμα στομάχου ή κεφαλαλγία σε λέμφωμα κεντρικού νευρικού συστήματος. (Chapel et al, 2014)

Η παθογένεια των λεμφωμάτων είναι πολύπλοκη και τα μοριακά γεγονότα που συμβαίνουν κατά την λεμφωματογένεση δεν είναι πλήρως κατανοητά. Ένας πιθανός μηχανισμός είναι η συσσώρευση γενετικών μεταλλάξεων, οι οποίες ενισχύουν τη δραστηριότητα των πρωτοογκογονιδίων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία των ογκογονιδίων. Οι μεταβολές αυτές μπορούν να επέλθουν μέσω χρωμοσωματικών μεταθέσεων και γονιδιακής ενίσχυσης. (Elenitoba-Johnson and Lim, 2018)

Σε κακοήθη κύτταρα συγκεκριμένων τύπων λεμφωμάτων μπορεί να βρεθεί γενετικό υλικό ογκογόνων ιών, όπως του ιού Epstein-Barr και του ανθρώπινου ερπητοϊού 8. Πιο συγκεκριμένα, στις μισές ή περισσότερες περιπτώσεις λεμφώματος Hodgkin ανιχνεύεται το γονιδίωμα του ιού Epstein-Barr αλλά ο ρόλος του στην παθογένεια της νόσου είναι ασαφής. Η λοίμωξη με τον ιό Epstein-Barr σχετίζεται, επίσης, με το ενδημικό, αφρικανικό λέμφωμα Burkitt. (De Vita et al, 2011)

Εκτός από τους λοιμώδεις παράγοντες, τα αυτοάνοσα νοσήματα και οι ανοσοκατασταλτικές θεραπείες έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης λεμφωμάτων. Για παράδειγμα, η χρήση κυτταροτοξικών παραγόντων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα πολλαπλασιάζει τον κίνδυνο για ανάπτυξη λεμφωμάτων. Ωστόσο, και τα άτομα στα οποία χορηγήθηκαν ενώσεις χρυσού ή πενικιλλαμίνης στο παρελθόν είχαν, επίσης, αυξημένες πιθανότητες για ανάπτυξη λεμφωμάτων (κυρίως Hodgkin). Συμπερασματικά, ο κίνδυνος ανάπτυξης λεμφώματος σχετίζεται μερικώς με δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού, όπως στις πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες. (Chapel, et al, 2014)

A.1.1. Λέμφωμα Hodgkin

Το λέμφωμα Hodgkin, γνωστό και ως νόσος του Hodgkin, είναι ένα νεόπλασμα του αιμοποιητικού συστήματος που χαρακτηρίζεται από την κλασική ιστολογική εμφάνιση των ασυνήθιστα μεγάλων πολυπύρηνων Reed-Sternberg κυττάρων και μονοπύρηνων Hodgkin

κυττάρων. (Shanbhag and Ambinder, 2018) Τα Reed-Sternberg κύτταρα είναι Β κυτταρικής αρχής και αποτελούν ένα πολύ μικρό κλάσμα των κυττάρων του όγκου (περίπου 1% των καρκινικών κυττάρων). Το υπόλοιπο μέρος της μάζας του όγκου αποτελείται από ένα αντιδραστικό κυτταρικό διήθημα. Κάποια κύτταρα αυτού περιλαμβάνουν Τ και Β κύτταρα, μακροφάγα, ινοβλάστες, ηωσινόφιλα και πλασματοκύτταρα.

Η νόσος περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1832 από τον Thomas Hodgkin, επιμελητή του μουσείου ανατομίας του Νοσοκομείου Guy's στο Λονδίνο. Επιπλέον, η Dorothy Reed και ο Carl Sternberg περιέγραψαν τα ανώμαλα κύτταρα που διακρίνουν το λέμφωμα αυτό από τα άλλα λεμφώματα το 1898. (Randall E. Harris, 2016)

A.1.1.1. Επιδημιολογία και παθογένεια

Η νόσος Hodgkin αποτελούσε μια θανατηφόρα κακοήθεια, καθώς λιγότερο από 10% των ασθενών επιβίωναν για περισσότερο από 5 χρόνια. Η επίπτωση της νόσου είναι 4 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους ανά έτος, με τους άνδρες να έχουν μία ελαφρά υπεροχή η οποία αυξάνεται στις νέες ηλικίες. Αποτελούν περίπου το 10% όλων των λεμφωμάτων. Η εμφάνιση των λεμφωμάτων Hodgkin εμφανίζει μια δικόρυφη κατανομή. Πιο συγκεκριμένα, επηρεάζουν νέους ανθρώπους, κυρίως 15-30 ετών και άτομα άνω των 60 ετών. (Ansell, 2015) Ο αριθμός των περιστατικών της νόσου Hodgkin έχει παραμείνει σταθερός από τα μέσα της δεκαετίας του 1970, αλλά τα ποσοστά θνησιμότητας έχουν μειωθεί με σταθερό ρυθμό από 1.3 περιπτώσεις ανά 100.000 το 1975 σε 0.3 περιπτώσεις ανά 100.000 το 2014. (Shanbhag and Ambinder, 2018) Ανεξάρτητα από το στάδιο της νόσου, το ποσοστό της πενταετούς επιβίωσης των ασθενών με λέμφωμα Hodgkin έχει αυξηθεί από 70% σε 85% στο ίδιο χρονικό διάστημα. (Cartwright and Watkins, 2004)

Η παθογένεια της νόσου Hodgkin παραμένει ασαφής. Έχει υποστηριχθεί ότι η λοίμωξη με τον ιό Epstein-Barr αυξάνει τις πιθανότητες για εμφάνιση του λεμφώματος Hodgkin, αλλά δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη με ποιόν τρόπο. Επίσης, η ανοσοκαταστολή αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης λεμφώματος Hodgkin. Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς με AIDS έχουν μεγαλύτερη προδιάθεση ανάπτυξης λεμφώματος Hodgkin συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό. Επιπλέον, ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου Hodgkin αυξάνεται μετά από μεταμόσχευση οργάνου και σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα, όπως η ρευματοειδή αρθρίτιδα (OR=2.7), ο συστηματικός ερυθρεμάτωδης λύκος (OR=5.8) και η σαρκοείδωση (OR=14.1). (Shanbhag and Ambinder, 2018)

A.1.1.2. Ταξινόμηση των λεμφωμάτων Hodgkin

Τα λεμφώματα Hodgkin χωρίζονται σε 2 κύριες κατηγορίες: στο κλασικό λέμφωμα Hodgkin (cHL) και στο οζώδες με λεμφοκυτταρική επικράτηση λέμφωμα Hodgkin (NLPHL) ανάλογα με την μορφολογία και την ανοσοϊστοχημεία. Πάνω από το 90% των περιπτώσεων των Hodgkin λεμφωμάτων αφορούν το κλασικό λέμφωμα Hodgkin. Τα κακοήθη HRS κύτταρα στο κλασικό Hodgkin λέμφωμα είναι θετικά σε CD15 και CD30 και αρνητικά σε CD45. (Shanbhag and Ambinder, 2018)

Το **κλασικό λέμφωμα Hodgkin** μπορεί να υποταξινομηθεί σε 4 ιστολογικούς υποτύπους με βάση την μορφολογία των κυττάρων Reed-Sternberg και τη σύσταση του αντιδρώντος κυτταρικού μικροπεριβάλλοντος.

- Λέμφωμα Hodgkin - υπότυπος με οζώδη σκλήρυνση (NSHL): Αποτελεί τον πιο συχνά εμφανιζόμενο υπότυπο στις Δυτικές χώρες. Χαρακτηρίζεται από μεγάλα οζίδια στα οποία βρίσκονται διασκορπισμένα Reed-Sternberg κύτταρα, που περιτριγυρίζονται από λεμφοκύτταρα, ηωσινόφιλα και πλασματοκύτταρα με ποικίλου βαθμού ίνωσης. Τα Reed-Sternberg είναι συνήθως αρνητικά στον ιό Epstein Barr.
- Λέμφωμα Hodgkin – υπότυπος μικτής Κυτταροβρίθειας (MCHL): Αποτελεί κοινό υπότυπο που χαρακτηρίζεται από Reed-Sternberg κύτταρα αναμεμιγμένα με πολλά φλεγμονώδη κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων λεμφοκυττάρων, ηωσινοφίλων και ιστιοκυττάρων. Εμφανίζεται συνήθως σε παιδιά ή σε άτομα άνω των 60 ετών όπως και σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Συχνά, τα Reed-Sternberg κύτταρα είναι μολυσμένα με τον ιό του Epstein-Barr.
- Λέμφωμα Hodgkin – υπότυπος πλούσιος σε λεμφοκύτταρα (LRCHL): Είναι ένας σπάνιος υπότυπος που έχει την πιο ευνοϊκή πρόγνωση. Επηρεάζει κυρίως τους τραχηλικούς λεμφαδένες. Τα Reed-Sternberg κύτταρα είναι μολυσμένα με τον ιό του Epstein-Barr στο 30-50% των περιπτώσεων.
- Λέμφωμα Hodgkin -λεμφοπενικός υπότυπος (LDCHL): Είναι σπάνιος υπότυπος που χαρακτηρίζεται από μεγάλο αριθμό Reed-Sternberg κυττάρων με λίγα μόνο αντιδραστικά λεμφοκύτταρα. Εμφανίζεται συνήθως σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (π.χ. ασθενείς με HIV). Τα Reed-Sternberg κύτταρα είναι συχνά μολυσμένα με τον ιό του Epstein-Barr. Συγγέεται εύκολα με το διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα B κύτταρα.

Το **οζώδες Hodgkin λέμφωμα με λεμφοκυτταρική επικράτηση (NLPHL)** μοιάζει περισσότερο στον υπότυπο που είναι πλούσιος σε λεμφοκύτταρα (LRCHL). Ωστόσο, υπάρχουν σημαντικές διαφορές τόσο ως προς την μορφολογία, όσο στην κλινική εμφάνιση. Εμφανίζεται περισσότερο σε άνδρες και υποτροπιάζει πιο συχνά από ότι το λέμφωμα Hodgkin που είναι πλούσιο σε λεμφοκύτταρα. (Shanbhag and Ambinder, 2018) (Mathas et al, 2016)

Η διάγνωση του λεμφώματος Hodgkin τίθεται με βιοψία του πάσχοντος ιστού. Για τη σταδιοποίηση του λεμφώματος και την εκτίμηση της πρόγνωσης ο ασθενής θα πρέπει επίσης να υποβληθεί σε αξονική τομογραφία (CT) και τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), καθώς και σε γενική αίματος και βιοχημικό έλεγχο. Επιπλέον, γίνεται έλεγχος λειτουργίας βασικών οργάνων όπως της καρδιάς και των πνευμόνων για να εκτιμηθεί κατά πόσο ο ασθενής μπορεί να υποβληθεί σε χημειοθεραπεία. (Ansell, 2015)

A.1.1.3. Κλινική εικόνα

Οι ασθενείς με λέμφωμα Hodgkin μπορεί να εμφανίζουν κάποιο από τα ακόλουθα συμπτώματα:

- Λεμφαδενοπάθεια: Ανώδυνη διόγκωση ενός ή περισσότερων λεμφαδένων. Συνήθως περιλαμβάνει τους αδένες του τραχήλου και τους λεμφαδένες του μεσοθωρακίου.
 - Κνησμό
 - Νυχτερινή εφίδρωση
 - Ανεξήγητη απώλεια βάρους
 - Πυρετό
 - Συνεχής κόπωση
 - Αυξημένη ευαισθησία στους λεμφαδένες μετά από κατανάλωση αλκοόλ
 - Ηπατομεγαλία (εμφανίζεται περίπου στο 5% των ατόμων με λέμφωμα Hodgkin)
 - Σπληνομεγαλία (παρουσιάζεται στο 30% των περιπτώσεων)
- (Shanbhag and Ambinder, 2017)

A.1.1.4. Σταδιοποίηση

Η ταξινόμησή τους σε στάδια είναι απαραίτητη για την πρόγνωση και τη θεραπεία των λεμφωμάτων. Το επικρατέστερο σύστημα σταδιοποίησης που χρησιμοποιείται για τα Hodgkin λεμφώματα είναι η ταξινόμηση κατά Lugano, που έχει βασισθεί στο παλιότερο Ann Arbor σύστημα. Έχει στάδια, τα οποία είναι I, II, III, IV. (Cheson et al, 2014)

Για τα στάδια I ή II σε περίπτωση που το Hodgkin λέμφωμα επηρεάζει ένα όργανο εκτός λεμφικού συστήματος, το γράμμα E προστίθεται στο αντίστοιχο στάδιο (π.χ. IE ή IIE).

Στάδιο I: Οποιαδήποτε από τα ακόλουθα σημαίνει ότι το λέμφωμα Hodgkin βρίσκεται στο στάδιο I.

- Το λέμφωμα Hodgkin βρίσκεται σε έναν μόνο λεμφαδένα ή σε ένα λεμφοειδές όργανο, όπως ο θύμος αδένας.(I)
- Ο καρκίνος βρίσκεται μόνο σε ένα μέρος ενός οργάνου, που βρίσκεται εκτός λεμφικού συστήματος (IE).

Στάδιο II Οποιαδήποτε από τα ακόλουθα σημαίνει ότι το λέμφωμα Hodgkin βρίσκεται στο στάδιο II.

- Το λέμφωμα Hodgkin βρίσκεται σε 2 ή περισσότερους λεμφαδένες από την ίδια πλευρά (πάνω ή κάτω) του διαφράγματος, δηλαδή του μυός που βρίσκεται κάτω από τους πνεύμονες και διαχωρίζει το στήθος από την κοιλιά.
- Ο καρκίνος επεκτείνεται τοπικά από την περιοχή του ενός λεμφαδένα σε γειτονικό όργανο (IIE).

Στάδιο III: Οποιαδήποτε από τα ακόλουθα σημαίνει ότι το λέμφωμα Hodgkin βρίσκεται στο στάδιο III.

- Το λέμφωμα Hodgkin βρίσκεται στην περιοχή των λεμφαδένων και από τις 2 πλευρές (πάνω και κάτω) του διαφράγματος (III).
- Το λέμφωμα Hodgkin βρίσκεται στους λεμφαδένες πάνω από το διάφραγμα καθώς και στο σπλήνα.

Στάδιο IV: Το λέμφωμα Hodgkin έχει εξαπλωθεί ευρέως σε τουλάχιστον ένα όργανο εκτός του λεμφικού συστήματος, όπως είναι το ήπαρ, ο μυελός των οστών και οι πνεύμονες.

Επιπλέον, κάθε στάδιο μπορεί να πάρει ένα επιπλέον γράμμα (A ή B). Το B προστίθεται σε περίπτωση που ένα άτομο έχει οποιαδήποτε από τα εξής B συμπτώματα:

- Απώλεια μεγαλύτερη του 10% του σωματικού βάρους κατά τους 6 τελευταίους μήνες, χωρίς να έχει προηγηθεί δίαιτα.
- Ανεξήγητος πυρετός που ξεπερνά τους 38°C.
- Έντονες νυχτερινές εφιδρώσεις

Αν κάποιος έχει οποιαδήποτε από τα παραπάνω B συμπτώματα, σημαίνει συνήθως ότι το λέμφωμα βρίσκεται σε πιο προχωρημένο στάδιο και απαιτείται πιο δραστική θεραπεία. Το γράμμα B προστίθεται στο αντίστοιχο στάδιο. Αν δεν έχουν εκδηλωθεί κανένα από τα παραπάνω συμπτώματα, τότε το γράμμα A προστίθεται στο αντίστοιχο στάδιο.

Ογκώδης νόσος (bulky disease): Αυτός ο όρος χρησιμοποιείται για να περιγράψει λεμφαδενική μάζα, της οποίας η εγκάρσια διάμετρος είναι μεγαλύτερη των 10cm. Σε αυτήν την περίπτωση, η πρόγνωση δεν είναι καλή και επηρεάζει τη θεραπεία ανεξαρτήτως σταδίου. (Hoffbrand et al, 2014)

Επίσης, χρησιμοποιούνται κάποιοι επιπρόσθετοι όροι για να χαρακτηρίσουν ένα λέμφωμα, κυρίως για πρακτικούς λόγους και δεν αποτελούν μέρος του επίσημου συστήματος κατηγοριοποίησης. Ανθεκτικό (refractory) θεωρείται ένα λέμφωμα όταν δεν εξαλείφεται παρά τη φαρμακευτική αγωγή. Υποτροπιάζον (relapsed) θεωρείται ένα λέμφωμα όταν ξαναεμφανίζεται παρόλο που είχε εξαλειφθεί με τη φαρμακευτική αγωγή στο παρελθόν.

A.1.1.5. Θεραπευτικές προσεγγίσεις

Σε αυτό το σημείο θα αναφερθούν οι θεραπευτικές προσεγγίσεις που εφαρμόζονταν πριν την ανοσοθεραπεία. Αρχικά, η θεραπεία των Hodgkin λεμφωμάτων βασίζεται κυρίως στο στάδιο της νόσου αλλά και σε άλλους παράγοντες, όπως η ηλικία, ο τύπος και η τοποθεσία του λεμφώματος. Στο παρελθόν οι κύριες θεραπευτικές επιλογές για τα Hodgkin λεμφώματα ήταν η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία και ο συνδυασμός τους. (Shanbhag and Ambinder, 2018) Η ανακάλυψη νέων φαρμάκων όπως των αλκαλοειδών της vinca και της προκαρβαζίνης οδήγησαν στην καθιέρωση της συνδυαστικής χημειοθεραπείας. Το πρώτο συνδυαστικό θεραπευτικό σχήμα αποτελούσαν από ένα φάρμακο της κατηγορίας των μουστάρδων αζώτου (πχ μεχλορεθαμίνη), ένα αλκαλοειδές της vinca (πχ βινκριστίνη), την προκαρβαζίνη και την πρεδνιζόνη. Το σχήμα αυτό ονομάστηκε MOPP, από τα αρχικά γράμματα των φαρμάκων. Η θεραπεία αυτή χορηγείται συνήθως σε κύκλους των 4

εβδομάδων. Τα 2 πρώτα φάρμακα χορηγούνται ενδοφλεβίως, ενώ η προκαρβαζίνη και η πρεδνιζόνη χορηγούνται από το στόμα. Αυτό το θεραπευτικό σχήμα αναπτύχθηκε από το Εθνικό Ινστιτούτο για τον Καρκίνο στις Η.Π.Α. στη δεκαετία του 1960. Έξι μήνες χορήγησης του MOPP θεραπευτικού σχήματος οδήγησε σε πλήρη υποχώρηση του όγκου στο 81% των ασθενών που είχαν διαγνωσθεί σε προχωρημένο στάδιο κλασικού λεμφώματος Hodgkin. (Ansell, 2015). Το σχήμα MOPP στη συνέχεια εγκαταλείφθηκε κυρίως λόγω του αυξημένου ποσοστού στείρωσης με το οποίο σχετίστηκε.

Λίγο αργότερα, αναπτύχθηκε το **ABVD** θεραπευτικό σχήμα, που απαρτίζεται από τα εξής φάρμακα: αδριαμυκίνη (επίσης γνωστή ως δοξορουβικίνη), μπλεομυκίνη, βινβλαστίνη και ντακαρβαζίνη. Και τα 4 χημειοθεραπευτικά χορηγούνται ενδοφλεβίως. Η θεραπεία αυτή, επίσης, χορηγείται κατά κανόνα σε κύκλους των 4 εβδομάδων. Είναι πιθανό κάποιες δόσεις να καθυστερήσουν λόγω ουδετεροπενίας, θρομβοπενίας ή άλλων επιπλοκών. Ο συνολικός αριθμός των κύκλων θεραπείας εξαρτάται από το στάδιο της ασθένειας και από το κατά πόσο καλά ο ασθενής ανταποκρίνεται στη θεραπεία. (Engert et al, 2016)

Ένα άλλο πιο δραστικό θεραπευτικό σχήμα που αναπτύχθηκε στη Γερμανία είναι το **BEACOPP**, που απαρτίζεται από την μπλεομυκίνη, την ετοποσίδη, τη δοξορουβικίνη, την κυκλοφωσφαμίδη, τη βινκριστίνη, την προκαρβαζίνη και την πρεδνιζόνη. Αυτό χορηγείται σε ασθενείς με λέμφωμα Hodgkin προχωρημένου σταδίου ή ακόμη και σε πρωταρχικό στάδιο όταν η πρόγνωση δεν είναι καλή. Οι ασθενείς συνήθως λαμβάνουν θεραπεία σε κύκλους των 21 ημερών, όπου δεν χορηγείται κανένα φάρμακο από την 15^η ως τη 21^η μέρα. (Engert et al, 2016) (Ansell, 2015)

Επιπλέον, οι ασθενείς με νόσο I και IIA σταδίου μπορούν να ιαθούν μόνο με περιορισμένους κύκλους χημειοθεραπείας και ακτινοβολίας. Ωστόσο, η ακτινοθεραπεία συνήθως προκαλεί ανορεξία, ξηροστομία, εγκαύματα και αλλαγές στη γευστική αντίληψη, οι οποίες συνήθως είναι προσωρινές και σπάνια προκαλούν μεγάλη νοσηρότητα. Επίσης, μπορεί να παρατηρηθεί υποθυρεοειδισμός και μυελοκαταστολή. (Boydzis et al, 2014)

A.1.2. Λέμφωμα non-Hodgkin

Τα non-Hodgkin λεμφώματα αποτελούν μια ετερογενή ομάδα κλωνικών λεμφοειδών νεοπλασιών, από τις οποίες το 85% προέρχονται από B κύτταρα και το 15% από T κύτταρα. Ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών εμφανίζουν εξωλεμφαδενική νόσο. Τα non-Hodgkin λεμφώματα κατατάσσονται σε ειδικές ομάδες με βάση την μορφολογία, την προέλευση των νεοπλασματικών λεμφικών κυττάρων και τους υποκείμενους μοριακούς δείκτες. Μπορεί να παρουσιάζεται κλινικά ως ένα ασυμπτωματικό, αργά αναπτυσσόμενο νεόπλασμα ή ως ένα ήπιο μέχρι ταχέως εξελισσόμενο επιθετικό νεόπλασμα. (Armitage et al, 2017)

A.1.2.1. Επιδημιολογία και παθογένεια

Το πιο συναρπαστικό χαρακτηριστικό της επιδημιολογίας των λεμφωμάτων non-Hodgkin στις δυτικές χώρες είναι η ανεξήγητα μεγάλη αύξηση της νοσηρότητας αυτών τα τελευταία

χρόνια. Πιο συγκεκριμένα, τα λεμφώματα αυτά αποτελούν σήμερα την πέμπτη κατά σειρά συχνότητας κακοήθεια σε πολλές ανεπτυγμένες χώρες, με αναλογία 17 περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα. (Elenitoba-Johnson and Lim, 2017) Η νόσος εμφανίζεται πιο συχνά στους άνδρες από ότι στις γυναίκες, γεγονός το οποίο μπορεί να αναδεικνύει τον προστατευτικό ρόλο των οιστρογόνων στην εκδήλωση της νόσου. Η νοσηρότητα της νόσου αυξάνει με την ηλικία. Η ετήσια επίπτωση είναι 62.8/1.000.000 για άτομα άνω των 75 ετών. (Swerdlow, 2003)

Η νόσος ξεκινά από την κακοήθη εξαλλαγή ενός λεμφοκυττάρου, το οποίο πολλαπλασιάζεται και δίνει γένεση σε ομοειδή, κακοήθη κύτταρα. Αυτή η νεοπλαστική εκτροπή οφείλεται συνήθως σε μια ομάδα χρωμοσωματικών μεταθέσεων, οι οποίες προκαλούν ανώμαλη ενεργοποίηση γονιδίων που προάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, αναστολή της δραστηριότητας διαφόρων ογκο-κατασταλτικών γονιδίων ή αδρανοποίηση γονιδίων που επιφέρουν απόπτωση.

Η επέλευση των παραπάνω μοριακών ανωμαλιών ευνοείται από τους εξής παράγοντες:

- λοιμώξεις από ιούς ή βακτήρια (ιός Epstein-Barr, ανθρώπινος ερπητοϊός 8, ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού)
- ακτινοβολία και λήψη διαφόρων φαρμάκων
- ανοσοκαταστολή, η οποία μπορεί να προκύψει ως επιπλοκή ανοσοκατασταλτικής αγωγής ιδιαίτερα μετά από μεταμοσχεύσεις συμπαγών οργάνων ή σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα που ακολουθούν χρόνια ανοσοκατασταλτική αγωγή. (πχ σύνδρομο Sjorgen, ρευματοειδής αρθρίτιδα).

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η παχυσαρκία αποτελεί παράγοντα κινδύνου στο διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (DLBCL). (Armitage et al, 2017)

A.1.2.2. Ταξινόμηση

Τα λεμφώματα non-Hodgkin διακρίνονται σε νεοπλάσματα από ώριμα Β-κύτταρα και Τ-κύτταρα. Με άλλα λόγια, τα Β λεμφώματα αντιστοιχούν σε λεμφώματα από κύτταρα που προέρχονται είτε από τα πρόδρομα Β-κύτταρα (του μυελού) είτε από τα κύτταρα των βλαστικών κέντρων (GC). Αντίστοιχα, τα Τ λεμφώματα προέρχονται είτε από τα πρόδρομα Τ-κύτταρα στον μυελό και στο θύμο αδένα είτε στα ώριμα Τ-κύτταρα του περιφερικού αίματος. (Devita et al, 2011)

Επιπλέον, διακρίνονται σε λεμφώματα υψηλού και χαμηλού βαθμού κακοήθειας ανάλογα με το ρυθμό πολλαπλασιασμού τους. Πιο αναλυτικά, τα λεμφώματα υψηλής κακοήθειας είναι επιθετικά και χρειάζονται επείγουσα θεραπεία. Το 80% περίπου των ασθενών ανταποκρίνεται αρχικά στη θεραπεία αλλά μόλις το 35% θα έχει πενταετή επιβίωση χωρίς νόσο. Συνήθως ανταποκρίνονται πιο εύκολα στη χημειοθεραπεία λόγω του έντονου κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Αντίθετα, τα λεμφώματα χαμηλής κακοήθειας εμφανίζουν χαμηλό κυτταρικό πολλαπλασιασμό και συχνά έχουν ασυμπτωματική πορεία. Η συνολική μέση επιβίωση ορίζεται στα 10 χρόνια. Η μετατροπή σε υψηλότερης κακοήθειας λέμφωμα αποτελεί δυσμενής εξέλιξη για την επιβίωση.

Διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (DLBCL): Είναι η πιο κοινή μορφή των λεμφωμάτων non-Hodgkin στους ενήλικες καθώς υπολογίζεται ότι περίπου το ένα τρίτο των ασθενών με non Hodgkin λέμφωμα έχουν DLBCL. Αποτελεί μια ετερογενή ομάδα νεοπλασιών που διαφέρουν σε κλινικό, μοριακό και βιολογικό επίπεδο και περιλαμβάνει τα λεμφώματα υψηλής κακοήθειας, στα οποία η λεμφαδενοπάθεια επεκτείνεται ταχέως και συνοδεύεται από έντονο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η διήθηση συνήθως προσβάλλει το δέρμα, το έντερο, τον μυελό των οστών και το κεντρικό νευρικό σύστημα. (Jiang et al, 2017) Ένα από τα θεραπευτικά σχήματα πρώτης γραμμής είναι το R-CHOP, το οποίο αποτελείται από τα εξής φάρμακα: κυκλοφωσφαμίδη (cyclophosphamide), δοξορουβικίνη (γνωστή και ως hydroxydaunorubicin), βινκριστίνη (vincristine) και πρεδνιζόνη (prednisone) σε συνδυασμό με τη ριτουξιμάπη. Τα 3 πρώτα λαμβάνονται ενδοφλεβίως την 1^η μέρα του κύκλου, ενώ η πρεδνιζόνη σε ταμπλέτες μαζί με το γεύμα (καθημερινά από την 1^η έως την 5^η μέρα κύκλου).

Παρόλο που οι περισσότεροι ασθενείς θεραπεύονται με την θεραπεία πρώτης γραμμής, δηλαδή με 6 κύκλους R-CHOP των 3 εβδομάδων, γύρω στο 10-15% αυτών παρουσιάζουν αντίσταση σε αυτήν τη θεραπεία και ένα επιπλέον 20-30% παρουσιάζει υποτροπή της νόσου. Με άλλα λόγια, περίπου το 40% των ατόμων με DLBCL θα πεθάνει τελικά είτε εξαιτίας υποτροπής της νόσου είτε λόγω αντίστασης στη θεραπεία πρώτης γραμμής.

Για τους ασθενείς που δεν θεραπεύονται με πρώτης γραμμής θεραπεία, η χημειοθεραπεία υψηλής δόσης που ακολουθείται από αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων προσφέρει μια δεύτερη ευκαιρία για ίαση. Ωστόσο, δεν μπορούν όλοι οι ασθενείς να προβούν σε μεταμόσχευση, με αποτέλεσμα να μην μπορούν να επιτευχθούν παρατεταμένα διαστήματα ελέγχου της ασθένειας. (Kubushok et al, 2015)

Οζώδες λέμφωμα (FL): Είναι η δεύτερη πιο κοινή μορφή λεμφώματος στις ΗΠΑ και την Ευρώπη, αποτελώντας το 25% του συνόλου των λεμφωμάτων non-Hodgkin. Κατατάσσεται στα λεμφώματα χαμηλής κακοήθειας και η μέση ηλικία εμφάνισης είναι τα 60 έτη. Πήρε το όνομά του από τον τρόπο με τον οποίο τα λεμφοκύτταρα είναι διατεταγμένα σε θυλάκια μες στο λεμφαδένα. Η παθογένεια της νόσου έγκειται στις περισσότερες περιπτώσεις στη t(14;18)(q32;q21) μετάθεση, που οδηγεί στην υπερέκφραση της πρωτεΐνης BCL-2 με αποτέλεσμα την αύξηση της επιβίωσης των λεμφοκυττάρων λόγω μείωσης της απόπτωσης. (Jiang et al, 2017)

Η θεραπευτική αντιμετώπιση του συγκεκριμένου λεμφώματος εξαρτάται από το στάδιο της νόσου και μπορεί να είναι μόνο ακτινοθεραπεία ή μηνιαία χορήγηση ριτουξιμάμπης στα αρχικά στάδια μέχρι συνδυαστική ανοσοχημειοθεραπεία στα προχωρημένα στάδια (π.χ. R-CVP). (Press et al, 2001) Το 90% των ασθενών ανταποκρίνονται στη συγκεκριμένη αγωγή αλλά οι υποτροπές είναι συχνές. (Hoffbrand et al, 2014)

Λέμφωμα από κύτταρα του μανδύα (MCL): Το συγκεκριμένο λέμφωμα προέρχεται από κύτταρα του προβλαστικού κέντρου των πρωτογενών λεμφοζιδίων ή της περιοχής του μανδύα των δευτερογενών λεμφοζιδίων. Είναι ένα επιθετικό Β-κυτταρικό λέμφωμα με μέσο χρόνο επιβίωσης 3-4 χρόνια. Παρουσιάζεται κυρίως σε άτομα άνω των 60 ετών και εμφανίζεται πιο συχνά στους άνδρες από ότι στις γυναίκες. Το λέμφωμα από κύτταρα του μανδύα αποτελεί το 3-6% του συνόλου των λεμφωμάτων non-Hodgkin και η συχνότητα του

είναι 0,5 περιστατικά ανά 100.000 ανθρώπους στις δυτικές χώρες. Αυτή η νόσος αποδίδεται σε μία χρωμοσωμική μετάθεση t(11;14) που οδηγεί σε απορρύθμιση του γονιδίου της κυκλίνης D1 το οποίο ενσωματώνεται σε συνέχεια του γονιδίου της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης. (Cheah et al, 2016)

Η κλινική εικόνα χαρακτηρίζεται από λεμφαδενοπάθεια και συχνά από διήθηση του μυελού των οστών και κύτταρα του όγκου στο αίμα. Θεραπευτικά, χρησιμοποιείται το σχήμα R-CHOP αλλά και ισχυρότεροι συνδυασμοί όπως το R-hyper-CVAD/R-MA, το οποίο αποτελείται από κυκλοφωσφαμίδη, βινκριστίνη, δοξορουβικίνη και δεξαμεθαζόνη το οποίο εναλλάσσεται με υψηλής δόσης μεθοτρεξάτη και κυταραβίνη μαζί με ριτουξιμάμπη. Σε ασθενείς που είναι μικρότεροι των 65 ετών η κυταραβίνη σε υψηλές δόσεις, συνοδευόμενη από χημειοθεραπεία υψηλής δόσης και αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, έχει δώσει πολύ καλά αποτελέσματα. (Cheah et al, 2016) (Campo and Rule, 2016)

Λέμφωμα Burkitt: Το λέμφωμα Burkitt είναι ένα εξαιρετικά επιθετικό B κυτταρικό λέμφωμα Hodgkin. Σύμφωνα με τον World Health Organisation το λέμφωμα Burkitt κατηγοριοποιείται σε 3 διαφορετικές μορφές: την ενδημική, τη σποραδική και τη σχετιζόμενη με ανοσοανεπάρκεια μορφή. Αυτοί οι 3 τύποι είναι παρόμοιοι μεταξύ τους στην μορφολογία, στον ανοσοφαινότυπο και στην κυτταρογενετική. Το ενδημικό λέμφωμα Burkitt συναντάται σε περιοχές με χρόνια έκθεση στην ελονοσία και σχετίζεται με λοίμωξη από τον ιό Epstein-Barr. Αντίθετα, το σποραδικό λέμφωμα Burkitt μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε περιοχή του κόσμου και σχετίζεται με λοίμωξη από τον ιό Epstein-Barr μόνο στο 20% των περιπτώσεων. Επιπλέον, το σχετιζόμενο με ανοσοανεπάρκεια λέμφωμα Burkitt εντοπίζεται κυρίως σε ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό HIV. (Rochford and Moormann, 2015) (Molynieux et al, 2012)

Σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις διαπιστώνεται υπερέκφραση του ογκογονιδίου MYC λόγω της διαμετάθεσης t(8;14)(q24;q32). Η συγκεκριμένη διαμετάθεση έχει ως αποτέλεσμα την σύντηξη του ογκογονιδίου MYC με το γονίδιο της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης. Το λέμφωμα Burkitt αντιμετωπίζεται με επιθετική χημειοθεραπεία και η πρόγνωση είναι εξαιρετικά καλή. Ωστόσο, αν δε δοθεί εγκαίρως η κατάλληλη θεραπεία, αναπτύσσεται πολύ επιθετικά και προσβάλλει τον μυελό των οστών και το κεντρικό νευρικό σύστημα και καταλήγει σε θάνατο σε λίγους μόλις μήνες. (Molynieux et al, 2012)

Σε αυτό το σημείο αξίζει να αναφερθεί ότι απαιτείται μεγάλη προσοχή κατά την έναρξη της χημειοθεραπείας, διότι μπορεί να παρουσιαστεί το σύνδρομο λύσης του όγκου (tumor lysis syndrome), ιδιαίτερα σε ασθενείς με μεγάλα ή ταχέως αναπτυσσόμενα λεμφώματα. Η εξουδετέρωση των κυττάρων των λεμφωμάτων οδηγεί στην απελευθέρωση του περιεχομένου τους στη συστηματική κυκλοφορία. Ως αποτέλεσμα, είναι πιθανό να προκύψουν ηλεκτρολυτικές διαταραχές (υπερκαλιαιμία, υπερφωσφαταιμία, υπερασβεστιαϊμία, υπερουριχαιμία), οι οποίες χωρίς τη σωστή αντιμετώπιση μπορεί να προκαλέσουν καρδιακή δυσλειτουργία, νεφροπάθεια και νεφρική ανεπάρκεια.

Η διάγνωση των λεμφωμάτων non-Hodgkin επιτυγχάνεται κυρίως με βιοψία του διογκωμένου λεμφαδένα ή άλλων προσβεβλημένων ιστών όπως ο μυελός των οστών και

εξωλεμφικοί ιστοί. Συμπληρωματικά, γίνεται ανοσοφαινοτυπική και γενετική ανάλυση. Με αυτόν τον τρόπο, εντοπίζονται ο ανοσοφαινότυπος των αντιγόνων επιφανείας των Β ή Τ κυττάρων και οι χαρακτηριστικές χρωμοσωμικές μεταθέσεις που έχουν διαγνωστική αλλά και προγνωστική αξία. Επιπλέον, ο ασθενής υποβάλλεται σε γενική εξέταση αίματος, καθώς μπορεί να εμφανιστεί αναιμία, ουδετεροπενία και θρομβοπενία σε προχωρημένη νόσο με προσβολή του μυελού των οστών και σπληνομεγαλία. Ακόμη, τα επίπεδα της γαλακτικής αφυδρογονάσης αυξάνονται στη νόσο που εμφανίζει ταχύτερη υπερπλασία και μεγαλύτερη επέκταση. Τέλος, ο ασθενής μπορεί να υποβληθεί σε αξονική τομογραφία (CT) και σε τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), ώστε να εξακριβωθεί το στάδιο του λεμφώματος. (Karls et al, 2017)

A.1.2.3. Κλινική εικόνα

Οι ασθενείς παρουσιάζουν διάφορα συμπτώματα, κάποια εκ των οποίων είναι παρόμοια με αυτά της νόσου Hodgkin (τα γνωστά ως Β συμπτώματα), όπως απώλεια βάρους, ανεξήγητος πυρετός, νυχτερινές εφιδρώσεις και λεμφαδενοπάθεια ή διήθηση άλλων οργάνων, όπως του ήπατος, του εγκεφάλου ή των πνευμόνων. Ωστόσο, δεν εμφανίζονται τόσο συχνά όσο στη νόσο Hodgkin. Άτομα με λέμφωμα non-Hodgkin σε προχωρημένο στάδιο μπορεί να παρουσιάσουν, επίσης, καταστολή του μυελού των οστών όπως αναιμία ή εμφάνιση μωλώπων λόγω θρομβοπενίας. Συγκεντρωτικά, τα κυριότερα συμπτώματα είναι:

- Επιτολής λεμφαδενοπάθεια: Οι περισσότεροι ασθενείς παρουσιάζουν ασύμμετρη ανώδυνη διόγκωση λεμφαδένων σε μία ή περισσότερες λεμφαδενικές περιοχές
- Ιδιοσυστασιακά συμπτώματα: πυρετός, νυχτερινή εφίδρωση, ανεξήγητη απώλεια βάρους και κόπωση.
- Στοματοφαρυγγική προσβολή: Το 5-10% των ασθενών εμφανίζει προσβολή των στοματοφαρυγγικών λεμφικών οργάνων (δακτύλιος Waldeyer) που μπορεί να προκαλέσει κινάγχη ή δυσχέρεια στην αναπνοή
- Αναιμία, ουδετεροπενία ή θρομβοπενία σε ασθενείς με διάχυτη νόσο του μυελού των οστών. Η ουδετεροπενία ευθύνεται συνήθως για την πρόκληση των λοιμώξεων, ενώ η θρομβοπενία είναι υπεύθυνη για την εύκολη εμφάνιση των μωλώπων.
- Κοιλιακή νόσος: Παρατηρείται συχνά διόγκωση του ήπατος και του σπλήνα και προσβολή των οπισθοπεριτοναϊκών ή μεσεντέριων λεμφαδένων.
- Προσβολή του δέρματος, των όρχεων ή του θυρεοειδούς αδένα

A.1.2.4. Σταδιοποίηση

Η σταδιοποίηση των λεμφωμάτων non-Hodgkin είναι όμοια με αυτή της νόσου Hodgkin.

A.2. Ανοσοποιητικό Σύστημα

Τα κύτταρα που εμπλέκονται σε ανοσιακές αποκρίσεις οργανώνονται σε ιστούς και όργανα, προκειμένου να επιτελέσουν τις δράσεις τους. Αυτές οι δομές αναφέρονται συλλογικά ως το λεμφικό σύστημα. Τα μείζονα λεμφικά όργανα και οι ιστοί ταξινομούνται είτε σε πρωτογενή (κεντρικά) είτε σε δευτερογενή (περιφερικά).

Τα πρωτογενή λεμφικά όργανα αποτελούν τις κύριες θέσεις ωρίμανσης των λεμφοκυττάρων. Ο μυελός των οστών και ο θύμος αδένας θεωρούνται τα πρωτογενή λεμφικά όργανα. Τα Β κύτταρα ωριμάζουν στον μυελό των οστών, ενώ τα Τ κύτταρα στο θύμο αδένα.

Οι δευτερογενείς λεμφικοί ιστοί περιλαμβάνουν καλώς διαμορφωμένα όργανα που περιβάλλονται από κάψα, όπως είναι ο σπλήνας και τα λεμφογάγγλια (λεμφαδένες) και συσσωματώματα λεμφικού ιστού που δεν περιβάλλονται από κάψα. Ο σπλήνας είναι υπεύθυνος για αντιγόνα που μεταφέρονται με το αίμα, ενώ τα λεμφογάγγλια προστατεύουν τον οργανισμό από αντιγόνα που προέρχονται από το δέρμα ή από εσωτερικά όργανα. Οι βλεννογόνοι λεμφικοί ιστοί, όπως είναι οι φαρυγγικές αμυγδαλές και οι πλάκες Peyer στο έντερο αντιδρούν σε αντιγόνα που διεισδύουν μέσα από βλεννογόνους φραγμούς. Συμπερασματικά, από τα περιφερικά λεμφικά όργανα ξεκινούν οι ανοσοαπαντήσεις και είναι διαμορφωμένα με τέτοιο τρόπο ώστε να συγκεντρώνουν τα αντιγόνα και να διευκολύνουν την ανοσολογική αντίδραση.

