



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:

ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ

«ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ
ΧΙΜΑΙΡΙΚΟΥΣ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟΥΣ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ»

Σοφία Γρίβα

Επιβλέπουσα: Ελευθερία Χατζημιχαήλ, Αν. Καθηγήτρια Αιματολογίας

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, 2024

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

Σοφία Γρίβα

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών: Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες

Ημερομηνία Παρουσίασης Διπλωματικής Εργασίας: 29/02/2024

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Ελευθερία Χατζημιχαήλ

Καθηγητές εξεταστικής επιτροπής: Ελευθερία Χατζημιχαήλ, Πατρώνα Βεζυράκη,
Παναγιώτης Κούκλης

Περιεχόμενα

1. ΠΡΟΛΟΓΟΣ	8
2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
3. ABSTRACT	10
4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
4.1 ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	11
4.1.1 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ	11
4.2 ΕΠΙΚΤΗΤΗ Η΄ ΕΙΔΙΚΗ Η΄ ΠΡΟΣΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗ ΑΝΟΣΙΑ.....	13
4.2.1 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ.....	14
4.2.2 ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ.....	14
4.2.3 ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΤΟΠΟΙ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ.....	16
4.2.4 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ	17
4.2.5 ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	18
4.2.6 Β ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ	19
4.2.7 ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΟΥ Β ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ.....	21
4.2.8 ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	23
4.2.9 ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ Τ ΚΥΤΤΑΡΟΥ (TCR).....	24
4.2.10 ΣΥΜΠΛΕΓΜΑ TCR-CD3.....	25
4.3 ΘΕΡΑΠΕΙΑ Τ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR)	26
4.3.1 ΓΕΝΙΚΑ	26
4.3.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR)	27
4.3.3 CAR-T ΚΥΤΤΑΡΑ 1 ^{ης} , 2 ^{ης} , 3 ^{ης} ΚΑΙ 4 ^{ης} ΓΕΝΙΑΣ.....	29
4.3.4 ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ CAR-T ΚΥΤΤΑΡΩΝ	30
4.3.5 ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΤΗΣ CAR-T ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ	32
5. ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ	35
5.1 ΓΕΝΙΚΑ	35

5.2	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ.....	36
5.3	ΜΟΡΙΑΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ.....	37
5.4	ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗ	38
5.5	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ.....	39
5.6	ΔΙΑΓΝΩΣΗ	40
5.7	ΠΡΟΓΝΩΣΗ.....	42
5.8	ΘΕΡΑΠΕΙΑ	42
5.8.1	ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	42
5.8.2	ΘΕΡΑΠΕΙΑ Τ-ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR) 45	
5.8.3	ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ CAR Τ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΤΟ ΠΜ	46
5.8.4	ΑΛΛΟΓΕΝΗ CARs	48
5.8.5	TCR-ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ Τ ΚΥΤΤΑΡΑ	49
5.8.6	NK ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ NK CARs.....	50
5.8.7	ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ.....	51
5.8.8	ADCs	51
6.	ΔΙΑΧΥΤΟ ΛΕΜΦΩΜΑ ΑΠΟ ΜΕΓΑΛΑ Β ΚΥΤΤΑΡΑ (DLBCL)	52
6.1	ΓΕΝΙΚΑ	52
6.2	ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	53
6.3	ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	54
6.4	ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ DLBCL.....	55
6.5	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ.....	55
6.6	ΔΙΑΓΝΩΣΗ	56
6.7	ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ DLBCL	56
6.8	ΠΡΟΓΝΩΣΗ.....	58
6.9	ΘΕΡΑΠΕΙΑ	58

6.9.1	ΘΕΡΑΠΕΙΑ 1 ^{ης} ΓΡΑΜΜΗΣ	58
6.9.2	ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ	59
6.9.3	ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ	60
6.9.4	ΑΥΤΟΛΟΓΗ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	61
6.9.5	ΘΕΡΑΠΕΙΑ Τ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR) ΣΤΗΝ DLBCL	61
7.	ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ	66
7.1	ΓΕΝΙΚΑ	66
7.2	ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΟΛΛ	67
7.3	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ.....	68
7.4	ΔΙΑΓΝΩΣΗ	68
7.5	ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΛΛ	68
7.6	ΠΡΟΓΝΩΣΗ.....	69
7.7	ΘΕΡΑΠΕΙΑ	71
7.7.1	ΚΑΘΙΕΡΩΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	71
7.7.2	ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΤΡΟΠΙΑΖΟΥΣΑΣ ΟΛΛ.....	72
7.7.3	ΘΕΡΑΠΕΙΑ Τ-ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR) 73	
7.7.4	ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ CAR-T ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ.....	75
7.7.5	ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ.....	77
8.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	78
9.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	81

1. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες» του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, υπό την επίβλεψη της Ελευθερίας Χατζημιχαήλ, Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Αιματολογίας. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κ. Χατζημιχαήλ για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, για τη βοήθεια και την καθοδήγησή της.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Βεζυράκη, υπεύθυνη του μεταπτυχιακού προγράμματος, που παρείχε πάντα πρόθυμα τη βοήθειά της και να συγχαρώ όλο το Τμήμα της Ιατρικής για το έργο τους και την ποιότητα των σπουδών που παρέχουν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την οικογένεια μου, ιδιαιτέρως τους γονείς μου, και τους φίλους μου, που πίστεψαν σε εμένα, ήταν πάντα εκεί και με βοήθησαν με τον τρόπο τους.

2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η θεραπεία των νεοπλασματικών κακοηθειών με τη χρήση T κυττάρων με χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα (CAR) αποτελεί μία καινοτομία της γενετικής μηχανικής. Πρόκειται για μια εξατομικευμένη θεραπεία, η οποία μέσω της συνεχούς έρευνας και των κλινικών δοκιμών έχει επιφέρει σημαντικά αποτελέσματα. Η έγκριση των προϊόντων ide-cel και cilta-cel για τους ασθενείς υποτροπιάζον/ανθεκτικό Πολλαπλό Μυέλωμα (ΠΜ) και μη απόκριση σε τουλάχιστον τρεις προηγούμενες θεραπευτικές γραμμές είναι σπουδαίας σημασίας. Η ανάπτυξη των axi-cel και liso-cel είναι αξιοσημείωτη διότι τα προϊόντα αυτά χρησιμοποιούνται ως θεραπεία 2^{ης} γραμμής σε ασθενείς με ανθεκτικό Διάχυτο Λέμφωμα από Μεγάλα Β Κύτταρα (DLBCL) στην πρώτη γραμμή ανοσοχημειοθεραπείας ή σε πρώιμη υποτροπή (κατά το πρώτο έτος μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας πρώτης γραμμής). Η έγκριση του tisa-cel άνοιξε νέο δρόμο στην θεραπευτική προσέγγιση των παιδιών και νέων ενήλικων ασθενών με ανθεκτική/υποτροπιάζουσα Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία Β κυττάρων (B-ΟΛΛ), καθώς πάνω από το 80% των ασθενών ανταποκρίθηκε στη θεραπεία. Παρά τα σημαντικότερα οφέλη της CAR-T θεραπείας εξακολουθούν να υπάρχουν προκλήσεις, όπως το κόστος, η διαθεσιμότητα και η ασφάλεια. Ωστόσο, με τη συνεχή έρευνα και τη στήριξη της πολιτείας η CAR-T θεραπεία μπορεί να προσφέρει ακόμη περισσότερα στο μέλλον, ξεπερνώντας τα εμπόδια και ανοίγοντας νέους δρόμους στη θεραπευτική προσέγγιση ασθενειών.

3. ABSTRACT

The treatment of hematologic malignancies using T cells with chimeric antigen receptor (CAR) is a genetic engineering innovation. It is a personalized treatment, which through continuous research and clinical trials has produced significant results. The approval of the ide-cel and cilta-cel products for patients with relapsed/refractory Multiple Myeloma (MM) and failure to respond to at least three prior lines of therapy is significant. The development of axi-cel and liso-cel is noteworthy because these products are used as 2nd-line therapy in patients with refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) on first line immunochemotherapy or in early relapse (within the first year after completing of first-line treatment). The approval of tisa-cel broke new ground in the treatment approach for children and young adult patients with refractory/relapsed B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL), as more than 80% of patients responded to treatment. Despite the significant benefits of CAR-T therapy, challenges such as cost, availability, and safety remain. However, with continuous research and government support CAR-T therapy can offer even more in the future, overcoming obstacles and opening new avenues in the therapeutic approach of diseases.

4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

4.1 ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Ως ανοσία ορίζεται η ικανότητα ενός οργανισμού να παράγει κύτταρα και κυτταρικά προϊόντα που να είναι αποτελεσματικά στην εξουδετέρωση οποιουδήποτε αντιγόνου, δηλαδή οποιουδήποτε συστατικού ή μορίου το οποίο μπορεί να επάγει ανοσολογική απόκριση.

Η ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος έγκειται στην προστασία των πολυκύτταρων οργανισμών από παθογόνους μικροοργανισμούς και διακρίνεται για την υψηλή προσαρμοστικότητά του και για την προστασία του από ποικίλους εισβολείς. Επιτελεί τον σκοπό του μέσω δύο αλληλοσυσχετιζόμενων δραστηριοτήτων: της αναγνώρισης και της απόκρισης. Κατά την αναγνώριση διακρίνονται ξένοι εισβολείς από τα εαυτά συστατικά και έτσι αποφεύγεται η αυτοανοσία και κατά το δεύτερο στάδιο ενεργοποιείται μια δραστική απόκριση κατά την οποία περιορίζεται ή ακόμη και εξαλείφεται ο εισβολέας.

Υπάρχουν δύο συστήματα ανοσίας τα οποία συνεργάζονται για την προστασία του οργανισμού:

Η έμφυτη ανοσία που αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού, η οποία παρεμποδίζει τις περισσότερες μολύνσεις κατά την έναρξή τους ή τις εξαλείφει μέσα στις πρώτες ώρες μέσω του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος.

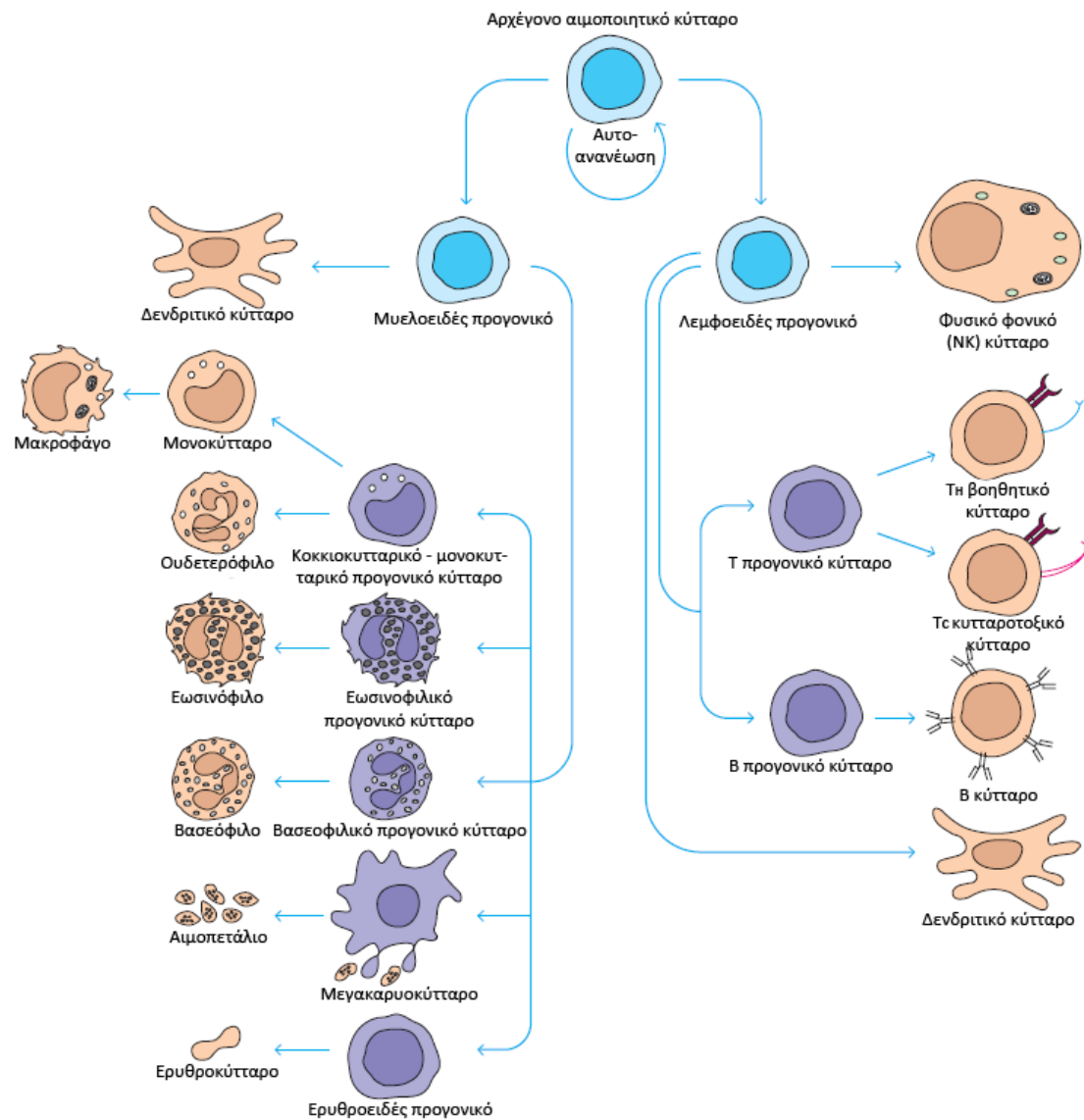
Η προσαρμοστική ανοσία, μια δεύτερη απόλυτα ειδική γραμμή άμυνας, η οποία παρουσιάζει υψηλό βαθμό εξειδίκευσης και «μνήμη»¹.

4.1.1 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Το ανοσοποιητικό σύστημα αποτελείται από πολλά κύτταρα, όργανα και ιστούς τα οποία βρίσκονται σε κάθε σημείο του σώματος. Στα λευκά αιμοσφαίρια τα οποία συνεργάζονται κατά την ανοσολογική απόκριση συμπεριλαμβάνονται τα εξής:

- Λεμφοκύτταρα (κύτταρα φυσικοί φονείς (NK), T και B λεμφοκύτταρα)
- Μονοκύτταρα φαγοκύτταρα (μονοκύτταρα, μακροφάγα)
- Κοκκιοκύτταρα (ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα)

Τα κύτταρα αυτά προέρχονται από έναν τύπο κυττάρου που ονομάζεται αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο. Τα αρχέγονα κύτταρα έχουν την δυνατότητα να διαφοροποιούνται σε άλλους τύπους κυττάρων (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Αιμοποίηση¹

Τα όργανα του ανοσοποιητικού συστήματος διαφοροποιούνται στα:

Πρωτογενή λεμφικά όργανα, στα οποία ανήκουν ο μυελός των οστών και ο θύμος αδένας που παρέχουν το κατάλληλο περιβάλλον για την ανάπτυξη και την ωρίμανση των Β και Τ λεμφοκυττάρων αντίστοιχα.

Δευτερογενή λεμφικά όργανα, δηλαδή οι λεμφαδένες, ο σπλήνας και διάφοροι λεμφικοί ιστοί που σχετίζονται με τους βλεννογόνους, τα οποία παρέχουν στα ώριμα λεμφοκύτταρα τον κατάλληλο χώρο ώστε να αλληλεπιδράσουν με το αντιγόνο¹.

4.2 ΕΠΙΚΤΗΤΗ Ή ΕΙΔΙΚΗ Ή ΠΡΟΣΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗ ΑΝΟΣΙΑ

Η επίκτητη ή προσαρμοζόμενη ανοσία έχει την ικανότητα να αναγνωρίζει και να εξαλείφει ειδικά, συγκεκριμένους ξένους μικροοργανισμούς και μόρια. Χαρακτηρίζεται από τη δράση κυττάρων υψηλής εξειδίκευσης (Τ και Β λεμφοκύτταρα) και έχει τέσσερα βασικά χαρακτηριστικά:

- Την αντιγονική ειδικότητα η οποία επιτρέπει το ανοσοποιητικό σύστημα να διακρίνει λεπτές διαφορές μεταξύ των διάφορων αντιγόνων.
- Την ποικιλομορφία, που επιτυγχάνεται μέσω της παραγωγής τεράστιας ποικιλίας μορίων που αναγνωρίζουν δισεκατομμύρια μοναδικών, διαφορετικών δομών ξένων αντιγόνων.
- Την ανοσολογική μνήμη που βοηθάει το ανοσοποιητικό σύστημα να παρέχει ανοσία μεγάλης διάρκειας, καθώς μια δεύτερη επαφή με το ίδιο αντιγόνο επάγει μια πιο ισχυρή ανοσολογική απόκριση.
- Την αναγνώριση εαυτού/μη εαυτού που είναι ένα βασικό χαρακτηριστικό του ανοσοποιητικού συστήματος που προστατεύει τον οργανισμό, καθώς τα κύτταρα που συμμετέχουν στην ανοσία αναγνωρίζουν μόνο ξένα και όχι εαυτά αντιγόνα.

Οι λειτουργίες αυτές πραγματοποιούνται μέσω δύο τύπων επίκτητης ανοσίας, την χυμική και την κυτταρική ανοσία. Η χυμική ανοσία αφορά τα Β λεμφοκύτταρα και τα αντισώματα (ανοσοσφαιρίνες) που εκκρίνονται από αυτά όταν αναγνωρίσουν ένα αντιγόνο. Η κυτταρική ανοσία μεσολαβείται από τα Τ λεμφοκύτταρα τα οποία αλληλεπιδρούν με άλλα κύτταρα που εμπλέκονται στην ανοσία με αποτέλεσμα την καταστροφή ενός αντιγόνου¹.

