



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες (BBE)»

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (CSCs)
ΣΤΗΝ ΑΝΤΟΧΗ ΠΟΥ ΑΝΑΠΤΥΣΣΕΤΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ
ΘΕΡΑΠΕΙΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ**



Όνοματεπώνυμο: Γρένδα Άννα

Επιβλέπων Καθηγητής: Κούκλης Παναγιώτης – Επίκουρος Καθηγητής Γενικής Βιολογίας

Συνεπιβλέποντες Καθηγητές: Αγγελίδης Χαράλαμπος – Καθηγητής Γενικής Βιολογίας

Σύρρου Μαρίκα – Καθηγήτρια Γενικής Βιολογίας – Ιατρικής Γενετικής



**UNIVERSITY OF IOANNINA
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE**



Postgraduate Programme “Basic Biomedical Sciences”

Master Thesis

**THE ROLE OF CANCER STEM CELLS (CSCs) AT THE
RESISTANCE, WHICH IS DEVELOPED DURING THERAPIES
WITH ANTI-CANCER DRUGS**



Anna Grenda

IOANNINA 2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα βλαστικά κύτταρα με ικανότητες αυτό-ανανέωσης και διαφοροποίησης έχουν γίνει σημείο έντονης μελέτης τα τελευταία χρόνια. Πιο συγκεκριμένα τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα (ASCs) εντοπίζονται σε καθορισμένες θέσεις στον οργανισμό, τους θύκους, και εκεί ρυθμίζεται η συμπεριφορά τους αλλά και η επικοινωνία τους με το εξωτερικό περιβάλλον. Ρόλος τους είναι η αναγέννηση ιστών και η διατήρηση της ακεραιότητας του οργανισμού. Συχνά όμως φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα χάνουν τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης τους και έτσι έχουμε την εμφάνιση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSCs) σε διάφορες κακοήθειες. CSCs μπορούν και ενεργοποιούν τα αρχικά στάδια της ογκογένεσης και επιπλέον συμβάλλουν στην επανεμφάνιση του καρκίνου ακόμα και μετά τις χημειοθεραπείες. Λόγω της πλαστικότητάς τους μπορούν και μετασχηματίζονται σε στελέχη με βλαστικές και μη βλαστικές ιδιότητες, αποφεύγουν τον κυτταρικό θάνατο και κάνουν μεταστάσεις, ακόμη και μετά από καιρό, καθώς έχουν την ικανότητα να μένουν αδρανή για μεγάλες χρονικές περιόδους. Οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες στοχεύουν κυρίως τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα καρκινικά κύτταρα ενώ τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα έχουν αναπτύξει τους κατάλληλους μηχανισμούς ώστε να αποφύγουν τη δράση των θεραπειών. Στην ανασκόπηση αυτή μελετάται ιδιαίτερα η αντοχή που αναπτύσσεται απέναντι στους αντικαρκινικούς παράγοντες (χημειοθεραπείες) στους διάφορους τύπους καρκίνου εξαιτίας της ύπαρξης των CSCs. Η στόχευση επομένως τόσο των ίδιων των κυττάρων αυτών όσο και του μικροπεριβάλλοντος τους μπορεί να οδηγήσει σε αποτελεσματικές θεραπείες.

Λέξεις-Κλειδιά: καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs), χημειοθεραπευτικοί παράγοντες, αντοχή, αποσιώπηση, ABC-μεταφορείς, μετάσταση, επανεμφάνιση καρκίνου

ABSTRACT

Stem cells are unspecialized cells with self-renewal and differentiation capabilities. Recent years, are the center of many scientific researches. More specifically, Adult Stem Cells (ASCs) are located in specific microenvironments in the body, known as niches, where they remain undifferentiated until they receive the appropriate signal. Their operation focuses on regenerating the damaged tissues and maintaining the homeostasis into the organism. Very often, though, stem cells proliferate uncontrollably, which leads to the appearance of Cancer Stem Cells (CSCs) in various malignancies. CSCs are able to activate oncogenesis, and in addition contribute to cancer recurrence even after a series of successful chemotherapies. Moreover, due to their plasticity they can switch between CSC and non-CSC states, avoid cell death and metastasize, even after a long period of life (cancer stem cell quiescence). Chemotherapeutic agents, which target mainly rapidly proliferating cancer cells, aren't effective in Cancer Stem Cells. This review studies in particular the developed resistance to anti-cancer drugs (chemotherapies) in different types of cancer due to the existence of CSCs. The selective targeting of CSCs and their microenvironment is a promising strategy against cancer.

Keywords: cancer stem cells (CSCs), chemotherapeutic agents, resistance, cancer stem cell quiescence, ABC-transporters, metastasis, cancer recurrence

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε κατά τη διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2020-2021 στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες», με κατεύθυνση «Βλαστικά κύτταρα-Γονιδιακή και Κυτταρική θεραπεία», στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Στο σημείο αυτό θα ήθελα πρώτα από όλους να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου Κούκλη Παναγιώτη, Επίκουρος Καθηγητής Γενικής Βιολογίας, που με εμπιστεύτηκε για την ανάθεση της συγκεκριμένης διπλωματικής. Η συνεργασία μας ήταν άψογη και η καθοδήγησή του σε κάθε βήμα ήταν πολύ σημαντική για την ολοκλήρωσή της. Τις ευχαριστίες μου θα ήθελα να εκφράσω και στον υπεύθυνο καθηγητή του Μεταπτυχιακού, Αγγελίδη Χαράλαμπο, καθώς και στην καθηγήτρια Σύρρου Μαρίκα, που δέχτηκαν να είναι μέλη της τριμελούς επιτροπής αξιολόγησης της μεταπτυχιακής εργασίας. Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για την υπομονή και τη ψυχολογική υποστήριξη που μου πρόσφεραν μέχρι να φτάσω στον τελικό μου στόχο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | |
|---|----|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ | 3 |
| ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ | 4 |
| ΒΑΣΙΚΟΙ ΟΡΟΙ | 6 |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 9 |
| ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ | 12 |
| <i>ΜΟΝΟΠΑΤΙ WNT/ B-KATENINΗΣ</i> | 12 |
| <i>ΜΟΝΟΠΑΤΙ NOTCH/DELTA</i> | 13 |
| <i>TRANSFORMING GROWTH FACTOR-B (TGF-β)</i> | 14 |
| <i>ΜΟΝΟΠΑΤΙ HEDGEHOG</i> | 16 |
| <i>ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΚΙΝΑΣΗ-ΤΥΡΟΣΙΝΗΣ</i> | 17 |
| <i>ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ PI3K/Akt</i> | 18 |
| <i>ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ</i> | 19 |
| <i>ΜΟΝΟΠΑΤΙ NF-κB</i> | 20 |
| <i>ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ HIPPO</i> | 20 |
| ΠΛΕΙΟΔΥΝΑΜΑ-ΕΝΗΛΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (ASCs) | 22 |
| ΘΩΚΟΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ | 26 |
| ΚΑΡΚΙΝΟΣ-ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (CSCs) ΚΑΙ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΟΥΣ | 31 |
| Ο ΘΩΚΟΣ ΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (CSCs) | 40 |
| <i>ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΟΥΣ ΜΕ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ (CAFs)</i> | 41 |
| <i>ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (MCSs)</i> | 41 |
| <i>ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ</i> | 41 |
| <i>ΥΠΟΞΙΑ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ</i> | 42 |
| <i>ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ-ΜΗΤΡΑΣ ΚΑΙ ΕΠΑΦΗ ΚΥΤΤΑΡΟΥ-ΚΥΤΤΑΡΟΥ</i> | 42 |
| <i>CSCs ΚΑΙ ΜΗ-CSCs</i> | 42 |
| ΣΤΟΧΕΥΣΗ ΤΩΝ CSCs ΚΑΙ ΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΤΟΥ ΘΩΚΟΥ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ... | 43 |
| ΚΥΡΙΩΣ ΘΕΜΑ | 46 |
| ΚΑΡΚΙΝΟΣ-ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ | 46 |
| ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΙΣ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΕΣ..... | 48 |
| Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ CSCs ΣΤΗΝ ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΑ ΦΑΡΜΑΚΑ | 55 |
| <i>Σηματοδοτικά μονοπάτια υπεύθυνα για την ανθεκτικότητα των CSCs</i> | 61 |

| | |
|---|----|
| ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ-ΦΑΡΜΑΚΑ-ΑΝΤΟΧΗ ΛΟΓΩ ΤΩΝ CSCs..... | 64 |
| <i>AML (οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία)</i> | 64 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ (Breast Cancer)</i> | 66 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ (Colon cancer)</i> | 68 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΩΝ (Lung Cancer)</i> | 70 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ (Brain Cancer)- ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑ</i> | 73 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ (Pancreatic cancer)</i> | 74 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΗΠΑΤΟΣ (Liver Cancer)</i> | 76 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ (Gastric cancer)</i> | 79 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ (Ovarian cancer)</i> | 81 |
| <i>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΡΟΣΤΑΤΗ (Prostate cancer)</i> | 83 |
| ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΑ ΣΧΕΔΙΑ..... | 87 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 90 |

ΒΑΣΙΚΟΙ ΟΡΟΙ

Απο-διαφοροποίηση (dedifferentiation): Είναι η διαδικασία κατά την οποία ένα μερικώς ή τελικώς διαφοροποιημένο κύτταρο, επιστρέφει σε ένα προηγούμενο αναπτυξιακό στάδιο. Συνήθως, είναι μέρος μιας αναγεννητικής διαδικασίας

Δείκτες Επιφανείας: Πρωτεΐνες που βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια και χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση (αναγνώριση) των κυττάρων

Δια-διαφοροποίηση (transdifferentiation): Αναφέρεται ως η διαδικασία που περιγράφει τη διαφορετική από την προβλεπόμενη ιστοειδική κατεύθυνση που ακολουθεί ένα βλαστικό κύτταρο συγκεκριμένου ιστού κατά τη διαφοροποίησή του

Ε-καντερίνη: Οι ε-καντερίνες, γνωστές και ως επιθηλιακές καντερίνες, είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων και μπορούν να σχηματίσουν γέφυρες με άλλες καντερίνες ίδιου είδους σε γειτονικά κύτταρα. Η απώλεια του προσκολλητικού αυτού μορίου, εμπλέκεται στο σχηματισμό διαφόρων τύπων επιθηλιακών καρκίνων (πχ. καρκινώματα)

Ιντερλευκίνες: Είναι ένα υποσύνολο μιας μεγαλύτερης ομάδας αγγελιοφόρων κυτταρικών μορίων που ονομάζονται κυτοκίνες και ρυθμίζουν την κυτταρική συμπεριφορά. Δεν αποθηκεύονται στα κύτταρα αλλά εκκρίνονται άμεσα ως απόκριση σε κάποιο ερέθισμα. Οι ιντερλευκίνες ρυθμίζουν την ανάπτυξη των κυττάρων, τη διαφοροποίηση, την κινητικότητα και είναι ιδιαίτερα σημαντικές στις ανοσολογικές αποκρίσεις (πχ. φλεγμονές)

Ισομορφή: Οι ισομορφές μιας πρωτεΐνης έχουν την ίδια λειτουργία, αλλά διαφορετική πρωτοταγή δομή. Μπορεί να προέρχονται από διαφορετικά γονίδια ή από την ιστο-ειδική επεξεργασία του προϊόντος του ίδιου γονιδίου

Κασπάσες: Πρωτεάσες με πολύ εξειδικευμένη δράση. Διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διαδικασία της απόπτωσης. Υπάρχουν στο κυτταρόπλασμα με τη μορφή προενζύμων

Μεταγραφικός παράγοντας: Πρωτεΐνη που ελέγχει τη μεταγραφή συγκεκριμένων γονιδίων

Μετάσταση: Μετανάστευση και πολλαπλασιασμός καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένες θέσεις μέσα στο σώμα

Ογκογονικότητα: Η ικανότητα δημιουργίας όγκων

Σύστημα σεροτονίνης-ντοπαμίνης: Δύο νευροδιαβιβαστές που δε δρουν ανεξάρτητα. Αλληλεπιδρούν και επηρεάζουν ο ένας τον άλλο με στόχο τη διατήρηση μιας χημικής ισορροπίας στο σώμα

Φαγοκυττάρωση: Η ικανότητα των κυττάρων να συλλαμβάνουν και να ενσωματώνουν στο κυτταρόπλασμα τους μικροοργανισμούς ή σωματίδια

EMT (epithelial-mesenchymal transition): Επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετάπτωση είναι η διαδικασία κατά την οποία τα επιθηλιακά κύτταρα χάνουν την κυτταρική τους πολικότητα και τη σύνδεση μεταξύ τους και αποκτούν μεταναστευτικές και ικανότητες εισβολής ώστε να γίνουν μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (πλειοδύναμα στρωματικά κύτταρα που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μία ποικιλία κυτταρικών τύπων). Η EMT συμβάλλει στην έναρξη της μετάστασης και την εξέλιξη του καρκίνου

MET (mesenchymal-epithelial transition): Μεσεγχυματική προς επιθηλιακή μετάπτωση είναι μία αναστρέψιμη βιολογική διαδικασία που περιλαμβάνει τη μετάβαση από τα κινητικά, πολυπολικά μεσεγχυματικά κύτταρα σε επίπεδες συστοιχίες πολωμένων κυττάρων που ονομάζονται επιθήλια. Είναι η αντίθετη διαδικασία της EMT και εντοπίζεται και στις μεταστάσεις του καρκίνου

Myc: Οικογένεια ρυθμιστικών γονιδίων και πρωτο-ογκογονιδίων που κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες. Χαρακτηριστικά το ανθρώπινο γονίδιο c-myc, συχνά εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στον καρκίνο

NANOG: Μεταγραφικός παράγοντας που βοηθά τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα (ESCs) να διατηρήσουν την πολυδυναμία τους, καταστέλλοντας παράγοντες που θα οδηγούσαν στη διαφοροποίησή τους. Πολλοί διαφορετικοί τύποι καρκίνου σχετίζονται με το Nanog

OCT4: Μεταγραφικός παράγοντας που εμπλέκεται στην αυτό-ανανέωση των μη-διαφοροποιημένων εμβρυϊκών κυττάρων. Συχνά χρησιμοποιείται ως δείκτης για τα αδιαφοροποίητα κύτταρα. Δεν σχετίζεται μόνο με τη διατήρηση της πολυδυναμίας, μπορεί και ρυθμίζει συχνά τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων

P53: Η p53 είναι μία πυρηνική πρωτεΐνη, που κωδικοποιείται από το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 και λειτουργεί ως ρυθμιστικός παράγοντας στην ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου. Το γονίδιο p53 χαρακτηρίζεται ως «μοριακός φύλακας του γονιδιώματος». Συμμετέχει ενεργά τόσο στη διαδικασία επιδιόρθωσης του DNA, όσο και στην απόπτωση των κυττάρων με αλλοιωμένο DNA

ROS (Reactive Oxygen Species): Δραστικές μορφές οξυγόνου που μπορούν και βλάπτουν όλα τα συστατικά του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA. Παράγονται σε χαμηλά επίπεδα από τον αερόβιο μεταβολισμό και οι βλάβες που προκαλούν επιδιορθώνονται συνεχώς. Αυξημένες συγκεντρώσεις τους (σε καταστάσεις στρες κυρίως) μπορούν να προκαλέσουν κυτταρική νέκρωση

SOX2: Παράγοντας διατήρησης της πολυδυναμίας στα βλαστικά κύτταρα, μέλος της οικογένειας των μεταγραφικών παραγόντων που παίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλά στάδια της ανάπτυξης των θηλαστικών

STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3): Μεταγραφικός παράγοντας που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο STAT3. Μεσολαβεί στην έκφραση μιας ποικιλίας γονιδίων ως απόκριση στα ερεθίσματα των κυττάρων και παίζει βασικό ρόλο σε πολλές κυτταρικές διεργασίες, όπως η ανάπτυξη των κυττάρων και η απόπτωση

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στον κλάδο της Βιολογίας αλλά και της Ιατρικής τα τελευταία χρόνια έχουν κάνει την εμφάνιση τους τα βλαστικά κύτταρα. Η μελέτη τους έχει βοηθήσει πολύ στην αναγεννητική ιατρική και έχει δώσει λύση σε πολλά προβλήματα. Η κατανόηση του μηχανισμού δράσης τους είναι σημαντική ώστε να ξεπεραστούν εμπόδια που τυχόν εμφανίζονται λόγω των ιδιαίτερων ιδιοτήτων τους.

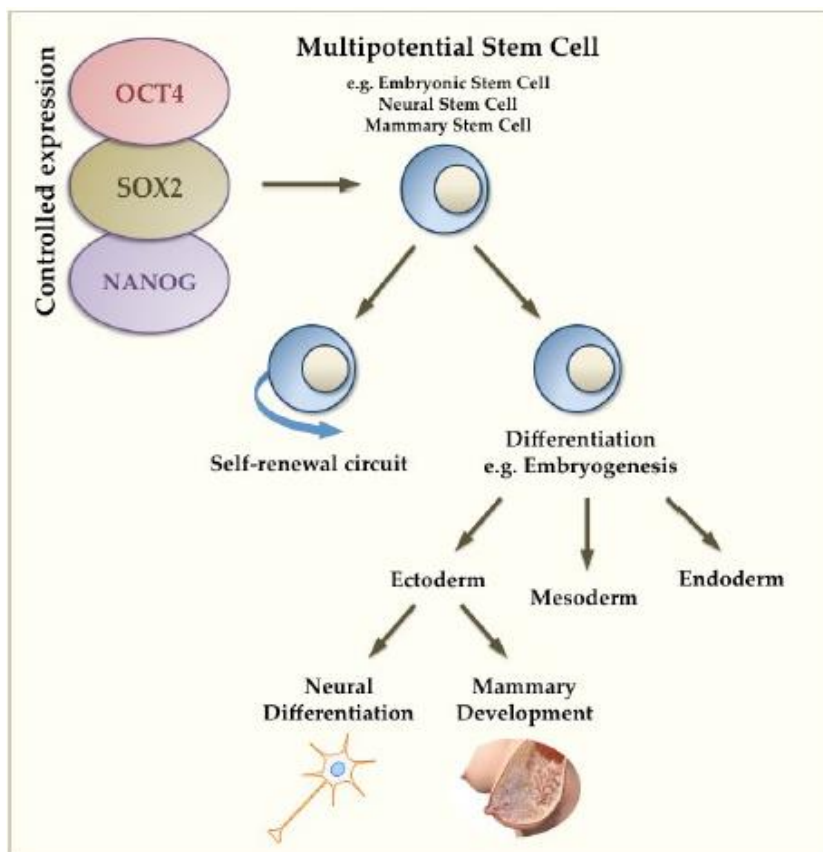
Τα βλαστοκύτταρα είναι κύτταρα που έχουν δύο βασικές ικανότητες, αυτή της αυτό-ανανέωσης και της διαφοροποίησης τους σε διάφορους τύπους ιστών. Τα ώριμα κύτταρα έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής, άρα τα βλαστικά κύτταρα είναι αυτά που θα αναπληρώσουν τα γηρασμένα κύτταρα και θα διαιωνίσουν τον εαυτό τους ώστε να διατηρηθεί η ομοιότητα ενός ιστού. Ο πληθυσμός τους εξαρτάται από την ισορροπία αυτό-ανανέωσης και διαφοροποίησης του κυττάρου. Όταν ο ρυθμός αυτό-ανανέωσης είναι υψηλότερος από αυτόν της διαφοροποίησης τότε ο πληθυσμός των βλαστικών κυττάρων επεκτείνεται, ενώ όταν ο ρυθμός αυτό-ανανέωσης είναι χαμηλότερος από τον ρυθμό διαφοροποίησης ο πληθυσμός τους μειώνεται εξαιτίας της εξάντλησής τους. Επιπλέον, τα κυτταρικά ενδογενή δίκτυα συνεργάζονται μέσω σημάτων με το μικροπεριβάλλον (θάκος) για την τελειοποίηση της ικανότητας της αυτό-ανανέωσης και τη διατήρηση της ομοιοστασίας του ιστού. (Keisuke & Toshio, 2014)

Βλαστοκύτταρα υπάρχουν τόσο στα έμβρυα όσο και στους ενήλικους ιστούς, μόνο που αλλάζει το δυναμικό της διαφοροποίησης τους. Σύμφωνα λοιπόν με αυτό το δυναμικό διαφοροποίησης μπορούμε να τα κατηγοριοποιήσουμε. Πρώτα είναι τα ολοδύναμα με τον υψηλότερο βαθμό διαφοροποίησης. Τα κύτταρα αυτά επιτρέπουν τη δημιουργία εμβρυϊκών και εξω-εμβρυϊκών δομών και διαφοροποιούνται σε κύτταρα ολόκληρου του οργανισμού. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το ζυγωτό, που σχηματίζεται όταν ένα σπερματοζώαριο γονιμοποιήσει ένα ωάριο. Στη συνέχεια, το κύτταρο αυτό μπορεί να αναπτυχθεί είτε σε κάποια από τις τρεις βλαστικές στιβάδες είτε να σχηματίσει τον πλακούντα. Με λίγο μικρότερο βαθμό διαφοροποίησης έχουμε τα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα, που έχουν τη δυνατότητα να σχηματίσουν κύτταρα και των τριών βλαστικών στιβάδων αλλά όχι εξω-εμβρυϊκών δομών. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, που προέρχονται από την εσωτερική κυτταρική μάζα των προ-εμφυτευτικών εμβρύων. Τα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα που δημιουργούνται τεχνητά από σωματικά κύτταρα στις κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας, αποτελούν άλλο ένα παράδειγμα πολυδύναμων κυττάρων. Πολυδύναμα κύτταρα, καθώς

διαφοροποιούνται καταλήγουν σε αντιπροσώπους με μικρότερο δυναμικό όπως τα πλειοδύναμα βλαστικά κύτταρα. Η ομάδα αυτή κυττάρων ειδικεύεται σε διακριτές κυτταρικές σειρές. Το αιμοποιητικό βλαστικό κύτταρο για παράδειγμα μπορεί να δώσει πολλούς τύπους κυττάρων του αιμοποιητικού συστήματος. Μετά την περαιτέρω διαφοροποίηση τους, τα κύτταρα αυτά χάνουν ακόμη περισσότερο την ισχύ τους και γίνονται ολιγοδύναμα. Οι ικανότητες διαφοροποίησης των ολιγοδύναμων κυττάρων περιορίζονται σε κύτταρα της γενεάς τους. Ένα βλαστικό κύτταρο της μυελικής σειράς μπορεί να δώσει μόνο λευκά αιμοσφαίρια και όχι ερυθρά. Τέλος έχουμε τα μονο-δύναμα βλαστικά κύτταρα που μπορούν να σχηματίσουν μια συγκεκριμένη κυτταρική σειρά και δεν μπορούν να γυρίσουν σε προηγούμενα στάδια, η μοίρα τους δηλαδή είναι πλέον καθορισμένη. (Zakrzewski et al., 2019)

Τα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (PSCs) προσέλκυσαν το ενδιαφέρον, με την επιτυχή απομόνωση των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων (ESC) από την εσωτερική κυτταρική μάζα των ποντικών και ανθρώπινων εμβρύων. Τα τελευταία χρόνια όμως κύτταρα με παρόμοιες ιδιότητες απομονώθηκαν και από όργανα ενός ενήλικα-ενήλικα βλαστικά κύτταρα (adult stem cells). Τα κύτταρα αυτά είναι πλειοδύναμα και έχουν θεωρηθεί ως υπολείμματα της εμβρυϊκής ανάπτυξης που διευκολύνουν την ομοιόσταση ενός κανονικού ιστού κατά την επισκευή και την αναγέννηση. Μοιράζονται ορισμένα χαρακτηριστικά των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων, όπως την εγγενή ικανότητα αυτό-ανανέωσης και διαφοροποίησης, ιδιότητες που ρυθμίζονται από τους τρεις βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες (TFs) πολυδυναμίας OCT4, SOX2 και την πρωτεΐνη NANOG. Η μη φυσιολογική έκφραση αυτών των μεταγραφικών παραγόντων μπορεί να είναι ογκογενής με αποτέλεσμα τη δημιουργία ετερογενών όγκων που τροφοδοτούνται από καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs), τα οποία είναι ανθεκτικά στις συμβατικές θεραπείες και σχετίζονται με την επανεμφάνιση του όγκου μετά την θεραπεία. (3) Οι μεταγραφικοί παράγοντες επομένως OCT4, SOX2 και NANOG είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση και το χαρακτηρισμό των ESCs και των άλλων πλειοδύναμων κυττάρων καθώς διαδραματίζουν βασικούς ρόλους στον έλεγχο και στον καθορισμό δημιουργίας συγκεκριμένων κυτταρικών σειρών. Στα ESC ο OCT4 προωθεί τα κύτταρα προς τη μεσοδερμική σειρά, καταστέλλει τη διαφοροποίηση της εξωδερμικής σειράς και η έκφρασή του μειώνεται μαζί με αυτή του NANOG κατά τη διάρκεια διαφοροποίησης του ενδοδέρματος. Ο SOX2 καταστέλλει τη μεσοδερμική διαφοροποίηση και η έκφρασή του ρυθμίζεται θετικά κατά τη δημιουργία ανθρώπινων εμβρυονικών κυτταρικών σειρών σε εξώδερμα και σχηματισμού του νευρικού σωλήνα (εικόνα 1). Η έκφραση του NANOG

εμφανίζεται κυρίως στα πολυδύναμα κύτταρα και μειώνεται με εκθετικό τρόπο κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης και της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Επιπλέον, οι παράγοντες αυτοί ρυθμίζουν την μεταγραφική δραστηριότητα των υποκινητών των δικών τους γονιδίων, δημιουργώντας έτσι έναν αυτορυθμιζόμενο βρόγχο. Η αυτορύθμιση αυτή είναι ένα εξαιρετικά συντηρημένο φαινόμενο και υποδηλώνει τη σημασία της στη φυσιολογική λειτουργία των βλαστικών κυττάρων. (Seymour et al., 2015)



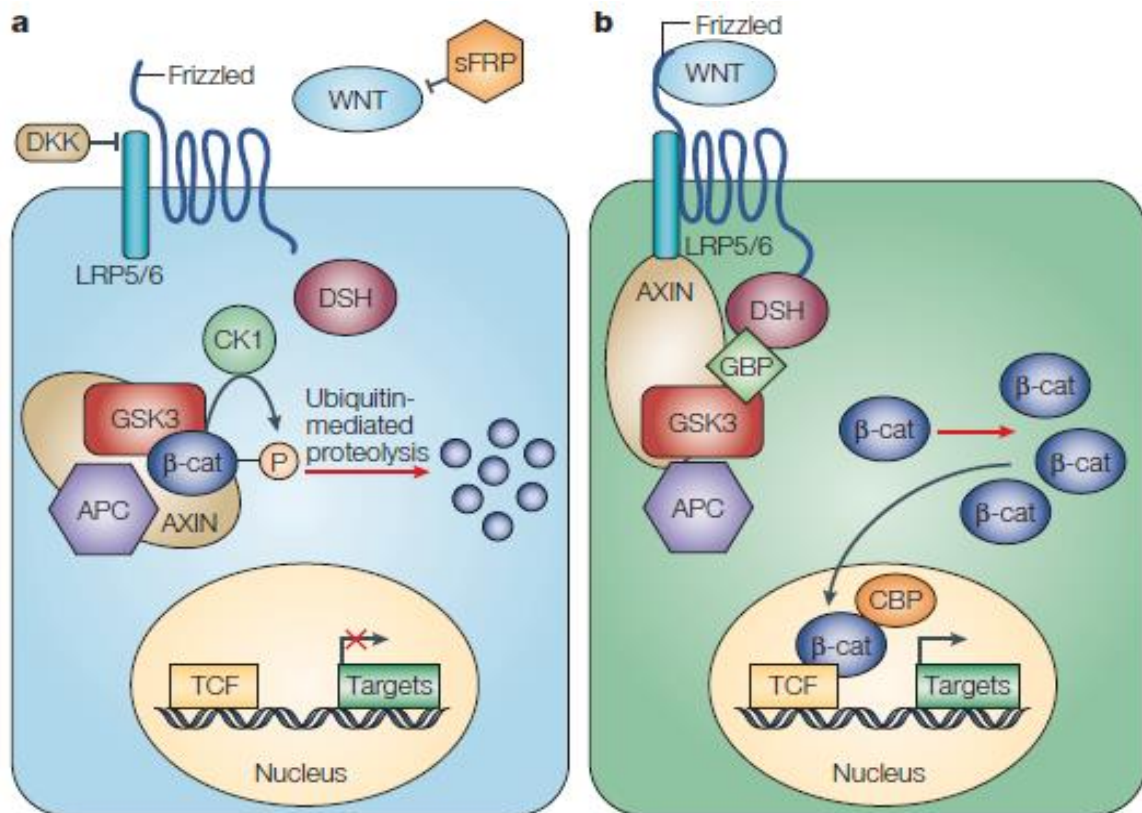
Εικόνα 1. Ελεγχόμενη έκφραση των γονιδίων πολυδυναμίας σε πλειοδύναμα βλαστικά κύτταρα. Η στενή ρύθμιση του OCT4, SOX2 και NANOG ελέγχει την ισορροπία μεταξύ αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης. (Seymour et al., 2015)

Εκτός όμως από αυτούς τους βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες, υπάρχουν κάποια κυτταρικά ενδογενή δίκτυα στα διάφορα είδη βλαστικών κυττάρων, που επικοινωνούν μέσω σημάτων με το μικροπεριβάλλον τους για τη διατήρηση της ομοιοστασίας του ιστού. Είναι σημαντικό επομένως να γνωρίζουμε τα κυριότερα σηματοδοτικά μονοπάτια για να καταλάβουμε πως μεταφέρεται ένα μήνυμα.

ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ

ΜΟΝΟΠΑΤΙ WNT/Β-ΚΑΤΕΝΙΝΗΣ

Η σηματοδότηση του Wnt αναγνωρίστηκε πρώτη φορά για το ρόλο της στην καρκινογένεση. Τα μέλη της οικογένειας Wnt είναι μορφογόνα που ελέγχουν πολλές διαδικασίες. Ένα σύνολο βασικών πρωτεϊνών που τροποποιούνται από άλλες πρωτεΐνες εμπλέκονται σε αυτό το μονοπάτι. Οι υποδοχείς για τα Wnts είναι οι μια οικογένεια G-πρωτεϊνών, οι Frizzled. Απουσία των Wnts, η κυττατοπλασματική πρωτεΐνη β-κατενίνη στρατολογείται σε ένα πολυπρωτεϊνικό σύμπλοκο καταστροφής, που αποτελείται από το APC, την AXIN και την κινάση GSK3. Εκεί διευκολύνεται η φωσφορυλίωση της από την κινάση CK1 και στη συνέχεια από την κινάση GSK3 και οδηγείται σε αποικοδόμηση. Τα επίπεδα της β-κατενίνης παραμένουν χαμηλά, η β-κατενίνη απουσιάζει από τον πυρήνα και η έκφραση των γονιδίων στόχων καταστέλλεται από τον T-κυτταρικό παράγοντα TCF και την πρωτεΐνη LEF. Οι εξωτερικοί συνδέτες Wnts αλληλεπιδρούν με κάποιους ανταγωνιστές Frizzled-related protein (sFRP) και Dickkopf (DKK) αποτρέποντας την ενεργοποίηση του μονοπατιού (εικόνα 2). Ωστόσο όταν η τοπική συγκέντρωση των Wnts υπερβεί αυτή των αναστολέων, συνδέονται με τους υποδοχείς Frizzled και πιθανώς με τις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες LPR5 και LPR6. Η σύνδεση των Wnts με τους υποδοχείς Frizzled οδηγεί στην ενεργοποίηση της πρωτεΐνης Dishevelled (DSH). Το σύμπλοκο APC-AXIN-GSK3 μεταφέρεται στη μεμβράνη, η AXIN συνδέεται με τις ουρές των LRP5/6 και χάνει την ενεργότητά της. Επιπλέον η ενεργοποίηση της DSH οδηγεί σε καταστολή της GSK3 και μειώνεται περαιτέρω η φωσφορυλίωση και η αποικοδόμηση της β-κατενίνης. Ως αποτέλεσμα, η β-κατενίνη συσσωρεύεται στο κυτταρόπλασμα και ένα μέρος της μετατοπίζεται στον πυρήνα. Εκεί συνδέεται με τους καταστολείς TCFs και LEFs ενεργοποιώντας τη μεταγραφή των γονιδίων-στόχων (Randall et al., 2004).



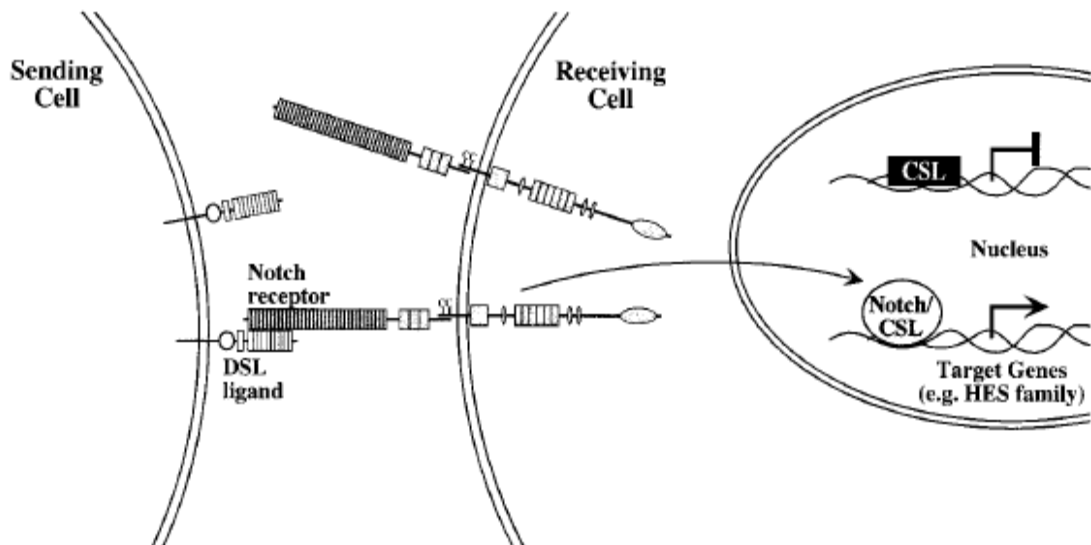
Εικόνα 2. Σηματοδότηση Wnt/ β -κατενίνης α. Απουσία συνδετών β. Παρουσία συνδετών (Randall et al., 2004)

ΜΟΝΟΠΑΤΙ NOTCH/DELTA

Η σηματοδότηση Notch είναι ένα σύστημα μικρής εμβέλειας που συμμετέχει στη ρύθμιση πολλών κυτταρικών διεργασιών κατά την ανάπτυξη και την ανανέωση των ενήλικων ιστών. Εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό, τη συντήρηση των βλαστικών κυττάρων και των θύκων τους, στον καθορισμό της τύχης των κυττάρων, στη διαφοροποίηση και στον κυτταρικό θάνατο (Pagan & Koran, 2007).

Στο μονοπάτι Notch/Delta τόσο οι προσδέτες Delta και Jagged (Serrate στη *Drosophila*) όσο και ο υποδοχέας Notch, είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, επομένως για να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους θα πρέπει τα κύτταρα που συνθέτουν τα μόρια αυτά να βρίσκονται σε επαφή. Η αλληλεπίδραση των προσδετών γνωστών και ως DSL (Delta, Serrate and Lag2) πρωτεϊνών ενεργοποιούν τους υποδοχείς Notch και προκαλούν την πρωτεολυτική αποκοπή της ενδοκυττάριας περιοχής του Notch (Notch IntraCellular Domain, NICD), από μία ενδομεμβρανική πρωτεάση, τη γ -σεκρετάση (εικόνα 3).

Core Notch Signaling Pathway



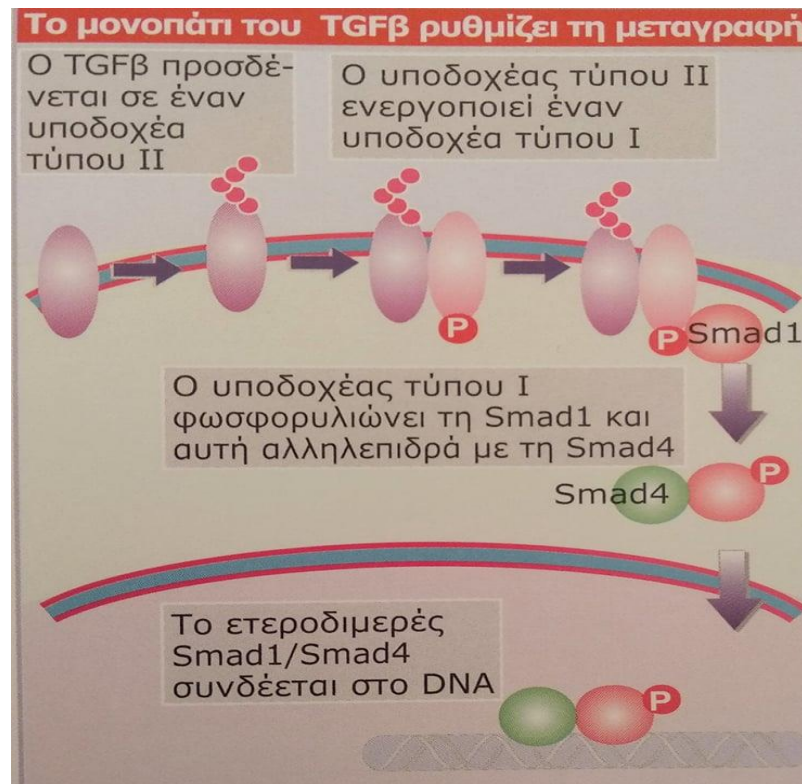
Εικόνα 3. Σηματοδοτικό μονοπάτι του Notch. Τα τέσσερα βασικά στοιχεία του συστήματος φαίνονται διαγραμματικά. Ο υποδοχέας Notch, ο προσδέτης DSL (Delta,Serrate,Lag2), ο μεταγραφικός παράγοντας CSL (CBF1,Suppressor of hairless, Lag1) και γονίδια-στόχοι (όπως της οικογένειας HES-Hairy/Enhancer of Split). Μετά τη σύνδεση του προσδέτη στο Notch, ο CSL από μεταγραφικό καταστολέα μετατρέπεται σε μεταγραφικό ενεργοποιητή μέσω αλληλεπίδρασης με NICD (Notch IntraCellular Domain) (Mumm & Koran, 2000)

Το γεγονός αυτό οδηγεί στην κυτταροπλασματική απελευθέρωση ενός μεταγραφικού παράγοντα, του CSL-κ (ομάδα CBF1, SuCH και Lag1, καταστολέας του hairless στη *Drosophila*). Ο παράγοντας αυτός μεταναστεύει στον πυρήνα και ενεργοποιεί γονίδια-στόχους, όπως της οικογένειας Hes (hairly-enhancer of split). Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών κωδικοποιούν με τη σειρά τους άλλους μεταγραφικούς ρυθμιστές για την απαραίτητη μετάδοση του σήματος (Mumm & Koran, 2000).

TRANSFORMING GROWTH FACTOR-B (TGF-β)

Το σύστημα σηματοδότησης αυτού του τύπου είναι σημαντικό στην πρώιμη εμβρυϊκή ανάπτυξη. Ο TGF-β είναι ισχυρός καταστολέας του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και για αυτό το μονοπάτι αυτό ενέχεται να συμμετέχει και στην καταστολή όγκων. Η οικογένεια των πρωτεϊνών TGF-β περιλαμβάνει πολλούς συγγενικούς πολυπεπτιδικούς προσδέτες. Οι προσδέτες αυτοί συνδέονται σε υποδοχείς που συγκροτούνται από διαγορευτικές υπομονάδες τύπου I και τύπου II και η κυτταροπλασματική τους περιοχή έχει ενεργότητα κινάσης σερίνης/θρεονίνης. Όλοι οι υποδοχείς με ενεργότητα κινάσης σερίνης/θρεονίνης είναι μέλη της οικογένειας των υποδοχέων του TGF-β. Κατά τη σηματοδότηση ο προσδέτης δεσμεύεται από έναν υποδοχέα τύπου II και αμέσως επιστρατεύεται και ο

υποδοχέας τύπου I για να σχηματισθεί ένα ετεροδιμερές σύμπλοκο, στο οποίο ο υποδοχέας τύπου II φωσφορυλιώνει τον υποδοχέα τύπου I και τον ενεργοποιεί (εικόνα 4).