Τα λεμφογάγγλια διαιρούνται σε μία εσωτερική (μυελός) και σε μία εξωτερική περιοχή (φλοιός). Τα Β λεμφοκύτταρα βρίσκονται στο φλοιό σε μορφή πρωτογενών ή δευτερογενών λεμφοζιδίων, ενώ τα Τ λεμφοκύτταρα συγκεντρώνονται σε μία κοντινή περιοχή στα λεμφοζίδια, στον παραφλοιό. Επιπλέον, σε περίπτωση που τα Β κύτταρα σε ένα λεμφοζίδιο έχουν απαντήσει πρόσφατα σε ένα αντιγόνο, δημιουργείται στο λεμφοζίδιο μια κεντρική περιοχή, που λέγεται βλαστικό κέντρο (germinal center). Κάθε λεμφαδένας έχει δικό του αρτηριακό και φλεβικό δίκτυο. Τα λεμφοκύτταρα της κυκλοφορίας εισέρχονται στο λεμφαδένα μέσω των ειδικών υψηλών ενδοθηλιακών φλεβιδίων και τα ενεργοποιημένα πλέον λεμφοκύτταρα φεύγουν από αυτόν μέσω των απαγωγών λεμφαγγείων. (Abbas, Lichtman, 2013)

Η ανοσολογική αυτή απόκριση διακρίνεται στην έμφυτη (ή φυσική) και στην επίκτητη (προσαρμοζόμενη) ανοσία, ανάλογα με την ταχύτητα και την εξειδίκευση της.

Η έμφυτη ανοσολογική απόκριση αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού και είναι υπεύθυνη για την έγκαιρη αναγνώριση των αντιγόνων και την επακόλουθη ενεργοποίηση των προφλεγμονωδών αποκρίσεων. Σε αυτήν την απόκριση τα κύτταρα του ανοσοποιητικού που συμμετέχουν είναι τα φαγοκύτταρα όπως είναι τα μονοκύτταρα (μακροφάγα) και τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα, τα μαστοκύτταρα, και τα φυσικά φονικά (NK) κύτταρα, τα οποία εξουδετερώνουν άμεσα τα αντιγόνα. (Parkin and Cohen, 2001) Πιο συγκεκριμένα, υποδοχείς αναγνώρισης μοριακών προτύπων (PRRs) ανιχνεύουν μοριακά πρότυπα παθογόνων μικροοργανισμών (PAMPs) και ενεργοποιούν ενδοκυτταρικές οδούς μεταγωγής μηνυμάτων που επάγουν την παραγωγή

προφλεγμονωδών μεσολαβητών. Οι πιο διακεκριμένοι μεταξύ των PRRs είναι οι toll-like υποδοχείς (TLRs), που εκφράζονται στην επιφάνεια των μακροφάγων και των δενδριτικών κυττάρων. Η αναγνώριση αυτών των μοριακών προτύπων σηματοδοτεί ένα “σήμα κινδύνου” στο ανοσοποιητικό σύστημα που ενεργοποιεί μη ειδικούς εκτελεστικούς μηχανισμούς, όπως το συμπλήρωμα ή την παραγωγή κυτοκινών από μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα. (Knowles and Selby, 2006)

Ωστόσο, η αναγνώριση των αντιγόνων οδηγεί επίσης σε ενεργοποίηση της επίκτητης ανοσίας, που διαμεσολαβείται από τα T λεμφοκύτταρα, που προέρχονται από το θύμο αδένος και από τα B λεμφοκύτταρα που προέρχονται από τον μυελό των οστών. Τα κύτταρα που παίζουν καθοριστικό ρόλο στην αλληλεπίδραση μεταξύ φυσικής και ειδικής ανοσίας είναι τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα, που ανιχνεύουν τα “σήματα κινδύνου” και βρίσκονται σχεδόν σε κάθε ιστό. Τα 2 κύρια χαρακτηριστικά της προσαρμοζόμενης ανοσολογικής απόκρισης είναι η εξειδίκευση και η μνήμη. (Knowles and Selby, 2006)

A.2.1. Φυσική ανοσία

Μακροφάγα

Τα μακροφάγα είναι μακρόβια φαγοκύτταρα που περιέχουν λυσοσώματα και σε αντίθεση με τα ουδετερόφιλα, διαθέτουν μιτοχόνδρια. Στην επιφάνειά τους εμφανίζουν υποδοχείς για το τμήμα Fc της ανοσοσφαιρίνης G(Fc-γRI, Fc-γRII, Fc-γRIII) καθώς και για το C3b προϊόν του καταρράκτη του συμπληρώματος (CR1, CR3).

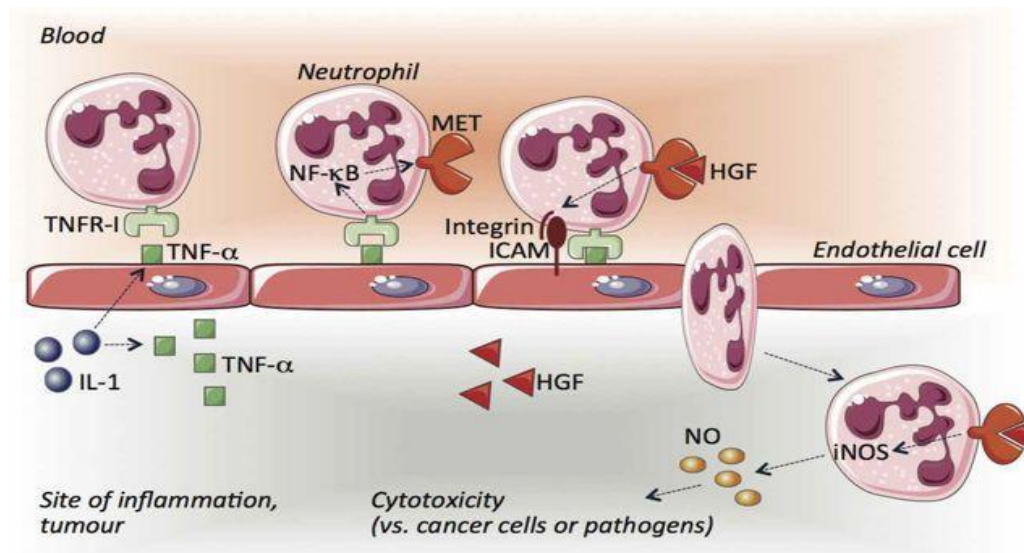
Τα μακροφάγα μπορούν να βρίσκονται σε τρία διαφορετικά στάδια ενεργότητας. Σε κατάσταση ηρεμίας, τα μακροφάγα συλλέγουν τα άχρηστα προϊόντα που υπάρχουν γύρω τους. Δεδομένου ότι σε έναν ενήλικα περίπου 1 εκατομμύριο κύτταρα πεθαίνουν κάθε δευτερόλεπτο, τα μακροφάγα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση των νεκρών κυττάρων από τον οργανισμό. Πιο συγκεκριμένα, τα κύτταρα που πεθαίνουν μεταδίδουν σήματα που προσελκύουν μακροφάγα στην επιφάνειά τους. Σε αυτήν την κατάσταση, τα μακροφάγα εκφράζουν πολύ λίγα μόρια στην επιφάνειά τους, με αποτέλεσμα να μην είναι ιδιαίτερα ικανά να παρουσιάσουν αντιγόνα στα βοηθητικά T κύτταρα. (Franken et al, 2016) (Davies et al, 2013)

Ωστόσο, σε περίπτωση που εντοπίσουν αντιγόνα κοντά τους, τα μακροφάγα ενεργοποιούνται. Πλέον, τα μακροφάγα μπορούν να λειτουργήσουν ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και να παρουσιάσουν αντιγόνα στα βοηθητικά CD4 T κύτταρα μέσω του αντιγόνου MHC τάξης II, για να ξεκινήσει η ανοσοαπάντηση. Τα μακροφάγα ενεργοποιούνται μέσω διαφόρων σημάτων. Ένα από τα σημαντικότερα σήματα είναι η ιντερφερόνη-γ, μια κυτοκίνη που προέρχεται κυρίως από τα T-λεμφοκύτταρα και τα κυτταροκτόνα (NK) κύτταρα. (Franken et al, 2016) Σε αυτήν την κατάσταση (hyperactivation) τα μακροφάγα μεγαλώνουν σε μέγεθος και αποκτούν ενισχυμένες φαγοκυτταρικές και φονικές ιδιότητες. Μετά την αλληλεπίδραση με τα αντιγόνα, τα μακροφάγα εκκρίνουν, επίσης, τον παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF), μια κυτοκίνη που σκοτώνει καρκινικά κύτταρα και κύτταρα μολυσμένα με ιούς και μπορεί να ενεργοποιήσει περαιτέρω άλλα

κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Επιπλέον, ο αριθμός των λυσοσωμάτων των υπερ-ενεργοποιημένων μακροφάγων αυξάνεται, καταστρέφοντας τα αντιγόνα στο εσωτερικό τους ακόμη πιο αποτελεσματικά. Σε αυτήν τη φάση, τα υπερ-ενεργοποιημένα μακροφάγα αυξάνουν την παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου, όπως του υπεροξειδίου του υδρογόνου που δρα έναντι των αντιγόνων. (Sompayrac, 2012) (Franken et al, 2016)

Ουδετερόφιλα

Τα ουδετερόφιλα, σε αντίθεση με τα μακροφάγα, ζουν για μικρό χρονικό διάστημα. Είναι προγραμματισμένα να πεθάνουν μέσω απόπτωσης σε χρονικό διάστημα περίπου 5 ημερών από όταν εξέλθουν από τον μυελό των οστών. Η μικρή διάρκεια ζωής τους περιορίζει τη βλάβη που υπόκεινται οι ιστοί που “φιλοξενούν” τα αντιγόνα. Τα ουδετερόφιλα βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος, εντός των αιμοφόρων αγγείων, σε αδρανή κατάσταση. Όταν δοθεί το κατάλληλο ερέθισμα, τα ενεργοποιημένα μακροφάγα εκλύουν κυτοκίνες όπως η ιντερλευκίνη-1 (IL-1) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF), που παρακινούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα που επενδύουν τα τριχοειδή και βρίσκονται πλησίον της περιοχής της λοίμωξης καθώς και τα διερχόμενα ουδετερόφιλα να εκφράσουν στην επιφάνεια τους μόρια κυτταρικής προσκόλλησης (σελεκτίνες και ιντεγκρίνες). Με την μεσολάβηση των σελεκτινών επιτυγχάνεται η προσκόλληση και το κύλισμα των ουδετερόφιλων στα αντίστοιχα ενδοθηλιακά κύτταρα. Με τη βοήθεια των ιντεγκρινών που εκφράζονται στην επιφάνεια των ουδετερόφιλων, αυτά προσδένονται στο μεσοκυττάριο μόριο προσκόλλησης (ICAM-1), το οποίο εκφράζεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων. Αυτή η αλληλεπίδραση είναι αρκετά ισχυρή, ώστε να σταματά το κύλισμα των ουδετερόφιλων και



Εικόνα 1: Διαπίδωση ουδετερόφιλων (Finisguerra et al, 2015)

να αλλάζει το σχήμα τους, με αποτέλεσμα να περνούν μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και να μεταναστεύουν στην περιοχή της λοίμωξης ανιχνεύοντας αυξημένη συγκέντρωση χημειοτακτικών παραγόντων (C3a, C5a, φορμυλο-μεθειονίνη). Η διαδικασία αυτή καλείται διαπίδυση και ακολουθείται από όλους τους τύπους των λευκοκυττάρων. Επιπρόσθετα, τα μόρια CD31 που εκφράζονται στο ενδοθήλιο και στα λευκοκύτταρα συνεισφέρουν στη διαπίδυση, ενώ η ιντερλευκίνη-8, που εκλύεται από τα κύτταρα φλεγμονής, επάγει τη διέλευση των λευκοκυττάρων διαμέσου παρακείμενων ενδοθηλιακών κυττάρων. (Sompayrac, 2012)

Συμπλήρωμα

Αποτελείται από περισσότερες από 30 πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών ορού και των υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης. Για την ενεργοποίηση του απαιτείται ένας καταρράκτης αντιδράσεων των συστατικών του. Παρόλο που αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της φυσικής ανοσίας, το σύστημα του συμπληρώματος μπορεί να ενεργοποιηθεί από αντισώματα, τα οποία παράγονται μέσω της έμφυτης ανοσολογικής αντίδρασης. Με λίγα λόγια, το συμπλήρωμα αποτελεί ένα σημαντικό σύνδεσμο μεταξύ της φυσικής και της ειδικής ανοσίας. (Carroll, 2004; Kemper and Atkinson, 2007). Οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος κυκλοφορούν στο αίμα ή βρίσκονται στους ιστούς ως αδρανείς πρόδρομες μορφές και συντίθενται κυρίως από το ήπαρ. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος μπορεί να γίνει μέσω τριών διακριτών οδών: της κλασικής, της εναλλακτικής και της λεκτινικής οδού, ανάλογα με το αρχικό ερέθισμα το οποίο θα πυροδοτήσει την ενεργοποίηση. (Mamidi et al, 2015) Και τα 3 μονοπάτια ενεργοποίησης του συμπληρώματος συγκλίνουν σε ένα κοινό σημείο, την ενεργοποίηση του C3 και οδηγούν στη δημιουργία ενός τελικού προϊόντος, του συμπλόκου της μεμβρανικής επίθεσης (membrane attack complex, MAC) που συμμετέχει στην κυτταρική λύση. (Afshar-Kharghan, 2017)

- **Το κλασικό μονοπάτι:** Περιλαμβάνει τα συστατικά του συμπληρώματος C1, C2, C4. Για την ενεργοποίησή του απαιτείται η δημιουργία συμπλόκου αντιγόνου-αντισώματος (εξειδικευμένη ανοσοαπόκριση). Ξεκινά με τη σύνδεση του C1q (υπομονάδα του C1συμπλόκου) στο Fc τμήμα των αντισωμάτων (IgM και IgG) που είναι προσδεδεμένα με το αντιγόνο. Το C1 σύμπλοκο αποτελείται από ένα μόριο C1q, 2 μόρια C1r και 2 μόρια C1s (C1qr²s²). Η σύνδεση του C1q στο αντίσωμα επάγει αλλαγές στη στερεοδιαμόρφωση του μορίου C1 που οδηγούν στην επακόλουθη ενεργοποίηση των υπομονάδων C1r και C1s, οι οποίες παρουσιάζουν δραστηριότητα σερινοπρωτεασών. Η υπομονάδα C1 πρωτεολύει τη C4 σε C4a και C4b και τη C2 σε C2a και C2b, δημιουργώντας το ένζυμο, C3 κονβερτάση, **C4b2a**, η οποία καταλύει τη διάσπαση του C3 σε 2 τμήματα. Το μεγάλο τμήμα, C3b, δρα ως οψωνίνη, ενώ το μικρό τμήμα C3a ενεργοποιεί τα μαστοκύτταρα, προκαλώντας την απελευθέρωση αγγειοδιασταλτικών ουσιών, όπως είναι η ισταμίνη. Ένα μέρος από το C3b συνδέεται με το C4b2a, σχηματίζοντας τη C5 κονβερτάση (**C4b2a3b**). Στη συνέχεια, η C5b συνδέεται με τη C6, C7, C8 και την πολυμερή C9, σχηματίζοντας το σύμπλοκο μεμβρανικής επίθεσης, MAC. Η ανοσοσφαιρίνη IgM είναι ο πιο ισχυρός

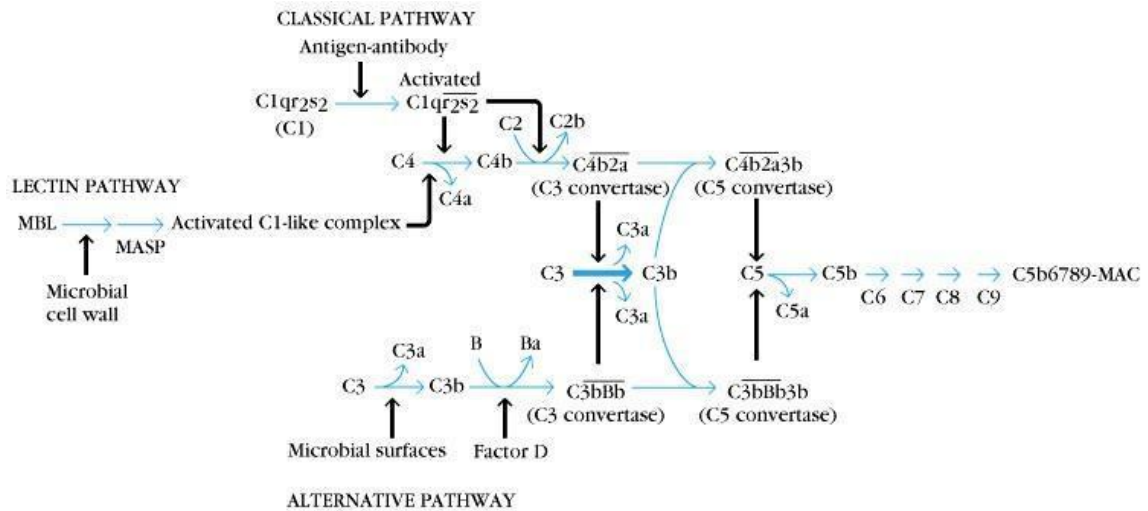
ενεργοποιητής του κλασικού μονοπατιού, καθώς χρειάζεται ένα μόνο μόριο πενταμερούς IgM. Αντίθετα, απαιτούνται 6 μόρια IgG για να ξεκινήσει το μονοπάτι.

- Το εναλλακτικό μονοπάτι:** Περιλαμβάνει 4 πρωτεΐνες: C3, B,D και προπερδίνη και δεν απαιτεί την παρουσία αντισωμάτων, σε αντίθεση με το κλασικό μονοπάτι (εξαρτώμενο από αντίσωμα). Ενεργοποιείται μέσω αυθόρμητης διάσπασης του θειοεστερικού δεσμού της C3, μέσω της οποίας συντίθενται C3b και C3a. Το C3b θραύσμα προσκολλάται σε αμινο- και υδροξυλο- ομάδες στην επιφάνεια των “εισβολιών” και έπειτα ο παράγοντας B δεσμεύει το C3b και αποκαλύπτει τη θέση δράσης για τον παράγοντα D. Ο παράγοντας D διασπά τον παράγοντα B σε Ba και Bb και παράγει **C3bBb** (C3 κονβερτάση). Το σύμπλοκο C3bBb είναι μια πρωτεάση που διασπά την C3 σε C3a και C3b. Συνεπώς, τα γειτονικά C3 μόρια δε χρειάζεται να περιμένουν για την αυθόρμητη διάσπαση της C3 για να μετατραπούν σε C3, καθώς αυτό γίνεται πολύ αποτελεσματικά από τη C3 κονβερτάση. Έπειτα, η C3b προσδένεται στη C3 κονβερτάση και σχηματίζεται το νέο σύμπλοκο **(C3b)₂Bb**, που αποτελεί τη C5 κονβερτάση που διασπά τη C5 σε C5a και C5b. Το σύμπλοκο (C3b)₂Bb είναι ασταθές μέχρι να προσδεθεί μια πρωτεΐνη του ορού, η προπερδίνη, με αποτέλεσμα να σχηματίζεται το σύμπλοκο (C3b)₂BbP. Το ίδιο ισχύει και για το σύμπλοκο C3bBb. Στη συνέχεια, η C5b συνδέεται με τη C6, C7, C8 και την πολυμερή C9, σχηματίζοντας το “σύμπλοκο μεμβρανικής επίθεσης” (MAC). Αυτό το σύμπλοκο είναι το τελικό προϊόν του καταρράκτη των αντιδράσεων του συμπληρώματος που έχει κυτταρολυτικές ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, σχηματίζει ένα διαμεμβρανικό κανάλι, σχηματίζοντας μια τρύπα στην επιφάνεια του “εισβολέα”, με αποτέλεσμα να προκαλείται ωσμωτική λύση αυτών.

Επιπλέον, πρέπει να επισημανθεί ότι η C5a είναι μια σημαντική χημειοτακτική πρωτεΐνη, που προσελκύει μακροφάγα και ουδετερόφιλα στο σημείο της μόλυνσης. Επίσης, και η C3a και η C5a έχουν δραστηριότητα αναφυλατοξίνης, καθώς διεγείρουν άμεσα την αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων, τα οποία απελευθερώνουν ισταμίνη και ως εκ τούτου αυξάνουν την αγγειακή διαπερατότητα και τη σύσπαση των λείων μυών.

- Το μονοπάτι της λεκτίνης:** Δεν απαιτεί την παρουσία των αντισωμάτων (μη εξειδικευμένη ανοσοαπόκριση). Ενεργοποιείται από τη συνδεόμενη με μαννόζη λεκτίνη (mannose-binding lectin, MBL) που προσδένεται στην επιφάνεια των ιών, των βακτηρίων και άλλων παθογόνων μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, η λεκτίνη είναι μια πρωτεΐνη που συνδέεται σε μόρια υδατανθράκων, ενώ η μαννόζη αποτελεί ένα μόριο υδατάνθρακα που βρίσκεται στην επιφάνεια πολλών κοινών παθογόνων μικροοργανισμών. Οι σχετιζόμενες με MBL πρωτεάσες σερινών 1 και 2 (MASP-1/2) σχηματίζουν ένα σύμπλοκο με τη MBL και διασπούν τη C4 και τη C2, ώστε να σχηματίσουν τη C3 κονβερτάση, που στην προκειμένη περίπτωση είναι η **C4b2a**. Όπως και στα υπόλοιπα μονοπάτια, η C3 κονβερτάση διασπά τη C3 σε C3a και C3b, σχηματίζοντας τη C5 κονβερτάση **(C4b2a3b)**. Στη συνέχεια, η C5b συνδέεται με τη C6, C7, C8 και την πολυμερή C9, σχηματίζοντας το σύμπλοκο μεμβρανικής επίθεσης, MAC. Αξίζει να σημειωθεί ότι η C3 και η C5 κονβερτάση του

κλασικού μονοπατιού και του μονοπατιού της λεκτίνης είναι πανομοιότυπες. (Sorensen et al., 2005)



Εικόνα 2: Μονοπάτια ενεργοποίησης του συστήματος του συμπληρώματος (Σύστημα συμπληρώματος, Γαϊτανάκης)

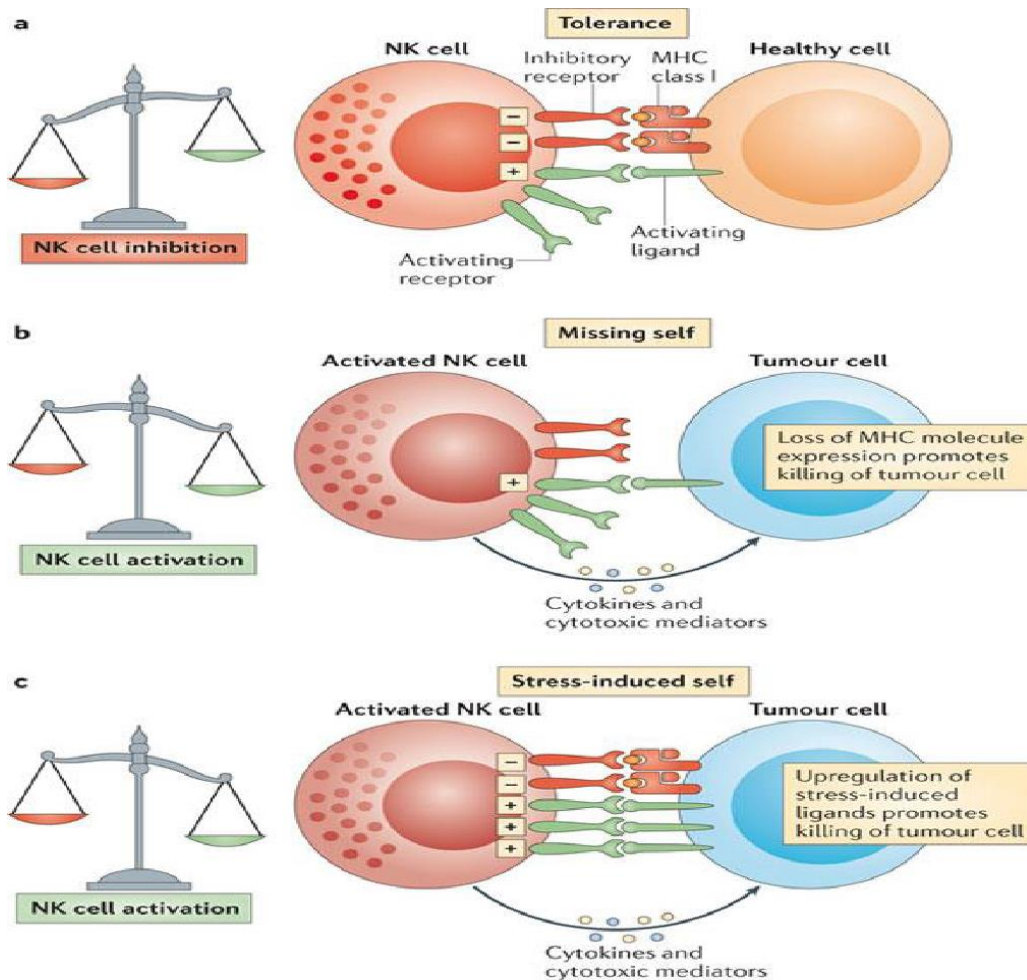
Συμπεραίνουμε, λοιπόν, ότι η ενεργοποίηση οποιασδήποτε οδού προκαλεί την έναρξη ενός καταρράκτη πρωτεολυτικών διεργασιών, οι κύριες λειτουργίες του οποίου είναι οι εξής:

- Δημιουργείται το «σύμπλεγμα μεμβρανικής επίθεσης» που προσβάλλει την μεμβράνη των κυττάρων-στόχων, δημιουργώντας μεγάλους πόρους και οδηγεί σε άμεση καταστροφή αυτών.
- Τα συστατικά του συμπληρώματος C3b και C4b λειτουργούν ως οψωνίνες. Πιο συγκεκριμένα, συνδέονται στην επιφάνεια των παθογόνων μικροοργανισμών και τα καθιστούν πιο ευάλωτα στην φαγοκυττάρωση (οψωνοποίηση), καθώς τα φαγοκύτταρα έχουν υποδοχείς του συμπληρώματος (CR1).
- Οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος C3a και C5a, παρότι που δεν προσδένονται στην επιφάνεια των παθογόνων, ενεργούν ως ισχυρές αναφυλατοξίνες που διεγείρουν τα σιτευτικά κύτταρα να απελευθερώσουν ισταμίνη, η οποία αυξάνει τη διαπερατότητα των αγγείων για να διευκολυνθεί η πρόσβαση στη θέση της λοίμωξης. Επίσης, οι C3a και οι C5a έχουν την ιδιότητα να προσελκύουν ουδετερόφιλα και μακροφάγα, δρώντας δηλαδή ως χημειοτακτικοί παράγοντες. Τέλος, το πεπτίδιο C3b προσδένεται σε ειδικούς υποδοχείς των κυττάρων του ανοσοποιητικού και προάγει φλεγμονώδες αντιδράσεις.

Φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα

Τα φυσικά κυτταροκτόνα (natural killer, NK) κύτταρα είναι λεμφοκύτταρα της ίδιας οικογένειας με τα T και B κύτταρα καθώς προέρχονται από ένα κοινό λεμφοειδές προγονικό κύτταρο. Ορίζονται ως μεγάλα κοκκώδη λεμφοκύτταρα (large granular lymphocytes, LGL) που έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά με τα T κύτταρα, πλην του μηχανισμού αναγνώρισης των κυττάρων-στόχων. Επίσης, τα φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα είναι ικανά να σκοτώσουν καρκινικά κύτταρα χωρίς προηγούμενη ενεργοποίηση, σε αντίθεση με τα κυτταροτοξικά T κύτταρα, που πρέπει να ενεργοποιηθούν πρώτα από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Γι' αυτό το λόγο, καλούνται φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα.

Τα φυσικά κυτταροκτόνα αποτελούν περίπου το 10% των λεμφοκυττάρων του αίματος και δεν εκφράζουν τους αντιγονικούς υποδοχείς ούτε των T ούτε των B κυττάρων. Τα περισσότερα κυκλοφορούν στο αίμα ή βρίσκονται στο σπλήνα και στο ήπαρ και όταν δοθεί το κατάλληλο ερέθισμα μεταναστεύουν στους ιστούς που έχουν υποστεί βλάβη μέσω διαπίδυσης, όπως τα ουδετερόφιλα. Αυτά εξουδετερώνουν τα αντιγόνα με δύο τρόπους. Πρώτον, τα NK κύτταρα θανατώνουν κύτταρα επικαλυμμένα με IgG αντισώματα μέσω των υποδοχέων τους για τις IgG (FcγRIII). Αυτός ο μηχανισμός καλείται αντισωματοεξαρτώμενη κυτταρική κυτταροτοξικότητα (antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC). Δεύτερον, συνθέτουν και εκκρίνουν κυτταροκίνες, όπως τη IFN-γ και την IL-1, η οποία ενεργοποιεί τα μακροφάγα, ώστε να γίνουν περισσότερο αποτελεσματικά στην εξουδετέρωση των φαγοκυτταρωμένων μικροοργανισμών. Συνεπώς, τα NK κύτταρα και τα μακροφάγα δρουν συνεργικά στην εξουδετέρωση των ενδοκυττάρων αντιγόνων. (Abbas and Lichtman, 2013) Τα φυσικά κυτταροκτόνα (NK) κύτταρα εκφράζουν μια μοναδική οικογένεια υποδοχέων που αναγνωρίζονται από τα κύτταρα του ξενιστή και αναστέλλουν την ενεργοποίηση των NK κυττάρων. Οι υποδοχείς αυτοί ονομάζονται ανασταλτικοί υποδοχείς των κυτταροκτόνων κυττάρων και είναι ειδικοί για τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης I του ίδιου του ατόμου, δηλαδή πρωτεΐνες που εκφράζονται σε όλα τα υγιή εμπύρνηνα κύτταρα του ατόμου. Όταν οι ανασταλτικοί υποδοχείς των NK κυττάρων συναντήσουν μόρια MHC τάξης I, τα NK κύτταρα αδρανοποιούνται. Αυτή η αναστολή είναι πολύ σημαντική, καθώς εξασφαλίζει ότι τα NK κύτταρα δε θα ενεργοποιηθούν από τα φυσιολογικά κύτταρα του ξενιστή. Επίσης, έχουν μια άλλη ομάδα υποδοχέων, τους ενεργοποιητικούς υποδοχείς των κυτταροκτόνων, που αναγνωρίζουν μόρια που εκφράζονται στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων και των μολυσμένων με ιούς κυττάρων και ενεργοποιούν τα NK κύτταρα, ώστε να εξουδετερώσουν το κύτταρο-στόχο. (Bachanova and Miller, 2014)



Εικόνα 3: Αναγνώριση των καρκινικών κυττάρων από NK κύτταρα (Vivier et al, 2012)

A.2.2. Επίκτητη Ανοσία (acquired immunity, adaptive immunity)

Δενδριτικά κύτταρα

Τα δενδριτικά κύτταρα είναι μυελικής προέλευσης και αποτελούν τα κύρια αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα καθώς είναι υπεύθυνα για την έναρξη όλων των ειδικών για το αντιγόνο ανοσοαποκρίσεων. Παρόλο που υπάρχουν και άλλοι τύποι κυττάρων όπως τα μακροφάγα και τα Β κύτταρα, που μπορούν να παρουσιάσουν αντιγόνα, τα δενδριτικά κύτταρα επάγουν τον πολλαπλασιασμό των Τ κυττάρων πιο αποδοτικά από κάθε άλλο αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο. Τα δενδριτικά κύτταρα εκφράζουν υποδοχείς που ανιχνεύουν στοιχεία των ξένων μορίων (πχ καρκινικά αντιγόνα) είτε μέσω toll-like υποδοχέων (toll-like receptors, TLRs) που βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια είτε μέσω NOD-like υποδοχέων που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. Έπειτα, μεταναστεύουν στα λεμφογάγγλια όπου εκφράζουν μεγάλα ποσά συνδιεγερτικών μορίων καθώς και αντιγόνα MHC τάξης II, τα οποία αλληλεπιδρούν με τον υποδοχέα επί των Τ λεμφοκυττάρων (TCR) και το CD4 των βοηθητικών Τ λεμφοκυττάρων. Η διαδικασία της αντιγονοπαρουσίασης

περιγράφεται σε επόμενο κεφάλαιο. Επομένως, τα δενδριτικά κύτταρα είναι ο συνδεδετικός κρίκος μεταξύ φυσικής και ειδικής ανοσίας. (Mellman, 2013)

Πιο αναλυτικά, τα δενδριτικά κύτταρα εκφράζουν προσδέτες (πχ CD80, CD86) που συνδέονται με συν-διεγερτικά μόρια στα T κύτταρα και δρουν συνεργιστικά με τη σύνδεση του πεπτιδικού αντιγόνου μέσω MHC στους TCR υποδοχείς των T κυττάρων.

Τα δενδριτικά κύτταρα διακρίνονται σε 2 κατηγορίες ανάλογα τη λειτουργικότητά τους: στα ανώριμα δενδριτικά κύτταρα (iDC) και στα ώριμα δενδριτικά κύτταρα. Τα πρώτα βρίσκονται στους περιφερικούς ιστούς όπου ανιχνεύουν τυχόν αντιγόνα, τα οποία ενδοκυτταρώνουν. Παρόλα αυτά, δεν μπορούν να παρουσιάσουν τα αντιγόνα στα T κύτταρα. Αντίθετα, τα ώριμα δενδριτικά κύτταρα μπορούν να παρουσιάσουν μια τεράστια ποικιλία αντιγόνων σε T και σε ορισμένες φορές σε B κύτταρα και να ξεκινήσουν εξειδικευμένες ανοσιακές απαντήσεις.

Η επίκτητη ή προσαρμοζόμενη ανοσία χαρακτηρίζεται ως εξειδικευμένη και μακράς διάρκειας ανοσολογική αντίδραση και κατηγοριοποιείται σε χυμική και κυτταρική ανοσιακή απάντηση που διαμεσολαβείται από B-λεμφοκύτταρα και T-λεμφοκύτταρα, αντίστοιχα.

A.2.2.1. Χυμική ανοσοαπάντηση

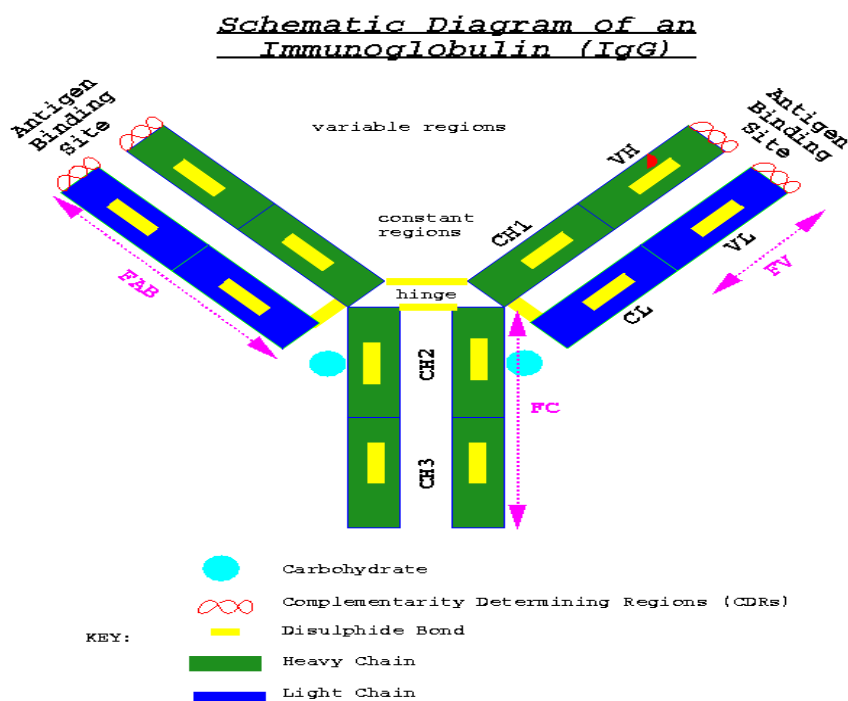
Η χυμική ανοσολογική αντίδραση επιτελείται με τη βοήθεια των ανοσοσφαιρινών που παράγονται από τα B λεμφοκύτταρα. Τα B λεμφοκύτταρα παράγονται και ωριμάζουν στον μυελό των οστών, προερχόμενα από προγονικό κύτταρο λεμφοειδούς σειράς. Έπειτα, εισέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία ώστε να μεταβούν στα δευτερογενή λεμφικά όργανα (λεμφαδένες και σπλήνας), όπου αναγνωρίζουν με τη βοήθεια των ανοσοσφαιρινών που εκφράζονται στην επιφάνειά τους, τα διάφορα αντιγόνα. Τα ειδικά για το συγκεκριμένο αντιγόνο B λεμφοκύτταρα πολλαπλασιάζονται και εκκρίνουν μια μοναδική ανοσοσφαιρίνη. Στην τελική φάση διαφοροποίησης, κάποια B λεμφοκύτταρα μετατρέπονται σε πλασματοκύτταρα, τα οποία αποτελούν οριστικά διαφοροποιημένα «εργοστάσια αντισωμάτων», ενώ κάποια άλλα μετατρέπονται σε κύτταρα μνήμης, τα οποία όταν ξανασυναντήσουν το ίδιο αντιγόνο, είναι έτοιμα να ανταποκριθούν πολύ γρηγορότερα. Το γεγονός ότι ένας κλώνος B κυττάρων παράγει αντίσωμα μίας μόνο ειδικότητας αποτελεί τη βάση για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων, που θα συζητηθεί παρακάτω.

Οι ανοσοσφαιρίνες (immunoglobulins, Ig) ή κοινώς τα αντισώματα είναι μια ομάδα γλυκοπρωτεϊνών που βρίσκονται είτε στο πλάσμα και στα υγρά των ιστών (εκκριτικό αντίσωμα) είτε στην επιφάνεια των B κυττάρων ως υποδοχείς. Προκειμένου το B κύτταρο να εξελιχθεί σε κύτταρο παραγωγής αντισωμάτων (πλασματοκύτταρο), πρέπει να έρθει σε επαφή με το αντιγόνο του. (Abbas et al, 2015)

Κάθε μόριο ανοσοσφαιρίνης επιτελεί δύο λειτουργίες. Μια περιοχή του μορίου είναι υπεύθυνη για την πρόσδεση του αντιγόνου, ενώ μια άλλη περιοχή διαμεσολαβεί τις λεγόμενες εκτελεστικές λειτουργίες.

Όσον αφορά τη δομή μιας ανοσοσφαιρίνης, ένα μόριο αυτής αποτελείται από δύο πανομοιότυπες βαριές αλυσίδες (H) και δύο πανομοιότυπες ελαφρές αλυσίδες (L), με κάθε αλυσίδα να περιέχει μια μεταβλητή (variable, V) και μία ή περισσότερες σταθερές (constant, C) περιοχές. Οι τέσσερις αλυσίδες συνδέονται έτσι ώστε να σχηματίζουν ένα μόριο με μορφή Y. Κάθε ελαφριά αλυσίδα συνδέεται με μία βαριά αλυσίδα και οι δύο βαριές αλυσίδες συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η κάθε ελαφριά αλυσίδα αποτελείται από μία μεταβλητή και μια σταθερή περιοχή, ενώ η κάθε βαριά αλυσίδα έχει μια μεταβλητή και τρεις ή τέσσερις σταθερές περιοχές (μόνο στην περίπτωση της IgM). Οι σταθερές περιοχές εμπλέκονται στην αναγνώριση και τη δέσμευση των τελεστικών μορίων.

Κάθε μεταβλητή περιοχή της βαριάς αλυσίδας (V_H) ή της ελαφριάς αλυσίδας (V_L) περιέχει τρεις υπερμεταβλητές περιοχές, γνωστές ως «περιοχές καθορισμού συμπληρωματικότητας» (complementarity determining regions, CDRs). Η ακριβής αμινοξική αλληλουχία αυτών των υπερμεταβλητών περιοχών είναι ο κυριότερος από τους παράγοντες που καθορίζουν την ειδικότητα των αντισωμάτων για συγκεκριμένα αντιγόνα. Από τις τρεις αυτές περιοχές, η CDR3, που βρίσκεται στο σημείο σύνδεσης των περιοχών C και V, είναι αυτή που συνεισφέρει περισσότερο στην πρόσδεση του αντιγόνου, λόγω μεγαλύτερης μεταβλητότητας.

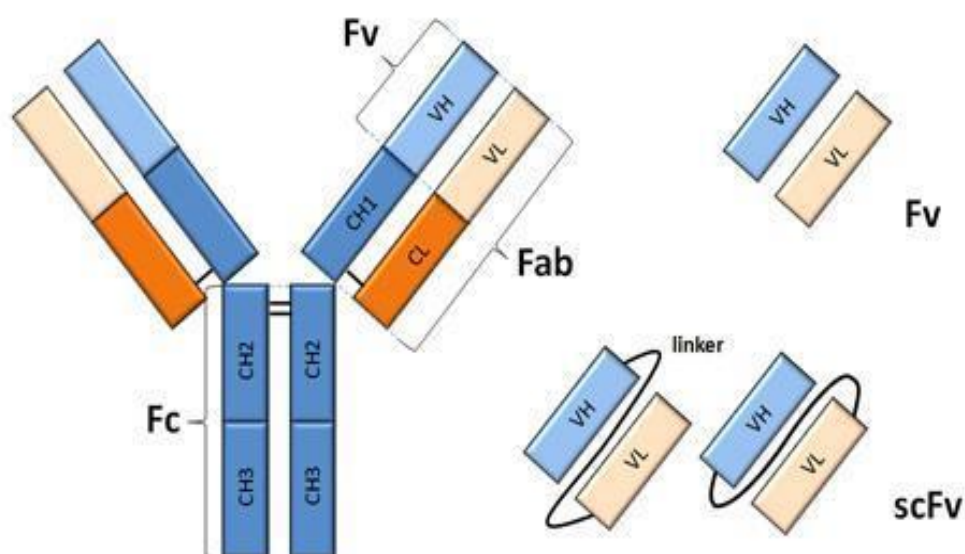


Εικόνα 4: Η δομή των αντισωμάτων (Saldanha, 2000)

A.2.2.1.1. Κύρια δομικά στοιχεία ενός αντισώματος

Το τμήμα ενός αντισώματος που περιέχει μια ολόκληρη ελαφριά αλυσίδα (με μονήρεις περιοχές C και V) συνδεδεμένη με την περιοχή V και την πρώτη περιοχή C της βαριάς αλυσίδας είναι αυτό που απαιτείται για την αναγνώριση του αντιγόνου και ονομάζεται κλάσμα πρόσδεσης αντιγόνου (fragment antigen binding, Fab). Οι υπόλοιπες περιοχές C αποτελούν την περιοχή Fc (Fragment crystalline), το κρυσταλλικό κλάσμα. Το τμήμα Fc αλληλεπιδρά με το σύστημα του συμπληρώματος και είναι υπεύθυνο για τη σύνδεση του μορίου με τους επιφανειακούς υποδοχείς των ανοσοσφαιρινών (FcR, Fc receptor) των μακροφάγων, των φυσικών φονικών κυττάρων και των T κυττάρων. Σε κάθε μόριο ανοσοσφαιρίνης υπάρχουν δύο πανομοιότυπα τμήματα Fab που προσδένονται με το αντιγόνο και ένα τμήμα Fc που είναι υπεύθυνο για τις περισσότερες δραστικές λειτουργίες των αντισωμάτων. Μεταξύ των περιοχών Fab και Fc των περισσότερων αντισωμάτων υπάρχει μια μικρή εύκαμπτη αμινοξική περιοχή που ονομάζεται περιοχή άρθρωσης (hinge region). Αυτή επιτρέπει την μεταβολή της σχετικής θέσης των δύο τμημάτων Fab, ώστε να προσδένονται ταυτόχρονα σε αντιγονικούς επιτόπους που απέχουν μεταξύ τους διαφορετικές αποστάσεις.