4.2.1 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ

Ο σκοπός των υποδοχέων της προσαρμοστικής ανοσίας είναι η ανίχνευση των αντιγόνων και η ενεργοποίηση των κατάλληλων ανοσοαποκρίσεων από τα κύτταρα στα οποία εκφράζονται. Συγκεκριμένα:

- Τα Τ λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν πεπτίδια ή τμήματα πεπτιδίων, μόνο όταν αυτά είναι συνδεδεμένα σε μεμβρανικές πρωτεΐνες, που ονομάζονται μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex, MHC), οι οποίες βρίσκονται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (antigen-presenting cells, APCs).
- Τα Β λεμφοκύτταρα μπορούν να αναγνωρίσουν απευθείας ελεύθερα αντιγόνα όπως πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες και νουκλεϊκά οξέα¹.

4.2.2 ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ

Οι ανοσοσφαιρίνες είναι γλυκοπρωτεΐνες οι οποίες παράγονται από τα Β λεμφοκύτταρα και μπορούν να εκφραστούν ως εκκριτική ανοσοσφαιρίνη (secreteted immunoglobulin, sIg) ή ως μεμβρανοσυνδεόμενη ανοσοσφαιρίνη (membrane-bound immunoglobulin, mIg).

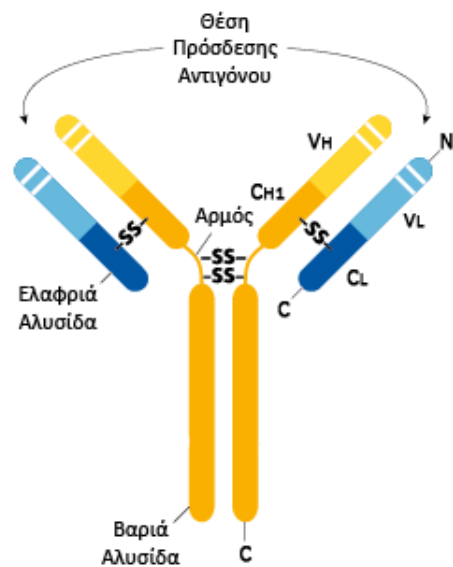
Οι ανοσοσφαιρίνες έχουν μια κοινή δομή τεσσάρων πεπτιδικών αλυσίδων. Η δομή αυτή περιλαμβάνει δύο πανομοιότυπες ελαφριές αλυσίδες (light chains, L) μοριακού βάρους 25 kDA και δύο πανομοιότυπες βαριές αλυσίδες (heavy chains, H) μοριακού βάρους 50-70 kDA. Κάθε ελαφριά αλυσίδα συνδέεται με μια βαριά με έναν δυσουλφιδικό δεσμό και με μη ομοιοπολικούς δεσμούς όπως με δεσμούς αλάτων,

υδρογόνου ή υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Παρόμοιες μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις και δισουλφιδικές γέφυρες συνδέουν τους δυο πανομοιότυπους συνδυασμούς βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας (H-L) μεταξύ τους για να παράγουν τη βασική ανοσοσφαιρινική δομή, το διμερές (H-L)₂ (Εικόνα 2).

Κάθε ανοσοσφαιρίνη περιέχει τμήματα αλληλουχίας υψηλής μεταβλητότητας στην αμινοτελική περιοχή μιας ελαφριάς ή βαριάς αλυσίδας, τις μεταβλητές (V) περιοχές, οι οποίες μπορεί να προκύπτουν από τις διαφορές στις αμινοξικές αλληλουχίες των μεταβλητών περιοχών. Αντίθετα, οι περιοχές των σχετικά σταθερών αλληλουχιών που βρίσκονται μετά τις μεταβλητές, αποτελούν τις σταθερές (C) περιοχές. Οι ελαφριές αλυσίδες περιέχουν μια μεταβλητή (V_L) και μια σταθερή (C_L) επικράτεια ενώ οι βαριές περιέχουν μια μεταβλητή (V_H) και τρεις ή τέσσερις σταθερές (C_{H1}, C_{H2}, C_{H3} και C_{H4}) επικράτειες ανάλογα με την τάξη της ανοσοσφαιρίνης.

Στις επικράτειες τόσο της βαριάς όσο και της ελαφριάς αλυσίδας εδράζονται τρεις υπερμεταβλητές περιοχές, αποτελώντας τις θέσεις δέσμευσης αντιγόνου του ανοσοσφαιρινικού μορίου και ταυτόχρονα τις θέσεις με τη μέγιστη ποικιλότητα αμινοξικών ακολουθιών. Επειδή καθορίζουν την εξειδίκευση της ανοσοσφαιρίνης ονομάζονται και συμπληρωματικές καθοριστικές περιοχές (Complementary Determining Regions, CDRs). Οι υπόλοιπες επικράτειες της ανοσοσφαιρίνης εμφανίζουν πολύ χαμηλότερη ποικιλομορφία και ονομάζονται περιοχές πλαισίου (framework regions, FRs).

Υπάρχουν δύο τύποι ελαφριάς αλυσίδας, οι κ και λ (με ποσοστό στον άνθρωπο 60% και 40% αντίστοιχα), και κάθε ανοσοσφαιρινικό μόριο εκφράζει μόνο έναν από τους δυο τύπους. Οι βαριές αλυσίδες κατηγοριοποιούνται σε πέντε κύριες τάξεις, τις μ, γ, δ, ε και α. Κάθε μία από αυτές τις πέντε βασικές αλληλουχίες βαριάς αλυσίδας ονομάζεται ισότυπος. Οι βαριές αλυσίδες ενός ανοσοσφαιρινικού μορίου είναι αυτές οι οποίες καθορίζουν την τάξη της ανοσοσφαιρίνης η οποία μπορεί να είναι IgM(μ), IgG(γ), IgA(α), IgD(δ) ή IgE(ε). Επειδή υπάρχουν μικρές διαφορές στις ακολουθίες αμινοξέων στις αλυσίδες α και γ, αυτές κατατάσσονται σε υποτάξεις. Στον άνθρωπο υπάρχουν δύο υποτάξεις α αλυσίδων (α₁ και α₂), ενώ στο ποντίκι τέσσερις υποτάξεις γ (γ₁, γ_{2α}, γ_{2β} και γ₃).



ΥΠΟΜΝΗΜΑ

- C_L Σταθερή Περιοχή, Ελαφριά Αλυσίδα
 - C_H Σταθερή Περιοχή, Βαριά Αλυσίδα
 - V_L Μεταβλητή Περιοχή, Ελαφριά Αλυσίδα
 - V_H Μεταβλητή Περιοχή, Βαριά Αλυσίδα
- Υπερμεταβλητή Περιοχή
 - Μεταβλητή Περιοχή
 - Σταθερή Περιοχή

Εικόνα 2: Δομή του ανοσοσφαιρινικού μορίου (Τροποποιημένο από: <http://www.ebioscience.com/knowledge-center/antigen/immunoglobulin/structure.htm>)

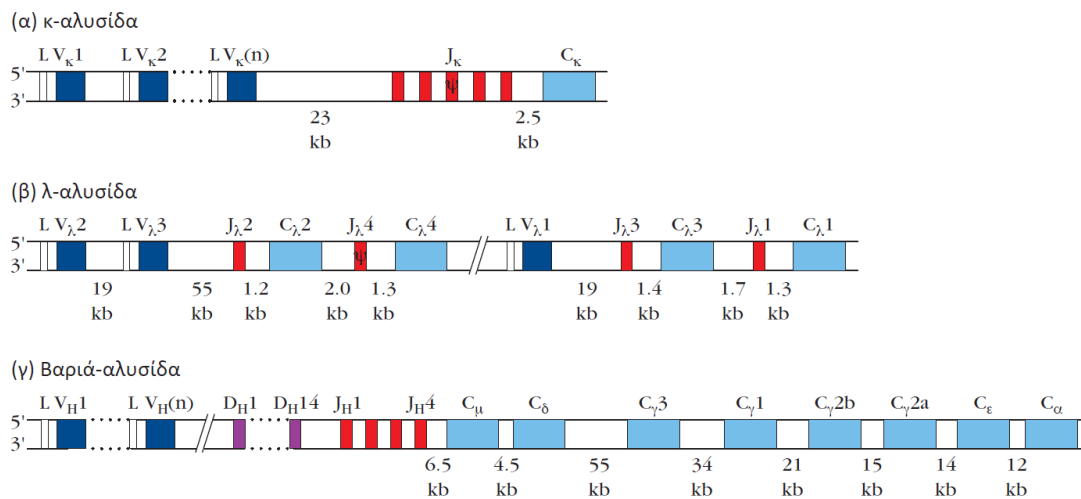
Τα δομικά χαρακτηριστικά των ανοσοσφαιρινών τους επιτρέπουν να υποστηρίξουν δύο βασικές λειτουργίες:

- Τη δέσμευση ξένων αντιγόνων που εισβάλλουν στον ξενιστή
- Τη μεσολάβηση δραστηκών λειτουργιών για την εξουδετέρωση ή την εξάλειψη ξένων εισβολέων¹.

4.2.3 ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΤΟΠΟΙ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ

Ο γενετικός τόπος των ανοσοσφαιρινών της βαριάς αλυσίδας αποτελείται από τα γονίδια V (Variable), D (Diversity), J (Joining) και C (Constant) και αυτός των κ και λ

ελαφριών αλυσίδων από τα γονίδια V, J και C (Εικόνα 3). Τα ανοσοσφαιρινικά γονίδια αναδιατάσσονται τυχαία κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των B κυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, τα αναδιαταγμένα γονιδιακά τμήματα VDJ και VJ κωδικοποιούν τη μεταβλητή περιοχή της βαριάς και της ελαφριάς αλυσίδας αντίστοιχα. Κάθε βαριά ή ελαφριά αλυσίδα κατευθύνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο μέσω της παρουσίας στο 5'-άκρο κάθε V γονιδιακού τμήματος, ενός μικρού εξωνίου που κωδικοποιεί ένα βραχύ πεπτίδιο σήμα ή αλλιώς οδηγό. Το πεπτίδιο-σήμα αυτό αποκόπτεται στη συνέχεια από τις αλυσίδες και έτσι δε συμπεριλαμβάνεται στο ανοσοσφαιρινικό μόριο¹.



Εικόνα 3: Οργάνωση των ανοσοσφαιρινικών γονιδίων της βλαστικής σειράς²

4.2.4 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ

Κατά την ωρίμανση των B κυττάρων στο μυελό των οστών, μετά την τυχαία αναδιάταξη των γονιδιακών τμημάτων, ακολουθούνται διαδικασίες οι οποίες αυξάνουν την ποικιλομορφία του ρεπερτορίου των ανοσοσφαιρινικών ειδικοτήτων σε ένα πολύ μεγάλο αριθμό που υπερβαίνει τις 10^8 . Η ποικιλομορφία των ανοσοσφαιρινικών μορίων στον άνθρωπο και στο ποντίκι προκύπτει από τους εξής μηχανισμούς:

- Πολλαπλά γονιδιακά τμήματα στα κύτταρα της σπερματικής σειράς
- Συνδυαστική συρραφή τμημάτων V-(D)-J

- Συνδετική ευελιξία
- Προσθήκη νουκλεοτιδίων στην περιοχή P (P-προσθήκη)
- Προσθήκη νουκλεοτιδίων στην περιοχή N (N-προσθήκη)
- Σωματική υπερμετάλλαξη
- Συνδυαστική σύνδεση ελαφριών και βαριών αλυσίδων¹

4.2.5 ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τα Β λεμφοκύτταρα αναπτύσσονται από αρχέγονα αιμοποιητικά πολυδύναμα κύτταρα. Η παραγωγή των ώριμων Β κυττάρων συμβαίνει αρχικά στα εμβρυικά στάδια με θέσεις ωρίμανσης το λεκιθικό σάκο, το εμβρυικό ήπαρ και τον εμβρυικό μυελό των οστών ενώ μετά τη γέννηση συνεχίζεται στο μυελό των οστών.

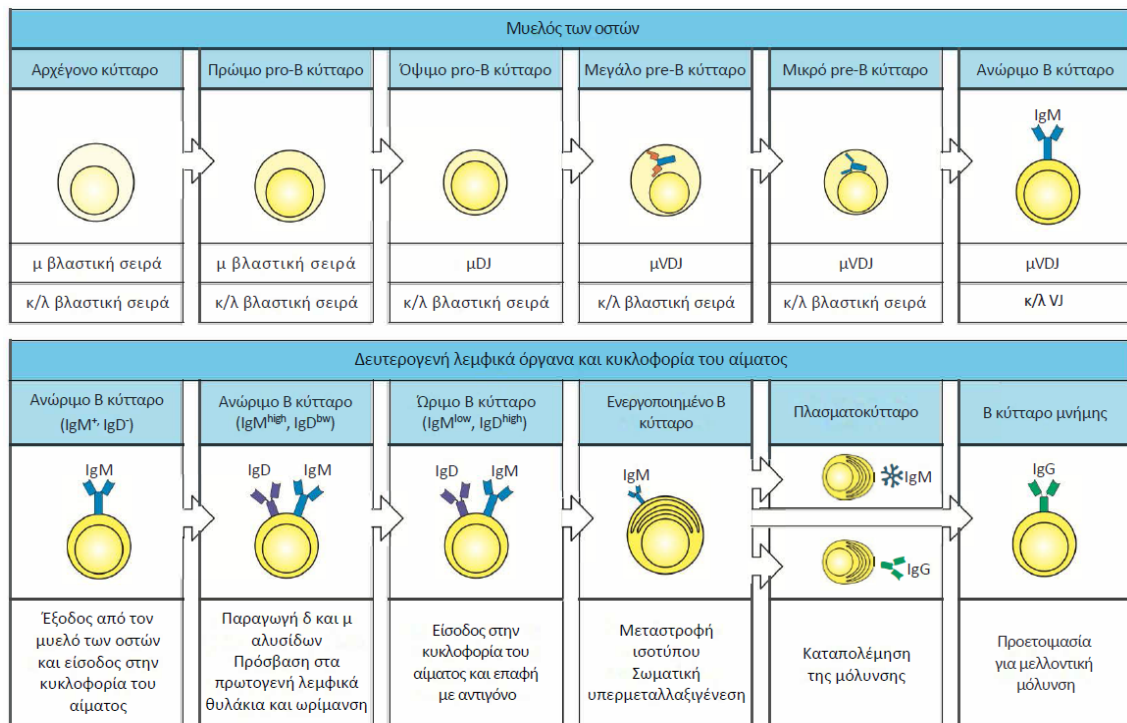
Η αναπτυξιακή πορεία των Β λεμφοκυττάρων διακρίνεται σε δύο φάσεις:

- Αντιγονο-ανεξάρτητη φάση, που λαμβάνει χώρα στο μυελό των οστών
- Αντιγονο-εξαρτώμενη φάση, που διαδραματίζεται στα δευτερογενή λεμφικά όργανα

Η ανάπτυξη των Β λεμφοκυττάρων στο μυελό των οστών εξελίσσεται σε ποικίλα στάδια, καθένα από τα οποία καθορίζεται από τις αναδιατάξεις των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών^{3,4}. Η διαδικασία κατά την οποία αναδιατάσσονται τα γονίδια των ανοσοσφαιρινών καλείται ανασυνδυασμός V(D)J και έχει ιεραρχικό χαρακτήρα.

Τα παρθένα Β λεμφοκύτταρα μετά την ωρίμανσή τους εγκαταλείπουν το μυελό των οστών εκφράζοντας μεμβρανικές ανοσοσφαιρίνες συγκεκριμένης αντιγονικής ειδικότητας και εισέρχονται στα δευτερογενή λεμφικά όργανα μέσω της κυκλοφορίας του αίματος και της λέμφου⁵. Εάν τα κύτταρα στο σημείο αυτό έρθουν σε επαφή με αντιγόνο τότε ενεργοποιούνται από βοηθητικά Τ λεμφοκύτταρα, οπότε πολλαπλασιάζονται και μερικά από αυτά μεταναστεύουν στο κέντρο των λεμφοζιδίων όπου δημιουργούν τα βλαστικά κέντρα (germinal centers)⁶. Στα βλαστικά κέντρα συμβαίνει η σωματική υπερμεταλλαξιογένεση (SYM) (somatic hypermutation, SHM), μια διαδικασία εισαγωγής μεταλλάξεων στα γονίδια των ανοσοσφαιρινών που ακολουθεί την επαφή με το αντιγόνο και αποσκοπεί στην

αύξηση της συγγένειας της ανοσοσφαιρίνης για το αντιγόνο. Ο όρος «υπερμεταλλαξιγένεση» οφείλεται στην εξαιρετικά υψηλή συχνότητα εισαγωγής μεταλλάξεων, η οποία κυμαίνεται από 10^{-5} έως 10^{-3} /bp/κυτταρική γενιά και είναι σαφώς μεγαλύτερη από τη συχνότητα εισαγωγής μεταλλάξεων στο γονιδίωμα ενός φυσιολογικού κυττάρου (10^{-9} - 10^{-11})⁷. Όσα B λεμφοκύτταρα περάσουν με επιτυχία τη διαδικασία επιλογής που συμβαίνει από τα δενδριτικά κύτταρα των λεμφοζιδίων και τα TH κύτταρα, διαφοροποιούνται είτε προς B λεμφοκύτταρα μνήμης, είτε προς πλασματοκύτταρα που εκκρίνουν αντισώματα (Εικόνα 4).