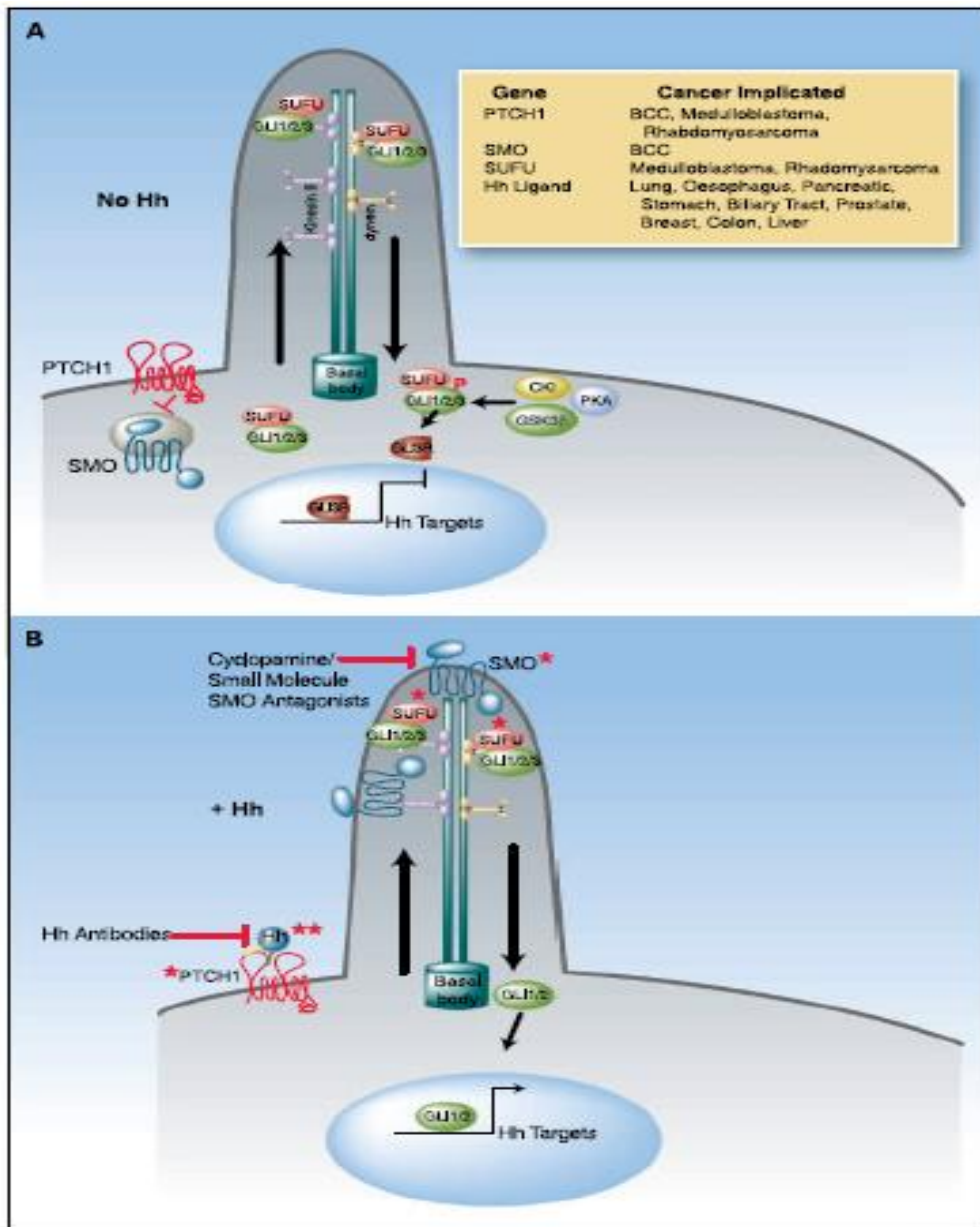


Εικόνα 4. Η ενεργοποίηση υποδοχέων του TGF-β προκαλεί τη φωσφορυλίωση μιας Smad, η οποία μετατοπίζεται στον πυρήνα, όπου ενεργοποιεί τη μεταγραφή. (Lewin, 2005)

Στο ενεργό σύμπλοκο, ο υποδοχέας τύπου I φωσφορυλιώνει ένα μέλος της οικογένειας των κυτταροδιαλυτών παραγόντων Smad. Ένας ενεργοποιητής Smad φωσφορυλιώνεται στο C-τελικό άκρο και αυτό προκαλεί το διμερισμό του με έναν κοινό εταίρο, τον Smad4. Το ετεροδιμερές των Smad μετατοπίζεται στον πυρήνα, προσδένεται στο DNA και προκαλεί τη μεταγραφή γονιδίων-στόχων. Υπάρχουν εννιά πρωτεΐνες Smad, που διακρίνονται λειτουργικά σε τρεις κατηγορίες. Οι ενεργοποιητές που λειτουργούν αποκλειστικά σε ένα μονοπάτι είναι οι Smad 2 και 3 (που μεσολαβούν στη σηματοδότηση μέσω TGF-β/ακτιβίνης) και οι Smad 1 και 5 (που ενεργοποιούν τη σηματοδότηση μέσω BMP-μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών). Η Smad4 αποτελεί τον κοινό εταίρο διμερισμού για όλες τις Smad, όλων των μονοπατιών. Οι κατασταλτικές Smad δρουν ως ανταγωνιστές των ενεργοποιητών Smad, αυξάνοντας την πολυπλοκότητα του μονοπατιού. Στην υπεροικογένεια του TGF-β, κάθε προσδέτης ενεργοποιεί ένα συγκεκριμένο υποδοχέα που μετάγει σήματα μέσω ενός χαρακτηριστικού συνδυασμού πρωτεϊνών Smad. Διάφορες άλλες πρωτεΐνες προσδένονται στα διμερή των Smad και επηρεάζουν την ικανότητά τους να επιδρούν στη μεταγραφή (Lewin, 2005).

ΜΟΝΟΠΑΤΙ HEDGEHOG

Το μονοπάτι Hedgehog περιέχει έναν καταρράκτη σημάτων που είναι σημαντικά για την ορθή ανάπτυξη. Σε μοριακό επίπεδο, οι πρωτεϊνικοί συνδέτες Hedgehog οδηγούν στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων σε μερικούς κυτταρικούς τύπους οδηγώντας ταυτόχρονα άλλους προς τη διαφοροποίηση. Η σηματοδότηση αυτή είναι πιο ενεργή κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης και η μη ομαλή επανενεργοποίησή της σε ενήλικους ιστούς μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη καρκίνου. Το Hedgehog (Hh) είναι ένα μορφογόνο, συντίθεται ως πρόδρομο πολυπεπίδιο με ενεργότητα πρωτεάσης και δρα αυτοκαταλυτικά απελευθερώνοντας από το πρόδρομο πολυπεπίδιο το ενεργό αμινοτελικό τμήμα του. Το τμήμα αυτό τροποποιείται με προσθήκη μιας ακυλομάδας λιπαρού οξέος και χοληστερόλης. Οι προσθήκες αυτές είναι απαραίτητες για τη βιολογική ενεργότητα του μορίου στη σηματοδότηση. Στα κύτταρα που λαμβάνουν το σήμα Hh ακολουθεί η μετάδοσή του σε πολλαπλά επίπεδα. Ο υποδοχέας patched, ένας μεμβρανικός υποδοχέας, είναι ιδιοστατικά ενεργός και η ενεργότητά του καταστέλλεται από τη πρόσδεση του Hedgehog. Απουσία συνδέτη ο ενεργός υποδοχέας patched καταστέλλει την ενεργότητα ενός άλλου μεμβρανικού μορίου, του *smoothed*, εμποδίζοντας τον εντοπισμό του στην κυτταρική επιφάνεια. Το *smoothed* όταν είναι ενεργό, καταστέλλει την ειδική πρωτεόλυση των μεταγραφικών παραγόντων της οικογένειας Gli, οι οποίοι δρουν είτε ως ενεργοποιητές Gli1 και Gli2 (παρουσία της καρβοξυτελικής περιοχής τους) είτε ως καταστολείς Gli3 (μορφή με αμινοτελικό τερματικό άκρο)(Evangelista et al., 2006). Απουσία λοιπόν hedgehog ο patched είναι ενεργός, το *smoothed* ανενεργό, επομένως αφαιρείται το καρβοξυτελικό άκρο από τους παράγοντες Gli και καταστέλλουν τη μεταγραφή των γονιδίων-στόχων. Μια ακόμη πρωτεΐνη Sufu (Suppressor of fused) δρα σαν αρνητικός ρυθμιστής της σηματοδοτικής οδού δεσμεύοντας τις πρωτεΐνες Gli, που δρουν ως ενεργοποιητές, τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στον πυρήνα. Έτσι εμποδίζεται και με αυτόν τον τρόπο η ενεργοποίηση της μεταγραφής των γονιδίων-στόχων (εικόνα 5).



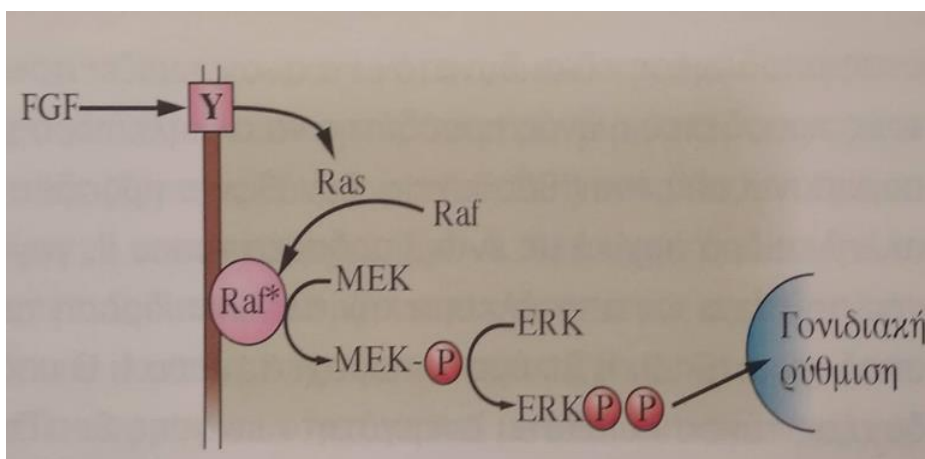
Εικόνα 5. Μοντέλο σηματοδότησης του Hedgehog A. Απουσία συνδέτη B. Παρουσία συνδέτη. Επιπλοκές στα γονίδια που κωδικοποιούν τις βασικές πρωτεΐνες του μονοπατιού εμπλέκονται σε διάφορα είδη καρκίνων (Evangelista et al., 2006)

Παρουσία hedgehog, ο υποδοχέας patched απενεργοποιείται, το smoothened είναι ενεργό και οι παράγοντες Gli δεν υφίστανται πρωτεόλυση. Σαν αποτέλεσμα μεταφέρονται στον πυρήνα και ενεργοποιούν τα γονίδια-στόχους τους.

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΚΙΝΑΣΗ-ΤΥΡΟΣΙΝΗΣ

Οι υποδοχείς με ενεργότητα κινάσης-τυροσίνης (receptor tyrosine kinase, RTKs) είναι μια οικογένεια διαμεμβρανικών πρωτεϊνών. Στην εξωκυττάρια περιοχή τους συνδέεται κάποιος συνδέτης ενώ η ενδοκυττάρια περιοχή της έχει δράση κινάσης-τυροσίνης και μπορεί και τροποποιεί άλλες πρωτεΐνες μέσω φωσφορυλίωσης ειδικών καταλοίπων τυροσίνης. Ακολουθεί ένας καταρράκτης φωσφορυλιώσεων, που καταλήγει στην

ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων. Πολλοί συνδέτες για τους RTKs ανήκουν στους αυξητικούς παράγοντες. Πιο συγκεκριμένα, ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (FGF), ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), ο αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από αιμοπετάλια (PDGF) και επαγωγικοί παράγοντες (όπως η ινσουλίνη), που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση, αποτελούν κάποιους από τους συνδέτες των διαφόρων τύπων υποδοχέων με ενεργότητα κινάσης-τυροσίνης. Στην περίπτωση του FGF, όταν αυτός προσδεθεί στον υποδοχέα RTK προκαλείται διμερισμός με έναν γειτονικό RTK. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε αυτοφωσφορυλίωση του διμερούς και ενεργοποίηση του μονοπατιού μεταγωγής σήματος της κινάσης ERK. Το πρώτο βήμα είναι η ενεργοποίηση της Ras, μιας πρωτεΐνης που προσδένει GTP, η οποία ενεργοποιεί την κινάση Raf μέσω στρατολόγησής στην κυτταρική μεμβράνη (εικόνα 6).



Εικόνα 6. Μονοπάτι FGF (Slack, 2007)

Η Raf φωσφορυλιώνει τη MEK (mitogen-activated, ERK-activating kinase/ κινάση που ενεργοποιείται από μιτογόνο και ενεργοποιεί την ERK), που με τη σειρά της φωσφορυλιώνει την ERK. Η ενεργός ERK εισέρχεται στον πυρήνα και σε συνεργασία με μεταγραφικούς παράγοντες ενεργοποιεί γονίδια-στόχους. Η ERK ήταν παλιότερα συνώνυμη με την κινάση MAP, όμως ο όρος αυτός πλέον αναφέρεται σε μια ομάδα κινασών που περιλαμβάνει τις JNK και p58, καθώς και την ίδια την ERK (Slack, 2007).

ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ PI3K/Akt

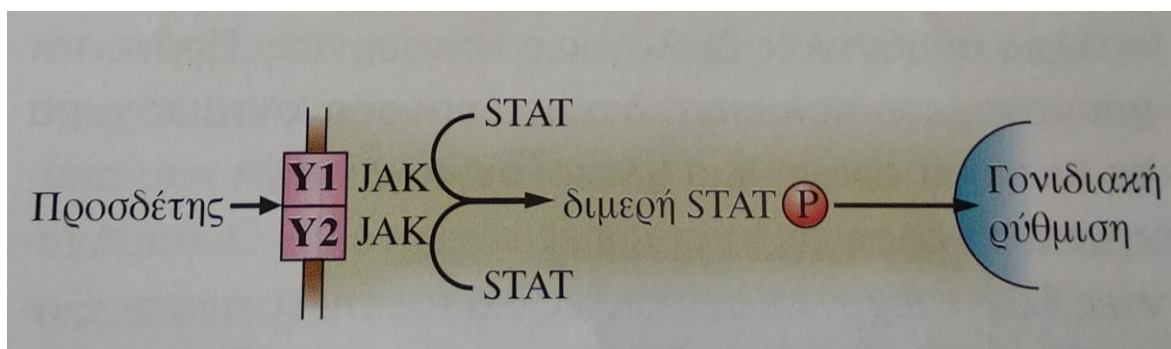
Το μονοπάτι PI3K/Akt είναι ένα ενδοκυτταρικό μονοπάτι σηματοδότησης σημαντικό στην απόπτωση, και ως εκ τούτου στον καρκίνο. Η PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase) είναι μία λιπιδιακή κινάση που παράγει τις PIP2 και PIP3 σαν δεύτερους αγγελιοφόρους των μηνυμάτων μέσα στο κύτταρο. Το μονοπάτι PI3K/Akt μπορεί να ενεργοποιηθεί από έναν υποδοχέα κινάσης τυροσίνης (RTK), την ενεργοποιημένη Ras ή την απενεργοποίηση ενός καταστολέα όγκων, τη φωσφατάση PTEN. Η φωσφατάση αυτή έχει την ικανότητα να

αποφωσφορυλιώνει την PIP3 και να μειώνει τα επίπεδά της στο κύτταρο, λειτουργώντας έτσι ως αρνητικός ρυθμιστής του μονοπατιού, καθώς σταματά τη μετάδοση του σήματος. Τα προϊόντα της PI3K τώρα, PIP2 και PIP3 διεγείρουν με τη σειρά τους την μετατόπιση της Akt στη μεμβράνη του πλάσματος, όπου φωσφορυλιώνεται και ενεργοποιείται. Η ενεργοποίηση της Akt παίζει σημαντικό ρόλο σε θεμελιώδεις κυτταρικές λειτουργίες όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η επιβίωση, με την επακόλουθη φωσφορυλίωση ενός μεγάλου εύρους υποστρωμάτων (PI3KAkt).

Τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι τα συστατικά του μονοπατιού PI3K/Akt μεταβάλλονται συχνά σε ανθρώπινους καρκίνους. Η θεραπεία με χημειοθεραπείες θανατώνουν τα κύτταρα στόχους κυρίως μέσω επαγωγής της απόπτωσης. Συχνά όμως παρατηρείται ανάπτυξη αντοχής των καρκινικών κυττάρων στη θεραπεία. Η αποτυχία ενεργοποίησης της απόπτωσης αποτελεί τον κύριο λόγο αντίστασης των κυττάρων του όγκου ενάντια στα φάρμακα. Τα σήματα επιβίωσης που επάγονται από διάφορους υποδοχείς, κυρίως διαμέσου του μονοπατιού PI3K/Akt οδηγούν σε αυτόν τον ανθεκτικό φαινότυπο (Chrysanthakopoulos, 2016).

ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ

Μια ετερογενής ομάδα σηματοδοτικών μορίων περιλαμβάνει ορισμένες κλασικές κυτοκίνες (ιντερφερόνες, interferons), τους αιμοποιητικούς αυξητικούς παράγοντες (Hematopoietic Growth Factors, HGF), την αυξητική ορμόνη (Growth Hormone, GH) και τον ανασταλτικό παράγοντα της λευχαιμίας (Leukemia Inhibitory Factor, LIF), και λειτουργεί μέσω του συστήματος κυτοκινών. Οι υποδοχείς μπορεί να είναι ομοδιμερείς ή ετεροδιμερείς και αλληλεπιδρούν με ενδοκυτταρικές κινάσες τυροσίνης που ονομάζονται JAK (Janus kinases). Η αλληλεπίδραση του υποδοχέα με τον προσδέτη οδηγεί στο διμερισμό του υποδοχέα που αλληλεπιδρά με δύο μόρια κινάσων JAK, οι οποίες φωσφορυλιώνουν και ενεργοποιούν η μία την άλλη και τον υποδοχέα ταυτόχρονα (εικόνα 7).



Εικόνα 7. Σύστημα κυτοκίνης (Slack, 2007)

Στη συνέχεια το ενεργό σύμπλοκο φωσφορυλιώνει μεταγραφικούς παράγοντες της οικογένειας STAT. Η φωσφορυλίωση των συγκεκριμένων μεταγραφικών παραγόντων οδηγεί στο διμερισμό και στη μετατόπισή τους στον πυρήνα, όπου ενεργοποιούν γονιδιαστόχους (Slack, 2007).

ΜΟΝΟΠΑΤΙ NF-κB

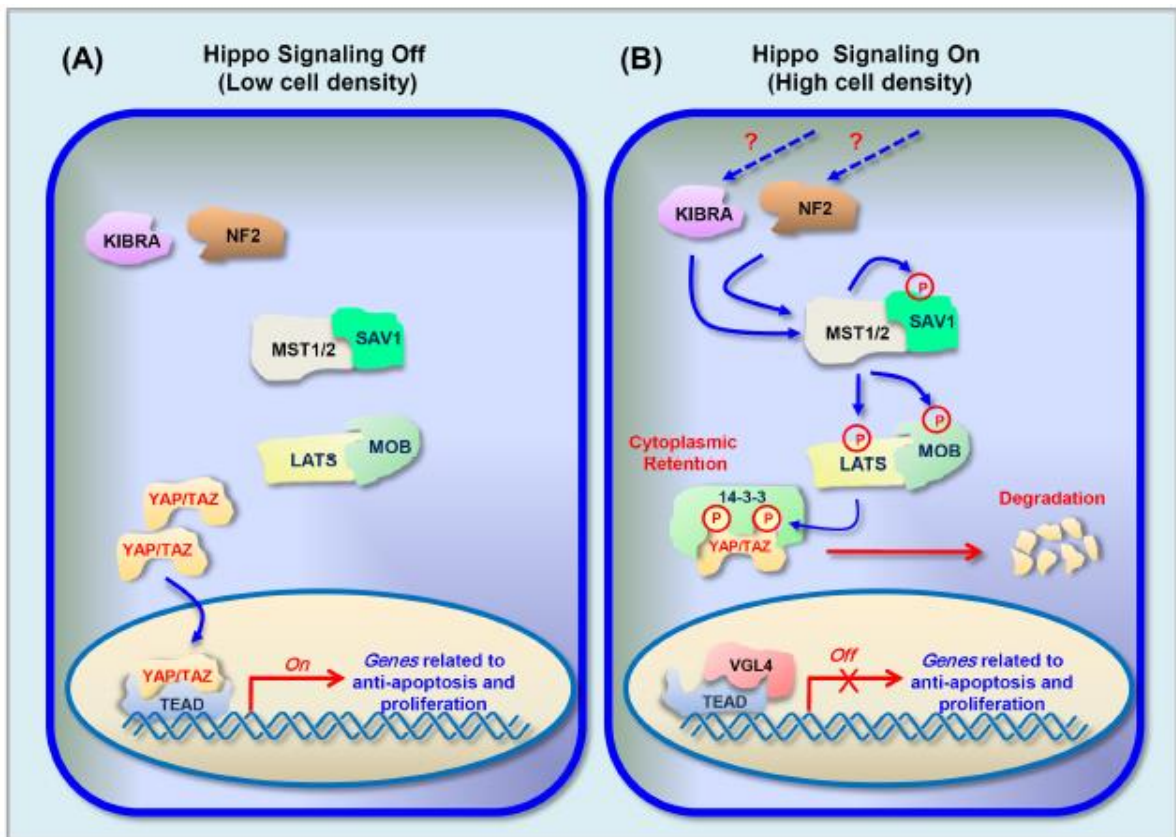
Η οικογένεια των μεταγραφικών παραγόντων NF-κB διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της ανοσοαπόκρισης. Ο NF-κB ενεργοποιείται από μία πληθώρα εξωκυτταρικών σημάτων, ανάμεσα στα οποία είναι διάφορες κυτοκίνες και άλλες ουσίες. Ο μεταγραφικός αυτός παράγοντας αποτελείται από ένα διμερές των υπομονάδων p65 και p50. Το διμερές αυτό συγκρατείται στο κυτταρόπλασμα από έναν ρυθμιστή-καταστολέα, τον I-κB, ο οποίος εμποδίζει τον NF-κB να μετατοπιστεί στον πυρήνα για τη γονιδιακή ρύθμιση. Όταν ο I-κB φωσφορυλιώνεται, αποικοδομείται και επομένως ελευθερώνει τον NF-κB, ο οποίος εισέρχεται στον πυρήνα και ενεργοποιεί τη μεταγραφή των γονιδίων-στόχων (Lewin, 2005). Το κανονικό μονοπάτι NF-κB είναι αρκετά συντηρημένο και ενεργοποιείται κατά τη φλεγμονή, μια διαδικασία έμφυτης ανοσίας ως απόκριση στο φυσικό, φυσιολογικό ή και το οξειδωτικό στρές. Όμως η φλεγμονή γενικά, και ο NF-κB ειδικότερα, έχουν έναν διπλό ρόλο στον καρκίνο. Από τη μία η ενεργοποίηση του μονοπατιού αυτού είναι μέρος της άμυνας του ανοσοποιητικού, η οποία στοχεύει και εξαλείφει τα μετασχηματισμένα κύτταρα και από την άλλη ενεργοποιείται σημαντικά σε διάφορους τύπους καρκίνου και συμβάλλει σε αρκετές προ-ογκογόνες λειτουργίες. Ωστόσο αυτή η ανοσολογική άμυνα ενάντια στα καρκινικά κύτταρα δεν είναι αρκετά ικανοποιητική για την πλήρη εξάλειψη των καρκινικών κυττάρων, με αποτέλεσμα πολλά από αυτά να διαφεύγουν από το ανοσοποιητικό σύστημα. Εκτός όμως από το ρόλο της σε ανοσολογικές αποκρίσεις, η σηματοδότηση NF-κB ελέγχει και κάποιες άλλες βασικές διεργασίες όπως η απόπτωση και ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων (Chrysanthakopoulos, 2016).

ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ HIPPO

Το μονοπάτι σηματοδότησης Hippo, που αποτελείται από έναν εξαιρετικά διατηρημένο καταρράκτη κινασών (MST και LATS) και ακολούθως από συνενεργοποιητές της μεταγραφής (YAP και TAZ), έχει βασικό ρόλο στην ομοιοστασία των ιστών (επισκευή και αναγέννηση). Η ομοιοστασία αυτή επιτυγχάνεται με τον έλεγχο των ειδικών για κάθε ιστό βλαστικών κυττάρων. Η εξελικτικά συντηρημένη αυτή σηματοδοτική οδός ρυθμίζει ποικίλες κυτταρικές διαδικασίες όπως η κυτταρική επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός, η

διαφοροποίηση και το μέγεθος των οργάνων του οργανισμού. Η δυσλειτουργία της σχετίζεται με την ανάπτυξη καρκίνου. Η κυτταρική πυκνότητα, μηχανικές πιέσεις και η σηματοδότηση υποδοχέων συζευγμένων με G-πρωτεΐνες (GPCR) μπορούν και τροποποιούν τη δραστηριότητα του μονοπατιού (Mo, 2014). Το μονοπάτι δεν έχει εξωκυτταρικούς προσδέτες και υποδοχείς, αλλά αντιθέτως καθοδηγείται από ένα δίκτυο στοιχείων που εμπλέκονται κυρίως στη ρύθμιση της κυτταρικής προσκόλλησης και της πολικότητας των κυττάρων (Kim & Jho, 2014). Η μελέτη της οδού Hippo ξεκίνησε με την ανακάλυψη του γονιδίου Wts στην *Drosophila melanogaster* το 1994 και λίγο αργότερα ανακαλύφθηκε το ανθρώπινο ομόλογο γονίδιο (Wei et al., 2018).

Στα θηλαστικά το μονοπάτι Hippo αποτελείται από τις κινάσες σερίνης/θρεονίνης MST1/2 (mammalian Ste2-like kinases) και LATS1/2 (large tumor suppressor kinase 1/2). Σε υψηλή κυτταρική πυκνότητα έχουμε ενεργοποίηση του MST1/2. Το ενεργοποιημένο MST1/2 φωσφορυλιώνει την πρωτεΐνη SAV1 (Salvador). Το σύμπλοκο MST1/2-SAV1 φωσφορυλιώνει με τη σειρά του τη LATS1/2 και τη MOB1 (ένζυμο-ενεργοποιητής κινάσης). Ακολουθεί η φωσφορυλίωση της YAP από LATS1/2 και MOB1, απομονώνεται στο κυτταρόπλασμα μέσω σύνδεσης της με τη 14-3-3 (πρωτεΐνη συνδέτης στα ευκαρυωτικά κύτταρα) και αποικοδομείται σε ένα πρωτεάσωμα εξαρτώμενο από την ουβικουΐτινη (ubiquitin-proteasome-dependent) (εικόνα 8). Ο TAZ ένας μεταγραφικός συνενεργοποιητής παρόμοιος με τον YAP, ρυθμίζεται και αυτός με ανάλογο τρόπο από τη LATS1/2. Σαν αποτέλεσμα η οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων TEAD αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη VGL4 καταστέλλοντας την μεταγραφή των γονιδίων-στόχων. Αντίθετα σε χαμηλή κυτταρική πυκνότητα, οι κινάσες MST1/2 και LATS1/2 είναι ανενεργές, οι αποφωσφορυλιωμένοι πλέον YAP/TAZ αλληλεπιδρούν με τους μεταγραφικούς παράγοντες TEAD στον πυρήνα και ενισχύουν τη μεταγραφή γονιδίων-στόχων που σχετίζονται με την αντι-απόπτωση, τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη του οργάνου (Kim & Jho, 2014).



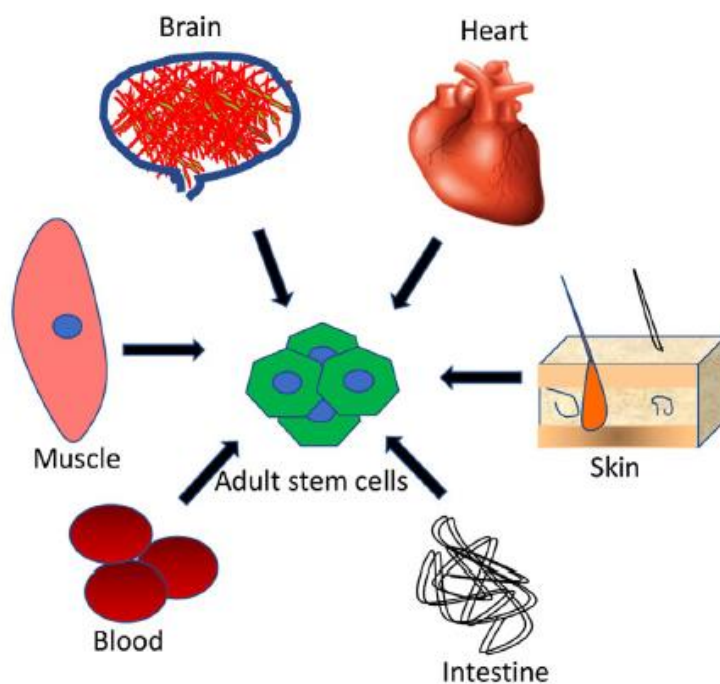
Εικόνα 8. Σηματοδοτικό μονοπάτι Hippo. Σχηματική απεικόνιση των βασικών στοιχείων του μονοπατιού και της μετάδοσης σήματος Α. σε χαμηλή κυτταρική πυκνότητα-μη ενεργή σηματοδότηση Β. σε υψηλή κυτταρική πυκνότητα-ενεργή σηματοδότηση (Kim & Jho, 2014)

ΠΛΕΙΟΔΥΝΑΜΑ-ΕΝΗΛΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (ASCs)

Αφού λοιπόν αναφερθήκαμε στους βασικούς τρόπους μετάδοσης των μηνυμάτων μεταξύ των κυττάρων και του περιβάλλοντος, θα δούμε πιο συγκεκριμένα τι συμβαίνει με τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα (ASCs). Αν και το δυναμικό των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων (ESCs) είναι πολύ μεγαλύτερο, είναι πολυδύναμα και μπορούν να δώσουν κύτταρα και των τριών βλαστικών στιβάδων (εξώδερμα, μεσόδερμα, ενδόδερμα), υπάρχουν πολλά ηθικά και πολιτικά θέματα ως προς τη χρήση τους. Για αυτό και τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα, με μικρότερο βαθμό διαφοροποίησης, έχουν προταθεί σαν μια εναλλακτική πηγή (Zuk et al., 2002).

Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα (ASCs), γνωστά και ως σωματικά βλαστικά κύτταρα, είναι ένας πληθυσμός αδιαφοροποίητων κυττάρων που βρίσκονται μέσα σε ένα ήδη διαφοροποιημένο όργανο ή οργανισμό, σε μια εξειδικευμένη δομή, που ονομάζεται θώκος. Οι θώκοι (που θα αναφερθούμε πιο αναλυτικά παρακάτω) διατηρούν το τοπικό περιβάλλον, το οποίο ρυθμίζει την εξέλιξη και την ανάπτυξη των βλαστικών κυττάρων. Τα

ενήλικα βλαστικά κύτταρα έχουν σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της ομοιοστασίας του ιστού. Μέσω καλά ρυθμιζόμενων ασύμμετρων διαιρέσεων τα κύτταρα αυτά παρέχουν προγονικά βλαστικά κύτταρα (progenitors), τα οποία στη συνέχεια θα παράγουν εξειδικευμένους απογόνους (πλήρως διαφοροποιημένα κύτταρα) υπεύθυνα για τη διατήρηση των λειτουργιών των οργάνων και την αντικατάσταση κυττάρων σε περιπτώσεις απώλειας. Ταυτόχρονα τα βλαστικά κύτταρα έχουν την ικανότητα της αυτό-ανανέωσης και έτσι μπορούν και ρυθμίζουν τον πληθυσμό τους κάτω από φυσιολογικές και μη φυσιολογικές συνθήκες. Έχουν περιορισμένο δυναμικό διαφοροποίησης και μπορούν και παράγουν κύτταρα συγκεκριμένων κυτταρικών σειρών (Aronte & Caicedo, 2017). Ενήλικα βλαστοκύτταρα εντοπίζονται σε πολλούς ιστούς συμπεριλαμβανομένου του αίματος, του εντέρου, του δέρματος, των μυών, του εγκεφάλου και της καρδιάς (εικόνα 9).

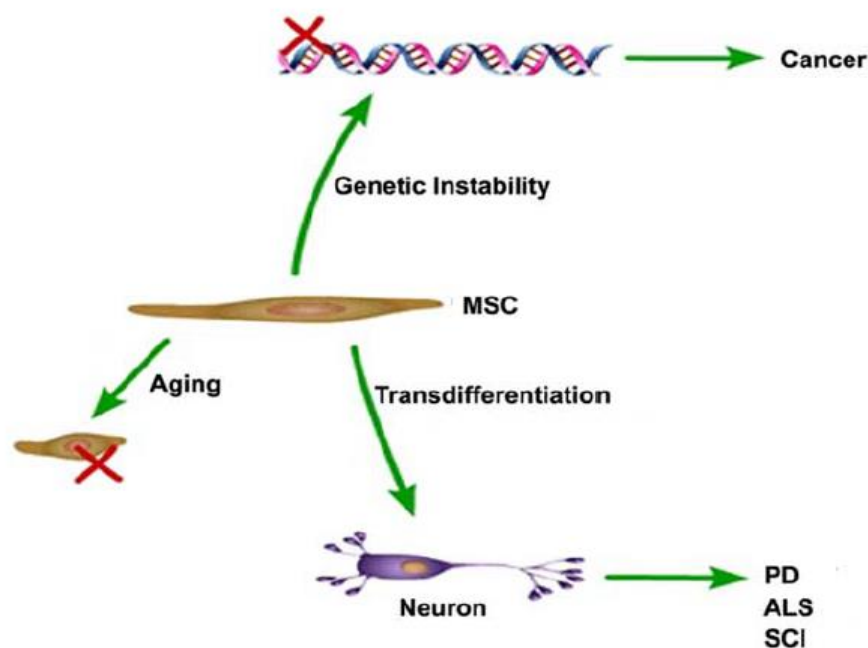


Εικόνα 9. Ενήλικα βλαστικά κύτταρα ASCs από διάφορα όργανα και ιστούς έχουν τη δυνατότητα για δομική και λειτουργική αναγέννηση του οργάνου ή του ιστού (Gurusamy et al., 2018)

Σε κανονικές συνθήκες διατηρούνται σε κατάσταση ηρεμίας, αλλά ενεργοποιούνται για να πολλαπλασιαστούν και να διαφοροποιηθούν στον απαιτούμενο τύπο κυττάρων κατά τον τραυματισμό του ιστού ή της απώλειας κυττάρων (Gurusamy et al., 2018).

Για πολλά χρόνια πίστευαν ότι τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα (ASCs) ενός συγκεκριμένου οργάνου περιορίζονται μόνο στη παραγωγή διαφοροποιημένων κυτταρικών τύπου του

ιστού στον οποίο εντοπίζονται. Αυτή είναι και η βασική διαφορά τους με τα υπόλοιπα βλαστικά κύτταρα (ESCs) που μπορούν να παράγουν κύτταρα και των τριών βλαστικών στιβάδων. Πιο πρόσφατες έρευνες όμως αμφισβήτησαν την έννοια του περιορισμού της γενεαλογίας των βλαστικών κυττάρων ASCs σε ένα συγκεκριμένο όργανο. Αποδείχθηκε ότι ενήλικα βλαστικά κύτταρα από έναν ιστό ή όργανο μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα κάποιου άλλου οργάνου. Αυτό μπορεί να γίνει είτε στο εργαστήριο (in vitro), είτε μετά από μεταμόσχευση σε κάποιον οργανισμό (in vivo). Για παράδειγμα ενήλικα βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από τον μυελό οστών μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μυϊκά κύτταρα στις κατάλληλες συνθήκες. Επίσης καλλιέργειες που περιείχαν νευρικά βλαστικά κύτταρα επιτεύχθηκε διαφοροποίησή τους σε αιμοποιητικά. Πολλές ακόμη έρευνες έδειξαν τη διαφοροποίηση κυττάρων μιας συγκεκριμένης γενεαλογίας σε κάποια άλλη από αυτή που αρχικά προορίζονταν. Επομένως, τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα (ASCs) έχουν την ικανότητα να υπερνικήσουν αυτούς τους περιορισμούς τους όταν εκτεθούν σε ένα κατάλληλο περιβάλλον. Η ικανότητα τους αυτή αναφέρεται ως δια-διαφοροποίηση-“transdifferentiate” και ίσως επιτυγχάνεται μέσω επαναπρογραμματισμού του γονιδιώματός τους. Παρόλα αυτά, η γενετική τους αστάθεια μπορεί να οδηγήσει σε εξέλιξη καρκίνου (εικόνα 10). Η πλαστικότητα αυτή των κυττάρων είναι αρκετά σημαντική, ιδιαίτερα στις κλινικές μελέτες για θεραπείες ασθενειών, καθώς κύτταρα που είναι δύσκολο να απομονωθούν από κάποιους ιστούς (νευρικό ιστός) μπορούν να υποκατασταθούν από βλαστικά κύτταρα που είναι πιο εύκολα προσβάσιμα (αιμοποιητικά κύτταρα από τον μυελό των οστών- HSC) (Anderson et al., 2001).



Εικόνα 10. Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα του μυελού των οστών (MSC), μέσω της δια-διαφοροποίησης, δίνουν νευρικά κύτταρα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία εκφυλιστικών παθήσεων (PD-Parkinson's Disease, ALS-Amyotrophic lateral sclerosis, SCI-Spinal Cord Injury). Τα MSC είναι ένας κυτταρικός τύπος του αιμοποιητικού θώκου στο μυελό των οστών (Heinrich et al., 2009)

Προκλινικές μελέτες έδειξαν ότι αυτά τα ενήλικα βλαστοκύτταρα από διαφορετικά όργανα έχουν τις δυνατότητες για τη δομική και λειτουργική αναγέννηση του οργάνου από το οποίο προέρχονται ή κάποιου άλλου ιστού μετά από τη δια-διαφοροποίησή τους (εφόσον είναι εφικτή). Τις τελευταίες δεκαετίες κλινικές δοκιμές έχουν διεξαχθεί για τη μελέτη της ασφάλειας, της σκοπιμότητας και της λειτουργικότητας, της κυτταρικής θεραπείας με βλαστικά κύτταρα σε ασθενείς. Ενήλικα βλαστικά κύτταρα ASCs λόγω των αναγεννητικών ικανοτήτων τους, χρησιμοποιούνται σε ανθρώπινες θεραπείες καρδιακών, εγκεφαλικών, παγκρεατικών και οφθαλμικών διαταραχών (Gurusamy et al., 2018). Παρόλο που τα κύτταρα αυτά έχουν δώσει μια μεγάλη υπόσχεση στην έρευνα και στη θεραπεία, υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί που θα πρέπει να ξεπεραστούν για να θεωρηθούν κατάλληλα σε ιατρικές εφαρμογές:

1. Είναι δύσκολο να διατηρηθούν και να αυξηθούν σε μεγάλα ποσά ενήλικα βλαστικά κύτταρα στο εργαστήριο (in vitro). Τα κύτταρα αυτά απομονώνονται σε περιορισμένους αριθμούς, ενώ για τις θεραπείες απαιτείται η εξασφάλιση υψηλού αριθμού κυττάρων.
2. Η απομάκρυνσή τους από τον οργανισμό πρέπει να γίνεται με την ελάχιστη επεμβατική διαδικασία.
3. Η διαφοροποίησή τους πρέπει να είναι εφικτή και αξιόπιστη για πολλαπλές κυτταρικές σειρές.
4. Η μεταμόσχευση των κυττάρων αυτών πρέπει να είναι ασφαλής και αποτελεσματική για αυτόλογες και αλλογενείς μεταμοσχεύσεις.

Διαφορετικοί πληθυσμοί ενήλικων βλαστοκυττάρων εμφανίζουν ειδικά-ιστικά χαρακτηριστικά που καθορίζονται από την έκφραση συγκεκριμένων κυτταρικών δεικτών επιφανείας και μεταγραφικών παραγόντων. Αυτός είναι και ο λόγος που μπορούν να επιλεγθούν ορισμένοι τύποι ενήλικων βλαστικών κυττάρων για θεραπευτικούς σκοπούς (Caglayan et al., 2019).

ΘΩΚΟΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα συμμετέχουν δυναμικά στις φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού και ανταποκρίνονται σε καταστάσεις στρες. Επομένως τα σήματα που λαμβάνουν είναι σημαντικά για την ακεραιότητα του οργανισμού. Το μικροπεριβάλλον στο οποίο βρίσκονται τα βλαστικά κύτταρα στους ιστούς και λαμβάνουν ερεθίσματα, που καθορίζουν τη μοίρα τους, ονομάζεται θώκος. Ο θώκος δεν είναι μόνο η θέση που εντοπίζονται τα βλαστικά κύτταρα, αλλά και ο τόπος στον οποίο αλληλεπιδρούν με εξωτερικά σήματα και επηρεάζεται η συμπεριφορά τους. Τα ερεθίσματα αυτά μπορεί να είναι αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων ή μεταξύ σηματοδοτικών μορίων και της εξωκυτταρικής μήτρας και είναι ικανά να ενεργοποιούν ή να καταστέλλουν γονίδια και προγράμματα μεταγραφής. Σαν αποτέλεσμα αυτών των αλληλεπιδράσεων τα βλαστοκύτταρα μπορούν και διατηρούνται σε μία αδρανή κατάσταση, επάγουν την αυτό-ανανέωσή τους ή δεσμεύονται σε μία διαφοροποιημένη κατάσταση.

Ο Schoefield το 1978 υποστήριξε αρχικά την υπόθεση ενός εξειδικευμένου περιβάλλοντος για τα βλαστικά κύτταρα. Οι θώκοι έχουν καθορισμένες ανατομικές θέσεις και η αφαίρεση των βλαστικών κυττάρων από αυτούς οδηγεί στη διαφοροποίησή τους. Το γενικό μοντέλο περιλαμβάνει τη συσχέτιση μεταξύ των μόνιμων βλαστικών κυττάρων και ετερόλογων κυτταρικών τύπων στο θώκο. Τα στοιχεία της εξωκυτταρικής μήτρας και άλλα μη κυτταρικά συστατικά μπορούν να καθορίσουν τον θώκο. Ειδικότερα το περιβάλλον του θώκου μπορεί να διατηρεί τις βασικές λειτουργίες και ιδιότητές του ακόμα και στην προσωρινή απουσία βλαστοκυττάρων (όπως μετά από εξάντληση τους μέσω ακτινοθεραπείας) και να επιτρέψει στην συνέχεια την προσέλκυση και πρόσληψη άλλων εξωγενών βλαστικών κυττάρων στην προϋπάρχουσα θέση.