Επίσης, ένα άλλο τμήμα των αντισωμάτων είναι το scFv (single-chain variable fragment), το οποίο ουσιαστικά είναι μια πρωτεΐνη σύντηξης των μεταβλητών περιοχών της βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών, οι οποίες συνδέονται με ένα μικρό πεπτιδικό συνδέτη 10 έως 25 αμινοξέων.



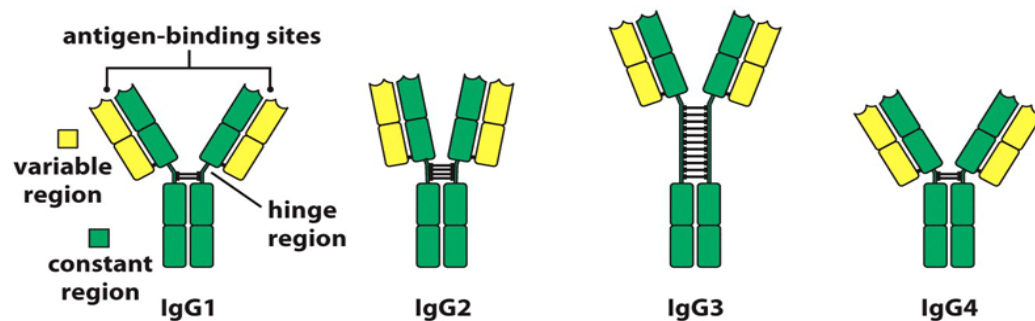
Εικόνα 5: Σχηματική αναπαράσταση ενός scFv τμήματος (Cloning of scFv antibodies, Antibody Design Laboratories)

Υπάρχουν δύο τύποι ελαφριών αλυσίδων, οι κ και οι λ, οι οποίες διαφέρουν στις σταθερές τους περιοχές αλλά δε διαφέρουν στις λειτουργίες τους. Ωστόσο, οι τύποι των βαριών αλυσίδων είναι πέντε, ένας για κάθε ισότυπο αντισώματος (μ για IgM, γ για IgG, δ για IgD, ε για IgE και α για IgA). Οι διάφοροι ισότυποι διαφέρουν ως προς τις φυσικές και βιολογικές τους ιδιότητες και ως προς τις δραστικές τους λειτουργίες.

Η ανοσοσφαιρίνη G (IgG) αποτελεί περίπου το 80-85% των ανοσοσφαιρινών στους ενήλικες. Η IgG έχει την μεγαλύτερη ημίσεια ζωή από όλες τις τάξεις των αντισωμάτων, διέρχεται από τον πλακούντα και αποτελεί το κύριο αντίσωμα της αναμνηστικής απάντησης. Η IgG διαθέτει υψηλή συνδετική ικανότητα προς τα αντιγόνα (συνάφεια), διεγείρει χημειοταξία, συνδέεται με το συμπλήρωμα και ενεργεί ως οψωνίνη για τη διευκόλυνση της φαγοκυττάρωσης. Οι τέσσερις υποτάξεις της IgG (IgG1 ως IgG4) διαφέρουν ως προς τη δομή, τη σχετική συγκέντρωση και τη λειτουργία. Οι αμινοξικές διαφορές στην ακολουθία της κάθε υπόταξης καθορίζουν τη βιολογική δράση του μορίου. Πιο συγκεκριμένα, η IgG1 αποτελεί το 60-65% των IgG αντισωμάτων και είναι η κύρια υπεύθυνη για την T-κυτταρική απόκριση. Επίσης, εμπλέκεται στην οψωνινοποίηση και στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Η IgG2 αποτελεί το 20-25% των IgG αντισωμάτων και είναι η κυρίαρχη ανοσοαπόκριση έναντι υδατανθρακικών/πολυσακχαριδικών αντιγόνων, όπως σε λοιμώξεις αναπνευστικού. Η IgG3 αποτελεί το 5-10% των IgG αντισωμάτων και είναι η πιο δραστική για την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Τέλος η IgG4, αποτελώντας λιγότερο από 4% των συνολικών IgG ανοσοσφαιρινών, δε συνδέεται σε πολυσακχαρίτες και δεν έχει την ικανότητα να ενεργοποιεί το συμπλήρωμα. Σχετικά με τους Fc υποδοχείς, οι IgG1 και IgG3 είναι πιο δραστικές στο να επάγουν τον οψωνισμό, ακολουθεί η IgG4, ενώ η IgG2 είναι λιγότερο δραστική. (Vidarsson et al, 2014)

Immunoglobulin G (IgG)

- Structure, Subclasses and Functions

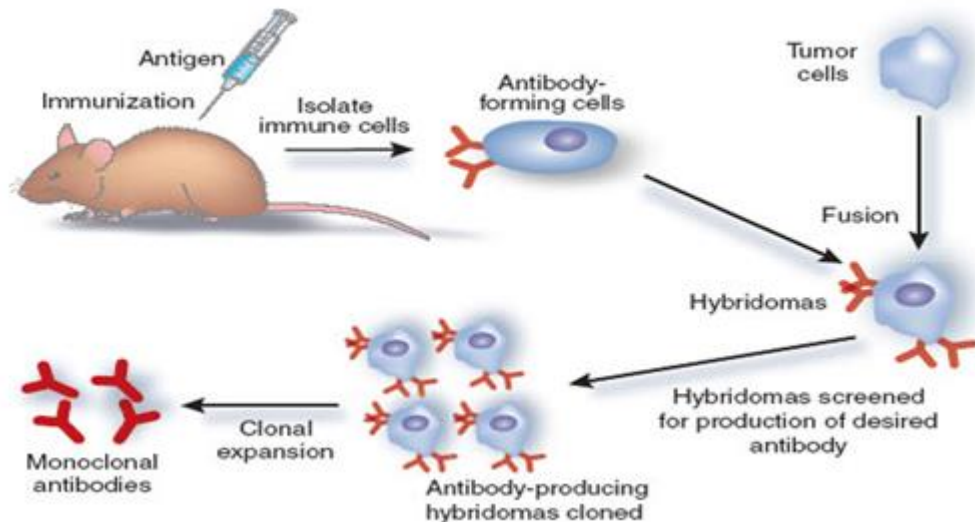


Εικόνα 6: Υπότυποι IgG ανοσοσφαιρινών (Sagar Aryal, 2018)

A.2.2.1.2. Μονοκλωνικά αντισώματα

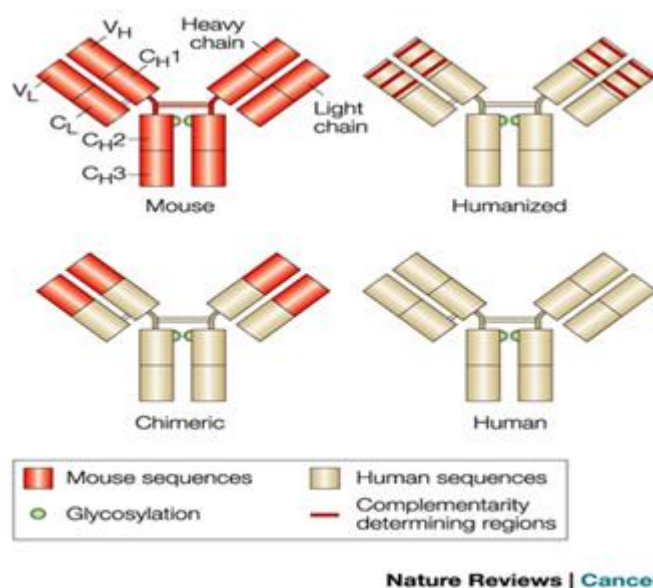
Από παλιά οι επιστήμονες προσπάθησαν να εκμεταλλευτούν την υψηλή εξειδίκευση των αντισωμάτων και να τα αξιοποιήσουν ως προηγμένα θεραπευτικά μέσα, τα οποία θα μπορούσαν να εντοπίσουν και να καταστρέψουν αποτελεσματικά καρκινικά κύτταρα. Αρχικά, ο κύριος περιορισμός στη θεραπευτική χρήση των αντισωμάτων ήταν η δυσκολία στην παραγωγή κατάλληλα εξειδικευμένων αντισωμάτων σε μεγάλες ποσότητες. Αυτή η δυσκολία ξεπεράστηκε με την ανάπτυξη της τεχνολογίας των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Πιο συγκεκριμένα, ένας ποντικός εκτίθεται στο αντιγόνο που θα προκαλέσει την παραγωγή του επιθυμητού αντισώματος. Αφού αναπτύξει ανοσολογική απόκριση προς το αντιγόνο,

αφαιρείται ο σπλήνας και απομονώνονται τα Β λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά συντήκονται με κύτταρα μυελώματος τα οποία είναι αθάνατα, με αποτέλεσμα να προκύπτουν υβριδικά κύτταρα, τα υβριδώματα που διατηρούν ιδιότητες και από τους δύο τύπους κυττάρων από τους οποίους προέρχονται. Τέλος, ελέγχονται τα υβριδώματα που προκύπτουν, προκειμένου να εντοπιστούν εκείνα που παράγουν μεγάλες ποσότητες του επιθυμητού αντισώματος.



Εικόνα 7: Παραγωγή μονοκλωνικού αντισώματος

Ωστόσο, η επανειλημμένη χορήγηση των μονοκλωνικών αντισωμάτων από ποντικό οδήγησε σε προβλήματα ανοσογονικότητας, επειδή οι άνθρωποι αναγνωρίζουν την ανοσοσφαιρίνη των ποντικών σαν ξένη, με αποτέλεσμα να προκαλείται ανοσιακή απάντηση. Με τη βοήθεια των τεχνικών μοριακών κλωνοποίησης, που αναπτύχθηκαν αργότερα, έγινε εφικτή η παραγωγή αντισωμάτων με γενετική μηχανική. Πιο συγκεκριμένα, δημιουργήθηκαν τα χμαιρικά μονοκλωνικά αντισώματα (2^{ης} γενιάς), που αποτελούνται από την ανθρώπινη σταθερή περιοχή και την μεταβλητή περιοχή του ποντικού. Τα χμαιρικά μονοκλωνικά αντισώματα έχουν μεγαλύτερη ημιπερίοδο ζωής in vivo και διαθέτουν παρόμοιες τελεστικές λειτουργίες με το ανθρώπινο αντίσωμα. Είναι φανερό ότι η ελάττωση του ξενογενετικού τμήματος του μονοκλωνικού αντισώματος μειώνει τον κίνδυνο ανοσογονικότητας, δηλαδή παραγωγής αντιθεραπευτικών αντισωμάτων. Επιπλέον, παρασκευάστηκαν τα ανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα (3^{ης} γενιάς), τα οποία περιέχουν μεγάλα τμήματα ανθρωπίνων αλληλουχιών, εκτός από τις περιοχές CDR, οι οποίες εξακολουθούν να προέρχονται από ποντικό. Τέλος, αναπτύχθηκαν τα πλήρως ανθρώπινα αντισώματα (4^{ης} γενιάς), που διαθέτουν 100% ομοιότητα με τα ανθρώπινα αντισώματα, καθώς και τα δύο είδη των αλυσίδων είναι ανθρώπινης προέλευσης.



Εικόνα 8: Δομή μονοκλωνικών αντισωμάτων ανάλογα με τη γενιά στην οποία ανήκουν

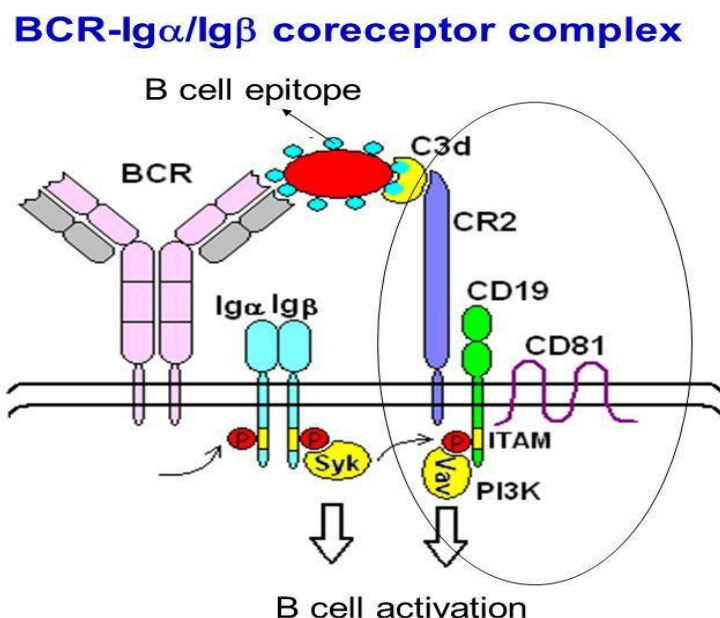
A.2.2.1.3. Ενεργοποίηση B κυττάρων

Οι υποδοχείς των B κυττάρων (BCRs) αποτελούνται από βαριές και ελαφριές αλυσίδες, κάθε μία από τις οποίες περιέχει σταθερές (constant, C) και μεταβλητές (variable, V) περιοχές. Κάθε πρωτεΐνη κωδικοποιείται από γονίδια τα οποία «συναρμολογούνται» από γονιδιακά τμήματα. Τα αντίστοιχα γονιδιακά τμήματα που θα κωδικοποιήσουν τη βαριά αλυσίδα βρίσκονται στο χρωμόσωμα 14. Η πρωτεΐνη της βαριάς αλυσίδας κωδικοποιείται από τη «συναρμολόγηση» ξεχωριστών γονιδιακών τμημάτων (V,D,J,C). Κάθε γονίδιο που κωδικοποιεί τη βαριά αλυσίδα περιέχει πολλαπλά αντίγραφα των τριών διαφορετικών τύπων (V,D,J) των γονιδιακών τμημάτων για τις μεταβλητές περιοχές των αντισωμάτων και 2 σταθερά γονιδιακά τμήματα (C μ , C δ). Αντίστοιχα, κάθε γονίδιο που κωδικοποιεί την ελαφριά αλυσίδα περιέχει όλα τα προαναφερόμενα, εκτός από τα D γονιδιακά τμήματα. Αρχικά, ένα συγκεκριμένο τμήμα V συνδυάζεται γενετικά με ένα τμήμα D, εξαλείφοντας τα παρεμβαλλόμενα V και D τμήματα και κατόπιν ανασυνδυάζεται με ένα τμήμα J για να σχηματιστεί το μοναδικό στο είδος του γονίδιο BCR.

Συμπερασματικά, κατά την ανάπτυξη των B κυττάρων λαμβάνει χώρα ανασυνδυασμός του DNA και έτσι μπορούν να παραχθούν πολλοί συνδυασμοί γονιδιακών τμημάτων και επομένως πολλά διαφορετικά αντισώματα, καθένα από τα οποία βρίσκεται σε διαφορετικό κλώνο κυττάρων. Αν το B κύτταρο αποτύχει να παράγει αποτελεσματικά τις βαριές και τις ελαφριές αλυσίδες ή εάν αυτές δεν μπορούν να συνδυαστούν μεταξύ τους ώστε να παραχθεί ένα ολοκληρωμένο αντίσωμα, το B κύτταρο πεθαίνει. Συμπερασματικά, κάθε ώριμο κύτταρο παράγει ένα και μόνο είδος BCR ή αντισώματος, που αποτελείται από ένα μοναδικό είδος συνδυασμού βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας. Ωστόσο, λόγω του γενετικού ανασυνδυασμού αλλά και λόγω ωρίμανσης συγγένειας, οι υποδοχείς στα B κύτταρα είναι τόσο ποικίλοι, ώστε τα B κύτταρα μπορούν πιθανά να αναγνωρίζουν κάθε οργανικό μόριο που υπάρχει. (Sompayrac, 2012)

Η ενεργοποίηση των Β λεμφοκυττάρων απαιτεί, επίσης, δεύτερα σήματα, πολλά από τα οποία παράγονται κατά τις αντιδράσεις της φυσικής ανοσίας κατά των μικροοργανισμών. (Abbas, et al, 2015) Αρχικά, γίνεται η πρόσδεση του επίτοπου του αντιγόνου στο BCR και πολλοί BCRs συναθροίζονται προς την αντίστοιχη πλευρά της κυτταρικής επιφάνειας, ώστε να παραχθεί το σήμα της ενεργοποίησης. Οι BCRs μπορούν να αναγνωρίσουν το αντιγόνο αλλά δεν μπορούν να μεταβιβάσουν σήματα οι ίδιοι, καθώς τα κυτταροπλασματικά τους τμήματα είναι εξαιρετικά βραχέα. Γι' αυτό το λόγο, αυτοί οι υποδοχείς είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένοι με δύο πρωτεΐνες, την Igα και την Igβ, σηματοδοτικά μόρια που αλληλεπιδρούν με ένζυμα στο εσωτερικό του κυττάρου. Έτσι, λοιπόν, ξεκινάει ένας καταρράκτης ενζυμικών αντιδράσεων, με τελικό αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι ενεργοποιούν γονίδια, τα πρωτεϊνικά προϊόντα των οποίων συμμετέχουν στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των Β κυττάρων. (Murray et al, 2015)

Εκτός από τον BCR και τα σχετικά σηματοδοτικά μόρια, στην επιφάνεια των Β λεμφοκυττάρων εκφράζεται και ένας άλλος υποδοχέας, που ονομάζεται υποδοχέας του συμπληρώματος τύπου 2 (CR2 ή CD21), στον οποίον προσδέεται το C3d. Τα αντιγόνα που έχουν υποστεί οψωνοποίηση περιβάλλονται από μόρια C3d, μέσω των οποίων γίνεται η πρόσδεση στον συνυποδοχέα CR2. Συμπερασματικά, ο BCR αναγνωρίζει τον αντιγονικό επίτοπο, ενώ ο CR2 συνδέεται με το τμήμα του συμπληρώματος, C3d, το οποίο περιβάλλει το αντιγόνο, φέρνοντας τους BCRs και τους CR2 υποδοχείς κοντά και ενισχύοντας το σήμα ενεργοποίησης των Β λεμφοκυττάρων. (Abbas et al, 2015)



Εικόνα 9: Σύμπλοκο του υποδοχέα των Β κυττάρων (B cell and B cell-mediated humoral immune response, Wei Xu, 2015)

Παρόλα αυτά, για την πλήρη ενεργοποίηση των Β κυττάρων απαιτείται και ένα συνδεδεμένο σήμα. Το ένα συνδεδεμένο σήμα περιλαμβάνει άμεση επαφή των Β λεμφοκυττάρων με βοηθητικά Τ (Th) κύτταρα (εξαρτώμενη από Τ κύτταρα ενεργοποίηση).

Τα διαφοροποιημένα βοηθητικά Τ κύτταρα μεταναστεύουν προς τα όρια των λεμφοζιδίων όπου βρίσκονται τα διεγερμένα από αντιγόνο Β λεμφοκύτταρα. Πιο συγκεκριμένα, στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων Τ_H κυττάρων εκφράζονται οι προσδέτες του CD40, οι CD40L. Αυτή η δέσμευση του CD40 απελευθερώνει στα Β κύτταρα σήματα τα οποία διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό (κλωνική επέκταση) και τη σύνθεση και έκκριση των αντισωμάτων. Επίσης, τα βοηθητικά Τ κύτταρα εκκρίνουν κυτταροκίνες που συνδέονται στους υποδοχείς κυτταροκινών στα Β λεμφοκύτταρα.

Ωστόσο, τα Β κύτταρα μπορούν να ενεργοποιηθούν και χωρίς τη βοήθεια των Τ κυττάρων σε ορισμένες περιπτώσεις (μη εξαρτώμενη από Τ κύτταρα ενεργοποίηση). Για παράδειγμα, τα Β κύτταρα μπορεί να αναγνωρίσουν «μοριακά μοτίβα» που είναι χαρακτηριστικά συγκεκριμένων όγκων. Επομένως, μόνο τα Β κύτταρα, οι υποδοχείς των οποίων αναγνωρίζουν αυτά τα «μοριακά μοτίβα» θα ενεργοποιηθούν. Με την μη εξαρτώμενη από τα Τ κύτταρα ενεργοποίηση δίνεται η δυνατότητα αναγνώρισης όχι μόνο πρωτεϊνών αλλά και υδατανθράκων και λιπών από τα Β κύτταρα. (Sompayrac, 2012)

Τα Β κύτταρα που θα επιλεγθούν αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται (κλωνική επέκταση, clonal expansion), αυξάνοντας έτσι τον αριθμό των κυττάρων που παράγουν το συγκεκριμένο αντίσωμα και συνεπώς την ισχύ της αντισωματικής απόκρισης. Πέρα από αυτά που διαφοροποιούνται προς πλασματοκύτταρα που παράγουν αντισώματα (effector cells), κάποια άλλα διαφοροποιούνται σε κύτταρα μνήμης. Τα κύτταρα μνήμης αναπτύσσονται κυρίως στα βλαστικά κέντρα των λεμφοζιδίων και δεν εκκρίνουν αντισώματα αλλά κυκλοφορούν στο αίμα και επιβιώνουν για μήνες ή χρόνια και είναι έτοιμα να αποκριθούν γρήγορα αν έλθουν και πάλι σε επαφή με το αντιγόνο. (Abbas et al, 2015) (Murray et al, 2015)

Επιπλέον, τα Β λεμφοκύτταρα μπορούν να αυξήσουν τη συγγένεια των αντισωμάτων που παράγουν με το αντιγόνο μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται ωρίμανση συγγένειας. Αυτή η διαδικασία λαμβάνει χώρα στα βλαστικά κέντρα των λεμφοζιδίων και είναι το αποτέλεσμα των σωματικών υπερμεταλλάξεων (somatic hypermutation) των γονιδίων της Ig στα διαιρούμενα Β κύτταρα. Πιο αναλυτικά, η αύξηση αυτής της συγγένειας οφείλεται σε σημειακές μεταλλάξεις στις περιοχές V και ειδικά στις υπερμεταβλητές περιοχές πρόσδεσης αντιγόνου. (Abbas et al, 2015) Οι εκτεταμένες αυτές μεταλλάξεις οδηγούν στη δημιουργία διαφορετικών κλώνων Β κυττάρων, τα μόρια Ig των οποίων παρουσιάζουν διαφορετικό βαθμό συγγένειας. Μόνο τα Β κύτταρα με υψηλής συγγένειας μεμβρανική Ig συνδέονται με το αντιγόνο πάνω στα λεμφοζιδιακά δενδριτικά κύτταρα και είναι αυτά που επιβιώνουν. Τα υπόλοιπα Β κύτταρα πεθαίνουν. (Murray et al, 2015) (Janeway et al, 2001)

Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι τα Β λεμφοκύτταρα είναι ρυθμισμένα έτσι ώστε να μην αντιδρούν έναντι των αυτόλογων αντιγόνων, φαινόμενο που καλείται ανοσιακή ανοχή (immunologic tolerance). Αυτή διακρίνεται σε κεντρική και σε περιφερική Β κυτταρική ανοχή. Στην πρώτη περίπτωση, όταν «ανώριμα» Β λεμφοκύτταρα συνδεθούν ισχυρά με αυτόλογα αντιγόνα στον μυελό των οστών, τότε αυτά είτε φονεύονται είτε αλλάζουν την ειδικότητα του υποδοχέα τους. Στη δεύτερη περίπτωση, τα «ώριμα» Β λεμφοκύτταρα τα οποία συναντούν μεγάλες ποσότητες εαυτών αντιγόνων στους περιφερικούς λεμφικούς

ιστούς, γίνονται ανεργικά και επομένως ανίκανα να ανταποκριθούν σε αυτά τα αντιγόνα. (Abbas et al, 2015)

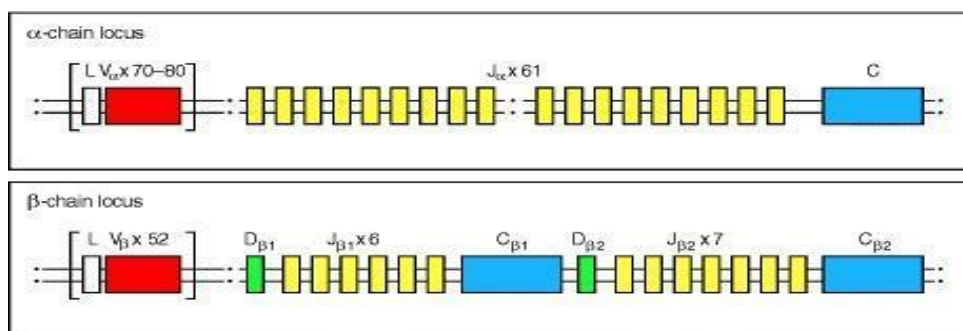
A.2.2.2. Κυτταρική ανοσοαπάντηση

Η κυτταρική ανοσοαπάντηση επιτελείται με τη βοήθεια των Τ λεμφοκυττάρων. Τα Τ λεμφοκύτταρα ωριμάζουν και διαφοροποιούνται στις αντίστοιχες ομάδες στο θύμο αδένα. Ορισμένα εμπλέκονται στον έλεγχο ανάπτυξης των Β λεμφοκυττάρων και της παραγωγής των αντισωμάτων. Άλλη ομάδα Τ λεμφοκυττάρων αλληλεπιδρά με τα φαγοκύτταρα και τα βοηθά στην καταστροφή των παθογόνων που έχουν συλλάβει, ενώ μια τρίτη ομάδα Τ λεμφοκυττάρων αναγνωρίζει κύτταρα τα οποία έχουν μολυνθεί από ιούς και τα καταστρέφει. Η επίκτητη ανοσία έχει μνήμη, γι' αυτό κάποια μεταγενέστερη έκθεση οδηγεί σε μια πιο γρήγορη και έντονη απόκριση, αλλά και πάλι όχι άμεση, όπως στη φυσική ανοσία. (Kennedy, 2010)

Τα Τ λεμφοκύτταρα δεν εμφανίζουν ανοσοσφαιρίνες στην επιφάνειά τους, όπως τα Β λεμφοκύτταρα, αλλά εκφράζουν ένα παρόμοιο μόριο που ονομάζεται υποδοχέας των Τ-λεμφοκυττάρων (TCR, T-cell receptor). Ο κάθε TCR αναγνωρίζει το αντίστοιχο αντιγόνο, το οποίο παρουσιάζεται πάνω σε σύμπλοκα μορίων ιστοσυμβατότητας.

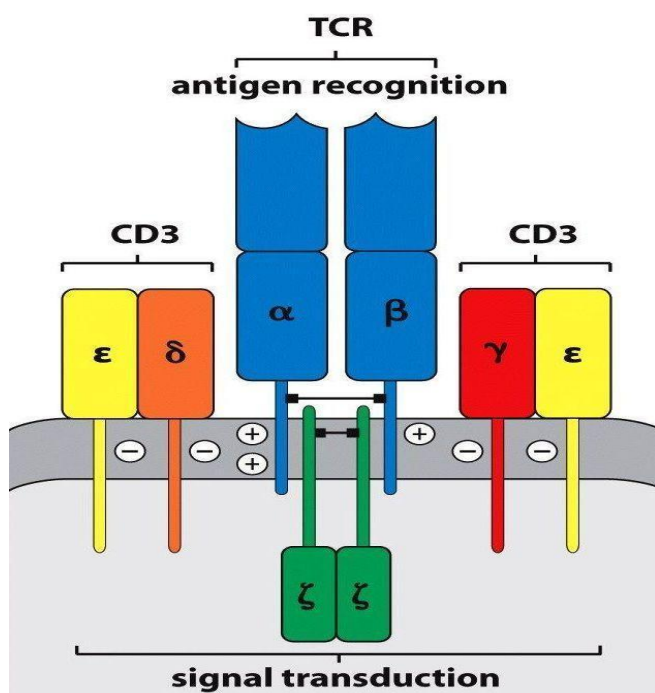
Πιο συγκεκριμένα, ο υποδοχέας των Τ λεμφοκυττάρων αποτελεί ετεροδιμερές μιας α και β αλυσίδας (TCR2), ενώ σπανιότερα (περίπου στο 5% των Τ κυττάρων), οι αλυσίδες αυτές είναι οι γ και οι δ (TCR1), κάθε μία από τις οποίες έχει μια σταθερή και μια μεταβλητή περιοχή. Τα Τ κύτταρα που εμφανίζουν τον TCR1 ονομάζονται γδ Τ κύτταρα, ενώ αυτά που εμφανίζουν τον TCR2 ονομάζονται αβ Τ κύτταρα. Η ποικιλία των TCR είναι πολύ μεγάλη και γι' αυτό μπορούν να αναγνωρίσουν τεράστιο αριθμό ειδικών αντιγόνων. Αυτή η ποικιλότητα οφείλεται στους εξής γενετικούς μηχανισμούς: Οι διάφοροι TCRs δημιουργούνται με ανασυνδυασμό των γονιδίων V,D και J, όπως συμβαίνει και με τις ανοσοσφαιρίνες. Το γονίδιο για την αλυσίδα α του TCR, όπως αντίστοιχα ο γενετικός τόπος για τις ελαφριές αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών, περιέχει πάρα πολλά γονιδιακά τμήματα Vα και Jα, ενώ το γονίδιο για την αλυσίδα β του TCR, όπως αυτό για τις βαριές αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών, περιέχει επιπλέον και γονιδιακά τμήματα D πέρα από τα Vα και τα Jα. Στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης ενός Τ κυττάρου, ένα συγκεκριμένο τμήμα V συνδυάζεται γενετικά με ένα τμήμα D, παρακάμπτοντας τα V και D τμήματα και έπειτα ανασυνδυάζεται με ένα τμήμα J (όπως συμβαίνει και για την παραγωγή των BCRs) και έτσι σχηματίζεται το μοναδικό στο είδος του γονίδιο TCR. (Abbas et al, 2015)

Εν ολίγοις, όλοι οι TCRs σε ένα ώριμο Τ κύτταρο είναι πανομοιότυποι, ενώ κάθε κλώνος των Τ κυττάρων έχει έναν μοναδικό TCR, που δεν υπάρχει σε οποιονδήποτε άλλον κλώνο Τ κυττάρων. Τα Τ κύτταρα που αντιδρούν με τον ξενιστή (αυτοαντιδραστικά) αποπίπτουν, ενώ τα εναπομείναντα Τ κύτταρα διαφοροποιούνται στους υποπληθυσμούς των Τ κυττάρων. (Janeway et al, 2001)



Εικόνα 10: Δομή του γονιδίου του T κυτταρικού υποδοχέα (TCR) (Janeway et al, 2001)

Επιπλέον, στην επιφάνεια των T κυττάρων συναντάται το σύμπλεγμα **CD3**, που απαρτίζεται από πολυπεπτιδικές αλυσίδες γ,ε,δ και ζ2. Αυτό είναι υπεύθυνο για την μεταγωγή του σήματος που λαμβάνεται από τον TCR στον πυρήνα του κυττάρου. Η ύπαρξή του είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς οι κυτταροπλασματικές περιοχές της α και β αλυσίδας είναι πολύ κοντές (3 αμινοξέα) για να μεταδώσουν το σήμα στον πυρήνα του κυττάρου, σε αντίθεση με τις κυτταροπλασματικές “ουρές” του συμπλέγματος CD3, οι οποίες είναι αρκετά μακριές ώστε να μεταδώσουν το σήμα. (Janeway et al, 2001)



Εικόνα : Δομή T κυτταρικού υποδοχέα (TCR) και συμπλέγματος CD3 (Garland 2009)

Επιπλέον, τα αβ T κύτταρα διακρίνονται περαιτέρω σε CD4 ή CD8 T κύτταρα ανάλογα με την παρουσία του συν-υποδοχέα CD4 ή CD8. Τα κύτταρα που εκφράζουν το συνυποδοχέα CD4 μπορεί να βοηθούν τις ανοσιακές αποκρίσεις (T_H , helper) ή να αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό και τη λειτουργία των εκτελεστικών T κυττάρων (Treg), ενώ αυτά που εκφράζουν το CD8 ονομάζονται T κυτταρολυτικά λεμφοκύτταρα (CTL). (Corthey, 2009) Οι

πρωτεΐνες CD4 και CD8 διευκολύνουν την αλληλεπίδραση του TCR με το μόριο MHC και το αντίστοιχο αντιγονικό πεπτίδιο που παρουσιάζεται από αυτό, σταθεροποιώντας την αλληλεπίδραση TCR-MHC-πεπτιδίου. (Namrata and Rajat, 2014) Επίσης, ενισχύουν το σήμα που λαμβάνεται από τον TCR στον πυρήνα του κυττάρου (σηματοδοτικά μόρια), βοηθώντας έτσι την ενεργοποίηση του T κυττάρου. Ο συνυποδοχέας CD4 είναι ένα μόριο μιας πρωτεΐνης, ενώ ο CD8 αποτελείται από 2 διαφορετικές πρωτεΐνες, πράγμα το οποίο σημαίνει ότι τα «μηνύματα» που μεταδίδουν είναι διαφορετικά. (Abbas et al, 2015)

Ωστόσο, για την ενεργοποίηση των T κυττάρων απαιτείται και δεύτερο σήμα (co-stimulatory signal), το οποίο παρέχεται από κάποιο συν-διεγερτικό μόριο, που βρίσκεται στην επιφάνεια του κυττάρου. Το πιο χαρακτηρισμένο μόριο είναι το CD28, ενώ κάποια άλλα είναι το ICOS, το OX40 και το CD137. Οι προσδέτες του CD28 είναι οι πρωτεΐνες B7-1 και B7-2, ή όπως αλλιώς αποκαλούνται CD80 και CD86 και βρίσκονται στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. Η έκφραση αυτών των μορίων αυξάνει σε μεγάλο βαθμό όταν τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα συναντήσουν τα αντιγόνα. Αν τα T κύτταρα δε λάβουν το δεύτερο σήμα μέσω αυτών των μορίων, δεν μπορούν να ενεργοποιηθούν και μεταπίπτουν σε κατάσταση ανεργίας. (Chen and Flies, 2013) (Littman, 2015)

Από την επιφάνεια των T κυττάρων δε θα μπορούσαν να λείπουν οι συν-υποδοχείς που αναστέλλουν την ενεργοποίηση των T κυττάρων (co-inhibitory receptors). Αυτοί περιλαμβάνουν τη σχετιζόμενη με κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα πρωτεΐνη-4 (CTLA-4) και την πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (PD-1). Αυτά τα μόρια εκφράζονται μόνο σε T κύτταρα που έχουν ενεργοποιηθεί, ώστε να αποφευχθεί η υπέρμετρη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού. (Thangavelu et al, 2010) (Armand, 2015)

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα T λεμφοκύτταρα δεν αντιδρούν στα «εαυτά» αντιγόνα του ατόμου, φαινόμενο το οποίο ονομάζεται ανοσιακή ανοχή (immunologic tolerance), όπως συμβαίνει και στα B κύτταρα. Επομένως, πρέπει να υπάρχουν μηχανισμοί οι οποίοι εμποδίζουν τις ανοσοαπαντήσεις σε «εαυτά» αντιγόνα, εφόσον παράγονται συνεχώς λεμφοκύτταρα με ικανότητα να τα αναγνωρίζουν. Τα αυτόλογα αντιγόνα που υπάρχουν στο θύμο σχετίζονται με την κεντρική ανοχή. Πιο αναλυτικά, αν τα ανώριμα T κύτταρα στο θύμο αναγνωρίζουν αυτόλογα αντιγόνα με μεγάλη ισχύ, τότε τα λεμφοκύτταρα αυτά πεθαίνουν με απόπτωση. (Abbas and Lichtman, 2013) Αντίστοιχα, η περιφερική ανοχή προκύπτει όταν ώριμα T λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν αυτόλογα αντιγόνα στους περιφερικούς ιστούς με αποτέλεσμα την ανεργία (λειτουργική αδρανοποίηση), το θάνατο ή την ενεργό καταστολή των αυτοδραστικών λεμφοκυττάρων. (Armand, 2015)

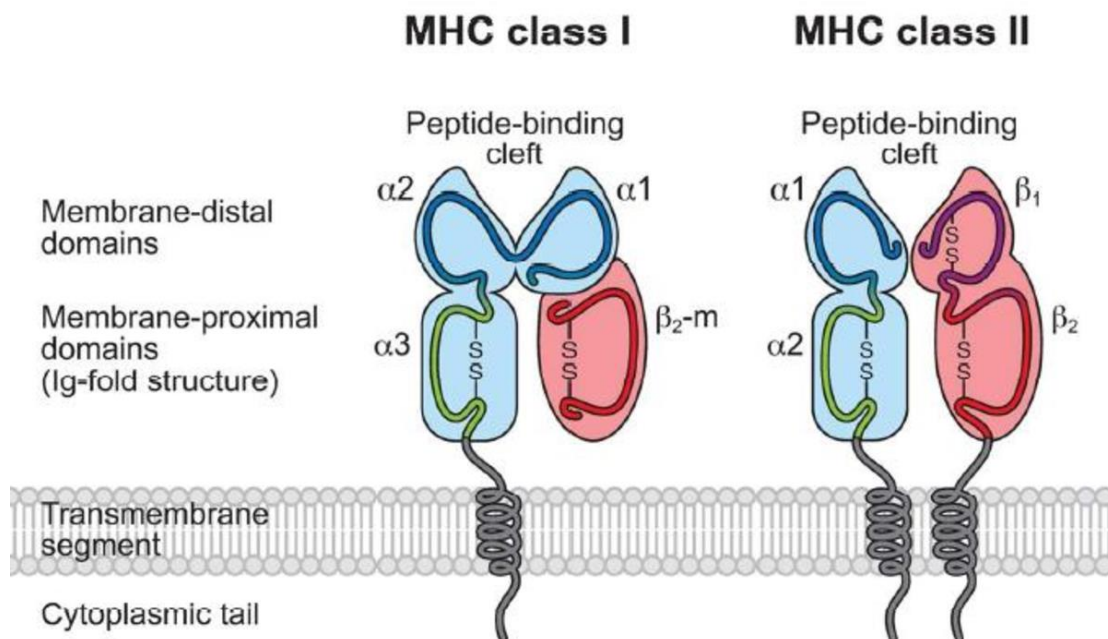
A.2.2.2.1. Δομή και λειτουργία των μορίων του MHC

Τα μόρια MHC είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες που συνδέονται με αντιγονικά πεπτίδια που προέρχονται είτε από το εσωτερικό των κυττάρων είτε από τον εξωκυττάριο χώρο. Οι πρωτεΐνες MHC στον άνθρωπο ονομάζονται ανθρώπινα λευκοκυτταρικά αντιγόνα (human leukocyte antigens, HLA). Ο γενετικός τόπος MHC περιέχει δύο ομάδες γονιδίων, τα γονίδια του MHC τάξης I και II. Κάθε άνθρωπος έχει από κάθε γονιό τρία γονίδια (σύνολο 6) που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του MHC τάξης I, που βρίσκονται στο χρωμόσωμα 6 και είναι οι

HLA-A, HLA-B και HLA-C. Αντίστοιχα, κάθε μόριο MHC τάξης II κωδικοποιείται από τους DP, DQ και DR γονδιακούς τόπους (HLA-D περιοχή χρωμοσώματος 6). (Murray et al, 2013) (Wiekzorec et al, 2017)

Κάθε μόριο MHC τάξης I αποτελείται από μια πολυμορφική α -αλυσίδα (περιοχές $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$), που είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένη σε μια πρωτεΐνη, τη $\beta 2$ -μικροσφαιρίνη, η οποία κωδικοποιείται εκτός του MHC. Τα αμινοτελικά άκρα των περιοχών $\alpha 1$ και $\alpha 2$ του μορίου MHC τάξης I σχηματίζουν μια αύλακα σύνδεσης του πεπτιδίου, η οποία είναι αρκετά μεγάλη ώστε να εφαρμόζουν πεπτίδια 8-11 αμινοξέων. Η $\alpha 3$ περιοχή περιέχει τη θέση σύνδεσης για το συνυποδοχέα CD8 των T κυττάρων. (Wiekzorec et al, 2017) Συνεπώς, τα μόρια MHC τάξης I παρουσιάζουν πεπτίδια μόνο σε CD8 T κύτταρα. Μόρια της τάξης I του MHC απαντώνται σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα. Ωστόσο, καρκινικά κύτταρα μπορούν να μειώσουν τον αριθμό των MHC I, καθιστώντας την εξουδετέρωση των καρκινικών κυττάρων δυσκολότερη για τα T κύτταρα. (Bubenik, 2003)

Κάθε μόριο MHC τάξης II αποτελείται από 2 πολυμορφικές αλυσίδες, τις α και β . Τα αμινοτελικά άκρα και των 2 αλυσίδων, $\alpha 1$ και $\beta 1$, σχηματίζουν μια αύλακα που μπορεί να συγκρατεί πεπτίδια 8-11 αμινοξέων. (Wiekzorec et al, 2017) Η $\beta 2$ περιοχή περιέχει τη θέση σύνδεσης του συν-υποδοχέα CD4 των T κυττάρων. Επομένως, τα μόρια MHC τάξης II παρουσιάζουν πεπτίδια μόνο σε CD4 T κύτταρα. Τα μόρια τάξης II εκφράζονται κυρίως στα δενδριτικά κύτταρα, στα μακροφάγα και στα B λεμφοκύτταρα. (Wiekzorec et al, 2017)



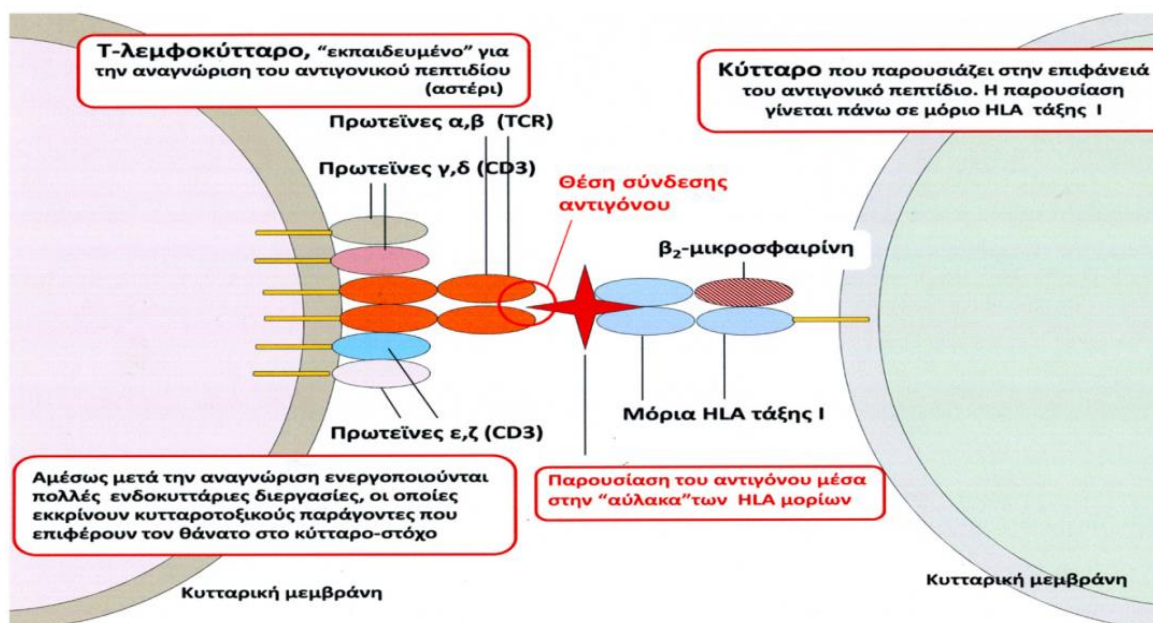
Εικόνα 12 : Η δομή των μορίων MHC τάξης I και II (Schumacher et al, 2016)

Κάθε μόριο MHC μπορεί να παρουσιάσει μόνο ένα πεπτίδιο κάθε φορά, επειδή υπάρχει μόνο μία αύλακα αλλά κάθε μόριο MHC I μπορεί να παρουσιάσει πολλά διαφορετικά πεπτίδια. Η σύνδεση των μορίων MHC με τα πεπτίδια είναι χαμηλής συγγένειας, γεγονός που εξασφαλίζει τη σύνδεση πολλών διαφορετικών πεπτιδίων στο ίδιο μόριο MHC.