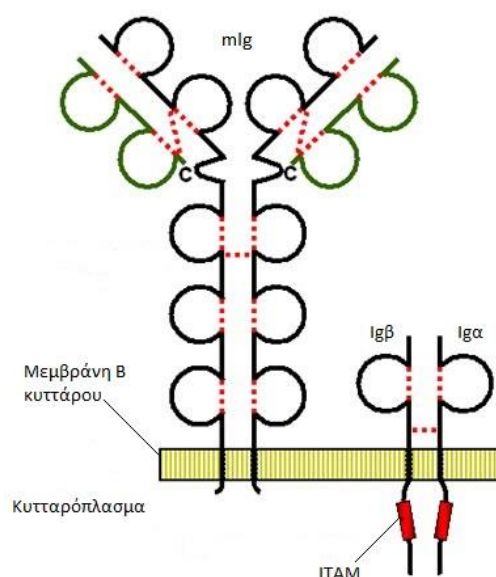
Εικόνα 4 : Στάδια ανάπτυξης των B λεμφοκυττάρων⁸

4.2.6 B ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ

Όλοι οι ισότυποι της μεμβρανικής ανοσοσφαιρίνης (mIg) έχουν πολύ κοντή κυτταροπλασματική ουρά και έτσι δεν μπορούν να συνδυαστούν με ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μόρια όπως κινάσες τυροσίνης. Για το λόγο αυτό, η μεμβρανική Ig συνδέεται με το ετεροδιμερές Ig-α/Ig-β, το οποίο σταθεροποιείται με δισουλφυδικούς δεσμούς, σχηματίζοντας τον B κυτταρικό υποδοχέα (B-cell receptor,

BcR). Μόνο ένα ετεροδιμερές Ig-a/Ig-β συνδέεται με ένα μόριο mIg για το σχηματισμό του συμπλέγματος του υποδοχέα. Έτσι ο BcR λειτουργικά διαιρείται σε ένα μόριο ανοσοσφαιρίνης το οποίο βρίσκεται στην επιφάνεια του κυττάρου και είναι υπεύθυνο για τη δέσμευση του προσδέτη και το ετεροδιμερές Ig-a/Ig-β το οποίο βρίσκεται σε μεγάλο βαθμό ή εξ' ολοκλήρου μέσα στο κύτταρο και μεταδίδει το μήνυμα.

Η αλυσίδα Ig-a έχει μακριά κυτταροπλασματική ουρά αποτελούμενη από 61 αμινοξέα, ενώ η ουρά της αλυσίδας Ig-β έχει 48 αμινοξέα. Και οι δύο είναι αρκετά μακριές έτσι ώστε να επιτρέπεται η αλληλεπίδραση με ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μόρια. Οι κυτταροπλασματικές ουρές αμφοτέρων των Ig-a και Ig-β περιέχουν μια αλληλουχία 18 καταλοίπων που ονομάζεται πρότυπο ενεργοποίησης του ανοσοϋποδοχέα που βασίζεται στην τυροσίνη (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif, ITAM) και είναι υπεύθυνο για τη δέσμευση του αντιγόνου και τη μετάδοση του μηνύματος (Εικόνα 5). Οι ITAMs απαιτούν τη συνάθροιση δύο ή περισσότερων ανοσοσφαιρινών για να ενεργοποιηθούν και να αρχίσουν τη σηματοδότηση μέσω του BcR.



Εικόνα 5: Ο Β κυτταρικός υποδοχέας (Τροποποιημένο από: [https:// www.roswellpark.edu/ben-seon/lab](https://www.roswellpark.edu/ben-seon/lab))

Η μετάδοση των μηνυμάτων διαμέσου του υποδοχέα του Β κυττάρου ρυθμίζεται από πρωτεϊνικές κινάσες τυροσίνης (Protein Tyrosine Kinase, PTKs). Ωστόσο, δεν διαθέτει από μόνος του δραστηριότητα πρωτεϊνικής κινάσης τυροσίνης αλλά την αποκτά μέσω της στρατολόγησης ενός πλήθους διαφορετικών κινασών¹.

4.2.7 ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΟΥ Β ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ

Η δέσμευση του Β κυτταρικού υποδοχέα από ένα αντιγόνο πυροδοτεί πλήθος οδών σηματοδότησης, που έχουν ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του Β κυττάρου. Η πρόσδεση του αντιγόνου προκαλεί αρχικά τη φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης, που περιέχονται στις αλληλουχίες ITAM των αλυσίδων Ig-α και Ig-β του Β κυτταρικού υποδοχέα, από τις πρωτεϊνικές κινάσες τυροσίνης της οικογένειας Src, όπως είναι οι Fyn, Blk, Hck, Fgr και Lyn. Η Lyn είναι η πρωταρχική κινάση η οποία χρησιμοποιείται σε αυτή τη διαδικασία. Στη συνέχεια η πρωτεϊνική κινάση τυροσίνης Syk στρατολογείται στις ITAMs, μέσω της SH2 επικράτειάς της, και ενεργοποιείται μέσω μιας διαδικασίας πολλών σταδίων. Αρχικά η Syk φωσφορυλιώνεται στην Tyr352 από πρωτεϊνικές κινάσες τυροσίνης της οικογένειας Src και εν συνεχεία αυτοφωσφορυλιώνεται στα κατάλοιπα Tyr525 και Tyr526, οδηγούμενη έτσι στην ολοκληρωτική ενζυμική ενεργοποίησή της.

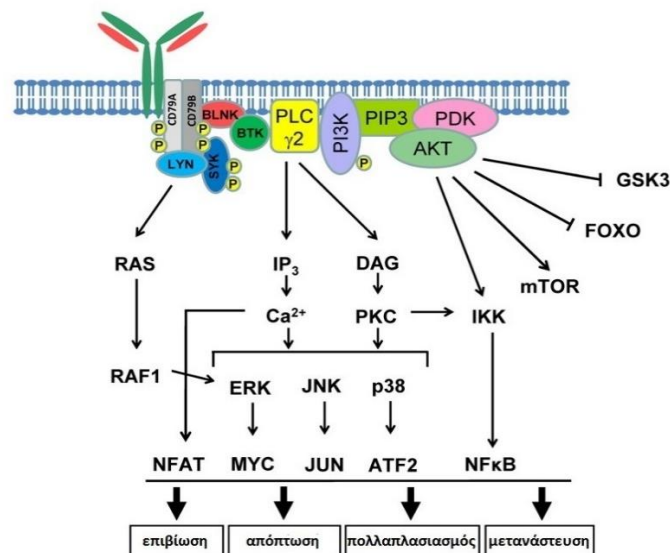
Μετά την ενεργοποίησή της, η Syk διαδίδει το σήμα συνδεδεμένη με πρωτεΐνες-προσαρμογείς όπως η BLNK και φωσφορυλιώνοντας καθοδικά σηματοδοτικά μόρια. Η BLNK παρέχει θέσεις πρόσδεσης για άλλες πρωτεΐνες οι οποίες πρόκειται να ενταχθούν στο σύμπλεγμα σηματοδότησης. Όταν η BLNK φωσφορυλιωθεί από την Syk έλκει την κινάση Btk και την PLCγ2. Έτσι ενεργοποιούνται τα σηματοδοτικά ενδιάμεσα, όπως η PI3K και η PLCγ2 (Εικόνα 6).

Η PI3K με την πρόσδεσή της στην κυτταρική μεμβράνη παράγει ένα δεύτερο αγγελιοφόρο μόριο, την PIP3. Η PIP3 απαιτείται για τη βέλτιστη ενεργοποίηση του BTK καθώς και για τη στρατολόγηση της κινάσης PDK και την επακόλουθη ενεργοποίηση της κινάσης Akt και άλλα σηματοδοτικά μόρια του Β κυτταρικού υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη όπου και ενεργοποιούνται⁹. Το μονοπάτι

PI3K/Akt είναι αξιοσημείωτο διότι ευοδώνει την επιβίωση των B κυττάρων και την προστασία έναντι της απόπτωσης, αφού επάγει την έκφραση αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών όπως οι Mcl-1 και XIAP.

Η ενεργοποίηση της PLCγ2 προκαλεί την παραγωγή της IP3 και της DAG, οι οποίες επάγουν την απελευθέρωση ενδοκυτταρικού Ca²⁺ και την ενεργοποίηση της PKC, αντίστοιχα. Ακολούθως, η PKC προκαλεί την ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των NF-κB και του NFAT. Ο NF-κB παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των διεγερμένων από αντιγόνο B κυττάρων επάγοντας την έκφραση πολλών αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών¹⁰. Η PLCγ2 εμπλέκεται ακόμη στην ενεργοποίηση των μονοπατιών των MAP κινασών, στα οποία συμπεριλαμβάνονται οι κινάσες ERK1/2, JNK, και p38. Για μία ολοκληρωμένη ανοσογόνο απόκριση ενάντια σε κάποιο αντιγόνο απαιτείται η ενεργοποίηση όλων αυτών των μονοπατιών.

Η διαμόρφωση των πολλαπλών καθοδικών ρυθμιστών, η οποία λαμβάνει χώρα στη συνέχεια, εν τέλει προκαλεί αλλαγές στην κυτταρική επιβίωση, στον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση μέσω μεταγραφικής τροποποίησης και φωσφορυλίωσης^{9,10}.



Εικόνα 6: Το σηματοδοτικό μονοπάτι του B κυτταρικού υποδοχέα (Τροποποιημένο από: <http://www.bloodjournal.org/content/118/16/4313>)

4.2.8 ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τα Τ λεμφοκύτταρα προέρχονται από τον μυελό των οστών και για την ωρίμανσή τους μεταναστεύουν στον θύμο αδένα. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσής τους εκφράζουν στη μεμβράνη τους ένα μοναδικό αντιγόνο-συνδεδεμένο μόριο, το οποίο ονομάζεται υποδοχέας Τ κυττάρου (T-cell receptor, TCR). Επίσης, στον θύμο λαμβάνει χώρα α) η θετική επιλογή κατά την οποία επιβιώνουν μόνο όσα Τ κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να αναγνωρίζουν τα εαυτά μόρια MHC και β) η αρνητική επιλογή όπου καταστρέφονται τα κύτταρα τα οποία έχουν υψηλή συγγένεια για σύνδεση με τα εαυτά μόρια MHC ή με τα μόρια MHC που παρουσιάζουν εαυτά πεπτίδια. Η συγκεκριμένη διαδικασία είναι πολύ σημαντική για την παραγωγή παρθένων Τ κυττάρων με αυτοανοχή¹¹.

Τα Τ κύτταρα χωρίζονται σε δύο υποπληθυσμούς: τα Τ βοηθητικά (T helper, T_H) και τα Τ κυτταροτοξικά κύτταρα (T cytotoxic, T_C), τα οποία μπορούν να διακριθούν μεταξύ τους από την παρουσία των μεμβρανικών γλυκοπρωτεϊνών, CD4 και CD8 αντίστοιχα, στην επιφάνεια. Υπάρχει ένας τρίτος τύπος Τ κυττάρου, το Τ ρυθμιστικό κύτταρο (T regulatory, T_{reg}), το οποίο φέρει CD4 στην επιφάνειά του αλλά μπορεί να διακριθεί από τους άλλους δύο τύπους με βάση επιφανειακούς δείκτες που σχετίζονται με το στάδιο της ενεργοποίησής του.

Τα μόρια MHC, που είναι συνδεδεμένα με τα αντιγόνα τα οποία αναγνωρίζονται από τα Τ κύτταρα, είναι πολυμορφικές γλυκοπρωτεΐνες που βρίσκονται στις κυτταρικές μεμβράνες και χωρίζονται σε δύο τύπους: τα MHC τάξης I, που εκφράζονται σχεδόν σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα των σπονδυλωτών και τα MHC τάξης II, που εκφράζονται μόνο στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (antigen presenting cells, APCs). Τη στιγμή που ένα παρθένο Τ κύτταρο θα έρθει σε επαφή με ένα αντιγόνο το οποίο είναι συνδεδεμένο σε ένα μόριο MHC, το Τ κύτταρο πολλαπλασιάζεται και διαφοροποιείται σε Τ κύτταρα μνήμης και διάφορα άλλα δραστικά Τ κύτταρα. Τα CD4 θετικά κύτταρα αναγνωρίζουν μόνο αντιγόνο το οποίο είναι δεσμευμένο σε μόρια MHC τάξης II πάνω σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, ενώ τα CD8 μόνο αντιγόνο σε μόριο MHC τάξης I.

Όταν ένα Τ_H κύτταρο αναγνωρίσει το σύμπλεγμα αντιγόνου-MHC II τότε ενεργοποιείται και αφού υποστεί μεταβολικό μετασχηματισμό ξεκινάει την έκκριση διάφορων κυτταροκινών. Οι κυτταροκίνες αυτές διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση Β κυττάρων, Τ_c κυττάρων, μακροφάγων και διάφορων άλλων τύπων που συμμετέχουν στην απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι διαφορετικές κυτταροκίνες που εκκρίνονται οδηγούν σε διαφορετικά πρότυπα ανοσολογικής απόκρισης.

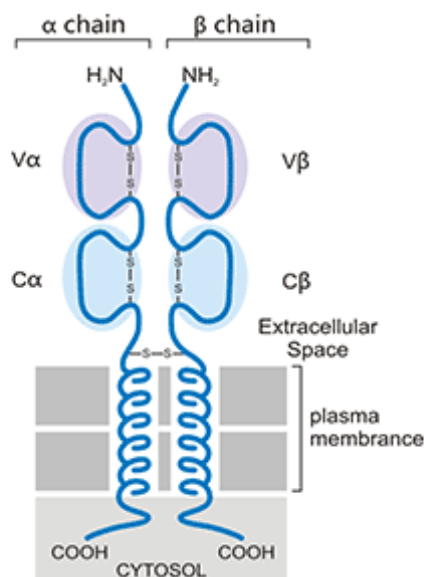
Όταν ένα Τ_c κύτταρο αναγνωρίσει το αντίστοιχο σύμπλεγμα αντιγόνου-μορίου MHC I, τότε πολλαπλασιάζεται και μπορεί να διαφοροποιηθεί σε κύτταρο μνήμης. Τα Τ κυτταροτοξικά κύτταρα παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο διότι επιτηρούν τα κύτταρα του σώματος και εξολοθρεύουν όσα από αυτά παρουσιάζουν κάποιο αντιγόνο σε συνδυασμό με μόριο MHC I, όπως καρκινικά και ιικά κύτταρα¹².

4.2.9 ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ Τ ΚΥΤΤΑΡΟΥ (TCR)

Ο υποδοχέας του Τ κυττάρου (TCR), που ευθύνεται για την ειδικότητα των Τ κυττάρων, είναι ένα ετεροδιμερές που αποτελείται είτε από α και β είτε από γ και δ αλυσίδες. Η δομή των επικρατειών των ετεροδιμερών αβ και γδ του TCR μοιάζει εξαιρετικά με τη δομή των ανοσοσφαιρινών γι' αυτό και χαρακτηρίζονται ως μέλη της οικογένειας των ανοσοσφαιρινών.

Η κάθε αλυσίδα ενός μορίου TCR διαθέτει δύο επικράτειες, μια μεταβλητή (V) και μια σταθερή (C), με τις δύο αλυσίδες να συνδέονται με έναν δισουλφιδικό δεσμό μεταξύ των σταθερών περιοχών τους (Εικόνα 7). Η αμινοτελική επικράτεια και στις δυο αλυσίδες παρουσιάζει σημαντική ποικιλομορφία ως προς την αλληλουχία της ενώ οι υπόλοιπες περιοχές της αλυσίδας είναι συντηρητικές. Κάθε αλυσίδα του TCR διαθέτει επίσης μια μικρού μήκους αλληλουχία σύνδεσης, στην οποία ένα κατάλοιπο κυστεΐνης συνδέεται με δισουλφιδικό δεσμό με την άλλη αλυσίδα του ετεροδιμερούς. Μετά την αλληλουχία σύνδεσης υπάρχει ένα διαμεμβρανικό τμήμα, με το οποίο η κάθε αλυσίδα αγκυροβολείται στην πλασματική μεμβράνη. Οι διαμεμβρανικές αυτές επικράτειες έχουν θετικά φορτισμένα αμινοξικά κατάλοιπα, πράγμα που τους επιτρέπει τη σύνδεση με τις αλυσίδες συμπλέγματος μεταγωγής

μηνυμάτων CD3. Τέλος, στο καρβοξυτελικό άκρο της κάθε αλυσίδας υπάρχει μια μικρή κυτταροπλασματική ουρά με μήκος 5-12 αμινοξέα.¹³



Εικόνα 7 Δομή του T κυτταρικού υποδοχέα (τροποποιημένο από <https://www.cusabio.com/receptor/T-Cell-Receptor.html>)

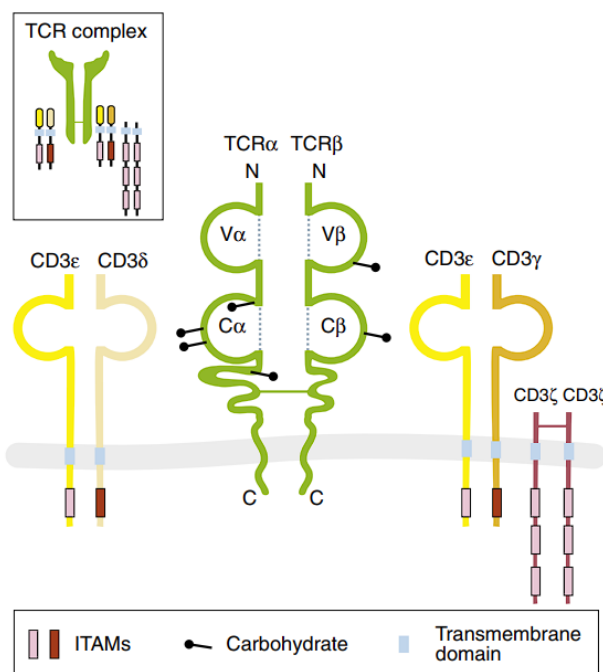
4.2.10 ΣΥΜΠΛΕΓΜΑ TCR-CD3

Ο TCR συνδέεται στην κυτταρική μεμβράνη μέσω του CD3, το οποίο αποτελεί ένα σύμπλεγμα πολυπεπτιδικών αλυσίδων που εμπλέκεται στη μεταγωγή μηνυμάτων και είναι απαραίτητο για την επιφανειακή έκφραση του TCR. Πιο συγκεκριμένα, το CD3 αποτελείται από πέντε αμετάβλητες πολυπεπτιδικές αλυσίδες που συνδέονται ώστε να σχηματίσουν τρία ή τέσσερα διμερή (ετεροδιμερές «γε», «δε», «ζη» ή ομοδιμερές «ζζ»). Έτσι, το σύμπλεγμα του TCR-CD3 μπορεί να παρουσιαστεί με τη μορφή τεσσάρων διμερών, με το ετεροδιμερές αβ ή γδ του TCR να καθορίζει την ειδικότητα δέσμευσης διαφόρων προσδετών και τα διμερή του CD3 να είναι απαραίτητα για την μεμβρανική έκφραση του TCR καθώς και την μεταγωγή μηνυμάτων (Εικόνα 8).