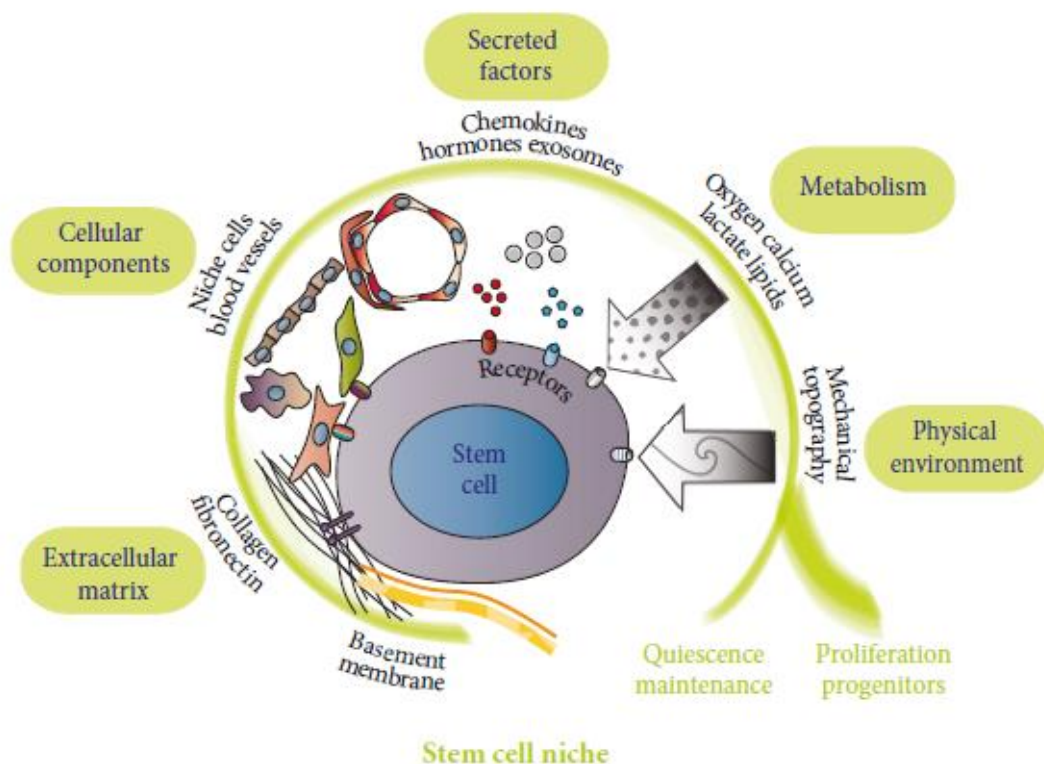
Τα πιο διατηρημένα συστατικά του θώκου είναι (Caglayan et al., 2019):

1. Στρωματικά υποστηρικτικά κύτταρα, μόρια προσκόλλησης μεταξύ των κυττάρων και εκκρινόμενοι διαλυτοί παράγοντες (αυξητικοί παράγοντες, κυτοκίνες)
2. Πρωτεΐνες της εξωκυτταρικής μήτρας (extracellular matrix-ECM), οι οποίες βοηθούν στην αγκυροβόληση των βλαστικών κυττάρων και αποτελούν ένα ικρίωμα για τη μεταφορά σημάτων
3. Αιμοφόρα αγγεία για τη διατροφική υποστήριξη του θώκου και σηματοδότησή του από άλλα όργανα

4. Νευρώνες που ευνοούν την κινητοποίηση των βλαστικών κυττάρων έξω από τους θώκους και φέρουν μέσα σε αυτούς σήματα από διαφορετικά συστήματα

Ο θώκος των βλαστικών κυττάρων ρυθμίζεται επίσης από κάποιους μη κυτταρικούς παράγοντες όπως η τάση του οξυγόνου, κάποια ιόντα ασβεστίου και από τη μηχανική αντοχή (δυσκαμψία) του ιστού. Για παράδειγμα ο μυελός των οστών (θώκος αιμοποιητικών κυττάρων) έχει διαμερισματοποιηθεί σε περιοχές με διαφορετική οξυγόνωση και τα βλαστοκύτταρα εντοπίζονται στις υποξικές περιοχές του.

Η πραγματική αρχιτεκτονική του θώκου και τα στοιχεία που τον απαρτίζουν μπορεί να διαφέρουν στους διάφορους τύπους βλαστικών κυττάρων (εικόνα 11).



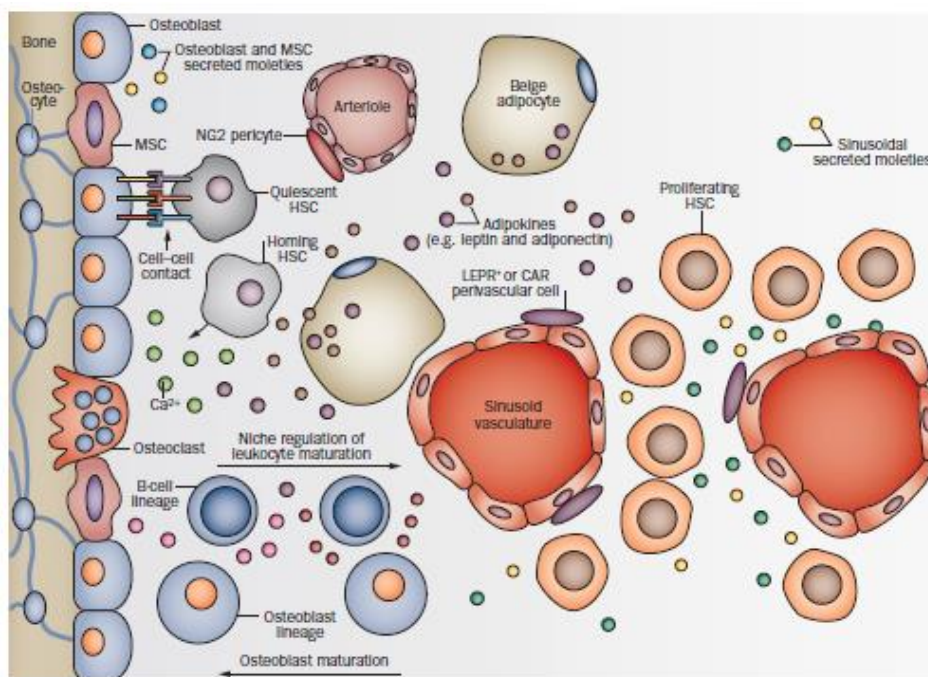
Εικόνα 11. Σχηματικό διάγραμμα του θώκου των βλαστικών κυττάρων. Τα βλαστικά κύτταρα με παράγοντες αλληλεπίδρασης και στοιχεία του μικροπεριβάλλοντος καθορίζουν το θώκο, όπου εκεί είτε θα πολλαπλασιαστούν είτε θα διατηρηθούν σε κατάσταση ηρεμίας (Pennings et al., 2018)

Γενικά στους θώκους εντοπίζουμε μια ποικιλία κυτταρικών στοιχείων (ινοβλάστες, μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα-MSCs, ενδοθηλιακά κύτταρα, μακροφάγα-κύτταρα του ανοσοποιητικού, ειδικά κύτταρα για την αρχιτεκτονική του ιστού, καθώς και σηματοδοτικούς υποδοχείς), την εξωκυτταρική μήτρα (κολλαγόνο, φιβρονεκτίνη, βασική μεμβράνη και ιντεγκρίνες αλληλεπίδρασης), εκκρινόμενους παράγοντες (εξωσώματα,

χημειοκίνες, ορμόνες, κυτοκίνες), θρεπτικά συστατικά και προϊόντα οξειδοαναγωγικών καταστάσεων προερχόμενα από το μεταβολισμό καθώς και τα αντίστοιχα κανάλια και υποδοχείς. Τέλος εντοπίζονται και κάποιες φυσικές δυνάμεις εξαιτίας της αρχιτεκτονικής του θώκου και οι αντίστοιχοι μηχανοϋποδοχείς (Pennings et al., 2018).

Αρκετοί θώκοι εντοπίστηκαν στους ιστούς των θηλαστικών, όπως στο αιμοποιητικό σύστημα, στο δέρμα, στο έντερο, στον εγκέφαλο και στους μύς (Ferraro et al., 2010).

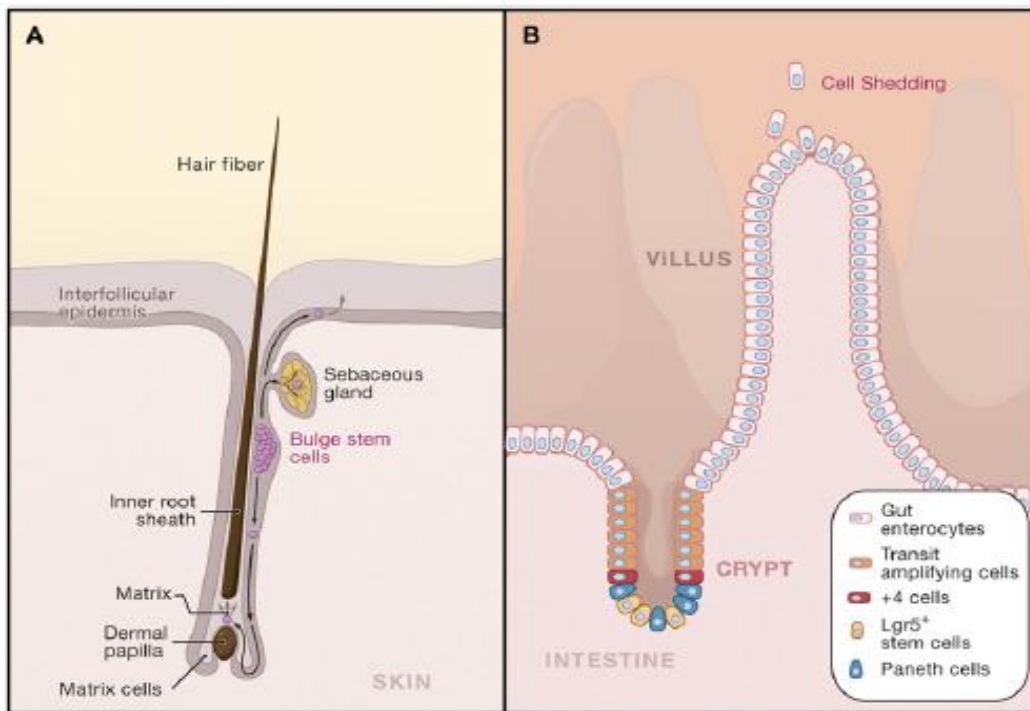
-Ο αιμοποιητικός θώκος είναι ο πιο καλά μελετημένος. Τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα (HSCs) βρίσκονται στο μυελό των οστών (δοκιδώδες οστό) και εντοπίζονται στην εσωτερική επιφάνεια του οστού κοντά σε οστεοβλαστικά κύτταρα, μεσεγχοματικά βλαστικά κύτταρα και οστεοκλάστες. Εγκαθίστανται σε αυτές τις περιοχές λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων ασβεστίου που παράγεται από τη δραστηριότητα των οστεοκλαστών. Παράλληλα τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα παρατηρούνται σε περιοχές κοντά στα αιμοφόρα αγγεία (εικόνα 12).



Εικόνα 12. Ο αιμοποιητικός θώκος (Adler et al., 2014)

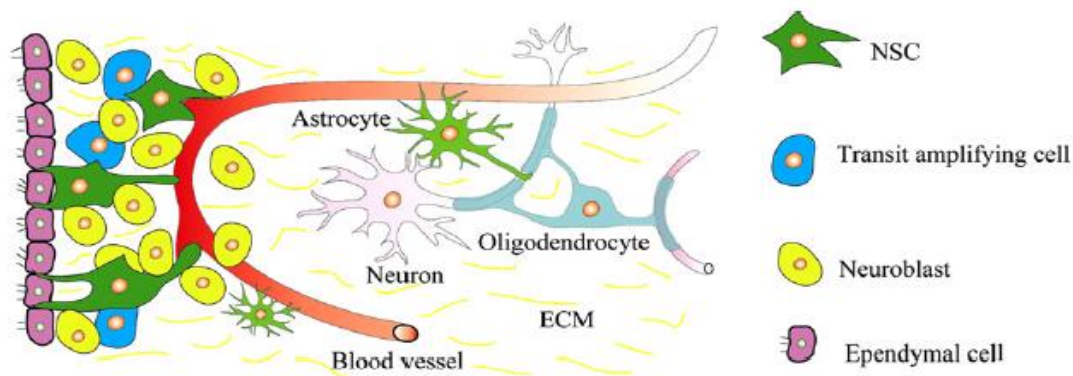
-Στο δέρμα τα επιθηλιακά βλαστικά κύτταρα (ESCs) βρίσκονται στην διογκωμένη περιοχή των τριχοθυλακίων. Αν και τα ακριβή στοιχεία του θώκου δεν έχουν εξακριβωθεί, η ρύθμιση προέρχεται από τη δερματική θηλή (Dermal papilla-DP). Αυτά τα βλαστοκύτταρα είναι σημαντικά για την αναγέννηση των τριχοθυλακίων, ενώ διασκορπισμένα βλαστικά προσαρτημένα στη βασική μεμβράνη εμπλέκονται στην αντικατάσταση της εσωτερικής επιδερμίδας στην τρίχα (εικόνα 13).

-Στο έντερο, τα εντερικά βλαστικά κύτταρα (intestinal stem cells-ISCs) βρίσκονται στο κάτω μέρος της εντερικής κρύπτης αλληλοσυνδεόμενα με τα κύτταρα Paneth. Η περιοχή γύρω από την κρύπτη είναι πλούσια σε νευρώνες και αιμοφόρα αγγεία. Εξειδικευμένα μεσεγγυματικά κύτταρα, γνωστά και ως μυοϊνοβλάστες, βρίσκονται κοντά στην κρύπτη και αποτελούν μέρος του θώκου (εικόνα 13).



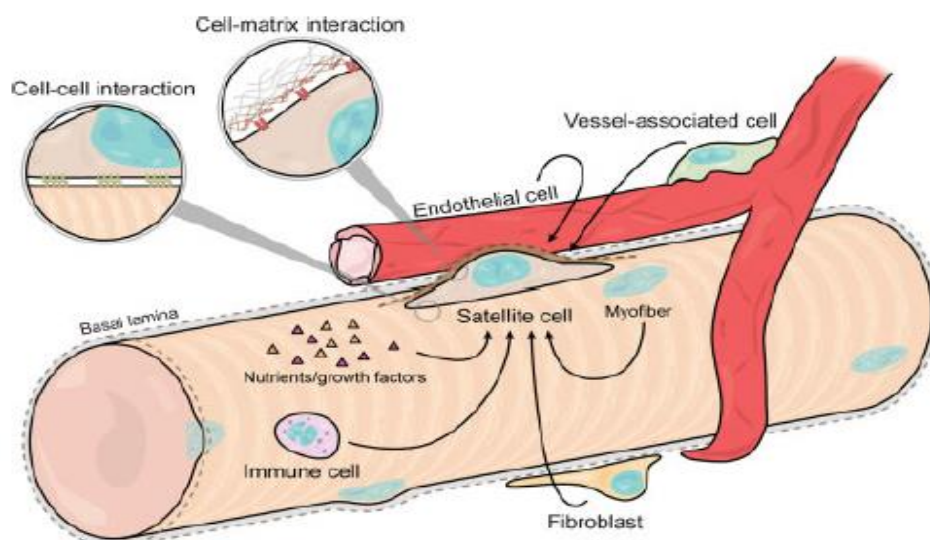
Εικόνα 13. Α. Θώκος του δέρματος/τριχοθυλακίου Β. Θώκος του εντέρου (Morrison & Spradling, 2008)

-Τα ενήλικα νευρικά βλαστικά κύτταρα (NSCs) εντοπίζονται στην πλάγια κοιλιακή ζώνη (SVZ), που περιβάλλεται από μια μονο-στιβάδα επενδυματικών κυττάρων, και στην υποκοκκιώδη στιβάδα (SGV) της οδοντωτής έλικας του ιπόκαμπου. Τα κύτταρα αυτά παράγουν ολιγοδενδροκύτταρα και αστροκύτταρα. Τα νευρικά βλαστικά κύτταρα επίσης εκφράζουν την πρωτεΐνη δείκτη των αστροκυττάρων (GFAP). GFAP-θετικά κύτταρα στην πλάγια κοιλιακή ζώνη και στην υποκοκκιώδη στιβάδα είναι ικανά να δημιουργήσουν νευροβλάστες και στη συνέχεια ώριμους νευρώνες. Σε στενή επαφή με τα νευρικά βλαστικά κύτταρα βρίσκονται και αιμοφόρα αγγεία, που μεταφέρουν σημαντικά σήματα από το αγγειακό σύστημα (εικόνα 14).



Εικόνα 14. Ο θώκος των νευρικών βλαστικών κυττάρων (NSCs) (Yao et al., 2013)

-Στον μυ, τα βλαστικά κύττατα, γνωστά και ως δορυφορικά κύτταρα, βρίσκονται κατά μήκος των μυϊκών ινών που συνδέονται με τη μεμβράνη του πλάσματος, η οποία περιβάλλει κάθε δέσμη μυϊκών ινών. Σε αυτή την περίπτωση, η βασική λάμινα μπορεί να αντιπροσωπεύει τον θώκο των δορυφορικών κυττάρων (εικόνα 15). Σε φυσιολογικές συνθήκες βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας, μετά όμως από κάποια βλάβη ή εκγύμναση των μυών, ενεργοποιούνται και οδηγούνται στον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίησή τους για την αναγέννηση των κατεστραμμένων μυϊκών ινών (Gattazzo et al., 2014).



Εικόνα 15. Θώκος των δορυφορικών κυττάρων (satellite cells) ή των βλαστικών κυττάρων του μυϊκού ιστού (Bentzinger et al., 2013)

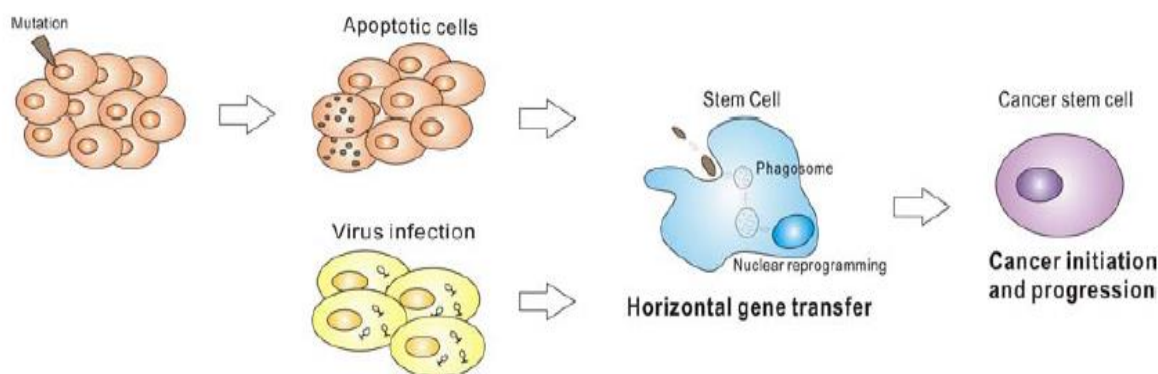
Η βαθιά αυτή αλληλεπίδραση του περιβάλλοντος του θώκου με τα βλαστικά κύτταρα δείχνει ότι διαταραχές στο θώκο μπορεί να προκαλέσουν δυσλειτουργίες των

βλαστοκυττάρων όπως η γήρανση ή ο νεοπλασματικός μετασχηματισμός τους (εμφάνιση καρκίνου) (Ferraro et al., 2010).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ-ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (CSCs) ΚΑΙ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΟΥΣ

Ο καρκίνος του ανθρώπου είναι μία ετερογενής νόσος με τους περισσότερους όγκους να περιλαμβάνουν φαινοτυπικά και λειτουργικά διαφορετικά υποσύνολα κυττάρων. Στοιχεία δείχνουν την ύπαρξη ενός σχετικά μικρού αριθμού καρκινικών κυττάρων με βλαστικές ιδιότητες που εντοπίζεται στους περισσότερους όγκους (Zhang et al., 2018). Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα (cancer stem cells- CSCs), γνωστά και ως νεοπλασματικά κύτταρα (tumor-initiating cells-TICs), είναι επομένως καρκινικά κύτταρα που έχουν την ικανότητα πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης και αυτό-ανανέωσης. Έχουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση, τη μετάσταση και την επανεμφάνιση του καρκίνου. Γονιδιακές μεταλλάξεις, στα βλαστοκύτταρα αλλά και σε διαφοροποιημένα ή μερικώς διαφοροποιημένα κύτταρα, μπορούν να συμβάλλουν στο σχηματισμό καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Τελευταίες έρευνες έδειξαν ότι στην πλειοψηφία οι καρκίνοι προκύπτουν από ένα μονοκλωνικό κύτταρο, το οποίο μετασχηματίζεται και δίνει όλο και πιο επιθετικούς φαινότυπους. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs) αντιπροσωπεύουν αυτά τα κύτταρα. Συνήθως, ο καρκίνος ξεκινά από φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα που χάνουν τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησής τους. Κατά τη διάρκεια της καρκινογένεσης, πρωτο-ογκογονίδια, κατασταλτικά γονίδια όγκων και γονίδια που εμπλέκονται στην επιδιόρθωση του DNA ή τη μίτωση, παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο. Οι κρίσιμες μεταλλάξεις, οι ενισχύσεις και οι εξαλείψεις των γονιδίων αυτών οδηγούν σε απορρύθμιση της φυσιολογικής βιολογίας του κυττάρου με αποτέλεσμα την έναρξη κακοήθι μετασχηματισμού. Η προέλευση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων-CSCs συμπεριλαμβάνει γενετικά γεγονότα (σύντηξη κυττάρων, οριζόντια μεταφορά γονιδίων, επίδραση του περιβάλλοντος στη δημιουργία τους) που οδηγούν στο μετασχηματισμό τους. Είναι κατανοητό ότι η σύντηξη βλαστικών κυττάρων με σωματικά κύτταρα, τα οποία έχουν αποκτήσει κάποιες μεταλλάξεις, μπορεί να οδηγήσει σε γενωμική αστάθεια και να αρχίσει έτσι ο μετασχηματισμός των καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Κατά τη διάρκεια της ζωής πολλές μεταλλάξεις μπορούν να προκληθούν και να συσσωρευτούν στα ενήλικα βλαστικά κύτταρα των διαφόρων ιστών αλλά και στα διαφοροποιημένα σωματικά κύτταρα. Η υβριδοποίηση αυτών των βλαστοκυττάρων με άλλα σωματικά, δημιουργεί κύτταρα με δυνατότητα αυτό-ανανέωσης και χαρακτηριστικά μετασχηματισμού. Υπάρχει

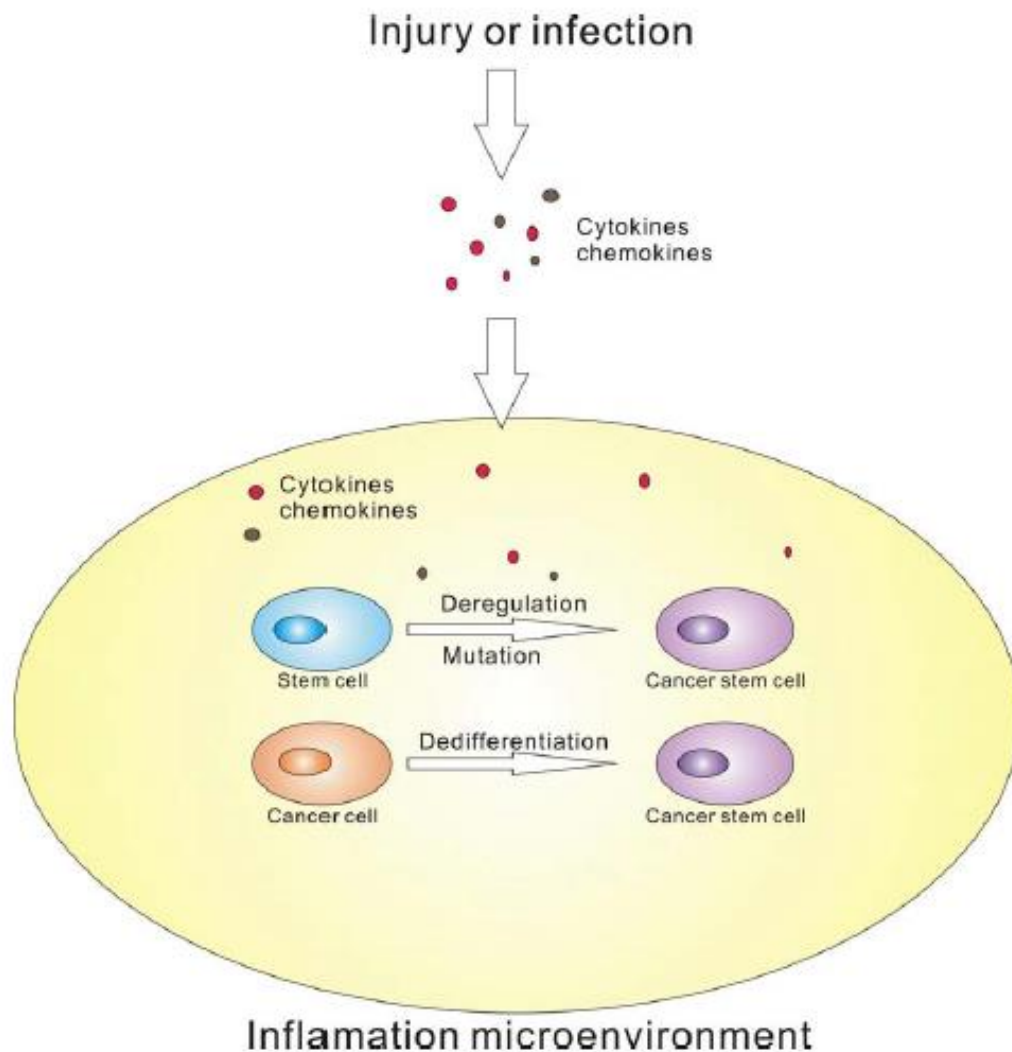
επίσης μία σειρά παραγόντων σύντηξης όπου κάποιοι από αυτούς σχετίζονται με την έναρξη του καρκίνου και την εξέλιξή του. Η γενωμική αστάθεια αποτελεί ακόμη έναν μηχανισμό σχηματισμού καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Η έλλειψη βασικών ογκογονιδίων, γονιδίων αναστολέων των όγκων και ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου θεωρούνται σημαντικοί παράγοντες στην όλη διαδικασία. Ανωμαλίες στα σημεία ελέγχου της κυτταρικής ανάπτυξης προκαλούν χρωμοσωμικές ανωμαλίες και σχηματισμό CSCs. Η τρίτη θεωρία σχηματισμού των καρκινικών βλαστικών κυττάρων είναι η οριζόντια μεταφορά γονιδίων, η οποία συνήθως συμβαίνει στους προκαρυώτες, αλλά στους ευκαρυώτες αναφέρεται ότι από αποπτωτικά κύτταρα το DNA μπορεί να μεταφερθεί σε παραλήπτες και να προκαλέσει πυρηνικό προγραμματισμό και έναρξη νεοπλασίας (εικόνα 16) (Bu & Cao, 2012).



Εικόνα 16. Οριζόντια μεταφορά γονιδίων. Τα σωματικά κύτταρα μπορούν να υποβληθούν σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) ως απόκριση σε καταστάσεις στρες. Φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα μπορούν να πάρουν το θραύσμα του DNA από τα αποπτωτικά κύτταρα, μέσω φαγοκυττάρωσης ή ενδοκυττάρωσης, και να οδηγηθούν σε επαναπρογραμματισμό του γενετικού τους υλικού και σχηματισμό CSCs. Κατά τη διάρκεια λοίμωξης από ιούς, τα ιϊκά ογκογονίδια μπορούν επίσης να ληφθούν από τα βλαστοκύτταρα μέσω αυτού του μηχανισμού (Bu & Cao, 2012).

Τέλος, το μικροπεριβάλλον είναι ιδιαίτερα σημαντικό για το σχηματισμό και την κλωνική επιλογή των καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Πολλοί παράγοντες ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση και το μετασχηματισμό των CSCs και ενεργοποιούν τα αρχικά στάδια της ογκογένεσης. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η εξειδίκευση των βλαστικών κυττάρων συγκεκριμένων κυτταρικών σειρών σε συγκεκριμένους ιστούς ρυθμίζεται από το μικροπεριβάλλον και κάτω από ορισμένες συνθήκες, όπως οι τραυματισμοί και οι λοιμώξεις, τα κύτταρα του περιβάλλοντος παρέχουν ειδικά σήματα για να αντισταθμίσουν τους περιορισμούς αυτούς (πλαστικότητα βλαστικών κυττάρων). Το φλεγμονώδες

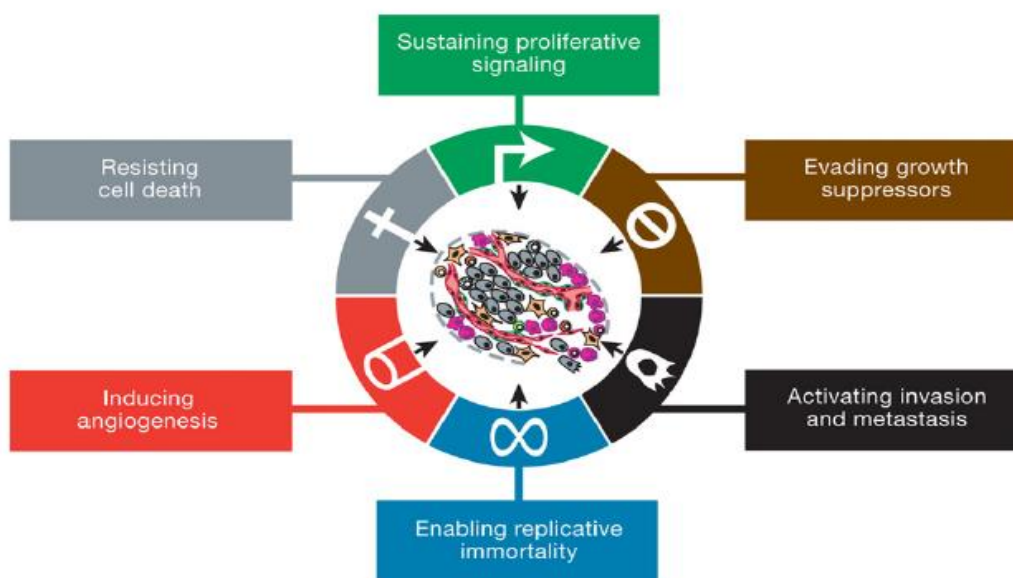
περιβάλλον έχει ισχυρή διεγερτική ικανότητα στην έναρξη των όγκων λόγω της παραγωγής κυτοκινών, όπως η ιντερλευκίνη 6 (IL-6) και χημειοκινών από τη φλεγμονή αλλά και συστατικών που βλάπτουν το DNA (εικόνα 17). Χαρακτηριστικά, η ιντερλευκίνη-6 συμμετέχει στο σχηματισμό των CSCs και τη ρύθμιση της ισορροπίας τους με τα υπόλοιπα καρκινικά κύτταρα, τα οποία κάτω από κανονικές συνθήκες (μη φλεγμονώδες περιβάλλον) δύσκολα μπορούν να σχηματίσουν CSCs (Bu & Cao, 2012).



Εικόνα 17. Το φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον οδηγεί σε σχηματισμό καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Τραυματισμοί και λοιμώξεις οδηγούν στις αποκρίσεις της φλεγμονής. Τα βλαστοκύτταρα που βρίσκονται στο συγκεκριμένο ιστό πολλαπλασιάζονται για να αποκαταστήσουν τον ιστό, αλλά οι κυτοκίνες που παράγονται εξαιτίας της φλεγμονής και το μικροπεριβάλλον, απορρυθμίζουν τα φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα σε καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs). Το περιβάλλον αυτό μπορεί επίσης να αποδιαφοροποιήσει τα καρκινικά κύτταρα του όγκου σε καρκινικά βλαστικά κύτταρα (Bu & Cao, 2012).

Οι όγκοι συνεπώς δεν είναι απλά μάζες συνεχώς πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων. Είναι σύνθετοι ιστοί που αποτελούνται από πολλούς διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους, συμπεριλαμβανομένων και των καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSCs), και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του καρκίνου (Hallmarks of cancer) αναφέρονται ως έξι βιολογικές δυνατότητες που αποκτήθηκαν κατά την ανάπτυξη των διαφόρων σταδίων των ανθρώπινων όγκων (εικόνα 18) και αποτελούν μία οργανωτική αρχή ώστε να γίνουν πιο ξεκάθαρες οι επιπλοκές αυτής της νεοπλασματικής νόσου. Οι ιδιότητες αυτές συμπεριλαμβάνουν (Hanahan & Weinberg, 2011):

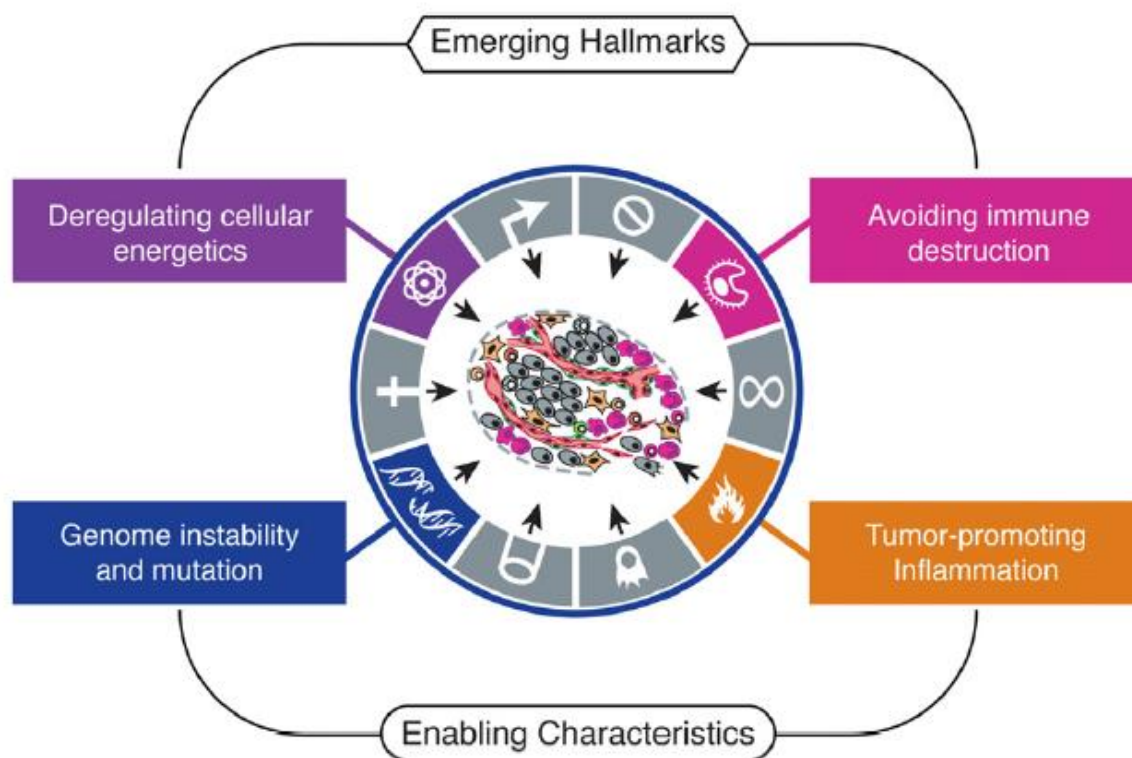
1. Την διατήρηση της πολλαπλασιαστικής σηματοδότησης των κυττάρων. Πολλαπλασιάζονται παρουσία ή μη αυξητικών παραγόντων.
2. Είναι ανθεκτικά σε καταστολείς κυτταρικού πολλαπλασιασμού και ανάπτυξης.
3. Αντιστέκονται στον κυτταρικό θάνατο/απόπτωση.
4. Αντιστέκονται στη γήρανση.
5. Προκαλούν αγγειογένεση για την αιμάτωση των όγκων.
6. Προκαλούν εισβολές στους ιστούς και μεταστάσεις.



Εικόνα 18. Χαρακτηριστικά του καρκίνου (Hallmarks of cancer) (Hanahan & Weinberg, 2011)

Έρευνες έδειξαν ότι υπάρχουν ακόμη δύο πρόσθετα χαρακτηριστικά γνωρίσματα στους περισσότερους αν όχι σε όλους τους καρκίνους. Πρώτον, η ικανότητα τροποποίησης ή επαναπρογραμματισμού του κυτταρικού μεταβολισμού με σκοπό να υποστηρίξουν πιο

αποτελεσματικά το νεοπλασματικό πολλαπλασιασμό. Το δεύτερο χαρακτηριστικό επιτρέπει τα καρκινικά κύτταρα να αποφεύγουν την επίθεση και την καταστροφή τους από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, ιδιαίτερα από τα T- και B- λεμφοκύτταρα, τα μακροφάγα και φυσικά κύτταρα “φονιάδες”. Επειδή οι ιδιότητες αυτές δεν έχουν ακόμη αποσαφηνιστεί αναφέρονται ως αναδυόμενες (emerging hallmarks) (εικόνα 19). Επιπλέον δύο επακόλουθα χαρακτηριστικά της νεοπλασίας διευκολύνουν την απόκτηση τόσο των βασικών, όσο και των αναδυόμενων δυνατοτήτων των καρκινικών κυττάρων (enabling characteristics) (Hanahan & Weinberg, 2011).



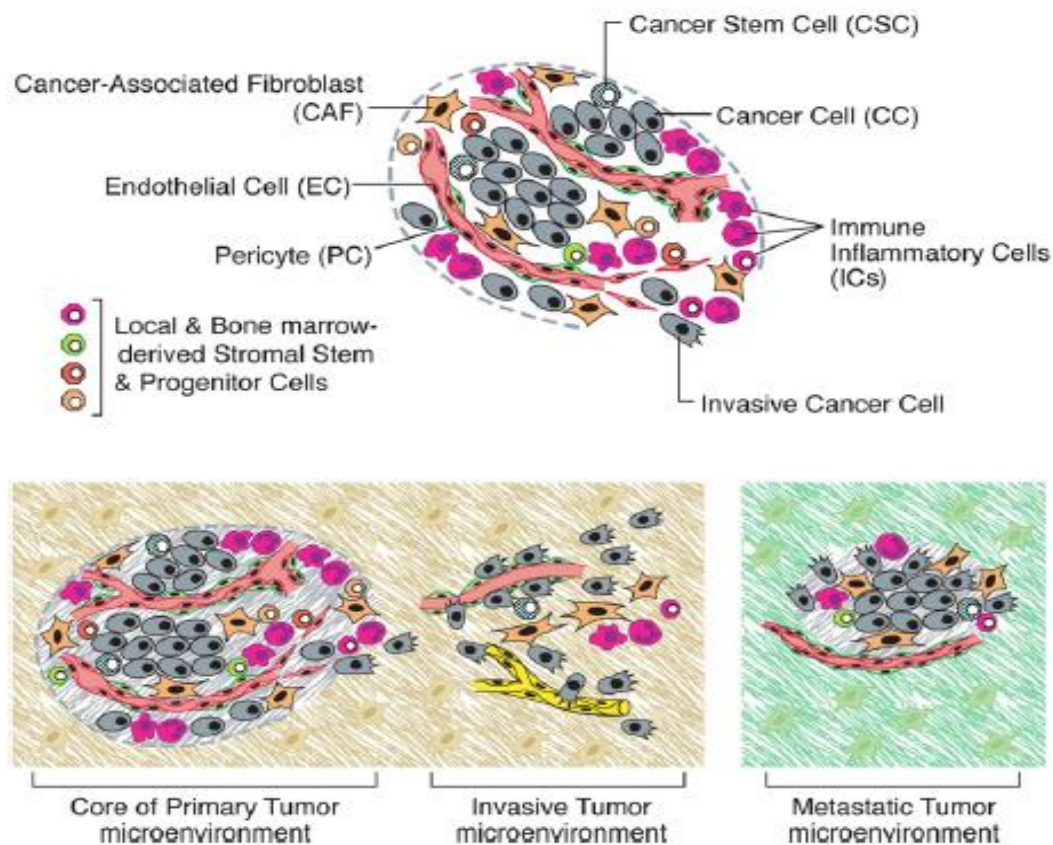
Εικόνα 19. Αναδυόμενες ιδιότητες του καρκίνου και τα χαρακτηριστικά που διευκολύνουν την απόκτηση/αφομοίωσή τους από τους όγκους (Hanahan & Weinberg, 2011).

Τα χαρακτηριστικά αυτά συνοψίζονται στα εξής:

1. Η γενωμική αστάθεια και άρα η ικανότητα μετάλλαξης επιφέρουν στα καρκινικά κύτταρα γενετικές μεταβολές που ωθούν στην εξέλιξη του καρκίνου.
2. Η φλεγμονή, που προκαλείται από κύτταρα του ανοσοποιητικού της έμφυτης ανοσίας, ενώ κανονικά στοχεύει στην καταπολέμηση των μολύνσεων και την επούλωση τραυμάτων

μπορεί και να υποστηρίξει ταυτόχρονα κάποιες καρκινικές ιδιότητες. Έτσι, οι φλεγμονές συμβάλλουν με τη σειρά τους στην προαγωγή της καρκινογένεσης.

Η βιολογία των όγκων λοιπόν μπορεί να γίνει κατανοητή μόνο με τη μελέτη των κυτταρικών τύπων που συναντούμε σε αυτούς και το μικροπεριβάλλον τους. Πολλοί είναι οι χαρακτηριστικοί τύποι που αποτελούν τους όγκους (εικόνα 20).



Εικόνα 20. Τα κύτταρα του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Οι διάφοροι κυτταρικοί περιλαμβάνουν καρκινικά κύτταρα (CC), καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSC), ενδοθηλιακά κύτταρα (EC- κύτταρα του στρώματος που συμμετέχουν στο σχηματισμό του αγγειακού συστήματος), περικύτταρα (PC- κύτταρα μεσεγχυματικού τύπου γύρω από τον ενδοθηλιακό σωλήνα), κύτταρα του ανοσοποιητικού που παράγονται κατά τη φλεγμονή (ICs- εντοπίζονται στους περισσότερους όγκους), ινοβλάστες που σχετίζονται με τον καρκίνο (CAFs- η πλειοψηφία του πληθυσμού του στρώματος και αποτελούνται από ινοβλάστες, κύτταρα που υποστηρίζουν τους επιθηλιακούς ιστούς, και μυοϊνοβλάστες, κύτταρα ωφέλιμα στους τραυματισμούς-σε συνεργασία με τα καρκινικά κύτταρα ενισχύουν τους όγκους) και καρκινικά κύτταρα «εισβολείς» (Hanahan & Weinberg, 2011).