Επιπλέον, μόνο τα μόρια που φέρουν συνδεδεμένο πεπτίδιο εκφράζονται σταθερά στις κυτταρικές επιφάνειες, ενώ αυτά που δε φέρουν πεπτίδιο αποικοδομούνται μέσα στα κύτταρα. Τέλος, τα μόρια MHC συνδέονται μόνο με αντιγονικά πεπτίδια, με αποτέλεσμα τα T κύτταρα να ανταποκρίνονται μόνο σε πρωτεϊνικά αντιγόνα και όχι σε άλλες χημικές ουσίες.

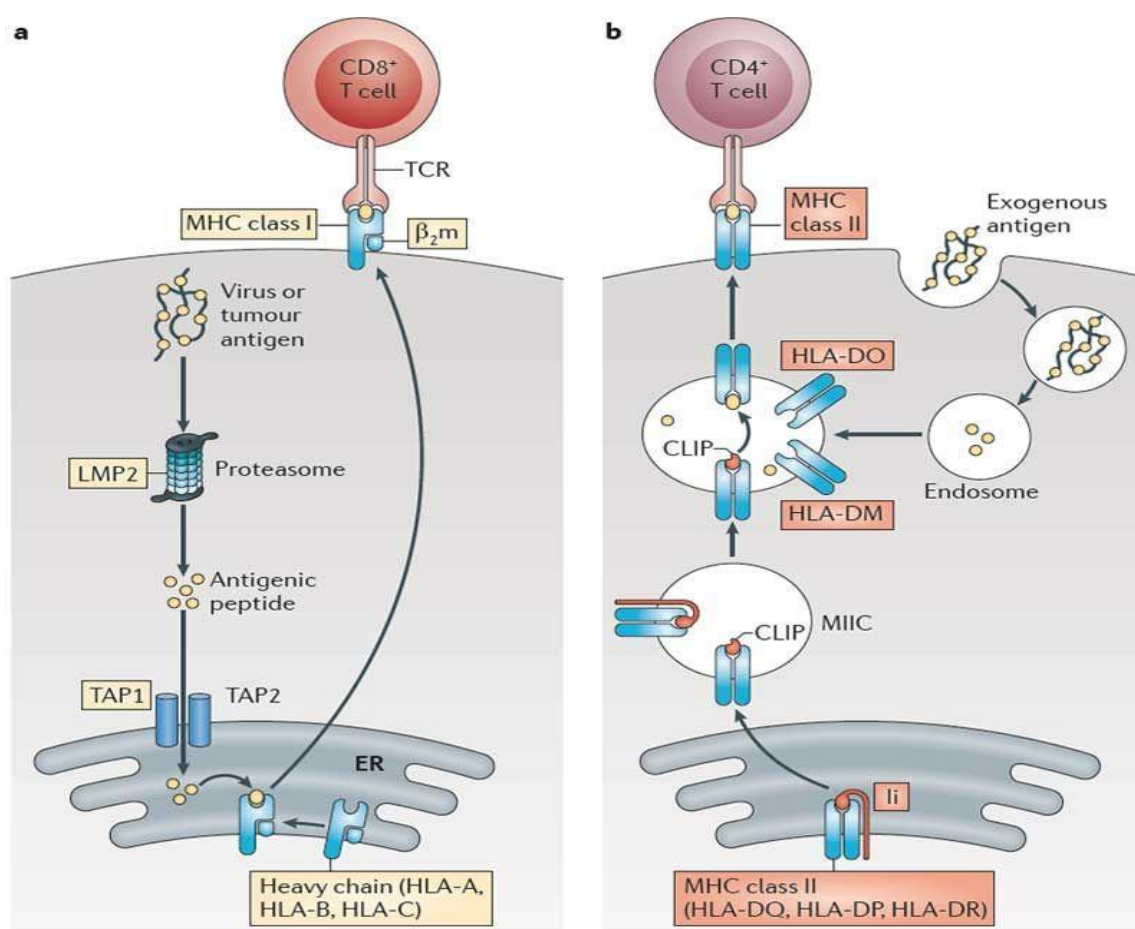
Όλα τα εμπύρνα κύτταρα μπορούν να πρωτεολύσουν ενδοκυττάρια πρωτεΐνες και να παρουσιάσουν τα πεπτίδιά τους σε CD8 T κύτταρα (ενδογενής οδός παρουσίασης αντιγόνου), ενώ τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα επεξεργάζονται και παρουσιάζουν φαγοκυτταρωμένες πρωτεΐνες σε CD4 T κύτταρα (εξωγενής οδός παρουσίασης αντιγόνου). Οι δύο αυτές οδοί επεξεργασίας του αντιγόνου είναι σχεδιασμένες ώστε να λαμβάνουν δείγματα από όλες τις πρωτεΐνες που υπάρχουν ενδοκυτταρικά αλλά και εξωκυτταρικά, ο διαχωρισμός των οποίων εξασφαλίζει ότι αντιγόνα από διαφορετικά διαμερίσματα θα αναγνωρισθούν από διαφορετικές τάξεις T κυττάρων. Ειδικότερα, τα κύτταρα όγκων συχνά εμφανίζουν πεπτίδια, τα οποία προέρχονται από μεταλλαγμένες πρωτεΐνες. (Garrido et al, 2016)

Τα ενδογενή αντιγόνα, που μπορεί να είναι προϊόν αποδόμησης κυτταρικών πρωτεϊνών ή αντιγονικές πρωτεΐνες από μεταλλαγμένα ή διαφοροποιημένα γονίδια του ξενιστή (στην περίπτωση των όγκων) σημαδεύονται με την προσκόλληση ενός μικρού πεπτιδίου, της ουμπικιτίνης με σκοπό να διασπαστούν από το πρωτεόσωμα. Εκεί οι πρωτεΐνες διασπώνται και προκύπτουν πεπτίδια των 8-9 αμινοξέων, που μεταφέρονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, μέσω ενός ειδικού μορίου μεταφοράς, που ονομάζεται μεταφορέας συνδεδεμένος με την επεξεργασία του αντιγόνου (transport associated with antigen processing, TAP). Εκεί τα πεπτίδια συνδέονται με την αύλακα σύνδεσης τους των μορίων MHC τάξης I. Έπειτα, το σύμπλεγμα υποβάλλεται σε επεξεργασία από τη συσκευή Golgi και μετακινείται στην επιφάνεια του κυττάρου για να εκτεθεί σε CD8 T κύτταρα. Αν ένα μόριο MHC τάξης I δε συναντήσει κατάλληλο πεπτίδιο στο ενδοπλασματικό δίκτυο, αποικοδομείται από πρωτεάσες. (Murray et al, 2015)



Εικόνα 13: Παρουσίαση αντιγόνου από μόρια MHC τάξης I (Hoffrand et al, 2014)

Εξωκυττάρια αντιγόνα ενδοκυτταρώνονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και εισέρχονται σε ενδοκυττάρια κυστίδια, τα ενδοσώματα, τα οποία στη συνέχεια αποδομούνται από τις αντίστοιχες πρωτεάσες στα λυσοσώματα. Τα μόρια MHC τάξης II συντίθενται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου κάθε νεοσυντιθέμενο μόριο MHC τάξης II συνδέεται με μια αμετάβλητη πρωτεϊνική αλυσίδα. Αυτή συνδέεται ισχυρά στην αύλακα σύνδεσης του πεπτιδίου του μορίου τάξης II, μέσω μιας ειδικής αλληλουχίας που ονομάζεται CLIP (class II invariant chain peptide, τάξης II πεπτίδιο της μεταβλητής αλυσίδας), αποτρέποντας με αυτόν τον τρόπο τη σύνδεση άλλων πεπτιδίων που συντίθενται στο ενδοπλασματικό δίκτυο. (Abbas et al, 2015) Αυτό είναι πολύ σημαντικό, καθώς στο ενδοπλασματικό δίκτυο υπάρχουν πολλά ενδογενή πεπτίδια, τα οποία έχουν υποστεί επεξεργασία από τα πρωτεοσώματα και προορίζονται να συνδεθούν με τα μόρια MHC τάξης I. Τα μόρια MHC II αποκτούν το αντιγονικό τους πεπτίδιο μετά από σύντηξη των κυστιδίων που μεταφέρουν νεοσυντιθέμενα μόρια MHC II με τα λυσοσώματα που περιέχουν τις φαγοκυτταρωμένες και πρωτεολυμένες πρωτεΐνες. Η αμετάβλητη αλυσίδα διασπάται και τα κατάλληλα πεπτίδια συνδέονται με τα μόρια MHC II και το σύμπλεγμα μεταφέρεται στην κυτταρική επιφάνεια. Αν το μόριο δε βρει ένα πεπτίδιο με το οποίο να μπορέσει να συνδεθεί, γίνεται ασταθές και αποικοδομείται από πρωτεάσες. (Sompayrac et al, 2012)



Εικόνα 14: Επεξεργασία και παρουσίαση αντιγόνων από μόρια MHC τάξεων I και II (Kobayashi and van den Elsen, 2012)

Ωστόσο, υπό ορισμένες συνθήκες, τα δενδριτικά κύτταρα μπορεί να εκθέσουν εξωκυττάρια αντιγόνα σε CD8 T κύτταρα και να ξεκινήσει η απάντηση σε κύτταρα όγκων. Αυτή η διαδικασία καλείται διασταυρούμενη παρουσίαση αντιγόνων. Προς το παρόν, δεν έχουν εξακριβωθεί οι μηχανισμοί μέσω των οποίων λαμβάνει χώρα. (Sanchez-Paulette et al, 2017)

Μια με δύο μέρες μετά την ενεργοποίηση, τα T λεμφοκύτταρα αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται με αποτέλεσμα την επέκταση των κλώνων που είναι ειδικοί για το αντιγόνο (κλωνική επέκταση). Η ένταση της κλωνικής επέκτασης των CD4 T κυττάρων διαφέρει από αυτή των CD8 T κυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, συνήθως χρειάζονται πολλά CTLs για να εξοντώσουν μεγάλο αριθμό αντιγόνων. Αντίθετα, τα CD 4 δραστικά κύτταρα δε χρειάζεται να είναι τόσα πολλά σε αριθμό, καθώς αρκεί ένας σχετικά μικρός αριθμός αυτών για να ενεργοποιήσει άλλα δραστικά κύτταρα. (Sompayrac et al, 2012)

B. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής είναι να διευρυνθούν οι ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις των Hodgkin και non-Hodgkin λεμφωμάτων. Πιο συγκεκριμένα, θα γίνει ανάλυση του μηχανισμού δράσης κάθε υποκατηγορίας φαρμάκων καθώς και των ανεπιθύμητων ενεργειών τους. Επίσης, θα παρουσιασθούν οι τρόποι κλινικής ανάπτυξης των ήδη εγκεκριμένων φαρμάκων και θα γίνει σύγκριση αυτών.

Γ. ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ

Από τις αρχές του 20ου αιώνα είχε διατυπωθεί η άποψη ότι οι ανοσολογικές αποκρίσεις εκδηλώνονται επίσης έναντι των νεοπλασιών. Πιο συγκεκριμένα, το 1909 ο Paul Ehrlich διατύπωσε την υπόθεση ότι η άμυνα του ξενιστή μπορεί να αποτρέψει την ανάπτυξη των νεοπλασιών. (Ribatti, 2017) Ισχυρίστηκε ότι στον άνθρωπο μπορούν να εμφανιστούν συχνά “ανώμαλα εκβλαστήματα”, τα οποία θα τον κατέβαλαν, εάν δεν υπόκεινταν σε έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος. Αυτή η υπόθεση, ωστόσο, δεν είχε αποδειχθεί πειραματικά λόγω της ανεπάρκειας κατάλληλου εξοπλισμού και γνώσης. Η άποψη αυτή όμως οδήγησε σε απόπειρες διέγερσης του ανοσοποιητικού συστήματος με στόχο την αντιμετώπιση των νεοπλασιών. Συγκεκριμένα, ο γιατρός William Coley χορήγησε βακτηριακό εμβόλιο (τοξίνη του Coley) σε έναν ασθενή του με όγκο που δεν μπορούσε να χειρουργηθεί και ο όγκος υποχώρησε. (McCarthy, 2006)

Αργότερα, κάποιοι επιστήμονες όπως ο Lewis Thomas πρότεινε ότι το ανοσοποιητικό σύστημα αναγνωρίζει νεοεμφανιζόμενους όγκους μέσω της έκφρασης χαρακτηριστικών για τον όγκο αντιγόνων στα καρκινικά κύτταρα και τους εξουδετερώνει με παρόμοιο τρόπο όπως στην απόρριψη μωσχεύματος. (Ribatti, 2017) Μια επιπρόσθετη ώθηση στη θεωρία αυτή δόθηκε από τους Burnett και Thomas, οι οποίοι υποστήριξαν ότι το ανοσοποιητικό σύστημα επιτηρεί συνεχώς το σώμα αναζητώντας παθολογικά κύτταρα, τα οποία όταν αναγνωριστούν, καταστρέφονται. Ουσιαστικά η ανοσολογική απόκριση εναντίον ενός όγκου είναι ένα πρώιμο γεγονός, το οποίο οδηγεί στην καταστροφή των περισσότερων νεοπλασιών, προτού αυτές εκδηλωθούν κλινικά. Με αυτόν τον τρόπο, διαμορφώθηκε η θεωρία της ανοσολογικής επιτήρησης (immune surveillance).

Συμπερασματικά, η ανοσοθεραπεία αναφέρεται σε κάθε θεραπεία που ενισχύει ή αποκαθιστά την ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να δρα έναντι του όγκου. Για να είναι αποτελεσματική, πρέπει να είναι ικανή να αυξάνει την αποτελεσματικότητα ή/και τον αριθμό των δραστικών κυττάρων (effector cells) του ανοσοποιητικού συστήματος, να μπορεί να εντοπίσει νέα καρκινικά αντιγόνα (neoantigens) ή/και να αναστέλλει επαγόμενους από καρκίνο ανοσοκατασταλτικούς μηχανισμούς. (Shore, 2014)

Υπάρχουν διάφοροι τύποι ανοσοθεραπείας, που συμπεριλαμβάνουν:

- Μονοκλωνικά αντισώματα
- Μη-ειδικές ανοσοθεραπείες (ιντερφερόνες, ιντερλευκίνες)
- Ογκολυτική θεραπεία με τη βοήθεια ιικών φορέων
- CAR-T κυτταρική θεραπεία
- Εμβόλια κατά του καρκίνου

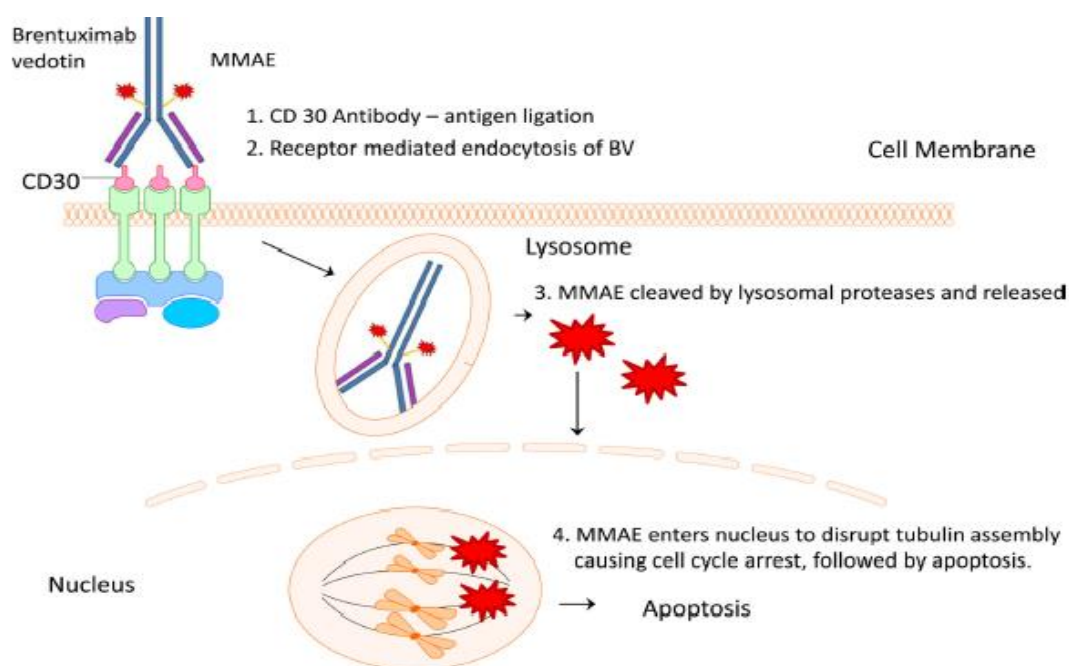
Στην παρούσα εργασία θα αναλυθούν οι υποκατηγορίες των μονοκλωνικών αντισωμάτων καθώς και η CAR-T κυτταρική θεραπεία για την αντιμετώπιση των Hodgkin και non-Hodgkin λεμφωμάτων.

Γ.1. Ανοσοθεραπεία για Hodgkin λεμφώματα

Γ.1.1. Brentuximab vedotin

Η διαμεμβρανική πρωτεΐνη CD30 εκφράζεται στα Hodgkin Reed-Sternberg κύτταρα και σε ένα μικρό ποσοστό ενεργοποιημένων Β και Τ λεμφοκυττάρων που βρίσκονται σε λεμφικούς ιστούς αλλά όχι σε περιφερικά κύτταρα του αίματος, γεγονός το οποίο καθιστά το συγκεκριμένο αντιγόνο ένα ελκυστικό θεραπευτικό στόχο για το λέμφωμα Hodgkin. Ωστόσο, αρχικές προσπάθειες στόχευσης του CD30 με απλά μονοκλωνικά αντισώματα απέτυχαν, καθώς το CD30 ενδοκυττάρωνεται μετά τη σύνδεση του αντισώματος με αποτέλεσμα να μην προκαλείται ενεργοποίηση των κυττάρων τελεστών. (Ho Yi et al, 2017)

Έτσι, αναπτύχθηκε το brentuximab vedotin που ανήκει στην κατηγορία των αντισωμάτων που είναι συζευγμένα με φάρμακο. Πιο συγκεκριμένα, αποτελείται από ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, που στοχεύει τα μόρια CD30 και είναι συζευγμένο με έναν ιδιαίτερα ισχυρό αντιμιτωτικό παράγοντα, την monomethyl auristatin E (MMAE) μέσω ενός συνδέτη, ο οποίος διασπάται ενζυμικά. (Viviani and Guidetti, 2018) Επειδή η MMAE είναι πάρα πολύ κυτταροτοξική, δεν μπορεί να δοθεί μόνης της. Γι' αυτό, δίνεται συζευγμένη με ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που αναγνωρίζει την έκφραση ενός συγκεκριμένου δείκτη στα καρκινικά κύτταρα και κατευθύνει την MMAE σε συγκεκριμένα καρκινικά κύτταρα. Μετά τη σύνδεση του brentuximab vedotin στο CD30 στην κυτταρική επιφάνεια, αυτό εισέρχεται στο κύτταρο μέσω ενδοκυττάρωσης και μεταφέρεται στα λυσοσώματα όπου ο συνδέτης διασπάται και η MMAE απελευθερώνεται μες στο κύτταρο. Η MMAE προκαλεί ισχυρή αναστολή της μίτωσης (εμποδίζει μετάβαση από φάση G2 σε M) και επάγει την απόπτωση των CD30+ καρκινικών κυττάρων. (Ho Yi et al, 2017) Πιο συγκεκριμένα, η MMAE αναστέλλει την κυτταρική διαίρεση μπλοκάροντας τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης. (Viviani and Guidetti, 2018)



Εικόνα 15: Μηχανισμός δράσης του brentuximab vedotin (Alperovich and Younes, 2016)

Το brentuximab vedotin λαμβάνεται από ενήλικες για τη θεραπεία των εξής νοσημάτων:

- CD30+ κλασικό λέμφωμα Hodgkin σταδίου III ή IV, χωρίς προηγούμενη θεραπεία, σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία (αδριαμυκίνη, γνωστή και ως δοξορουβικίνη, βινβλαστίνη και ντακαρβαζίνη)
- CD30+ κλασικό λέμφωμα Hodgkin με υψηλό κίνδυνο υποτροπής ή εξέλιξης ύστερα από αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (ASCT).
- Υποτροπιάζον ή ανθεκτικό στη θεραπεία CD30+ κλασικό λέμφωμα Hodgkin ύστερα από αποτυχία αυτόλογης μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων ή έπειτα από αποτυχία 2 τουλάχιστον προηγούμενων θεραπειών όταν η αυτόλογη μεταμοσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων ή η χημειοθεραπεία δεν αποτελεί θεραπευτική επιλογή.

Χορηγείται με ενδοφλέβια έγχυση για 30 λεπτά. Η συνιστώμενη δόση ως μονοθεραπεία είναι 1.8mg/kg με μέγιστη δόση 180mg κάθε 3 εβδομάδες. Στην περίπτωση του πρόσφατα διαγνωσμένου κλασικού λεμφώματος Hodgkin σταδίου III ή IV η δόση ανάγεται σε 1.2 mg/kg με μέγιστη δόση 120mg κάθε 2 εβδομάδες και μέγιστο αριθμό δόσεων 12. Επιπλέον, η δόση μειώνεται σε άτομα με ήπια ηπατική βλάβη.

Γ.1.1.1. Κλινική μελέτη σε ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin σταδίου III ή IV, χωρίς προηγούμενη θεραπεία (ECHELON, NCT01712490)

Πραγματοποιήθηκε πολυκεντρική, δύο σκελών, τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης 3 που συμπεριλάμβανε ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin σταδίου III ή IV, χωρίς προηγούμενη θεραπεία, εκ των οποίων οι 664 έλαβαν brentuximab vedotin (ADCETRIS), δοξορουβικίνη, βινβλαστίνη και ντακαρβαζίνη (A+AVD) και οι 670 έλαβαν δοξορουβικίνη, μπλεομυκίνη, βινβλαστίνη και ντακαρβαζίνη (ABVD). (Connors et al, 2018)

1 ^η ομάδα ασθενών (A+AVD)	2 ^η ομάδα ασθενών (ABVD)
1.2 mg/kg BV, 25mg/m ² δοξορουβικίνη, 6mg/m ² βινβλαστίνη, 375mg/m ² ντακαρβαζίνη την 1 ^η μέρα και την 15 ^η μέρα ενός κύκλου 28 ημερών για διάστημα ως και 6 κύκλους θεραπείας	25mg/m ² δοξορουβικίνη, 10 μονάδες /m ² μπλεομυκίνη, 6 mg/m ² βινβλαστίνη, 375 mg/m ² ντακαρβαζίνη 1 ^η μέρα και την 15 ^η μέρα ενός κύκλου 28 ημερών για διάστημα έως και 6 κύκλους θεραπείας

Κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη:

- Άτομα με κλασικό λέμφωμα Hodgkin σταδίου III ή IV που δεν έχουν λάβει προηγούμενη θεραπεία
- Ηλικία μεγαλύτερη ή ίση των 18 ετών

Κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη:

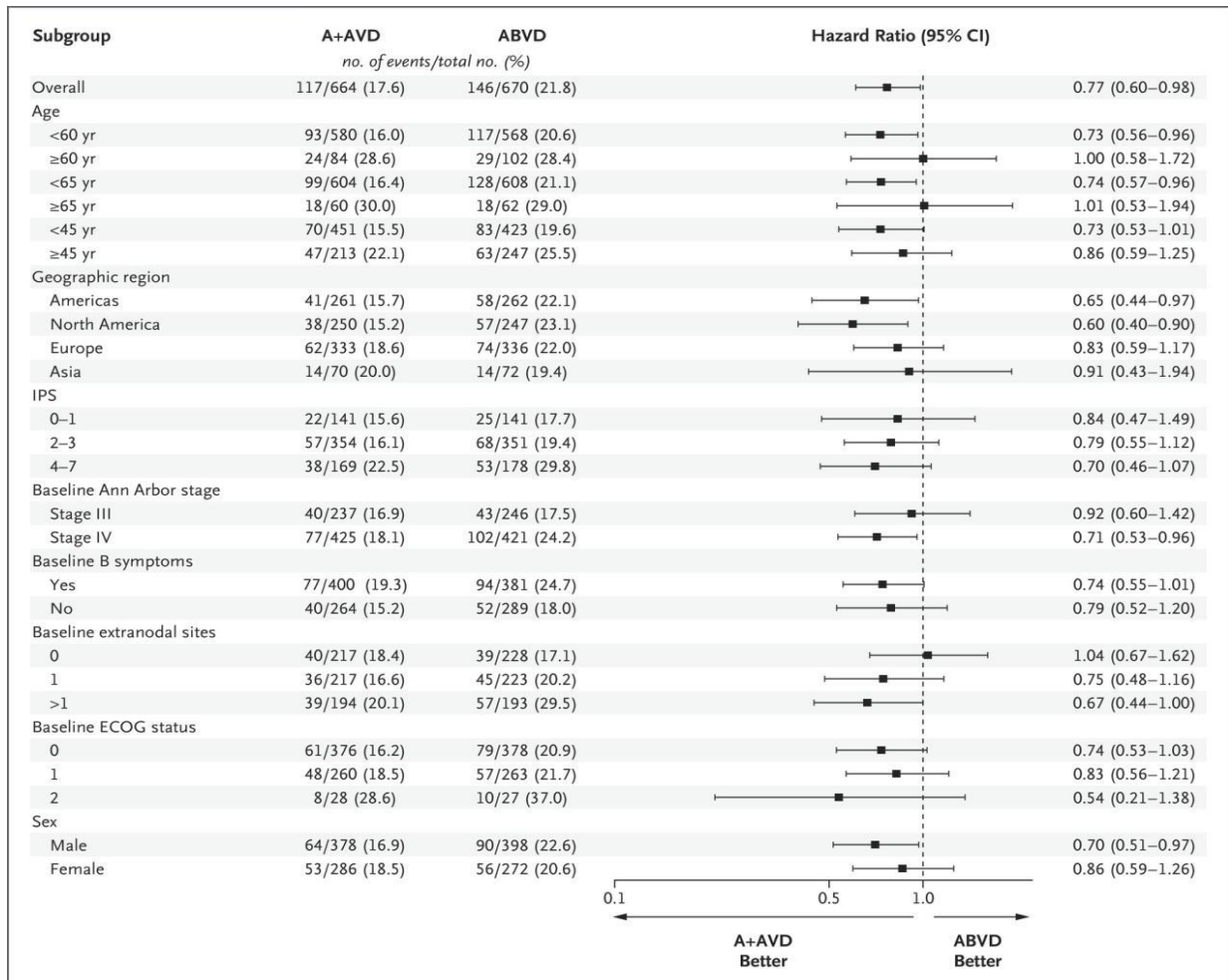
- Οζώδες Hodgkin λέμφωμα με λεμφοκυτταρική επικράτηση
- Πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια

- Αισθητική ή κινητική περιφερειακή νευροπάθεια
- Ανοσοκατασταλτική θεραπεία εντός 12 εβδομάδων από την πρώτη δόση του υπό εξέταση φαρμάκου
- Νόσος του AIDS
- Ηπατίτιδα Β ή C

(Connors et al, 2018)

Αποτελέσματα

Το διάστημα επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) ήταν σημαντικά πιο υψηλό στο πρώτο γκρουπ (A+AVD) από το δεύτερο (ABVD). Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου μετά από 2 χρόνια ήταν 82.1% και 77.2% στο 1^ο και στο 2^ο γκρουπ, αντίστοιχα. Περαιτέρω αναλύσεις έδειξαν ότι η αναλογία κινδύνου (hazard ratio, A+AVD/ABVD) είναι μικρότερη του 1 στην πλειονότητα των υποομάδων. Οι περισσότερες υποομάδες ασθενών οφελήθηκαν περισσότερο από το A+AVD συγκριτικά με το ABVD. Επιπλέον, περιστατικά εξέλιξης της νόσου και θανάτου συνέβησαν σε 117 και 146 ασθενείς στο 1^ο και στο 2^ο γκρουπ, αντίστοιχα. Επιπλέον, λιγότεροι ασθενείς στο 1^ο γκρουπ (A+AVD) έλαβαν μεταγενέστερα εναλλακτικές θεραπείες συγκριτικά με το 2^ο γκρουπ.



Εικόνα 16: Forest-Plot ανάλυση της επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (Connors et al, 2018)

Ασφάλεια

Οι κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που σημειώθηκαν ήταν: (εμπύρετη) ουδετεροπενία, περιφερειακή νευροπάθεια, πνευμονική τοξικότητα, δυσκοιλιότητα, έμετος, κόπωση και κοιλιακός πόνος. Πιο αναλυτικά, η ουδετεροπενία εμφανίστηκε στο 58% των ασθενών που έλαβαν A+AVD και στο 45% των ασθενών που έλαβαν ABVD, ενώ εμπύρετη ουδετεροπενία εμφανίστηκε στο 19% και 8%, αντίστοιχα. Και στα 2 γκρουπ, ωστόσο, η συχνότητα της εμπύρετης ουδετεροπενίας ήταν μεγαλύτερη μεταξύ των ασθενών που ήταν μεγαλύτεροι των 60 ετών. Επίσης, το ποσοστό των λοιμώξεων στο A+AVD γκρουπ ήταν 55% και στο ABVD γκρουπ ήταν 50%. Γι' αυτό το λόγο, προτάθηκε η προφυλακτική αγωγή με τον παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων (G-CSF).

Επίσης, εμφανίστηκε περιφερική νευροπάθεια στο 67% των ασθενών στην 1^η ομάδα ασθενών (A+AVD) και στο 43% των ασθενών στη 2^η ομάδα (ABVD). Επιπρόσθετα, η πνευμονική τοξικότητα μειώθηκε στο γκρουπ όπου η μπλεομυκίνη αφαιρέθηκε από το χημειοθεραπευτικό σχήμα και προστέθηκε το brentuximab vedotin.

Συμπερασματικά, η θεραπεία με A+AVD, συγκριτικά με τη στάνταρ θεραπεία με ABVD, οδήγησε σε στατιστικά και κλινικά σημαντική αύξηση του PFS. Συμπερασματικά, το θεραπευτικό σχήμα A+AVD είναι λίγο πιο αποτελεσματικό ως θεραπεία πρώτης γραμμής του κλασικού λεμφώματος Hodgkin προχωρημένου σταδίου, γεγονός το οποίο υποδηλώνεται από το γεγονός ότι λιγότεροι ασθενείς από το πρώτο γκρουπ έπρεπε να λάβουν επακόλουθη χημειοθεραπεία διάσωσης ή χημειοθεραπεία υψηλής δόσης και μεταμόσχευση. (Connors et al, 2018)

Γ.1.1.2.Κλινική μελέτη σε ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής ή εξέλιξης της νόσου μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (AETHERA, NCT01100502)

Πραγματοποιήθηκε τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο (placebo) μελέτη φάσης 3 με σκοπό να αξιολογηθεί αν το brentuximab vedotin βελτιώνει την επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) όταν δίνεται σε ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο υποτροπής ή εξέλιξης της ασθένειας μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση των αιμοποιητικών κυττάρων.

Από τους 329 ασθενείς, οι 165 έλαβαν brentuximab vedotin, ενώ οι 164 placebo. Η δόση για το brentuximab vedotin ήταν 1.8 mg/kg και η χορήγηση γινόταν με ενδοφλέβια έγχυση για 30 λεπτά την πρώτη μέρα του κάθε κύκλου των 21 μερών και κάθε 3 εβδομάδες για μέγιστο χρονικό διάστημα 16 κύκλων.

Στην μελέτη συμπεριλήφθησαν μόνο ασθενείς με επιβεβαιωμένο ιστολογικά κλασικό λέμφωμα Hodgkin που είχαν υποβληθεί σε χημειοθεραπεία υψηλής δόσης και έπειτα σε

αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων πριν την τυχαιοποίηση. Όλοι οι ασθενείς είχαν τουλάχιστον έναν από τους ακόλουθους παράγοντες κινδύνου:

- Λέμφωμα Hodgkin που ήταν ανθεκτικό στη θεραπεία πρώτης γραμμής
- Υποτροπιάζον ή προοδευτικό λέμφωμα Hodgkin που εμφανίστηκε <12 μήνες από το τέλος της θεραπείας πρώτης γραμμής
- Εξωαδενικά συμπτώματα κατά την έναρξη της χημειοθεραπείας διάσωσης πριν την μεταμόσχευση

Αντίθετα, όσοι είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με brentuximab vedotin στο παρελθόν καθώς και όσοι είχαν υποβληθεί σε αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων αποκλείστηκαν από την μελέτη. Επίσης, κριτήριο αποκλεισμού στην μελέτη αποτελούσε η ανεπάρκεια λειτουργίας οργάνων.

Αποτελέσματα

Μετά από παρακολούθηση των ασθενών για διάστημα μέσης διάρκειας 30 μηνών (εύρος 0-50 μήνες), το κύριο τελικό σημείο, δηλαδή το PFS, αυξήθηκε σημαντικά σε ασθενείς στο γκρουπ που έλαβαν brentuximab vedotin. Το μέσο χρονικό διάστημα της επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου στο γκρουπ που έλαβαν brentuximab vedotin ήταν 42,9 μήνες, ενώ στο placebo γκρουπ ήταν 24,1 μήνες. Επίσης, το ποσοστό επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου μετά από 2 χρόνια ήταν 63% στο γκρουπ όσων έλαβαν brentuximab vedotin, ενώ στο δεύτερο γκρουπ (placebo) ήταν 51%. Το ποσοστό κινδύνου εξέλιξης της νόσου σε όσους έλαβαν brentuximab vendontin συγκριτικά με αυτούς που έλαβαν placebo ήταν 0,55. Επιπλέον, το 80% των ασθενών που έλαβαν brentuximab vedotin έζησαν τουλάχιστον 3 χρόνια μετά τη θεραπεία και δε χρειάστηκε να λάβουν άλλες κυτταροτοξικές θεραπείες.

Είναι αξιοσημείωτο ότι το 85% των ασθενών που έλαβαν placebo χρειάστηκε να πάρουν στη συνέχεια brentuximab vedotin λόγω επιδείνωσης της νόσου. Ωστόσο, δεν είναι ακόμη σαφές αν η brentuximab vedotin είναι καλύτερο να λαμβάνεται σε μεταγενέστερο στάδιο σε περίπτωση επιδείνωσης της νόσου ή σε πιο αρχικό στάδιο.

Ασφάλεια

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες που εκδηλώθηκαν σε αρκετά μεγαλύτερο ποσοστό στο γκρουπ των ασθενών που έλαβαν brentuximab ήταν η περιφερική νευροπάθεια, η ουδετεροπενία και η ναυτία. Η περιφερική νευροπάθεια οδήγησε σε διακοπή της θεραπείας στο 23% των ασθενών και σε τροποποίηση της δόσης στο 31% των ασθενών.

Συμπερασματικά, το brentuximab vedotin έχει ένα καλό προφίλ ανεκτικότητας ακόμη και όταν λαμβάνεται σε μικρό χρονικό διάστημα από την αυτόλογη μεταμόσχευση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, χωρίς να εμφανίζονται σοβαρές λοιμώξεις. Προσφέρει, λοιπόν, μεγάλο κλινικό όφελος σε ασθενείς με λέμφωμα Hodgkin που παρουσιάζουν

αυξημένο κίνδυνο υποτροπής ή εξέλιξης της νόσου μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων. (Moskowitz et al, 2015)

Γ.1.1.3. Κλινική μελέτη σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον λέμφωμα Hodgkin (NCT00848926)

Για τους ασθενείς στους οποίους το Hodgkin λέμφωμα υποτροπιάζει ή εξελίσσεται μέσα σε ένα χρόνο από την αυτόλογη μεταμόσχευση των αιμοποιητικών κυττάρων, η πρόγνωση είναι εξαιρετικά άσχημη. Ο μέσος χρόνος επιβίωσης για αυτούς τους ασθενείς είναι 1,2 χρόνια. Δεν υπάρχει διαθέσιμο θεραπευτικό πρωτόκολλο για αυτούς τους ασθενείς και επομένως η ανάγκη εύρεσης κατάλληλου θεραπευτικού μέσου κρίνεται επιτακτική. Ως αποτέλεσμα, πραγματοποιήθηκε ανοικτή, πολυκεντρική, μονοσκελή κλινική μελέτη για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα του brentuximab vedotin στους ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin μετά από αποτυχία της αυτόλογης μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων ή μετά από αποτυχία τουλάχιστον 2 προηγούμενων χημειοθεραπευτικών σχημάτων. Κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη ήταν η εγκυμοσύνη και η λήψη αλλογενούς μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων στο παρελθόν.

Το δοσολογικό σχήμα ήταν 1.8 mg/kg brentuximab vedotin ενδοφλεβίως για 30 λεπτά κάθε 3 εβδομάδες με μέγιστο χρονικό διάστημα 16 κύκλων. Συμμετείχαν 102 ασθενείς στους οποίους ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 31 χρόνια και ο μέσος αριθμός προηγούμενων θεραπευτικών σχημάτων ήταν 3.5.