Οι αλυσίδες γ,δ και ε του CD3 ανήκουν στην υπερικογένεια των ανοσοσφαιρινών και η καθμία περιλαμβάνει μια εξωκυτταρική επικράτεια, μια διαμεμβρανική και μια κυτταροπλασματική περιοχή με περισσότερα από 40 αμινοξέα. Η αλυσίδα ζ διαφέρει στο ότι αποτελείται από μια πολύ κοντή εξωτερική περιοχή μήκους 9 αμινοξέων, μια διαμεμβρανική περιοχή και μια κυτταροπλασματική επικράτεια μεγάλου μήκους, 113

αμινοξέων. Όλες οι διαμεμβρανικές περιοχές όλων των αλυσίδων του CD3 έχουν ένα αρνητικά φορτισμένο κατάλοιπο που αλληλεπιδρά με ένα ή δύο θετικά φορτισμένα αμινοξέα της διαμεμβρανικής περιοχής της κάθε αλυσίδας του TCR.

Τέλος, οι κυτταροπλασματικές ουρές των αλυσίδων του CD3 αποτελούνται από μια πρότυπη αλληλουχία, που ονομάζεται πρότυπο ενεργοποίησης ανοσοϋποδοχέα βασιζόμενο στην τυροσίνη (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif, ITAM). Ο ρόλος των αλληλουχιών αυτών είναι πολύ σημαντικός, γιατί αλληλεπιδρούν με κινάσες τυροσίνης και εμπλέκονται έτσι στην μεταγωγή μηνυμάτων¹³.



Εικόνα 8: Σύμπλεγμα T κυτταρικού συνυποδοχέα (τροποποιημένη από <https://www.cusabio.com/receptor/T-Cell-Receptor.html>)

4.3 ΘΕΡΑΠΕΙΑ Τ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR)

4.3.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η θεραπεία με τη χρήση T κυττάρων με χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα (Chimeric Antigen Receptor, CAR) εγκαινιάζει μια νέα εποχή στην ιστορία της ανοσοθεραπείας

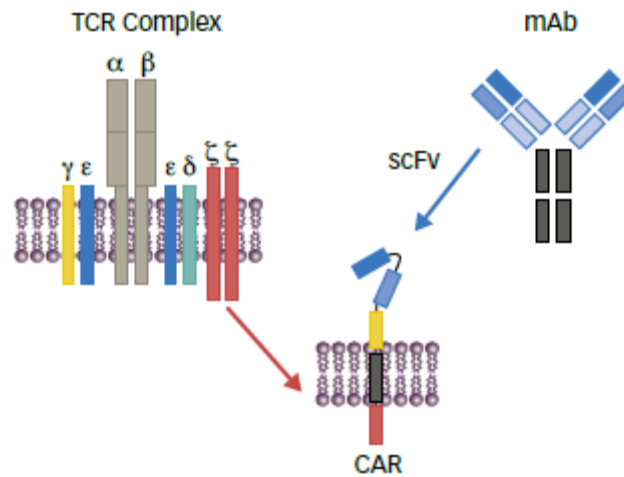
του καρκίνου. Η ικανότητα της γενετικής μηχανικής να αλλάζει το γονιδίωμα και να επάγει την ειδικότητα των Τ κυττάρων έναντι των καρκινικών με τη χρήση αντιγονικού χιμαιρικού υποδοχέα αποτελεί ένα επαναστατικό βήμα στην ταχέως εξελισσόμενη θεραπεία του καρκίνου. Όπως και άλλες αντικαρκινικές θεραπείες εμπεριέχει προκλήσεις, αποτελεί όμως και έναν ισχυρότατο πόρο στο οπλοστάσιο των κλινικών ιατρών όπως δείχνουν οι μέχρι τώρα πετυχημένες κλινικές δοκιμές¹⁴.

4.3.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR)

Η CAR-T θεραπεία αποτελεί θεραπεία υιοθετούμενων κυττάρων (adoptive cell therapy, ACT) διότι περιλαμβάνει τη συλλογή και τη χρήση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος έναντι των καρκινικών. Τα Τ λεμφοκύτταρα τροποποιούνται γενετικά έτσι ώστε να εκφράζουν CARs συνδυάζοντας την ιδιότητα των μονοκλωνικών αντισωμάτων να αναγνωρίζουν και να προσδένονται στο αντιγόνο-στόχο με την κυτταροτοξική δράση και την ικανότητα αυτό-ανανέωσης των Τ λεμφοκυττάρων (Εικόνα 9)¹⁵.

Ο σχεδιασμός του CAR-T προϊόντος ξεκίνησε πριν από περίπου 20 χρόνια από τους Eshar και συν.¹⁶ και αποτελείται από τα εξής:

- Εξωκυτταρικό τμήμα
- Τμήμα σύνδεσης εξωκυτταρικού και διαμεμβρανικού τμήματος
- Διαμεμβρανικό τμήμα
- Ενδοκυτταρικό τμήμα



Εικόνα 9: Σχεδιασμός CAR προϊόντος¹⁷

Το εξωκυτταρικό τμήμα αποτελείται από την scFv δομή, η οποία αποτελείται από τις μεταβλητές περιοχές της βαριάς (VH) και ελαφριάς (VL) αλυσίδας ενός μονοκλωνικού αντισώματος (monoclonal antibody, Mab) που συνδέονται μεταξύ τους με ένα μικρό συνθετικό πεπτίδιο. Το scFv τμήμα συνήθως προέρχεται από τις ανοσοσφαιρίνες ποντικού και είναι αυτό που καθορίζει την ειδικότητα του CAR, διότι προσφέρει την θέση αναγνώρισης και σύνδεσης με το επιθυμητό αντιγόνο επιφανείας^{18,19}. Κατάλληλα αντιγόνα-στόχοι είναι αυτά που εκφράζονται σε κακοήθη κύτταρα. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων το αντιγόνο επιφανείας της λεμφικής σειράς CD19 είναι αυτό που εκφράζεται τόσο από κακοήθη αλλά και από υγιή Β κύτταρα και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε κλινικές δοκιμές σαν αντιγόνο-στόχος. Αυτή η αρχή είναι παρόμοια με την συμπληρωματικότητα της σύνδεσης αντιγόνου-αντισώματος, η οποία μπορεί να επιτρέψει την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων παρακάμπτοντας το σύμπλεγμα MHC. Συνεπώς, η CAR-T θεραπεία μπορεί να επιτρέψει την πρόσβαση σε ένα μεγάλο υποσύνολο ασθενών²⁰.

Το τμήμα σύνδεσης εξωκυττάριου και διαμεμβρανικού τμήματος και πιο συγκεκριμένα το μήκος αυτού φαίνεται να συμβάλλει στη λειτουργικότητα και στην αποτελεσματικότητα του CAR-T προϊόντος²¹.

Το διαμεμβρανικό τμήμα συνήθως προέρχεται από μέρη των CD3-ζ, CD4, CD8 ή CD28 μορίων και καθορίζει και αυτό την δραστηριότητα του CAR-T προϊόντος, μέσω της μεταγωγής σήματος.

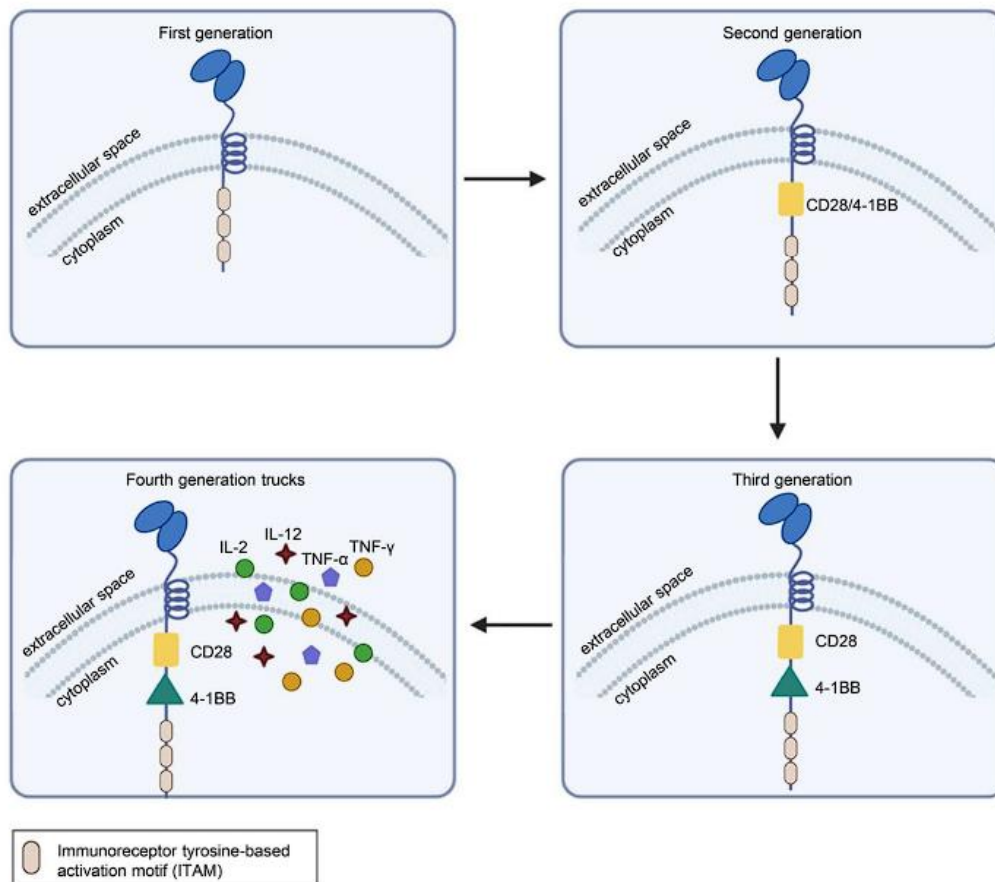
Το ενδοκυτταρικό τμήμα είναι υπεύθυνο για την ενεργοποίηση του Τ κυττάρου μετά την αναγνώριση και σύνδεση του αντιγόνου-στόχου με το scFv. Η ολοκληρωμένη λειτουργία των Τ κυττάρων απαιτεί, μετά τη σύνδεση με το αντιγόνο-στόχο, την ενεργοποίηση κάποιων συνδιεγερτικών μονοπατιών, κάτι το οποίο συμβαίνει μέσω σύνδεσης των μορίων που υπάρχουν στην επιφάνεια του καρκινικού κυττάρου (π.χ. CD80, CD86) με τους υποδοχείς (π.χ. CD3, CD28) που βρίσκονται στη μεμβράνη των Τ κυττάρων²². Σε απουσία ενεργοποίησης αυτού του μονοπατιού, επέρχεται “αν-ενεργεία” των Τ κυττάρων, που οδηγεί στην επαγωγή συνθηκών ανοσολογικής ανοχής. Τα καρκινικά κύτταρα με σκοπό να αποφύγουν την κυτταροτοξικότητα των Τ κυττάρων και να οδηγήσουν στην “ανοσολογική αν-ενεργεία” μειώνουν ή και καταργούν την έκφραση των συνδιεγερτικών τους μορίων²³.

4.3.3 CAR-T ΚΥΤΤΑΡΑ 1^{ης}, 2^{ης}, 3^{ης} ΚΑΙ 4^{ης} ΓΕΝΙΑΣ

Η ενδοκυτταρική επικράτεια στα CAR-T κύτταρα της λεγόμενης 1^{ης} γενιάς περιείχε μόνο την κυτταροπλασματική ουρά της CD3ζ αλυσίδας, η οποία περιέχει τρία ITAMs μοτίβα και λειτουργούσε ως περιοχή μεταγωγής σήματος. Βάσει ερευνών όμως, φάνηκε πως ενώ τα Τ κύτταρα που εκφράζουν αυτά τα CARs έχουν τη δυνατότητα να σκοτώσουν τα καρκινικά κύτταρα, ο πολλαπλασιασμός τους δεν ήταν εύκολος και οδήγησε στην αποτυχία των προσπαθειών²⁴.

Αυτό το πρόβλημα οδήγησε στη δημιουργία CAR-T κυττάρων 2^{ης} και 3^{ης} γενιάς, όπου η ενδοκυτταρική περιοχή αποτελείται από ένα και δύο επιπλέον συνδιεγερτικά μόρια (π.χ. CD27/CD28/41BB/OX40) αντίστοιχα (Εικόνα 10). Τα συνδιεγερτικά μόρια συνδέονται παράλληλα με την CD3ζ αλυσίδα, με το σήμα να παρέχεται από την τελευταία, και ενισχύουν την παραγωγή κυτταροκινών, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των CAR-T κυττάρων²⁵.

Πλέον έχουν αναπτυχθεί και CAR-T προϊόντα 4^{ης} γενιάς, σε μια προσπάθεια να ξεπεραστεί το ανασταλτικό περιβάλλον του όγκου, ιδιαίτερα σε συμπαγείς κακοήθειες. Αυτά τα κύτταρα έχουν την ικανότητα έκκρισης κυτταροκινών (π.χ. IL-2, IL-12) και μεταγράφονται από ένα ανεξάρτητο γονίδιο το οποίο έχει ενσωματωθεί στον φορέα του CAR-T κυττάρου²⁶.



Εικόνα 10: CAR 1^{ης}, 2^{ης}, 3^{ης} και 4^{ης} γενιάς²⁷

4.3.4 ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ CAR-T ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τα CAR-T κύτταρα είναι αυτόλογα, διότι προέρχονται από τον ίδιο τον ασθενή. Έτσι, μπορεί να αποφευχθεί το πρόβλημα της αλλογενούς απόρριψης και της νόσου μοσχεύματος έναντι ξενιστή (Graft versus Host Disease, GVHD), αλλά πρέπει να προσαρμόζονται ξεχωριστά, κάτι που απαιτεί προηγμένη τεχνολογία και οικονομικούς πόρους.