Στο παρέγχυμα και το στρώμα του όγκου εντοπίζονται κυτταρικοί τύποι που συμβάλλουν στην αύξηση και την εξέλιξη του. Για παράδειγμα τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος που εμπλέκονται στη φλεγμονή (immune inflammatory cells- ICs) και

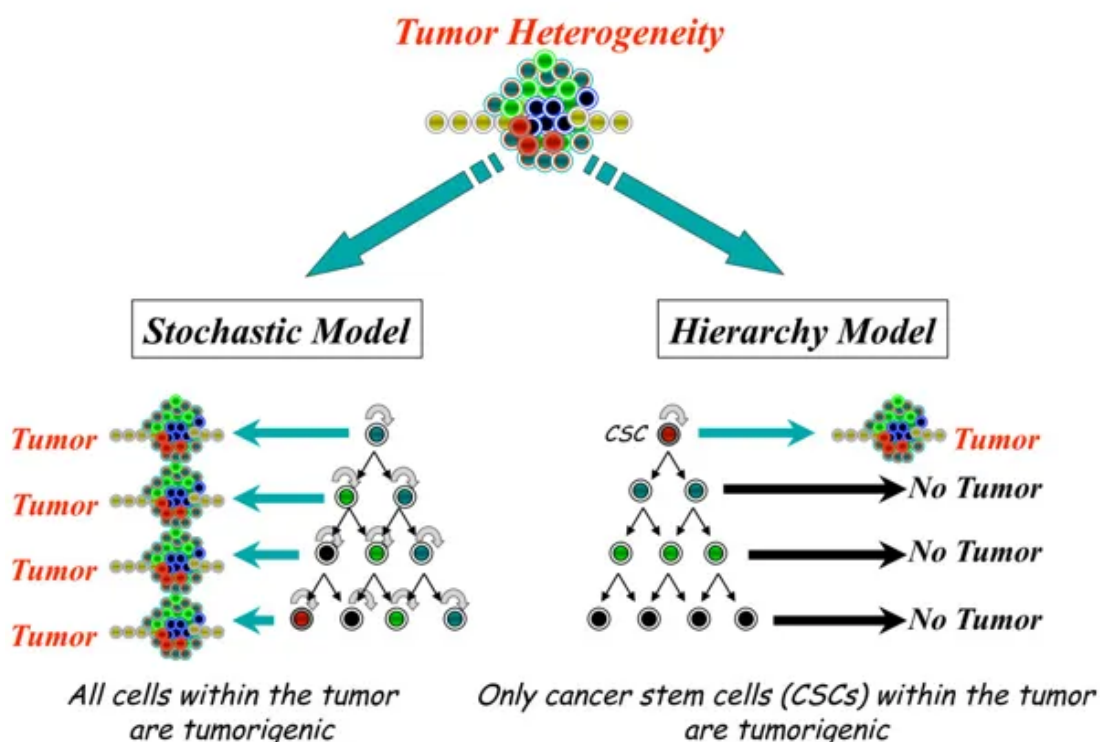
εντοπίζονται στους όγκους μπορεί να αποτελούνται από υποτύπους οι οποίοι είτε συμβάλλουν στην προαγωγή του όγκου ή καταστέλλουν την εξέλιξη του. Οι πολλαπλοί κυτταρικοί τύποι του στρώματος παρέχουν ένα διαδοχικά διαφορετικό μικροπεριβάλλον στον όγκο, το οποίο μεταβάλλεται καθώς τα καρκινικά κύτταρα εισβάλλουν σε παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς, μεταναστεύουν και σχηματίζουν αποικίες σε άλλους απομακρυσμένους ιστούς. Η αφθονία, η ιστολογική οργάνωση, τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των διαφόρων κυτταρικών τύπων, όπως και η σύσταση της εξωκυτταρικής μήτρας μεταβάλλονται κατά την διάρκεια της καρκινογένεσης και βοηθούν στην αύξηση του πρωτογενούς όγκου και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών και μεταστατικών κυττάρων (Hanahan & Weinberg, 2011).

Δύο μοντέλα, το ιεραρχικό και το στοχαστικό έχουν χρησιμοποιηθεί για να γίνει κατανοητή η εξέλιξη και η ετερογένεια των όγκων (εικόνα 21). Το καθένα δίνει διαφορετική σημασία στα καρκινικά βλαστικά κύτταρα και το θώκο τους, παρόλα αυτά η έννοια της πλαστικότητας ενώ τα δύο μοντέλα.

Το ιεραρχικό μοντέλο θεωρεί τα CSCs ως κύτταρα ενός κακοήθι πολλαπλασιαζόμενου όγκου. Βασίζεται στο πρότυπο ότι τα CSCs αντιπροσωπεύουν ένα βιολογικά διακριτό υποσύνολο του συνολικού πληθυσμού των καρκινικών κυττάρων. Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, καρκινογένεση έχουμε όταν ένα φυσιολογικό βλαστικό κύτταρο ξεφύγει από τη ρύθμιση και σχηματίζει ένα καρκινικό βλαστοκύτταρο. Τα CSCs αντιπροσωπεύουν ένα ξεχωριστό πληθυσμό που μπορεί να απομονωθεί από τα υπόλοιπα κύτταρα του όγκου λόγω των ειδικών δεικτών επιφανείας που εκφράζουν. Η κλινική συνέπεια αυτού του μοντέλου είναι ότι μόνο η πλήρης εκρίζωση όλων των CSCs μπορεί να εξαλείψει την πιθανότητα υποτροπής. Είναι σημαντικό ότι το μοντέλο αυτό θεωρεί το καρκινικό βλαστικό κύτταρο ως το πρώτο μη φυσιολογικό κύτταρο του όγκου, ωστόσο αργότερα λόγω της κυτταρικής πλαστικότητας αποδείχθηκε ότι το κύτταρο προέλευσης δεν είναι υποχρεωτικά ένα CSC. Επιπλέον ένα CSC ή διαφορετικά σύνολα CSCs μπορούν να δημιουργήσουν διαφορετικούς υποτύπους καρκίνου σε ένα συγκεκριμένο όργανο ή ιστό με αποτέλεσμα την κυτταρική ετερογένεια. Τα CSCs διατηρούν τις ικανότητές τους ανεξάρτητα από το πόσο διαταραγμένη είναι η διαδικασία διαφοροποίησής τους.

Το στοχαστικό μοντέλο από την άλλη πλευρά δηλώνει ότι κάθε κύτταρο εντός του όγκου είναι εξίσου πιθανό να αποτελεί το κύτταρο από το οποίο ξεκινάει και εξελίσσεται ο όγκος. Οι δραστηριότητες των καρκινικών κυττάρων εν μέρει μόνο επηρεάζονται από το περιβάλλον στο οποίο βρίσκονται και περισσότερο προσδιορίζονται από τυχαία

μεταβαλλόμενους εσωτερικούς παράγοντες. Το στοχαστικό μοντέλο βασίζεται στην υπόθεση ότι ο καρκίνος είναι μια ασθένεια που ορίζεται από τον υπερ-πολλαπλασιασμό και τη διαδοχική απόκτηση γενετικών μεταλλάξεων σε γονίδια του κυτταρικού κύκλου. Οι μεταλλάξεις αυτές οδηγούν στην επέκταση των κλώνων και ξεκινούν από ένα φυσιολογικό ενήλικο σωματικό κύτταρο. Η αλληλούχιση του γονιδιώματος έδειξε ότι ο καρκίνος μόνο σε έναν ασθενή αποτελεί ένα ετερογενές μίγμα γενετικά διακριτών υποκλώνων που προκύπτουν από την εξέλιξη μιας διακλάδωσης. Το μοντέλο επικεντρώνεται στην γενετική ετερογένεια χωρίς να θεωρεί ότι μεμονωμένα κύτταρα εντός ομοιογενών υποκλώνων μπορεί να εμφανίσουν αλλαγές εξαιτίας παραγόντων του μικροπεριβάλλοντος του όγκου (Plaks et al., 2015).

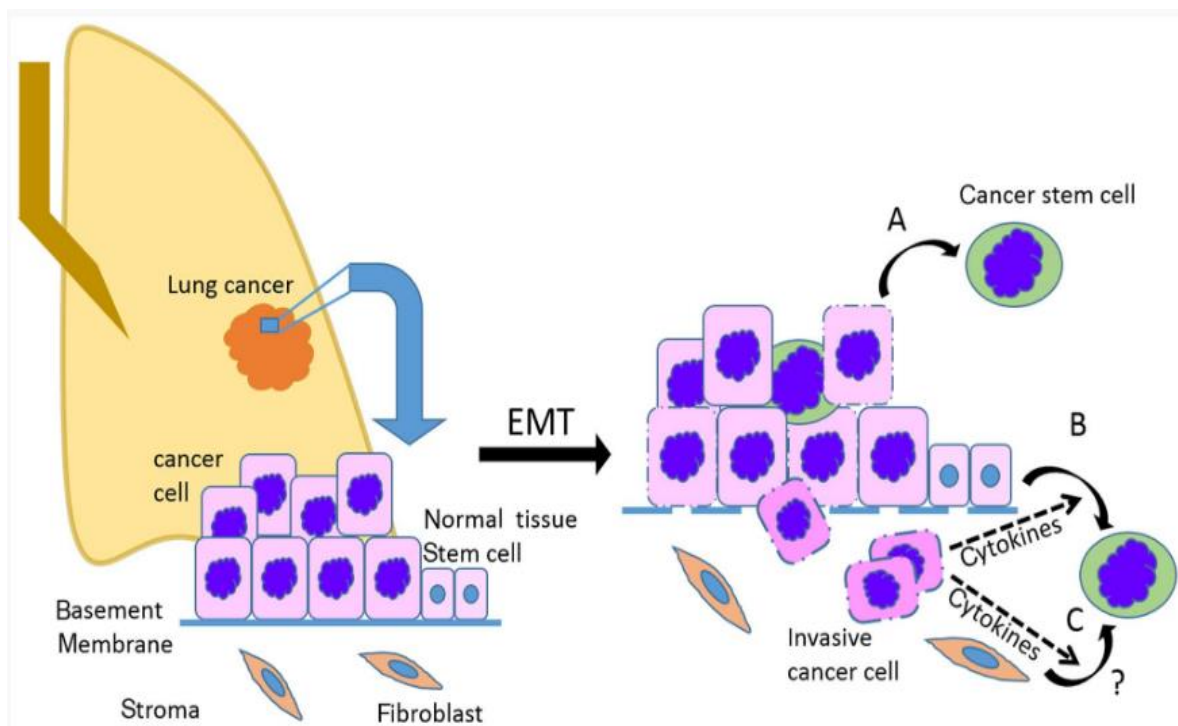


Εικόνα 21. Δύο μοντέλα προτείνονται για να εξηγήσουν την ετερογένεια των όγκων. Στο στοχαστικό μοντέλο κάθε κύτταρο του όγκου μπορεί τυχαία να οδηγήσει στην εξέλιξη καρκίνου. Σύμφωνα με το ιεραρχικό μοντέλο μόνο καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSCs) έχουν τη δυνατότητα δημιουργίας όγκων (Chandler & Lagasse, 2010).

Η φαινοτυπική πλαστικότητα χαρακτηρίζει έναν πληθυσμό καρκινικών κυττάρων που μπορούν να αλληλομετατρέπονται από διαφοροποιημένα κύτταρα σε κύτταρα με βλαστικές ιδιότητες και το αντίθετο. Έτσι ανάλογα με το γονότυπο και τα μικροπεριβάλλοντα σήματα καρκινικά κύτταρα μπορούν να εισέλθουν πάλι στην ομάδα των CSCs. Αυτή η ικανότητα από-διαφοροποίησης μπορεί να είναι κληρονομική

(ιεραρχική θεωρία) ή να αποκτάται μέσω μεταλλάξεων που οδηγούν σε ένα γονιδίωμα που προσδίδει βλαστικές ιδιότητες στο κύτταρο (στοχαστική θεωρία).

Είναι σημαντικό να εστιάσουμε λοιπόν στον πληθυσμό των καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSCs), τα οποία όπως προαναφέρθηκε είναι υπεύθυνα και για την επανεμφάνιση των όγκων. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν τη συσχέτιση των χαρακτηριστικών των κυττάρων αυτών με ένα αναπτυξιακό ρυθμιστικό πρόγραμμα που αναφέρεται ως μετασχηματισμός επιθηλιακού προς μεσεγχυματικό φαινότυπο (EMT- epithelial-mesenchymal transition). Τα μετασχηματισμένα επιθηλιακά μπορούν να αποκτήσουν ιδιότητες ώστε να εισβάλλουν σε ιστούς, να αντιστέκονται στην απόπτωση και να διασπείρονται. Είναι μια βιολογική διαδικασία κατά την οποία ένα πολωμένο επιθηλιακό κύτταρο, που φυσιολογικά αλληλεπιδρά με τη βασική μεμβράνη ενός ιστού, υποβάλλεται σε πολλαπλές βιοχημικές αλλαγές που του επιτρέπουν να αποκτήσει ένα μεσεγχυματικό κυτταρικό φαινότυπο. Ο φαινότυπος αυτός περιλαμβάνει ενισχυμένη μεταναστευτική ικανότητα, διεισδυτικότητα, αντοχή στην απόπτωση και αυξημένη παραγωγή στοιχείων της εξωκυτταρικής μήτρας (ECM) (εικόνα 22).



Εικόνα 22. Μοντέλο βλαστικών κυττάρων του καρκίνου. Α. Διάφορα καρκινικά κύτταρα εντός του πληθυσμού των καρκινικών κυττάρων μεταβάλλονται σε καρκινικά βλαστοκύτταρα. Β. Κακοήθης μετατροπή των φυσιολογικών βλαστικών κυττάρων του ιστού σε CSCs μέσω ενεργοποίησης της EMT στο μικροπεριβάλλον του όγκου. C. Οι ινοβλάστες στο περιβάλλον του όγκου μετατρέπονται σε καρκινικά βλαστικά κύτταρα. (Sung et al., 2016)

Μία σειρά μοριακών γεγονότων όπως η ενεργοποίηση παραγόντων μεταγραφής, η έκφραση συγκεκριμένων πρωτεϊνών επιφανείας, η αναδιοργάνωση και η έκφραση κυτοσκελετικών πρωτεϊνών, καθώς και η έκφραση ειδικών micro-RNAs, εμπλέκονται στην έναρξη και την ολοκλήρωση της EMT. Το πρόγραμμα αυτό άρα όχι μόνο ενεργοποιεί τα καρκινικά κύτταρα να μεταναστεύουν από τους πρωτογενείς όγκους αλλά τους προσδίδει την ικανότητα της αυτό-ανανέωσης για την επακόλουθη δημιουργία αποικιών στις μεταστατικές περιοχές. Τα σήματα επομένως που προκαλούν EMT, όπως και αυτά της φλεγμονής, έχουν μεγάλη σημασία στη δημιουργία αλλά και στη διατήρηση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων (Kalluri & Weinberg, 2009).

Ο ΘΩΚΟΣ ΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (CSCs)

Τα καρκινικά κύτταρα σε μεμονωμένους όγκους εμφανίζουν ξεχωριστούς φαινότυπους με διαφορετικές λειτουργικές ιδιότητες. Μέσα στην ετερογένεια των όγκων, τα CSCs είναι τα καρκινικά κύτταρα με κύριες ιδιότητές τους αυτές της αυτό-ανανέωσης, της έναρξης όγκων και εμφάνισης δυναμικού επαναπληθυσμού (δημιουργίας νέων όγκων). Εμφανίζουν πλαστικότητα λόγω της δυνατότητας μετασχηματισμού τους ανάμεσα σε στελέχη με βλαστικές και μη βλαστικές ιδιότητες, αποφεύγουν τον κυτταρικό θάνατο και κάνουν μεταστάσεις παρόλο που μπορεί να μείνουν αδρανή για μεγάλες χρονικές περιόδους. Όπως και τα φυσιολογικά βλαστοκύτταρα, τα CSCs διατηρούνται σε θώκους. Οι φυσιολογικοί θώκοι αποτελούνται από ινοβλάστες, κύτταρα του ανοσοποιητικού, ενδοθηλιακά και περι-αγγειακά κύτταρα, προγονικά βλαστικά κύτταρα, συστατικά της εξωκυτταρικής μήτρας και δίκτυα κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων. Ο θώκος των καρκινικών βλαστικών κυττάρων αποτελεί μέρος του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Κύτταρα του όγκου χωρίς βλαστικές ιδιότητες αποτελούν επίσης τμήμα του θώκου των CSCs. Κατά τη διάρκεια εξέλιξης των όγκων σε πιο κακοήθεις μορφές, η κατάσταση των CSCs στον πρωτογενή όγκο εξαρτάται ουσιαστικά από το περιβάλλον του όγκου και στη συνέχεια από τη θέση του θώκου τους μέσα σε αυτό. Επομένως οι θώκοι των CSCs είναι ανατομικά διακριτά μικροπεριβάλλοντα μέσα στο συνολικό μικροπεριβάλλον του όγκου. Τα κύτταρα μέσα σε αυτούς τους θώκους παράγουν παράγοντες που προκαλούν την αυτό-ανανέωση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων, προκαλούν αγγειογένεση και προσελκύουν κύτταρα του ανοσοποιητικού καθώς και άλλα στρωματικά, τα οποία θα εκκρίνουν πρόσθετους παράγοντες, που θα βοηθήσουν στην εισβολή και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Πιο συγκεκριμένα στους θώκους των καρκινικών βλαστικών κυττάρων εντοπίζουμε (εικόνα 23):

ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΟΥΣ ΜΕ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ (CAFs)

Παράγοντες που παράγονται από τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα στο μικροπεριβάλλον των όγκων μπορούν να μετασχηματίσουν τους φυσιολογικούς ινοβλάστες σε καρκινικούς (CAFs). Οι CAFs έχουν ενισχυμένη πολλαπλασιαστική ικανότητα και αυξημένη παραγωγή στοιχείων της εξωκυτταρικής μήτρας και έκκριση μοναδικών κυτοκινών (CXCL12, αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα-VEGF, αυξητικό παράγοντα αιμοπεταλίων-PDGF, αυξητικό παράγοντα ηπατοκυττάρων-HGF). CAFs μαζί με άλλα κύτταρα του θώκου διεγείρουν τη βλαστικότητα των κυττάρων μέσω ενεργοποίησης των μονοπατιών WNT και NOTCH. Η σηματοδότηση NOTCH εμποδίζει τα κύτταρα να ανταποκριθούν σε υποδείξεις διαφοροποίησης που προέρχονται από το άμεσο περιβάλλον. Αλληλεπιδράσεις WNT και NOTCH μαζί με άλλες οδούς όπως BMP και Hedgehog καθορίζουν την κατάσταση διαφοροποίησης των κυττάρων.

ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (MCSs)

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα είναι πλειοδύναμα στρωματικά κύτταρα που εμπλέκονται σε μηχανισμούς που προάγουν τον πολλαπλασιασμό και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων, προωθούν την αγγειογένεση και δημιουργούν ένα ανοσοκατασταλτικό μικροπεριβάλλον. Παρέχουν ένα ευνοϊκό καρκινικό περιβάλλον για την αναγέννηση των CSCs καθώς εκκρίνουν μια ποικιλία κυτοκινών, τόσο με παρακρινείς όσο και με αυτοκρινείς λειτουργίες, στο περιβάλλον του όγκου. Τα MSCs μπορούν να προάγουν τη βλαστικότητα των καρκινικών κυττάρων μέσω του μονοπατιού NF-κΒ, με την έκκριση CXCL12, ιντερλευκίνης-6 (IL-6) και IL-8. Επιπλέον διεγείρουν την εξέλιξη του όγκου με την παραγωγή ενός ανταγωνιστή της BMP, την πρωτεΐνη Gremlin1, για την προώθηση της αδιαφοροποίητης κατάστασης.

ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ

Ο θώκος των καρκινικών βλαστικών κυττάρων παίζει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της ανοσίας του όγκου. Το καρκινικό μικροπεριβάλλον χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή, η οποία διεγείρει με τη σειρά της τον πολλαπλασιασμό και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Για να αποφευχθεί η δράση του ανοσοποιητικού συστήματος και να εξελιχθεί ο καρκίνος θα πρέπει ο θώκος να καταστείλει τη λειτουργία και τη διήθηση των κυττάρων φυσικών φονιάδων (NKs-natural killer cells) και των CD8+ T-κυττάρων (T-λεμφοκύτταρα που εκφράζουν το δείκτη επιφανείας CD8).

ΥΠΟΞΙΑ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ

Η διαταραγμένη προσβασιμότητα στο αγγειακό σύστημα οδηγεί σε υποξία σε διάφορους όγκους. Αυτό είναι ένα πλεονέκτημα για την βλαστικότητα καθώς έτσι ενεργοποιούνται γονίδια που σχετίζονται με τις βλαστικές ιδιότητες και την από-διαφοροποίηση. Τα υποξικά CSCs παρεμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό και την ενεργοποίηση των CD8+ T-κυττάρων και αναστέλλουν τη δράση του ανοσοποιητικού. Η υποξία προστατεύει επίσης τα CSCs από τη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Επιπλέον προάγει την επιβίωση των CSCs και την EMT μέσω δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και μέσω της οδού TGF-β. Η σηματοδότηση TGF-β και WNT σε συνθήκες υποξίας διατηρούν τα καρκινικά κύτταρα σε αδιαφοροποίητη κατάσταση και συμβάλλουν στη βλαστικότητά τους. Η υποξία επάγει τα CSCs να εκφράσουν τους παράγοντες HIFs, οι οποίοι ρυθμίζονται και σταθεροποιούνται από τον TGF-β. Τα γονίδια HIF είναι οι κύριοι παράγοντες που οδηγούν στην αγγειογένεση μέσω επαγωγής του VEGF.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ-ΜΗΤΡΑΣ ΚΑΙ ΕΠΑΦΗ ΚΥΤΤΑΡΟΥ-ΚΥΤΤΑΡΟΥ

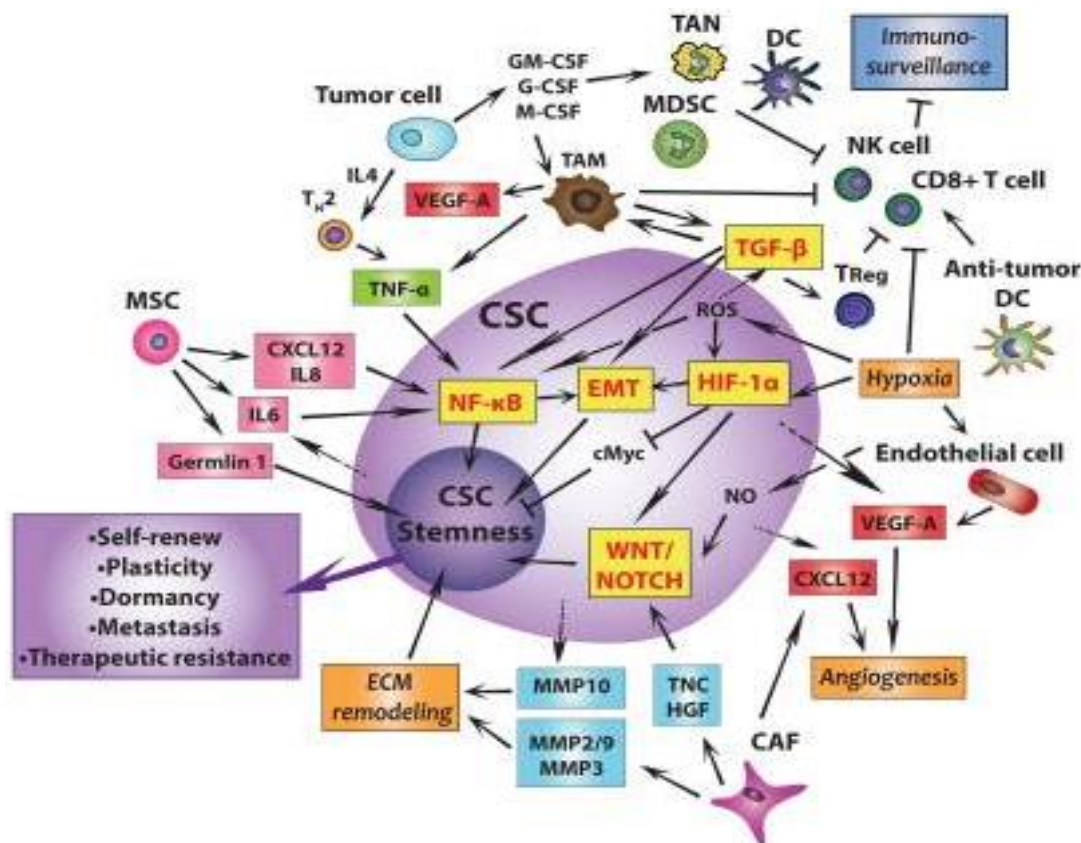
Η εξωκυτταρική μήτρα είναι ένα απαραίτητο μη κυτταρικό στοιχείο του θώκου των ενήλικων βλαστικών κυττάρων. Στους συμπαγείς όγκους, η δυσκαμψία της εξωκυτταρικής μήτρας είναι ένα φυσικό εμπόδιο για τις θεραπείες καθώς προστατεύει τα CSCs από χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της μήτρας (MMPs), που αποικοδομούν τα συστατικά της στους όγκους, απελευθερώνουν κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες και άλλα μόρια από την μήτρα και την κυτταρική επιφάνεια, διευκολύνοντας έτσι την αγγειογένεση, την εισβολή των καρκινικών κυττάρων και τη μετάσταση. CAFs παράγουν MMP2,3 και 9 για την αναδιαμόρφωση της εξωκυτταρικής μήτρας, η οποία προάγει την EMT, ενισχύει την έκφραση δεικτών-συσχετιζόμενων με τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα και συμβάλλει στη θεραπευτική αντίσταση.

Στους φυσιολογικούς θώκους, η αγκυροβόληση των βλαστικών κυττάρων σε αυτούς γίνεται μέσω επαφής των κυττάρων μεταξύ τους και είναι σημαντική ώστε να τα κρατήσει μακριά από ερεθίσματα διαφοροποίησης. Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα χρησιμοποιούν και αυτά επαφές μεταξύ κυττάρου-κυττάρου για να διατηρήσουν το φαινότυπο τους και να εκτελέσουν τις λειτουργίες τους. Για παράδειγμα είναι απαραίτητη η άμεση επαφή των MSCs με τα CSCs ώστε να ασκήσουν τη μέγιστη επίδρασή τους.

CSCs ΚΑΙ ΜΗ-CSCs

Όπως ήδη αναφέρθηκε, καρκινικά βλαστικά κύτταρα εκκρίνουν μία ποικιλία παραγόντων που συμβάλλουν στην πρόσληψη, την ενεργοποίηση και τη δημιουργία συγκεκριμένων

κυτταρικών τύπων για τον έλεγχο των καταστάσεων διαφοροποίησής τους. Καρκινικά κύτταρα που δεν έχουν χαρακτηριστικά των CSCs αποτελούν επίσης μέρος θώκου και εκκρίνουν κυτοκίνες και εξωσώματα. Μια αμφίδρομη μετατροπή μεταξύ CSCs και μη-CSCs μπορεί να ενεργοποιηθεί από ένα φλεγμονώδες στρώμα, το οποίο χαρακτηρίζεται από αυξημένη σηματοδότηση NF-κB, ενίσχυση του μονοπατιού WNT και από διαφοροποίηση μη καρκινικών βλαστικών κυττάρων ώστε να αποκτήσουν ιδιότητες που οδηγούν στην έναρξη των όγκων (Plaks et al., 2015).



Εικόνα 23. Η μοριακή και κυτταρική βάση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSCs) και των θώκων τους (Plaks et al., 2015).

Οι θώκοι επομένως παίζουν σημαντικό ρόλο στην διατήρηση των βασικών ιδιοτήτων των καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Τους επιτρέπουν να μη χάνουν τη φαινοτυπική τους πλαστικότητα, τα προστατεύουν από τη δράση του ανοσοποιητικού συστήματος και διευκολύνουν το μεταστατικό τους δυναμικό. Συμβάλλουν έτσι στην έναρξη και την εξέλιξη του καρκίνου.

ΣΤΟΧΕΥΣΗ ΤΩΝ CSCs ΚΑΙ ΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΤΟΥ ΘΩΚΟΥ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ

Εδώ και χρόνια ο καρκίνος έχει σταματήσει να θεωρείται ένας ομοιογενής πληθυσμός κυττάρων που δεν συμβάλλει πια στην ομοιόσταση. Δεν αποτελεί ένα χαοτικό σύστημα,

αλλά αντίθετα παρουσιάζει μια οργανωμένη δομή, έχει ένα ανεξάρτητο δυναμικό εξέλιξης και τεράστια προσαρμοστικότητα σε περιβαλλοντικές πιέσεις, για αυτό και η πλήρης κλινική ύφεση της ασθένειας είναι ιδιαίτερα δύσκολη. Το πλήθος των ιδιοτήτων των καρκινικών βλαστικών κυττάρων, που τα καθιστούν υπεύθυνα για την προαγωγή και την εξέλιξη-ανάπτυξη των όγκων, είναι αυτό που τα κάνει ιδιαίτερα σημαντικά ως τους βασικούς θεραπευτικούς στόχους. Τα CSCs αναπτύσσουν μηχανισμούς επισκευής του DNA πολύ πιο γρήγορα από τα γειτονικά τους κύτταρα και εκκρίνουν προ-αποπτωτικούς παράγοντες που αναστέλλουν τον αποπτωτικό θάνατο που προκαλείται από άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Επιπλέον διατηρούν μια αδιαφοροποίητη κατάσταση που μαζί με την πλαστικότητα που παρουσιάζουν μπορούν και επιβιώνουν στο περιβαλλοντικό στρες. Η αποσιώπησή τους είναι άλλο ένα βασικό χαρακτηριστικό τους που συμβάλλει στην επιβίωση του καρκίνου, καθώς οι σχεδιασμένες χημειοθεραπείες στοχεύουν τα ταχέως διαιρούμενα κύτταρα. Γενικά οι όγκοι τείνουν να αυξάνουν τους συνολικούς πληθυσμούς τους κατά τις φάσεις ανάπτυξης, αυτό όμως περιορίζει τη σωστή αγγειοποίηση και προκαλεί χαμηλά επίπεδα οξυγόνου στα κέντρα τους. Αυτή η υποξία στο καρκινικό μικροπεριβάλλον προωθεί τη δημιουργία και την επιβίωση των CSCs. Η μετάσταση του καρκίνου συνδέεται και αυτή με τα καρκινικά βλαστοκύτταρα, τα οποία μεταναστεύουν από τη θέση τους στους όγκους και εγκαθιδρύονται σε νέους θώκους όπου παράγουν διαφοροποιημένα καρκινικά κύτταρα. Τα μεταστατικά CSCs αντιστέκονται στη χημειοθεραπεία μέσω της αποσιώπησής τους και άλλων προγραμμάτων επιβίωσης των βλαστικών κυττάρων. Η στόχευση επομένως των καρκινικών βλαστικών κυττάρων και άρα των ιδιοτήτων τους όπως η αυτό-ανανέωση, η πλαστικότητα που εμφανίζουν, η επιβίωσή τους στην τοξικότητα, διαταράσσουν την επικοινωνία των όγκων και του μικροπεριβάλλοντός τους και έτσι συμβάλλουν σημαντικά στην αποτελεσματική θεραπεία του ασθενούς (Aronte & Caicedo, 2017).

Τα πράγματα όμως δεν είναι τόσο απλά όσο φαίνονται. Η πλαστικότητα των καρκινικών κυττάρων αποτελεί μια μεγάλη πρόκληση για αυτές τις θεραπείες. Καθώς οι πληθυσμοί των καρκινικών κυττάρων εξελίσσονται συνεχώς, ακόμη και με τη πλήρη θεραπευτική εξάλειψη των υπαρχόντων CSCs μπορεί να έχουμε στη συνέχεια αναγέννησή τους από άλλα μη-CSCs. Επιπλέον οι δείκτες των βλαστικών κυττάρων που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία με αντισώματα δεν είναι τόσο καλοί και ιδιαίτερα στους συμπαγείς όγκους δεν καταφέρνουν εύκολα να διακρίνουν τα φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα από τα CSCs (Plaks et al., 2015).

Δεδομένου τώρα ότι το καρκινικό μικροπεριβάλλον υποστηρίζει και συμβάλλει στην έναρξη προγραμμάτων βλαστικότητας στα καρκινικά κύτταρα, η στόχευση του θώκου των CSCs, που ρυθμίζει την πλαστικότητα τους, μπορεί να αποτελέσει επίσης έναν ισχυρό τρόπο θεραπείας και αποφυγής αυτής της πλαστικότητας και εξέλιξης των καρκινικών βλαστοκυττάρων. Ωστόσο θα πρέπει να έχουμε υπόψη ότι σε συγκεκριμένους τύπους καρκίνου και σε ορισμένα στάδια, CSCs μπορεί να εξελιχθούν, να ξεφύγουν από τους θώκους τους και να ανεξαρτητοποιηθούν. Έχουν γίνει ήδη προσπάθειες στόχευσης των θώκων των CSCs. Για παράδειγμα τέτοιοι στόχοι μπορεί να είναι οι μεταλλοπρωτεϊνάσες MMPs κυρίως στους όγκους που βρίσκονται σε πρώιμα στάδια καθώς η δράση τους εντοπίζεται τότε. Η στόχευση της υποξίας είναι ένα άλλο παράδειγμα για θώκους με αποσιωπημένα κύτταρα ανθεκτικά στα φάρμακα. Επίσης διάφοροι αναστολείς της αγγειογένεσης μπορεί να εμφανίσουν θετικά αποτελέσματα. Η θεραπεία η οποία στοχεύει τον VEGF μπορεί να καταστρέψει το αγγειακό σύστημα του όγκου και να εξαλείψει την ικανότητα αυτό-ανανέωσης των καρκινικών βλαστοκυττάρων αναστέλλοντας έτσι την ανάπτυξη του όγκου. Μια επιτυχημένη προσέγγιση στην καταπολέμηση των όγκων είναι και η στόχευση των ανοσολογικών σημείων. Είτε η παρεμπόδιση των ανοσοκατασταλτικών μηχανισμών για την αποκατάσταση της λειτουργίας των T-κυττάρων είτε η ενίσχυση της ανοσολογικής απόκρισης με τη συμμετοχή υποδοχέων συν-διεγέρσεως με αντισώματα ανταγωνιστές είναι δύο από τα βασικά αυτά σημεία. Συνοψίζοντας η στόχευση τόσο των CSCs όσο και των στοιχείων του θώκου τους μπορεί να φανούν πιο αποτελεσματικές μέθοδοι για την καταπολέμηση και τη θεραπεία του καρκίνου (Plaks et al., 2015).

ΚΥΡΙΩΣ ΘΕΜΑ

ΚΑΡΚΙΝΟΣ-ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Ο καρκίνος είναι μία από τις κύριες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως και αποτελεί το 20% των θανάτων στις ανεπτυγμένες χώρες. Από προκλινικές και κλινικές μελέτες διάφοροι μέθοδοι διάγνωσης και θεραπείας έχουν αναπτυχθεί και συμβάλλουν σημαντικά στην πρόληψη και θεραπεία του καρκίνου. Η ετερογένεια όμως τη νόσου είναι αυτή που οδηγεί πολλές φορές στην αποτυχία των θεραπειών και την εξέλιξη των όγκων. Μεταξύ αρκετών θεραπειών, αυτές που χρησιμοποιούνται πιο συχνά είναι η χειρουργική επέμβαση, η ακτινοθεραπεία και η χημειοθεραπεία. Με τη χειρουργική επέμβαση μπορεί να αφαιρεθεί με επιτυχία ο καρκίνος από το σώμα και σε συνδυασμό με την ακτινοθεραπεία και τη χημειοθεραπεία τα αποτελέσματα μπορεί να είναι πολύ πιο θετικά στους διάφορους τύπους καρκίνου. Πρόσφατοι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες είναι επιτυχείς κατά των πρωτοπαθών καρκινικών βλαβών αλλά και κατά των υπολειμμάτων μετά από χειρουργική επέμβαση ή ακτινοθεραπεία (Phi et al., 2018). Υπάρχουν πολλά διαφορετικά είδη φαρμάκων που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του καρκίνου. Πέρα όμως από τη κλασική χημειοθεραπεία, που παραμένει ο καλύτερος τρόπος αντιμετώπισης, υπάρχουν και κάποια άλλα είδη φαρμάκων που μπορεί να είναι ιδανικότερα σε ορισμένες περιπτώσεις. Τέτοια φάρμακα που στοχεύουν τον καρκίνο με άλλες μεθόδους είναι η στοχευμένη θεραπεία, η ορμονοθεραπεία και η ανοσοθεραπεία. Η κλασική χημειοθεραπεία θεωρείται μια συστηματική θεραπεία καθώς τα φάρμακα ταξιδεύουν σε όλο το σώμα και μπορούν να στοχεύσουν καρκινικά κύτταρα (μεταστατικά) που έχουν εξαπλωθεί σε μέρη του σώματος μακριά από τον αρχικό (πρωτογενή) όγκο. Αυτό είναι που την κάνει και να διαφέρει από τις χειρουργικές επεμβάσεις και τις ακτινοθεραπείες. Μία χειρουργική επέμβαση απομακρύνει τον όγκο από κάποιο μέρος του σώματος που εντοπίστηκε ο καρκίνος και η ακτινοθεραπεία από την πλευρά της στοχεύει μια συγκεκριμένη περιοχή για να βλάψει και να σκοτώσει τα συγκεκριμένα καρκινικά κύτταρα. Τέτοιες θεραπείες ονομάζονται τοπικές και επηρεάζουν ένα μόνο μέρος του σώματος σε αντίθεση με τις χημειοθεραπείες. Στις χημειοθεραπείες χρησιμοποιείται ένας θεραπευτικός παράγοντας που δρα ενάντια του καρκίνου, συχνά όμως έχουμε και συνδυασμό φαρμάκων-παραγόντων. Αυτά μπορεί να χορηγηθούν με καθορισμένη σειρά ή σε συγκεκριμένους συνδυασμούς οπότε τότε μιλάμε για συνδυασμένη χημειοθεραπεία. Διαφορετικά φάρμακα που λειτουργούν με διαφορετικούς τρόπους, μπορούν να συνεργαστούν για να σκοτώσουν περισσότερα καρκινικά κύτταρα. Αυτό μπορεί να μειώσει και την πιθανότητα ο καρκίνος να γίνει ανθεκτικός σε κάποιο χημειοθεραπευτικό

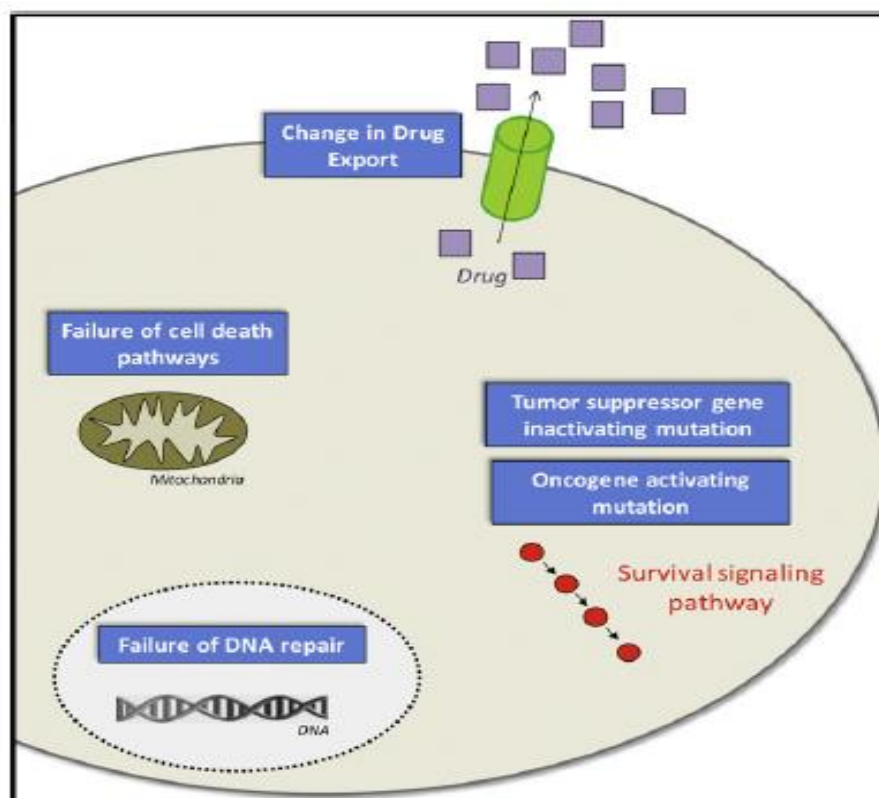
φάρμακο. Τα περισσότερα από αυτά τα φάρμακα είναι ισχυρά και πρέπει να χορηγούνται προσεκτικά για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά τους. Η λήψη πολύ μικρής ποσότητας δε θα θεραπεύσει τον καρκίνο ενώ από την άλλη η χορήγηση πολλών μαζί και σε αυξημένες δόσεις μπορεί να έχει απειλητικές παρενέργειες για τη ζωή. Οι χημειοθεραπείες χορηγούνται συνήθως σε τακτά χρονικά διαστήματα, που ονομάζονται κύκλοι. Ένας κύκλος μπορεί να είναι μία δόση ενός ή περισσότερων φαρμάκων σε μία ή περισσότερες ημέρες, ακολουθούμενη από αρκετές μέρες ή εβδομάδες χωρίς θεραπεία. Όλο αυτό δίνει χρόνο στα κανονικά κύτταρα να ανακάμψουν από τις παρενέργειες του φαρμάκου. Μερικά φάρμακα λειτουργούν καλύτερα όταν δίνονται συνεχώς για ένα καθορισμένο αριθμό ημερών και ακολουθείται πάντα μία περίοδος ανάπαυσης (ACS,2019). Ωστόσο οι χημειοθεραπείες προκαλούν ετερογένεια στους όγκους, η οποία προέρχεται τόσο από τα φυσιολογικά όσο και από τα καρκινικά κύτταρα. Η ετερογένεια όμως αυτή που δημιουργείται οδηγεί με τη σειρά της στη μείωση των θετικών επιδράσεων της χημειοθεραπείας και έτσι έχουμε αποτυχία της θεραπείας και εξέλιξη της νόσου. Η αντοχή στις χημειοθεραπείες αποτελεί ένα μείζον πρόβλημα για τη θεραπεία των ασθενών με καρκίνο, καθώς τα καρκινικά κύτταρα γίνονται ανθεκτικά στις χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται και επιπλέον σε αρκετές περιπτώσεις οι όγκοι μετατρέπονται σε πιο επιθετικές μορφές ή γίνονται μεταστατικοί (Phi et al., 2018).