Αποτελέσματα

Απόκριση	N=102
Αντικειμενική απόκριση (ORR)	75%
Πλήρης ύφεση	34%
Μερική ύφεση	40%

Δευτερεύοντα τελικά σημεία	N=102
Επιβίωση χωρίς εξέλιξη νόσου (μήνες)	5.6
Μέση διάρκεια απόκρισης (μήνες)	6.7
12-μηνη συνολική επιβίωση(OS)	88%
Μέση συνολική επιβίωση (μήνες)	22.4

Ανεπιθύμητες ενέργειες σχετιζόμενες με τη θεραπεία	Όλων των βαθμίδων	Βαθμού 3 ή 4
Περιφερειακή αισθητική νευροπάθεια	42%	8%

Ναυτία	35%	-
Κόπωση	34%	-
Ουδετεροπενία	19%	20%
Διάρροια	18%	1%
Πυρετός	14%	2%

Συνεπώς, η θεραπεία με brentuximab vedotin σχετίζεται με πολύ καλά ποσοστά απόκρισης και με ένα διαχειρίσιμο προφίλ τοξικότητας. Η πιο κλινικά σημαντική παρενέργεια που είναι η ουδετεροπενία μπορεί να αναστραφεί με την κατάλληλη υποστηρικτική αγωγή. Ωστόσο, δεν είναι ακόμη σαφής η κατάλληλη διάρκεια της θεραπείας, καθώς πρέπει να λαμβάνεται υπόψη τόσο ο έλεγχος του όγκου όσο και η ελαχιστοποίηση της τοξικότητας. (Younes et al, 2012)

Γ.1.2. Αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (immune checkpoint inhibitors)

Όπως έχει ήδη συζητηθεί, τα Τ κύτταρα, ως εκτελεστικά κύτταρα του ανοσοποιητικού, ενεργοποιούνται εν μέρει από την αλληλεπίδραση του συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) με τον υποδοχέα των Τ κυττάρων (TCR) μετά από την αναγνώριση ενός συγκεκριμένου πεπτιδίου στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Αυτός ο μηχανισμός ενεργοποίησης αναχαιτίζεται από συγκεκριμένες πρωτεΐνες στην επιφάνεια των Τ κυττάρων. Οι συγκεκριμένοι ανασταλτικοί μηχανισμοί είναι απαραίτητοι για να αποτραπούν οι ανεπιθύμητες ανοσοαποκρίσεις, θέτοντας τα Τ λεμφοκύτταρα σε κατάσταση ανεργίας. Με άλλα λόγια, αποτρέπουν την αυτοανοσία και παίζουν καθοριστικό ρόλο στην περιφερική ανοσιακή ανοχή. (Bröckelmann and Engert, 2017)

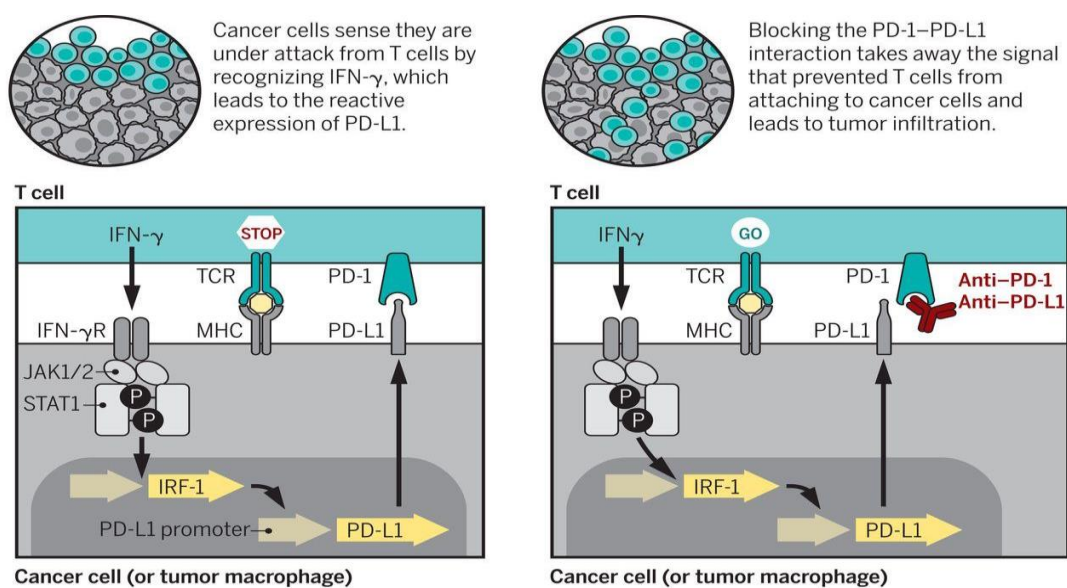
Ο υποδοχέας PD-1 εκφράζεται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων Τ-λεμφοκυττάρων και είναι αρνητικός ρυθμιστής της δραστηριότητας των Τ λεμφοκυττάρων. Οι προσδέτες του, ο PD-L1 και ο PD-L2 εκφράζονται σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα αλλά και σε καρκινικά κύτταρα ή άλλα κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Η αλληλεπίδραση PD-1/PD-L1 οδηγεί στην αναστολή της δράσης των ενεργοποιημένων Τ λεμφοκυττάρων, διαδραματίζοντας καθοριστικό ρόλο στην ανοσιακή ανοχή. (Bröckelmann et al, 2016) Πιο συγκεκριμένα, η πρόσδεση στον PD-1 οδηγεί σε μειωμένο πολλαπλασιασμό των Τ κυττάρων και επομένως σε μειωμένη κυτταροτοξικότητα και παραγωγή κυτοκινών. Επίσης, αυξάνει την παραγωγή των ρυθμιστικών Τ (Treg) κυττάρων, γεγονός το οποίο βοηθά στην εξασθένηση των ανοσοαπαντήσεων. (Armand, 2015)

Η λογική αυτής της θεραπευτικής προσέγγισης, που έχει ως φαρμακολογικό στόχο τον PD-1, εξηγείται εν μέρει από την ιδιαίτερη παθοφυσιολογία του κλασικού λεμφώματος Hodgkin. Έχει αποδειχθεί ότι ο PD-L1 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό και στα Hodgkin Reed-Sternberg (HRS) κύτταρα είτε λόγω της ενίσχυσης του γενετικού τόπου 9p24.1 είτε λόγω μόλυνσης με τον ιό Epstein Barr (EBV). Πιο συγκεκριμένα, το αμπλικόνιο 9p24.1 περιέχει το γονίδιο της JAK2 και η ενίσχυση του οδηγεί σε ενεργοποίηση του JAK/STAT μονοπατιού με αποτέλεσμα να αυξάνεται η δραστηριότητα της JAK, που συντελεί επίσης στην αύξηση της έκφρασης του PD-L1. (Green et al, 2012) (Bröckelmann and Engert, 2017) Επίσης, η

παρουσία του γονιδιώματος του ιού Epstein-Barr στα καρκινικά κύτταρα καταδεικνύει ότι η ιική μόλυνση συμβαίνει πριν την κακοήγη εξαλλαγή των Β λεμφοκυττάρων. (Massini et al, 2009)

Επίσης, στα HRS κύτταρα υπάρχουν μεταλλάξεις στο γονίδιο της $\beta 2$ -μικροσφαιρίνης, με αποτέλεσμα να μη σχηματίζεται το φυσιολογικό μόριο MHC τάξης I και να μην μπορεί να συνδεθεί κατάλληλα στον TCR. Όλα τα παραπάνω έχουν ως αποτέλεσμα να αναχαιτίζονται οι ανοσοαπαντήσεις έναντι των όγκων. (Bröckelman et al, 2016) Συμπερασματικά, η αποτροπή της αναστολής των Τ λεμφοκυττάρων μέσω της σύνδεσης ενός μονοκλωνικού αντισώματος στους PD-1 υποδοχείς αυτών αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση, καθώς αναστρέφει την κατάσταση ανεργίας των Τ λεμφοκυττάρων, καθιστώντας εφικτή μια αποτελεσματική αντινεοπλασματική απόκριση.

Πιο αναλυτικά, τα καρκινικά κύτταρα αντιλαμβάνονται ότι δέχονται “επίθεση” από τα Τ λεμφοκύτταρα, που έχουν ενεργοποιηθεί έπειτα από την παρουσίαση αντιγονικών πεπτιδίων από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Αυτό γίνεται μέσω της σύνδεσης της $\text{IFN-}\gamma$ που παράγεται από τα Τ κύτταρα στους υποδοχείς της $\text{IFN-}\gamma$ των καρκινικών κυττάρων. Η σύνδεση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση των πρωτεϊνών STAT, οι οποίες με τη σειρά τους συντελούν στην μεταγραφή διαφόρων γονιδίων, όπως του IRF-1, ο οποίος συνδέεται στον υποκινητή του PD-L1 και επάγει την έκφρασή του. Αυτή η υπερέκφραση του PD-L1 απενεργοποιεί τα Τ κύτταρα που προσπαθούν να επιτεθούν στον καρκίνο. Συμπερασματικά, η αναχαίτιση της αλληλεπίδρασης του PD-L1 με το PD1 με τη βοήθεια μονοκλωνικών αντισωμάτων οδηγεί σε πολλαπλασιασμό των Τ κυττάρων και διήθηση αυτών στον όγκο, προκαλώντας μια κυτταροτοξική Τ κυτταρική απόκριση. Επιπλέον, μειώνει την παραγωγή των Τ ρυθμιστικών κυττάρων, ενισχύοντας και με αυτόν τον τρόπο την ανοσολογική αντίδραση. (Ribas and Wolchok, 2018)

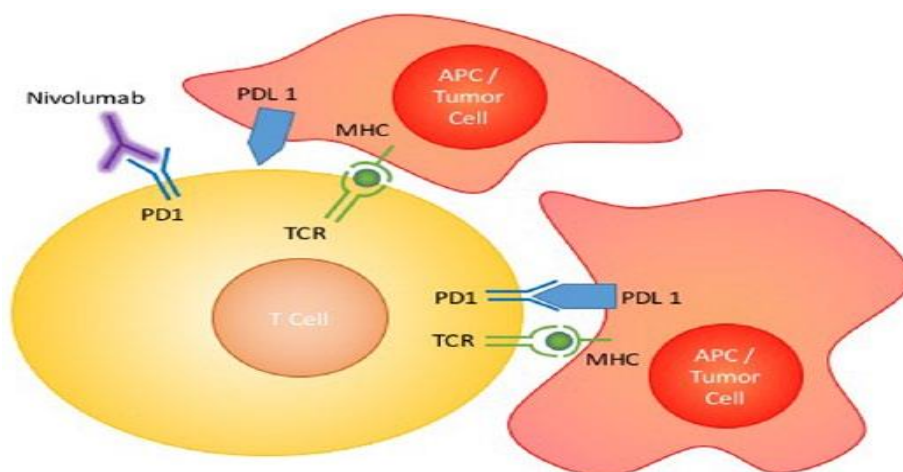


Εικόνα 17: Μηχανισμός δράσης της θεραπείας με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του PD1. (Ribas and Wolchok, 2018)

Γ.1.2.1. Nivolumab

Ο πρώτος αναστολέας σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (immune checkpoint inhibitor) που πήρε έγκριση για χρήση από ασθενείς με λέμφωμα Hodgkin ήταν το nivolumab. Πιο συγκεκριμένα, το nivolumab πήρε έγκριση από τον FDA για τη θεραπεία ενηλίκων με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό κλασικό λέμφωμα Hodgkin μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και θεραπεία με brentuximab vedotin.

Το nivolumab είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα ανοσοσφαιρίνης G4 (IgG4), το οποίο προσδένεται στον υποδοχέα της πρωτεΐνης προγραμματισμένου θανάτου-1 (PD-1) και αναστέλλει την αλληλεπίδραση με τους συνδέτες PD-L1 και PD-L2. Με λίγα λόγια, το nivolumab ενισχύει την απάντηση των T κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της αντινεοπλασματικής απάντησης μέσω αναστολής της πρόσδεσης της PD1 στους συνδέτες PD-L1 και PD-L2. Σε συγγενή μοντέλα ποντικών η αναστολή της δραστηριότητας της PD-1 οδήγησε σε μειωμένη ανάπτυξη του όγκου. (Villasboas and Ansell, 2015)



Εικόνα 18: Μηχανισμός δράσης του nivolumab (Joline Lim, National University Cancer Institute)

Γ.1.2.1.1. Λήψη nivolumab σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον κλασικό Hodgkin λέμφωμα (cHL) μετά από αποτυχία αυτόλογης μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων-CHECKMATE 205

Πρόκειται για μία ανοικτή, πολλαπλών κοορτών, μονού σκέλους μελέτη φάσης II που περιελάμβανε ασθενείς με ανθεκτικό/υποτροπιάζον Hodgkin λέμφωμα μετά από αποτυχία αυτόλογης μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων. Η κατάταξη στις αντίστοιχες ομάδες έγινε σύμφωνα με το ιστορικό της ασθένειας. Πιο συγκεκριμένα, η ομάδα A περιελάμβανε ασθενείς που δεν έλαβαν brentuximab vedotin, η ομάδα B περιελάμβανε ασθενείς που έλαβαν brentuximab vedotin μετά από αποτυχία της αυτόλογης μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (auto-HSCT), ενώ η ομάδα Γ περιελάμβανε

ασθενείς που έλαβαν BV πριν ή/και μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν ενδοφλεβίως 3mg/kg nivolumab σε διάστημα 60 λεπτών κάθε 2 εβδομάδες μέχρι εξέλιξης της νόσου ή μη ανεκτής τοξικότητας. (Armand et al, 2018) Οι πρώτες αξιολογήσεις του όγκου διενεργήθηκαν 9 εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας. Το κύριο μέτρο έκβασης ως προς την αποτελεσματικότητα ήταν το ORR (ποσοστό αντικειμενικής απόκρισης). Στα επιπρόσθετα μέτρα της αποτελεσματικότητας συμπεριλαμβανόταν η διάρκεια της ανταπόκρισης, το PFS και η OS (συνολική επιβίωση).

Συνολικά οι ασθενείς ήταν 243, 63 εκ των οποίων ήταν στην ομάδα A, 80 στην ομάδα B και 100 στην ομάδα Γ. Σημαντικά κριτήρια αποκλεισμού περιλαμβάνουν αυτοάνοσο νόσημα, ακτινοθεραπεία εντός 21 ημερών από την πρώτη δόση nivolumab, αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων εντός 90 ημερών από την πρώτη δόση nivolumab και αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων ή θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή πριν τη θεραπεία με nivolumab.

	Ομάδα A (n=63)	Ομάδα B (n=80)	Ομάδα Γ (n=100)	Όλοι οι ασθενείς(n=243)
Αντικειμενική απόκριση (95%CI)	65 %	68 %	73 %	69 %
Πλήρης ύφεση	29 %	13 %	12 %	16 %
Μερική ύφεση	37 %	55 %	61 %	53 %
Σταθερή νόσος	24 %	21 %	15 %	19 %

Πίνακας : Ποσοστά απόκρισης (Armand et al, 2018)

Επίσης, η μέση διάρκεια απόκρισης (DOR) συνολικά ήταν 16.6 μήνες και 20.3, 15.9 και 14.5 μήνες στην ομάδα A, B και Γ, αντίστοιχα. Η διάμεση επιβίωση χωρίς επιδείνωση της νόσου (PFS) συνολικά ήταν 14.7 μήνες και 18.3, 14.7 και 11.9 μήνες στις ομάδες A, B και Γ, αντίστοιχα. Η μέση συνολική επιβίωση (OS) δεν επιτεύχθηκε σε καμία ομάδα. Το ποσοστό της ετήσιας επιβίωσης ήταν 92% συνολικά, 93% στην ομάδα A, 95% στην ομάδα B και 90% στην ομάδα Γ.

Ασφάλεια

Οι πιο κοινές ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με το φάρμακο ήταν η κόπωση (23%), η διάρροια (15%) και σχετιζόμενες με την έγχυση αντιδράσεις (14%). Οι πιο κοινές σχετιζόμενες με το φάρμακο ανεπιθύμητες ενέργειες βαθμού 3 και 4 ήταν η αύξηση των επιπέδων της λιπάσης (5%), η ουδετεροπενία (3%) και η αύξηση των επιπέδων της ALT (αλανινο τρανσαμινάσης). Οι πιο σοβαρές παρενέργειες βαθμού 3 ή 4 ήταν η ουδετεροπενία και τα υψηλά επίπεδα λιπάσης στο πλάσμα. (Armand et al, 2018)

Η εμφάνιση σχετιζόμενων με το ανοσοποιητικό σύστημα ανεπιθύμητων ενεργειών είναι συχνή και απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή. Αυτές προκύπτουν από την μείωση της περιφερειακής ανοχής σε αυτό-αντιγόνα. Τα κυριότερα όργανα που επηρεάζονται είναι ο γαστρεντερικός σωλήνας (διάρροια και κολίτιδα), το δέρμα (εξάνθημα, δερματίτιδα), οι

πνεύμονες (πνευμονίτιδα) και το ενδοκρινικό σύστημα (δυσλειτουργία θυρεοειδούς, επινεφριδιακή ανεπάρκεια). (Ramcharden et al, 2019)

Παρατηρούμε ότι οι αποκρίσεις στο nivolumab ήταν συχνές και μακροπρόθεσμες. Το nivolumab σχετίζεται με ένα πολύ καλό προφίλ ασφάλειας και μακροπρόθεσμων οφελών σε ένα ευρύ φάσμα ασθενών με ανθεκτικό/υποτροπιάζον κλασικό Hodgkin λέμφωμα. Επομένως, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι η θεραπεία με nivolumab παρέχει μακροπρόθεσμα οφέλη σε ένα μεγάλο αριθμό ασθενών με ανθεκτικό/υποτροπιάζον κλασικό Hodgkin λέμφωμα μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων. (Ansell et al, 2015) (Villasboas and Ansell, 2015)

Αξίζει να σημειωθεί ότι μετά από αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων η θεραπεία με nivolumab αυξάνει το ενδεχόμενο εμφάνισης αντίδρασης του μοσχεύματος εναντίον του δέκτη (GVHD). Αυτό συμβαίνει πιο συχνά σε ασθενείς που πρέπει να δοθεί η θεραπεία με nivolumab εντός ενός έτους από την αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και σε περιπτώσεις που υπάρχει προηγούμενο ιστορικό οξείας αντίδρασης του μοσχεύματος έναντι του δέκτη. Γι' αυτό, συνίσταται συστηματική κλινική και βιολογική αξιολόγηση 1 εβδομάδα μετά την έναρξη της θεραπείας με nivolumab. Σε περίπτωση που υπάρχει υποψία για GVHD, συνίσταται άμεση θεραπεία με συστηματική λήψη κορτικοστεροειδών (2mg/kg). Εάν το GVHD δεν βελτιωθεί εντός 24-48 ωρών, τότε πρέπει να γίνει άμεση έναρξη εναλλακτικών ανοσοκατασταλτικών θεραπειών. (Herbaux et al, 2019)

Γ.1.2.2. Pembrolizumab

Το pembrolizumab είναι ένα ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα ανοσοσφαιρίνης G4 (IgG4), το οποίο προσδένεται στον υποδοχέα της πρωτεΐνης προγραμματισμένου θανάτου-1 (PD-1). Η σύνδεση του pembrolizumab στον PD1 δεν σχετίζεται με σύνδεση μέσω Fc υποδοχέων και δεν ενεργοποιεί το συμπλήρωμα. Γι' αυτό το λόγο, στερείται κυτταροτοξικής δραστηριότητας. (Kwok et al, 2016) Έχει αποδειχθεί ότι το pembrolizumab (KD=0.028 nM) παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια με το PD1 σε σύγκριση με το nivolumab (KD=2.6 nM), χωρίς όμως να σημαίνει απαραίτητα ότι είναι και πιο δραστικό. (Maly and Alinari, 2016)

Το pembrolizumab πήρε έγκριση για χρήση σε παιδιά και ενήλικες με ανθεκτικό ή υποτροπιάζον λέμφωμα Hodgkin μετά από αποτυχία της αυτόλογης μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και της λήψης brentuximab vedotin ή σε ασθενείς που δεν μπορούν να προβούν σε μεταμόσχευση.

Χορηγείται σε ενήλικους ασθενείς σε δόση των 200 mg κάθε 3 εβδομάδες, ενώ σε παιδιατρικούς ασθενείς χορηγούνται 2 mg/kg (έως 200 mg) κάθε 3 εβδομάδες. Η χορήγηση γίνεται με ενδοφλέβια έγχυση για 30 λεπτά. Σε περίπτωση εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών, ενδέχεται να καθυστερήσει η χορήγηση της επόμενης δόσης ή ακόμη και να διακοπεί οριστικά η θεραπεία, εάν οι ανεπιθύμητες ενέργειες είναι σοβαρές. (Wang et al, 2018)

Γ.1.2.2. 1. Κλινική μελέτη σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον κλασικό λέμφωμα Hodgkin (KEYNOTE-087)

Η μελέτη που έδωσε την ένδειξη για τη χρήση του pembrolizumab σε ασθενείς με ανθεκτικό ή υποτροπιάζον κλασικό λέμφωμα Hodgkin είναι η KEYNOTE-087. Είναι μια μελέτη μονού σκέλους, φάσης II που πραγματοποιήθηκε σε 3 ομάδες ασθενών με ανθεκτικό ή υποτροπιάζον κλασικό λέμφωμα Hodgkin.

Στην πρώτη ομάδα συμπεριλήφθησαν ασθενείς που δεν είχαν αποκριθεί ή είχαν παρουσιάσει υποτροπή της νόσου μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και προηγούμενη ή επακόλουθη λήψη brentuximab vedotin. Στη δεύτερη ομάδα υπήρχαν ασθενείς που δεν αποκρίθηκαν στη χημειοθεραπεία «διάσωσης» και δεν προχώρησαν σε αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και δεν ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με brentuximab vedotin. Η τρίτη ομάδα συμπεριέλαβε ασθενείς που δεν αποκρίθηκαν μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και δεν είχαν λάβει brentuximab vedotin μετά από αυτήν. (Chen et al, 2017)

Τα κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη περιελάμβαναν ηλικία μεγαλύτερη ή ίση των 18 ετών, σχετικά καλή πρόγνωση της ασθένειας και επαρκή λειτουργία οργάνων (καλή αιματολογική, νεφρική και ηπατική λειτουργία), η οποία καθορίστηκε από εργαστηριακή εξέταση μέσα σε 7 μέρες από την πρώτη δόση της pembrolizumab. Τα κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη περιελάμβαναν διάγνωση ανοσοκαταστολής ή λήψη ανοσοκατασταλτικής θεραπείας εντός 7 ημερών πριν την έναρξη της θεραπείας με pembrolizumab, θεραπεία με ένα μονοκλωνικό αντίσωμα εντός 4 εβδομάδων πριν την πρώτη δόση pembrolizumab, ακτινοθεραπεία εντός 2 εβδομάδων πριν την πρώτη δόση pembrolizumab, προηγούμενη αλλογενή μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων μέσα στα 5 τελευταία χρόνια, ενεργές αυτοάνοσο νόσημα που απαιτεί συστηματική θεραπεία τα τελευταία 2 χρόνια, ενεργή μη μολυσματική πνευμονίτιδα, προηγούμενη θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου ανοσοποιητικού συστήματος και AIDS ή ενεργή ηπατίτιδα Β ή C. (Chen et al, 2017)

Οι ασθενείς έλαβαν 200 mg pembrolizumab ενδοφλεβίως κάθε 3 εβδομάδες χωρίς άλλη προηγούμενη θεραπεία για μέγιστο διάστημα 24 μηνών ή μέχρι να σημειωθεί επιβεβαιωμένη επιδείνωση της νόσου ή μη ανεκτή τοξικότητα. Πρωτεύοντα τελικά σημεία ήταν το ποσοστό συνολικής απόκρισης (ORR, overall response rate) και η ασφάλεια. Δευτερεύοντα τελικά σημεία ήταν το ποσοστό της πλήρους ύφεσης (CR, complete remission), το PFS και η συνολική επιβίωση (OS). Για την αξιολόγηση του της πλήρους ύφεσης, υπολογίστηκε η υπολειπόμενη μάζα του λεμφώματος μετά τη θεραπευτική αγωγή όταν αυτή ήταν PET-αρνητική. Η ασφάλεια αξιολογήθηκε ελέγχοντας όλες τις ανεπιθύμητες ενέργειες, δηλαδή και αυτές που σχετίζονται με τη θεραπεία και αυτές που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό καθώς και οι θανατηφόρες ανεπιθύμητες ενέργειες. (Chen et al, 2017)

Αποτελέσματα

	Ομάδα 1 (n=69)	Ομάδα 2 (n=81)	Ομάδα 3 (n=60)	Συνολικός αριθμός ασθενών (n=210)
ORR	73.9%	64.2%	70%	69%
CR	21.7%	24.7%	20%	22.4%
PR	52.2%	39.5%	50%	46.7%
SD	15.9%	12.3%	16.7%	14.8%

Επίσης, το μέσο χρονικό διάστημα ως την απόκριση ήταν 2.8 μήνες για το συνολικό αριθμό των ασθενών, το οποίο είναι παρόμοιας χρονικής διάρκειας σε κάθε ομάδα. Η διάρκεια ανταπόκρισης (DOR) για όλους τους ασθενείς ήταν 16.5 μήνες και 22.1, 11.1 και 24.4 μήνες για τις ομάδες 1, 2 και 3, αντίστοιχα. Η επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου ήταν 13.7 μήνες αναφορικά το συνολικό αριθμό των ασθενών και 16.4, 11.1 και 19.4 για τις ομάδες 1, 2 και 3, αντίστοιχα. Επιπλέον, η ολική επιβίωση δεν επιτεύχθηκε σε καμία ομάδα ούτε στο συνολικό αριθμό των ασθενών. Ωστόσο, η διετής επιβίωση των ασθενών που παρουσίασαν πλήρη απόκριση στη θεραπεία ήταν 100% και στις 3 ομάδες. (Chen et al, 2019)

Ασφάλεια

Σχετιζόμενες με τη θεραπεία ανεπιθύμητες ενέργειες εμφανίστηκαν σε 153 ασθενείς (72.9%), εκ των οποίων οι περισσότερες ήταν ήπιες. Μόνο το 11% αυτών ήταν τρίτου βαθμού και καμία από αυτές δεν προκάλεσε θάνατο. Οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες τρίτου βαθμού που σχετιζόνταν με τη θεραπεία ήταν η ουδετεροπενία και η διάρροια. Άλλες συχνές παρενέργειες ήταν ο υποθυροειδισμός (12.4%) και ο πυρετός (10.5%). Σημειώθηκαν, επίσης, σχετιζόμενες με την έγχυση ανεπιθύμητες ενέργειες καθώς και παρενέργειες λόγω ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού. Οι τελευταίες αντιμετωπίστηκαν με χορήγηση στεροειδών ή/και καθυστέρηση της επόμενης δόσης, ανάλογα τη σοβαρότητα των παρενεργειών. (Maly and Alinari, 2016) (Chen et al, 2019)

Συμπερασματικά, το rembralizumab έδειξε αποτελεσματική αντικαρκινική δραστηριότητα σε ασθενείς με ανθεκτικό ή υποτροπιάζον κλασικό λέμφωμα Hodgkin, οι οποίοι δεν είχαν λάβει brentuximab vedotin καθώς και σε εκείνους που είχαν λάβει brentuximab vedotin πριν ή μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων. Ένα ακόμη πολύ θετικό στοιχείο της μελέτης ήταν τα υψηλά ποσοστά απόκρισης των ασθενών που παρουσιάζουν αντίσταση στη χημειοθεραπεία, οι οποίοι έχουν πολύ φτωχή πρόγνωση, καθώς και στους ασθενείς με νόσο ανθεκτική στην θεραπεία πρώτης γραμμής.

Με λίγα λόγια, το rembralizumab έδωσε εξαιρετικά αποτελέσματα σε ασθενείς με ανθεκτικό και υποτροπιάζον λέμφωμα στη συγκεκριμένη δοσολογία (200 mg ανά 3 εβδομάδες). Σε ένα πολύ μεγάλο ποσοστό ασθενών η rembralizumab είναι ικανή να εξαλείψει πλήρως ή μερικώς τα καρκινικά κύτταρα στο κλασικό λέμφωμα Hodgkin σε περιπτώσεις όπου δεν έχει υπάρξει βελτίωση ή έχει παρουσιαστεί υποτροπή της νόσου μετά τη θεραπεία με brentuximab vedotin με ή χωρίς αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων. Επίσης, σχετίζεται με ένα αποδεκτό προφίλ ασφαλείας, όπως υποδεικνύεται από το μειωμένο ποσοστό διακοπής της θεραπείας και τις μειωμένες ανεπιθύμητες ενέργειες. (Chen et al, 2017)

Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως με τη nivolumab, η λήψη pembrolizumab αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης νόσου μοσχεύματος έναντι του ξενιστή (GVHD) όταν χορηγείται σε μικρό χρονικό διάστημα από μια αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων. (Merryman et al, 2017) (Maly and Alinary, 2016)

Γ.2. Ανοσοθεραπεία για non-Hodgkin λεμφώματα

Γ.2.1. Rituximab

Πρόκειται για ένα χημειοθεραπευτικό anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο προκαλεί λύση των B κυττάρων μέσω των ακόλουθων μηχανισμών: απόπτωση, αντισωματοεξαρτώμενη κυτταρική τοξικότητα (ADCC), εξαρτημένη από συμπλήρωμα κυτταροτοξικότητα (CDC) και αντισωματοεξαρτώμενη φαγοκυττάρωση. Αξίζει να αναφερθεί ότι το CD20 είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης των B λεμφοκυττάρων εκτός από τα πρώιμα B λεμφοκύτταρα και τα πλάσμα κύτταρα. Ειδικότερα, το CD20 βρίσκεται πάνω στα κακοήγη B λεμφοκύτταρα στους περισσότερους ασθενείς με λέμφωμα προερχόμενο από ώριμα B λεμφοκύτταρα. Το CD20, όμως, βρίσκεται και στα φυσιολογικά B λεμφοκύτταρα με αποτέλεσμα να προκαλούνται αναπόφευκτα ορισμένες ανεπιθύμητες ενέργειες, οι οποίες όμως μπορούν να αντιμετωπιστούν επαρκώς. Ο ρόλος του CD20 δεν είναι ακόμη αποσαφηνισμένος. Το CD20 δεν έχει ενδογενή προσδέτη (ligand), αλλά πιθανά παίζει κάποιο ρόλο στην εισροή ιόντων ασβεστίου. Τέλος, το CD20 δεν ενδοκυτταρώνεται κατά τη σύνδεση με το αντίσωμα σε αντίθεση με το CD30. Για όλα τα παραπάνω, το CD20 αποτελεί εξαιρετικό θεραπευτικό στόχο για τα B κυτταρικά non-Hodgkin λεμφώματα. (Feugier, 2015)

Μηχανισμοί δράσης

Το τμήμα Fab του rituximab συνδέεται με το αντιγόνο CD20 των B λεμφοκυττάρων και το τμήμα Fc μπορεί να επιστρατεύσει ανοσολογικούς δραστικούς μηχανισμούς με σκοπό τη λύση των B κυττάρων. Οι μηχανισμοί της διαμεσολαβούμενης κυτταρικής λύσης είναι οι ακόλουθοι:

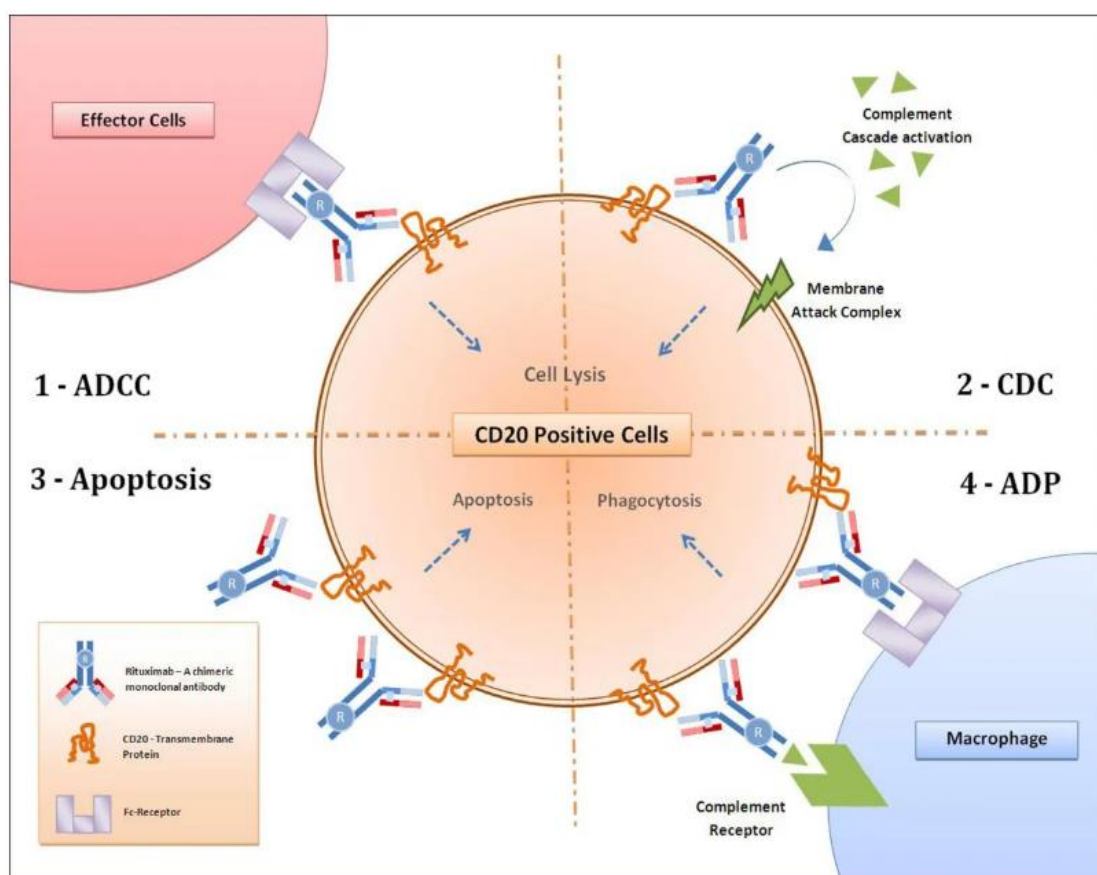
Αντισωματοεξαρτώμενη κυτταρική τοξικότητα (ADCC): Είναι ένας μηχανισμός κυτταρικής ανοσίας κατά τον οποίον ένα τελεστικό κύτταρο του ανοσοποιητικού συστήματος λύει ένα κύτταρο-στόχο, στο οποίο έχουν δεσμευτεί ειδικά αντισώματα. Πιο συγκεκριμένα, τα φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα και άλλα λευκοκύτταρα μπορούν να συνδεθούν με κύτταρα επικαλυμμένα με αντισώματα και να τα καταστρέψουν. Τα NK κύτταρα εκφράζουν έναν υποδοχέα Fc, τον FcγRIII (CD16), ο οποίος προσδένεται στα διαταγμένα IgG αντισώματα (στο τμήμα Fc) που είναι προσκολλημένα σε ένα κύτταρο. Τα φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα απελευθερώνουν το περιεχόμενο των κοκκίων τους, δηλαδή πρωτεΐνες που φονεύουν τους οψωνιοποιημένους στόχους τους.

Κυτταροτοξικότητα εξαρτημένη από συμπλήρωμα (CDC): Η CDC ξεκινά από τη δέσμευση της πρωτεΐνης C1q του συμπληρώματος στην περιοχή Fc της ανοσοσφαιρίνης. Μετά τη δέσμευσή της στο ανοσολογικό σύμπλοκο, η C1q υφίσταται αλλαγή χωροδιάταξης και το ενεργοποιημένο σύμπλοκο ξεκινά έναν ανοσολογικό καταρράκτη που οδηγεί στο

σχηματισμό του συμπλέγματος προσβολής της μεμβράνης (MAC, membrane attack complex), το οποίο εισέρχεται στην μεμβράνη του στόχου και προκαλεί ωσμωτική διάρρηξη και λύση του στόχου.

Απόπτωση: Η σύνδεση του rituximab στο αντιγόνο CD20 των Β λεμφοκυττάρων πυροδοτεί την ενεργοποίηση μιας σειράς σηματοδοτικών μονοπατιών (συμπεριλαμβάνει Src κινάσες) που μπορούν να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό των Β λεμφοκυττάρων και να προκαλέσουν απόπτωση στα κακοήθη κύτταρα. Αντίθετα, η σύνδεση με το CD20 στα φυσιολογικά κύτταρα οδηγεί σε αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μείωση της έκκρισης ανοσοσφαιρινών παρά σε απόπτωση. (Maloney et al, 2002)

Αντισωματοεξαρτώμενη φαγοκυττάρωση: Το τμήμα Fc της ριτουξιμάμπης και τα εναποτιθέμενα τμήματα (fragments) του συμπληρώματος επιτρέπουν την αναγνώριση από τους FcR υποδοχείς και τους υποδοχείς του συμπληρώματος που βρίσκονται στην επιφάνεια των μακροφάγων, με αποτέλεσμα να προκαλείται φαγοκυττάρωση. (Salles et al, 2017)



Εικόνα 19: Μηχανισμός δράσης ριτουξιμάμπης (Kasi et al, 2012)

Ενδείξεις:

- Υποτροπιάζον ή ανθεκτικό, CD20+ non-Hodgkin οζώδες λέμφωμα (ως μονοθεραπεία)
- Για τη θεραπεία οζώδους λεμφώματος σταδίου III-IV, στο οποίο δεν έχει δοθεί προηγούμενη θεραπεία σε συνδυασμό με το χημειοθεραπευτικό σχήμα CVP (κυκλοφωσφαμίδη, βινκριστίνη, πρεδνιζόνη)
- Ως θεραπεία συντήρησης για άτομα με υποτροπιάζον/ανθεκτικό οζώδες λέμφωμα που ανταποκρίθηκαν στην αρχική χημειοθεραπεία σε συνδυασμό ή χωρίς τη ριτουξιμάμπη
- Σε διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β-κύτταρα (DLBCL), στο οποίο δεν έχει δοθεί προηγούμενη θεραπεία, σε συνδυασμό με κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, βινκριστίνη και πρεδνιζόνη (CHOP) ή με κάποιο άλλο χημειοθεραπευτικό σχήμα που βασίζεται σε ανθρακυκλίνες

Προφυλάξεις

- Η θεραπεία με rituximab μπορεί να προκαλέσει πολύ σοβαρές ακόμη και θανάσιμες σχετιζόμενες με την έγχυση αντιδράσεις, όπως αγγειοοίδημα, έμφραγμα, υποξία, βρογχόσπασμο και σηπτικό σοκ. Γι' αυτό επιβάλλεται η λήψη αντισταμινικού και παρακεταμόλης πριν την έναρξη της θεραπείας.
- Οι ασθενείς με ηπατίτιδα Β δεν πρέπει να λαμβάνουν rituximab, λόγω υψηλού κινδύνου επανενεργοποίησης του ιού και ανάπτυξης οξείας ηπατίτιδας, που μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε θάνατο.
- Οι ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με rituximab ενδέχεται να εμφανίσουν πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια, η οποία χαρακτηρίζεται από απομυελίνωση του κεντρικού νευρικού συστήματος και οφείλεται στην ενεργοποίηση του ιού John Cunningham (JC). Σε περίπτωση εμφάνισης νευρολογικής τοξικότητας πρέπει να γίνουν οι κατάλληλες εξετάσεις για να διασαφηνιστεί το ενδεχομένο εμφάνισης πολυεστιακής εγκεφαλοπάθειας και να αποφασιστεί αν θα διακοπεί η θεραπεία.
- Ασθενείς με τον ιό του HIV που δεν έχουν λάβει θεραπεία παρουσιάζουν φτωχή απόκριση στη θεραπεία και αυξημένες ανεπιθύμητες ενέργειες.

Γ.2.1.1. Κλινική μελέτη σε υποτροπιάζον ή ανθεκτικό, CD20+ non-Hodgkin λέμφωμα (NHL) χαμηλής κακοήθειας

Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της ριτουξιμάμπης στο υποτροπιάζον ή ανθεκτικό, CD20+ non-Hodgkin λέμφωμα χαμηλής κακοήθειας αποδείχθηκε μέσω 3 μονοσκελών κλινικών μελετών, συμπεριλαμβανοντας 296 ασθενείς.

Μελέτη 1

Μια πολυκεντρική, ανοικτής σήμανσης, μονοσκελή μελέτη διεξήχθη σε 166 ασθενείς με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό, CD20+ NHL χαμηλής κακοήθειας, οι οποίοι έλαβαν 375 mg/m² ριτουξιμάμπης ενδοφλεβίως εβδομαδιαίως σε 4 δόσεις. Ασθενείς με μάζα όγκου μεγαλύτερη των 10 cm ή με >5000 λεμφοκύτταρα/μL στο περιφερειακό αίμα αποκλείστηκαν από την μελέτη.

Το μέσο χρονικό διάστημα ως την απόκριση ήταν 50 μέρες. Σχετιζόμενα με την ασθένεια συμπτώματα (συμπεριλαμβανομένων των Β-συμπτωμάτων) αντιμετωπίστηκαν στο 64% των ασθενών που είχαν τέτοια συμπτώματα στην αρχή της μελέτης. (McLaughlin et al, 1998)

Μελέτη 2

Σε μια πολυκεντρική, μονοσκελή μελέτη, 37 ασθενείς με ανθεκτικό ή υποτροπιάζον, μη επιθετικό, NHL έλαβαν 375mg/m² ριτουξιμάμπης εβδομαδιαίως σε 8 δόσεις. (Piro et al, 1999)

Μελέτη 3

Σε μια πολυκεντρική, μονοσκελή μελέτη 60 ασθενείς με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό, CD20+ NHL χαμηλής κακοήθειας έλαβαν 375mg/m² ριτουξιμάμπης εβδομαδιαίως σε 4 δόσεις. Όλοι οι ασθενείς είχαν λάβει τουλάχιστον 2 προηγούμενες θεραπείες, εκ των οποίων τουλάχιστον η μια περιείχε ριτουξιμάμπη, με μέσο χρονικό διάστημα 14.5 μηνών μεταξύ των θεραπευτικών αγωγών με ριτουξιμάμπη. (Davis et al, 2000)

	Μελέτη 1 Εβδομαδιαίωςx4 N=166	Μελέτη 2 Εβδομαδιαίωςx8 N=37	Μελέτη 3 Επαναληπτική Θεραπεία Εβδομαδιαίωςx4, N=60
ORR	48%	57%	38%
CR	6%	14%	10%
Μέση διάρκεια απόκρισης	11.2 (1.9-42.1)	13.4 (2.5-36.5)	15 (3-25.1)

Τα ποσοστά απόκρισης στην ριτουξιμάμπη είναι αρκετά ενθαρρυντικά, όπως φαίνεται στον πίνακα. Επίσης, η επέκταση της θεραπείας από τις 4 στις 8 εβδομαδιαίες δόσεις δε διήγειρε την ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι του χημειοθεραπευτικού μονοκλωνικού αντισώματος ούτε οδήγησε σε αύξηση της συχνότητας των λοιμώξεων συγκριτικά με το βραχύτερο θεραπευτικό σχήμα της ριτουξιμάμπης. Έτσι λοιπόν, η παρατεταμένη θεραπευτική αγωγή με ριτουξιμάμπη, που χορηγείται εβδομαδιαίως για 8 εβδομάδες, είναι μια αποτελεσματική θεραπεία για λέμφωμα non-Hodgkin με αποδεκτό προφίλ τοξικότητας.