Η κατασκευή των CAR-T κυττάρων ξεκινάει με τη διαδικασία της λευκαφαίρεσης, όπου αφαιρείται μια ποσότητα ολικού αίματος από τον ασθενή και διαχωρίζονται από αυτό τα λευκοκύτταρα²⁸. Μόλις συλλεχθούν τα T λεμφοκύτταρα πρέπει να ενεργοποιηθούν, να μετατραπούν έτσι ώστε να εκφράζουν τον χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα και να εκπτυχθούν ως πληθυσμός, πριν εγχυθούν ξανά στον ασθενή (Εικόνα 11). Η ενεργοποίηση των συγγενών T κυττάρων μπορεί να γίνει ενδογενώς

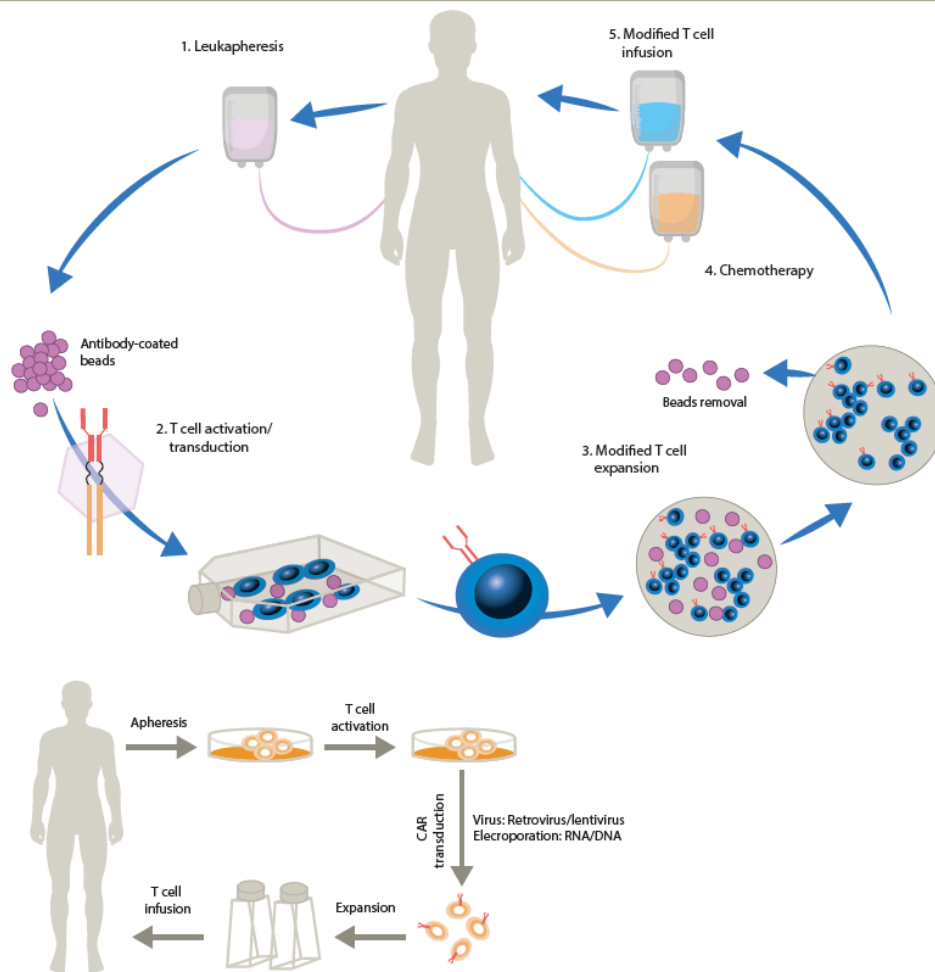
και in vivo από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) όπως τα δενδριτικά ή τα Β κύτταρα. Ex vivo, ωστόσο, τα ενδογενή APCs εμφανίζουν μεταβλητότητα και έτσι η χρήση τους δεν είναι πρακτική²⁹. Η ισχυρή ενεργοποίησή τους μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση διαλυτών αντι-CD19 μονοκλωνικών αντισωμάτων (π.χ. OKT3) και IL-2 σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις, καθώς σε υπερβολική συγκέντρωση μπορεί να προκαλέσει δυσλειτουργία των Τ κυττάρων³⁰. Επιπλέον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σφαιρίδια επικαλυμμένα με αντι-CD23/αντι-CD28 μονοκλωνικά αντισώματα, τα οποία μπορούν να διατηρήσουν τον φαινότυπο μνήμης περισσότερο απ' ό,τι τα OKT3/IL-2³¹.

Μετά την ενεργοποίηση, το CAR γονίδιο συνήθως εισάγεται στο γονιδίωμα των Τ κυττάρων μέσω ιϊκών φορέων (λεντιοί και γ-ρετροϊοί), κάτι που θεωρείται ασφαλές και αποτελεσματικό³². Σημειωτέον, η μεταγωγή μέσω λεντιών υπερισχύει της ρετροϊκής μεταγωγής, όπως δείχνουν κλινικές δοκιμές³³. Η χαμηλού κόστους προσέγγιση της χρήσης μαγνητικού πεδίου (electroporation) για τη μεταφορά των πλασμιδίων στο γενετικό υλικό του κυττάρου-στόχου δεν έχει αξιολογηθεί για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά της³⁴.

Τα περισσότερα σχήματα δοσολογίας των CAR-T κυττάρων απαιτούν μετατροποποιητική επέκταση για να πετύχουν κλινικά σημαντικό αριθμό κυττάρων για τη θεραπεία. Σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την επέκταση τους, ex vivo, περιλαμβάνουν τα εξής:

- παροχή επαρκών θρεπτικών συστατικών με ή χωρίς κυτοκίνες σε ολόκληρη την καλλιέργεια
- βέλτιστη ανταλλαγή αερίων
- λειτουργία εντός κλειστού συστήματος οπουδήποτε δυνατόν

Τέλος, η χορήγηση χημειοθεραπευτικών παραγόντων πριν την έγχυση των CAR-T κυττάρων βελτιώνει την έκπτυξη, την παραμονή και την δραστηριότητά τους. Αυτά τα οφέλη είναι αποτέλεσμα της ελάττωσης των Tregs, της ελάττωσης της μάζας των κακοήθων κυττάρων και της αυξημένης παραγωγής κυτταροκινών (π.χ. IL-7 και IL-15) που ευνοούν την in vivo έκπτυξη των λεμφοκυττάρων³⁵.



Εικόνα 11: Διαδικασία κατασκευής CAR-T κυττάρων³¹

4.3.5 ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΤΗΣ CAR-T ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Ενώ τα CAR-T κύτταρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πολλές επιθετικές, νεοπλασματικές κακοήθειες ως θεραπεία, κάποιες προκλήσεις εξακολουθούν να υφίστανται. Η κατανόηση και η αντιμετώπιση αυτών είναι ζωτικής σημασίας για την πρόωση του θεραπευτικού ρόλου των CAR-T κυττάρων.

- Τοξικότητα

Η τοξικότητα αποτελεί μια σημαντική πρόκληση. Ο σχεδιασμός του CAR προϊόντος, ο αντιγονικός στόχος και ο τύπος του όγκου αποτελούν κρίσιμους παράγοντες που πιθανώς προσδιορίζουν τη σοβαρότητα και τη συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου απελευθέρωσης κυτταροκινών (cytokine release syndrome, CRS), του συνδρόμου

ενεργοποίησης μακροφάγων (macrophage activation syndrome, MAS) και του συνδρόμου νευροτοξικότητας που οφείλεται σε ανοσοδραστικά κύτταρα (Immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS)³¹.

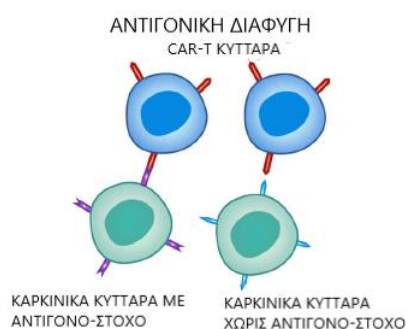
Το CRS είναι αποτέλεσμα της συνεχούς ενεργοποίησης των CAR-T κυττάρων, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση τεράστιας ποσότητας κυτταροκινών. Οι κλινικές εκδηλώσεις του CRS συνοδεύονται αρχικά από πυρετό, κόπωση και σε πιο σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να εμφανιστούν ασθενείς με υπόταση, καρδιακή δυσλειτουργία, αναπνευστική και νεφρική ανεπάρκεια, ακόμη και θάνατο³⁶.

Ενώ επιπτώσεις του MAS είναι δευτερεύουσας σημασίας λόγω της ασάφειας που δημιουργεί η αλληλεπικάλυψη με το CRS, έχει παρατηρηθεί σε περίπου 1% των ασθενών που λαμβάνουν CAR-T θεραπεία.

Οι κλινικές εκδηλώσεις του ICANS κυμαίνονται από σύγχυση, πονοκέφαλο, έλλειψη προσοχής, δυσκολία στην εύρεση λέξεων, εγκεφαλοπάθεια σε απειλητικές για τη ζωή καταστάσεις όπως εγκεφαλικό οίδημα, παροδικό κώμα³⁷.

Κάποιοι τρόποι μείωσης της νευροτοξικότητας στην CAR-T θεραπεία είναι η χρήση κορτικοστεροειδών, η αλλαγή της δομής του CAR προϊόντος και η χορήγηση προοδευτικά αυξανόμενου αριθμού κυττάρων³⁸.

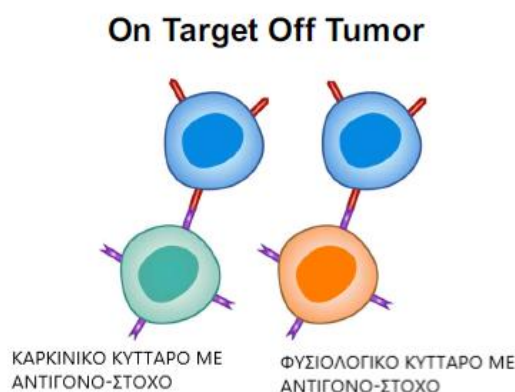
- Αντιγονική διαφυγή



Εικόνα 12: Η αντιγονική διαφυγή ως πρόκληση της CAR-T θεραπείας³⁶

Αν και αρχικά τα ποσοστά απόκρισης στην CAR-T θεραπεία είναι υψηλά, τα κακοήθη κύτταρα ενός μεγάλου ποσοστού ασθενών εμφανίζουν μερική ή πλήρη απώλεια του αντιγόνου-στόχου (Εικόνα 12). Κάτι τέτοιο μπορεί να αποφευχθεί είτε με τη χρήση δύο CAR προϊόντων, είτε με τη χρήση ενός το οποίο θα έχει δύο ScFv περιοχές έτσι ώστε να στοχεύει σε δύο αντιγονικούς επιτόπους.

- Τοξική επίδραση σε μη κακοήθη κύτταρα



Εικόνα 13: Η τοξική επίδραση σε μη κακοήθη κύτταρα ως πρόκληση στην CAR-T θεραπεία³⁶

Στην περίπτωση των αιματολογικών κακοηθειών τα μόρια-στόχοι των CAR-T κυττάρων, όπως για παράδειγμα το CD19, εκφράζονται επίσης και σε φυσιολογικά κύτταρα του αιμοποιητικού ιστού. Η τοξικότητα που προκαλείται (π.χ. μακροχρόνια μείωση των φυσιολογικών Β-λεμφοκυττάρων και υπογαμμασφαιριναιμία) ονομάζεται “on target-off tumor” τοξικότητα (ΟΤΟΤ) είναι κλινικά διαχειρίσιμη, αλλά δεν παύει να αποτελεί μια πρόκληση της κλινικής εφαρμογής της CAR-T θεραπείας (Εικόνα 13). Η αλλαγή στον σχεδιασμό του CAR προϊόντος μπορεί να δώσει τη λύση στην πρόκληση αυτή. Για παράδειγμα, μπορούν να σχεδιαστούν CAR-T κύτταρα ειδικά έναντι των κ-ελαφρών αλυσίδων, έτσι ώστε να διασώζονται τα φυσιολογικά Β-λεμφοκύτταρα που εκφράζουν λ-ελαφριές αλυσίδες³⁹. Ακόμη, υπάρχουν κάποια μόρια που εκφράζονται συχνότερα σε κακοήθη κύτταρα του αιμοποιητικού ιστού και σε προκλινικά μοντέλα φαίνεται πως μπορεί να αποτελέσουν επιλεκτικούς στόχους των CAR-T κυττάρων (π.χ. CD23, CD70, ROR1 και CD44v6), η ασφάλεια και

αποτελεσματικότητα των οποίων αναμένεται να αξιολογηθεί σε προσεχείς κλινικές μελέτες⁴⁰. Επιπλέον, ο εξωγενής έλεγχος της δραστηριότητας των CAR-T κυττάρων ή η έγκαιρη εξάλειψη τους αποτελούν μεθόδους διαχείρισης του ΟΤΟΤ⁴¹.

5. ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ

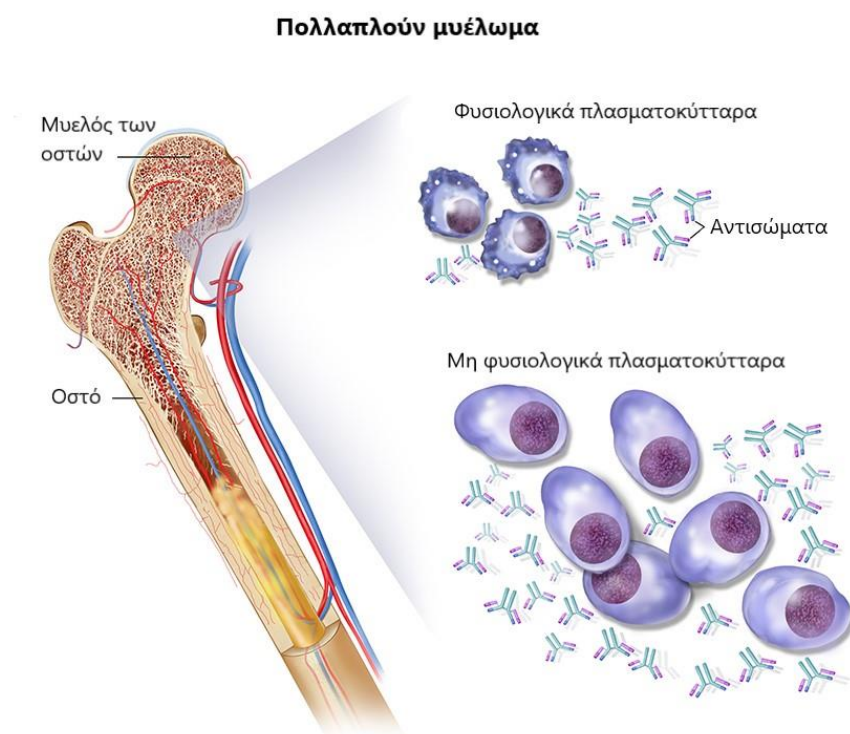
5.1 ΓΕΝΙΚΑ

Το πολλαπλό μυέλωμα (ΠΜ) είναι ένα κακόηθες νεόπλασμα των Β-λεμφοκυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος και χαρακτηρίζεται από την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη μονοκλωνικών πλασματοκυττάρων στο μυελό των οστών. Η υπέρμετρη αυτή ανάπτυξη οδηγεί στην υπερπαραγωγή μη λειτουργικών, μονοκλωνικών ανοσοσφαιρινών (μονοκλωνική παραπρωτεΐνη) ή ελεύθερων ανοσοσφαιρινικών αλυσίδων (Εικόνα 14). Η συσσώρευση αυτών των μη φυσιολογικών πρωτεϊνών και η αλληλεπίδρασή τους με άλλα κύτταρα στο μυελό των οστών οδηγεί σε μια πληθώρα προβλημάτων στα οποία συμπεριλαμβάνονται εκτός από τη διήθηση του μυελού, η αναιμία, οι οστικές βλάβες, η επιρρέπεια σε λοιμώξεις, η υπερασβεστιαμία, η νεφρική ανεπάρκεια, η κόπωση και ο πόνος.⁴²

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας το σύστημα ταξινόμησης διαφοροποιεί το ΠΜ από άλλου είδους διαταραχές των πλασματοκυττάρων, όπως η μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστης σημασίας (MGUS), το εξωμυελικό πλασματοκύττωμα και τη νόσο μονοκλωνικής εναπόθεσης ανοσοσφαιρίνης.

Το ΠΜ συχνά προκύπτει από μία προ-κακοήθη κατάσταση, την MGUS, της οποίας το ποσοστό εξέλιξης είναι 1% ανά έτος.^{43 44} Η δεύτερη πρόδρομη κατάσταση που προηγείται του ΠΜ είναι το έρπον μυέλωμα ή ασυμπτωματικό ΠΜ (Smoldering Multiple Myeloma, SMM) όπου οι ασθενείς έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες ανάπτυξης κλωνικών πλασματοκυττάρων απ' ότι οι ασθενείς με MGUS, αλλά χωρίς την ανάπτυξη των συμπτωμάτων των ασθενών με ΠΜ. Η νεοπλασματική φύση της νόσου είναι αποτέλεσμα του συνδυασμού παραγόντων που περιλαμβάνουν τόσο πρωτεύοντα όσο και δευτερεύοντα γενετικά γεγονότα, γενετική ετερογένεια με

μεταγενέστερη κλωνική εξέλιξη και αλλαγές στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών.^{45, 46}



Εικόνα 14: Πλασματοκύτταρα στο Πολλαπλο Μυέλωμα (Τροποποιημένη από <https://www.teresewinslow.com/>)

5.2 ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ

Το ΠΜ αποτελεί τη δεύτερη πιο συχνή αιματολογική κακοήθεια και είναι υπεύθυνο για το 2% των θανάτων από καρκίνο.^{47,48} Η συχνότητα του ΠΜ αυξάνεται με την ηλικία, ειδικά μετά τα 40 έτη. Λιγότερο από το 3% των ανθρώπων εμφανίζει το νόσημα σε ηλικία κάτω των 40 ετών.⁴⁹ Μέσος όρος διάγνωσης είναι τα 65 έτη και το ποσοστό 5ετούς επιβίωσης αγγίζει το 46%.⁵⁰

Η φυλή είναι ένας επιπλέον παράγοντας, ο οποίος σχετίζεται άμεσα με τη συχνότητα του ΠΜ. Σε υψηλότερη συχνότητα εμφανίζουν τη νόσο οι Αφρο-Αμερικανοί, ακολουθούν οι Καυκάσιοι με ενδιάμεση συχνότητα και τέλος οι Γιαπωνέζου/Κινέζοι με χαμηλότερη συχνότητα.⁴⁷ Όσον αφορά το φύλο, οι άνδρες νοσούν πιο συχνά από ότι οι γυναίκες.⁵¹

5.3 ΜΟΡΙΑΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ

Σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις του ΠΜ, προηγείται μια πρόδρομη διαταραχή των πλασματοκυττάρων που είναι γνωστή ως μονοκλωνική γαμμαπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας (MGUS).⁴⁴ Η αρχική μετατροπή των φυσιολογικών πλασματοκυττάρων σε κύτταρα που προκαλούν το MGUS δεν είναι ξεκάθαρη, αλλά η δυσλειτουργία των πρωτεϊνών της οικογένειας των D-κυκλινών (κυκλίνη D1, D2 και D3) είναι εμφανή στα πρώτα στάδια. Η αύξηση της έκφρασης της κυκλίνης D αποτελεί ένα σημαντικό περιστατικό αρχικά στην καθιέρωση ενός παθολογικού πλασματοκυττάρου, αλλά αυτό από μόνο του δεν είναι επαρκές για να οδηγήσει στη μετάβαση από MGUS σε MM.