Εξ ορισμού, οι χημειοθεραπείες παρεμβαίνουν σε βιοχημικά προγράμματα που εμπλέκονται με την κυτταρική διαίρεση και προκαλούν επιλεκτικό κυτταρικό θάνατο. Τα φυσιολογικά κύτταρα θα πρέπει να μπορούν να προσαρμοστούν και να ανακάμψουν από την τοξικότητα των φαρμάκων. Πολλοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες σκοτώνουν καρκινικά κύτταρα μέσω παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) ή μέσω επαγωγής της απόπτωσης και της νέκρωσης των καρκινικών κυττάρων. Άλλοι παράγοντες δρουν σε διάφορα στοιχεία του κυτταρικού μεταβολισμού και επηρεάζουν τις δραστηριότητες των ενζύμων που είναι απαραίτητα για την κυτταρική διαίρεση. Οι θεραπείες λοιπόν του καρκίνου στοχεύουν στο δυναμικό πολλαπλασιασμού και τη μεταστατική ικανότητα των κυττάρων. Τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα βασίζονται στο γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα διαιρούνται γρήγορα. Πέρα από αυτό όμως μπορούν να χωριστούν σε κατηγορίες ανάλογα με τον τρόπο που δρουν, τη χημική δομή τους και τη σχέση τους με άλλα φάρμακα. Οι σημαντικότερες κατηγορίες περιλαμβάνουν παράγοντες αλκυλίωσης (πχ. cyclophosphamide, ifosfamide, melphalan, busulfan), αντιμεταβολίτες (πχ. 5-fluorouracil, methotrexate, gemcitabine), αντικαρκινικά αντιβιοτικά (πχ. daunorubicin, doxorubicin, epirubicin), αναστολείς τοποϊσομεράσης (πχ. topotecan,

etoposide), μιτωτικούς αναστολείς (πχ. paclitaxel, docetaxel, vinblastine) και συμπλέγματα πλατίνας (πχ. cisplatin, carboplatin, oxaliplatin). Τα περισσότερα χημειοθεραπευτικά φάρμακα άρα δρουν ενάντια του μηχανισμού του κυτταρικού κύκλου και η δράση τους βασίζεται στη διαφορά συχνότητας της κυτταρικής διαίρεσης μεταξύ των καρκινικών κλώνων και των φυσιολογικών κυττάρων. Μέσα σε αυτή τη διαδικασία καρκινικοί κλώνοι που αναπτύσσονται αργά θα επιβιώσουν και θα εξελιχθούν σε νέα ταχέως αναπτυσσόμενα στελέχη. Στην πραγματικότητα, οι χημειοθεραπείες σκοτώνουν τα ευαίσθητα κύτταρα του όγκου οδηγούν σε ύφεση του καρκίνου για εβδομάδες ή και μήνες και τελικά μπορεί να εμφανιστούν με μία πιο επιθετική μορφή. Όσο μεγαλύτερη χημειοθεραπεία χορηγείται τόσο επιθετικότερη είναι η υποτροπή στον οργανισμό. Σε τέτοιες περιπτώσεις, που φυσικά δεν αφορούν όλους τους ασθενείς, οι χημειοθεραπείες επιλέγουν έμμεσα το πιο ανθεκτικό μεταλλαγμένο κύτταρο για κλωνική επέκταση (Sak, 2012).

ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΙΣ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Ασθενείς με καρκίνο αντιμετωπίζονται με τα συμβατικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα ή/και με ακτινοβολία. Η πλειονότητα των ασθενών ανταποκρίνονται καλά σε τέτοιες θεραπείες. Υπάρχει όμως ένα σύνολο ασθενών χωρίς ανταπόκριση είτε από την αρχή των θεραπειών είτε μετά από συνεχόμενες χημειοθεραπείες. Σε αυτούς τους ασθενείς, τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν μηχανισμούς αντοχής σε αποπτωτικά ερεθίσματα με αποτέλεσμα την πρόοδο του καρκίνου. Η αντοχή των καρκινικών κυττάρων στις χημειοθεραπείες εξακολουθεί να είναι ένα βασικό εμπόδιο στη θεραπεία των καρκινοπαθών. Τόσο η ενδογενής, όσο και η επίκτητη αντίσταση, που παρουσιάζεται, οφείλεται στις πολυάριθμες γενετικές και επιγενετικές αλλαγές που εμφανίζονται στα καρκινικά κύτταρα. Άλλωστε ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του καρκίνου είναι η ανάπτυξη μηχανισμών για την επιβίωση τους σε καταστάσεις στρες, όπως οι χημειοθεραπείες. Πολλοί κυτταρικοί μηχανισμοί είναι υπεύθυνοι για την αντοχή των καρκινικών κυττάρων απέναντι στους διάφορους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, οι βασικότεροι όμως που εξαιτίας τους προκαλείται ευαισθησία σε μία μεγάλη ομάδα φαρμάκων συνοψίζονται παρακάτω (εικόνα 24) (Rebucci & Michiels, 2013).



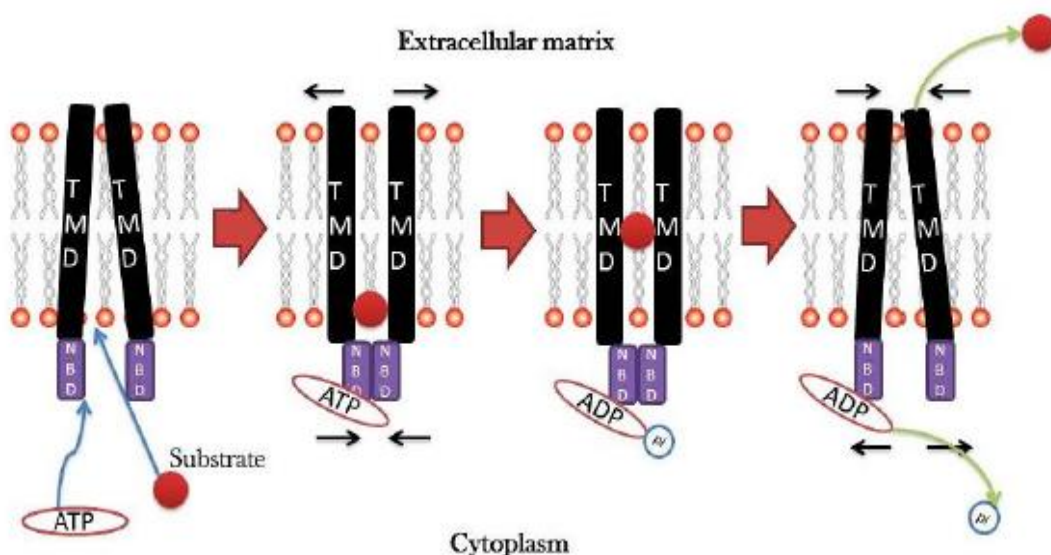
Εικόνα 24. Οι πιο κοινοί μηχανισμοί αντίστασης στα φάρμακα (Rebucci & Michiels, 2013)

➤ Μεταλλάξεις ενεργοποίησης ογκογονιδίων ή μεταλλάξεις απενεργοποίησης γονιδίων καταστολής όγκων που καθιστούν τα καρκινικά κύτταρα ανθεκτικά στον κυτταρικό θάνατο.

Τα απορυθμισμένα μονοπάτια σηματοδότησης, που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό, είναι η βασική αιτία του κυτταρικού μετασχηματισμού. Η υπερέκφραση αναπτυξιακών παραγόντων επιτρέπει τη μιτωτική αυτοκρινή σηματοδότηση, μεταλλάξεις στους υποδοχείς των αναπτυξιακών παραγόντων καθώς και αυξημένη έκφραση των πρωτεϊνών μεταγωγής σήματος οδηγούν σε παρατεταμένη πολλαπλασιαστική σηματοδότηση και μη φυσιολογικό πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Τα κυκλώματα πολλαπλασιασμού και βιωσιμότητας είναι στενά συνδεδεμένα. Σήματα πολλαπλασιασμού παρέχουν ταυτόχρονα σήματα επιβίωσης. Αυτά τα σήματα επιβίωσης δεν εμποδίζουν μόνο τον καρκινικό κυτταρικό θάνατο, αλλά προάγουν και τη βιωσιμότητα των κυττάρων όταν εκτίθενται σε καταπονήσεις, όπως αυτές από τα αντικαρκινικά φάρμακα. Έτσι εμφανίζεται και η αντοχή στις χημειοθεραπείες (Rebucci & Michiels, 2013).

➤ Αλλαγές στην εξαγωγή των φαρμάκων – Multidrug Resistance (MDR)

Η αντοχή απέναντι σε πολλαπλά φάρμακα (MDR) στις χημειοθεραπείες του καρκίνου έχει επισημανθεί ως η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να επιβιώσουν ενάντια σε ένα μεγάλο εύρος αντικαρκινικών φαρμάκων. Ο μηχανισμός αυτός μπορεί να αναπτυχθεί με την αυξημένη απελευθέρωση του φαρμάκου έξω από τα κύτταρα, και άρα τη μειωμένη απορρόφηση του από τα συγκεκριμένα κύτταρα (Mansoori et al., 2017). Υπάρχει μια οικογένεια, εξαρτημένων από το ATP, μεταφορέων που εμπλέκονται στη μεταφορά θρεπτικών ουσιών και άλλων μορίων διαμέσου της μεμβράνης. Οι γνωστοί αυτοί ABC μεταφορείς αποτελούνται από δύο κυτταροπλασματικές περιοχές όπου συνδέονται με μόρια ATP (γνωστές και ως «κασέτα δέσμησης ATP») και δύο διαμεμβρανικές περιοχές. Η οικογένεια ABC έχει τρία βασικά μέλη μεταξύ των οποίων είναι: 1. Η P-γλυκοπρωτεΐνη (P-gp), 2. Η πρωτεΐνη 1 που σχετίζεται με την αντοχή σε πολλαπλά φάρμακα (MDR) και 3. Η πρωτεΐνη αντοχής στον καρκίνο του μαστού (BCRP/ABCG2). Η P-γλυκοπρωτεΐνη (P-gp) που είναι μεταφορέας πολλών φαρμάκων μπορεί και δεσμεύεται με μία ποικιλία χημειοθεραπευτικών παραγόντων (όπως Doxorubicin, Vinblastine και Taxol). Μετά τη δέσμηση του φαρμάκου, το ATP υδρολύεται και η δομή της P-gp τροποποιείται. Το αποτέλεσμα είναι η απελευθέρωση του παράγοντα-φάρμακο στον εξωκυτταρικό χώρο. Μετά τη δεύτερη υδρόλυση του ATP, ο μεταφορέας επιστρέφει στην αρχική του δομή και είναι έτοιμος να απελευθερώσει κι άλλο μόριο φαρμάκου εκτός του κυττάρου (εικόνα 25). Έτσι λόγω αυξημένης εκροής φαρμάκων, μειώνεται η ενδοκυτταρική τους συγκέντρωση και άρα οι ενδοκυτταρικές επιδράσεις του και έχουμε την εμφάνιση της αντοχής.



Εικόνα 25. Μηχανισμός απελευθέρωσης φαρμάκων μέσω μεταφορέων ABC (Mansoori et al., 2017)

➤ Αναστολή του κυτταρικού θανάτου

Η αντοχή στον κυτταρικό θάνατο είναι ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του καρκίνου. Ο κυτταρικός θάνατος προκαλείται από τρία σημαντικά γεγονότα όπως, η νέκρωση, η απόπτωση και η αυτοφαγία. Αν και οι διαδικασίες αυτές διαφέρουν μεταξύ τους στα βιολογικά χαρακτηριστικά τους, όλες διευκολύνουν τον κυτταρικό θάνατο. Αυτή που συνδέεται κυρίως με την αντίσταση στα φάρμακα είναι η απόπτωση. Στην απόπτωση η θετική ρύθμιση των αντι-αποπτωτικών γονιδίων και η αρνητική των προ-αποπτωτικών γονιδίων στα καρκινικά κύτταρα σχετίζονται με την αυξημένη αντίστασή τους στις χημειοθεραπείες. Η αντοχή στα φάρμακα μπορεί να προκληθεί και από μεταλλάξεις στο γονίδιο p53 (που κωδικοποιεί την ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη P53), που προκαλεί την απόπτωση σε καταστάσεις στρες και καταστροφής του DNA. Επομένως οι μεταλλάξεις αυτές μπορούν και επηρεάζουν τη σχέση μεταξύ βλάβης του DNA (που προκλήθηκε από χημειοθεραπευτικούς παράγοντες) και ενεργοποίησης της απόπτωσης. Η αυτοφαγία είναι μία αυτο-αποικοδομητική οδός που επιτρέπει τα κύτταρα να αντιμετωπίσουν καταστάσεις καταπονήσεων. Μπορεί να βοηθήσει ή να παρεμποδίσει την απόπτωση. Μεταβολές στο μονοπάτι αυτό μπορεί να καταστέλλουν ή να προάγουν τους όγκους ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης του καρκίνου. Η αποτυχία λειτουργίας των μονοπατιών που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην αντοχή απέναντι στα καρκινικά φάρμακα (Mansoori et al., 2017).

➤ Ενίσχυση της επιδιόρθωσης του DNA

Η επισκευή του DNA είναι ένας από τους γνωστούς μηχανισμούς αντοχής στα αντικαρκινικά φάρμακα. Οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες βλάπτουν άμεσα ή και έμμεσα το DNA των καρκινικών κυττάρων, υπάρχουν όμως μηχανισμοί που μπορούν να αποκαταστήσουν αυτές τις βλάβες. Για παράδειγμα συμπλέγματα πλατίνας που δρουν σε επίπεδο DNA (πχ. Cisplatin) καταστρέφουν το DNA και οδηγούν σε απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Η αντοχή σε τέτοιους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες εμφανίζεται εξαιτίας των συστημάτων επιδιόρθωσης του DNA, που περιλαμβάνει την αποκατάσταση μέσω εκτομής νουκλεοτιδίων (nucleotide excision repair-NER) και το μηχανισμό επισκευής μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού (recombination repair mechanism-RRM), στα καρκινικά κύτταρα. Η αποτελεσματικότητα άρα αυτών των παραγόντων θα μπορούσαμε να πούμε ότι εξαρτάται από την αναστολή των συστημάτων αποκατάστασης του DNA στα καρκινικά κύτταρα.

Εκτός όμως από βασικούς αυτούς μηχανισμούς, σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση της αντοχής κατά των αντικαρκινικών φαρμάκων παίζουν και τα εξής:

- Απενεργοποίηση των αντικαρκινικών φαρμάκων και αλλαγές στο μεταβολισμό τους

Η αποτελεσματικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων και η δραστηριότητά τους εξαρτώνται από πολύπλοκους μηχανισμούς. Η αλληλεπίδρασή τους με διάφορους τύπους πρωτεϊνών μπορεί να αλλάξει τα μοριακά χαρακτηριστικά τους και τελικά να τα ενεργοποιήσει. Τα καρκινικά κύτταρα καθίστανται ανθεκτικά μειώνοντας τη δραστηριότητα των φαρμάκων. Ο μεταβολισμός των χημειοθεραπευτικών παραγόντων προκαλείται από ένζυμα. Αυτά τα ένζυμα είναι και οι σημαντικότεροι παράγοντες για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των φαρμάκων στο εσωτερικό και το εξωτερικό των κυττάρων. Αντιδράσεις στα φάρμακα όπως η οξειδωση, η αναγωγή και η υδρόλυση είναι γνωστές ως αντιδράσεις φάσης I, η κατανάλωση και η μετατροπή τους είναι γνωστές ως αντιδράσεις φάσης II και παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των φυσιολογικών κυττάρων από τους τοξικούς παράγοντες. Όλες αυτές οι αντιδράσεις μειώνουν την αντοχή των φαρμάκων μέσα στα καρκινικά κύτταρα είτε μέσω μείωσης ενεργοποίησης των προ-φαρμάκων (μειωμένη δραστηριότητα ενζύμων) είτε μέσω αυξημένης αδρανοποίησης των φαρμάκων (αυξημένη δραστηριότητα ορισμένων ενζύμων) (Mansoori et al., 2017).

- Αλλαγές στους στόχους των χημειοθεραπευτικών παραγόντων

Η επίδραση των χημειοθεραπευτικών παραγόντων θα μπορούσε να εξαρτάται και από τις τροποποιήσεις όπως μεταλλάξεις και αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης των στόχων τους. Αυτοί οι τύποι τροποποιήσεων θα οδηγήσουν σε αντοχή των καρκινικών κυττάρων απέναντι στα φάρμακα (Mansoori et al., 2017).

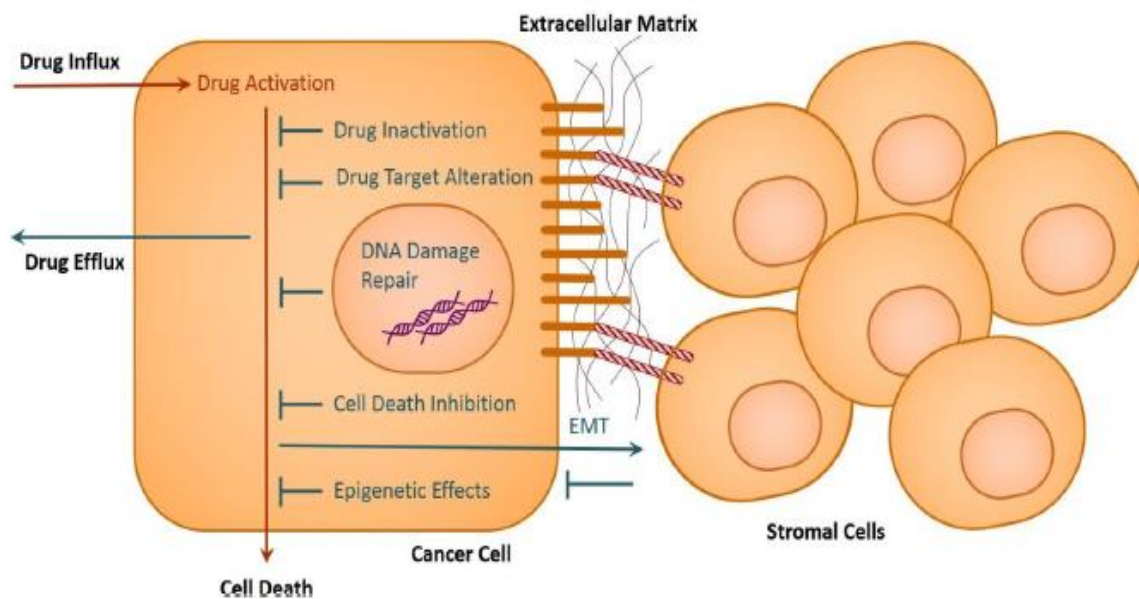
- Οι επιγενετικές αλλαγές στα καρκινικά κύτταρα

Ένα σημαντικό σύνολο μηχανισμών που προκαλούν αντοχή στη θεραπεία του καρκίνου είναι οι επιγενετικές τροποποιήσεις, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν και την καρκινογένεση γενικότερα. Δύο τύπους επιγενετικών αλλαγών συναντούμε, τη μεθυλίωση του DNA και τις τροποποιήσεις ιστονών μέσω ακετυλίωσης ή μεθυλίωσης. Οι μηχανισμοί αυτοί ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων σε όλο το χρωμόσωμα, στον καρκίνο όμως η κανονική αυτή ρύθμιση διαταράσσεται. Γονίδια καταστολής όγκων συχνά σιωπούν μέσω υπερμεθυλίωσης και ογκογονίδια υπερεκφράζονται μέσω υπομεθυλίωσης. Οι επιγενετικές αυτές τροποποιήσεις επομένως μπορούν και επηρεάζουν τους βασικούς μηχανισμούς

(όπως η επιδιόρθωση του DNA και η MDR) εξαιτίας των οποίων προκαλείται η ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων ενάντια στα φάρμακα. Ωστόσο, τέτοιες αλλαγές είναι συνήθως αναστρέψιμες και έτσι θα μπορούσε να δοθεί η ευκαιρία να αναπτυχθούν θεραπείες που θα αντιστάθμιζαν κάποιους ανθεκτικούς σε φάρμακα καρκίνους (Housman et al., 2014).

- Επιθηλιακή προς μεσεγχυματική τροποποίηση EMT και μετάσταση

Η EMT είναι ένας μηχανισμός με τον οποίο οι συμπαγείς όγκοι γίνονται μεταστατικοί. Η μετάσταση είναι ένα σύνθετο φαινόμενο που περιλαμβάνει αλλαγές σε ένα καρκινικό κύτταρο και τα στρωματικά κύτταρα που αποτελούν το περιβάλλον του. Περιλαμβάνει επίσης και το σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων γύρω από τους μεταστατικούς όγκους. Κατά την EMT, τα κύτταρα του όγκου μειώνουν την έκφραση των υποδοχέων κυτταρικής προσκόλλησης (ιντεγκρίνες και καδερίνες) που βοηθούν στην πρόσδεση κυττάρου-κυττάρου και αυξάνουν την έκφραση κυτταρικών υποδοχέων προσκόλλησης που προκαλούν κινητικότητα. Η κυτταρική κινητικότητα εξαρτάται και από κυτοκίνες και χημειοκίνες, που μπορεί να απελευθερώνονται από τα κύτταρα στο μικροπεριβάλλον των όγκων. Η υψηλότερη έκφραση μεταλλοπρωτεασών στην επιφάνεια των όγκων βοηθά στο άνοιγμα του δρόμου για την κίνηση των κυττάρων, προωθώντας έτσι τη μετάσταση. Αρκετοί παράγοντες κατά την EMT διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αντοχής ενάντια στα φάρμακα, αλλά η έκφρασή τους εξαρτάται κυρίως από το μεταστατικό βαθμό του όγκου, ο οποίος ορίζεται ως το επίπεδο διαφοροποίησης και του βαθμού της EMT (εικόνα 26). Η EMT και η μετάσταση του καρκίνου εξαρτώνται από πολλές μεταβλητές. Τα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα είναι συχνά ένας ετερογενής πληθυσμός, στον οποίο η διαφοροποίηση των κυττάρων δεν είναι ομοιόμορφη. Αυτός είναι και ένας από τους λόγους όπου κάποιοι ασθενείς ανταποκρίνονται περισσότερο και κάποιοι λιγότερο ή και καθόλου στις χημειοθεραπείες. Η EMT άρα καθώς ευνοεί το σχηματισμό περισσότερων καρκινικών κυττάρων παρέχει και σήματα για αύξηση της επιβίωσης των κυττάρων. Αυτό προκαλεί με τη σειρά του αντίσταση ορισμένων, αν όχι όλων, των καρκινικών φαρμάκων στα φάρμακα (Housman et al., 2014).



Εικόνα 26. Απεικόνιση των πρωτογενών μηχανισμών που επιτρέπουν τα καρκινικά κύτταρα να είναι ανθεκτικά απέναντι στα φάρμακα. Συνοπτικά περιλαμβάνουν την απενεργοποίηση φαρμάκων, τη μεταβολή των στόχων των φαρμάκων, την εκροή των ίδιων των φαρμάκων, την αποκατάσταση βλαβών του DNA, την αναστολή του κυτταρικού θανάτου των καρκινικών κυττάρων, την EMT καθώς και διάφορα επιγενετικά γεγονότα. Στην περίπτωση της EMT, τα στρωματικά κύτταρα βοηθούν αυτή τη διαδικασία και δίνουν σήμα για αποτελεσματικότερη αντοχή των καρκινικών κυττάρων στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης στα στρωματικά κύτταρα και οι πρωτεΐνες της εξωκυτταρικής μήτρας συνδέονται με τα μόρια προσκόλλησης κυττάρων στα καρκινικά κύτταρα. Στρωματικά κύτταρα και καρκινικά εκκρίνουν παράγοντες που ρυθμίζουν τον επιθηλιακό προς μεσεγχυματικό μετασχηματισμό. Στην εικόνα φαίνεται ένα απλοποιημένο παράδειγμα αυτών των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων. (Housman et al., 2014)

- Η υποξία στο μικροπεριβάλλον του όγκου

Στοιχεία δείχνουν ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των ανθρώπινων συμπαγών όγκων περιέχουν υποξικές περιοχές. Η υποξία είναι αποτέλεσμα όχι μόνο του ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, που τα τοποθετεί σε μεγάλη απόσταση από τα τριχοειδή αγγεία, αλλά και της μη φυσιολογικής δομής του νέου αγγειακού συστήματος που συχνά οδηγεί σε παροδική ροή του αίματος. Η έλλειψη οξυγόνου συμβάλλει στην ενεργοποίηση των ειδικών για την υποξία μεταγραφικών παραγόντων HIFs, οι οποίοι ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που τα προϊόντα τους βοηθούν τα κύτταρα και τους ιστούς να αντιμετωπίσουν καταστάσεις στρες. Στα καρκινικά κύτταρα άρα, HIFs βοηθούν στην αύξηση της επιβίωσης των κυττάρων αλλά και μεσολαβούν στην αντοχή που εμφανίζεται στα φάρμακα. Η υποξία είναι μια βασική κινητήρια δύναμη για την εξέλιξη των κακοηθειών. Η αντοχή που εμφανίζεται εξαιτίας της συμβαίνει καθώς υποχρεώνει τα

πιο ανθεκτικά καρκινικά κύτταρα να ξεφύγουν κατά τη μετάσταση και ταυτόχρονα ρυθμίζει θετικά την έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν σε αυτή. Πράγματι, οι HIFs είναι οι κύριοι ρυθμιστές της έκφρασης γονιδίων που εμπλέκονται στον επιθηλιακό προς μεσεγγυματικό μετασχηματισμό (καταστολή β-κατενίνης/ μόριο προσκόλλησης), στην κυτταρική μετανάστευση, στην εγκατάσταση και στη δημιουργία προμεταστατικού θώκου (Rebucci & Michiels, 2013).

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ CSCs ΣΤΗΝ ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Εκτός τώρα από την ανάπτυξη μηχανισμών αντίστασης σε φάρμακα στα ενήλικα καρκινικά κύτταρα, η υποτροπή του καρκίνου εξαρτάται και από μία κατηγορία ανθεκτικών στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες καρκινικών κυττάρων, που υπάρχουν μέσα σε έναν ετερογενή όγκο και εμφανίζουν βλαστικές ιδιότητες. Οι χημειοθεραπείες όπως προαναφέρθηκε εξ ορισμού σκοτώνουν μόνο καρκινικά κύτταρα ευαίσθητα στα φάρμακα, έτσι οι ανθεκτικοί πληθυσμοί επιβιώνουν και συμβάλουν στην παθολογία με την πάροδο του χρόνου. Τέτοια ανθεκτικά κύτταρα μπορεί να βρίσκονται και στην κυκλοφορία και να σχηματίζουν όγκους σε μακρινά όργανα, ωστόσο η ετερογένεια των καρκινικών κυττάρων παρατηρείται τόσο σε συμπαγείς όγκους όσο και στην κυκλοφορία (Housman et al., 2014).

Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα επομένως είναι ένας υποπληθυσμός του συνόλου των καρκινικών κυττάρων που είναι υπεύθυνα για την αντοχή απέναντι στις χημειοθεραπείες και την αναγέννηση του καρκίνου. Έχουν την ικανότητα να αυτό-ανανεωθούν και να διαφοροποιηθούν σε διάφορες καρκινικές κυτταρικές σειρές ως απόκριση στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Τα CSCs είναι ικανά επίσης να προκαλέσουν διακοπή του κυτταρικού τους κύκλου (αποσιώπηση) και να διατηρήσουν μία κατάσταση ηρεμίας ώστε έτσι να υποστηρίξουν την ικανότητά τους να παραμείνουν ανθεκτικά απέναντι στις χημειοθεραπείες. Να σημειώσουμε ότι τα CSCs μπορούν να αναγνωριστούν με συγκεκριμένους δείκτες των φυσιολογικών βλαστικών κυττάρων, οι οποίοι χρησιμοποιούνται συνήθως και για την απομόνωση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων από συμπαγείς και αιματολογικούς όγκους. Αρκετοί δείκτες επιφανείας έχουν επαληθευτεί για τον εντοπισμό πληθυσμών CSCs (πίνακας 1)(Phi et al., 2018).

| Tumor type | Cancer stem cell markers |
|----------------------|--|
| Lung cancer | CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , ABCG2, ALDH, CD87 ⁺ , SP, CD90 ⁺ |
| Colon cancer | CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , CD24 ⁺ , CD166 ⁺ , EpCAM ⁺ , ALDH, ESA |
| Liver cancer | CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , CD49f ⁺ , CD90 ⁺ , ALDH, ABCG2, CD24 ⁺ , ESA |
| Breast cancer | CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , CD24 ⁻ , EpCAM ⁺ , ALDH-1 |
| Gastric cancer | CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , CD24 ⁺ |
| Leukemia (AML) | CD34 ⁺ , CD38 ⁻ , CD123 ⁺ |
| Prostate cancer | CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , $\alpha 2\beta 1$, ABCG2, ALDH |
| Pancreatic cancer | CD133 ⁺ , CD44 ⁺ , CD24 ⁺ , ABCG2, ALDH, EpCAM ⁺ , ESA |
| Melanoma | ABC5 ⁺ , CD20 ⁺ |
| Head and neck cancer | SSEA-1 ⁺ , CD44 ⁺ , CD133 ⁺ |

Πίνακας 1. Δείκτες καρκινικών βλαστικών κυττάρων στον άνθρωπο (Phi et al., 2018)

Οι κοινές χημειοθεραπείες λοιπόν όπως έχει ήδη αναφερθεί στοχεύουν τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα και τα οδηγούν στην απόπτωση. Αν και μία επιτυχής θεραπεία καρκίνου καταργεί τον όγκο των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων, ένα υποσύνολο CSCs μπορεί να επιβιώσει και να οδηγήσει σε υποτροπή λόγω της ικανότητας που αποκτούν για υψηλότερη διεισδυτικότητα και αντίστασης στα φάρμακα (Phi et al., 2018). Γενικά, τα CSCs εντοπίζονται σαν ένας σπάνιος πληθυσμός κυττάρων εντός του όγκου, που στους περισσότερους συμπαγείς όγκους συνιστά <1% του κυτταρικού πληθυσμού. Ωστόσο κατά την εξέλιξη των περισσότερων όγκων το κλάσμα αυτό μπορεί να αυξηθεί έως περίπου και στο 30%, και αυτό σχετίζεται άμεσα με την αντίσταση κατά των φαρμάκων. Ο ρόλος τους άρα στην ανθεκτικότητα στις χημειοθεραπείες είναι βασικός, καθώς επιταχύνουν την ανάπτυξη των όγκων μετά τις θεραπείες. Δυσλειτουργία της αυτό-ανανέωσής τους είναι το πρώτο βήμα στην καρκινογένεση. Τα CSCs έχουν απεριόριστη ικανότητα αυτό-ανανέωσης, έτσι η παρουσία ακόμα και ενός τέτοιου κυττάρου στη θέση του όγκου είναι ικανή να προάγει την επανεμφάνισή του. Σε απομακρυσμένες περιοχές η παρουσία καρκινικού βλαστικού κυττάρου μπορεί να επαναδημιουργήσει έναν μεταστατικό όγκο. Υψηλά ποσοστά καρκινικών βλαστικών κυττάρων σε έναν όγκο είναι στοιχείο ασθενέστερης πρόγνωσης για τον ασθενή. Η μελέτη και η κατανόηση επομένως των μηχανισμών των CSCs που ευθύνονται για την αντίστασή τους στις χημειοθεραπείες είναι σημαντική για την αντιμετώπιση του προβλήματος (Najafi et al., 2019).

Πιο συγκεκριμένα τώρα η αντοχή που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια θεραπειών με αντικαρκινικά φάρμακα οφείλεται σε ένα πλήθος μηχανισμών των CSCs που εμποδίζουν τις χημειοθεραπείες να καταπολεμήσουν τον καρκίνο αποτελεσματικά. Η εγγενής

ανθεκτικότητά τους είναι η κινητήρια δύναμη ώστε να αποικήσουν τις απομακρυσμένες θέσεις της μετάστασης. Τα CSCs είναι εξαιρετικά δυναμικά και ετερογενή, και μπορούν εύκολα να προσαρμοστούν στο περιβάλλον. Ο κύκλος τους είναι αργός, έχουν ενεργούς τους αντι-αποπτωτικούς μηχανισμούς και αποτελεσματικά συστήματα επιδιόρθωσης του DNA. Όλα αυτά συμβάλλουν στην αντίσταση στα φάρμακα. Για παράδειγμα βλάβη που προκαλείται στο DNA των CSCs μετά από κάποια θεραπεία προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου ώστε να μπορέσει να επιδιορθωθεί το κατεστραμμένο DNA με τελική απόφαση είτε την απόπτωση είτε την επιστροφή στον κυτταρικό κύκλο. Γενικά οι βασικοί μηχανισμοί αντίστασης των CSCs είναι:

- Η επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετάπτωση (EMT)

Η EMT συνδέεται στενά με τη βιολογία των CSCs συμπεριλαμβανομένης της βλαστικότητας, της ανοσολογικής αποφυγής και της ανθεκτικότητας στα φάρμακα. Είναι ένα πρόγραμμα αποδιαφοροποίησης, που μετατρέπει τα επιθηλιακά κύτταρα σε κύτταρα μεσεγχυματικά με μεταναστευτικό φαινότυπο. CSCs επηρεάζουν άλλα μη καρκινικά κύτταρα κατά την μετάσταση και ενεργοποιούν την EMT ώστε να τα προωθήσουν προς μία κατάσταση μετασχηματισμού σε CSCs με αντι-αποπτωτικό χαρακτήρα. Επίσης διάφοροι ρυθμιστικοί παράγοντες και κυτοκίνες εμπλέκονται κατά την EMT με αποτέλεσμα να εμφανίζονται στα κύτταρα του όγκου διαφορετικά επίπεδα προσαρμοστικότητας και πλαστικότητας ανάλογα με το πώς και πόσο επηρεάζονται. Όλο αυτό περιπλέκει ακόμη περισσότερο τα πράγματα, ειδικά στις στοχευμένες θεραπείες (Najafi et al., 2019).

- Η υποξία

Η υποξία είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό στο περιβάλλον των όγκων και βοηθά σε μεγάλο βαθμό την αντοχή των CSCs απέναντι στα αντικαρκινικά φάρμακα. Εργαστηριακά δείχτηκε ότι η υποξία μέσω της επαγωγής του παράγοντα HIF-1a μπορεί και προωθεί τις καρκινικές βλαστικές ιδιότητες στα μη-CSCs κατά την EMT. Προκαλεί επίσης πρόωρη EMT καταστέλλοντας την ε-καντερίνη (επιθηλιακός δείκτης που συγκρατεί τα κύτταρα ενωμένα) και είναι υπεύθυνη για την αργή μετανάστευση και διεύδυση των καρκινικών βλαστοκυττάρων. Επιπλέον η υποξία διατηρεί σε χαμηλές συγκεντρώσεις τα επίπεδα των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) για τη διατήρηση και την επιβίωση των CSCs (Najafi et al., 2019). Τα καρκινικά κύτταρα γενικότερα παράγουν περισσότερα ROS από τα φυσιολογικά, τα ROS συμμετέχουν σε κάθε βήμα στην εξέλιξη του καρκίνου, αυξημένα όμως ενδοκυτταρικά επίπεδα προκαλούν καταστροφή του DNA, των λιπιδίων και άλλων

πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα τα κύτταρα να γίνονται πιο ευάλωτα σε επιπλέον προσβολή από ROS που μπορεί να προκαλείται από εξωγενείς παράγοντες. Αυτή η προσέγγιση θα μπορούσε να είναι και ένας αποτελεσματικός τρόπος για την εκλεκτική καταστροφή των καρκινικών κυττάρων χωρίς να προκαλείται σημαντική τοξικότητα στα φυσιολογικά κύτταρα (Shi et al., 2012).

- Η αυτοφαγία

Τα CSCs έχουν αναπτύξει έναν μηχανισμό αυτοφαγίας προκειμένου να διατηρήσουν τις βλαστικές τους ιδιότητες. Ο μηχανισμός αυτός τα βοηθά να διατηρήσουν τα ROS σε χαμηλές συγκεντρώσεις ώστε να μην έχουμε καταστροφή του DNA (όπως και στην περίπτωση της υποξίας) και επιπλέον τα προστατεύει από την ανοικία. Η ανοικία είναι ένας τύπος κυτταρικού θανάτου που προκαλείται όταν το κύτταρο λόγω ακατάλληλων συνθηκών αποκολληθεί από κάποιο γειτονικό του κύτταρο ή χάσει την επαφή του με την εξωκυτταρική μήτρα. Η αυτοφαγία προστατεύει επίσης τα κύτταρα όταν βρεθούν σε καταστάσεις στρες όπως η υποξία και η διατροφική έλλειψη. Έτσι τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα διατηρώντας αυτόν το μηχανισμό σε μία ισορροπία μπορούν να γίνουν πιο ανθεκτικά απέναντι στις χημειοθεραπείες (Najafi et al., 2019).

- Η φλεγμονή

Η φλεγμονή στα αρχικά στάδια προστατεύει τον οργανισμό από την εξέλιξη των όγκων καθώς το ανοσοποιητικό σύστημα συμβάλλει στην καταστροφή των καρκινικών κυττάρων. Στην οξεία φάση της όμως η φλεγμονή συχνά αποτρέπει τις ανοσολογικές αποκρίσεις και επομένως έχουμε την ανάπτυξη του καρκίνου. Χρόνιες φλεγμονές που μπορεί να εμφανίζονται μετά από χημειοθεραπείες συμβάλλουν σημαντικά στην αντοχή των CSCs ενάντια στα φάρμακα. Οι φλεγμονές αυτές ενεργοποιούν τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα που βρίσκονται στο θώκο τους και τα οδηγούν έξω από αυτόν μέσω της δια-διαφοροποίησής τους μεταξύ καρκινικών κυττάρων και CSCs (Najafi et al., 2019).

- Η πλαστικότητα των CSCs

Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα έχουν την ικανότητα να μεταβαίνουν από μία βλαστική σε μία μη-βλαστική κατάσταση και από μία κατάσταση αποσιώπησης (ανθεκτικά στα φάρμακα κύτταρα) σε μια κατάσταση πολλαπλασιασμού (ευαίσθητα στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες κύτταρα). Έτσι προωθείται η εξέλιξη ενός ετερογενούς πληθυσμού στον όγκο, που μπορεί εύκολα να προσαρμόζεται σε αλλαγές του περιβάλλοντος. Τα καρκινικά κύτταρα μετατρέπονται σε CSCs μέσω του μηχανισμού της

EMT. Αυτή η μετατροπή (δια-διαφοροποίηση) επιτρέπει τη γενετική ανασυγκρότηση (όπως η έκφραση ή μη γονιδίων βλαστικότητας-Oct4) και το μεταβολικό επαναπρογραμματισμό ώστε να έχουμε εμφάνιση ανθεκτικότητας στα φάρμακα. Τα CSCs διατηρούν έναν EMT φαινότυπο (κύτταρα με μεταστατικές ιδιότητες) και όταν βρεθούν σε μία απομακρυσμένη θέση μετατρέπονται και πάλι σε κύτταρα με επιθηλιακό χαρακτήρα (MET-μεσεγχυματική προς επιθηλιακή μετάπτωση) όπου μπορούν πλέον να πολλαπλασιαστούν γρήγορα και να συμβάλλουν στην ανάπτυξη του όγκου. Με τη σειρά του αυτός ο γρήγορος πολλαπλασιαστικός ρυθμός οδηγεί σε υποξία στο γύρω χώρο ώστε η ανθεκτικότητα στις χημειοθεραπείες να γίνεται ακόμη μεγαλύτερη. Η στόχευση της EMT για σταθεροποίηση αυτής της πλαστικότητας θα ήταν ιδιαίτερα σημαντική στην αντιμετώπιση των όγκων.

Από την άλλη πλευρά τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα κατά τη διάρκεια και μετά τις χημειοθεραπείες βρίσκονται σε μία κατάσταση ηρεμίας που τους επιτρέπει να επιβιώνουν και να αποκτούν έναν πιο ανθεκτικό χαρακτήρα. Μετά τις χημειοθεραπείες τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν έναν διαφορετικό πολλαπλασιαστικό φαινότυπο, κύτταρα που πολλαπλασιάζονται εκφράζουν πιο έντονα δείκτες βλαστικότητας από ότι κύτταρα σε αποσιώπηση, έτσι δεν μπορούν εύκολα να γίνουν στόχοι των φαρμάκων. Επιπλέον κύτταρα που βρίσκονται σε αποσιώπηση παρά τη χαμηλή τους μεταβολική δραστηριότητα συμμετέχουν σημαντικά στο μεταβολισμό των φαρμάκων σε λιγότερο τοξικούς παράγοντες, γι' αυτό και θεωρούνται πιο επιθετικά. Τα αποσιωπημένα CSCs βρίσκονται κρυμμένα καλά στους θώκους τους και αυτό τους δίνει τον επαρκή χρόνο να αποκαταστήσουν τυχόν βλάβες του γονιδιώματος μετά τις χημειοθεραπείες, ώστε η επερχόμενη εισβολή τους να είναι αποτελεσματικότερη (Najafi et al., 2019).

- Η υψηλή έκφραση ABC-μεταφορέων

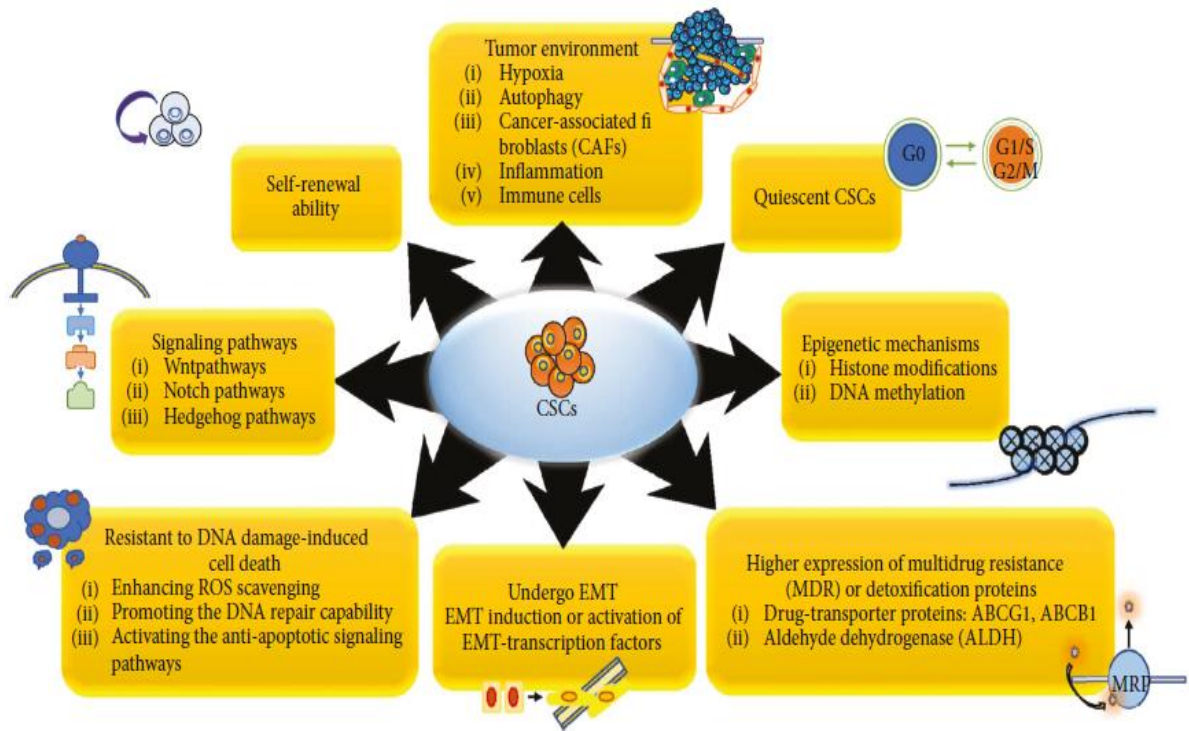
Ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των CSCs, το οποίο τα ξεχωρίζει και από τα υπόλοιπα καρκινικά κύτταρα, είναι ότι εκφράζουν σε υψηλά ποσοστά ABC-μεταφορείς στην κυτταρική τους επιφάνεια και έτσι εμφανίζουν την ανθεκτικότητα απέναντι σε πολλά φάρμακα (MDR). Οι μεταφορείς αυτοί είναι αντλίες εκροής, που με τη δράση του ATP, μεταφέρουν έξω από το κύτταρο τους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες και έτσι μειώνουν τη συσσώρευση των αντικαρκινικών φαρμάκων μέσα σε αυτό. Η υπερέκφραση επομένως αυτών των μεταφορέων στα CSCs αυξάνει τη βιωσιμότητά τους κατά τις χημειοθεραπείες καθώς τα φάρμακα δε μπορούν να μέσα σε αυτά. Μεγάλα ποσοστά αντλιών εκροής

συνεπάγεται μεγαλύτερη απόθεση των αντικαρκινικών φαρμάκων από τα κύτταρα (Najafi et al., 2019).