Ωστόσο, απαιτούνται να γίνουν και άλλες μελέτες παρατεταμένης χορήγησης της ριτουξιμάμπης. (Piro et al, 1999)

Επίσης, τα αποτελέσματα της τρίτης μελέτης δείχνουν ότι οι ασθενείς μπορούν να λάβουν με ασφάλεια και αποτελεσματικότητα πολλαπλές αγωγές με ριτουξιμάμπη χωρίς ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι αυτής και χωρίς την αθροιστική μυελοκαταστολή που παρατηρείται μετά τις πολλαπλές χημειοθεραπείες. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες και τα ποσοστά απόκρισης είναι παρόμοια με αυτά της πρώτης θεραπευτικής αγωγής με ριτουξιμάμπη. (Davis et al, 2000)

Γ.2.1.2. Κλινική μελέτη σε οζώδες CD20+ B κυτταρικό NHL προχωρημένου σταδίου, χωρίς προηγούμενη θεραπευτική αγωγή συνδυαστικά με CVP

Μία από τις θεραπείες πρώτης γραμμής για το οζώδες λέμφωμα προχωρημένου σταδίου είναι το χημειοθεραπευτικό σχήμα κυκλοφωσφαμίδης, βινκριστίνης και πρεδνιζόνης (CVP). Τα ποσοστά απόκρισης σε αυτή τη θεραπεία κυμαίνονται από 60% έως 80% με μέση διάρκεια απόκρισης 2 χρόνια. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η χορήγηση ριτουξιμάμπης, συνδυαστικά με τη χημειοθεραπεία, είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στο οζώδες λέμφωμα.

Διεξήχθη τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη στην οποία 162 ασθενείς με οζώδες λέμφωμα προχωρημένου σταδίου έλαβαν CVP μαζί με ριτουξιμάμπη, ενώ 159 ασθενείς μόνο CVP. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών έλαβε τη θεραπεία εντός 6 μηνών από την πρώτη διάγνωση. Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ασθενών στα 2 γκρουπ όσον αφορά τα δημογραφικά, κλινικά ή παθολογικά χαρακτηριστικά. Οι ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε CVP έλαβαν 750mg/m² κυκλοφωσφαμίδη, 1.4 mg/m² βινκριστίνη με μέγιστη δόση 2mg ενδοφλεβίως και 40mg/m² πρεδνιζόνης καθημερινά από το στόμα για 5 συνεχόμενες μέρες (1^η μέρα-5^η μέρα). Οι ασθενείς του δεύτερου γκρουπ λάμβαναν επιπλέον 375 mg/m² ριτουξιμάμπη ενδοφλεβίως την πρώτη μέρα κάθε κύκλου. Οι ασθενείς και στα 2 γκρουπ έλαβαν θεραπεία κάθε 21 μέρες και για μέγιστο χρονικό διάστημα 8 κύκλους. Η δόση των κυτταροτοξικών φαρμάκων μειώθηκε σε περιπτώσεις που εμφανίστηκαν νευρολογικές ή αιματολογικές ανεπιθύμητες ενέργειες βαθμού 2-4 και 3-4, αντίστοιχα.

Το κύριο τελικό σημείο ήταν το χρονικό διάστημα μέχρι την αποτυχία της θεραπείας (TTF) το οποίο ορίζεται ως ο χρόνος από την τυχαιοποίηση έως ένα από τα ακόλουθα γεγονότα: επιδείνωση νόσου, υποτροπή μετά από την απόκριση, θεσμοθέτηση νέας αντιλεμφωματικής θεραπείας ή θάνατος από οποιαδήποτε αιτία.

Η θεραπεία με συνδυαστική χορήγηση ριτουξιμάμπης και χημειοθεραπείας αύξησε σημαντικά το TTF. Σε follow-up 30 μηνών το μέσο TTF ήταν 7 μήνες σε αυτούς που έλαβαν μόνο χημειοθεραπεία και 27 μήνες σε αυτούς που έλαβαν επιπλέον ριτουξιμάμπη. Επιπλέον, το μέσο χρονικό διάστημα κατά το οποίο η ασθένεια είχε εξελιφθεί μετά τη θεραπεία ήταν 21 μήνες για τα άτομα που έλαβαν μόνο χημειοθεραπεία, ενώ για τα άτομα που έλαβαν επιπλέον ριτουξιμάμπη, αυτό δεν έχει οριστεί. Το ίδιο ισχύει και για το μέσο χρονικό διάστημα για την έναρξη κάποιας άλλης θεραπείας ή μέχρι το θάνατο, το οποίο

είναι 12 μήνες για τα άτομα που έλαβαν μόνο χημειοθεραπεία, χωρίς να έχει οριστεί στο άλλο γκρουπ ασθενών. Πιο συγκεκριμένα, 114 ασθενείς από αυτούς που έλαβαν μόνο χημειοθεραπεία έλαβαν εναλλακτική θεραπεία, 32 εκ των οποίων πήραν ριτουξιμάμπη είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία. Τέλος, η προσθήκη της ριτουξιμάμπης στο χημειοθεραπευτικό σχήμα CVP σε μη προθεραπευμένους ασθενείς με οζώδες λέμφωμα προχωρημένου σταδίου οδήγησε σε αύξηση της διάρκειας απόκρισης και βελτίωσε τα ποσοστά απόκρισης και την επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου.

	CVP, n=159	R-CVP, n=162
Χρονικό διάστημα μέχρι εξέλιξη νόσου (μήνες)	15	32
Χρονικό διάστημα μέχρι αποτυχία της θεραπείας (μήνες)	7	27
Υποτροπή μετά από απόκριση	54%	37%
Πλήρη απόκριση	8%	30%
Μερική απόκριση	47%	40%
Μέσο χρονικό διάστημα απόκρισης (μήνες)	14	35

Πίνακας: Αποτελέσματα της “intention to treat” ανάλυσης των τελικών σημείων μετά από follow-up 30 μηνών

Ασφάλεια

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες που παρουσιάστηκαν στα 2 γκρουπ ασθενών ήταν συγκρίσιμες, με τις πιο κοινές να σχετίζονται με το γαστρεντερικό και το νευρικό σύστημα. Επίσης, περιελάμβαναν τοπικές αντιδράσεις στην περιοχή της χορήγησης της ριτουξιμάμπης. Η ουδετεροπενία, η κόπωση και η οσφυαλγία ήταν οι πιο κοινές σοβαρές παρενέργειες και συνέβησαν σε μεγαλύτερη συχνότητα στους ασθενείς που έλαβαν R-CVP. Επιπλέον, ήταν περισσότεροι οι ασθενείς που βίωσαν μια ανεπιθύμητη ενέργεια εντός 24 ωρών από την έγχυση στο γκρουπ R-CVP από ότι στο γκρουπ CVP. Επομένως, η θεραπεία με τη ριτουξιμάμπη και το χημειοθεραπευτικό σχήμα CVP ήταν καλά ανεκτό και δεν προκάλεσε επιπρόσθετες παρενέργειες με εξαίρεση κάποιες ήπιες αντιδράσεις στο σημείο της έγχυσης μετά τη χορήγηση της ριτουξιμάμπης και μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης ουδετεροπενίας βαθμού 3 και 4 χωρίς να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος για λοίμωξη.

Συνεπώς, η προσθήκη της ριτουξιμάμπης στο χημειοθεραπευτικό σχήμα CVP έδειξε σημαντικές βελτιώσεις σε όλες τις κλινικές παραμέτρους με ελάχιστες επιπλέον παρενέργειες. Γι' αυτό, το R-CVP αποτελεί πλέον ιδιαίτερα αποτελεσματικό θεραπευτικό σχήμα με καλό προφίλ τοξικότητας για τη θεραπεία των μη προθεραπευμένων ασθενών με οζώδες λέμφωμα. (Marcus et al, 2005)

Γ.2.1.3. Κλινική μελέτη σε ασθενείς με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό οζώδες Β κυτταρικό NHL που είχαν λάβει χημειοθεραπεία ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με ριτουξιμάμπη (φάση συντήρησης)

Μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη διεξήχθη σε 1018 ασθενείς με οζώδες Β κυτταρικό NHL, στους οποίους είχε δοθεί ριτουξιμάμπη σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία ως θεραπεία πρώτης γραμμής στην οποία είχαν ανταποκριθεί μερικώς ή πλήρως. Αυτοί ξεκίνησαν να λαμβάνουν ριτουξιμάμπη ως μονοθεραπεία συντήρησης, 8 εβδομάδες αφότου ολοκλήρωσαν τη χημειοθεραπεία. Το δοσολογικό σχήμα ήταν 375 mg/m² κάθε 8 εβδομάδες και για μέγιστο χρονικό διάστημα 12 δόσεων. Το κύριο αποτέλεσμα που αξιολογήθηκε ήταν ο χρόνος επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου, ο οποίος ορίζεται από τη στιγμή της λήψης της ριτουξιμάμπης μέχρι εξέλιξης ή υποτροπής της νόσου ή μέχρι θανάτου, όπως κρίθηκε από την ανεξάρτητη αρχή επιθεώρησης (IRF).

Αυτή η διετής θεραπεία συντήρησης με ριτουξιμάμπη παρέτεινε το χρόνο επιβίωσης χωρίς επιδείνωση της νόσου όπως και την έναρξη περαιτέρω αντιλεμφωματικής θεραπείας και βελτιώνει την ποιότητα της απόκρισης σε ασθενείς με ανθεκτικό η υποτροπιάζον λέμφωμα που είχε αποκριθεί στη ανοσοχημειοθεραπεία πρώτης γραμμής. Επίσης, η μείωση του ρυθμού εξέλιξης του λεμφώματος στο γκρουπ που έλαβε ριτουξιμάμπη ως θεραπεία συντήρησης ήταν σημαντική σε σχέση με το άλλο γκρουπ και παρατηρήθηκε μείωση του κινδύνου επανεμφάνισης της νόσου ανεξάρτητα από την αρχική θεραπεία. Τέλος, ο αριθμός των ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν περιορισμένος. (Salles et al, 2011)

Γ.2.1.4. Κλινική μελέτη σε διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β-κύτταρα (DLBCL)

Η θεραπεία πρώτης γραμμής για το διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β-κύτταρα ήταν μέχρι πρότινος το χημειοθεραπευτικό σχήμα CHOP (κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, βινκριστίνη και πρεδνιζόνη). Η κλινική μελέτη, που περιγράφεται παρακάτω, πραγματοποιήθηκε με στόχο να συγκριθεί η αποτελεσματικότητα της CHOP χημειοθεραπείας με την ανοσοχημειοθεραπεία R-CHOP. (Coiffier et al, 2002)

Πραγματοποιήθηκε τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη σε 399 μη προθεραπευμένους ασθενείς με διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β-κύτταρα (DLBCL), εκ των οποίων οι 197 ασθενείς έλαβαν CHOP, ενώ οι 202 έλαβαν R-CHOP. Το δοσολογικό σχήμα ήταν το εξής: 750mg/m² κυκλοφωσφαμίδης, 50 mg/m² δοξορουβικίνης, 1.4 mg/m² βινκριστίνης με μέγιστη δόση 2mg (μέρα 1) και 40 mg/m² πρεδνιζόνης για 5 συνεχόμενες μέρες (μέρα 1-5). Ο κάθε κύκλος είχε διάρκεια 21 ημέρες. Το δεύτερο γκρουπ των ασθενών έλαβε και ριτουξιμάμπη δόσης 375 mg/m² την πρώτη μέρα κάθε κύκλου. Το μέγιστο χρονικό διάστημα της θεραπείας ήταν 8 κύκλοι. (Coiffier et al, 2002)

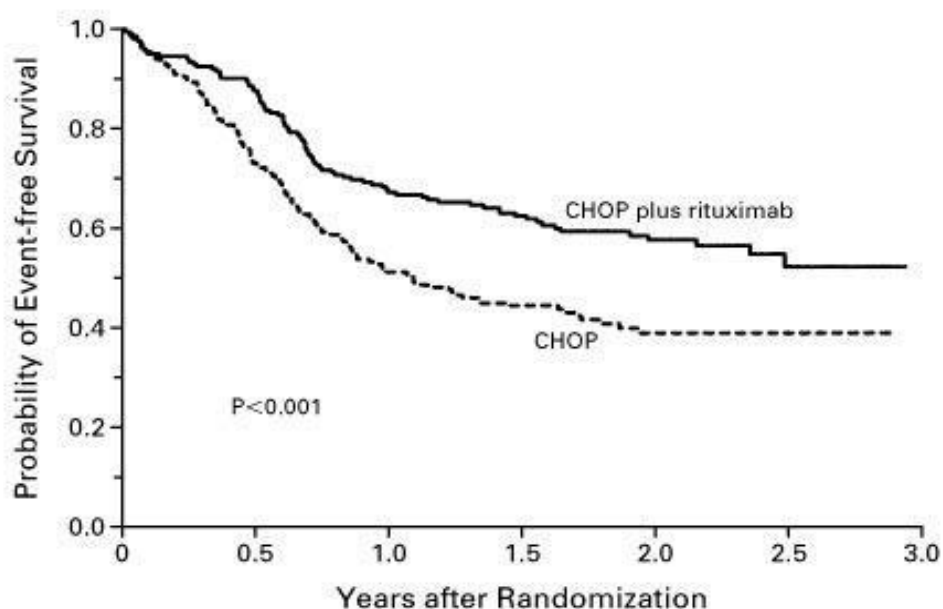
Αποτελέσματα

Ο χρόνος επιβίωσης των ασθενών χωρίς παράλληλη εξέλιξη της νόσου ήταν σημαντικά μεγαλύτερος για τους ασθενείς που έλαβαν επιπλέον ριτουξιμάμπη. Επίσης, το θεραπευτικό σχήμα που περιέχει ριτουξιμάμπη αύξησε το ποσοστό απόκρισης στη

θεραπεία και μείωσε τον κίνδυνο υποτροπής της νόσου συγκριτικά με το χημειοθεραπευτικό σχήμα CHOP χωρίς να αυξάνει το προφίλ των ανεπιθύμητων ενεργειών.

Ασφάλεια

Το προφίλ των ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν παρόμοιο στα 2 γκρουπ. Οι πιο κοινές παρενέργειες ήταν πυρετός, λοιμώξεις, ηπατοτοξικότητα, ναυτία, αλωπεκία, δυσκοιλιότητα, καρδιοτοξικότητα και νευροτοξικότητα. Μόνο στα περιστατικά που αφορούν την καρδιοτοξικότητα, η συχνότητά τους ήταν μεγαλύτερη στο γκρουπ που λάμβανε ριτουξιμάμπη, αλλά ήταν βαθμού 1. Τα περιστατικά καρδιοτοξικότητας βαθμού 3 και 4 ήταν αντίστοιχα και στα 2 γκρουπ.



No. AT RISK						
CHOP plus rituximab	202	177	137	108	63	19
CHOP	197	144	101	72	42	17

Εικόνα 20: Επιβίωση χωρίς ανεπιθύμητα περιστατικά μεταξύ 399 ασθενών που έλαβαν χημειοθεραπεία (κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, βινκριστίνη και πρεδνιζόνη) ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με ριτουξιμάμπη

Τα αποτελέσματα ενός follow up 10 χρόνων από την παραπάνω κλινική μελέτη επιβεβαιώνουν τα οφέλη της προσθήκης της ριτουξιμάμπης στο χημειοθεραπευτικό σχήμα CHOP για την θεραπεία των ασθενών με DLBCL. Με λίγα λόγια, η προσθήκη της ριτουξιμάμπης βελτίωσε τα ποσοστά της επιβίωσης χωρίς επιδείνωση της νόσου και της

συνολικής επιβίωσης. Αυτή η βελτίωση είναι ακόμη μεγαλύτερη σε ασθενείς που είχαν παρουσιάσει πλήρη απόκριση στο τέλος της θεραπείας. (Coiffier et al, 2010)

Γ.2.2.Obinutuzumab

Έγιναν προσπάθειες να δημιουργηθούν νέα μόρια με μεγαλύτερη δραστικότητα από τη ριτουξιμάμπη. Έτσι, προέκυψε το obinutuzumab, ένα ανθρωποποιημένο, γλυκοζυλιωμένο anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα. Η διαδικασία της μετα-μεταφραστικής τροποποίησης (γλυκοζυλίωση) που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή αυτού του μορίου είχε ως στόχο την αύξηση της συγγένειας πρόσδεσης στον υποδοχέα FcγRIII των κυττάρων-τελεστών του ανοσοποιητικού συστήματος. Λόγω της διαφοροποιημένης του δομής, η obinutuzumab παρουσιάζει αυξημένη δραστικότητα, επάγοντας τον άμεσο κυτταρικό θάνατο (non-apoptotic immunogenic cell death) και την αντισωματοεξαρτώμενη κυτταροτοξικότητα (ADCC), αλλά παρουσιάζει μειωμένη κυτταροτοξικότητα εξαρτημένη από το συμπλήρωμα (CDC). (Dhillon, 2017) Πιο συγκεκριμένα, το obinutuzumab συνδέεται στο CD20, στην ίδια περιοχή που συνδέεται και η ριτουξιμάμπη αλλά με διαφορετικό τρόπο. Με λίγα λόγια, η obinutuzumab συνδέεται σε ένα τετραμερές CD20 και με τα 2 Fab άκρα του, κάτι το οποίο η δομή της ριτουξιμάμπης δεν το επιτρέπει. Αυτό οφείλεται στη γλυκοζυλίωση της obinutuzumab, η οποία επιτρέπει την αύξηση της συγγένειας με τους FcγRIIIa υποδοχείς και την αύξηση της αντισωματοεξαρτώμενης κυτταροτοξικότητας. Επιπλέον, αυτή η αύξηση της συγγένειας μεταξύ των μη γλυκοζυλιωμένων αντισωμάτων και των FcγRIIIa οδηγεί σε αύξηση της ενεργοποίησης των σηματοδοτικών μορίων προωθώντας την αναδιάταξη του κυτταροσκελετού και την αποκοκκίωση και βελτιώνει τη κυτταροτοξική δράση των φυσικών κυτταροκτόνων κυττάρων. (Ma B and Ujjani C, 2017)

Το obinutuzumab ενδείκνυται για τη θεραπεία ασθενών με οζώδες λέμφωμα (FL), το οποίο έχει υποτροπιάσει ή είναι ανθεκτικό σε θεραπευτικό σχήμα που περιέχει ριτουξιμάμπη. Δίνεται σε συνδυασμό με βενδαμουστίνη και έπειτα ακολουθεί μονοθεραπεία με obinutuzumab.

Γ.2.2.1. Κλινική μελέτη σε οζώδες λέμφωμα ανθεκτικό στη ριτουξιμάμπη (GADOLIN)

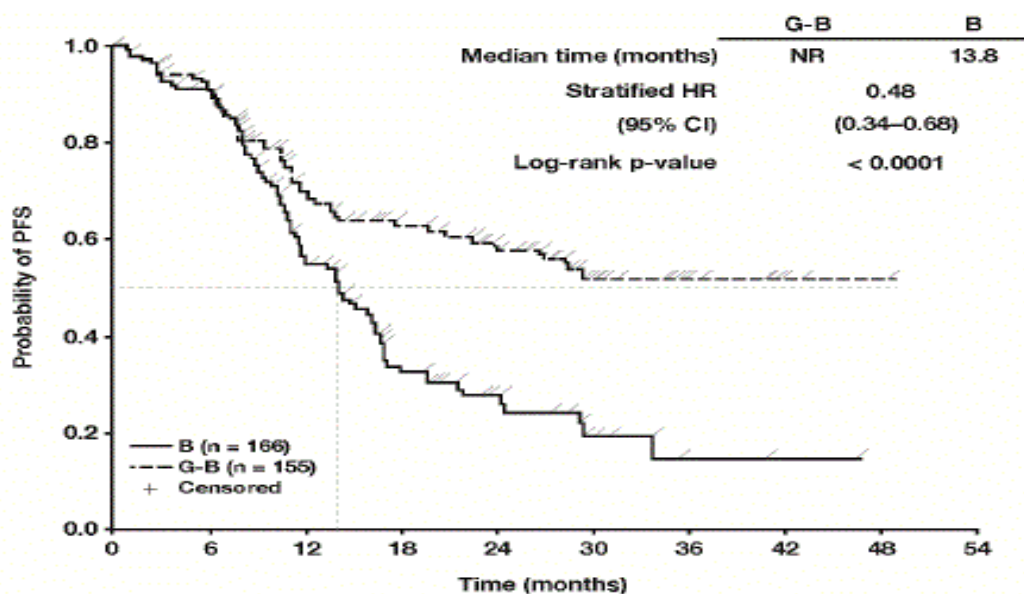
Πραγματοποιήθηκε τυχαιοποιημένη, ανοικτής σήμανσης, πολυκεντρική κλινική μελέτη φάσης 3 που περιελάμβανε 396 ασθενείς άνω των 18 ετών με οζώδες λέμφωμα που είναι ανθεκτικό στη ριτουξιμάμπη (είτε καμία απόκριση στη ριτουξιμάμπη είτε υποτροπή μέσα σε 6 μήνες από τη χορήγηση θεραπευτικού σχήματος με ριτουξιμάμπη). Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 γκρουπ, εκ των οποίων το ένα λάμβανε obinutuzumab σε συνδυασμό με βενδαμουστίνη, ενώ το άλλο λάμβανε μόνο βενδαμουστίνη. Το δοσολογικό σχήμα στο πρώτο γκρουπ (194 ασθενείς) ήταν το εξής: 1000 mg obinutuzumab την 1^η, 8^η και 15^η μέρα του 1^{ου} κύκλου και έπειτα την πρώτη μέρα κάθε κύκλου (28 ημερών) και 90 mg/m²

βενδαμουστίνη την 1^η και 2^η μέρα κάθε κύκλου για 6 κύκλους συνολικά (induction phase). Στη συνέχεια και εφόσον δεν υπήρχε καμία απόδειξη επιδείνωσης της νόσου, δόθηκε μόνο obinutuzumab (1000mg) κάθε 2 μήνες μέχρι να σημειωθεί εξέλιξη της νόσου έως 2 χρόνια. (maintenance phase) Το δεύτερο γκρουπ (202 ασθενείς) λάμβανε 120 mg/m² βενδαμουστίνη την 1^η και τη 2^η μέρα κάθε κύκλου για 6 συνολικά κύκλους (28 ημερών). Αυτό το γκρουπ δε συμπεριέλαβε φάση συντήρησης εξαιτίας της αθροιστικής τοξικότητας της βενδαμουστίνης που περιορίζει τη διάρκεια της θεραπείας.

Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

	Obinutuzumab+bendamustine (n=194)	Μονοθεραπεία με bendamustine (n=202)
Επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS)	Μη προσδιοριζόμενο	13.8 μήνες
Καλύτερη συνολική απόκριση	79%	77%
Πλήρης απόκριση (CR)*	11%	12%
Μερική απόκριση (PR)*	58%	51%
Μέση διάρκεια του χρονικού διαστήματος απόκρισης (μήνες)	Μη προσδιοριζόμενο	13.2 μήνες

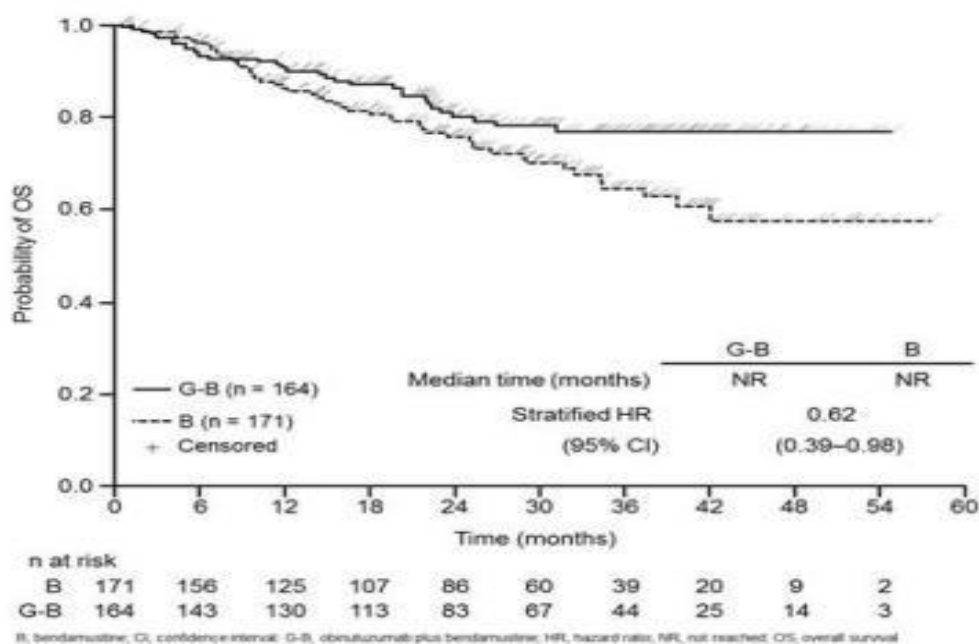
*Η πλήρης και η μερική απόκριση αναφέρονται στην απόκριση μετά το τέλος του αρχικού σταδίου της θεραπείας. (end of induction treatment response)



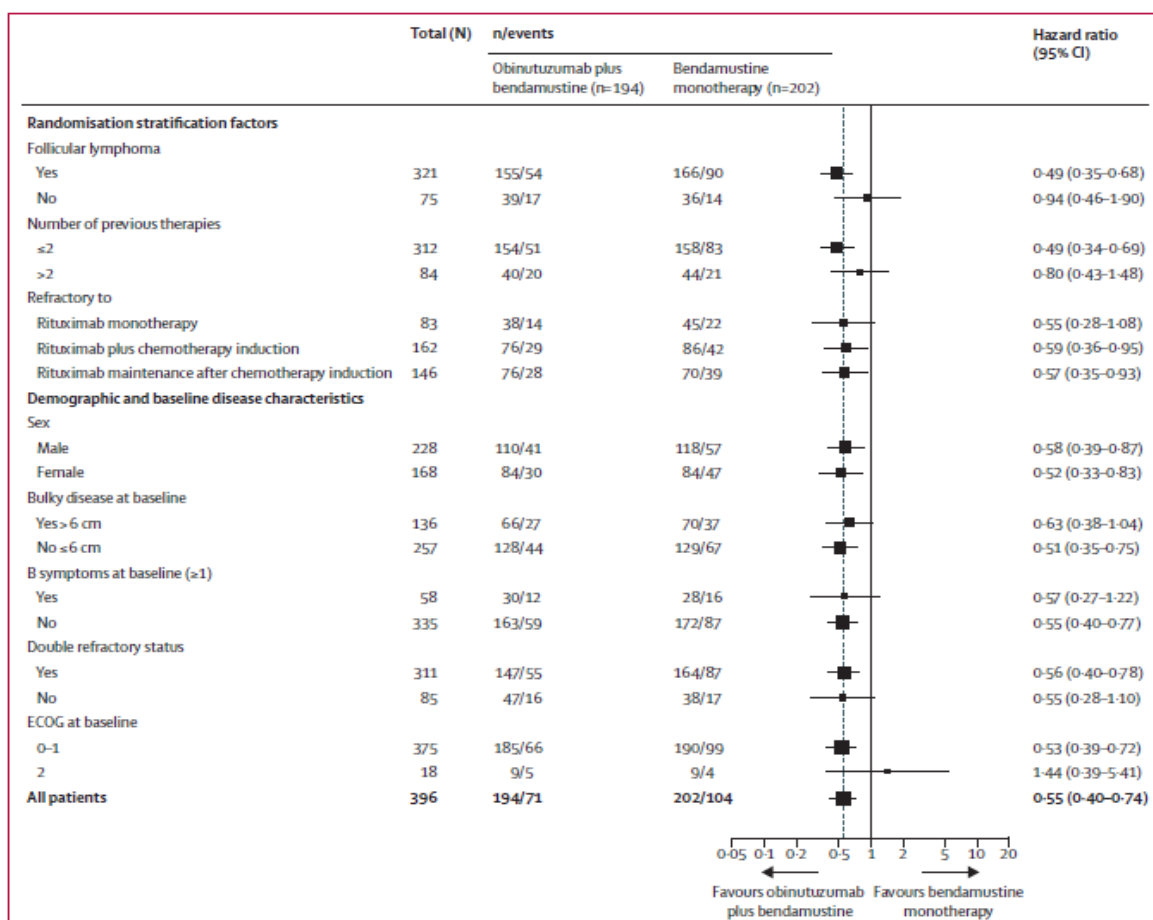
n at risk									
B	166	122	66	29	17	7	2	1	
G-B	155	120	79	61	38	20	6	2	1

B, bendamustine; CI, confidence interval; G-B, obinutuzumab plus bendamustine; HR, hazard ratio; NR, not reached; PFS, progression-free survival

Εικόνα 21: Καμπύλη Kaplan-Meier της επιβίωσης χωρίς εξέλιξης της νόσου σε ασθενείς με οζώδες λέμφωμα (Sehn et al, 2015)



Εικόνα 22: Καμπύλη Kaplan-Meier της συνολικής επιβίωσης σε ασθενείς με οζώδες λέμφωμα (Sehn et al, 2015)



Εικόνα 23: Επιβίωση χωρίς επιδείνωση νόσου σε υποομάδες των ασθενών (intention-to-treat πληθυσμός) (Sehn et al, 2016)

Ασφάλεια

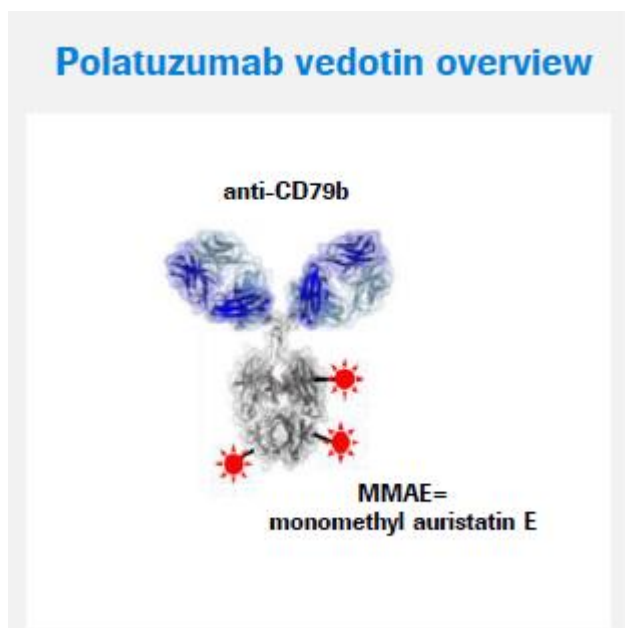
Το ποσοστό των ανεπιθύμητων ενεργειών που παρουσιάστηκε στα 2 γκρουπ ήταν παρόμοιο, αλλά η διάρκεια τους ήταν μεγαλύτερη στο γκρουπ που έλαβε obinutuzumab. Οι πιο σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν η εμπύρετη ουδετεροπενία, σχετιζόμενες με την έγχυση ανεπιθύμητες ενέργειες και η πνευμονία.

Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι οι ασθενείς που έλαβαν obinutuzumab συνδυαστικά με βενδαμουστίνη εμφάνισαν σημαντική βελτίωση στην επιβίωση χωρίς επιδείνωση της νόσου και με ένα σχετικά καλό προφίλ τοξικότητας συγκριτικά με την μονοθεραπεία με βενδαμουστίνη. Ωστόσο, δεν υπήρξαν εμφανείς διαφορές στη συνολική απόκριση και στην πλήρη απόκριση μεταξύ των 2 γκρουπ. Ένα άλλο θετικό, όμως, χαρακτηριστικό της συνδυαστικής θεραπείας ήταν ότι οι ασθενείς έλαβαν συνολικά μικρότερη ποσότητα βενδαμουστίνης συγκριτικά με το γκρουπ μονοθεραπείας. (Sehn et al, 2015)

Γ.2.3. Polatuzumab

Η polatuzumab ανήκει στην κατηγορία των αντισωμάτων που είναι συζευγμένα με φάρμακο. Πρόκειται για ένα αντίσωμα που στοχεύει στο CD79b, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που εκφράζεται στην επιφάνεια των B-κυττάρων και είναι έτσι σχεδιασμένο, ώστε να προσδένεται συγκεκριμένα στο CD79b που εκφράζεται στα καρκινικά B κύτταρα. Το CD79b αποτελεί μέρος του συμπλέγματος του υποδοχέα των B κυττάρων (BCR). Το CD79b, μαζί με το CD79a, απαιτούνται για την έναρξη της μεταγωγής του σήματος από την ενεργοποίηση του BCR. Αποτελεί εξαιρετικό στόχο, καθώς εκφράζεται στην επιφάνεια των B λεμφοκυττάρων των περισσότερων λεμφωμάτων non-Hodgkin. Η μεγάλη μείωση του αριθμού των B λεμφοκυττάρων δεν αποτελεί πρόβλημα μείζονος σημασία όπως είδαμε στην περίπτωση της ριτουξιμάμπης. Το polatuzumab είναι συζευγμένο με τον αντιμιτωτικό παράγοντα, MMAE, μέσω ενός διασπώμενου από πρωτεάση συνδέτη. (Ducry and Stump, 2010) Η MMAE είναι τόσο τοξική που δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνη της. Μετά τη σύνδεσή του στο CD79b, το polatuzumab εισέρχεται στα B κύτταρα και ο συνδέτης αποκόπτεται από λυσοσωμικές πρωτεάσες, ώστε να είναι δυνατή η ενδοκυτταρική μεταφορά του MMAE. Το MMAE συνδέεται σε μικροσωληνίσκους και εξουδετερώνει τα κύτταρα, αναστέλλοντας την κυτταρική διαίρεση και επάγοντας την απόπτωση, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως. (Deeks, 2019)

Το polatuzumab ενδείκνυται για τη θεραπεία ενήλικων ασθενών με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα B κύτταρα (DLBCL) μετά από τουλάχιστον 2 προηγούμενες θεραπείες.



Εικόνα 24: Δομή polatuzumab vedotin (American Society of Hematology's 60 th Annual Meeting Roche Analyst Audio Webcast, 2018)

Γ.2.3.1. Κλινική μελέτη σε υποτροπιάζον ή ανθεκτικό διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (DLBCL), NCT02257567

Η έγκρισή του βασίστηκε στα αποτελέσματα από την μελέτη GO29365 φάσης II. Πρόκειται για μια ανοιχτή, τυχαιοποιημένη, πολυκεντρική μελέτη που συμπεριέλαβε 80 ασθενείς με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (DLBCL), οι οποίοι είχαν λάβει τουλάχιστον 2 προηγούμενες θεραπείες. Κύριος στόχος της μελέτης ήταν να καθοριστεί αν η προσθήκη του polatuzumab vedotin στο ήδη υπάρχον θεραπευτικό σχήμα της ριτουξιμάμπης και της βενδαμουστίνης βελτιώνει το ποσοστό της πλήρους απόκρισης συγκρινόμενο με θεραπεία με ριτουξιμάμπη και βενδαμουστίνη για 6 κύκλους, 21 ημερών ο έκαστος. Έτσι λοιπόν, οι 80 ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 ομάδες 40 ατόμων, όπου στην μια ομάδα δόθηκε polatuzumab σε συνδυασμό με ριτουξιμάμπη και βενδαμουστίνη, ενώ στην άλλη δόθηκε μόνο ριτουξιμάμπη και βενδαμουστίνη.

Αρχικά, δόθηκε προφυλακτική θεραπεία με ένα αντιισταμινικό και ένα αντιπυρετικό τη 2^η μέρα του 1^{ου} κύκλου καθώς και την 1^η μέρα των υπόλοιπων κύκλων (2-6). 1.8 mg/kg polatuzumab χορηγήθηκαν με ενδοφλέβια έγχυση για τουλάχιστον πάνω από 30 λεπτά. 90 mg/m² βενδαμουστίνη χορηγήθηκε ενδοφλεβίως τη 2^η και τη 3^η μέρα του 1^{ου} κύκλου και την 1^η και 2^η μέρα των υπόλοιπων κύκλων. Επιπλέον, ριτουξιμάμπη χορηγήθηκε σε μία δόση 375 mg/m² ενδοφλεβίως την 1^η μέρα των κύκλων 1-6.

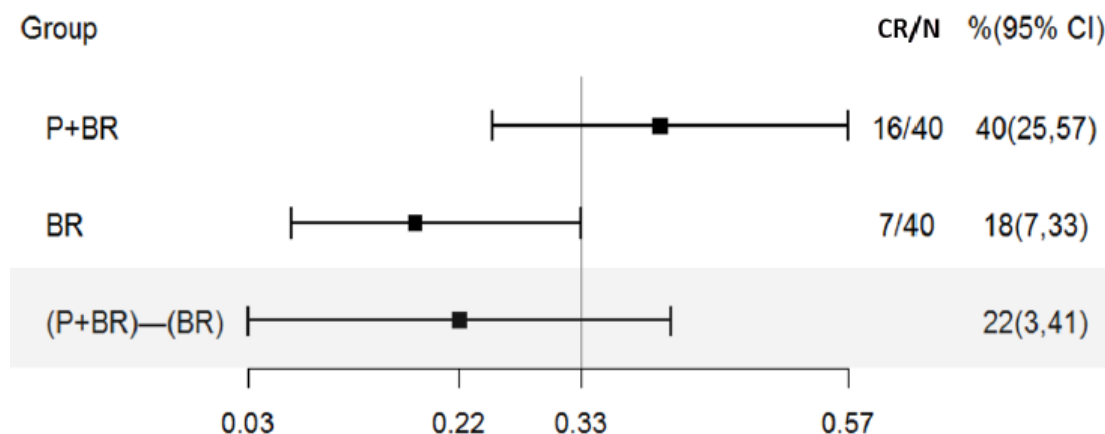
Η αξιολόγηση της απόκρισης βασίστηκε στην αξονική τομογραφία και στην τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων, οι οποίες έγιναν σε 3 διαφορετικά χρονικά σημεία, δηλαδή στο screening, στην αξιολόγηση της απόκρισης μετά τον 3^ο κύκλο της υπό εξέταση θεραπείας και έπειτα κατά την κύρια αξιολόγηση απόκρισης (6-8 εβδομάδες μετά την 1^η μέρα του 6^{ου} κύκλου ή μετά την τελευταία δόση). (Sehn et al, 2018)

Αποτελέσματα

Το ποσοστό της πλήρους απόκρισης κατά την κύρια αξιολόγηση απόκρισης (6-8 εβδομάδες μετά την πρώτη μέρα του 6^{ου} κύκλου ή μετά την τελευταία δόση) ήταν 40% για το γκρουπ που έλαβε επιπλέον polatuzumab, ενώ στο γκρουπ που έλαβε μόνο ριτουξιμάμπη και βενδαμουστίνη ήταν 18%.

Απόκριση σύμφωνα με IRC n(%)	Polatuzumab+BR (N=40)	BR (N=40)
Απόκριση κατά την αξιολόγηση της κύριας απόκρισης		
OR: n(%)	18 (45)	7 (18)
CR n(%)	16 (40)	7(18)
PR n(%)	2 (5)	0 (0)
PD n(%)	13 (32)	24 (60)
SD n(%)	2 (5)	1 (2)
NE n(%)	7 (18)	8 (20)
Καλύτερη συνολική απόκριση		
OR: n(%)	25 (62)	10 (25)
CR: n(%)	20 (50)	9 (22)
PR n(%)	5 (12)	1 (2)
PD n(%)	8 (20)	19 (48)
SD n(%)	3 (8)	8 (20)
NE n(%)	4 (10)	3 (8)

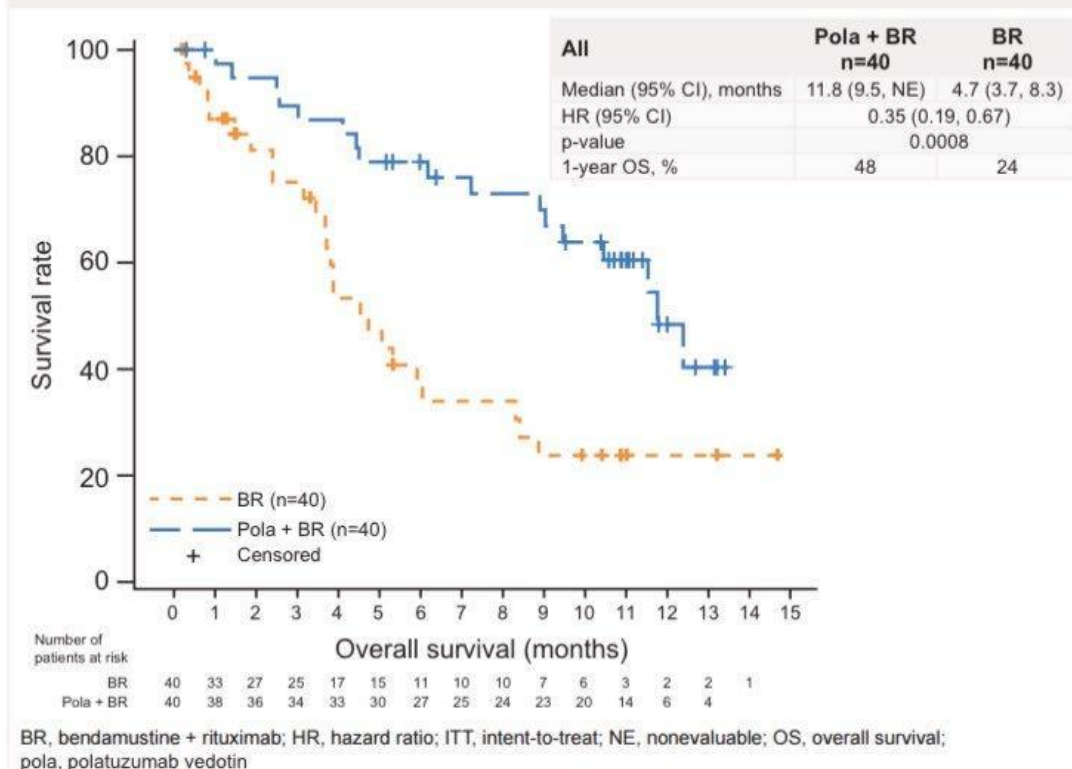
*OR: συνολική απόκριση, CR: πλήρης απόκριση, PR: μερική απόκριση, PD: εξελισσόμενη νόσος, SD: σταθερή νόσος, NE: μη-υπολογιζόμενο, BR: βενδαμουστίνη-ριτουξιμάμπη



(P+BR) - (BR) = difference in complete response rates

Εικόνα 25: Ποσοστό πλήρους απόκρισης σε ασθενείς με DLBCL (Sehn et al, 2018)

Από τους ασθενείς που έλαβαν polatuzumab, ριτουξιμάμπη και βενδαμουστίνη και παρουσίασαν πλήρη ή μερική απόκριση στη θεραπεία, η διάρκεια της απόκρισης ήταν τουλάχιστον 6 μήνες στους 16 από αυτούς, ενώ σε 12 ήταν τουλάχιστον 12 μήνες. Στο άλλο γκρουπ των ασθενών, από τους 10 ασθενείς που παρουσίασαν πλήρη ή μερική απόκριση, η απόκριση διήρκεσε τουλάχιστον 6 μήνες στους 3 από αυτούς, ενώ σε άλλους 2 διήρκεσε τουλάχιστον 12 μήνες.