Βάση των κυτταρογενετικών ανωμαλιών των ασθενών με ΠΜ, δημιουργούνται δύο υποκατηγορίες οι οποίες αντιπροσωπεύουν δύο διακριτά ογκογονικά μονοπάτια. Στην πρώτη υποκατηγορία, που αποτελεί το 40% περίπου των περιπτώσεων, εμπίπτουν οι ασθενείς με υπερδιπλοειδείς, δηλαδή με χαρακτηριστικό τους την παρουσία ενός επιπλέον αντιγράφου σε ένα ή περισσότερα από τα χρωμοσώματα 3,5,7,9,11,15,19 και 21.⁵² Η δεύτερη υποκατηγορία περιλαμβάνει το 30% περίπου των ασθενών και χαρακτηριστικό της είναι οι μεταθέσεις που επηρεάζουν τον τόπο IgH στο χρωμόσωμα 14q32.⁵³ Οι δύο πιο συχνές μεταθέσεις είναι οι 11q13 και 4p16 οι οποίες στοχεύουν στην ανοδική ρύθμιση του γονιδίου της κυκλίνης D1 και στα γονίδια FGFR3 και MMSET που οδηγούν στην καθοδική ρύθμιση της κυκλίνης D2 αντίστοιχα. Η τρίτη και μικρότερη υποκατηγορία περιλαμβάνει το 15% των ασθενών με ΠΜ που εμφανίζουν τόσο τρισωμίες όσο και IgH μεταθέσεις.

Μετά την απορρύθμιση μίας ή περισσότερων κυκλινών, απαιτούνται επιπρόσθετες γενετικές αλλαγές για να ενισχυθεί η ανάπτυξη των “ενεργοποιημένων” παθολογικών πλασματοκυττάρων. Κάτι τέτοιο μπορεί να συμβεί μέσω δευτερευόντων γεγονότων στα οποία συμπεριλαμβάνεται η απώλεια του χρωμοσώματος 13 και η απόκτηση μεταλλαγών οι οποίες οδηγούν στην ενεργοποίηση των ογκογονιδίων MYC και RAS.⁵⁴

⁵⁵ Επιπλέον κυτταρογενετικά γεγονότα, όπως η απενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου TP53 και μεταλλαγές οι οποίες απενεργοποιούν τη

ρύθμιση του NF-κB, μπορεί να συμβούν στην πορεία της νόσου και σχετίζονται συνήθως με κακή πρόγνωση.

5.4 ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗ

Τα κύτταρα του ΠΜ αναπτύσσονται σχεδόν αποκλειστικά στον μυελό των οστών, υπογραμμίζοντας τη σημασία του μικροπεριβάλλοντός του στην κυτταρική ανάπτυξη και την επιβίωση των μυελωματικών κυττάρων.

Το μικροπεριβάλλον χωρίζεται στο κυτταρικό και στο μη κυτταρικό διαμέρισμα, καθένα από τα οποία έχει συστατικά που παίζουν διακριτό ρόλο στην εξέλιξη του ΠΜ. Το κυτταρικό τμήμα αποτελείται από δύο είδη κυττάρων, τα αιμοποιητικά και τα μη-αιμοποιητικά κύτταρα. Το μη-κυτταρικό τμήμα περιλαμβάνει την εξωκυτταρική θεμέλια ουσία και μια ποικιλία κυττοκινών, χημειοκινών και αυξητικών παραγόντων που παράγονται από το κυτταρικό τμήμα.⁵⁶

Τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών υποστηρίζουν την αιμοποιητική ανάπτυξη και αποτελούν κύριο συντελεστή του κυτταρικού διαμερίσματος. Η προσκόλληση τους στα κύτταρα του ΠΜ ενεργοποιεί μονοπάτια και υποστηρίζει τον πολλαπλασιασμό και την μετανάστευση των κακόηθων κυττάρων, την αντίσταση/ανθεκτικότητα στα φάρμακα και την έκφραση αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση του μονοπατιού NF-κB στα στρωματικά κύτταρα οδηγεί στην έκκριση αντιαποπτωτικών παραγόντων και κυτοκινών, με πιο σημαντική την ιντερλευκίνη (IL)-6, η οποία ενισχύει την έκκριση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (vascular endothelial growth factor, VEGF) και έτσι ευνοείται η αγγειογένεση στο μυελό των οστών.⁵⁷

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από το μυελό των οστών έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε ποικίλους τύπους μη αιμοποιητικών κυττάρων, όπως οστεοβλάστες, και αλληλεπιδρούν άμεσα με τα ΠΜ κύτταρα, οδηγώντας έτσι στην έκκριση κυτοκινών, χημειοκινών και μορίων προσκόλλησης τα οποία υποστηρίζουν την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων.⁵⁸

Η παρουσία οστικών βλαβών αποτελεί χαρακτηριστικό σύμπτωμα του ΠΜ και οφείλεται στην ανισορροπία της αναδιαμόρφωσης των οστών. Οι οστεοβλάστες είναι υπεύθυνοι για τη δημιουργία των νέων οστών, ενώ οι οστεοκλάστες παίζουν κυρίαρχο ρόλο στην οστική απορρόφηση και καταστροφή.⁵⁹ Η μείωση του αριθμού των οστεοβλαστών και η καταστολή της δραστηριότητάς τους οδηγεί σε αυξημένη οστεολυτική δραστηριότητα και ανάπτυξη οστικών βλαβών.⁶⁰ Επιπλέον, τα μυελωματικά κύτταρα μέσω των κυτοκινών που εκκρίνουν, αυξάνουν την παραγωγή ενεργοποιημένων οστεοκλαστών. Έπειτα, οι οστεοκλάστες εκκρίνουν IL-6, η οποία διεγείρει την ανάπτυξη των μυελωματικών κυττάρων και ως εκ τούτου διατηρείται αυτός ο φαύλος κύκλος.⁶¹ Βάση πρόσφατων ερευνών, τα λιποκύτταρα ενδέχεται να υποστηρίζουν την ανάπτυξη των ΠΜ κυττάρων μέσω της έκκρισης λεπτίνης, αδιπονεκτίνης και IL-6.⁶²

5.5 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

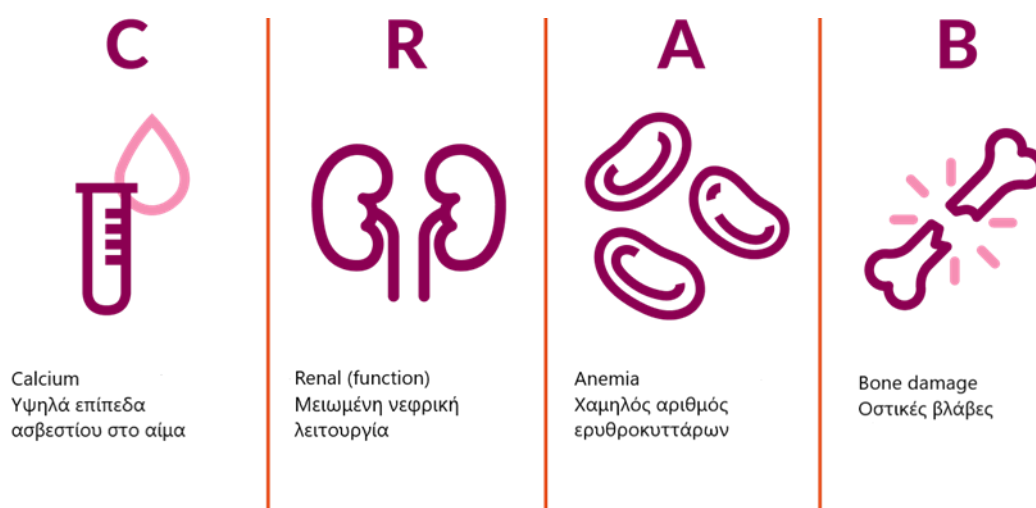
Συχνά κατά τη διάγνωση ασθενών με ΠΜ τα συμπτώματα είναι μη συγκεκριμένα και είναι παρόντα για μια παρατεταμένη περίοδο. Ωστόσο στους περισσότερους ασθενείς τα χαρακτηριστικά συμπτώματα περιλαμβάνουν πόνο λόγω της οστικής νόσου (στο 58% των ασθενών), αναιμία (39-70%), κακουχία/κούραση (32%), νεφρική ανεπάρκεια (20% των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών), υπερασβεστιαμία (10-19%) και απώλεια βάρους (25%).⁵⁰ Τα συμπτώματα αυτά είναι τυπικά αλλά αδιαφοροποίητα γι' αυτό και μπορούν να οδηγήσουν σε καθυστέρηση στη διάγνωση συγκριτικά με άλλες κακοήθειες.⁶³ Όσο η νόσος εξελίσσεται και το κλινικό φορτίο αυξάνεται, τα δυσλειτουργικά πλασματοκύτταρα διεισδύουν στα όργανα και προκαλούν βλάβες μέσω της παραγωγής μονοκλωνικών ελαφριών αλυσίδων.

Η κύρια επιπλοκή των ασθενών με ΠΜ είναι η λοίμωξη, η οποία προξενεί το μεγαλύτερο ποσοστό νοσηρότητας και θνησιμότητας από οποιονδήποτε άλλο λόγο. Στην πλειοψηφία των λοιμώξεων περιλαμβάνεται η βακτηριακή πνευμονία και προκύπτει από τον συνδυασμό της υγείας του ασθενούς και του περιβάλλοντος, της νόσου και της επίδρασης της θεραπείας. Το ποσοστό της εξέλιξης της νόσου ποικίλλει και υπάρχουν πολλοί ασθενείς οι οποίοι ζουν για δεκαετίες με την νόσο ενώ ένα

μικρότερο ποσοστό πεθαίνει από ανθεκτικότητα στη θεραπεία σύντομα μετά τη διάγνωση της νόσου.⁵⁰

5.6 ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση βασίζεται στα αναθεωρημένα κριτήρια της Διεθνούς Ομάδας Εργασίας για το Πολλαπλό Μυέλωμα (International Myeloma Working Group, IMWG).⁶⁴ Πιο συγκεκριμένα, απαιτείται η διήθηση του μυελού από κλωνικά πλασματοκύτταρα σε ποσοστό πάνω από 10% ή η ανεύρεση πλασματοκυττώματος. Για τη διάγνωση του συμπτωματικού ΠΜ απαιτείται επιπλέον και ενός ή και παραπάνω από τα καθιερωμένα CRAB κλινικά κριτήρια ή/και υψηλού κινδύνου βιοδείκτες.⁶³ Τα CRAB κριτήρια περιλαμβάνουν την υπερασβαστιαιμία (>11 mg/dL), νεφρική ανεπάρκεια (κάθαρση <40ml/min ή κρεατινίνη >2 g/dL), αναιμία (αιμοσφαιρίνη κάτω από το κατώτερο όριο κατά τουλάχιστον 2g/l) και οστική νόσο με μία ή περισσότερες οστεολυτικές εστίες (Εικόνα 15).



Εικόνα 15: CRAB κριτήρια (Τροποποιημένη από <https://thetmmrf.org/multiple-myeloma/>)

Η διάγνωση μπορεί να γίνει μέσω εργαστηριακών εξετάσεων, μυελογράμματος και οστεομελικής βιοψίας.

Στον εργαστηριακό έλεγχο που υποβάλλονται αυτοί οι ασθενείς περιλαμβάνονται τα εξής: πλήρης μέτρηση των κυττάρων του αίματος και των αιμοπεταλίων, μέτρηση

ηλεκτρολυτών, LDH, β2 μικροσφαιρίνης, ολικών πρωτεϊνών, αλβουμίνης, ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών ορού με ποσοτικοποίηση της Μ πρωτεΐνης και των ελεύθερων ελαφριών αλυσίδων καθώς και η ηλεκτροφόρηση και ανοσοκαθήλωση πρωτεϊνών ορού και ούρων.

Όσον αφορά τη βιοψία του μυελού των οστών, είναι απαραίτητη για τη διαγνωστική διαδικασία και περιλαμβάνει τις μεθόδους ανοσοϊστοχημείας ή/και κυτταρομετρίας ροής, FISH ανάλυσης και κυτταρογενετικού ελέγχου.

Οι σκελετικές βλάβες αποτελούν ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό της παθολογίας του ΠΜ και χωρίζονται σε διάφορους τύπους όπως είναι το πλασματοκύττωμα και η μυελωματώδης σκελετική βλάβη.

Αρχικά, για τη διάγνωση του ΠΜ γινόταν σκελετική απεικόνιση με ακτίνες Χ. Όμως, με τον ακτινολογικό αυτό έλεγχο παρατηρήθηκε οστεολυτική δραστηριότητα, κατά την οποία το 50% τουλάχιστον των δοκιδωτών ιστών χρειαζόταν να καταστραφεί για να απεικονιστεί. Ο έλεγχος μέσω αξονικής τομογραφίας υπερτερεί, διότι είναι πιο ευαίσθητος από τον έλεγχο με ακτίνες Χ και μπορεί να ανιχνεύσει βλάβες με <5% καταστροφή των δοκιδωτών οστών. Επιπλέον, η αξονική τομογραφία μπορεί να φανεί χρήσιμη στην εκτίμηση της συμμετοχής των περιφερικών μαλακών ιστών. Όσον αφορά την ολοσωματική μαγνητική τομογραφία, είναι πολύ ευαίσθητη και ειδική τεχνική απεικόνισης για την ανίχνευση τόσο της νόσου όσο και των μαλακών ιστών που μπορεί να εμπλέκονται. Μάλιστα η Διεθνής Ομάδα Εργασίας για το Πολλαπλό Μυέλωμα (International Myeloma Working Group, IMWG) έχει συναινέσει ομόφωνα για την χρήση της τεχνικής αυτής στην ανίχνευση του ΠΜ και υπογραμμίζει τις ενδείξεις για τη χρήση της.⁶⁴ Ωστόσο, η ολοσωματική μαγνητική τομογραφία δεν αποτελεί εργαλείο για ευρεία χρήση και έτσι η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων και η αξονική τομογραφία κερδίζουν περισσότερο έδαφος, διότι μπορούν να ανιχνεύσουν εξωμυελική νόσο η οποία μπορεί να διαφύγει από άλλες τεχνικές απεικόνισης.⁶⁵

5.7 ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Το Διεθνές Σύστημα Σταδιοποίησης (ISS) που εκδόθηκε το 2005, παρέχει ισχυρή προγνωστική αξία για όλες τις μορφές θεραπείας και διατηρεί τη συνολική προγνωστική αξία επιβίωσης σε υποτροπή.^{66, 67} Οι ασθενείς ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες με βάση τα επίπεδα τόσο της β2 μικροσφαιρίνης ορού όσο και της αλβουμίνης ορού, οι οποίες αποτελούν αντιπροσωπευτικούς δείκτες του φορτίου της νόσου⁶⁸. Το 2015 υπήρξε αναθεώρηση του Διεθνούς Συστήματος Σταδιοποίησης (ISS), για να δημιουργηθεί ένα πιο ισχυρό μέτρο πρόγνωσης και να υπάρξει καλύτερη εκτίμηση της πρόγνωσης των ασθενών. Έτσι, προστέθηκαν η παρουσία των χρωμοσωμικών ανωμαλιών t(4;14), t(14;16) και η διαγραφή del(17p) μαζί με την μέτρηση της LDH. Έτσι, με βάση πλέον το Αναθεωρημένο Σύστημα Σταδιοποίησης (R-ISS) οι ασθενείς ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες οι οποίες αντανakλούν το συνολικό χρόνο επιβίωσης. Στην πρώτη κατηγορία (Stage I) περιλαμβάνονται οι ασθενείς με 82% πιθανότητα για 5ετή επιβίωση, στη δεύτερη (Stage II) αυτοί με πιθανότητα 62% και τέλος στην τρίτη (Stage III) εκείνοι με πιθανότητα 5ετούς επιβίωσης 40%.⁶⁹

5.8 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Κατά την τελευταία δεκαετία η έκβαση των ασθενών με ΠΜ έχει βελτιωθεί σημαντικά, τόσο για ασθενείς πρόσφατα διαγνωσθέντες (NDMM) όσο και για ασθενείς με υποτροπιάζον/ανθεκτικό ΠΜ (RRMM), λόγω της χρήσης καινοτόμων θεραπευτικών παραγόντων όπως είναι οι αναστολείς πρωτεασώματος (PIs), τα ανοσοτροποιοτικά φάρμακα (IMiDs), τα μονοκλωνικά αντισώματα (MAbs), η αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (ASCT) καθώς και η θεραπεία T κυττάρων με χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα (CAR).^{70, 71}

5.8.1 ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Όσον αφορά τη θεραπευτική στρατηγική του ΠΜ οι ασθενείς διακρίνονται σε αυτούς που θεωρούνται υποψήφιοι για αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών

κυττάρων και σε αυτούς που είναι ακατάλληλοι γι' αυτού του είδους τη θεραπεία.⁴² Η ηλικία παίζει βασικό ρόλο, καθώς στους ασθενείς με ηλικία 75 ετών και άνω δεν εφαρμόζεται η μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων.⁷²

Οι ασθενείς οι οποίοι είναι δυνητικά υποψήφιοι για την αυτόλογη μεταμόσχευση αρχικά ξεκινούν μια εισαγωγική θεραπεία, χρησιμοποιώντας κάποιον αναστολέα πρωτεασώματος σε συνδυασμό με κάποιο ανοσοτροποποιητικό φάρμακο και ένα αντι-CD38 μονοκλωνικό αντίσωμα. Ακολουθεί η χημειοθεραπεία με υψηλή δόση melphalan και η αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων ενώ ακολουθεί η θεραπεία συντήρησης με lenalidomide. Η αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων του μυελού των οστών χρησιμοποιώντας υψηλή δόση melphalan είναι διαθέσιμη για πάνω από 20 χρόνια τώρα και η ασφάλεια και η ανεκτικότητα της έχει αυξηθεί δραματικά.⁷³ Σε πρόσφατες μελέτες έχει συγκριθεί η μεταμόσχευση έναντι συνδυαστικής θεραπείας έτσι ώστε να αποφευχθεί η κυτταροτοξικότητα που συνδέεται με την υψηλή δόση μελφαλάνης. Αυτές οι μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την μεταμόσχευση σαν μια πλεονεκτική διαδικασία, στην οποία υπάρχει βελτιωμένη επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (progression free survival, PFS).⁷⁴

Η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων από κάποιον συγγενή δότη (αδερφό/ή) είτε από μη συγγενή συμβατό δότη χρησιμοποιείται ελάχιστα, αλλά θεωρείται καταλληλότερη για νέους σε ηλικία ασθενείς οι οποίοι διατρέχουν υψηλό ρίσκο μυελώματος ή έχουν σύντομη υποτροπή μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση. Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη από τις ΗΠΑ, η αλλογενής μεταμόσχευση δεν υπερτερεί έναντι της επακόλουθης αυτόλογης μεταμόσχευσης, αλλά η βιβλιογραφία δεν έχει ξεκαθαρίσει ακόμη κάτι τέτοιο.^{73, 75}

Μετά την μεταμόσχευση των αιμοποιητικών κυττάρων ακολουθεί η θεραπεία συντήρησης, η οποία έχει δείξει σημαντικά οφέλη σε ένα πλήθος μελετών. Βασικός παράγοντας της θεραπείας συντήρησης για τους περισσότερους ασθενείς είναι η lenalidomide παρόλο που το bortezomib ενδέχεται να είναι πιο βοηθητική σε ασθενείς υψηλού κινδύνου με μεταθέσεις t(14;16),t(14;20) και διαγραφή del(17p) αλλά δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα από τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές.⁷⁶⁷⁷⁷⁸

Σε ασθενείς, στους οποίους δεν μπορεί να εφαρμοστεί ως θεραπεία η μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων, χορηγείται μια συνεχιζόμενη θεραπεία που αποτελείται συνήθως από το συνδυασμό ενός αντί-CD38 μονοκλωνικού αντισώματος με ένα ανοσοτροποποιητικό φάρμακο όπως είναι η lenalidomide και η dexamethasone. Η επακόλουθη θεραπεία συντήρησης γίνεται με lenalidomide.⁶⁸

Η χρήση των lenalidomide και dexamethasone καθιερώθηκε μετά τη σύγκρισή τους, σε μία μεγάλη διεθνή μελέτη, με τις melphalan, predisone και thalidomide.⁷⁹ Ιδιαίτερα σημαντική είναι η ταχεία υιοθέτηση της χρήσης του daratumumab^{80,81}, το οποίο προστέθηκε στον τυπικό πλέον συνδυασμό των melphalan, bortezomib και predisone. Αυτός ο συνδυασμός στην μελέτη ALCYONE έδειξε όφελος στο PFS σε όλες τις υποομάδες των ασθενών, συμπεριλαμβανομένων των 75 και άνω ετών καθώς και αυτών σε προχωρημένο στάδιο της νόσου και αυτών με υψηλό κυτταρογενετικό ρίσκο. Παρόλο που η προσθήκη των cyclophosphamide ή melphalan στον τυπικό συνδυασμό της επαγωγής με lenalidomide και dexamethasone δε φάνηκε να βελτίωσε το συνολικό ποσοστό επιβίωσης, πρόσφατα δεδομένα στα οποία προστίθεται το ixazomib στις lenalidomide και dexamethasone είναι πολύ ενθαρρυντικά και επιβεβαιώνουν κάποιο όφελος.⁸²

Μέχρι πρόσφατα, η πρόγνωση των ασθενών με υποτροπιάζουσα νόσο και με ανοχή στις lenalidomide και bortezomib ήταν πολύ πτωχή.⁸³ Με την εισαγωγή όμως κάποιων νέων φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των daratumumab, carfilzomib και romalidomide ήρθαν και νέα δεδομένα. Στα πλαίσια μιας μελέτης ταυτοποιήθηκε η μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα του carfilzomib έναντι του bortezomib, με βελτίωση στην επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου και στο ποσοστό ολικής επιβίωσης (overall survival, OS).⁸⁴ Επιπλέον, η μελέτη ARROW έδειξε πως το carfilzomib μπορεί να χορηγηθεί εβδομαδιαίως με την ίδια αποτελεσματικότητα.⁸⁵ Παρομοίως, βρέθηκε πως η romalidomide είναι πιο αποτελεσματική σε ασθενείς που δείχνουν ανοχή στη θεραπεία με lenalidomide.⁸⁶ Ένα νέο σχήμα που συνδυάζει τα romalidomide, carfilzomib και dexamethasone σε υποτροπιάζοντες και ανεκτικούς ασθενείς, φέρνει καλύτερα αποτελέσματα. Για τους ασθενείς, στους οποίους έγινε χρήση βαριάς θεραπείας με πολλαπλούς φαρμακευτικούς παράγοντες, υπάρχει η δυνατότητα χρήσης της θεραπείας T κυττάρων με χιμαιρικό υποδοχέα αντιγόνου (CAR).

5.8.2 ΘΕΡΑΠΕΙΑ Τ-ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR)

Η Τ κυτταρική θεραπεία με χιμαιρικούς αντιγονικούς υποδοχείς (CAR) αποτελεί μια καινοτόμο ανοσοθεραπεία η οποία συνδυάζει τα πλεονεκτήματα της ειδικής στόχευσης των μονοκλωνικών αντισωμάτων με την κυτταροτοξικότητα των Τ-κυττάρων.⁸⁷ Είναι μια θεραπεία με πολύ σημαντικά ποσοστά απόκρισης σε ασθενείς με υποτροπιάζον/ανθεκτικό ΠΜ και αυτό είναι κάτι που οδήγησε στην έγκριση δύο τέτοιων προϊόντων από τον FDA, το idecabtagene vicleucel (ide-cel) και το ciltacabtagene autoleucel (cilta-cel).

Στο ΠΜ τα πιο ελπιδοφόρα αποτελέσματα σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα ή/και ανθεκτική νόσο είναι αυτά στα οποία το CAR προϊόν στοχεύει σε μια πρωτεΐνη που ονομάζεται αντιγόνο ωρίμανσης Β-κυττάρων (BCMA). Το BCMA είναι μία διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη, μέλος της οικογένειας των TNF πρωτεϊνών, και εκφράζεται κυρίως σε φυσιολογικά πλασματοκύτταρα και ώριμα Β-κύτταρα, ενώ εμφανίζει περιορισμένη έκφραση στα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα ή σε άλλους ιστούς, πράγμα που το καθιστά ιδανικό θεραπευτικό στόχο του ΠΜ.⁹⁰

Σε μια αρχική δοκιμή, σε 16 ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο στους οποίους εισήχθη αντι-BCMA CAR Τ κλώνος με την CD28 συνδιεγερτική περιοχή, παρατηρήθηκε συνολική ανταπόκριση (overall response, OR) σε ποσοστό 81%. Ωστόσο ο κλώνος αυτός οδήγησε σε υψηλά ποσοστά τοξικότητας με το 94% των ασθενών να αναπτύσσει CRS με το 38% εξ' αυτών CRS βαθμού 3 ή παραπάνω.⁹¹

Για να μειωθεί το ποσοστό τοξικότητας, το προϊόν idecabtagene vicleucel (ide-cel, bb2121), που έλαβε έγκριση από τον FDA το 2021 για τους ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο που έχουν λάβει τουλάχιστον τρεις προηγούμενες γραμμές θεραπείας, συμπεριλαμβανομένων ενός ανοσοτροποποιητικού παράγοντα, ενός αναστολέα πρωτεασώματος και ενός αντι-CD38 μονοκλωνικού αντισώματος, και οι οποίοι έχουν εμφανίσει επιδείνωση της νόσου στην πιο πρόσφατη γραμμή θεραπείας, αναπτύχθηκε με τη χρήση του υποδοχέα 4-1BB ως συνδιεγερτική περιοχή.^{92,93} Η έγκριση βασίστηκε σε μία μελέτη φάσης 2 με 128 ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο, οι οποίοι είχαν λάβει τουλάχιστον 3 προηγούμενες

θεραπείες και στους οποίους έγινε χορήγηση του ide-cel και παρατηρήθηκε OR σε ποσοστό 73%, πλήρης απόκριση (complete response, CR) σε ποσοστό 33% και διάμεσο PFS 8.8 μήνες. Παράλληλα, μόνο το 5% των ασθενών ανέπτυξε CRS βαθμού 3 ή παραπάνω και το 18% των ασθενών ανέπτυξε νευροτοξικότητα, με μόνο 3% εξ' αυτών βαθμού 3. Έτσι φαίνεται πως το δεύτερο μοντέλο θεραπείας αποτελεί ένα πιο ανεκτό προφίλ όσον αφορά την τοξικότητα. Αξίζει να σημειωθεί πως οι κλώνοι αυτοί παρέμειναν για τουλάχιστον 12 μήνες στο 36% των ασθενών και έτσι μπορούμε να έχουμε παρατεταμένο έλεγχο της νόσου.⁹²

Με σκοπό την αύξηση της συνάφειας των CAR T κλώνων σχεδιάστηκε το ciltacabtagene autoleucel (cilta-cel), το οποίο εγκρίθηκε το 2022 από τον FDA και έχει δυο διακριτές περιοχές στόχευσης του BCMA καθώς και την 4-1BB συνδιεγερτική περιοχή.⁹⁴ Στα πλαίσια μιας έρευνας φάσεων 1/2 που έγινε σε διάφορα κέντρα, 97 ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο, η χορήγηση του cilta-cel είχε OR 97% και CR.67%. Πολύ σημαντική είναι 1-έτους OS σε ποσοστό 89% και το PFS σε ποσοστό 77%. Η τοξικότητα που παρατηρήθηκε ήταν παρόμοια με αυτή του ide-cel, με υψηλό ποσοστό του CRS (95%) αλλά χαμηλά επίπεδα για σοβαρή νόσο CRS (3%) και παρόμοια ποσοστά νευροτοξικότητας.⁹⁴

5.8.3 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ CAR T ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΤΟ ΠΜ

Παρά την σημαντικότητα, την πρόοδο και το ενδεχόμενο συνεχούς ύφεσης που έφερε στη θεραπεία των ασθενών με R/R ΠΜ η CAR T θεραπεία, η αντοχή σε αυτή παραμένει μια σημαντική πρόκληση. Έχουν αναφερθεί πολλοί μηχανισμοί αντοχής στην CAR T θεραπεία, συμπεριλαμβανομένων των κλώνων με αρνητικό αντιγόνο, της μειωμένης επιβίωσης των CAR T κυττάρων και της εξάντλησης των CAR T κυττάρων.⁹⁵

Πιο συγκεκριμένα στο ΠΜ έχει παρατηρηθεί η διαλληλική απώλεια της έκφρασης του BCMA σε ένα υποσύνολο ασθενών με υποτροπή μετά την CAR T θεραπεία.^{96,97} Ένας τρόπος να αποφύγουμε την απώλεια αυτή είναι η χρήση των αναστολέων της γ-σεκρετάσης για να αυξήσουμε την έκφραση της μεμβρανικής BCMA. Η λειτουργία της γ-σεκρετάσης είναι η αποκοπή της μεμβρανικής BCMA από τα πλασματοκύτταρα και

έτσι η διαλυτή BCMA μπορεί τότε να περιορίσει την αναγνώριση των CAR T κυττάρων από τα μυελωματικά κύτταρα.⁹⁸

Επιπλέον, για να αυξηθεί η στόχευση των κυτταρικών αντιγόνων και να μειωθεί το ρίσκο της αντιγονικής διαφυγής, υπάρχει η δυνατότητα χρήσης CAR T κυττάρων με διπλό αντιγονικό στόχο. Οι στρατηγικές που έχουν αναπτυχθεί περιλαμβάνουν την διπλή έγχυση αντί-CD19 και αντί-BCMA CAR T κυττάρων καθώς επίσης και τη χρήση αντισωμάτων διπλής ειδικότητας, όπως είναι το BCMA-CD38 CAR T προϊόν που στοχεύει το BCMA και το CD38 και το BCMA-CD29 CAR T προϊόν που στοχεύει αντίστοιχα το BCMA και το CD19.⁸⁷

Μια ακόμη σημαντική δυσκολία αποτελεί η περιορισμένη επιβίωση των κλώνων των CAR T κυττάρων. Έτσι διερευνώνται διάφορες μέθοδοι για να ενισχύσουν την ανθεκτικότητα των CAR T προϊόντων, συμπεριλαμβανομένης της βελτιστοποίησης της παραγωγής για να αυξηθεί η επιλογή τόσο των βλαστικών όσο και των υποπληθυσμών των T κυττάρων μνήμης.⁹⁹ Για τον λόγο αυτό δημιουργήθηκε το προϊόν bb21217, το οποίο περιέχει το ίδιο CAR κατασκεύασμα με το ide-cel με την προσθήκη του bb007, ο οποίος είναι αναστολέας του P13K, και αυξάνει την αναλογία των T κυττάρων μνήμης. Επιπλέον τρόποι για να αυξηθεί η αντοχή και να αντιμετωπιστεί η μειωμένη λειτουργία των CAR T κυττάρων είναι η χρήση μεταβλητών αλυσίδων πλήρους ανθρώπινης προελεύσεως για να μειωθεί η ανοσογονικότητα και η τυχόν απόρριψη των κυττάρων που περιέχουν το CAR T προϊόν^{100, 101}, ο συνδυασμός συνδιέγερσης με καινοτόμα σηματοδοτικά μονοπάτια όπως το ICOS¹⁰², ο χειρισμός των κυτοκινών για να ενισχυθεί η T κυτταρική ενεργοποίηση και η εξάπλωση του επιτόπου¹⁰³, ο συνδυασμός της θεραπείας με ανοσοτροποποιητικά μόρια όπως η lenalidomide¹⁰⁴ και τέλος το μπλοκάρισμα της απόκρισης του TGF-β έτσι ώστε να παρεμποδιστεί η επαγόμενη από όγκο ανοσοκαταστολή.¹⁰⁵

Όσον αφορά το CRS, η βασικής σημασίας κυττοκίνη γι' φαίνεται να είναι η IL-6 και η ανοσοκαταστολή της χρησιμοποιώντας το φάρμακο Tosituzumab, ένα αντίσωμα έναντι του υποδοχέα της IL-6, με ή χωρίς τη χρήση κορτικοστεροειδών μπορεί να

αντιστρέψει το σύνδρομο αλλά παράλληλα να μειώσει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας:

Τέλος, η δυσλειτουργία των T-κυττάρων που προέρχονται από τους ασθενείς ενδέχεται να περιορίσει την αποτελεσματικότητα των CAR T προϊόντων. Η CAR T θεραπεία εφαρμόζεται κυρίως σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο. Αυτό σημαίνει πως αυτόλογα λεμφοκύτταρα έχουν εκτεθεί στο ανοσοκατασταλτικό περιβάλλον του όγκου καθώς και σε πολλαπλές γραμμές θεραπείας πριν την CAR T θεραπεία.¹⁰⁶ Η σύνθεση των ενδογενών T-κυττάρων που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή του CAR προϊόντος, συμπεριλαμβανομένης της αναλογίας CD4-CD8 και την παρουσία της κεντρικής μνήμης και της μνήμης των T βλαστικών κυττάρων έχει δείξει πως επηρεάζει την εξάπλωση του CAR T προϊόντος, την αντικαρκινική δράση και την κλινική απόκριση στο ΠΜ και σε άλλες κακοήθειες των B-κυττάρων.¹⁰⁷ Μια λύση στο πρόβλημα αυτό είναι η συλλογή των T-κυττάρων για την δημιουργία του CAR προϊόντος στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης της νόσου.¹⁰⁶

Συμπερασματικά, τα εντυπωσιακά ποσοστά απόκρισης τα οποία παρατηρήθηκαν μετά την αντί-BCMA CAR T κυτταρική θεραπεία δείχνουν πως η CAR T αποτελεί ένα πολύ σημαντικό εργαλείο για τη θεραπεία ασθενών με υποτροπιάζων/ανθεκτικό ΠΜ και έχει πολύ σημαντικό αντίκτυπο στην επιβίωση των ασθενών με ανθεκτική νόσο. Οι περιορισμοί που υπάρχουν και περιγράφηκαν παραπάνω μπορούν να ξεπεραστούν με διάφορες στρατηγικές και συνεχή έρευνα.