- Το μικροπεριβάλλον του όγκου – δράση CAFs

Το μικροπεριβάλλον του όγκου επηρεάζει σημαντικά την εξέλιξη του καρκίνου. Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα συνδέονται στενά με αυτό το περιβάλλον και δέχονται πολλά σήματα. Οι ινοβλάστες που σχετίζονται με τον καρκίνο (CAFs) έχουν κύριο ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου καθώς παράγουν διάφορες πρωτεΐνες της εξωκυτταρικής μήτρας (ECM) για να δημιουργήσουν τον κατάλληλο θώκο για την επιβίωση των CSCs. Μία ενισχυμένη εξωκυτταρική μήτρα θα εμποδίσει την διείσδυση των φαρμάκων στους θώκους αυτούς. Η έκκριση λοιπόν κυτοκινών και χημειοκινών (όπως η ιντερλευκίνη-17 A) από αυτούς τους ινοβλάστες προωθεί την αυτό-ανανέωση των CSCs και επιπλέον οδηγεί στην από-διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων σε καρκινικά βλαστικά κύτταρα. Από την άλλη πλευρά τώρα, CAFs μπορούν να υποβαθμίσουν την εξωκυτταρική μήτρα όταν χρειαστεί ώστε να βοηθήσουν τα CSCs να μεταφερθούν σε άλλες απομακρυσμένες περιοχές και να δημιουργήσουν μεταστατικές εστίες (Phi et al., 2018).

Τέλος, εκτός από όλους αυτούς τους μηχανισμούς αντίστασης (εικόνα 27), διάφορες επιγενετικές αλλαγές όπως η μεθυλίωση του DNA και η ακετυλίωση των ιστονών μπορούν να ρυθμίσουν την αντοχή που εμφανίζουν τα CSCs ενάντια στα αντικαρκινικά φάρμακα (Phi et al., 2018). Επιπλέον Micro-RNAs παίζουν σημαντικό ρόλο στην έναρξη, την εξέλιξη και την πρόγνωση των ανθρώπινων καρκίνων. Τα mi-RNA είναι μικρά κομμάτια RNA με μέγεθος 19-24 νουκλεοτίδια το καθένα. Δε μεταφράζονται σε πρωτεΐνες, συμμετέχουν όμως σε ένα πλήθος κυτταρικών λειτουργιών μέσω της ρύθμισης των ενδοκυτταρικών επιπέδων γονιδιακών προϊόντων. Τα mi-RNA στους καρκίνους μπορούν να δρουν τόσο ως καταστολείς όγκων όσο και ως ογκογόνα. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι τα mi-RNA συμβάλλουν στην καρκινογένεση μέσω της ρύθμισης των χαρακτηριστικών των καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSCs) όπως της ικανότητας αυτό-ανανέωσής τους, της αντοχής τους στα φάρμακα και την ογκογονικότητά τους. Εκτός από αυτά mi-RNA μπορούν να ρυθμίσουν και να απορυθμίσουν γονίδια και τα προϊόντα τους που σχετίζονται με διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια απαραίτητα για την επιβίωση και τη δράση των CSCs (Khan et al., 2019).



Εικόνα 27. Βασικοί οδοί σηματοδότησης και τροποποιήσεις των CSCs που συμβάλλουν στην αντοχή απέναντι στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Τα CSCs για να επιβιώσουν κατά τη διάρκεια αλλά και μετά από τις θεραπείες αναπτύσσουν τους κατάλληλους μηχανισμούς που συνοψίζονται στην εικόνα (Phi et al., 2018).

Σηματοδοτικά μονοπάτια υπεύθυνα για την ανθεκτικότητα των CSCs

Όπως έχουμε ήδη αναφέρει τα φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα και τα CSCs μοιράζονται κάποια κοινά χαρακτηριστικά όπως η αυτό-ανανέωση και η διαφοροποίηση. Επίσης έχουν ορισμένα κοινά σηματοδοτικά μονοπάτια που είναι ιδιαίτερα σημαντικά για τη διατήρηση και την επιβίωσή τους. Για παράδειγμα η ενεργοποίηση του μονοπατιού Hedgehog, που κανονικά έχει σπουδαίο ρόλο στην εμβρυϊκή ανάπτυξη και την αναγέννηση των ιστών, εμπλέκεται και στη ρύθμιση κάποιων καρκινικών βλαστικών κυττάρων. Διάφορα άλλα μονοπάτια και μεταγραφικοί παράγοντες (όπως ο Nanog, Oct4, Sox2, Myc) συχνά ενεργοποιούνται σε διάφορα CSCs ώστε να ρυθμίσουν την αυτό-ανανέωσή τους και το στάδιο διαφοροποίησής τους. Τα αναπτυξιακά αυτά μονοπάτια είναι αρκετά συντηρημένα από την εμβρυϊκή ακόμη ανάπτυξη και ελέγχουν τα κύρια χαρακτηριστικά των βλαστικών κυττάρων. Άρα η ενεργοποίησή τους συμβάλλει στην εξάπλωση των CSCs αλλά και στην επερχόμενη αντίστασή τους στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες (Phi et al., 2018).

Τα βασικά μονοπάτια (εικόνα 28) που φαίνεται να εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα των CSCs είναι (Najafi et al., 2019):

➤ TGF-β

Ο TGF-β είναι ένας σημαντικός προαγωγέας της βλαστικότητας των CSCs άρα και της αντίστασής τους στις χημειοθεραπείες. Απελευθερώνεται στο περιβάλλον του όγκου από διάφορα κύτταρα συνήθως ως απόκριση στην υποξία. Επάγει τις βλαστικές ιδιότητες των καρκινικών κυττάρων μέσω του προγράμματος της EMT και βοηθά στην αποσιώπησή τους. Η συνεργασία του TGF-β με το μονοπάτι Notch οδηγεί τα CSCs να εμφανίσουν μια ποικιλία φαινοτύπων κατά την EMT (πλαστικότητα). Έτσι CSCs κατοικούν σε διάφορες περιοχές του όγκου από τον πυρήνα μέχρι την περιφέρεια. Τα κύτταρα στο κέντρο του όγκου είναι πιο πολύ πολλαπλασιαστικά και ευαίσθητα σε οξειδωτικές καταπονήσεις επομένως η μετανάστευση τους στις περιφερειακές περιοχές του όγκου τους δίνει την ικανότητα να επιβιώσουν, να συμβάλλουν στην ανάπτυξη του όγκου και στη συνέχεια στη μετάσταση.

➤ PI3K/ Akt

Η απορύθμιση της οδού PI3K/Akt παρουσιάζεται συχνά στους ανθρώπινους όγκους. Η πρωτεΐνη Akt επάγει την επιβίωση, τη μετάσταση και την ανθεκτικότητα των CSCs μέσω της αλληλεπίδρασης της με άλλους ρυθμιστές του μονοπατιού όπως οι κασπάσες και ο πυρηνικός παράγοντας NF-κB. Η κινάση PI3K του μονοπατιού ενεργοποιεί κι αυτή με τη σειρά της τον NF-κB για να βοηθήσει στην αντίσταση των CSCs απέναντι στα φάρμακα. Πέρα από αυτά το μονοπάτι PI3K/Akt ενισχύει τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς (προστασία DNA από βλάβες) και επάγει την αποσιώπηση των CSCs.

➤NF-κB

Ο NF-κB είναι ένας μεσολαβητής στις οξείες και χρόνιες φλεγμονές που τις συνδέει με τη βλαστικότητα των κυττάρων όπως έχει ήδη αναφερθεί. Ο NF-κB ενεργοποιεί βλαστικές ιδιότητες που συνδέονται με την υποξία στους όγκους και σχετίζεται με την πρόωρη (μέσω EMT) και μεταγενέστερη καρκινογένεση. Επιπλέον ο NF-κB μπορεί και αναστέλλει τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο των CSCs που προκαλείται από τις υψηλές συγκεντρώσεις ROS.

➤ Μονοπάτι κυτοκινών JAK/STAT

Ο μεταγραφικός παράγοντας STAT3 είναι ένας μεσολαβητής που βοηθά τα κύτταρα να ξεφύγουν από την ανοσία. Ελευθερώνεται από τα καρκινικά κύτταρα στο περιβάλλον του όγκου. Ο STAT3 είναι σημαντικός άρα για τη διατήρηση της βλαστικότητας των CSCs,

την αποφυγή του ανοσοποιητικού συστήματος και την αντίσταση τους στις χημειοθεραπείες. Η βλαστικότητα προωθείται επίσης και με την αλληλεπίδραση του STAT3 με τη σηματοδοτική οδό του NF-kB.

➤ Wnt/β-κατενίνη

Η σηματοδοτική οδός Wnt/β-κατενίνης μαζί με τα μονοπάτια Hedgehog και Notch έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αυτό-ανανέωσης και της διαφοροποίησης των CSCs. Η έκφραση της β-κατενίνης (το μονοπάτι έχει αναφερθεί παραπάνω) είναι αυξημένη μετά από θεραπείες. CAFs εκκρίνουν πρωτεΐνες Wnt στο περιβάλλον του όγκου. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού προκαλείται από την έκφραση του Sox2 στα CSCs και βοηθά στη δια-διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων σε CSCs (και αντίστροφα). Όλο αυτό οδηγεί στην αντίσταση των κυττάρων αυτών στα αντικαρκινικά φάρμακα, ενώ ταυτόχρονα ένα πρόγραμμα EMT ενεργοποιείται από τις Wnt με αποτέλεσμα την ανάπτυξη των όγκων και την επακόλουθη μετάσταση.

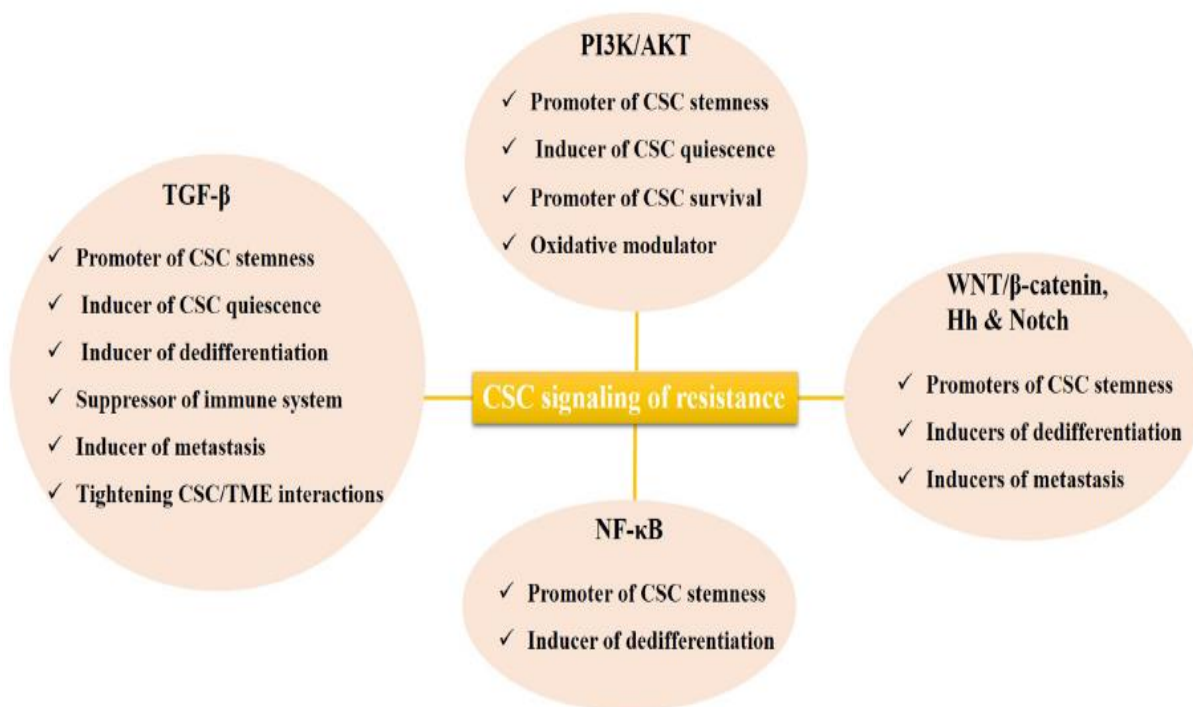
➤ Hedgehog

Το μονοπάτι Hedgehog σχετίζεται με τις βλαστικές ιδιότητες των CSCs και την αντοχή τους στις χημειοθεραπείες. Η σηματοδότηση του συνδέεται με τους μεταφορείς ABC (αντλίες εκροής φαρμάκων) και πιο συγκεκριμένα με τον ABCG2. Τα καρκινικά κύτταρα παράγουν τον προσδέτη Hedgehog, που είναι υπεύθυνος για τον επαναπρογραμματισμό των CAFs στο περιβάλλον του όγκου, ώστε να δημιουργήσουν έναν υποστηρικτικό θώκο, κατάλληλο για την επιβίωση των CSCs. Επίσης, ενεργοποίηση του Hedgehog στα καρκινικά κύτταρα, που προκαλείται από καταστάσεις στρες όπως η διατροφική έλλειψη οδηγεί στη δια-διαφοροποίησή τους σε CSCs και έτσι μπορούν ευκολότερα να αντισταθούν στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες.

➤ Notch

Τα CSCs ενεργοποιούν τη σηματοδοτική οδό Notch για να προωθηθεί η αντίστασή τους στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Η ενεργοποίηση μη φυσιολογικών υποδοχέων Notch βοηθά στην έναρξη του προγράμματος της EMT στα CSCs και στην ικανότητα της αυτό-ανανέωσής τους. Η p53 (πρωτεΐνη επιδιόρθωσης του DNA-οδηγεί σε απόπτωση τα φυσιολογικά κύτταρα που δε διορθώνεται η βλάβη) στα CSCs τοποθετείται πάνω από τη σηματοδότηση Notch για την προστασία του DNA τους από διάφορες βλάβες (στόχευση με αντικαρκινικά φάρμακα). Επιπλέον η έκφραση διαφορετικών τύπων υποδοχέων Notch

στους διάφορους όγκους και η εμπλοκή με τα σηματοδοτικά μονοπάτια Wnt και Hedgehog αυξάνει την πολυπλοκότητα στόχευσης αυτών των οδών κατά τις θεραπείες.



Εικόνα 28. Σύνοψη της συμβολής των κυριότερων σηματοδοτικών μονοπατιών στην αντίσταση που παρουσιάζουν που παρουσιάζουν τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs) απέναντι στις χημειοθεραπείες (dedifferentiation=δια-διαφοροποίηση, TME=μικροπεριβάλλον του όγκου, stemness=βλαστικότητα, quiescence=αποσιώπηση) (Najafi et al., 2019).

ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ-ΦΑΡΜΑΚΑ-ΑΝΤΟΧΗ ΛΟΓΩ ΤΩΝ CSCs

Η ύπαρξη των CSCs στους όγκους ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στην οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία (AML). Στη συνέχεια ταυτοποιήθηκε η ύπαρξη των καρκινικών βλαστικών κυττάρων και σε άλλους στερεούς όγκους σε διάφορα όργανα και ιστούς όπως το συκώτι, ο εγκέφαλος, το παχύ έντερο, το πάγκρεας, οι πνεύμονες, οι ωοθήκες και ο προστάτης (Abdullah & Chow, 2013).

AML (οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία)

Η οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία είναι η πιο συχνή κακοήθεια του μυελού των οστών στους ενήλικες. Χαρακτηριστικό της είναι ο πολλαπλασιασμός των ανώριμων

λευχαιμικών βλαστικών κυττάρων, τα οποία αποτυγχάνουν να διαφοροποιηθούν και οδηγούν στη μη σωστή λειτουργία του μυελού των οστών. Τα ποσοστά επιβίωσης δεν είναι πολύ ενθαρρυντικά ιδιαίτερα στους μεγαλύτερους ηλικιακά ασθενείς, καθώς η πενταετής επιβίωση κυμαίνεται γύρω στο 25% (ανάλογα με τον υποτύπο της λευχαιμίας), και τα ποσοστά υποτροπής είναι αρκετά υψηλά. Επιπλέον, οι περισσότερες θεραπείες μετά την υποτροπή του ασθενούς δεν είναι αρκετά αποτελεσματικές. Η πρώτη γραμμική θεραπείας για την οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία ή οξεία μυελογενή λευχαιμία βασίζεται στο συνδυασμό δύο αντικαρκινικών φαρμάκων, του daunorubicin (DNR) και του cytarabine (Ara-C). Πιο συγκεκριμένα στους ασθενείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία έχουμε συνεχή έγχυση Ara-C για επτά ημέρες, η οποία συνήθως συνδυάζεται με τρεις ημέρες χορήγησης ανθρακυκλίνης, όπου τις περισσότερες φορές είναι η DNR. Αυτή είναι η τυπική θεραπεία παγκοσμίως τα τελευταία σαράντα χρόνια (Murphy & Yee, 2017). Ο βαθμός της πλήρης ύφεσης μετά από μια τέτοια χημειοθεραπεία είναι περίπου 60-80% για τους νεότερους ενήλικες και 40-60% για άτομα μεγαλύτερα άνω των 65 ετών. Η αντοχή που εμφανίζεται στα φάρμακα είναι το κλειδί για την αντιμετώπιση της αποτυχίας των θεραπειών (Zhang et al., 2019). Η ύπαρξη καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSCs) είναι ο πιο δυναμικός μηχανισμός για την αντίσταση των ασθενών στις χημειοθεραπείες. Το 1994 (Lapidot et al., 1994), ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στην οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία ένας υποπληθυσμός λευχαιμικών βλαστικών κυττάρων (LSCs), τα οποία έχουν την ικανότητα να εκφράζουν το δείκτη επιφανείας CD34 αλλά όχι το CD38 στην επιφάνειά τους (CD34⁺/CD38⁻). Το προφίλ αυτό, είναι πανομοιότυπο με αυτό των φυσιολογικών αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων (HSCs) και για αυτό υπάρχουν υποθέσεις ότι τα LSCs προκύπτουν από τα HSCs. Από έρευνες όμως αποδείχθηκε ότι είτε η απώλεια λειτουργίας κάποιου καταστολέα όγκων είτε η ενεργοποίηση κάποιας ογκογονικής δραστηριότητας μπορεί να προκαλέσει τη διαφοροποίηση των ήδη δεσμευμένων προς κάποια αιμοποιητική κυτταρική σειρά κυττάρων σε κύτταρα με βλαστικές ιδιότητες όπως αυτή της αυτό-ανανέωσης (Shaffer et al., 2012). Παρά την αποσιώπησή τους, τη μεγάλη διάρκεια ζωής τους και την αντοχή τους στα φάρμακα, τα LSCs χαρακτηρίζονται από τη μακροχρόνια αυτό-ανανέωσή τους και την ασύμμετρη κυτταρική διαίρεσή τους, που είναι υπεύθυνη και για την υποτροπή της νόσου. Η έκφραση ABC μεταφορέων για την εκροή των φαρμάκων στα κύτταρα που φέρουν έναν βλαστικό φαινότυπο, τους προσδίδει την ανθεκτικότητα στα αντικαρκινικά φάρμακα και τα επιτρέπει να ξεφεύγουν από τις χημειοθεραπείες. Ο ABCB1 μεταφορέας και κάποια άλλα μέλη της οικογένειας ABC C συσχετίστηκαν με τον CD34⁺ ανώριμο φαινότυπο των βλαστικών κυττάρων στην AML. Η ταυτόχρονη έκφραση του ABCB1 και ABCG2

μεταφορέων σε πληθυσμούς CD34⁺ ανώριμων κυττάρων συχνά συνδέεται με την κακή πρόγνωση της ομάδας των ηλικιωμένων ασθενών (Shaffer et al., 2012). Συνεπώς, η χημειοανθεκτικότητα που εμφανίζεται στην AML προκύπτει από έναν εγγενώς χημειοανθεκτικό υποπληθυσμό λευχαιμικών βλαστοκυττάρων (LSCs), τα οποία μπορούν και επιβιώνουν κατά τις θεραπείες ακόμη και όταν εξαλειφθεί τα υπόλοιπα λευχαιμικά κύτταρα. Αυτός είναι και ο βασικός λόγος που τα ποσοστά επιβίωσης κυμαίνονται στο 35-40% στους νεότερους ασθενείς και 5-15% σε άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών (Hatzl et al., 2020).

Εκτός από αυτά πρόσφατα ανακαλύφθηκε και ο ρόλος ενός mi-RNA, του miR-23a στην ανάπτυξη της χημειοαντίστασης της AML κατά τη θεραπεία με DNR και Ara-C. Η έκφραση του miR-23a αυξάνεται και κατά τα αρχικά στάδια της θεραπείας της AML και μετά τις χημειοθεραπείες άρα θα μπορούσαμε να πούμε πως είναι ένα σημάδι για την πρόγνωση της επακόλουθης χημειοαντίστασης. Η υψηλή αυτή έκφραση του miR-23a φαίνεται να υπάρχει μόνο στον υποπληθυσμό των LSCs. Ο χημειοανθεκτικός αυτός πληθυσμός παραμένει και μετά την πλήρη πρωταρχική ύφεση της AML από τη θεραπεία που χορηγήθηκε και μπορεί στη συνέχεια να οδηγήσει σε υποτροπή της νόσου. Η επανεμφάνιση της νόσου και η σταθερή ύπαρξη των LSCs σε αυτή είναι ικανή να παρουσιάσει ανθεκτικότητα και στις περαιτέρω θεραπείες, οι οποίες κάποια στιγμή μπορεί να μην έχουν κανένα αποτέλεσμα (Hatzl et al., 2020).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ (Breast Cancer)

Ο καρκίνος του μαστού είναι μια ετερογενής νόσος με περίπου μισό εκατομμύριο θανάτους ετησίως. Είναι η πιο κοινή κακοήθεια στις γυναίκες παγκοσμίως, αντιπροσωπεύοντας το 30% των διαγνωσμένων καρκίνων. Παρά την πρόοδο στις θεραπείες τα ποσοστά εμφάνισης της νόσου φαίνεται να αυξάνονται ιδιαίτερα στις γυναίκες ηλικίας άνω των 40 ετών. Περίπου το 70% των περιπτώσεων που αντιμετωπίστηκαν με χημειοθεραπείες (χωρίς επεμβατική μέθοδο) παρουσίασαν κάποια μετάσταση τα επόμενα 5 χρόνια. Ο υποπληθυσμός των CSCs σε έναν όγκο που έχει την ικανότητα της αυτό-ανανέωσης και είναι υπεύθυνος για την έναρξη, την ανάπτυξη και την επανεμφάνιση του όγκου, εντοπίζεται και στον καρκίνο του μαστού με σημαντικό ρόλο στην αντίσταση που μπορεί να αναπτυχθεί κατά τις χημειοθεραπείες. Τα CSCs του μαστού γνωστά ως BCSCs (Breast Cancer Stem Cells) εμφανίζουν το χαρακτηριστικό προφίλ δεικτών επιφανείας CD44⁺ /CD24⁻. Η θετική ρύθμιση στην έκφραση του κυτταρικού δείκτη CD44 συνδέεται με το σχηματισμό όγκων σε πολλούς καρκίνους. Υψηλά επίπεδα

mRNA (του CD44) στον καρκίνο του μαστού συνδέονται με μία χειρότερη εξέλιξη της νόσου. Η απορρύθμιση των μονοπατιών Notch, Wnt/ β -κανενίνης, Hippo και Hedgehog σχετίζεται και αυτή με το σχηματισμό των BCSCs και οδηγεί στη δημιουργία όγκων. Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα έχουν έναν δυναμικό κυτταρικό κύκλο και μπορούν και αποφεύγουν τη δράση των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων. Διάφοροι δείκτες στον καρκίνο του μαστού καθορίζουν ποια θα είναι η κατάλληλη θεραπευτική αγωγή. Υπάρχουν 4 ανοσολογικοί υποτύποι καρκίνου και προκύπτουν από το συνδυασμό τριών βασικών δεικτών, του υποδοχέα οιστρογόνου (ER-estrogen receptor), του υποδοχέα προγεστερόνης (PR-progesterone receptor) και του ανθρώπινου επιδερμικού υποδοχέα 2 (HER2-human epidermal receptor 2), συνήθως βάση των οποίων καθορίζεται η αποτελεσματικότερη θεραπεία (Saeg & Anbalagan, 2018). Στο 70-75% των περιπτώσεων του καρκίνου του μαστού εκφράζεται ο υποδοχέας οιστρογόνου α (ER α). Το Tamoxifen, είναι ένας ανταγωνιστής οιστρογόνου και αποτελεί για πολλά χρόνια τη βασική ενδοκρινή θεραπεία για γυναίκες ER- α θετικές στον καρκίνο του μαστού. Σε πολλές περιπτώσεις ωστόσο παρά την έκφραση του ER α αναπτύσσεται αντίσταση κατά τη χορήγηση του φαρμάκου. Το ποσοστό των BCSCs αυξάνεται κατά τη θεραπεία με Tamoxifen και αυτό συμβάλλει σημαντικά στην αντίσταση. BCSCs δεν εκφράζουν τον υποδοχέα οιστρογόνου ER ή τον εκφράζουν σε πολύ χαμηλά επίπεδα έτσι διευκολύνεται η αντίστασή τους καθώς δεν είναι εύκολοι στόχοι του Tamoxifen. Επιπλέον, ο μεταγραφικός παράγοντας Sox2, ο οποίος είναι υπεύθυνος για την πολυδυναμία των βλαστικών κυττάρων, φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της αντοχής απέναντι στο Tamoxifen στα ER-θετικά καρκινικά κύτταρα του μαστού. Η υπερέκφραση του Sox2 αυξάνει λοιπόν την αναλογία την αναλογία των BCSCs μέσω ενεργοποίησης του μονοπατιού Wnt κάνοντας έτσι τα κύτταρα ανθεκτικά στις επιδράσεις του Tamoxifen. Τα υψηλά επίπεδα του Sox2 στους πρωταρχικούς όγκους των ασθενών μπορεί να θεωρηθούν προγνωστικός δείκτης για την επακόλουθη ανάπτυξη της αντοχής στο Tamoxifen. Λίγο πιο συγκεκριμένα, στο φυσιολογικό ιστό του μαστού η έκφραση των δεικτών βλαστικότητας ρυθμίζεται καθοδικά κατά τη διαδικασία διαφοροποίησης των βλαστοκυττάρων σε επιθηλιακά κύτταρα, αντιθέτως στα καρκινικά κύτταρα παρατηρείται μια αυξημένη έκφρασή τους. Η εμφάνιση αντοχής στο Tamoxifen, συνεπάγεται λοιπόν απώλεια μεταγραφικής δραστηριότητας του ER, υπερέκφραση του Sox2 που οδηγεί στη Wnt σηματοδότηση (απορρύθμιση μονοπατιού \rightarrow καρκινογένεση) και επομένως αύξηση του ποσοστού των BCSCs. Η στόχευση του μονοπατιού Wnt θα μπορούσε να βοηθήσει στη διαφοροποίηση των κυττάρων και στην αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας ενάντια στο Tamoxifen (Piva et al., 2014).

Από την άλλη πλευρά η έκφραση του υποδοχέα HER2 ενισχύεται στο 25-30% των περιπτώσεων του καρκίνου του μαστού. Η υπερέκφρασή του σχετίζεται με αυξημένη επιθετικότητα, κακή πρόγνωση και χαμηλά ποσοστά επιβίωσης. Για την αντιμετώπιση των ασθενών που ήταν θετικοί στο HER2 χορηγήθηκε αρχικά ο χημειοθεραπευτικός παράγοντας Trastuzumab (μονοκλωνικό αντίσωμα), που έδειξε κάποια θετικά αποτελέσματα (D'Amato et al., 2015). Αργότερα έκανε την εμφάνισή του το Lapatinib, ένα αντικαρκινικό φάρμακο που μπορούσε να προκαλέσει πλήρη υποχώρηση του όγκου, πιθανώς στοχεύοντας αποτελεσματικά τα καρκινικά βλαστοκύτταρα. Η αυτό-ανανέωση είναι μία ιδιότητα των CSCs που μπορεί και ελέγχεται και από τη σηματοδότηση του HER, η οποία έχει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό τόσο των φυσιολογικών όσο και των καρκινικών κυττάρων. Το Lapatinib τώρα χορηγήθηκε αρχικά σε γυναίκες με καρκίνο μαστού HER2-θετικές που άλλες θεραπείες, όπως και αυτή με Trastuzimab, δεν είχαν θετικό αποτέλεσμα. Το Trastuzumab στοχεύει μόνο το γονίδιο HER2, αντίθετα το Lapatinib, είναι ένα μικρό μόριο, που στοχεύει ταυτόχρονα και το HER1. Έχειδειχθεί ότι το HER2 χρειάζεται το HER1 για να λειτουργήσει σωστά, επομένως η χορήγηση του Lapatinib θα είναι αποτελεσματικότερη στις περισσότερες περιπτώσεις. Επιπλέον, η έκφραση του προφίλ CD44⁺/CD24^{-low} των BCSCs φαίνεται να μειώνεται μετά τη χορήγηση του Lapatinib. Πέρα όμως από την επιτυχία της στόχευσης των BCSCs, το Lapatinib είναι ένα μικρό μόριο που δρα στο εσωτερικό των κυττάρων, όπου οι βιοχημικές διαδικασίες είναι πιο περίπλοκες, και έτσι ο χειρισμός του είναι πιο δύσκολος από τα πιο απλά μονοκλωνικά αντισώματα-αντικαρκινικά φάρμακα που οι περισσότεροι στόχοι τους βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια. Υπάρχει επίσης και κάποια ανησυχία για το αν το Lapatinib θα μπορούσε να βλάψει και τα φυσιολογικά βλαστοκύτταρα, παρόλα αυτά τα αποτελέσματα φαίνεται να είναι θετικά στις θεραπείες των ασθενών. Τέλος θα πρέπει να τονίσουμε πως η ικανότητα του Lapatinib να δρα ενάντια στα BCSCs βασίζεται μόνο στο γεγονός ότι παρατηρήθηκαν αλλαγές στα ποσοστά έκφρασης του προφίλ CD44⁺/CD24^{-low} οπότε η περαιτέρω μελέτη δράσης του φαρμάκου είναι σημαντική για την πλήρη κατανόηση του μηχανισμού του και την καλύτερη διαχείρισή του (Schmidt, 2008).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ (Colon cancer)

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι μία από τις σημαντικότερες αιτίες θνησιμότητας και νοσηρότητας των ασθενών με καρκίνο παγκοσμίως. Είναι ο δεύτερος πιο συχνά διαγνωσμένος καρκίνος στις ανεπτυγμένες χώρες που σχετίζεται με θανάτους. 1,36 εκατομμύρια νέων περιπτώσεων και 694.000 θάνατοι σημειώθηκαν το 2012. Παρά την πρόοδο στις χειρουργικές επεμβάσεις και στις χημειοθεραπείες, δεν είναι δυνατόν να

εξαλειφθούν όλα τα καρκινικά κύτταρα και έτσι περισσότερο από το 40% των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου (CRC) πεθαίνουν μετά από κάποια υποτροπή της νόσου και μετάσταση (Yang et al., 2015). Τα τελευταία χρόνια ασθενείς με μεταστατικό CRC εμφανίζουν μέσο όρο συνολικής επιβίωσης περίπου 30 μήνες (Dhillon, 2018). Έχει ήδη αποδειχθεί η ύπαρξη ενός υποπληθυσμού καρκινικών κυττάρων στους όγκους με ικανότητες αυτό-ανανέωσης και διαφοροποίησης. Τα CSCs που εντοπίζονται στους καρκίνους του παχέος εντέρου, γνωστά και ως Co-CSCs (colorectal cancer stem cells), μπορούν να συμβάλλουν στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη μετάσταση και την αντοχή που αναπτύσσεται στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Οι πιο κοινοί δείκτες που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίησή τους είναι ο CD44 και ο CD133. Τα Co-CSCs είναι ανθεκτικά απέναντι στις συμβατικές θεραπείες με φάρμακα όπως το 5-Fluorouracil (5-FU), Oxaliplatin, Irinotecan και Cetuximad, λόγω της αυξημένης έκφρασης αντλιών εκροής φαρμάκων (ABC-μεταφορείς), της αυτοκρινούς σηματοδότησης επιβίωσης και τις αλλαγές τους στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. Επιπλέον η σηματοδότηση του μονοπατιού Notch φαίνεται να ρυθμίζει τα Co-CSCs και άλλα χημειοανθεκτικά κύτταρα του όγκου που εκφράζουν τους δείκτες CD44 και CD133, συμμετέχοντας στην εξέλιξη και την ανάπτυξη του όγκου. Η στόχευση του μονοπατιού Notch θα μπορούσε να είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος στόχευσης των Co-CSCs και των χημειοανθεκτικών κυττάρων στον CRC (Huang et al., 2015). Η αυτοφαγία είναι ένας ακόμη μηχανισμός που συμμετέχει στην αντίσταση των CSCs στα φάρμακα. Το υποξικό περιβάλλον των όγκων επάγει την αυτοφαγία και βοηθά τα CSCs να επιβιώσουν, να διαφοροποιηθούν και να διατηρήσουν την ογκογονική τους δυνατότητα. Ο ρόλος της φαίνεται ξεκάθαρα κατά τη χορήγηση του χημειοθεραπευτικού παράγοντα Oxaliplatin. Γενικότερα τα CSCs εμφανίζουν υψηλά επίπεδα αυτοφαγίας κάτω από συνθήκες καταπονήσεων. Co-CSCs CD44⁺ φαίνεται να αυξάνονται μετά από θεραπεία με Oxaliplatin. Η ανθεκτικότητα απέναντι στο Oxaliplatin είναι αναπόφευκτη σχεδόν σε όλους τους μεταστατικούς CRCs. Η αυτοφαγία που προκαλείται από τη χορήγηση του Oxaliplatin καταστέλλει την απόπτωση των Co-CSCs και βοηθά στη διατήρηση της βλαστικότητάς τους. Κύτταρα CD44⁻ δεν είναι τόσο ανθεκτικά κατά τη θεραπεία με Oxaliplatin στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Μία προσπάθεια αποφυγής της αντίστασης στο Oxaliplatin στον καρκίνο του παχέος εντέρου θα ήταν άρα η στόχευση/καταστολή της αυτοφαγίας (Yang et al., 2015).

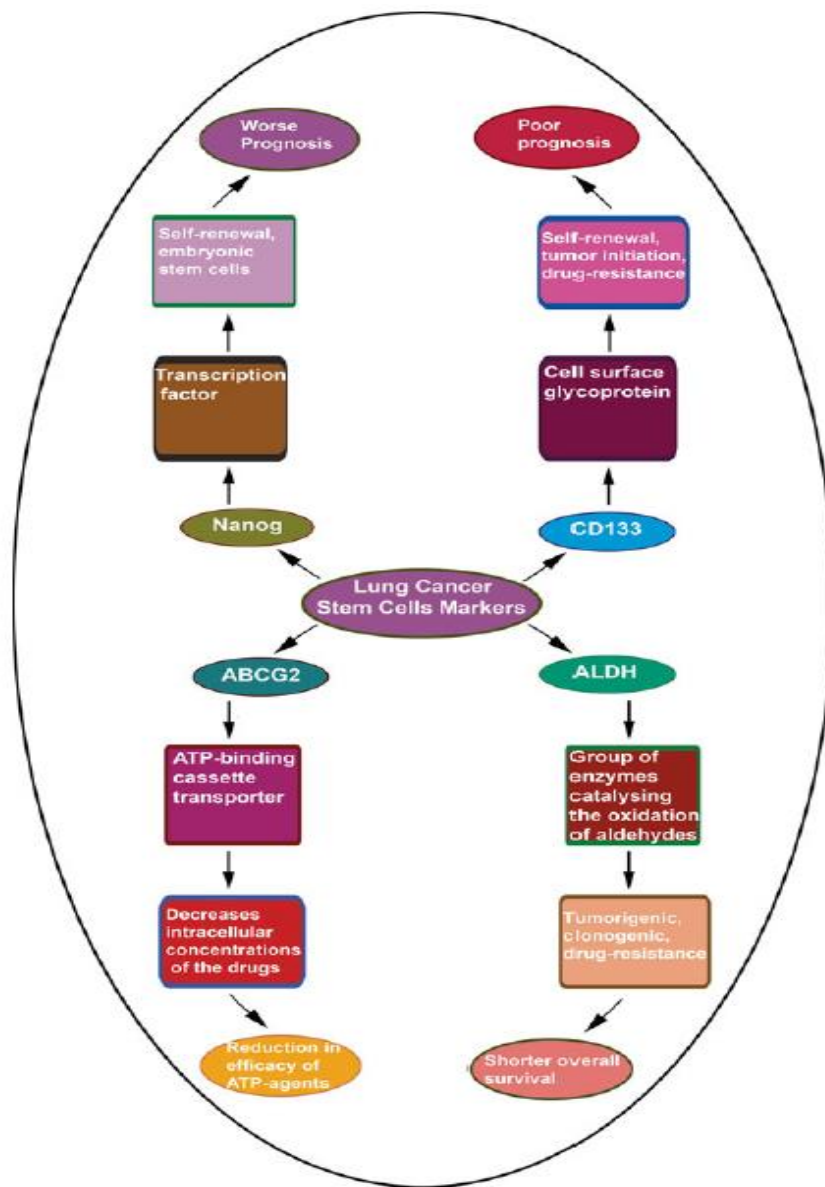
Από την άλλη πλευρά γνωρίζουμε ότι οι κακές διατροφικές συνήθειες και ο τρόπος ζωής σχετίζονται άμεσα με την εμφάνιση του CRC. Η κατανάλωση φυτικών προϊόντων θα μπορούσε να μειώσει σημαντικά τις επιπτώσεις και τη θνησιμότητα από τον καρκίνο του

παχέος εντέρου. Ο τύπος αυτού του καρκίνου συχνά εντοπίζεται στο προχωρημένο στάδιο του και δεν διαγιγνώσκεται μέχρι τα συμπτώματα να γίνουν εμφανή. Οι συμβατικοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες δεν είναι αποτελεσματικοί όταν χρησιμοποιούνται ξεχωριστά. Ο συνδυασμός φαρμάκων με τα κατάλληλα συμπληρώματα διατροφής και μία ισορροπημένη διατροφή είναι απαραίτητα για μία αποτελεσματικότερη χημειοθεραπεία. Το Fisetin τώρα είναι ένα φυσικό φλαβονοειδές που βρίσκεται άφθονο στα φρούτα, τα λαχανικά, τους ξηρούς καρπούς και το κρασί. Μπορεί και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη μετανάστευσή τους και την εισβολή σε άλλους ιστούς. Το Fisetin μπορεί να προκαλεί απόπτωση σε πολλούς τύπους καρκίνου όπως του προστάτη, των πνευμόνων και στην συγκεκριμένη περίπτωση του παχέος εντέρου. Τα αντικαρκινικά φάρμακα Oxaliplatin και Irinotecan συνήθως χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με το 5-FU για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου του παχέος εντέρου, ωστόσο η αποτελεσματικότητά τους συχνά φαίνεται να μειώνεται λόγω της αντοχής που αναπτύσσεται. Η ταυτόχρονη χορήγηση του φλαβονοειδούς Fisetin μαζί με το Oxaliplatin ή το Irinotecan μπορεί να ευαισθητοποιήσει διάφορους τύπους καρκινικών κυττάρων μειώνοντας σημαντικά την ανθεκτικότητα απέναντι στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Η συνδυαστική άρα αυτή θεραπεία στον καρκίνο του παχέος εντέρου μπορεί να ενισχύσει τη δράση των αντικαρκινικών φαρμάκων (Jeng et al., 2018).