Figure 3: Overall survival, ITT patients**Εικόνα 26:** Διάγραμμα συνολικής επιβίωσης (intention to treat analysis) (Sehn et al, 2018)Ανεπιθύμητες ενέργειες

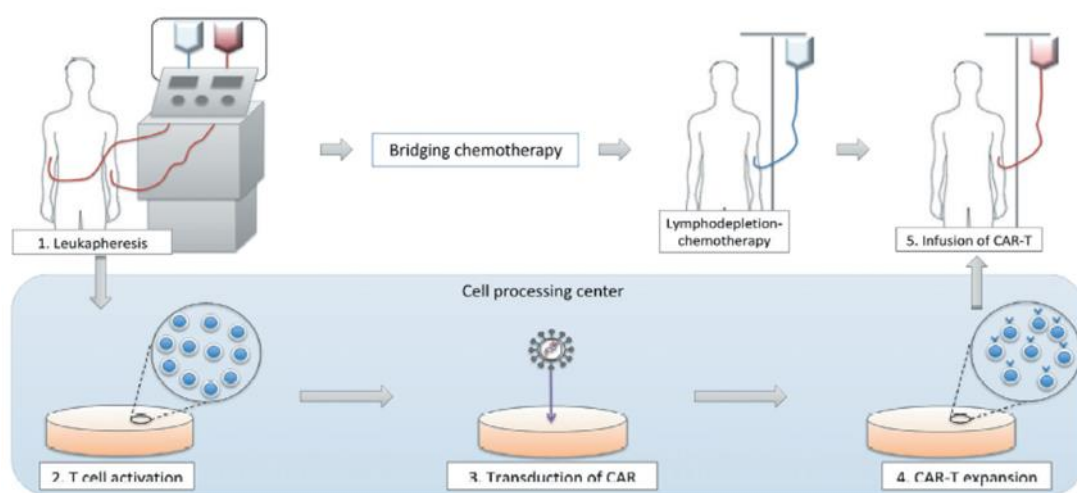
Στους ασθενείς που έλαβαν και polatuzumab, οι ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατηρήθηκαν σε ποσοστό μεγαλύτερο του 20% των ασθενών συμπεριλάμβαναν ουδετεροπενία, θρομβοπενία, αναιμία, περιφερική νευροπάθεια, κόπωση, διάρροια, μειωμένη όρεξη, πυρετός και πνευμονία. Αξίζει να σημειωθεί ότι το 20% των ασθενών που έλαβαν επιπλέον polatuzumab ανέπτυξαν ουδετεροπενία και θρομβοπενία βαθμού 3 ή 4 και ποσοστό λίγο μεγαλύτερο του 10% ανέπτυξε ουδετεροπενία βαθμού 4 ή θρομβοπενία βαθμού 4.

Συμπερασματικά, σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μελέτη ο συνδυασμός του polatuzumab (1.8 mg/kg) που χορηγείται κάθε 21 μέρες για 6 κύκλους μαζί με τη βενδαμουστίνη και τη ριτουξιμάμπη έχει σημαντικό όφελος στη θεραπεία των ασθενών με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό DLBCL.

Γ.2.4. Θεραπεία με T λεμφοκύτταρα που φέρουν χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα (CAR)

Η θεραπεία με T λεμφοκύτταρα που φέρουν χιμαιρικό υποδοχέα αντιγόνου περιλαμβάνει γενετική τροποποίηση των αυτόλογων T κυττάρων του ασθενή ώστε να εκφράζει έναν υποδοχέα που προσδένεται σε ένα ορισμένο καρκινικό αντιγόνο και την μετέπειτα *ex vivo* έκπτυξή τους (*expansion*) και επανέγχυσή τους στον ασθενή. Πιο συγκεκριμένα, λαμβάνεται φλεβικό αίμα από τον ασθενή και μεταφέρεται σε μηχανήμα λευκαφαίρεσης όπου συλλέγονται τα περιφερικά μονοπύρνα κύτταρα. Τα CD3⁺ T κύτταρα διαχωρίζονται από τα υπόλοιπα και ενεργοποιούνται με τη βοήθεια ενός anti-CD3 αντισώματος παρουσία IL-2. Αυτή η διαδικασία λαμβάνει χώρα μόνο σε πιστοποιημένα από τις αρμόδιες Αρχές Κέντρα Υγείας.

Τα γονίδια που κωδικοποιούν το χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα (CAR) μεταφέρονται στα T κύτταρα με τη βοήθεια των τεχνικών του γενετικού ανασυνδυασμού με τη χρήση ιικών φορέων (ρετροϊών). Οι φορείς λεντι-ιών παρέχουν πιο ασφαλή γονιδιωματική ενσωμάτωση από ότι οι γάμμα-ρετροϊοί. Η γονιδιακή ενσωμάτωση μπορεί να γίνει και με άλλους τρόπους όπως το σύστημα των τρικοζονίων, που μεσολαβείται με τη βοήθεια 2 πλασμιδίων. Έπειτα, γίνεται έκπτυξη των T λεμφοκυττάρων, ώστε να αυξηθεί ο αριθμός τους. Συνολικά, αυτή η διαδικασία κατασκευής διαρκεί περίπου 2 εβδομάδες. Γι' αυτό, στις περισσότερες περιπτώσεις δίνεται χημειοθεραπεία (*bridging chemotherapy*) κατά το διάστημα αυτό, ώστε να αποφευχθεί η γρήγορη εξέλιξη της νόσου και να διατηρηθεί η γενική κατάσταση του ασθενούς κατά την περίοδο σύνθεσης του CAR T προϊόντος. (Oldham and Bedin, 2017)



Εικόνα 27: Διάγραμμα της CAR T κυτταρικής θεραπείας (Makita et al, 2019)

Πριν την έγχυση των CAR T κυττάρων, απαιτείται χημειοθεραπεία με στόχο την εξάντληση των λεμφοκυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, μειώνεται ο αριθμός των T κυττάρων *in vivo*, συμπεριλαμβανομένων των ρυθμιστικών T κυττάρων με αποτέλεσμα να αυξάνεται η έκκριση των κυτοκινών, όπως της IL-7 και της IL-15. Αυτές οι κυτοκίνες συνεισφέρουν στην περαιτέρω έκπτυξη (*expansion*) των T κυττάρων και βελτιώνουν την αντικαρκινική

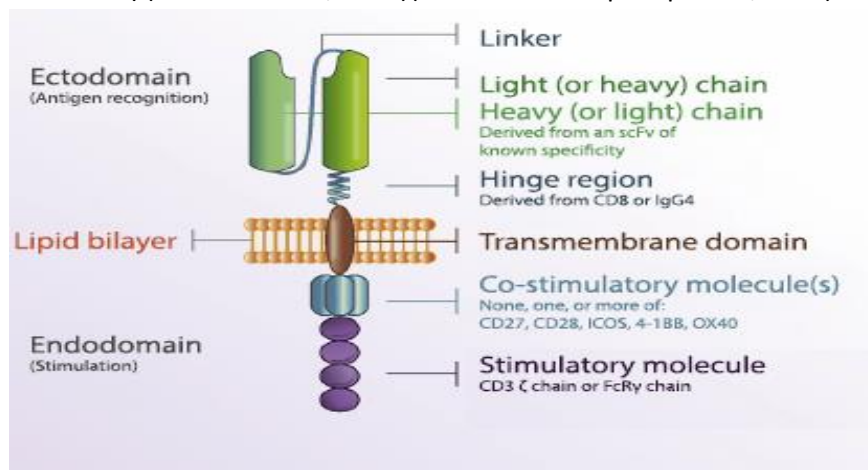
δραστηριότητα των CAR T κυττάρων. Χημειοθεραπευτικά σχήματα που έχουν χρησιμοποιηθεί για την εξάντληση των λεμφοκυττάρων συμπεριλαμβάνουν φλουδαραβίνη και κυκλοφωσφαμίδη, κυκλοφωσφαμίδη και ετοποσίδη, κυκλοφωσφαμίδη ή βενταμουσίνη. Το προτιμότερο, ωστόσο, χημειοθεραπευτικό σχήμα που χρησιμοποιείται στις κλινικές μελέτες των CAR T κυττάρων είναι αυτό που περιλαμβάνει φλουδαραβίνη. (Makita et al, 2019)

Το αντιγόνο το οποίο αναγνωρίζουν οι μέχρι σήμερα δύο εγκεκριμένες CAR-T θεραπείες για την αντιμετώπιση των λεμφωμάτων non-Hodgkin είναι το CD19. Το CD19 αποτελεί μέρος ενός συμπλόκου στην επιφάνεια των ώριμων B κυττάρων, μαζί με το CD21, το CD81 και το CD225 και έχει καθοριστικό ρόλο στην μεταβίβαση του σήματος για την ενεργοποίηση των B λεμφοκυττάρων. Αποτελεί εξαιρετικό θεραπευτικό στόχο, καθώς εκφράζεται σε υψηλό βαθμό σε B κυτταρικά λεμφώματα και η έκφρασή του περιορίζεται σε B κυτταρική σειρά σε υγιή ιστό. Συνεπώς, η απλασία των B λεμφοκυττάρων είναι μια συχνή ανεπιθύμητη ενέργεια της έγχυσης CAR-T λεμφοκυττάρων. Ωστόσο, αυτή η παρενέργεια μπορεί να αντιμετωπιστεί επαρκώς με ενδοφλέβια έγχυση ανοσοσφαιρίνης μηνιαίως. (Subklewe et al, 2019) (Makita et al, 2019)

Ένας χμιαϊκός υποδοχέας αντιγόνου (CAR) αποτελείται από τα εξής τμήματα:

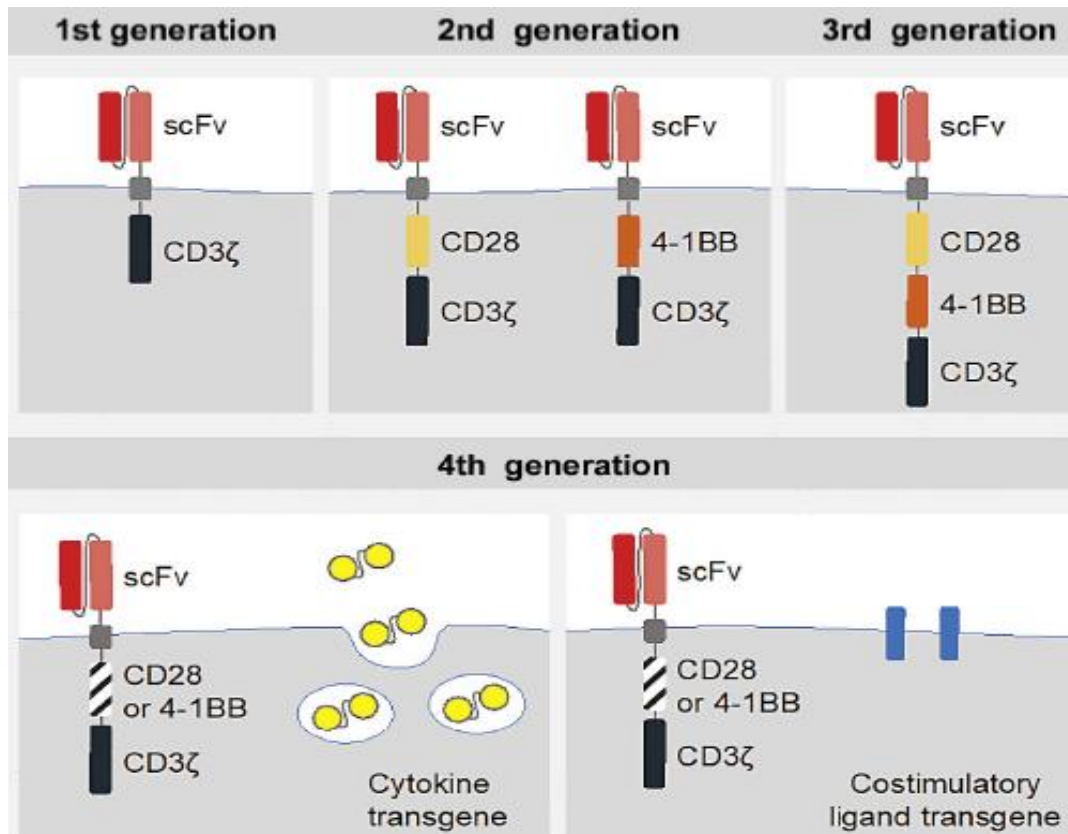
- Την περιοχή αναγνώρισης του αντιγόνου (antigen binding domain), που είναι συνήθως ένα scFv (single-chain variable fragment), το οποίο αναγνωρίζει τα σχετιζόμενα με τον όγκο αντιγόνα, που εκφράζονται στην επιφάνεια του όγκου, όπως το CD19.
- Την περιοχή άρθρωσης (hinge region), που προέρχεται συνήθως από μόρια IgG4 ανοσοσφαιρίνης ή από το CD8. Αυτό συνδέει την περιοχή αναγνώρισης αντιγόνου με το διαμεμβρανικό τμήμα.
- Το διαμεμβρανικό τμήμα συνδέει το εξωκυττάριο με το ενδοκυττάριο τμήμα του υποδοχέα και αποτελείται συνήθως από CD8 ή CD28 μόρια.
- Το ενδοκυττάριο τμήμα απαρτίζεται εν μέρει από το CD3ζ, το οποίο είναι απαραίτητο για την έναρξη της σηματοδότησης μέσω TCR.
- Στα CAR δεύτερης γενιάς υπάρχει ενδοκυτταρικά και μία συνδιεγερτική υπομονάδα μεταβίβασης σήματος όπως το CD28 ή το 4-1BB, που διεγείρουν τη σύνθεση της IL-2 για να ολοκληρωθεί η ενεργοποίηση των T κυττάρων και να αποτραπεί η

απόπτωση.(Subklewe et al, 2019)(Miliotou and Papadopoulou, 2018)



Εικόνα 28: Δομή ενός αντιγονικού χμαιρικού υποδοχέα (CAR) (Saar Gill et al, 2015)

Τα CAR T κύτταρα μπορούν να ταξινομηθούν σε 4 γενιές ανάλογα με τη δομή του ενδοκυττάρου τμήματος. Τα CAR T κύτταρα πρώτης γενιάς αποτελούνται μόνο από το σύμπλεγμα CD3ζ. Γι' αυτό, δεν είναι ικανά να ενεργοποιήσουν T κύτταρα σε κατάσταση ανεργίας και να πυροδοτήσουν T κυτταρικές αποκρίσεις ή παρατεταμένη απελευθέρωση κυτοκινών λόγω περιορισμένης σηματοδοτικής ικανότητας. Συνεπώς, παρουσιάζουν περιορισμένη αντικαρκινική δραστηριότητα. Αντιθέτως, τα CAR T κύτταρα δεύτερης γενιάς περιλαμβάνουν επιπλέον μια συνδιεγερτική μονάδα μεταβίβασης του σήματος (πχ. CD28 ή 4-1BB), που οδηγεί σε πιο δραστική ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και αποτελεσματική έκπτυξη των γενετικά τροποποιημένων T κυττάρων. Πιο αναλυτικά, τα CD28-CARs παρουσιάζουν μεγαλύτερη έκπτυξη αλλά μικρότερη παραμονή στην κυκλοφορία σε αντίθεση με τα CARs που περιέχουν 4-1BB. (Chavez et al, 2019) Αντίστοιχα, τα CAR T κύτταρα τρίτης γενιάς παρουσιάζουν βελτιωμένες αποκρίσεις περιλαμβάνοντας 2 συνδιεγερτικές μονάδες μεταβίβασης του σήματος, όπως το OX40, CD28, 4-1BB, CD27 και DAP1. Τα CAR T κύτταρα της τέταρτης γενιάς ενσωματώνουν επιπλέον γονίδια που μπορούν να κωδικοποιήσουν κυτοκίνες όπως IL-12 και IFN-γ ή επιπλέον συνδιεγερτικά μόρια. Πιο συγκεκριμένα, η IL-12 μπορεί να ενεργοποιήσει ανοσολογικές αντιδράσεις έναντι καρκινικών κυττάρων, ενώ η IFN-γ μπορεί να συνεισφέρει στην μη εξαρτώμενη από αντιγόνο καταστροφή των καρκινικών κυττάρων μέσω IFN-γR. (Miliotou and Papadopoulou, 2018) (Subklewe et al, 2019)



Εικόνα 29: Εξέλιξη των CAR T κυττάρων

Τα CAR T κύτταρα εξουδετερώνουν τα καρκινικά λεμφοκύτταρα χωρίς να είναι απαραίτητη η αλληλεπίδραση με το αντιγόνο ιστοσυμβατότητας (MHC). Αντιθέτως, η αλληλεπίδρασή τους με τα καρκινικά κύτταρα γίνεται με τη βοήθεια του scFv, της περιοχής αναγνώρισης του αντιγόνου. Τα κύτταρα αυτά ασκούν αντικαρκινική δράση μέσω των ακόλουθων μηχανισμών:

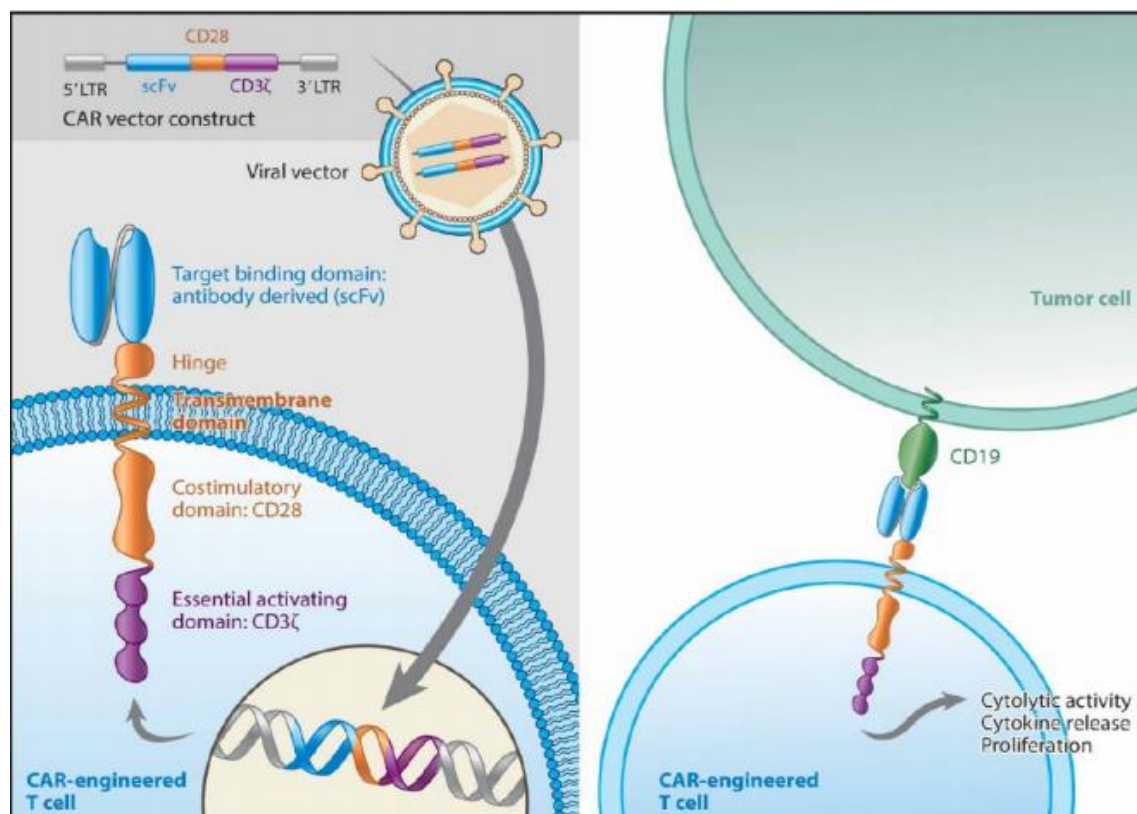
- Εκδηλώνουν κυτταρολυτική δραστηριότητα είτε μέσω εξωκυττάρωσης των κυτταροτοξικών κοκκίων που περιέχουν ορισμένα πρωτεολυτικά ένζυμα όπως την περφορίνη είτε μέσω έκφρασης του άξονα Fas-FasL. Πιο αναλυτικά, η περφορίνη σχηματίζει πόρους στην μεμβράνη των κυττάρων-στόχων και προκαλεί λύση αυτών. Επίσης, η σύνδεση του Fas στον προσδέτη του (FasL) στα καρκινικά κύτταρα οδηγεί σε ενεργοποίηση της κασπάσης 8 και της προ-κασπάσης 8, που σχηματίζουν το σύμπλοκο σηματοδότησης θανάτου, μέσω του οποίου σηματοδοτείται ο θάνατος των καρκινικών κυττάρων.
- Ένας άλλος μηχανισμός εξουδετέρωσης των καρκινικών κυττάρων είναι η παραγωγή κυτοκινών από τα ενεργοποιημένα CAR T κύτταρα, οι οποίες αυξάνουν την έκφραση του υποδοχέα της IFN-γ με αποτέλεσμα να διευκολύνει τη δράση της IFN-γ. (Benmeharek et al, 2019)

Η πρόγνωση για το ανθεκτικό ή υποτροπιάζον διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (DLBCL) είναι ιδιαίτερα φτωχή και δεν υπήρχαν μέχρι πρότινος εναλλακτικές θεραπείες. Ωστόσο, η θεραπεία με Τ λεμφοκύτταρα που φέρουν χημειοθεραπευτικό αντιγονικό υποδοχέα, που αναπτύχθηκε τα τελευταία χρόνια, έδειξε μακροπρόθεσμη ύφεση της νόσου σε ένα αρκετά

μεγάλο ποσοστό ασθενών. Τα 2 CAR T προϊόντα που έλαβαν άδεια κυκλοφορίας είναι το axicabtagene ciloleucel και το tisagenlecleucel.

Γ.2.4.1. Axicabtagene ciloleucel

Πρόκειται για μια γενετικά τροποποιημένη αυτόλογη T κυτταρική ανοσοθεραπεία, γενετικά τροποποιημένη μέσω μεταγωγής με ένα φορέα ρετροϊού, ώστε να εκφράζει ένα anti-CD19 CD28/CD3ζ CAR που στοχεύει το CD19 στην επιφάνεια των καρκινικών B κυττάρων. Αποτελείται από το εξωκυττάριο τμήμα, scFv που αναγνωρίζει το CD19 και από τις ενδοκυττάρειες μονάδες μεταβίβασης του σήματος, CD3ζ και CD28, οι οποίες συμμετέχουν στην μεταφορά του σήματος για την ενεργοποίηση των T κυττάρων. (Jain et al, 2018) (Roberts et al, 2017) Πιο συγκεκριμένα, αυτές οι μονάδες συνεισφέρουν στην εκκίνηση μιας αλληλουχίας αντιδράσεων που οδηγούν σε ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων και σε έκκριση φλεγμονωδών κυτοκινών και χημειοκινών, με αποτέλεσμα τη νέκρωση και την απόπτωση των κυττάρων-στόχων που εκφράζουν το CD19.



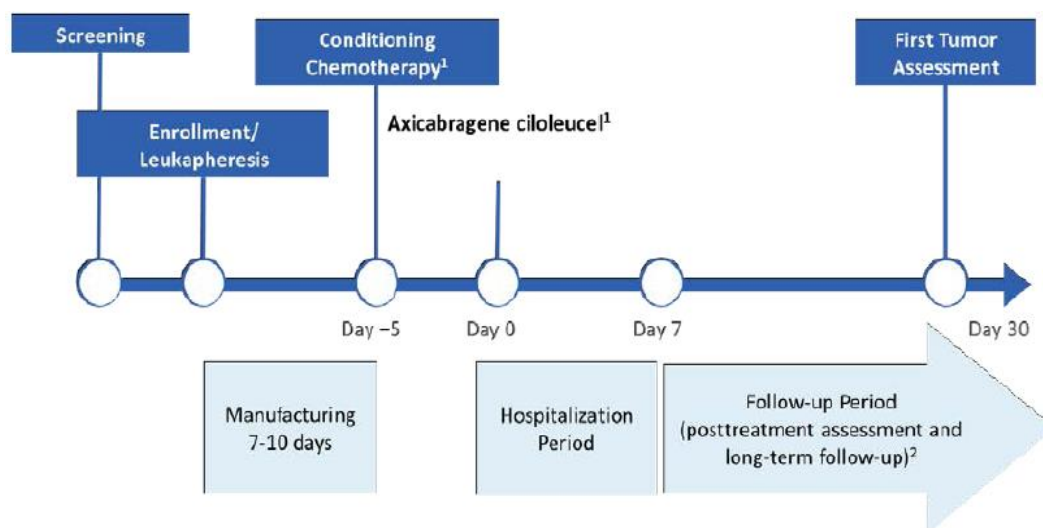
Εικόνα 30: Axicabtagene ciloleucel CAR φορέας και μηχανισμός δράσης (European Medicines Agency)

Το Axicabtagene ciloleucel έλαβε έγκριση από τον FDA τον Οκτώβριο του 2017 για θεραπεία ενήλικων ατόμων με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα B κύτταρα (DLBCL), σε πρωτογενές μεγάλο λέμφωμα B-λεμφοκυττάρων του μεσοθωρακίου (PMBCL) μετά από αποτυχία 2 ή περισσότερων συστηματικών θεραπειών. Δεν ενδείκνυται για θεραπεία ασθενών με πρωτοπαθές λέμφωμα κεντρικού νευρικού συστήματος.

Γ.2.4.1.1. Κλινική μελέτη σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα-ZUMA-1

Πραγματοποιήθηκε μια πολυκεντρική, μονοσκελή, ανοικτής σήμανσης κλινική μελέτη που αξιολόγησε την αποτελεσματικότητα μιας έγχυσης Axicabtagene ciloleucel σε ενήλικους ασθενείς με επιθετικές και ανθεκτικές μορφές λεμφωμάτων non-Hodgkin, οι οποίες περιλαμβάνουν το ανθεκτικό ή υποτροπιάζον διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (DLBCL), το πρωτογενές μεγάλο λέμφωμα Β-λεμφοκυττάρων του μεσοθωρακίου (PMBCL) και το οζώδες λέμφωμα που μετατράπηκε σε DLBCL. Από τους 111 ασθενείς που συμμετείχαν στην μελέτη, οι 101 έλαβαν θεραπεία με Axicabtagene ciloleucel. Οι 9 από τους 10 ασθενείς που δεν έλαβαν θεραπεία λόγω εξελισσόμενης νόσου και σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών που προέκυψαν από τη λευκαφαίρεση ή τη χημειοθεραπεία, ενώ ένας ασθενής δεν έλαβε θεραπεία λόγω κατασκευαστικού λάθους. Οι ασθενείς που συμμετείχαν, παρουσίαζαν είτε ανθεκτικότητα στην πιο πρόσφατη θεραπεία είτε υποτροπή εντός ενός χρόνου από αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (HSCT), οι οποίοι μέχρι πρότινος είχαν εξαιρετικά φτωχή πρόγνωση. Αντίθετα, ασθενείς με προηγούμενη αλλογενή HSCT ή με ιστορικό λεμφώματος κεντρικού νευρικού συστήματος ή άτομα που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία πρώτης γραμμής (primary refractory disease) αποκλείστηκαν από την μελέτη.

Αρχικά, έγινε λευκαφαίρεση και γονιδιακή τροποποίηση των T κυττάρων στο εργαστήριο. Πριν τη χορήγηση του Axicabtagene ciloleucel δόθηκε χημειοθεραπεία με σκοπό να μειωθεί δραστικά ο αριθμός των προϋπαρχόντων T κυττάρων. Έτσι λοιπόν, χορηγήθηκαν 500mg/m² κυκλοφωσφαμίδη και 30mg/m² φλουδαραβίνη ενδοφλεβίως την 5η, 4η και 3η μέρα πριν τη χορήγηση του Axicabtagene ciloleucel. Η δόση του Axicabtagene ciloleucel ήταν 2x10⁶ anti-CD19 CAR T κύτταρα ανά κιλό σωματικού βάρους.



Εικόνα 31: Χρονικό διάγραμμα μελέτης ZUMA-1 (European Medicines Agency)

Το 77% των ασθενών είχαν νόσο ανθεκτική σε 2 ή περισσότερες γραμμές θεραπείας και το 21% είχε υποτροπιάσει εντός ενός έτους από την αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων. Η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου αξιολογήθηκε με βάση το ποσοστό

πλήρους ύφεσης και τη διάρκεια της απόκρισης, όπως καθορίστηκε από ανεξάρτητη επιστημονική επιτροπή. (Neelaru et al, 2017)

Ποσοστό απόκρισης	Αριθμός ατόμων που έλαβαν Axicabtagene ciloleucel (N=101)
Αντικειμενική απόκριση (OR)	82%
Πλήρης ύφεση (CR)	51%
Μερική ύφεσης(PR)	31%
Ολική επιβίωση (OS) (μήνες)	Μη προσδιοριζόμενη
6μηνη ολική επιβίωση (μήνες)	78%

Πίνακας: Ποσοστό απόκρισης (FDA)

Αριθμός ατόμων που ανταποκρίθηκε στη θεραπεία	83/101
Διάμεσο χρονικό διάστημα απόκρισης (μήνες)	9.2
Διάμεσο χρονικό διάστημα απόκρισης, στην περίπτωση της πλήρους ύφεσης (μήνες)	Μη προσδιοριζόμενο
Διάμεσο χρονικό διάστημα απόκρισης, στην περίπτωση της μερικής ύφεσης (μήνες)	2.1

Πίνακας: Διάρκεια απόκρισης (FDA)

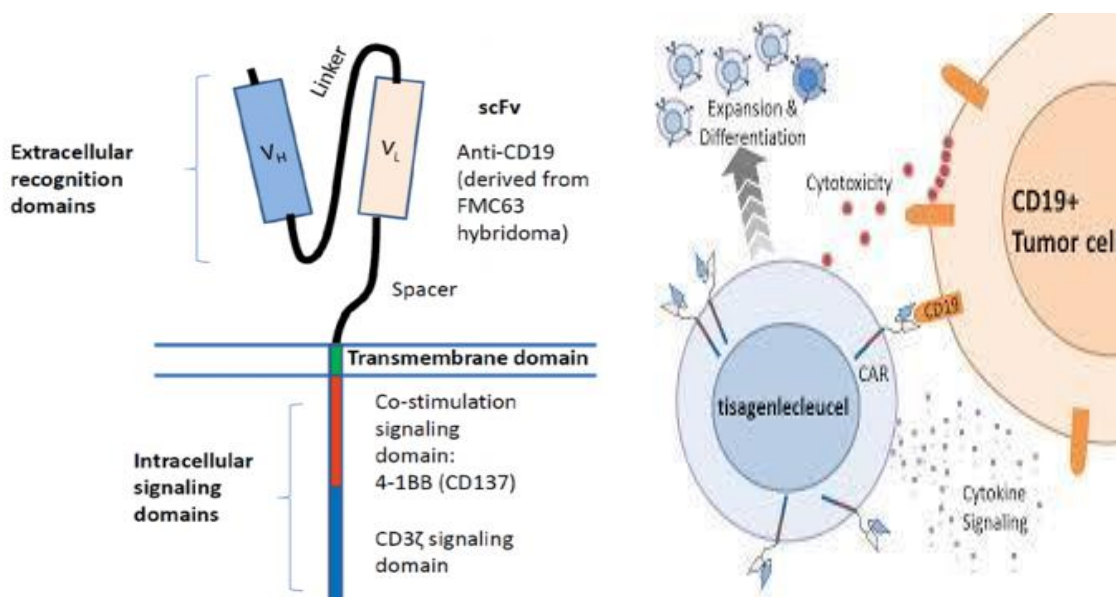
Τα επίπεδα των CAR T κυττάρων έφτασαν στην υψηλότερη συγκέντρωση εντός 14 ημερών μετά την έγχυση του Axicabtagene ciloleucel και ήταν ανιχνεύσιμα στους περισσότερους ασθενείς 180 μέρες μετά την έγχυση. Είναι αξιοσημείωτο ότι 3 ασθενείς με συνεχιζόμενη 24μηνη πλήρη ύφεση είχαν ακόμη ανιχνεύσιμα επίπεδα CAR T κυττάρων στο αίμα. Υψηλότερα επίπεδα CAR T στο αίμα μετά την έγχυση μπορεί να βελτιώσει περαιτέρω την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Η έκπτυξη των CAR T κυττάρων και η υψηλή κυτταρική συγκέντρωση εντός 28 ημερών από την έγχυση έδειξαν μια θετική συσχέτιση με την αντικειμενική απόκριση. Ωστόσο, η ύψιστη έκπτυξη των CAR T κυττάρων σχετίστηκε επίσης με εκδήλωση νευρολογικών περιστατικών τουλάχιστον τρίτου βαθμού αλλά όχι με το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών. (Jain et al, 2018) Μετά από ένα follow-up 15.4 μηνών, οι αποκρίσεις στη θεραπεία διατηρούνταν στο 42% των ασθενών. Είναι, επίσης, αξιοσημείωτο ότι παρόλο που οι περισσότερες αποκρίσεις συνέβησαν τον πρώτο μήνα, 23 ασθενείς σημείωσαν πλήρη απόκριση μετά από 15 μήνες. (Jain et al, 2018)

Η χρήση του συνοδεύτηκε από ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι πιο σημαντικές είναι το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών (CRS), το οποίο εκδηλώθηκε στο 93% των ασθενών. Το σύνδρομο αυτό περιλαμβάνει θανατηφόρες ή απειλητικές για τη ζωή αντιδράσεις, όπως είναι ο πυρετός, η υπόταση, η ταχυκαρδία, η υποξία και το ρίγος. Αυτό προκαλείται κυρίως λόγω της ενεργοποίησης των T κυττάρων μετά την αναγνώριση των καρκινικών αντιγόνων

από τα CARs, που οδηγεί σε έκλυση φλεγμονωδών κυτοκινών και χημειοκινών. Γι' αυτό, δεν πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με ενεργή λοίμωξη ή φλεγμονώδεις διαταραχές. Αυτού του τύπου οι αντιδράσεις αντιμετωπίζονται με tocilizumab ή με tocilizumab και κορτικοστεροειδή. Επίσης, προκάλεσε νευρολογική τοξικότητα στο 65% των ασθενών. Οι κύριες τοξικολογικές εκδηλώσεις από το νευρικό σύστημα περιελάμβαναν εγκεφαλοπάθεια, επιληπτικές κρίσεις, πονοκέφαλο, τρέμουλο, ζαλάδα, ίλιγγο, αϋπνία και ανησυχία. (Roberts et al, 2017)

Γ.2.4.2. Tisagenlecleucel

Το tisagenlecleucel αποτελεί CAR T προϊόν δεύτερης γενιάς, το οποίο αποτελείται από το scFv, που αναγνωρίζει το CD19, και συνδέεται μέσω του διαμεμβρανικού τμήματος (CD8) με τις ενδοκυττάρια σηματοδοτικές μονάδες 4-1BB και CD3ζ. Η υπομονάδα CD3ζ είναι απαραίτητη για την έναρξη της ενεργοποίησης των T λεμφοκυττάρων, ενώ η 4-1BB συνεισφέρει στην μεταβίβαση του σήματος για την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και βελτιώνει την έκπτυσή τους.



Εικόνα 32: Δομή και μηχανισμός δράσης tisagenlecleucel (Oncologic Drugs Advisory Committee Meeting, 2017)

Το tisagenlecleucel έλαβε άδεια κυκλοφορίας τον Μάιο του 2018 για ενήλικους ασθενείς με διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (DLBCL) μετά από 2 ή περισσότερες συστηματικές θεραπείες.

Γ.2.4.2.1. Κλινική μελέτη σε ανθεκτικό η υποτροπιάζον λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (JULIET)

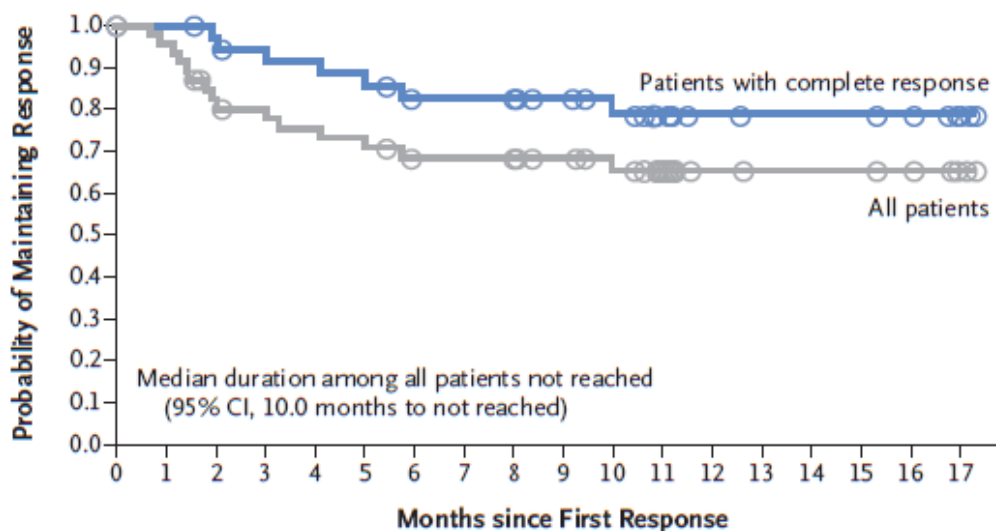
Πραγματοποιήθηκε πολυκεντρική, μονοσκελή, ανοικτής σήμανσης κλινική μελέτη φάσης II μέσω της οποίας αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια του tisagenlecleucel. Συμμετείχαν άτομα άνω των 18 ετών με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα (DLBCL), οι οποίοι είχαν λάβει τουλάχιστον 2 γραμμές θεραπείας ή είχαν υποβληθεί σε αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, χωρίς αποτέλεσμα ή δεν μπορούσαν να προβούν σε μεταμόσχευση. Από την μελέτη αποκλείστηκαν ασθενείς με κακοήθεια στο κεντρικό νευρικό σύστημα, άτομα που είχαν υποβληθεί σε αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και άτομα με συγκέντρωση λεμφοκυττάρων μικρότερη των 300/μL. Το tisagenlecleucel χορηγήθηκε με ενδοφλέβια έγχυση μία μόνο φορά 2 έως 11 μέρες μετά τη χημειοθεραπεία εξάντλησης των λεμφοκυττάρων, η οποία συμπεριλάμβανε είτε φλουδαραβίνη (25mg/m²) και κυκλοφωσφαμίδη (250mg/m²) καθημερινά για 3 μέρες είτε 90mg/m² βενταμουστίνη ενδοφλεβίως καθημερινά για 2 μέρες. Η μέση δόση των CAR T κυττάρων ήταν 3.0 x 10⁸. Η χημειοθεραπεία εξάντλησης των λεμφοκυττάρων μπορούσε να παραλειφθεί μόνο στην περίπτωση που ο αριθμός των λευκοκυττάρων είναι μικρότερος των 1000 κυττάρων/μL.

Από τους 165 ασθενείς που συμμετείχαν στην μελέτη, 111 ασθενείς έλαβαν tisagenlecleucel. Ένα μέρος των υπόλοιπων ασθενών αποχώρησε από την μελέτη πριν να τους γίνει έγχυση του υπό αξιολόγηση προϊόντος είτε για λόγους αδυναμίας κατασκευής του προϊόντος είτε λόγω της κατάστασης του ασθενούς. Στους 93 από τους 111 ασθενείς έγινε έγχυση tisagenlecleucel τουλάχιστον 3 μήνες προτού διακοπεί η παρακολούθησή τους και σύμφωνα με αυτό το γκρουπ διεξήχθη η αποτελεσματικότητά του.

Η αποτελεσματικότητα αξιολογήθηκε με βάση το ποσοστό της αντικειμενικής απόκρισης (ORR) και τη διάρκεια της απόκρισης (DOR) όπως ορίστηκαν από ανεξάρτητη επιστημονική επιτροπή. Το μέσο χρονικό διάστημα από την έγχυση μέχρι τη διακοπή παρακολούθησης (data cutoff) ήταν 19.3 μήνες. Τα ποσοστά της καλύτερης αντικειμενικής απόκρισης και της καλύτερης πλήρους ύφεσης της νόσου ήταν 52% και 40%, αντίστοιχα. Το ποσοστό της 12-μηνιαίας και της 18-μηνιαίας επιβίωσης χωρίς υποτροπή ήταν 66% και 64%, αντίστοιχα, ενώ τα ποσοστά της 12-μηνιαίας και 18-μηνιαίας συνολικής επιβίωσης ήταν 49% και 43%, αντίστοιχα. Η διάμεση συνολική επιβίωση για όλους τους ασθενείς ήταν 11.1 μήνες, ενώ για τους ασθενείς που παρουσίασαν πλήρη ύφεση της νόσου δεν είναι ακόμη προσδιορίσιμη.

Διάμεση διάρκεια παρακολούθησης	19.3 μήνες
Καλύτερη αντικειμενική απόκριση (ORR)	82%
Καλύτερη πλήρης ύφεση (CR)	58%
12-μηνιαία επιβίωση χωρίς επιδείνωση νόσου (PFS)	66%
18-μηνιαία επιβίωση χωρίς επιδείνωση νόσου (PFS)	64%
12-μηνιαία συνολική επιβίωση (OS)	49%
18-μηνιαία συνολική επιβίωση (OS)	43%

Πίνακας: Αποτελέσματα κλινικής μελέτης JULIET (Nastoupil et al, 2019)

**No. at Risk**

Patients with complete response	37	36	35	32	31	30	26	26	26	23	21	15	9	8	8	8	7	4
All patients	48		37		32		27		27		22		10		9		8	

Εικόνα 33: Διάγραμμα διάρκειας απόκρισης (Schuster et al, 2018)

Οι κυριότερες παρενέργειες που σημειώθηκαν ήταν το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών (CRS) και η νευροτοξικότητα. Φαίνεται ότι η νευροτοξικότητα σχετίζεται με την υπέρμετρη έκλυση κυτοκινών. Συγκεκριμένα, τα αυξημένα επίπεδα της IL-1, η ενδοθηλιακή ενεργοποίηση και η διατάραξη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού αποτελούν πιθανές αιτίες της νευροτοξικότητας. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν λοιμώξεις (λόγω παρατεταμένης κυτοπενίας), γαστρεντερικές διαταραχές, πυρετός, κόπωση, υπόταση, οίδημα και πονοκέφαλος.

Συμπερασματικά, παρατηρήθηκαν υψηλά ποσοστά απόκρισης και μακροπρόθεσμες αποκρίσεις με τη θεραπεία με tisagenlecleucel. Ωστόσο, το follow-up είναι μικρής διάρκειας και η πιθανότητα για μακροπρόθεσμες τοξικές παρενέργειες απαιτεί περαιτέρω ανάλυση.

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Συνοπτικά, ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών με κλασικό λέμφωμα Hodgkin ανταποκρίνονται στη συνδυαστική χημειοθεραπεία η οποία μπορεί να συνοδεύεται και από ακτινοθεραπεία. Σε περίπτωση υποτροπής μια πιθανή θεραπευτική προσέγγιση είναι η χημειοθεραπεία υψηλής δόσης και η αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων. Ωστόσο, ορισμένοι ασθενείς μπορεί να είναι ανθεκτικοί στη χημειοθεραπεία με αποτέλεσμα να απαιτείται εναλλακτική θεραπεία. Τα τελευταία χρόνια η ανοσοθεραπεία έχει προσφέρει νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις, αυξάνοντας το προσδόκιμο ζωής αυτών των ασθενών.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το κλασικό λέμφωμα Hodgkin ανταποκρίνεται αρκετά καλά στην ανοσοθεραπεία, καθώς έχει μια ιδιαίτερη μορφολογία. Μόνο το 1-2% των κυττάρων του όγκου αποτελούν τα Reed-Sternberg κύτταρα, ενώ ένα μεγάλο ποσοστό κυττάρων αποτελείται από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα T λεμφοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα κύτταρα φυσικοί-φονείς και τα δενδριτικά κύτταρα. Η καλύτερη κατανόηση της παθοφυσιολογίας και του μικροπεριβάλλοντος του λεμφώματος Hodgkin οδήγησε στην ανάπτυξη νέων φαρμάκων που στοχεύουν συγκεκριμένους μοριακούς στόχους και καταφέρνουν να καταστείλουν το «ανοσοκατασταλτικό» περιβάλλον του όγκου. (Ansell, 2018)

Οι ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις για τη θεραπεία των Hodgkin λεμφωμάτων έγκινονται σε 2 κατηγορίες: στα αντισώματα συζευγμένα με φάρμακο (ADCs) και στους αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος. Στην πρώτη κατηγορία εντάσσεται το brentuximab vedotin, το οποίο χορηγείται σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία σε κλασικό λέμφωμα Hodgkin III ή IV σταδίου, στο οποίο δεν έχει δοθεί προηγούμενη θεραπεία και σε ανθεκτικό ή υποτροπιάζον κλασικό λέμφωμα Hodgkin ως μονοθεραπεία.

Το brentuximab vedotin είναι το πρώτο φάρμακο της ανοσοθεραπείας που εγκρίθηκε για τη θεραπεία αυτών των ασθενών. Αυτό στοχεύει μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, το CD30, το οποίο εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στα Reed Sternberg κύτταρα. Συνδεδεμένο με αυτό είναι η MMAE που παρουσιάζει αντιμιτωτική δράση, καθώς αναστέλλει την κυτταρική διαίρεση εμποδίζοντας τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης. Η χορήγηση του brentuximab vedotin έδωσε αρκετά υψηλά ποσοστά απόκρισης σε ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin, που παρουσίασαν υποτροπή της νόσου ή ανθεκτικότητα στη θεραπεία πρώτης γραμμής. Οι μακροπρόθεσμες αποκρίσεις, όμως, σημειώθηκαν μόνο σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών. Γι' αυτό, το brentuximab vedotin δίνεται συχνά σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία. (Moskowitz, 2016)

Αργότερα, αναπτύχθηκαν άλλα 2 φάρμακα που δρουν με διαφορετικό μηχανισμό, τα οποία είναι το nivolumab και το pembrolizumab. Αυτά δρουν μέσω αναστολής της σύνδεσης του PD-1 των T λεμφοκυττάρων με τους συνδέτες του, τον PD-L1 ή τον PD-L2, οι οποίοι υπερεκφράζονται στα HRS κύτταρα. Η αναστολή της σύνδεσης του PD-1 στον PD-L1 αποτελεί μια από τις σημαντικότερες εξελίξεις στην ιστορία της θεραπείας των λεμφωμάτων. Πιο συγκεκριμένα, το 87% των ασθενών με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό λέμφωμα Hodgkin που έλαβε nivolumab στην κλινική μελέτη CHECKMATE 205,

ανταποκρίθηκε στη θεραπεία, γεγονός το οποίο οδήγησε στην έγκριση της άδειας κυκλοφορίας του nivolumab. (Goodman et al, 2016)

Αντίστοιχα, το pembrolizumab δίνεται σε ασθενείς με κλασικό λέμφωμα Hodgkin, στις περιπτώσεις όπου δεν υπάρχει βελτίωση ή έχει παρουσιαστεί υποτροπή μετά τη θεραπεία με brentuximab vedotin με ή χωρίς αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων. (Shanbhag and Ambinder, 2018) Ωστόσο, σε ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών που λαμβάνουν ένα από τα 2 αυτά φάρμακα παρουσιάζεται αντίδραση έναντι του ξενιστή (GVHD) όταν χορηγείται σε μικρό χρονικό διάστημα από μια αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και γι' αυτό απαιτείται ιδιαίτερη διαχείριση και επίβλεψη του ασθενούς. (Merryman et al, 2017) (Maly and Alinary, 2016)

Από την άλλη πλευρά, η παθοφυσιολογία των λεμφωμάτων non-Hodgkin είναι αρκετά διαφορετική σε σχέση με αυτή των λεμφωμάτων Hodgkin. Τα λεμφώματα non-Hodgkin περιλαμβάνουν μια ετερογενή ομάδα νόσων, το μεγαλύτερο ποσοστό των οποίων προέρχονται από τα Β λεμφοκύτταρα, ενώ τα υπόλοιπα προέρχονται από Τ ή σε σπάνιες περιπτώσεις από NK λεμφοκύτταρα. Αντιθέτως, τα κακοήθη κύτταρα στα λεμφώματα Hodgkin είναι Β κυτταρικής αρχής και αποτελούν μόνο το 1% των κυττάρων του όγκου. (Farrell and Jarrett, 2011) Επίσης, τα λεμφώματα non-Hodgkin περιλαμβάνουν λεμφώματα τόσο χαμηλής όσο και υψηλής κακοήθειας και παρουσιάζουν πολλά διαφορετικά ιστολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά, γεγονός που καθιστά δύσκολη τη διάγνωσή τους. (Shankland et al, 2012) Συνεπώς, υπάρχουν πολλές διαφορετικές θεραπευτικές προσεγγίσεις ανάλογα με τον τύπο του λεμφώματος.

Ένα από τα πρώτα φάρμακα στοχευμένης θεραπείας που χρησιμοποιήθηκε είναι η ριτουξιμάμπη. Η ριτουξιμάμπη σε συνδυασμό με τη χημειοθεραπεία έχει βελτιώσει σημαντικά το ποσοστό απόκρισης και το χρόνο επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου σε ασθενείς με λέμφωμα non-Hodgkin. Ωστόσο, ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό ασθενών που έλαβε ριτουξιμάμπη παρουσίασε υποτροπή ή δεν ανταποκρίθηκε καν στη θεραπεία. Για αυτό το λόγο, δημιουργήθηκε η ανάγκη παραγωγής νέων φαρμάκων για την αντιμετώπιση αυτών των ασθενών. Ως αποτέλεσμα, αναπτύχθηκε η obinutuzumab, ένα CD20-αντίσωμα 2^{ης} γενιάς, που προσδέεται με μεγαλύτερη συγγένεια και προκαλεί αυξημένη αντισωματοεξαρτώμενη κυτταροτοξικότητα.

Ένα άλλο φάρμακο που δρα με παρόμοιο μηχανισμό με το brentuximab vedotin είναι το rolatuzumab. Είναι συνδεδεμένο με την MMAE όπως και το brentuximab vedotin αλλά στοχεύει το CD79b αντί για το CD30. Το CD79b αποτελεί έναν εξαιρετικό στόχο των συζευγμένων με φάρμακο αντισωμάτων για την αντιμετώπιση των λεμφωμάτων non-Hodgkin, καθώς αποτελεί σηματοδοτική υπομονάδα του υποδοχέα των Β-λεμφοκυττάρων, εκφράζεται μόνο στα Β κύτταρα και στα περισσότερα λεμφώματα non-Hodgkin, γεγονός το οποίο αποτρέπει την εμφάνιση τοξικότητας σε υγιή ιστό. (Dornan et al., 2009)

Μια άλλη ανοσοθεραπευτική προσέγγιση είναι η κυτταρική ανοσοθεραπεία με χημειοθεραπευτικούς αντιγονικούς υποδοχείς. Πρόκειται για αυτόλογα Τ κύτταρα του ασθενούς που έχουν τροποποιηθεί γενετικά έτσι ώστε να εκφράζουν τον υποδοχέα που στοχεύει το CD19. Αυτά εγχύονται πίσω στον ασθενή αφότου δοθεί χημειοθεραπεία με στόχο την εξάντληση των λεμφοκυττάρων. Προκειμένου τα CAR Τ κύτταρα να δράσουν, πρέπει να φτάσουν στο στόχο

τους, να αλληλεπιδράσουν με το αντιγόνο-στόχο, να πολλαπλασιαστούν και να δράσουν στο «εχθρικό» μικροπεριβάλλον του όγκου αποφεύγοντας τους μηχανισμούς αναστολής του ανοσοποιητικού καθώς και να παραμείνουν στην κυκλοφορία για μεγάλο χρονικό διάστημα, ώστε να υπάρχει συνεχής έλεγχος της ανάπτυξης του όγκου. (Chavez et al, 2019)

Αξιοσημείωτο είναι ότι η κυτταρική ανοσοθεραπεία με χημειοκίτους υποδοχείς γίνεται εφάπαξ. Συνεπώς, ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζει το αποτέλεσμα και τη διάρκεια της απόκρισης του όγκου στη θεραπεία είναι η ικανότητα των CAR T κυττάρων να πολλαπλασιάζονται μετά τη χορήγησή τους. (Majzner and Mackall, 2019) Τα 2 προϊόντα κυτταρικής ανοσοθεραπείας (tisagenlecleucel και axicabtagene ciloleucel) που έχουν εγκριθεί μέχρι στιγμής στοχεύουν το CD19, μια πρωτεΐνη που εμπλέκεται στη σηματοδότηση των B κυττάρων. Αποτελεί έναν καλό φαρμακευτικό στόχο, καθώς η έκφρασή του περιορίζεται μόνο σε B λεμφοκύτταρα μέχρι τη φάση διαφοροποίησής τους σε πλασματοκύτταρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μειώνεται αισθητά και ο αριθμός των B λεμφοκυττάρων, αλλά αποτελεί μια ανεπιθύμητη ενέργεια που μπορεί να αντιμετωπιστεί επαρκώς με ενδοφλέβια έγχυση ανοσοσφαιρίνης μηνιαίως. Γενικότερα, η κυτταρική ανοσοθεραπεία με χημειοκίτους υποδοχείς έχει οδηγήσει σε πολύ καλά ποσοστά απόκρισης και σε σημαντικό κλινικό όφελος σε ασθενείς με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα B κύτταρα (DLBCL). Αυτό σχετίζεται με το γεγονός ότι τα CAR T κύτταρα δρουν χωρίς να επηρεάζονται από τις εκάστοτε μεταλλάξεις του καρκίνου, την ενεργοποίηση των ανασταλτικών μηχανισμών του ανοσοποιητικού καθώς και ανεξάρτητα από το ΜHC. Με λίγα λόγια, τα CAR T κύτταρα διαθέτουν την εξειδίκευση των B λεμφοκυττάρων και την κυτταροτοξική δράση των T λεμφοκυττάρων χωρίς να απαιτείται αντιγονοπαρουσίαση. Επιπλέον, το προφίλ τοξικότητας τους είναι καλά ανεκτό, με κυριότερες παρενέργειες τη νευροτοξικότητα, το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών και τοξικότητα λόγω της χημειοθεραπείας εξάντλησης των λευκοκυττάρων.

Συμπερασματικά, τα τελευταία χρόνια η ανοσοθεραπεία αύξησε το ποσοστό επιβίωσης σε ασθενείς με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό στις θεραπείες πρώτης γραμμής λέμφωμα, για τους οποίους δεν υπήρχε κάποια θεραπεία. Επίσης, οι θεραπείες βασισμένες στην ανοσοθεραπεία έχουν διαχειρίσιμο προφίλ τοξικότητας. Ωστόσο, παρά τα επιτυχή κλινικά αποτελέσματα πολλών ανοσοθεραπευτικών φαρμάκων, η απόκριση στη θεραπεία διαφέρει από ασθενή σε ασθενή, καθώς επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως είναι η γενετική σύσταση του όγκου και το μικροπεριβάλλον του λεμφώματος. Γι' αυτό, κρίνεται επιτακτική η ανάγκη εύρεσης βιοδεικτών απόκρισης στην εκάστοτε θεραπεία. Αυτήν την περίοδο, βρίσκονται σε εξέλιξη πολλές κλινικές μελέτες που εξετάζουν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια νέων μονολωνικών αντισωμάτων ή κυτταρικών θεραπειών. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανάπτυξη CAR T κυττάρων που στοχεύουν άλλα μόρια εκτός από το CD19, όπως το CD30, το ROR1 (υποδοχέας πρωτεϊνικών κινάσων τυροσίνης) και τον BAFF (B-cell activating factor). Επίσης, γίνονται προσπάθειες για μείωση του χρόνου παραγωγής και του κόστους αυτών των εξατομικευμένων θεραπειών, έτσι ώστε να έχουν πρόσβαση όσο το δυνατόν περισσότεροι ασθενείς. Τέλος, γίνονται προσπάθειες διαχείρισης του μεγάλου κόστους της αντιμετώπισης των παρενεργειών που σχετίζονται με τη θεραπεία.

Περίληψη

Τα λεμφώματα αποτελούν μια ετερογενή ομάδα κακοήθων αιματολογικών νεοπλασιών και χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: στα Hodgkin (HL) και στα non-Hodgkin λεμφώματα (NHL). Τα λεμφώματα Hodgkin χαρακτηρίζονται από την παρουσία των ασυνήθιστα μεγάλων πολυπύρηνων Reed-Sternberg κυττάρων, που είναι Β κυτταρικής αρχής. Σε αντίθεση, τα non-Hodgkin λεμφώματα προκύπτουν από 2 διαφορετικά είδη λεμφοκυττάρων, τα Β ή τα Τ λεμφοκύτταρα, τα οποία βρίσκονται σε διάφορα στάδια διαφοροποίησης. Παρόλο που οι αρχικές θεωρίες για την ανοσοθεραπεία στον καρκίνο είχαν ήδη διατυπωθεί από τα τέλη του 19ου αιώνα, τα τελευταία χρόνια η ανοσοθεραπεία χρησιμοποιείται στην κλινική επιτυχώς. Η ανοσοθεραπεία είτε από μόνη της είτε σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία έχει βελτιώσει το ποσοστό επιβίωσης πολλών ασθενών με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό λέμφωμα. Τα φάρμακα της ανοσοθεραπείας δρουν μέσω διαφορετικών μηχανισμών. Βάσει του μηχανισμού δράσης τους, κατηγοριοποιούνται στα «γυμνά» μονοκλωνικά αντισώματα, στα αντισώματα που είναι συζευγμένα με φάρμακο (ADCs), στους αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού και στα Τ κύτταρα που εκφράζουν χημειοκίνητο υποδοχέα καθώς βέβαια και σε άλλες κατηγορίες που δεν αναλύθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία. Η θεραπευτική προσέγγιση διαφέρει μεταξύ των Hodgkin και των non-Hodgkin λεμφωμάτων καθώς και ανάλογα το στάδιο της νόσου. Για παράδειγμα, οι αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος αποτελούν θεραπευτική επιλογή για το λέμφωμα Hodgkin αλλά όχι για το λέμφωμα non-Hodgkin λόγω της διαφορετικής παθοφυσιολογίας της νόσου. Επιπλέον, η χορήγηση αυτών των φαρμάκων συνοδεύεται αρκετές φορές με σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες και γι' αυτό θα πρέπει να λαμβάνονται με ιδιαίτερη προσοχή και κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Συμπερασματικά, η ανοσοθεραπεία έχει δείξει θετικά κλινικά αποτελέσματα όσον αφορά την αντιμετώπιση των λεμφωμάτων αλλά υπάρχει μια μεταβλητότητα όσον αφορά το μέγεθος και τη διάρκεια της απόκρισης, γεγονός το οποίο επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι το μικροπεριβάλλον του όγκου, η ετερογένεια του όγκου σε μοριακό και βιολογικό επίπεδο και διάφοροι παράγοντες που σχετίζονται με τον ξενιστή. Γι' αυτόν τον λόγο, κρίνεται επιτακτική η ανάγκη εύρεσης βιοδεικτών απόκρισης στη θεραπεία.

Abstract

Lymphomas represent a heterogeneous group of hematologic malignancies and are divided in 2 broad groups: Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas. Hodgkin lymphomas are characterized by the presence of the giant, multicore Reed-Sternberg cells, which are derived from B lymphocytes. On the contrary, non-Hodgkin lymphomas arise from two distinct lymphocyte types, B or T lymphocytes at various stages of differentiation. Although the first theories about cancer immunotherapy have been proposed since the late 1800s, only recently immunotherapeutic drugs for cancer have been translated into the clinic. Immunotherapy either alone or in combination with chemotherapy has improved the survival rate of many patients with relapsed or refractory lymphoma. Immunotherapeutic drugs exert their pharmacologic effects via variable routes. Based on their mechanism of action they are divided into different groups. The ones that are analysed in this master thesis are the following: “naked” monoclonal antibodies, conjugated monoclonal antibodies, immune checkpoint inhibitors and CAR T-cell therapies. The immunotherapeutic approach differs between Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas and also depends on the stage of the disease. For instance, the immune checkpoint inhibitors constitute a therapeutic option only for Hodgkin lymphoma, but not for the non-Hodgkin lymphoma because of the different histopathology of each disease. Furthermore, the administration of these drugs usually entails severe adverse events and for this reason their administration must take place under certain circumstances and several precaution measures must be taken. Consequently, immunotherapy has demonstrated positive clinical results regarding the treatment of lymphoma. However, there is some variability regarding the magnitude and the duration of response, which depends on a lot of factors such as the tumour microenvironment, the heterogeneity in tumor biology and host-related factors. For this reason, the need for predictive biomarkers of response is critical.

Βιβλιογραφία

1. Victor Hoffbrand, Paul A. H. Moss (2014) Essentials of Haematology
2. Chapel, Haeney, Misbah, Snowden (2014) Essentials of Clinical Immunology, 6th Edition, Chapter 6
3. Elenitoba-Johnson and Lim (2018), New Insights into Lymphoma Pathogenesis Annu Rev Pathol. 24;13:193-217
4. DeVita, Hellman & Rosenberg's Cancer (2011) - Principles and Practice of Oncology 9th Ed
5. Satish Shanbhag and Richard Ambinder (2018), CA Cancer J Clin. 2018 Mar;68(2):116-132
6. Randall E. Harris (2016) Global Epidemiology of Cancer, 355
7. Ansell SM (2015) Hodgkin Lymphoma: Diagnosis and Treatment, Mayo Clinic Proceedings, Volume 90, Issue 11, 1574 – 1583
8. Cartwright RA, Watkins G. (2004) Epidemiology of Hodgkin's disease: a review, Hematol Oncol. 2004 Mar;22(1):11-26
9. Mathas S, Hartmann S, Küppers R. (2016) Hodgkin lymphoma: Pathology and biology, Semin Hematol. 53(3):139-47
10. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, Lister TA (2014) Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification, J Clin Oncol. 2014 Sep 20;32(27):3059-68
11. Engert A, Raemaekers J (2016) Semin Hematol, Treatment of early-stage Hodgkin lymphoma, Jul;53(3):165-70
12. Michael M. Boyiadzis, James N. Frame, David R. Kohler, Tito Fojo (2014) Hematology - Oncology Therapy 2nd Edition
13. Armitage JO, Gascoyne RD, Lunning MA, Cavalli F (2017) Non-Hodgkin lymphoma, Lancet, Jul 15;390(10091):298-310
14. Swerdlow AJ (2003) Epidemiology of Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma, Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2003 Jun;30 Suppl 1:S3-12
15. DeVita, Hellman, Rosenberg (2011) Cancer: Principles & Practice of Oncology, 9th Edition, Lippincott Williams & Wilkins & Wolters Kluwer business
16. Kubuschok B1, Held G, Pfreundschuh M (2015) Management of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) Cancer Treat Res.;165:271-88
17. Jiang M, Bennani NN, Feldman AL (2017) Lymphoma classification update: T-cell lymphomas, Hodgkin lymphomas, and histiocytic/dendritic cell neoplasms, Expert Rev Hematol. Mar;10(3):239-249
18. Cheah CY, Seymour JF, Wang ML (2016) Mantle Cell Lymphoma, J Clin Oncol. 2016 Apr 10;34(11):1256-69
19. Campo E, Rule S (2015) Mantle cell lymphoma: evolving management strategies, Blood. 2015 Jan 1;125(1):48-55
20. Rochford R, Moormann AM (2015) Burkitt's Lymphoma, Curr Top Microbiol Immunol.
21. Molyneux EM, Rochford R, Griffin B, Newton R, Jackson G, Menon G, Harrison CJ, Israels T, Bailey S. (2012) Burkitt's lymphoma, Lancet, Mar 31;379(9822):1234-44

22. Kobe C, Dietlein M, Hellwig D. (2018) PET/CT for Lymphoma Post-therapy Response Assessment in Hodgkin Lymphoma and Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Semin Nucl*;48(1):28-36
23. Press OW, Leonard JP, Coiffier B, Levy R, Timmerman J. (2001) Immunotherapy of Non-Hodgkin's lymphomas, *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.*:221-40
24. Abul Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai (2015) *Basic Immunology 5th Edition: Functions and Disorders of the Immune System*, Philadelphia: Saunders Elsevier
25. Parkin J, Cohen B. (2001) An overview of the immune system, *Lancet*. Jun 2;357(9270):1777-89
26. Margaret A., Knowles, Peter J. Selby (2006) *Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer 4th Edition*
27. Franken L, Schiwon M, Kurts C (2016) Macrophages: sentinels and regulators of the immune system, *Cell Microbiol*. Apr;18(4):475-87
28. Davies LC, Jenkins SJ, Allen JE, Taylor (2013) PR Tissue-resident macrophages, *Nat Immunol*. Oct;14(10):986-95
29. Lauren M. Sompayrac (2012) *How the immune system works, 4th edition*
30. Michael C. Carroll (2008) The complement system in regulation of adaptive immunity, *Nat Immunol*. Oct;5(10):981-6
31. Kemper C, Atkinson JP (2007) T-cell regulation: with complements from innate immunity, *Nat Rev Immunol*. 2007 Jan;7(1):9-18
32. Mamidi S, Höne S, Kirschfink M (2015) The complement system in cancer: Ambivalence between tumour destruction and promotion, *Immunobiology*. Jan;222(1):45-54
33. Afshar-Kharghan V. (2017) The role of the complement system in cancer *J Clin Invest*. Mar 1;127(3):780-789
34. Bachanova V, Miller JS (2014) NK cells in therapy of cancer *Crit Rev Oncog*. ;19(1-2):133-41.
35. Vivier E, Ugolini S, Blaise D, Chabannon C, Brossay L (2012) Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer, *Nat Rev Immunol*. Mar 22;12(4):239-52
36. Mellman I (2013) Dendritic cells: master regulators of the immune response, *Cancer Immunol Res*. Sep;1(3):145-9
37. Gestur Vidarsson, Gillian Dekkers, Theo Rispens (2014) IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions, *Frontiers in Immunology*
38. Patrick Murray, Ken Rosenthal, Michael Pfaller (2015) *Medical Microbiology 8th edition*
39. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M et al. (2001) *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th edition. New York: Garland Science; B-cell activation by armed helper T cells.
40. Kennedy MA (2010) A brief review of the basics of immunology: the innate and adaptive response, *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. ;40(3):369-79
41. A Corthay (2009) How do Regulatory T Cells Work? *Scand J Immunol*. 70(4): 326–336
42. Tomar N., De R.K. (2014) A Brief Outline of the Immune System. In: De R., Tomar N. (eds) *Immunoinformatics. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, vol 1184. Humana Press, New York, NY

43. Chen L, Flies DB (2013) Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition, *Nat Rev Immunol.*;13(4):227-42
44. Littman DR (2015) Releasing the Brakes on Cancer Immunotherapy, *Cell.*, 162(6):1186-90
45. Armand P (2015) Immune checkpoint blockade in hematologic malignancies, *Blood.*, 125(22):3393-400
46. Wieczorek M, Abualrous ET, Sticht J, Álvaro-Benito M, Stolzenberg S, Noé F, Freund C (2017) Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins: Conformational Plasticity in Antigen Presentation, *Front Immunol.* ;8:292
47. Bubeník J (2003) Tumour MHC class I downregulation and immunotherapy, *Oncol Rep.* ;10(6):2005-8
48. Garrido F, Romero I, Aptsiauri N, Garcia-Lora AM, Generation of MHC class I diversity in primary tumors and selection of the malignant phenotype, *Int J Cancer.*, 138(2):271-80
49. Kobayashi K., van den Elsen P. (2012) NLRC5: a key regulator of MHC class I-dependent immune responses. *Nat Rev Immunol* 12, 813–820
50. Sánchez-Paulete AR, Teijeira A, Cueto FJ, Garasa S, Pérez-Gracia JL, Sánchez-Arráez A, Sancho D, Melero I (2017) Antigen cross-presentation and T-cell cross-priming in cancer immunology and immunotherapy, *Ann Oncol.*;28(suppl_12):xii44-xii55
51. Ribatti D. (2017) The concept of immune surveillance against tumors. The first theories, *Oncotarget*, 8(4), 7175–7180.
52. McCarthy EF (2006) The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas, *Iowa Orthop J.*;26:154-8.
53. Shore ND (2015) Advances in the understanding of cancer immunotherapy *BJU Int.*;116(3):321-9
54. Yi JH, Kim SJ, Kim WS. (2017) Brentuximab vedotin: clinical updates and practical guidance. *Blood Res.*;52(4):243-253
55. Simonetta Viviani & Anna Guidetti (2018) Efficacy of antibody–drug conjugate brentuximab vedotin in treating Hodgkin’s lymphoma, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 18:8, 841-849
56. Alperovich, A., & Younes, A. (2016). Targeting CD30 Using Brentuximab Vedotin in the Treatment of Hodgkin Lymphoma. *Cancer journal (Sudbury, Mass.)*, 22(1), 23–26.
57. Joseph M. Connors, Wojciech Jurczak, David J. Straus, Stephen M. Ansell, Won S. Kim, Andrea Gallamini, Anas Younes, Sergey Alekseev, Árpád Illés, Marco Picardi, Ewa Lech-Maranda, Yasuhiro Oki et al (2018) Brentuximab Vedotin with Chemotherapy for Stage III or IV Hodgkin’s Lymphoma, *N Engl J Med*; 378:331-344
58. Moskowitz CH, Nademanee A, Masszi T, et al. (2015) Brentuximab vedotin as consolidation therapy after autologous stem-cell transplantation in patients with Hodgkin's lymphoma at risk of relapse or progression (AETHERA): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.*;385(9980):1853-62.
59. Younes A, Gopal AK, Smith SE, Ansell SM, Rosenblatt JD, Savage KJ, Ramchandren R, Bartlett NL, Cheson BD, de Vos S, Forero-Torres A, Moskowitz CH, Connors JM, Engert A, Larsen EK, Kennedy DA, Sievers EL, Chen R. (2012) Results of a pivotal

- phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma, *J Clin Oncol.*;30(18):2183-9
60. Hude, I., Sasse, S., Engert, A., & Bröckelmann, P. J. (2017). The emerging role of immune checkpoint inhibition in malignant lymphoma. *Haematologica*, 102(1), 30–42.
 61. Bröckelmann P.J., Engert A (2017) Checkpoint Inhibition in Hodgkin Lymphoma - a Review, *Oncol Res Treat* 2017;40:654-660
 62. Paul J. Bröckelmann, Peter Borchmann, Andreas Engert (2016) Current and future immunotherapeutic approaches in Hodgkin lymphoma, *Leukemia & Lymphoma*, 57:9, 2014-2024
 63. Green MR, Rodig S, Juszczynski P, Ouyang J, Sinha P, O'Donnell E, Neuberg D, Shipp MA (2012) Constitutive AP-1 activity and EBV infection induce PD-L1 in Hodgkin lymphomas and posttransplant lymphoproliferative disorders: implications for targeted therapy, *Clin Cancer Res.* ;18(6):1611-8
 64. Massini G, Siemer D, Hohaus S (2009) EBV in Hodgkin Lymphoma, *Mediterr J Hematol Infect Dis.* ;1(2):e2009013
 65. Antoni Ribas, Jedd D. Wolchok (2018) Cancer immunotherapy using checkpoint blockade, *Science* Vol. 359, Issue 6382, pp. 1350-1355
 66. Villasboas, J. C., Ansell, S. M., & Witzig, T. E. (2016). Targeting the PD-1 pathway in patients with relapsed classic Hodgkin lymphoma following allogeneic stem cell transplant is safe and effective. *Oncotarget*, 7(11), 13260–13264
 67. Philippe Armand, Andreas Engert, Anas Younes, Michelle Fanale, Armando Santoro, Pier Luigi Zinzani, John M. Timmerman, Graham P. Collins, Radhakrishnan Ramchandren, Jonathon B. Cohen, Jan Paul De Boer, John Kuruvilla, Kerry J. Savage, Marek Trneny, Margaret A. Shipp, Kazunobu Kato, Anne Sumbul, Benedetto Farsaci, and Stephen M. Ansell (2018) Nivolumab for Relapsed/Refractory Classic Hodgkin Lymphoma After Failure of Autologous Hematopoietic Cell Transplantation: Extended Follow-Up of the Multicohort Single-Arm Phase II CheckMate 205, *TrialJournal of Clinical Oncology* 36:14, 1428-1439
 68. Armand, P., Engert, A., Younes, A., Fanale, M., Santoro, A., Zinzani, P. L., ... Ansell, S. M. (2018). Nivolumab for Relapsed/Refractory Classic Hodgkin Lymphoma After Failure of Autologous Hematopoietic Cell Transplantation: Extended Follow-Up of the Multicohort Single-Arm Phase II CheckMate 205 Trial. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(14), 1428–1439
 69. Radhakrishnan Ramchandren, Eva Domingo-Domènech, Antonio Rueda, Marek Trněný, Tatyana A. Feldman, Hun Ju Lee, Mariano Provencio, Christian Sillaber, Jonathon B. Cohen, Kerry J. Savage, Wolfgang Willenbacher, Azra H. Ligon, Jing Ouyang, Robert Redd, Scott J. Rodig, Margaret A. Shipp, Mariana Sacchi, Anne Sumbul, Philippe Armand, and Stephen M. Ansell (2019) Nivolumab for Newly Diagnosed Advanced-Stage Classic Hodgkin Lymphoma: Safety and Efficacy in the Phase II CheckMate 205 Study, *Journal of Clinical Oncology* 37:23, 1997-2007
 70. Charles Herbaux, Jordan Gauthier, Pauline Brice, Elodie Drumez, Loic Ysebaert, Hélène Doyen, Luc Fornecker, Krime Bouabdallah, Guillaume Manson, Hervé Ghesquière, Reza Tabrizi, Eric Hermet, Julien Lazarovici, Anne Thiebaut-Bertrand,

- Adrien Chauchet, Hélène Demarquette, Eileen Boyle, Roch Houot, Ibrahim Yakoub-Agha, Franck Morschhauser (2017) Efficacy and tolerability of nivolumab after allogeneic transplantation for relapsed Hodgkin lymphoma. *Blood*; 129 (18): 2471–2478.
71. Kwok, G., Yau, T. C., Chiu, J. W., Tse, E., & Kwong, Y. L. (2016) Pembrolizumab (Keytruda), *Human vaccines & immunotherapeutics*, 12(11), 2777–2789
 72. Joseph Maly, Lapo Alinari (2016) Pembrolizumab in classical Hodgkin's lymphoma, *European Journal of Haematology*, Volume 97, Issue 3, Pages 219-227
 73. Wang, Y., Nowakowski, G.S., Wang, M.L., Stephen M. Ansell (2018) Advances in CD30- and PD-1-targeted therapies for classical Hodgkin lymphoma. *J Hematol Oncol* 11, 57
 74. Robert Chen, Pier Luigi Zinzani, Michelle A. Fanale, Philippe Armand, Nathalie A. Johnson, Pauline Brice, John Radford, Vincent Ribrag, Daniel Molin, Theodoros P. Vassilakopoulos, Akihiro Tomita, Bastian von Tresckow, Margaret A. Shipp, Yinghua Zhang, Alejandro D. Ricart, Arun Balakumaran, Craig H. Moskowitz (2017) Phase II Study of the Efficacy and Safety of Pembrolizumab for Relapsed/Refractory Classic Hodgkin Lymphoma, *Journal of Clinical Oncology* 35:19, 2125-2132
 75. Chen, R., Zinzani, P. L., Lee, H. J., Armand, P., Johnson, N. A., Brice, P., ... Moskowitz, C. H. (2019) Pembrolizumab in relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: 2-year follow-up of KEYNOTE-087. *Blood*, 134(14), 1144–1153.
 76. Merryman, R. W., Kim, H. T., Zinzani, P. L., Carlo-Stella, C., Ansell, S. M., Perales, M. A., ... Armand, P. (2017) Safety and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplant after PD-1 blockade in relapsed/refractory lymphoma. *Blood*, 129(10), 1380–1388
 77. Feugier P. (2015) A review of rituximab, the first anti-CD20 monoclonal antibody used in the treatment of B non-Hodgkin's lymphomas. *Future Oncol.*;11(9):1327-42.
 78. Maloney DG, Smith B, Rose A. (2002) Rituximab: mechanism of action and resistance, *Semin Oncol.*;29(1 Suppl 2):2-9
 79. Salles G, Seymour JF, Offner F et al. (2011) Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet.*;377(9759):42-51
 80. P McLaughlin, A J Grillo-López, B K Link, R Levy, M S Czuczman, M E Williams, M R Heyman, I Bence-Bruckler, C A White, F Cabanillas, V Jain, A D Ho, J Lister, K Wey, D Shen and B K Dallaire (1998) Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program, *Journal of Clinical Oncology* 1998 16:8, 2825-2833
 81. L. D. Piro, C. A. White, A. J. Grillo-López, N. Janakiraman, A. Saven, T. M. Beck, C. Varns, S. Shuey, M. Czuczman, J. W. Lynch, J. E. Kollit, V. Jain (1999) Extended Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) therapy for relapsed or refractory low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma, *Annals of Oncology*, Volume 10, Issue 6, Pages 655–661
 82. Thomas A. Davis, Antonio J. Grillo-López, Christine A. White, Peter McLaughlin, Myron S. Czuczman, Brian K. Link, David G. Maloney, Robin L. Weaver, Jay Rosenberg, Ronald Levyn (2000) Rituximab Anti-CD20 Monoclonal Antibody Therapy

- in Non-Hodgkin's Lymphoma: Safety and Efficacy of Re-Treatment, *Journal of Clinical* 18:17, 3135-3143
83. Robert Marcus, Kevin Imrie, Andrew Belch, David Cunningham, Eduardo Flores, John Catalano, Philippe Solal-Celigny, Fritz Offner, Jan Walewski, João Raposo, Andrew Jack, Paul Smith (2005) CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first-line treatment for advanced follicular lymphoma. *Blood*; 105 (4): 1417–1423
 84. Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. (2002) CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346(4):235-42
 85. Coiffier, B., Thieblemont, C., Van Den Neste, E., Lepeu, G., Plantier, I., Castaigne, S., ... Tilly, H. (2010). Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Blood*, 116(12), 2040–2045
 86. Dhillon, S. (2017) Obinutuzumab: A Review in Rituximab-Refractory or -Relapsed Follicular Lymphoma, *Targ Oncol* 12, 255–262
 87. Ma B, Ujjani C (2017) The clinical development of obinutuzumab for the treatment of follicular lymphoma, *Cancer Manag Res.*;9:103-113
 88. Sehn, L. H., Goy, A., Offner, F. C., Martinelli, G., Caballero, M. D., Gadeberg, O., ... Press, O. W. (2015) Randomized Phase II Trial Comparing Obinutuzumab (GA101) With Rituximab in Patients With Relapsed CD20+ Indolent B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma: Final Analysis of the GAUSS Study. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(30), 3467–3474.
 89. Sehn LH, Chua N, Mayer J et al. (2016) Obinutuzumab plus bendamustine versus bendamustine monotherapy in patients with rituximab-refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (GADOLIN): a randomised, controlled, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol.*;17(8):1081-1093
 90. Ducry L, Stump B. (2010) Antibody-drug conjugates: linking cytotoxic payloads to monoclonal antibodies. *Bioconjug Chem.*;21(1):5-13
 91. Deeks E. D. (2019) Polatuzumab Vedotin: First Global Approval. *Drugs*, 79(13), 1467–1475
 92. Laurie H Sehn, Alex F. Herrera, Matthew J Matasar, Manali Kamdar, Sarit Assouline, Mark Hertzberg, Tae Min Kim, Won-Seog Kim, Andrew McMillan, Muhit Özcan, Jamie M Hirata, Elicia Penuel, Ji Cheng, Grace Ku, Christopher R Flowers (2018) Polatuzumab Vedotin (Pola) Plus Bendamustine (B) with Rituximab (R) or Obinutuzumab (G) in Relapsed/Refractory (R/R) Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL): Updated Results of a Phase (Ph) Ib/II Study. *Blood*; 132 (Supplement 1): 1683
 93. Robyn A. A. Oldham, Jeffrey A. Medin (2017) Practical considerations for chimeric antigen receptor design and delivery, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 17:8, 961-978
 94. Makita, S., Imaizumi, K., Kurosawa, S., & Tobinai, K. (2019). Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma: opportunities and challenges. *Drugs in context*, 8, 212567

95. Subklewe M., von Bergwelt-Baildon M, Humpe (2019) A Chimeric Antigen Receptor T Cells: A Race to Revolutionize Cancer Therapy, *Transfusion Medicine Hemotherapy*;46:15–24
96. Androulla N. Miliotou and Lefkothea C. Papadopoulou (2018) CAR T-cell Therapy: A New Era in Cancer Immunotherapy, *Current Pharmaceutical Biotechnology* 19: 5
97. Gill S, Maus MV, Porter DL. (2015) Chimeric antigen receptor T cell therapy: 25years in the making. *Blood Rev.*;30(3):157-67
98. Chavez, J. C., Bachmeier, C., & Kharfan-Dabaja, M. A. (2019) CAR T-cell therapy for B-cell lymphomas: clinical trial results of available products. *Therapeutic advances in hematology*, 10, 2040620719841581
99. Benmebarek, M.-R.; Karches, C.H.; Cadilha, B.L.; Lesch, S.; Endres, S.; Kobold, S. (2019) Killing Mechanisms of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, 1283
100. Jain, M. D., Bachmeier, C. A., Phuoc, V. H., & Chavez, J. C. (2018) Axicabtagene ciloleucel (KTE-C19), an anti-CD19 CAR T therapy for the treatment of relapsed/refractory aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Therapeutics and clinical risk management*, 14, 1007–1017
101. Zachary J. Roberts, Marc Better, Adrian Bot, Margo R. Roberts, Antoni Ribas (2018) Axicabtagene ciloleucel, a first-in-class CAR T cell therapy for aggressive NHL, *Leukemia & Lymphoma*, 59:8, 1785-1796
102. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. (2017) Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.*;377(26):2531-2544
103. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al. (2019) Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.*;380(1):45-56
104. Goodman, A., Patel, S., Kurzrock, R. (2017) PD-1–PD-L1 immune-checkpoint blockade in B-cell lymphomas. *Nat Rev Clin Oncol* 14, 203–220
105. Farrell, K. and Jarrett, R.F. (2011), The molecular pathogenesis of Hodgkin lymphoma. *Histopathology*, 58: 15-25.
106. Shankland KR, Armitage JO, Hancock BW. (2012) Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet.*;380(9844):848-57
107. Dornan D, Bennett F, Chen Y, et al. (2009) Therapeutic potential of an anti-CD79b antibody-drug conjugate, anti-CD79b-vc-MMAE, for the treatment of non-Hodgkin lymphoma. *Blood.*;114(13):2721-9
108. Majzner, R.G., Mackall, C.L. (2019) Clinical lessons learned from the first leg of the CAR T cell journey. *Nat Med* 25, 1341–1355