KΑΡΚΙΝΟΣ ΤΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΩΝ (Lung Cancer)

Ο καρκίνος των πνευμόνων είναι από τις κυριότερες περιπτώσεις καρκίνου παγκοσμίως όσον αφορά την υψηλή συχνότητα εμφάνισης του και τα μεγάλα ποσοστά θνησιμότητας. Το 2012 εντοπίστηκαν 1,8 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και 1,6 εκατομμύρια θάνατοι σε όλο τον κόσμο. Το 2016 τα ποσοστά νέων περιπτώσεων φαίνεται να αυξάνονται, 1 στους 4 θανάτους από καρκίνο σχετίζεται με τον καρκίνο του πνεύμονα (Zakaria et al., 2017). Εντοπίζουμε 2 βασικές κατηγορίες αυτού του καρκίνου. Τον SCLC (small cell lung cancer) μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα που αντιπροσωπεύει περίπου το 15% όλων των περιπτώσεων (σπάνια εμφάνιση σε μη-καπνιστές) και τον NSCLC (non-small cell lung cancer) μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα στο 85% των ασθενών, με μεταλλάξεις ενεργοποίησης συνήθως στο γονίδιο του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) (Suda et al., 2017). Από ιστολογική άποψη, ο NSCLC χωρίζεται σε 3 υποτύπους, το αδenoκαρκίνωμα (περίπου 40% των περιπτώσεων), πλακώδες καρκίνωμα (περίπου 30%-ιστορικό καπνίσματος) και καρκίνωμα μεγάλων κυττάρων (15% των περιπτώσεων). Το κάπνισμα είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου που σχετίζεται με όλους τους υποτύπους, κυρίως όμως με τα καρκινώματα

πλακωδών κυττάρων. Τα αδenoκαρκινώματα από την άλλη είναι οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι τύποι ακόμα και στους μη-καπνιστές. Παρά τις βελτιώσεις στις θεραπείες, εξαιτίας της φτωχής πρόγνωσης μόνο 15% των ασθενών επιβιώνουν 5 χρόνια μετά τη θεραπεία (MacDonagh et al., 2016). Η βασική θεραπεία πρώτης γραμμής για ασθενείς με ανεπτυγμένο NSCLC με μεταλλάξεις στο γονίδιο EGFR περιλαμβάνει τα αντικαρκινικά φάρμακα-αναστολείς EGFR-TKIs (EGFR-tyrosine kinase inhibitors) Gefitinib και Erlotinib (πρώτης γενιάς) ή Afatinib (δεύτερης γενιάς), ωστόσο η αντίσταση είναι σχεδόν αναπόφευκτη και οι ασθενείς υποτροπούν μετά από 10-14 μήνες. Το Osimertinib (OSI) είναι ένας EGFR αναστολέας τρίτης γενιάς, ο οποίος χρησιμοποιήθηκε αργότερα και έδειξε καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα στους ασθενείς με NSCLC και πιθανή μετάσταση στο κεντρικό νευρικό σύστημα, η αντίσταση όμως κι εδώ δεν μπορεί να αποφευχθεί (Tang & Lu, 2018). Μια πιθανή εξήγηση για την ανάπτυξη της αντίστασης μετά τις θεραπείες με EGFR-TKIs και άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, αλλά και τα χαμηλά ποσοστά επιβίωσης των ασθενών, είναι η παρουσία των CSCs και ο εμπλουτισμός τους (κυρίως μετά τις αντικαρκινικές θεραπείες). Το υποσύνολο αυτό των καρκινικών βλαστικών κυττάρων φαίνεται να είναι ανθεκτικό απέναντι στα φάρμακα, έχει δυνατότητες αυτό-ανανέωσης, έναρξης νέων όγκων και διατήρησης του ήδη υπάρχοντος. CSCs συνήθως δε θανατώνονται μετά από τη συμβατική θεραπεία λόγω της δράσης των αντι-αποπτωτικών μονοπατιών τους, την αυξημένη έκφραση των αντλιών εκροής φαρμάκων (ABC-μεταφορείς), την αύξηση των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA τους, καθώς και της δυνατότητάς τους να μεταναστεύουν και να προκαλούν μετάσταση (MacDonagh et al., 2016). Βασικοί δείκτες που εμπλέκονται στον τρόπο δράσης τους και τον εντοπισμό τους είναι ο CD133, ALDH, ABCG2 και Nanog (εικόνα 29). Οι δείκτες αυτοί μπορούν να μας δείξουν πόσο αποτελεσματικές είναι οι διάφορες θεραπείες, μπορεί να είναι προγνωστικοί δείκτες ή να βοηθούν στη στόχευση των CSCs (πχ. πρόκληση απόπτωσης ή μείωση λειτουργικότητάς τους).



Εικόνα 29. Σχηματική απεικόνιση των βασικών δεικτών των βλαστικών κυττάρων και των μονοπατιών σηματοδότησης, που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και την εξέλιξη του καρκίνου του πνεύμονα (Suresh et al., 2016).

Κύτταρα $CD133^{+}$ παρουσιάζουν ισχυρότερες δυνατότητες αυτό-ανανέωσης, έναρξης όγκων και αντοχής στα φάρμακα σε αντίθεση με τα $CD133^{-}$. Κύτταρα $CD133^{+}$ με παρόμοιες ιδιότητες με τα CSCs έχουν βρεθεί και στον SCLC, που σημαίνει ότι ο CD133 είναι ένας γενικότερος δείκτης των βλαστικών κυττάρων του καρκίνου του πνεύμονα. Η υψηλή έκφραση του CD133 συχνά μπορεί να σχετίζεται με τη φτωχή πρόγνωση των ασθενών με NSCLC. Η αλδεϋδική-αφυδρογονάση (ALDH) είναι ένα ένζυμο που ρυθμίζει τη διαφοροποίηση στα φυσιολογικά βλαστοκύτταρα, κι εδώ φαίνεται να έχει κάποια σχέση με τη διαφοροποίηση των CSCs. Επιπλέον μπορεί να συμμετέχει στην κυτταρική αποτοξίνωση και την ανθεκτικότητά τους στα φάρμακα. Καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα

που εκφράζουν το δείκτη ALDH1 παρουσιάζουν εξαιρετικά ογκογόνες ιδιότητες. CSCs ALDH1⁺ εμφανίζουν αντίσταση συνήθως σε αντικαρκινικά φάρμακα όπως το Cisplatin, το Etoposide και το 5-FU, και σε EGFR-TKIs όπως το Gefitinib. Η υπερέκφραση του CD133 μαζί με τον ALDH είναι σημάδι κινδύνου επανεμφάνισης του καρκίνου από τα αρχικά ακόμη στάδια του NSCLC. Ο ABCG2 είναι ένας μεταφορέας φαρμάκων έξω από τα κύτταρα, που η υψηλή του έκφραση αποτελεί έναν μηχανισμό αντίστασης στις χημειοθεραπείες. Τέλος ο μεταγραφικός παράγοντας Nanog παίζει σημαντικό ρόλο στην αυτό-ανανέωση των CSCs και η υπερέκφρασή του σχετίζεται με την κακή πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα. Εκτός όμως από αυτούς τους δείκτες, mi-RNAs είναι σημαντικοί ρυθμιστές των CSCs. Το miR-34a είναι ένας καταστολέας όγκων, όταν η έκφραση του miR-34a μειώνεται, τα CSCs του καρκίνου του πνεύμονα εμφανίζουν έναν πιο επιθετικό φαινότυπο. Όταν η έκφρασή του αυξηθεί ξανά, ο φαινότυπος αυτός χάνεται. Έτσι, η μεταφορά ενός όμοιου μορίου στα κύτταρα αυτά (που μιμείται το miR-34a) δείχνει να μειώνει την ανάπτυξη των όγκων. Η θεραπεία αυτή της αντικατάστασης είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την περαιτέρω μελέτη της σχέσης των CSCs με τα mi-RNAs.

Στη θεραπεία του καρκίνου τώρα, εκτός από τους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες συχνά χρησιμοποιούνται και κάποιοι φυσικοί παράγοντες για καλύτερα αποτελέσματα. Το Curcumin είναι ένας μη-τοξικός παράγοντας που έχει αποδειχθεί αποτελεσματικός στον καρκίνο του πνεύμονα λόγω της επαγωγής της απόπτωσης αλλά και της αναστολής πολλαπλασιασμού των ανθεκτικών CSCs. Μέσω του μονοπατιού του EGFR περιορίζει τις διαδικασίες της κυτταρικής επιβίωσης και αυξάνει την ευαισθησία των CSCs στα αντικαρκινικά φάρμακα. Το Curcumin χρησιμοποιείται κυρίως συνδυαστικά με τις αντίστοιχες θεραπείες για τον κάθε ασθενή (Suresh et al., 2016).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ (Brain Cancer)- ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑ

Το γλοιοβλάστωμα είναι ένας κακοήθης τύπος καρκίνου, επιθετικός και σχεδόν ανίατος. Κάθε χρόνο έχουμε περίπου 17.000 νέες περιπτώσεις και αντιπροσωπεύει το 80% των διαγνωσμένων πρωτοπαθών όγκων του εγκεφάλου. Στα παιδιά το γλοιοβλάστωμα αφορά περίπου το 1/5 όλων των παιδικών καρκίνων. Γενικά θεωρείται από τους πιο επικίνδυνους τύπους καρκίνου εξαιτίας της φτωχής πρόγνωσης και της κακής ποιότητας ζωής. Το γλοιοβλάστωμα προέρχεται από τα κύτταρα της γλοίας του κεντρικού νευρικού συστήματος, ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με γλοιοβλάστωμα υποβάλλονται σε χειρουργική αφαίρεση του όγκου σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία συνήθως με το αντικαρκινικό φάρμακο Temozolomide (TMZ) εάν ο όγκος είναι σε προχωρημένο στάδιο. Οι τυπικές χημειοθεραπείες για τη συγκεκριμένη νόσο περιλαμβάνει κυρίως τα

αντικαρκινικά φάρμακα Temozolomide (TMZ) και Carmustine (BCNU), ωστόσο οι ασθενείς εμφανίζουν αντοχή κατά τη χορήγησή τους και οι υποτροπές είναι συχνές με έναν μέσο βαθμό επιβίωσης 12-15 μήνες (Huang et al., 2018). Καρκινικά βλαστικά κύτταρα CSCs, τα οποία έχουν υψηλή ικανότητα έναρξης όγκων και εμφανίζουν ανθεκτικότητα απέναντι στα φάρμακα, παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντίσταση. Φάρμακα που στοχεύουν τα βλαστοκύτταρα του γλοιώματος GSCs (glioma stem cells), CSCs του γλοιώματος, θα ήταν ιδιαίτερα σημαντικά στη θεραπεία. Ο CD133 είναι ένας βασικός δείκτης των GSCs, ασθενείς CD133⁺ έχουν μικρότερα ποσοστά επιβίωσης σε σχέση με αυτούς που παρουσιάζουν CD133⁻ καρκινικά κύτταρα. Επιπλέον κύτταρα CD133⁺ σε διάφορους χημειοανθεκτικούς καρκίνους, όπως κι εδώ, φαίνεται να αυξάνονται μετά τις θεραπείες με Cisplatin, Etoposide, Doxorubicin και Paclitaxel. Αυτό σε συνδυασμό με την υπερέκφραση των μεταφορέων εκροής φαρμάκων ABC στα κύτταρα αυτά αυξάνει ακόμη περισσότερο την αντίσταση μετά τις χημειοθεραπείες (Alisi et al., 2013).

Η μη φυσιολογική τώρα ενεργοποίηση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), λόγω ενίσχυσης ή κάποιας μετάλλαξης, είναι συχνή στα γλοιοβλαστώματα. Το γονίδιο του EGFR παρουσιάζει αυξημένη έκφραση στο 40% των περιπτώσεων. Τα γλοιοβλαστώματα όμως εμφανίζουν ανθεκτικότητα στις θεραπείες με EGFR-TKIs, η οποία πρέπει να ξεπεραστεί. Το Brexiprazol, είναι ένα νέο ασφαλές φάρμακο με δράση στα συστήματα σεροτονίνης-ντοπαμίνης, που χρησιμοποιήθηκε για τη σχιζοφρένεια και την κατάθλιψη. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε η δράση του κατά των CSCs και η ικανότητά του να ευαισθητοποιεί τα καρκινικά κύτταρα απέναντι στα αντικαρκινικά φάρμακα. Πιο συγκεκριμένα στα γλοιοβλαστώματα, το Brexiprazole μπορεί να ευαισθητοποιήσει τα GSCs κατά τη θεραπεία με το Osimertinib, ένα τρίτης γενιάς EGFR-TKI φάρμακο. Η χορήγηση του Brexiprazole ευαισθητοποιεί τα GSCs στο Osimertinib και μειώνει την έκφραση της πρωτεΐνης survivin, ενός αντι-αποπτωτικού παράγοντα με σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση. Η ταυτόχρονη άρα θεραπεία με Brexiprazol και Osimertinib μπορεί να καταστείλει πιο αποτελεσματικά την ανάπτυξη των όγκων από ότι το καθένα ξεχωριστά, χωρίς να προκαλείται σημαντική τοξικότητα του οργανισμού (Suzuki et al., 2019).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ (Pancreatic cancer)

Ο καρκίνος του παγκρέατος είναι από τους πιο θανατηφόρους τύπους κακοηθών όγκων. Το 2018 διαγνώστηκαν 458.918 άτομα με καρκίνο στο πάγκρεας και ο αριθμός των θανάτων ήταν σχεδόν ο ίδιος (Gzil et al., 2019). Ο σημαντικότερος ιστολογικός υποτύπος

είναι ο PDAC (Pancreatic ductal adenocarcinoma) - παγκρεατικό αδενοκαρκίνωμα και περιλαμβάνει το 90% των περιπτώσεων (Ishiwata et al., 2018). Το PDAC είναι από τις πιο επιθετικές μορφές καρκίνου, αντιπροσωπεύει την 4^η πιο συχνή αιτία θανάτου των ασθενών με καρκίνο παγκοσμίως και μέχρι το 2030 αναμένεται να γίνει ο 2^{ος} βασικός λόγος που σχετίζεται με τους θανάτους εξαιτίας των καρκίνων. Η μέση επιβίωση των ασθενών είναι 6-12 μήνες, επιβίωση 5 χρόνων εμφανίζει ένα μικρό ποσοστό κάτω του 7%. Ο καρκίνος του παγκρέατος είναι πιο συχνός στους ενήλικες, περίπου άνω των 40 ετών και η συχνότητα εμφάνισης είναι παρόμοια στους άνδρες και στις γυναίκες. Το κάπνισμα, το αλκοόλ, η ηλικία και η χρόνια παγκρεατίτιδα αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την εξέλιξη της νόσου (Hermann & Sainz Jr, 2018). Οι ασθενείς σπάνια παρουσιάζουν συμπτώματα, έτσι η διάγνωση του καρκίνου είναι ιδιαίτερα δύσκολη και όταν οι ασθενείς διαγιγνώσκονται είτε έχει προκληθεί ήδη κάποια μετάσταση (συχνά στο συκώτι) είτε η νόσος βρίσκεται σε ένα αρκετά προχωρημένο στάδιο. Η χειρουργική επέμβαση σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία αποτελούν την κύρια θεραπευτική προσέγγιση. Παρά τη χαμηλή αποτελεσματικότητα, ο χημειοθεραπευτικός παράγοντας Gemcitabine, υπήρξε η πρώτη γραμμή θεραπείας για πολλά χρόνια, ωστόσο θετικά αποτελέσματα εμφάνιζε μόνο το 23,8% των περιπτώσεων με PDAC, με το υπόλοιπο ποσοστό να παρουσιάζει αντίσταση. Τα τελευταία χρόνια, η εκτενέστερη μελέτη της καρκινογένεσης στο πάγκρεας, οδήγησε σε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις (Gzil et al., 2019). Χρησιμοποιήθηκε ένα σχήμα-συνδυασμός τεσσάρων διαφορετικών αντικαρκινικών φαρμάκων το FOLFIRINOX. Το FOLFIRINOX είναι ένας συνδυασμός 4 χημειοθεραπευτικών παραγόντων, του 5-Fluorouracil, Irinotecan, Oxaliplatin, και Leucovorin. Ασθενείς που τους χορηγήθηκε αυτή η θεραπεία αύξησαν τη μέση επιβίωσή τους στους 11,1 μήνες σε αντίθεση με τους 6,8 μήνες επιβίωσης κατά τη θεραπεία με Gemcitabine, παρόλο που οι παρενέργειες και η τοξικότητα ήταν εντονότερες (Saung & Zheng, 2017). Μια άλλη νέα θεραπευτική προσέγγιση είναι και ο συνδυασμός Nab paclitaxel (Abraxane) μαζί με το Gemcitabine, όμως κι εδώ η αύξηση του μέσου βαθμού επιβίωσης είναι μόνο μερικοί μήνες. Οι συμβατικές θεραπείες τις περισσότερες φορές δεν μπορούν να εξαλείψουν τους όγκους και η αντοχή που εμφανίζεται στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες είναι σχεδόν αναπόφευκτη. Η παρουσία καρκινικών βλαστοκυττάρων στο PDAC – PCSCs (pancreatic cancer stem cells) παίζει σημαντικό ρόλο στην αντίσταση στις αντικαρκινικές θεραπείες και είναι υπεύθυνη για τις μεταστατικές καταστάσεις. Τα PCSCs πρώτη φορά περιγράφηκαν το 2007, αποτελούν λιγότερο από 1% του πληθυσμού των καρκινικών κυττάρων του όγκου και είναι υπεύθυνα για την έναρξη, την εξέλιξη και την υποτροπή/μετάσταση της νόσου. Η ικανότητα αυτό-ανανέωσης τους, η υψηλή έκφραση

αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών και αντλιών εκροής φαρμάκων (ABC μεταφορείς), τα κάνουν ανθεκτικά απέναντι στις χημειοθεραπείες (Di Carlo et al., 2018). Τα PCSCs μπορούν να ταυτοποιηθούν με συγκεκριμένους δείκτες όπως ο CD133, CD24, CD44, EpCAM/ESA (epithelial-specific antigen), c-MET, ALDH1, DclK1, CXCR4 και ο Lgr5. PCSCs πρώτη φορά καθορίστηκαν από την ταυτόχρονη έκφραση του CD44, CD24 και EpCAM, κύτταρα CD44⁺ CD24⁺ EpCAM⁺ εμφανίζουν 100 φορές πιο αυξημένο ογκογονικό δυναμικό σε σχέση με τους πληθυσμούς CD44⁻ CD24⁻ EpCAM⁻ (Ishiwata et al., 2018). Επιπλέον σηματοδοτικά μονοπάτια, όπως το Wnt/β-κατενίνης, Sonic Hedgehog, Notch καθώς και η διαδικασία της EMT, είναι σημαντικά για την αυτό-ανανέωση και ανθεκτικότητα των PCSCs. Η ανάπτυξη φαρμάκων για τη στόχευση αυτών των οδών και των αντίστοιχων πρωτεϊνών τους θα μπορούσε να βελτιώσει τα χημειοθεραπευτικά αποτελέσματα.

Πέρα από αυτά όμως έχει δειχθεί ότι κάποια μη-καρκινικά φάρμακα μπορούν να παρουσιάσουν αντικαρκινικές επιδράσεις ενάντια σε διάφορους τύπους ανθρώπινων CSCs. Στη συγκεκριμένη περίπτωση του PDAC, χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σαλικυλικό οξύ, γνωστό και ως ασπιρίνη. Η ασπιρίνη είναι ένα φάρμακο που δε σχετίζεται με τον καρκίνο, μπορεί όμως να συμβάλλει στην εξάλειψη των PCSCs και άρα στη θεραπεία του PDAC. Είναι ένα αντιπυρετικό και αντιφλεγμονώδες φάρμακο που έχει την ικανότητα να εξουδετερώνει χαρακτηριστικά των PCSCs όπως τη δραστηριότητα του ALDH1 (ABC μεταφορέα), τη σηματοδότηση NF-κB, το δυναμικό αυτό-ανανέωσής τους καθώς και την αντοχή απέναντι στο Gemcitabine. Η στόχευση των PCSCs και των χαρακτηριστικών τους είναι σημαντικό σημείο για μια πιο αποτελεσματική θεραπεία της νόσου, επομένως η πλήρης κατανόηση του μηχανισμού δράσης τους είναι απαραίτητη (Di Carlo et al., 2018).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΗΠΑΤΟΣ (Liver Cancer)

Ο καρκίνος του ήπατος είναι ένας από τους πιο κοινούς καρκίνους παγκοσμίως και έχει τη δεύτερη θέση όσον αφορά τα ποσοστά θνησιμότητας (Li & Zhu, 2019). Κάθε χρόνο έχουμε περίπου 850.000 νέες περιπτώσεις. Το Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC) ή Ηπάτωμα είναι ο συχνότερος πρωτοπαθής κακοήθης όγκος του οργάνου, που προέρχεται από τα ηπατοκύτταρα, και αντιπροσωπεύει περισσότερο από το 80% όλων των περιπτώσεων. Η κίρρωση του ήπατος, που μπορεί να οφείλεται στη χρόνια λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV-Hepatitis B virus), ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV-Hepatitis C virus) και η κατάχρηση του αλκοόλ, αποτελούν βασικές αιτίες πρόκλησης του HCC (Wang et al., 2018). Θεραπείες όπως η χειρουργική επέμβαση, η τοπική αφαίρεση και η

μεταμόσχευση ήπατος είναι εφικτές μόνο για τους όγκους-πρώτου σταδίου. Ωστόσο, η νόσος είναι συνήθως ασυμπτωματική και η πλειονότητα των ασθενών διαγιγνώσκονται με HCC σε προχωρημένα στάδια όπου οι αποτελεσματικές θεραπείες είναι περιορισμένες. Διάφορες χημειοθεραπείες έχουν δείξει ορισμένα οφέλη προς τους ασθενείς (Castelli et al., 2017). Το Sorafenib χρησιμοποιήθηκε σαν μια θεραπεία πρώτης-γραμμής με μέτρια όμως οφέλη στην επιβίωση των ασθενών. Το Regorafenib και το Lenvatinib, 2 πιο πρόσφατα αντικαρκινικά φάρμακα, χρησιμοποιήθηκαν για τη θεραπεία του HCC χωρίς όμως να δείξουν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από το Sorafenib. Η μέση επιβίωση των ασθενών μετά από τη διάγνωση της νόσου υπολογίζεται στους 6-20 μήνες λόγω του υψηλού βαθμού υποτροπής και της αντοχής που εμφανίζεται στα φάρμακα. Η ύπαρξη ενός υποπληθυσμού ηπατικών καρκινικών βλαστικών κυττάρων LCSCs (liver cancer stem cells) θεωρήθηκε υπεύθυνος για αυτήν την εξέλιξη. Τα κύτταρα αυτά έχουν έναν υψηλό βαθμό αυτό-ανανέωσης, διαφοροποίησης και ογκογένεσης, και παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόοδο του καρκίνου και στην ανάπτυξη αντίστασης απέναντι στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Τις τελευταίες δεκαετίες, οι εξελίξεις βοήθησαν στον εντοπισμό ειδικών δεικτών επιφανείας για τα LCSCs, ώστε να γίνει δυνατή η ταυτοποίησή τους, η διερεύνηση των βιολογικών λειτουργιών τους, οι οδοί σηματοδότησής τους και διάφορες θεραπευτικές προσεγγίσεις μέσω της στόχευσής τους. Μόρια προσκόλλησης επιθηλιακών κυττάρων (EpcAM), CD133, CD90, CD13, CD44, ALDH, OV-6 και K19 (κυτοκερατίνη-έκφραση κυρίως σε επιθηλιακά νεοπλάσματα) αναγνωρίζονται ευρέως ως επιφανειακοί δείκτες των LCSCs. EpcAM⁺ alpha-fetoprotein⁺ (AFP⁺) υποτύποι HCC έχουν χαρακτηριστικά καρκινικών βλαστικών κυττάρων, παρουσιάζουν φτωχή πρόγνωση και μικρό βαθμό επιβίωσης των ασθενών. Η έκφραση του CD133 είναι ένας προγνωστικός δείκτης για τη συνολική επιβίωση των ασθενών με HCC. CD133⁺ AFP⁺ πληθυσμοί σχετίζονται με μία κακή πρόγνωση, επιπλέον κύτταρα CD133⁺ εμφανίζουν ιδιότητες CSCs, χημειοαντίσταση, μετανάστευση και ογκογένεση. Ο CD44 εκφράζεται συνήθως στους CD133⁺ πληθυσμούς και συμβάλλει στο φαινότυπο των CSCs. Κύτταρα CD90⁺ CD44⁺ στο HCC φαίνεται να είναι πιο επιθετικά από τα CD90⁺ CD44⁻ και μπορούν να σχηματίσουν μεταστατικές βλάβες στον πνεύμονα. Η έκφραση δεικτών επιφανείας στα LCSCs συχνά σχετίζεται και με την απορρύθμιση των ABC-μεταφορέων. Κύτταρα CD133⁺ CD44⁺ στο HCC είναι πιο ανθεκτικά στα αντικαρκινικά φάρμακα λόγω της υπερέκφρασης των αντλιών εκροής φαρμάκων (ABCB1, ABCC1 και ABCG2). Επίσης, ο ABCG2 και ο παράγοντας βλαστικότητας Oct4 φαίνεται να υπερεκφράζονται σε CD90⁺ CD133⁻ LCSCs, συμβάλλοντας σε μεγάλο βαθμό στην αντοχή. Πιο συγκεκριμένα τώρα, το Sorafenib, που όπως προαναφέραμε χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη-γραμμή θεραπείας, είναι

ένας αναστολέας πολλαπλών κινασών με αντι-πολλαπλασιαστικές ιδιότητες, που θα μπορούσε να μειώσει τη βιωσιμότητα των καρκινικών κυττάρων και να επάγει την απόπτωση στις κυτταρικές σειρές του HCC. Ωστόσο, κυρίως λόγω της ανθεκτικότητας των κυττάρων (LCSCs), ασθενείς με προχωρημένο HCC έχουν όφελος επιβίωσης 3 μήνες στη μονοθεραπεία με Sorafenib. Επιπλέον, μακροχρόνια χορήγηση Sorafenib μπορεί να οδηγήσει σε έναν πιο επιθετικό φαινότυπο δεδομένου ότι τα καρκινικά κύτταρα υποβάλλονται συνεχώς στη διαδικασία της EMT που έχει άμεση σχέση με τη λειτουργία και δράση των CSCs. Το Sorafenib απορρυθμίζει και γονίδια βλαστικότητας όπως το Nanog, Sox2 και Oct4 σε EpCAM⁺ HCC κύτταρα επιδεινώνοντας την κατάσταση της νόσου. Γενικότερα χημειοθεραπευτικοί παράγοντες μπορούν να αυξήσουν τον πληθυσμό των LCSCs (πίνακας 2). Κύτταρα CD133⁺ φαίνεται να αυξάνονται μετά τη χορήγηση Doxorubicin και 5-FU βοηθώντας περισσότερο στην αντίσταση που αναπτύσσεται. Επίσης η έκφραση του CD13 αυξάνεται με τη χορήγηση των φαρμάκων αυτών, έτσι υποπληθυσμοί CD13⁺ CD133⁺ είναι πιο ανθεκτικοί στη θεραπεία με Doxorubicin, σε σύγκριση με τους CD13⁻ CD133⁺ πληθυσμούς (Wang et al., 2018).

| CSC population | Resistance type |
|---|---|
| Oct4 ⁺ | 5-FU, cisplatin, doxorubicin |
| CD133 ⁺ | Radiotherapy |
| CD13 ⁺ | Doxorubicin, 5-FU |
| CD133 ⁺ | Doxorubicin, fluorouracil |
| CD133 ⁺ | Sorafenib |
| EpCAM | Sorafenib |
| CD133 ⁺ EpCAM ⁺ | Doxorubicin |
| CSCs enriched under selective culture condition | 5-FU, gemcitabine, cisplatin, mitomycin and sorafenib |
| CD24 ⁺ | Cisplatin |
| OV6 ⁺ | Cisplatin |
| CD90 ⁺ | Doxorubicin |
| Nanog ⁺ | Sorafenib |

Πίνακας 2. Η θεραπευτική αντοχή των LCSCs (liver cancer stem cells) (Wang et al., 2018)

Η στόχευση των LCSCs είναι μία νέα κατεύθυνση για τη θεραπεία του HCC. Η στόχευση μπορεί να γίνει σε επίπεδο γονιδίων (πχ. μέσω αναστολής μεταγραφικών παραγόντων), είτε να αφορά τους δείκτες επιφανείας, είτε να σχετίζεται με την ενεργοποίηση και τον αποκλεισμό βασικών οδών σηματοδότησης. Ακόμη, στόχευση των LCSCs θα μπορούσε να συμβάλλει στην εξάλειψη ή την μείωση της χημειοαντίστασης (ευαισθητοποίηση κυττάρων σε αντικαρκινικούς παράγοντες) (Li & Zhu, 2019).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ (Gastric cancer)

Ο καρκίνος του στομάχου GC (Gastric Cancer) είναι μία από τις πέντε πιο συχνές κακοήθειες και η τρίτη βασική αιτία θνησιμότητας από καρκίνο παγκοσμίως. Έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για τη βελτίωση της πρόγνωσης των ασθενών με προχωρημένο στάδιο GC. Παρά τη μεγάλη πρόοδο όμως στη θεραπεία, η πρόγνωση των ασθενών παραμένει φτωχή, κυρίως λόγω της συχνής υποτροπής, της μετάστασης και της αντοχής στα φάρμακα. Το συνολικό ποσοστό επιβίωσης 5 ετών των ασθενών με προχωρημένο GC είναι περίπου 25% (Fu et al., 2018). Η συχνότητα εμφάνισης της νόσου είναι περίπου διπλάσια στους άνδρες από ότι στις γυναίκες και διαφέρει σημαντικά ανάμεσα στις διάφορες χώρες εξαιτίας των διαφορετικών διατροφικών συνηθειών και τη διαθεσιμότητα φρέσκων προϊόντων. Η μετάσταση και η υποτροπή στα προχωρημένα στάδια GC συνήθως ανιχνεύονται και μετά από πλήρη χειρουργική επέμβαση εκτομής, πράγμα που υποδεικνύει την ύπαρξη κάποιων καρκινικών κυττάρων (συνήθως μη ανιχνεύσιμων) και στην κυκλοφορία του αίματος. Ο συνδυασμός επομένως μιας χειρουργικής επέμβασης με κάποια χημειοθεραπεία θα μπορούσε να βελτιώσει την πρόγνωση των ασθενών (Fu et al., 2020). Η πιο ευρέως κοινή χημειοθεραπεία πρώτης-γραμμής για το GC είναι η ταυτόχρονη χορήγηση του 5-FU με κάποιο ανάλογο πλατίνας, συνήθως το Cisplatin ή το Oxaliplatin. Το Cisplatin προκαλεί μεγαλύτερη τοξικότητα και απαιτεί επαρκή ενυδάτωση σε ασθενείς με νεφρικές βλάβες, για αυτό και το Oxaliplatin χρησιμοποιείται ευρύτερα (Takashima et al., 2009). Παρόλα αυτά η μέση επιβίωση χωρίς εξέλιξη του καρκίνου υπολογίζεται στους 4-7 μήνες. Οι χημειοθεραπείες δεύτερης-γραμμής, που παρέχονται σε ασθενείς με μεταστατικό GC ή σε ασθενείς που έχει αποτύχει η θεραπεία πρώτης-γραμμής, περιλαμβάνουν τη χορήγηση τριών κυτταροτοξικών παραγόντων Paclitaxel, Docetaxel και Irinotecan μαζί με ένα αντι-αγγειακό μονοκλωνικό αντίσωμα, το Ramucirumab. Σημαντικές είναι οι μειώσεις κινδύνου θανάτου των ασθενών, αν και συχνά δεν υπάρχει ανταπόκριση ή και αν υπάρξει η απόκριση αφορά και πάλι μερικούς μόνο μήνες (Choi et al., 2018). Η παρουσία καρκινικών βλαστοκυττάρων στον GC (GCSCs-gastric cancer stem cells) είναι αυτή που συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στη χημειοανθεκτικότητα. GCSCs, με

απεριόριστο δυναμικό αυτό-ανανέωσης, διαφοροποίησης και αναγέννησης όγκων, βοηθούν στη διατήρηση των χαρακτηριστικών του GC και παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντοχή ενάντια στα αντικαρκινικά φάρμακα και στην υποτροπή της νόσου (Fu et al., 2018). Ο CD44 ήταν ο πρώτος επιφανειακός δείκτης που ταυτοποιήθηκε στα GCSCs. Επιπλέον κύτταρα CD44⁺ CD24⁺ φαίνεται να έχουν υψηλότερη ογκογονικότητα και δυνατότητα αυτό-ανανέωσης σε σχέση με CD44⁻ CD24⁻ πληθυσμούς, επομένως ταυτόχρονη έκφραση του CD44 και του CD24 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πιθανός δείκτης των GCSCs. Ο CD54 είναι ένας ακόμη δείκτης των GCSCs, όπου μαζί με τον CD44 μπορεί να βοηθήσει στην απομόνωση των CSCs από το περιφερειακό αίμα σε ασθενείς με GC. Όμοια ο συνδυασμός του επιθηλιακού μορίου προσκόλλησης EpcAM μαζί με τον CD44 βρέθηκε ως πιθανός δείκτης των GCSCs. Η ταυτόχρονη έκφραση των δεικτών αυτών είναι σημάδι ισχυρότερης αντίστασης στα αντικαρκινικά φάρμακα από ότι άλλοι συνδυασμοί. Αρκετά άλλα μόρια, όπως το CD90, CD71, CD133 και Lgr5, θεωρούνται δείκτες των GCSCs (Fu et al., 2020). Υποπληθυσμοί κυττάρων με CD71⁻ φαίνεται να αυξάνονται μετά τη χορήγηση 5-FU και να συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια G0/G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου (κατάσταση αποσιώπησης). Αυτός ο υποτύπος κυττάρων παρουσιάζει υψηλή αντοχή στα φάρμακα των συμβατικών χημειοθεραπειών και έχει μεγαλύτερο βαθμό ογκογονικότητας σε σχέση με τους CD71⁺ πληθυσμούς (Uchiyama et al., 2018). Εκτός από αυτά, η χημειοαντίσταση που παρουσιάζεται στα GCSCs, οφείλεται και στην έκφραση 2 βασικών ABC μεταφορέων του ABCB1/MDR1 και του ABCG2. Η υπερέκφραση αντλιών εκροής φαρμάκων στα GCSCs τα επιτρέπουν να διατηρούν τις βλαστικές τους ιδιότητες και να αποφύγουν τις κυτταροτοξικές επιδράσεις των χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Το Axitinib είναι ένας αναστολέας κινασών τυροσίνης, που στοχεύει τα GCSCs και βελτιώνει την αποτελεσματικότητα ορισμένων αντικαρκινικών φαρμάκων, καθώς μπλοκάρει τη λειτουργία του ABCG2. Η αναστολή συγκεκριμένων ABC μεταφορέων σε συνδυασμό με την αντίστοιχη χημειοθεραπεία, θα μπορούσε να είναι ευεργετική για την εξάλειψη των ανθεκτικών καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον η δυσλειτουργία πολλών κύριων οδών μεταγωγής σήματος μπορεί να εμπλέκεται με τη σειρά της στην καρκινογένεση στο στόμαχο και να βοηθά στην αυτό-ανανέωση των GCSCs. Τα επίπεδα έκφρασης του Sonic hedgehog (Shh) είναι ιδιαίτερα υψηλά στην περιοχή των βλαστικών κυττάρων στο στόμαχο. Η σηματοδότηση Shh απορρυθμίζεται στο GC και έτσι η μη φυσιολογική ενεργοποίηση του μονοπατιού σχετίζεται με μία πιο επιθετική μορφή GC. Η Shh οδός είναι σχεδόν απαραίτητη για τη διατήρηση των GCSCs και μπορεί να προωθήσει την κινητικότητα και τη διεισδυτικότητα των GC κυττάρων έχοντας έτσι έναν πιθανό ρόλο στη μετάσταση. GCSCs αλληλεπιδρούν και με στρωματικά

κύτταρα, τα οποία εκκρίνουν παράγοντες που ρυθμίζουν τη βλαστικότητα και τη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων στο περιβάλλον του όγκου. Τέλος, η στόχευση των GCSCs μέσω των ειδικών δεικτών επιφανείας τους, το μπλοκάρισμα βασικών οδών σηματοδότησης τους και ο έλεγχος της σχέσης τους με το μικροπεριβάλλον, θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη νέων, πιο αποτελεσματικών θεραπειών για την καταπολέμηση του GC (Yashiro, 2014).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ (Ovarian cancer)

Ο καρκίνος στις ωοθήκες είναι μία από τις πιο κοινές κακοήθειες στο αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας. Είναι ένας από τους 7 πιο συχνούς καρκίνους και 5^η βασική αιτία θανάτων καρκίνου στις γυναίκες παγκοσμίως (Keyvani et al., 2019). Το 90% των περιπτώσεων του καρκίνου στις ωοθήκες OC-Ovarian Cancer είναι επιθηλιακής προέλευσης, τα ποσοστά θνησιμότητας είναι υψηλά και η συνολική επιβίωση 5 ετών των ασθενών με προχωρημένο επιθηλιακό OC είναι μικρότερη από 25%. Αυτό οφείλεται κυρίως στη μη έγκαιρη διάγνωση της νόσου, καθώς δεν υπάρχουν ειδικά συμπτώματα και επιπλέον η ετερογένεια είναι μεγάλη, με διάφορους ιστολογικούς υποτύπους, με διαφορετικούς φαινότυπους και διαφορετική εξέλιξη (Pieterse et al., 2018). Μία στις 75 γυναίκες κινδυνεύει από εμφάνιση OC, και κατά 80-90% αφορά γυναίκες στην εμμηνόπαυση ή μετά την εμμηνόπαυση (ηλικίας 40 ετών και άνω). Άλλοι παράγοντες κινδύνου μπορεί να είναι το οικογενειακό ιστορικό, μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 και BRCA2, η στειρότητα και η πρόωγη ή καθυστερημένη εμμηνόπαυση. Η τυπική θεραπεία για προχωρημένο OC είναι η χειρουργική επέμβαση σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία που βασίζεται σε παράγοντες πλατίνας. Με την επέμβαση αφαιρείται ο κακοήθης ιστός, μειώνεται ο όγκος και ενισχύεται η δράση των χημειοθεραπευτικών παραγόντων (Pokhriyal et al., 2019). Η τυπική θεραπεία για το OC περιλαμβάνει τα φάρμακα Paclitaxel, Cisplatin και Carboplatin. Η ανταπόκριση των ασθενών είναι θετική, ωστόσο μόνο 10%-15% επιτυγχάνουν την πλήρη ύφεση της νόσου μακροπρόθεσμα (Amaya Padilla et al., 2019). Το Cisplatin αρχικά θεωρήθηκε ένας σημαντικός παράγοντας για τη θεραπεία του προχωρημένου OC. Η σύνδεσή του στο πυρηνικό DNA, οδηγούσε σε παρεμβολές στην μεταγραφή και αντιγραφή του DNA και τελικά στον κυτταρικό θάνατο. Το 1990 το Paclitaxel (μία ταξάνη-αλκαλοειδές φυτών) βρέθηκε να είναι το πιο αποτελεσματικό αντι-καρκινικό φάρμακο ειδικά σε περιπτώσεις υποτροπής της νόσου μετά τη θεραπεία με παράγοντες πλατίνας. Ο συνδυασμός Carboplatin και Paclitaxel αναγνωρίστηκε ως η τυπική θεραπεία για την καταπολέμηση της νόσου. Η κλινική απόκριση των ασθενών είναι 50-80% και η επιβίωση χωρίς επανεμφάνιση ή εξέλιξη της νόσου είναι περίπου 13,6-19,3 μήνες. Ο συνδυασμός Cisplatin με Paclitaxel εμφανίζει

συνολικά υψηλότερα ποσοστά κλινικής απόκρισης των ασθενών, ωστόσο η αντοχή τους μέσα στον οργανισμό είναι μικρότερη, επομένως και η δράση τους (Pokhriyal et al., 2019). Αναστολείς παραγόντων αγγειογένεσης μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν κατά τη θεραπεία του OC. Για παράδειγμα ο VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) είναι σημαντικός κατά τη διάρκεια της αγγειακής εξέλιξης στον όγκο, οπότε η αναστολή του θα μπορούσε να έχει ως αποτέλεσμα τον περιορισμό ή την εξάλειψη του όγκου (Keyvani et al., 2019). Η πλειοψηφία των ασθενών με OC σε προχωρημένο στάδιο ανταποκρίνεται καλά στη θεραπεία, ωστόσο υπάρχει σε μεγάλο βαθμό το πρόβλημα υποτροπής της νόσου που συνδέεται άμεσα με τη χημειοαντίσταση. Οι όγκοι γίνονται όλο και πιο επιθετικοί μετά από πολλαπλούς κύκλους χημειοθεραπείας. Η πρόοδος στα CSCs βοήθησε στην κατανόηση της μετάστασης και της χημειοανθεκτικότητας στον OC. Ένας μικρός υποπληθυσμός ανθεκτικός στα φάρμακα καρκινικών κυττάρων (OCSCs-ovarian cancer stem cells) είναι η κινητήρια δύναμη για την έναρξη, τη διάδοση, τη μετάσταση αλλά και την υποτροπή της νόσου. Οι θεραπείες μπορεί να μειώνουν σημαντικά το μέγεθος του όγκου και να εξαλείφουν τα συμπτώματα των ασθενών, δε στοχεύουν όμως τον ανθεκτικό αυτό πληθυσμό των OCSCs. OCSCs διατηρούν μία κατάσταση ηρεμίας, παραμένουν στη φάση G0 για παρατεταμένο χρονικό διάστημα, οπότε δε μπορούν να γίνουν στόχοι των χημειοθεραπευτικών παραγόντων που στοχεύουν ενεργά διαιρούμενα κύτταρα στη φάση S ή M του κυτταρικού κύκλου (Pieterse et al., 2018). Επιπλέον, η ανθεκτικότητα στα φάρμακα αλλά και η υποτροπή συνδέεται και με την έκφραση ορισμένων δεικτών επιφανείας στα OCSCs. Οι βασικοί δείκτες είναι οι CD24, CD44, CD117, CD133 και ALDH. Η σημασία τους είναι μεγάλη εφόσον χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτες για την πρόγνωση και την εξέλιξη του OC ακόμη και κατά τη διάρκεια ή μετά τις θεραπείες. CD24⁺ κύτταρα που έχουν απομονωθεί από ασθενείς, έχουν υψηλή ικανότητα έναρξης όγκων, εκφράζουν γονίδια βλαστικότητας, και για αυτό μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες ταυτοποίησης των OCSCs. Η έκφραση του CD24 συνδέεται με τη μετάσταση και την κακή πρόγνωση των ασθενών με OC. Επίσης ορισμένα κύτταρα CD24⁺ φαίνεται να είναι ανθεκτικά στη θεραπεία με Cisplatin σε αντίθεση με CD24⁻ πληθυσμούς. Πληθυσμοί CD24⁺CD44⁺EpCAM⁺ OCSCs εμπλουτίζονται περαιτέρω απουσία E-cadherin-εκαδερίνης (χαρακτηριστικό των κυττάρων που έχουν υποβληθεί σε EMT) και εδώ η χημειοαντίσταση ενάντια στα φάρμακα είναι πολύ μεγαλύτερη. CD44⁺CD117⁺ κύτταρα εμφανίζουν ιδιότητες έναρξης όγκων και αντοχή κατά τη χορήγηση Cisplatin-Paclitaxel, ενώ CD44⁻CD117⁻ κύτταρα δεν παρουσιάζουν ογκογονικότητα. Η υπερέκφραση του CD117 συνδέεται με κακή κλινική έκβαση της νόσου. Το ίδιο ισχύει και για το CD133, CD133⁺ πληθυσμοί έχουν υψηλό βαθμό ογκογονικότητας, είναι πολύ πιο δραστικοί για

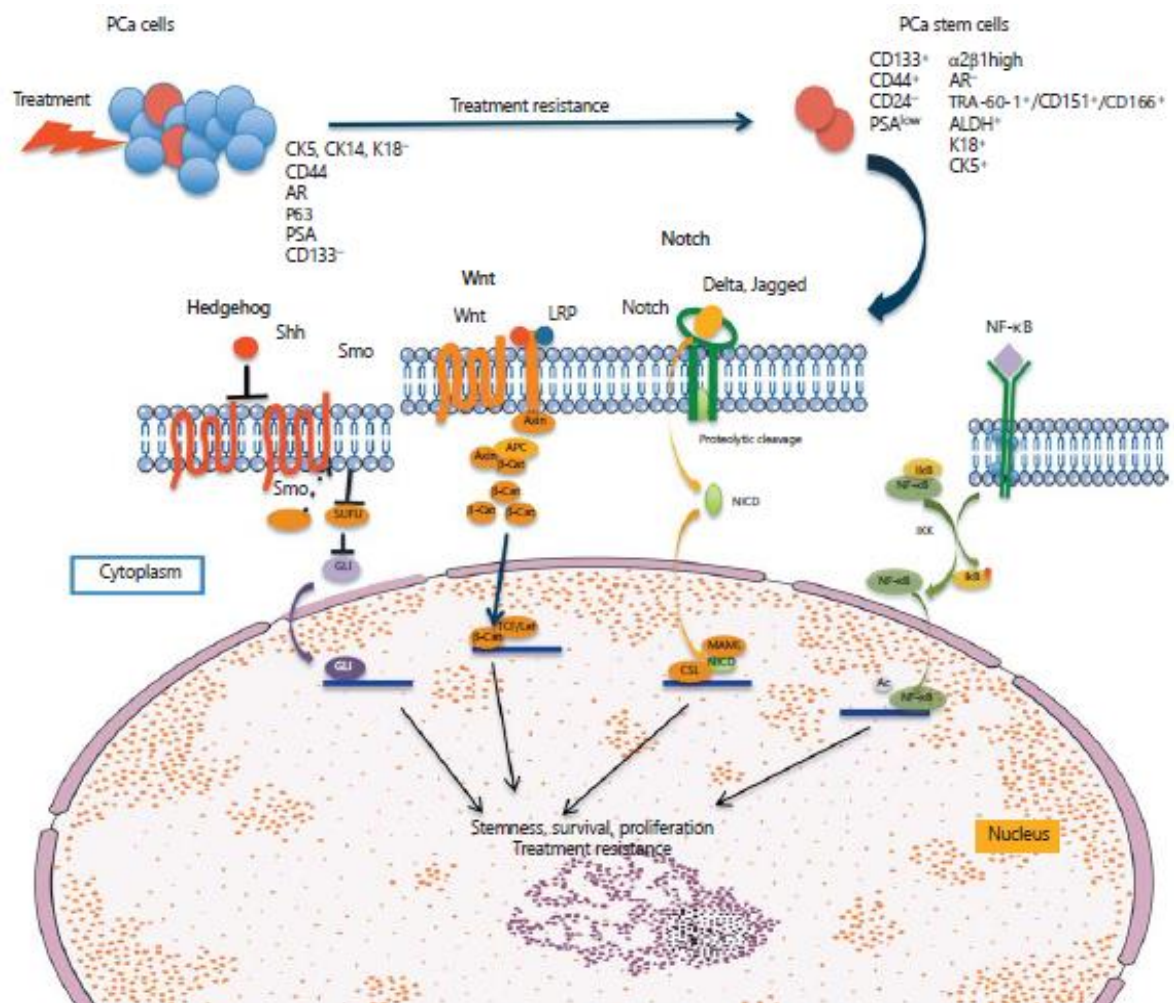
την εξέλιξη του OC και αναπτύσσουν αντοχή, ιδιαίτερα απέναντι στο Cisplatin, σε αντίθεση με τους CD133⁺ πληθυσμούς. Ο ALDH τώρα φαίνεται να εκφράζεται σε μεγάλα ποσοστά σε όλους τους τύπους OC. Πιο συγκεκριμένα όμως η ισομορφή ALDH1A1 σχετίζεται με χαμηλά ποσοστά επιβίωσης και αντοχή στα φάρμακα. Μπλοκάρισμα του ALDH1A1 θα μπορούσε να οδηγήσει σε αύξηση της ευαισθησίας των OCSCs ενάντια στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες ταξάνης και πλατίνας (Pieterse et al., 2018). Εκτός από αυτά, OCSCs συχνά παρουσιάζουν υψηλή έκφραση του παράγοντα Nanog, που μπορεί με τη σειρά του να επηρεάσει τη διαδικασία της EMT. Μέσω του μονοπατιού STAT3, ο Nanog προωθεί την EMT και αυξάνει την αντοχή στα αντι-καρκινικά φάρμακα. Η έκφραση του αυξάνεται έτσι ακόμη περισσότερο στις χημειοανθεκτικές σειρές και αυτό ίσως συνδέεται και με τον πιο επιθετικό φαινότυπο των OCSCs (Amaya Padilla et al., 2019). Τα OCSCs επομένως, παίζουν τεράστιο ρόλο στην εξέλιξη του OC. Η μελέτη της βιολογίας τους για τη στόχευση και την εξάλειψή τους είναι το επόμενο βήμα για την καταπολέμηση της νόσου, τη βελτίωση επιβίωσης των ασθενών και τη μείωση υποτροπής. Η συνδυαστική θεραπεία εκτομής του όγκου και στόχευσης των OCSCs θα μπορούσε να είναι μία από τις πιο αποτελεσματικές αντικαρκινικές θεραπευτικές μεθόδους στον καρκίνο των ωοθηκών (Keyvani et al., 2019).

KΑΡΚΙΝΟΣ ΠΡΟΣΤΑΤΗ (Prostate cancer)

Ο καρκίνος του προστάτη PC (Prostate cancer) είναι η πιο κοινή κακοήθεια στους άνδρες και μία από τις βασικές αιτίες θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως. Στους ασθενείς που έχουν διαγνωστεί άμεσα με τοπική εμφάνιση της νόσου, το ποσοστό επιβίωσης των 5 ετών φτάνει το 99% ενώ σε μεταστατικές μορφές πέφτει στο 28% (Harris & Kerr, 2017). Λόγω του τεστ ρουτίνας PSA (prostate-specific antigen) για την ανίχνευση του συγκεκριμένου αντιγόνου στον ορό του αίματος, η πλειονότητα των καρκίνων ανιχνεύεται όσο αυτός είναι περιορισμένος και έτσι είναι θεωρητικά θεραπεύσιμος (όταν δεν είναι επιθετικής μορφής) (Watson et al., 2015). Ο αδένας του προστάτη αποτελείται από δύο στρώματα επιθηλιακών κυττάρων, τα βασικά και τα εκκριτικά. Η πλειονότητα των εκκριτικών επιθηλιακών κυττάρων εκφράζουν τον υποδοχέα ανδρογόνων AR-androgen receptor και απαιτούν την AR σηματοδότηση για την επιβίωσή τους. Τα βασικά κύτταρα δεν εκφράζουν τον υποδοχέα. Ο PC ξεκινά συνήθως από τα εκκριτικά κύτταρα. Αναπτύσσεται από μία υψηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία του αδενά του προστάτη, εξελίσσεται σε ένα τοπικό καρκίνωμα και έπειτα σε μεταστατικές μορφές καρκίνου (στις επιθετικές περιπτώσεις). Η μετάσταση εντοπίζεται κυρίως στα οστά. Αρχικά, ο χειρουργικός

ευνουχισμός και η ένεση οιστρογόνων είχε ως αποτέλεσμα σημαντική υποχώρηση του όγκου. Αυτά οδήγησαν στη θεραπεία στέρησης ανδρογόνων ADT-androgen deprivation therapy ως τυπική θεραπεία σε ασθενείς με μεταστατικό PC (Mei et al., 2019). Ο κύριος παράγοντας αντιανδρογόνων που χρησιμοποιείται είναι το Bicalutamide, γνωστό και ως Casodex και εμποδίζει ορισμένες δράσεις των ανδρογόνων, καθώς πρόκειται για έναν ανταγωνιστή του AR υποδοχέα (Penning, 2015). Η ανταπόκριση των ασθενών είναι σημαντική σε ποσοστά πάνω από 80%, ωστόσο υπάρχουν περιπτώσεις ανθεκτικές στον ευνουχισμό CRPCs-castration resistant PCs. Θεραπείες υπάρχουν, όμως το μόνο που μπορούν να κάνουν είναι να παρατείνουν τη συνολική επιβίωση του ασθενούς για κάποιους μήνες (Mei et al., 2019). Το Docetaxel είναι ένας χημειοθεραπευτικός παράγοντας που χρησιμοποιείται στη θεραπεία του PC, συχνά και σε συνδυασμό με το ADT, όμως η μέση επιβίωση των ασθενών με CRPC επεκτείνεται περίπου 3 μήνες, κυρίως λόγω της ανάπτυξης αντοχής. Τα τελευταία χρόνια νέα φάρμακα και συνδυασμοί φαρμάκων έχουν βελτιώσει τα αποτελέσματα στον PC. Το Abiraterone είναι ένα φάρμακο δεύτερης-γραμμής θεραπείας και λειτουργεί ως αναστολέας, εμποδίζοντας την παραγωγή ανδρογόνων (τεστοστερόνης) και την ανάπτυξη άρα των κυττάρων στον PC. Χρησιμοποιείται συνήθως σε ασθενείς με προχωρημένο στάδιο CRPC, που έχουν αποτύχει άλλες θεραπείες, όπως αυτή με Docetaxel. Η χορήγηση Abiraterone κατά τη θεραπεία ADT μπορεί να πετύχει πλήρως το μπλοκάρισμα των ανδρογόνων, με σημαντικό όφελος στις περιπτώσεις τοπικού προχωρημένου-σταδίου PC. Ένα φάρμακο 2^{ης} γενιάς που χρησιμοποιείται ευρέως είναι και το Enzalutamide, ισχυρός ανταγωνιστής του AR, που μπορεί να περιορίσει την ανάπτυξη των όγκων. Χορηγείται συνήθως σε περιπτώσεις mCRPC (μεταστατικού CRPC) αλλά και σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα σε υψηλού κινδύνου μη-μεταστατικές μορφές CRPC, πριν ή μετά τη θεραπεία με Docetaxel (Nevodomskeya et al., 2018). Abiraterone και Enzalutamide έδειξαν όφελος μόνο 4-5 μήνες στους ασθενείς με αντοχή στις θεραπείες σε ταξάνες (όπως το Docetaxel) κατά τον mCRPC. Η αντοχή στη θεραπεία ADT αλλά και στις χημειοθεραπείες είναι οι κύριες αιτίες μη-αποτελεσματικής καταπολέμησης και θνησιμότητας του PC. Η αντίσταση προκύπτει από την επιβίωση ενός υποπληθυσμού καρκινικών κυττάρων που μπορούν και οδηγούν σε υποτροπή και εξέλιξη της νόσου. Τέτοιοι πληθυσμοί καρκινικών βλαστοκυττάρων έχουν εντοπισθεί και στον PC, γνωστά ως PCSCs (prostate cancer stem cells). Τέτοιοι πληθυσμοί είναι καλά οργανωμένοι και εμφανίζουν τα φαινοτυπικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των φυσιολογικών βλαστικών κυττάρων του προστάτη. PCSCs λόγω των ιδιοτήτων τους εμπλέκονται στην έναρξη των όγκων, τη μετάσταση και την αντοχή στα φάρμακα. Η αντοχή στη θεραπεία στέρησης ανδρογόνων και η πρόκληση

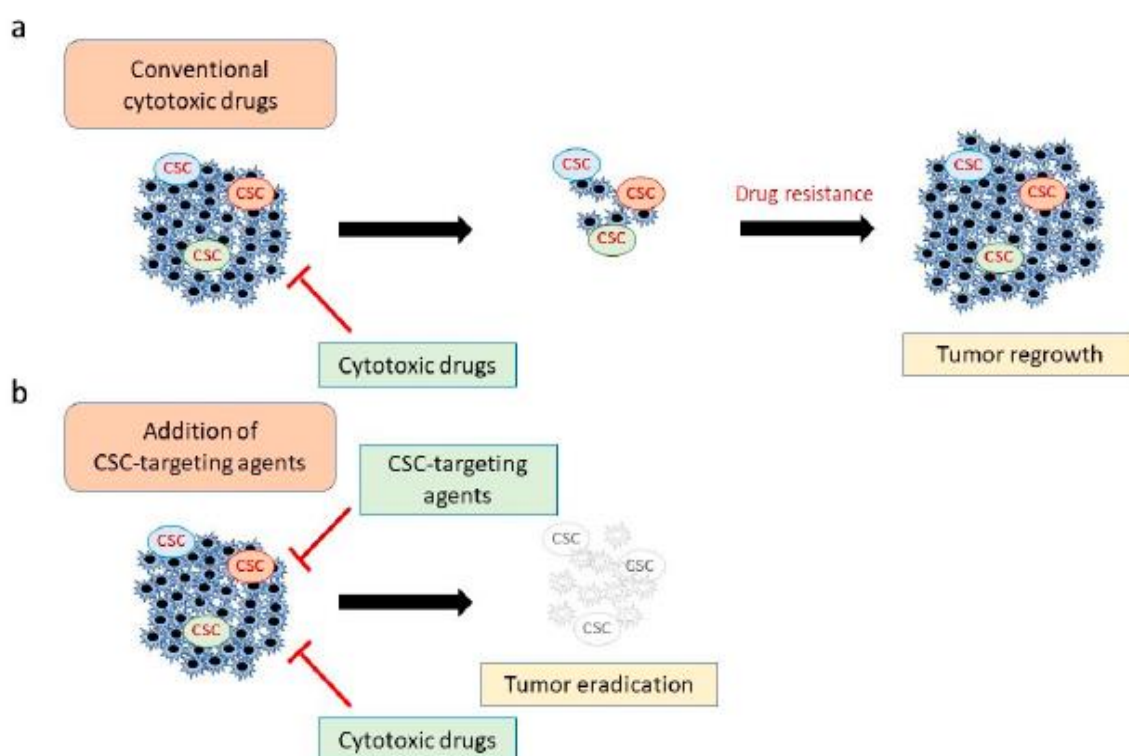
CRPC οφείλεται κυρίως στην ύπαρξη των PCSCs. Οι πληθυσμοί αυτοί διατηρούν τις ικανότητες της αυτό-ανανέωσης και του πολλαπλασιασμού (ανάπτυξη όγκου) ενώ ταυτόχρονα εκφράζουν σε πολύ χαμηλά επίπεδα ή και καθόλου υποδοχείς ανδρογόνων. Αυτά τα χαρακτηριστικά μαζί, τα βοηθούν ώστε να μη γίνουν στόχοι των φαρμάκων-αντιανδρογόνων. Η ταυτοποίησή τους μπορεί να γίνει με τη χρήση διαφόρων δεικτών επιφανείας. PCSCs εμφανίζουν ένα φαινότυπο CD44⁺ α2β1^{high} CD133⁺ και χαρακτηρίζονται από την ογκογονικότητά τους και την ικανότητα εισβολής. Η έκφραση ανθρώπινων δεικτών πολυδυναμίας βλαστοκυττάρων σε πληθυσμούς PCSCs TRA-60-1⁺ CD151⁺CD166⁺ συνδέεται με τα υψηλά ποσοστά αυτό-ανανέωσης, διαφοροποίησης και σταδιακής ανάπτυξης του PC. Επιπλέον ALDH⁺ πληθυσμοί σχετίζονται με τη μετανάστευση, την ογκογένεση και το σχηματισμό μεταστάσεων. Τέλος, τα PCSCs φαίνεται να εκφράζουν και τους παράγοντες πολυδυναμίας Oct4, Sox2 και Nanog στις περισσότερες περιπτώσεις PC. Εξαιτίας όλων αυτών, οι θεραπευτικές προσεγγίσεις παραμένουν ανεπαρκείς για αρκετούς ασθενείς με επιθετικές μορφές PC. Η ανάπτυξη ειδικών αντικαρκινικών φαρμάκων ενάντια στα PCSCs θα αποτελούσε μία νέα λύση για τη θεραπεία της νόσου. Ακόμη, η στόχευση των απορρυθμισμένων μονοματιών, όπως του Hedgehog, Wnt, Notch και NF-κB, που εμπλέκονται στη σηματοδότηση των PCSCs, θα ήταν μία καλή θεραπευτική προσέγγιση (εικόνα 31) (Leão et al., 2017).



Εικόνα 31. Καρκινικά κύτταρα προστάτη PC (PCa cells) – Καρκινικά βλαστοκύτταρα προστάτη PCSCs (PCa stem cells) και συσχετιζόμενα μονοπάτια σηματοδότησης (Leão et al., 2017)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΑ ΣΧΕΔΙΑ

Ο καρκίνος μέχρι και σήμερα συνεχίζει να παραμένει μία από τις κυριότερες αιτίες θανάτου παγκοσμίως και οι προσπάθειες για την καταπολέμησή του εξελίσσονται συνεχώς. Η κακοήθεια των όγκων συνδέεται άμεσα με τη μεγάλη ετερογένειά του (εντοπισμός διάφορων καρκινικών τύπων κυττάρων). Η ύπαρξη ενός υποπληθυσμού καρκινικών κυττάρων που αναφέρονται ως καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs) είναι κυρίως υπεύθυνα για την κακή εξέλιξη της νόσου. Ο μικρός αυτός πληθυσμός των κυττάρων έχει την ικανότητα να υποστηρίζει την ογκογένεση, να οδηγεί στην ετερογένεια και την ανάπτυξη των όγκων, να βοηθά στις μεταστάσεις και είναι συνήθως ο βασικός λόγος για την αντίσταση που αναπτύσσεται στις διάφορες αντικαρκινικές θεραπείες (Sun et al., 2019). Πρόσφατα έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για το συνδυασμό των συμβατικών φαρμάκων με φάρμακα που στοχεύουν συγκεκριμένα τα CSCs (CSC-targeting agents). Παρόλα αυτά η μεγάλη ετερογένεια και ο υψηλός βαθμός πλαστικότητας όχι μόνο των CSCs αλλά και άλλων μη-βλαστικών καρκινικών κυττάρων, δυσκολεύουν τον εντοπισμό και το σχηματισμό των κατάλληλων θεραπειών για τη στόχευση των κυττάρων στους διάφορους τύπους καρκίνου (εικόνα 32).



Εικόνα 32. Συνδυασμός συμβατικών κυτταροτοξικών φαρμάκων με παράγοντες στόχευσης των CSCs a. Οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες μπορούν και στοχεύουν τα περισσότερα καρκινικά κύτταρα, ωστόσο CSCs μπορούν να τους αποφύγουν και να οδηγήσουν σε επανεμφάνιση του όγκου b. Η συνδυαστική θεραπεία με επιπλέον

παράγοντες στόχευσης των CSCs (CSC-targeting agents) μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική, καθώς εξαλείφει τόσο τα CSCs (υπεύθυνα για την υποτροπή της νόσου) όσο και τα υπόλοιπα καρκινικά κύτταρα (Shibata & Hoque, 2019).

Η πλαστικότητα είναι αυτή που μπορεί να επιτρέψει μη-CSCs να μετατραπούν σε CSCs, τα οποία είναι με τη σειρά τους ανθεκτικά ακόμα και σε συγκεκριμένες θεραπείες στόχευσης των CSCs. Επίσης, πολλοί δείκτες επιφανείας εκφράζονται όχι μόνο στα καρκινικά βλαστοκύτταρα αλλά και σε φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα, με αποτέλεσμα να παρουσιάζονται προβλήματα και διαταραχές στην ομοιόσταση και την ανανέωση των ιστών. Σημαντικό θα ήταν να βρεθούν ειδικά-μόρια και σηματοδοτικοί οδοί για τον κάθε τύπο καρκίνου, που απουσιάζουν (ή εκφράζονται σε χαμηλά επίπεδα) στα φυσιολογικά βλαστοκύτταρα, ώστε η θεραπεία στόχευσης των CSCs να είναι αποτελεσματικότερη (Shibata & Hoque, 2019).

Η στόχευση τώρα των CSCs, θα μπορούσε να γίνει με πολλούς τρόπους. Όπως είναι γνωστό, τα CSCs χαρακτηρίζονται από την υπερέκφραση ABC-μεταφορέων που μεταφέρουν τα φάρμακα έξω από τα κύτταρα. Η χορήγηση ενός κυτταροτοξικού φαρμάκου μαζί με έναν αναστολέα των ABC-μεταφορέων θα μπορούσε να ευαισθητοποιήσει τα ανθεκτικά αυτά καρκινικά βλαστοκύτταρα απέναντι στις χημειοθεραπείες, ωστόσο ο συνδυασμός αυτός δεν είναι ικανός για τη θανάτωση των CSCs. Ένας αναστολέας ABC-μεταφορέα θα μπορούσε να είναι πιο αποτελεσματικός εάν χορηγούνταν μαζί κάποιοι αντι-καρκινικοί παράγοντες που στόχευε συγκεκριμένα καρκινικά βλαστικά κύτταρα (Dean et al., 2005). Επιπλέον, η συμβατική θεραπεία σε συνδυασμό με τη στόχευση ορισμένων μονοπατιών των CSCs θα ήταν μια καλή λύση για την εξάλειψη όχι μόνο του όγκου αλλά και του πληθυσμού των CSCs. Μπλοκάρισμα απαραίτητων σηματοδοτικών οδών για τα CSCs όπως Notch, Wnt και Hedgehog (HH) μπορεί να εμποδίσει την αυτό-ανανέωση τους. Πιο πρόσφατη πρόκληση στη θεραπεία της νόσου αποτελεί και η στόχευση των CSCs μέσω μονοπατιών της EMT (επιθηλιακή προς μεσεγγυματική μετάπτωση) για την πρόληψη της επιθετικότητας του καρκίνου και της ανάπτυξης αντοχής απέναντι στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Άλλα στοιχεία, όπως τα miRNA και ομάδες από μακριές μη-κωδικοποιούσες αλληλουχίες RNA (lncRNA-long noncoding RNA), που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αυτό-ανανέωση, στη διαφοροποίηση των CSCs, στην έναρξη του όγκου, τη χημειοαντίσταση και την υποτροπή της νόσου, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν (μόνοι τους ή σε συνδυασμό με άλλα αντικαρκινικά φάρμακα) ως πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες κατά των CSCs.

Πέρα από αυτά, η ανοσοθεραπεία πρόκειται να είναι μία από τις βασικότερες ανακαλύψεις για τη στόχευση συγκεκριμένων CSCs στους ασθενείς με καρκίνο. Η ανοσοθεραπεία μπορεί χρησιμοποιώντας διάφορους τύπους κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως κύτταρα-φυσικοί φονιάδες, T-κύτταρα, αντισώματα και T-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα, να αναγνωρίσει και να σκοτώσει τελικά τα CSCs, με αποτέλεσμα τη βελτίωση δράσης της θεραπευτικής αγωγής. Η ταυτοποίηση συγκεκριμένων αντιγόνων, δεικτών επιφανείας και γενετικών αλλαγών στα CSCs είναι απαραίτητα για τον εντοπισμό των κατάλληλων στόχων κατά την ανοσοθεραπεία (Phi et al., 2018). Βασικοί δείκτες αναγνώρισης που έχουν ήδη αναφερθεί, μπορεί να είναι ο ALDH, CD44, CD133, EpCAM. Ακόμη, στρωματικά κύτταρα που υποστηρίζουν το θώκο των CSCs και τα προστατεύουν από την εισροή φαρμάκων μπορούν και βοηθούν ταυτόχρονα στην ανάπτυξη, τη μετανάστευση και τη μετάστασή τους, εκκρίνοντας διάφορους αυξητικούς παράγοντες, κυτοκίνες και χημειοκίνες. Η αλληλεπίδραση τέτοιων κυττάρων με τα CSCs διεγείρει την επιθετικότητα του όγκου. Η στόχευση άρα των στρωματικών κυττάρων, αλλά και άλλων στοιχείων του καρκινικού μικροπεριβάλλοντος, θα αποτελούσε μία εναλλακτική θεραπευτική λύση για την καταπολέμηση των CSCs και του καρκίνου γενικότερα (Sun et al., 2019).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abdullah L.N. and Chow E.K.H. (2013). Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells. *Clinical and Translational Medicine*. 2:3.

Adler B.J., Kaushansky K., Rubin C.T. (2014). Obesity-driven disruption of haematopoiesis and the bone marrow niche. *Nature Reviews Endocrinology*. 10:737-748.

Alisi A., Cho W.C., Locatelli F., Fruci D. (2013). Multidrug Resistance and Cancer Stem Cells in Neuroblastoma and Hepatoblastoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 14:24706-24725.

Amaya Padilla M.A., Binju M., Wan G., Rahmanto Y.S., Kaur P., Yu Y. (2019). Relationship between ovarian cancer stem cells, epithelial mesenchymal transition and tumour recurrence. *Cancer Drug Resistance*. 2:1127-1135.

Anderson D.J., Gage F.H., Weissman I.L. (2001). Can stem cells cross lineage boundaries?. *Nature Medicine*. 7:393-395.

Aponte P.M. and Caicedo A. (2017). Stemness in Cancer: Stem Cells, Cancer Stem Cells, and Their Microenvironment. *Stem Cells International*. 2017:1-17.

Bentzinger C.F., Wang Y.X., Maltzahn J., Rudnicki M.A. (2013). The emerging biology of muscle stem cells: Implications for cell-based therapies. *Bioessays*. 35(3):231-241.

Bu Y. and Cao D. (2012). The origin of cancer stem cells. *Frontiers in Bioscience*. 4:819-830.

Caglayan S., Ahrens T.D., Cieślak-Pobuda A., Staerk J. (2019). Modern Ways of Obtaining Stem Cells. *Stem Cells and Biomaterials for Regenerative Medicine*. 3:17-36.

Castelli G., Pelosi E., Testa U. (2017). Liver Cancer: Molecular Characterization, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells. *Cancers*. 9(9):127.

Chandler J.M. and Lagasse E. (2010). Cancerous stem cells: deviant stem cells with cancer-causing misbehavior. *Stem Cell Research & Therapy*. 1:13.

Choi I.S., Choi M., Lee J.H., Kim J.H., Suh K.J., Lee J.Y., Kang B., Kim Ji-Won., Kim S.H., Kim Jin Won., Lee J.O., Kim Y.J., Bang S.M., Lee J.S. Lee K.W. (2018). Treatment patterns and outcomes in patients with metastatic gastric cancer receiving thirdline chemotherapy: A population-based outcomes study. *PLoS One*. 13(6):e0198544.

Chrysanthakopoulos N.A. (2016). Cell Signaling Pathways in Cancer Pathogenesis. *Achaiki Iatriki*. 35:52-69.

D'Amato V., Raimondo L., Formisano L., Giuliano M., Placido S.D., Rosa R., Bianco R. (2015). Mechanisms of lapatinib resistance in HER2-driven breast cancer. *Cancer Treatment Reviews*. 41(10):877-883.

Dean M., Fojo T., Bates S. (2005). Tumour stem cells and drug resistance. *Nature Reviews Cancer*. 5(4):275-284.

- Dhillon S. (2018). Regorafenib: A Review in Metastatic Colorectal Cancer. *Drugs*. 78(5):1-12.
- Di Carlo C., Brandi J., Cecconi D. (2018). Pancreatic cancer stem cells: Perspectives on potential therapeutic approaches of pancreatic ductal adenocarcinoma. *World Journal of Stem Cells*. 10(11):172-182.
- Evangelista M., Tian H., Sauvage F.J. (2006). The Hedgehog Signaling Pathway in Cancer. *Molecular Pathways*. 12(20):5924-5928.
- Ferraro F., Celso C.L., Scadden D. (2010). Adult stem cells and their niches. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 695:155-168.
- Fu L., Bu L., Yasuda T., Koiwa M., Akiyama T., Uchihara T., Baba H., Ishimoto T. (2020). Gastric Cancer Stem Cells: Current Insights into the Immune Microenvironment and Therapeutic Targets. *Biomedicines*. 8(1):7.
- Fu Y., Du P., Zhao J., Hu C., Qin Y., Huang G. (2018). Gastric Cancer Stem Cells: Mechanisms and Therapeutic Approaches. *Yonsei Medical Journal*. 59(10):1150-1158.
- Gattazzo F., Urciuolo A., Bonaldo P. (2014). Extracellular matrix: A dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1840(8):2506-2519.
- Gurusamy N., Alsayari A., Rajasingh S., Rajasingh J. (2018). Adult Stem Cells for Regenerative Therapy. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 160:1-22.
- Gzil A., Zarębska I., Bursiewicz W., Antosik P., Grzanka D., Szyłberg L. (2019). Markers of pancreatic cancer stem cells and their clinical and therapeutic implications. *Molecular Biology Reports*. 46:6629-6645.
- Hanahan D. and Weinberg R.A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 144(5):646-674.
- Harris K.S. and Kerr B.A. (2017). Prostate Cancer Stem Cell Markers Drive Progression, Therapeutic Resistance, and Bone Metastasis. *Stem Cells International*. 2017(2):1-9.
- Hatzl S., Perfler B., Wurm S., Uhl B., Quehenberger F., Ebner S., Troppmair J., Reinisch A., Wölfler A., Sill H., Zebisch A. (2020). Increased Expression of Micro-RNA-23a Mediates Chemoresistance to Cytarabine in Acute Myeloid Leukemia. *Cancers*. 12(2):496.
- Heinrich A.C., Patel S.A., Reddy B.Y., Milton R., Rameshwar P. (2009). Multi- and Inter-Disciplinary Science in Personalized Delivery of Stem Cells for Tissue Repair. *Current Stem Cell Research & Therapy*. 4(1):16-22.
- Hermann P.C. and Sainz Jr B. (2018). Pancreatic cancer stem cells: A state or an entity?. *Seminars in Cancer Biology*. 53:223-231.
- Housman G., Byler S., Heerboth S., Lapinska K., Longacre M., Snyder N., Sarkar S. (2014). Drug Resistance in Cancer: An Overview. *Cancers*. 6(3):1769-1792.

- Huang H., Song J., Liu Z., Pan L., Xu G. (2018). Autophagy activation promotes bevacizumab resistance in glioblastoma by suppressing Akt/mTOR signaling pathway. *Oncology Letters*. 15:1487-1494.
- Huang R., Wang G., Song Y., Tang Q., You Q., Liu Z., Chen Y., Zhang Q., Li J., Muhammand S., Wang X. (2015). Colorectal cancer stem cell and chemoresistant colorectal cancer cell phenotypes and increased sensitivity to Notch pathway inhibitor. *Molecular Medicine Reports*. 12(2):2417-2424.
- Ilagan M.X. and Kopan R. (2007). SnapShot: notch signaling pathway. *Cell*. 128(6):1246.
- Ishiwata T., Matsuda Y., Yoshimura H., Sasaki N., Ishiwata S., Ishikawa N., Takubo K., Arai T., Aida J. (2018). Pancreatic cancer stem cells: features and detection methods. *Pathology & Oncology Research*. 24(4):797-805.
- Jeng L.B., Velmurugan B.K., Chen M.C., Hsu H.H., Ho T.J., Day C.H., Lin Y.M., Padma V.V., Tu C.C., Huang C.Y. (2018). Fisetin mediated apoptotic cell death in parental and Oxaliplatin/irinotecan resistant colorectal cancer cells in vitro and in vivo. *Journal of Cellular Physiology*. 233(9):7134-7142.
- Kalluri R. and Weinberg R.A. (2009). The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of Clinical Investigation*. 119(6):1420-1428.
- Keisuke I. and Toshio S. (2014). Metabolic requirements for the maintenance of self-renewing stem cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 15(4): 243–256.
- Keyvani V., Farshchian M., Esmaeili S.A., Yari H., Moghbeli M., Nezhad S.R.K., Abbaszadegan M.R. (2019). Ovarian cancer stem cells and targeted therapy. *Journal of Ovarian Research*. 12(120):1-11.
- Khan A.Q., Ahmed E.I., Elareer N.R., Junejo K., Steinhoff M., Uddin S. (2019). Role of miRNA-Regulated Cancer Stem Cells in the Pathogenesis of Human Malignancies. *Cells*. 8(8):840.
- Kim M. and Jho E. (2014). Cross-talk between Wnt/ β -catenin and Hippo signaling pathways: a brief review. *BMB reports*. 47(10):540-545.
- Lapidot T., Sirard C., Vormoor J., Murdoch B., Hoang T., Caceres-Cortes J., Minden M., Paterson B., Caligiuri M.A., Dick J.E. (1994). A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*. 367:645–648.
- Leão R., Domingos C., Figueiredo A., Hamilton R., Tabori U., Castelo-Branco P. (2017). Cancer Stem Cells in Prostate Cancer: Implications for Targeted Therapy. *Urologia Internationalis*. 99(2):125-136.
- Lewin B. (Ελληνική Έκδοση). (2005). Genes VIII. Τόμοι I και II. *Ακαδημαϊκές Εκδόσεις I. Μπάσδρα & ΣΙΑ Αλεξανδρούπολη*.
- Li N. and Zhu Y. (2019). Targeting liver cancer stem cells for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 12:1-22.

- MacDonagh L., Gray S.G., Breen E., Cuffe S., Finn S.P., O'Byrne K.J., Barr M.P. Lung cancer stem cells: The root of resistance. *Cancer Letters*. 372:147-156.
- Mansoori B., Mohammadi A., Davudian S., Shirjang S., Baradaran B. (2017). The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 7(3):339-348.
- Mei W., Lin X., Kapoor A., Gu Y., Zhao K., Tang D. (2019). The Contributions of Prostate Cancer Stem Cells in Prostate Cancer Initiation and Metastasis. *Cancers*. 11(4):434.
- Mo J.S., Park H.W., Guan K.L. (2014). The Hippo signaling pathway in stem cell biology and cancer. *EMBO Reports*. 15(6):642-656.
- Morrison S.J. and Spradling A.C. (2008). Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell*. 132(4):598-611.
- Mumm J.S. and Kopan R. (2000). Notch Signaling: From the Outside In. *Developmental Biology*. 228:151-165.
- Murphy T. and Lee K.W.L. (2017). Cytarabine and daunorubicin for the treatment of acute myeloid leukemia. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 18(16):1765-1780.
- Najafi M., Mortezaee K., Majidpoor J. (2019). Cancer stem cell (CSC) resistance drivers. *Life Sciences*. 234:116781.
- Nevedomskaya E., Baumgart S.J., Haendler B. (2018). Recent Advances in Prostate Cancer Treatment and Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(5):1359.
- Penning T.M. (2015). Mechanisms of drug resistance that target the androgen axis in 2 castration resistant prostate cancer (CRPC). *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 153:105-113.
- Pennings S., Liu K.J., Qian H. (2018). The Stem Cell Niche: Interactions between Stem Cells and Their Environment. *Stem Cells International*. 2018:1-3.
- Phi L.T.H., Sari I.N., Yang Y.G., Lee S.H., Jun N., Kim K.S., Lee Y.K., Kwon H.Y. (2018). Cancer Stem Cells (CSCs) in Drug Resistance and their Therapeutic Implications in Cancer Treatment. *Stem Cells International*. 2018(18):1-16.
- Pieterse Z., Amaya-Padilla M.A., Singomat T., Binju M., Madjid B.D., Yu Y., Kaur P. (2018). Ovarian cancer stem cells and their role in drug resistance. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 106:117-126.
- Piva M., Domenici G., Iriando O., Rabano M., Simoes B.M., Comaills V., Barredo I., Lopez-Ruiz J.A., Zabalza I., Kypta R., Vivanco M. (2014). Sox2 promotes tamoxifen resistance in breast cancer cells. *EMBO Molecular Medicine*. 6(1):66-79.

- Plaks V., Kong N., Werb Z. (2015). The Cancer Stem Cell Niche: How Essential is the Niche in Regulating Stemness of Tumor Cells?. *Cell Stem Cell*. 16(3):225-238.
- Pokhriyal R., Hariprasad R., Kumar L., Hariprasad G. (2019). Chemotherapy Resistance in Advanced Ovarian Cancer Patients. *Biomarkers in Cancer*. 11:1-19.
- Randall T.Moon., Aimee D. Kohn., Giancarlo V.De Ferrari., Ajamete K. (2004). WNT and β -catenin signalling: diseases and therapies. *Nature Reviews Genetics*. 5:691-701.
- Rebucci M. and Michiels C. (2013). Molecular aspects of cancer cell resistance to chemotherapy. *Biochemical Pharmacology*. 85:1219-1226.
- Saeg F. and Anbalagan M. (2018). Breast cancer stem cells and the challenges of eradication: a review of novel therapies. *Stem Cell Investigation*. 5:39.
- Sak K. (2012). Chemotherapy and Dietary Phytochemical Agents. *Chemotherapy Research and Practice*. 2012:1-11.
- Saung M.T. and Zheng L. (2017). Current Standards of Chemotherapy for Pancreatic Cancer. *Clinical Therapeutics*. 39(11):2125-2134.
- Schmidt C. (2008). Lapatinib Study Supports Cancer Stem Cell Hypothesis, Encourages Industry Research. *Journal of the National Cancer Institute*. 100(10):694-695.
- Seymour T., Twigger A.J., Kakulas F. (2015). Pluripotency Genes and Their Functions in the Normal and Aberrant Breast and Brain. *International Journal of Molecular Sciences*. 16:27288–27301.
- Shaffer B.C., Gillet J.P., Patel C., Baer M.R., Bates S.E., Gottesman M.M. (2012). Drug resistance: Still a daunting challenge to the successful treatment of AML. *Drug Resistance Updates*. 15:62-69.
- Shi X., Zhang Y., Zheng J., Pan J. (2012). Reactive Oxygen Species in Cancer Stem Cells. *Antioxidants & Redox Signaling*. 16(11):1215-1228.
- Shibata M. and Hoque M.O. (2019). Targeting Cancer Stem Cells: A Strategy for Effective Eradication of Cancer. *Cancers*. 11(5):732.
- Slack J.M.W. (Ελληνική Έκδοση). (2007). Βασικές Αρχές Βιολογίας Ανάπτυξης. Δεύτερη Έκδοση. *Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Ι. Μπάσδρα & ΣΙΑ Αλεξανδρούπολη*.
- Suda K., Rivard C.J., Mitsudomi T., Hirsch F.R. (2017). Overcoming resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in lung cancer, focusing on non-T790M mechanisms. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 17(9):779-786.
- Sun H.R., Wang S., Yan S.C., Zhang Y., Nelson P.J., Jia H.L., Qin L.X., Dong Q.Z. (2019). Therapeutic Strategies Targeting Cancer Stem Cells and Their Microenvironment. *Frontiers in Oncology*. 9:1104.
- Sung W.J., Kim H., Park K.K. (2016). The biological role of epithelial-mesenchymal transition in lung cancer. *Oncology Reports*. 36:1199-1206.

- Suresh R., Ali S., Ahmad A., Philip P.A., Sarkar F.H. (2016). The Role of Cancer Stem Cells in Recurrent and Drug-Resistant Lung Cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 890:57-74.
- Suzuki S., Yamamoto M., Sanomachi T., Togashi K., Sugai A., Seino S., Yoshioka T., Kitanaka C., Okada M. (2019). Brexpiprazole, a Serotonin-Dopamine Activity Modulator, Can Sensitize Glioma Stem Cells to Osimertinib, a Third-Generation EGFR-TKI, via Survivin Reduction. *Cancers*. 11(7):947.
- Takashima A., Yamada Y., Nakajima T.E., Kato K., Hamaguchi T., Shimada Y. (2009). Standard First-Line Chemotherapy for Metastatic Gastric Cancer in Japan Has Met the Global Standard: Evidence From Recent Phase III Trials. *Gastrointestinal cancer research*. 3(6):239-244.
- Tang Z.H. and Lu J.J. (2018). Osimertinib resistance in non-small cell lung cancer: Mechanisms and therapeutic strategies. *Cancer Letters*. 420:242-246.
- Uchihara T., Ishimoto T., Yonemura A., Baba H. (2018). Therapeutic targets against gastric cancer stem cells interacting with tumor microenvironment. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment*. 4:9.
- Wang N., Wang S., Li M.Y., Hu B., Liu L., Yang Sheng-li., Yang Shucui., Gong Z., Lai P.B.S., Chen G.G. (2018). Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma: an overview and promising therapeutic strategies. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 10:1-25.
- Watson P.A., Arora V.K., Sawyers C.L. (2015). Emerging mechanisms of resistance to androgen receptor inhibitors in prostate cancer. *Nature Reviews Cancer*. 15:701-711.
- Wei C., Wang Y., Li X. (2018). The role of Hippo signal pathway in breast cancer metastasis. *OncoTargets and Therapy*. 11:2185-2193.
- Yang H.Z., Ma Y., Zhou Y., Xu L.M., Chen X.J., Ding W.B., Zou H.B. (2015). Autophagy contributes to the enrichment and survival of colorectal cancer stem cells under oxaliplatin treatment. *Cancer Letters*. 361:128-136.
- Yao S., Liu X., Wang X., Merolli A., Chen X., Cui F. (2013). Directing neural stem cell fate with biomaterial parameters for injured brain regeneration. *Progress in Natural Science: Materials International*. 23(2):103-112.
- Yashiro M. (2014). Gastric Cancer Stem Cells and Resistance to Cancer Therapy. *Chemotherapy*. 3(3):1000135.
- Zakaria N., Satar N.A., Halim N.H.A., Ngalim S.H., Yusoff N.M., Lin J., Yahaya B.H. (2017). Targeting Lung Cancer Stem Cells: Research and Clinical Impacts. *Frontiers in Oncology*. 7:80.
- Zakrzewski W., Dobrzyński M., Szymonowicz M., Rybak Z. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy*. 10:68.

Zhang D., Tang D.G., Rycaj K. (2018). Cancer stem cells: Regulation programs, immunological properties and immunotherapy. *Seminars in Cancer Biology*. 52:94-106.

Zhang J., Gu Y., Chen B. (2019). Mechanisms of drug resistance in acute myeloid leukemia. *Oncotargets and Therapy*. 12:1937-1945.

Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., Ugarte D.A., Huang J.I., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., Hedrick M.H. (2002). Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells. *Molecular Biology of the Cell*. 13:4279-4295.

ACS, 2019- (American Cancer Society)-(<https://www.cancer.org/>)