5.8.4 ΑΛΛΟΓΕΝΗ CARs

Μετά την επιτυχία των αυτόλογων CAR προϊόντων, σειρά έχει η έρευνα των αλλογενών CAR T προϊόντων, τα οποία φαίνεται να έχουν κάποια πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τα αυτόλογα. Αρχικά πλεονεκτούν σε θέματα κατασκευής και ποιότητας και μπορούν έτσι να είναι μια άμεσα διαθέσιμη θεραπεία για άτομα με ασταθή νόσο.¹⁰⁸ Επιπλέον, πολύ σημαντικό είναι το ότι για τα αλλογενή CARs χρησιμοποιούνται T κύτταρα από υγιείς δότες και όχι δυσλειτουργικά T-κύτταρα από ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο. Προκλινικές μελέτες όπου αντί-BCMA CAR T κύτταρα προέρχονται από υγιείς δότες έδειξαν αυξημένη εξάπλωση των T -

κυττάρων και στον πληθυσμό των κυττάρων μνήμης, αυξημένη *in vitro* κυτταροτοξικότητα και μειωμένη έκφραση των checkpoint δεικτών σε σύγκριση με κύτταρα από ασθενείς με την προαναφερθείσα νόσο.¹⁰⁹ Το βασικό μειονέκτημα των αλλογενών CARs είναι το ενδεχόμενο απόρριψης το οποίο περιορίζει την ανθεκτικότητα του αλλογενούς προϊόντος καθώς και την πιθανότητα εμφάνισης GVHD. Οι πρώτες προσπάθειες για να μειωθούν οι επιπτώσεις εκτός των κυττάρων στόχων συμπεριέλαβαν την διαγραφή του TCR ή τη χρήση T κυττάρων χωρίς τις αβ αλυσίδες.¹⁰⁸ Σε μιας κλινική μελέτη φάσης 1 στην οποία συμμετείχαν 26 ασθενείς με R/R ΠΜ και χρησιμοποιήθηκε υψηλότερη δόση του ALLO-715, αλλογενής αντί-BCMA CAR T θεραπεία με αποκομμένο TCR και γονίδιο CD25 για να αποφευχθεί η GVHD, φάνηκε OR σε ποσοστό 62% και CRS στο 52% (το 2% βαθμού 3).¹¹⁰ Ωστόσο, απαιτείται επιπλέον έρευνα για να αξιολογηθεί η πιθανότητα και η σοβαρότητα της GVHD.

Συμπερασματικά προκύπτει πως ενώ η αλλογενής CAR T κυτταρική θεραπεία είναι πολλά υποσχόμενη ως άμεση ανοσοθεραπεία για ασθενείς με ΠΜ, το ρίσκο της εμφάνισης GVHD, η πολυπλοκότητα της γονιδιακής επεξεργασίας με το ρίσκο εμφάνισης γενετικών μεταλλάξεων και η πιθανή ανοσολογική απόκριση του οργανισμού έναντι του αλλογενούς CAR T προϊόντος που συνεπάγεται την μειωμένη εξάπλωση και ανθεκτικότητα *in vivo* παραμένουν προκλήσεις οι οποίες πρέπει να αντιμετωπιστούν.

5.8.5 TCR-ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ Τ ΚΥΤΤΑΡΑ

Τα TCR-τροποποιημένα T κύτταρα, είναι T κύτταρα τα οποία έχουν τροποποιημένους T-κυτταρικούς υποδοχείς έτσι ώστε να αναγνωρίζουν ένα συγκεκριμένο αντιγόνο όγκου το οποίο παρουσιάζεται στο μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας. Ενώ τα CAR-T κύτταρα προσδένονται αποκλειστικά σε επιφανειακές πρωτεΐνες των κυττάρων, τα TCR-T κύτταρα επιτρέπουν τη στόχευση τόσο ενδοκυττάρων όσο και εξωκυττάρων αντιγόνων. Ωστόσο, το βασικό εμπόδιο στην ανάπτυξή τους είναι η αναγνώριση και η γενίκευση των κατάλληλων στόχων, διότι είναι συγκεκριμένα στα αντιγόνα όγκου του κάθε ασθενή και στο HLA προφίλ του.¹¹¹ Ένα μειονέκτημα της αρχής αυτής είναι η εκτός στόχου τοξικότητα, διότι τα TCR-τροποποιημένα T κύτταρα ενδέχεται να στοχεύσουν σε παρόμοιους επιτόπους άλλων πρωτεϊνών. Επίσης, μια

σημαντική ανησυχία απορρέει από την τοξικότητα που προέρχεται όταν στοχεύονται αντιγόνα τα οποία μπορούν να εκφράζονται και από κύτταρα του όγκου αλλά και από υγιή κύτταρα (on-target/off-tumor toxicity).¹¹² Έτσι, τέλος, προκύπτει πως τα TCR-τροποποιημένα T κύτταρα ενώ αποτελούν έναν πολλά υποσχόμενο δρόμο στη στόχευση ενός ευρύ συνόλου ενδοκυττάρων αντιγόνων σε ένα υποσύνολο ασθενών με συγκεκριμένο HLA φαινότυπο, απαιτείται επιπλέον έρευνα για να αναγνωριστούν αποτελεσματικοί στόχοι, μειώνοντας παράλληλα την αλλοδραστικότητα έναντι φυσιολογικών ιστών.

5.8.6 NK ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ NK CARs

Η προσαρμοστική θεραπεία με NK κύτταρα αντιπροσωπεύει έναν ακόμη αισιόδοξο δρόμο για αντικαρκινική ανοσία. Τα NK κύτταρα έχουν πολλά πλεονεκτήματα έναντι των T κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της κυτταροτοξικής δράσης χωρίς να έχει γίνει προηγούμενη έκθεση σε αντιγόνο ή να υπάρχει HLA περιορισμός και μειωμένο κίνδυνο GVHD.

Επιπλέον, εξετάζεται η ανάπτυξη CAR NK κυττάρων με τροποποιημένα στοχευμένα αντισώματα που προσδένονται σε πρωτεΐνες σηματοδότησης NK κυττάρων. Τα CAR NK μπορούν να παραχθούν από NK κυτταρικές σειρές (όπως η NK92) ή να γίνει η επαγωγή τους από πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPSCs) αντί για αυτόλογη κατασκευή.⁸⁷ Ένα ακόμη πλεονέκτημα αποτελεί το ότι η κυτταροτοξικότητα των NK κυττάρων διαμεσολαβείται από την απελευθέρωση περφορίνης καθώς και από την έκφραση αποπτωτικών παραγόντων (FasL και TRAIL) και έτσι υπάρχει μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης του CRS.⁸⁷ Επίσης, τα NK κύτταρα από αλλογενή δότη μπορεί να επιτρέπουν ταχεία παραγωγή ενός CAR NK προϊόντος το οποίο δεν απαιτεί HLA συμβατότητα, δεν χρειάζεται να γίνεται εξατομίκευση για κάθε ασθενή και δεν απαιτείται η CRISP επεξεργασία γονιδίων όπως με τα αλλογενή CAR-T κύτταρα έτσι ώστε να αποφευχθεί το ρίσκο εμφάνισης της GVHD. Σε πειραματικά μοντέλα ποντικών, CAR NK κύτταρα τα οποία στοχεύουν τα CD138 και CS-1 έχουν δείξει αποτελεσματικότητα, χρειάζεται όμως επιπλέον προκλινική μελέτη για να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία.¹¹³

5.8.7 ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Τα μονοκλωνικά αντισώματα που έχουν λάβει έγκριση για τη θεραπεία του υποτροπιάζοντος/ανθεκτικού μυελώματος περιλαμβάνουν 3 παράγοντες οι οποίοι προσδένονται σε πρωτεΐνες που βρίσκονται στην επιφάνεια των πλασματοκυττάρων, τόσο των φυσιολογικών όσο και αυτών του ΠΜ, και είναι τα εξής:

- Daratumumab: γυμνό αντίσωμα με στόχο το CD38
- Isatuximab: γυμνό αντίσωμα με στόχο το CD38
- Elotuzumab: αντίσωμα που στοχεύει το SLAMF7

Γενικά, τα μονοκλωνικά αντισώματα οδηγούν τα πλασματοκύτταρα σε θάνατο είτε άμεσα μέσω της πρόσδεσης σε κάποιο αντιγόνο στην επιφάνεια του πλασματοκυττάρου οδηγώντας έτσι σε απόπτωση, είτε μέσω ενεργοποίησης στοιχείων του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος όπως τα φαγοκύτταρα ή το συμπλήρωμα.¹¹⁴

5.8.8 ADCs

Τα αντισώματα συζευγμένα με φάρμακα (ADCs) αποτελούνται από τρία στοιχεία: ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που αναγνωρίζει ένα συγκεκριμένο αντιγόνο του όγκου, ένα κυτταροτοξικό μόριο/φάρμακο και ένα χημικό συνδέτη ο οποίος συνδέει το αντίσωμα με το φάρμακο.¹¹⁵ Μετά την πρόσδεση του ADC στο επιφανειακό αντιγόνο του όγκου, το ADC αρχικά εσωτερικοποιείται και στη συνέχεια ο χημικός συνδέτης υδρολύεται στο εσωτερικό των λυσοσωμάτων ή των ενδοσωμάτων απελευθερώνοντας έτσι το φάρμακο που οδηγεί στο θάνατο του κυττάρου. Η θεραπεία με τα ADCs πλεονεκτεί στο ότι είναι εξαιρετικά στοχευμένα αφού στοχεύει απευθείας τα καρκινικά κύτταρα και έτσι λιγότερο από το κυτταροτοξικό φάρμακο θα εισέλθει στους φυσιολογικούς ιστούς που συνεπάγεται μειωμένη τοξικότητα. Με την πρόοδο μάλιστα της γενετικής μηχανικής μπορεί να παραχθεί μια νέα γενιά ADCs τα οποία θα έχουν ομοιογενή αναλογία φαρμάκου-αντισώματος και θα παρουσιάζουν μεγαλύτερη σταθερότητα στην κυκλοφορία.¹¹⁵ Το Belantamab mafodotin (belamaf, GSK2857916) εγκρίθηκε υπό όρους από τον FDA αλλά και την ΕΕ το 2020 και αποτελεί την πρώτη ADC

ανοσοθεραπεία για ασθενείς με υποτροπιάζον/ανθεκτικό ΠΜ που έχουν λάβει άλλες μορφές θεραπείας όπως αντί-CD38 μονοκλωνικό αντίσωμα, αναστολείς πρωτεασώματος και ανοσορυθμιστικούς παράγοντες.¹¹⁶ Νεότερα δεδομένα κλινικών δοκιμών οδήγησαν ωστόσο στην άρση της έγκρισης του φαρμάκου ως μονοθεραπεία ενώ αναμένεται η εκ νέου έγκρισή του σε συνδυασμούς.

6. ΔΙΑΧΥΤΟ ΛΕΜΦΩΜΑ ΑΠΟ ΜΕΓΑΛΑ Β ΚΥΤΤΑΡΑ (DLBCL)

6.1 ΓΕΝΙΚΑ

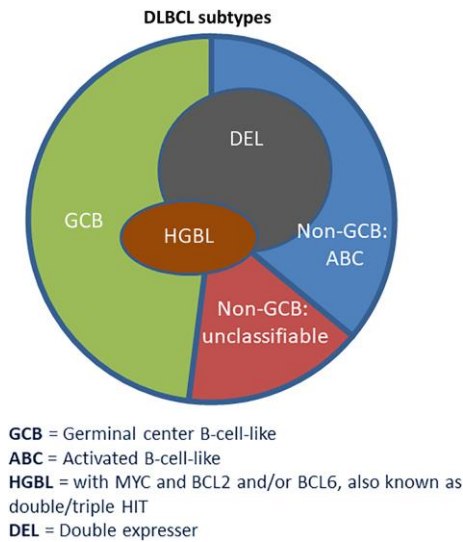
Ως λέμφωμα ορίζεται γενικά η κακοήθεια των λεμφοκυττάρων του λεμφικού συστήματος και μπορεί να προκύψει από Β-λεμφοκύτταρα, Τ-λεμφοκύτταρα ή ΝΚ-κύτταρα, κατά τη διάρκεια των διαφόρων σταδίων ωρίμανσής τους. Οι δύο κύριοι τύποι λεμφώματος είναι το Hodgkin λέμφωμα και το non-Hodgkin λέμφωμα (NHL).

Το NHL είναι συχνότερο και αποτελεί το 80% περίπου των λεμφωμάτων. Υπάρχουν περισσότεροι από 30 υποτύποι NHL με τους δύο πιο κοινούς να είναι το Διάχυτο Λέμφωμα από μεγάλα Β-κύτταρα (Diffuse large B-cell Lymphoma, DLBCL) και το Οζώδες Λέμφωμα (Follicular Lymphoma, FL)¹¹⁷.

Το DLBCL είναι ο πιο κοινός τύπος κακοήθους λεμφώματος και αποτελεί το 25% περίπου των NHL παγκοσμίως¹¹⁸. Είναι ένα επιθετικό λέμφωμα και ιστολογικά χαρακτηρίζεται από το διάχυτο πολλαπλασιασμό μεγάλων, νεοπλασματικών Β-λεμφοκυττάρων με μέγεθος πυρήνα ίσο ή μεγαλύτερο από των πυρήνα των ιστοκυττάρων. Αποτελεί έναν νεοπλασματικό τύπο με μεγάλη κλινική και παθολογική ετερογένεια, πράγμα που αντανακλά την ποικιλομορφία των Β-λεμφοκυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος¹¹⁹.

6.2 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

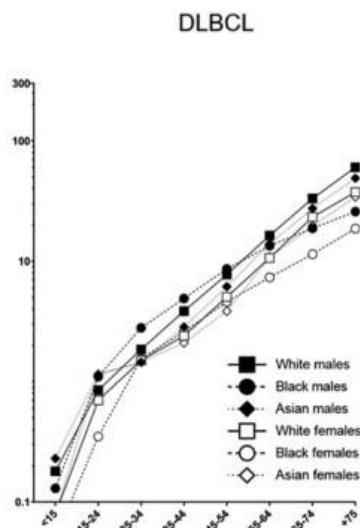
Τα DLBCLs χαρακτηρίζονται, όπως προαναφέρθηκε, από μεγάλη μορφολογική και μοριακή ετερογένεια. Έτσι, βάσει του γονιδιακού προφίλ έκφρασης υποδιαιρούνται σε δύο βασικούς τύπους, ανάλογα με το στάδιο διαφοροποίησης των Β-κυττάρων. Ο τύπος ABC-DLBCL δηλώνει ότι έχει φαινότυπο προερχόμενο από ενεργοποιημένα Β-κύτταρα και ο τύπος GCB-DLBCL φαινότυπο προερχόμενο από Β-κύτταρα του βλαστικού κέντρου¹²⁰ (Εικόνα 16). Η κατηγοριοποίηση με βάση το πρωταρχικό «κύτταρο προέλευσης» (cell of origin, COO) σχετίζεται με την κλινική πορεία και τα βιολογικά χαρακτηριστικά της νόσου με το ABC-DLBCL να παρουσιάζει πιο πτωχή πρόγνωση από το GCB-DLBCL. Ακόμη το ABC-DLBCL παρουσιάζει συνεχή ενεργοποίηση της σηματοδότησης μέσω του BCR, με αποτέλεσμα την συνεχόμενη NF-κΒ δραστηριότητα, το οποίο επάγει την κυτταρική επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό και αναστέλλει την απόπτωση^{121,122}. Από την άλλη μεριά, ο υπότυπος GCB-DLBCL βασίζεται στην ενεργοποίηση της σηματοδότησης του PI3K, η οποία επάγεται από την σηματοδότηση του BCR και γενικότερα εκφράζει γονίδια τα οποία ανιχνεύονται κυρίως στο βλαστικό κέντρο των Β-κυττάρων, όπως το BCL6 και το EZH2¹²³. Ακόμη, οι περισσότεροι ασθενείς με DLBCL παρουσιάζουν γονιδιακές αναδιατάξεις στις βαριές και ελαφριές αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών. Το 80% αυτών εκφράζει την πρωτεΐνη BCL2, ένα πρωτοογκογονίδιο με αντιαποπτωτικές ιδιότητες και το 70% τον μεταγραφικό καταστολέα BCL6. Οι ασθενείς με DLBCL και υπερέκφραση του ογκογονιδίου c-MYC και της πρωτεΐνης BCL2 (>=40% και >=50% αντίστοιχα) αποτελούν διακριτή κατηγορία, η οποία ονομάζεται DLBCL «διπλής έκφρασης» (Double Expressor Lymphoma, DEL-DLBCL) και χαρακτηρίζεται από ενδιάμεση πρόγνωση. Το DEL-DLBCL αντιπροσωπεύει περίπου το 1/3 της de novo νόσου και έως 50% του ανθεκτικού/υποτροπιάζοντος DLBCL¹²⁴. Οι ασθενείς με γενετικές αναδιατάξεις του c-MYC αλλά και ταυτόχρονες αναδιατάξεις του BCL2 ή/και του BCL6 ανήκουν στην κατηγορία των αιματολογικών κακοηθειών που ονομάζεται double-hit /triple-hit lymphomas (DH/THLs) και αντιπροσωπεύουν το 6-14% των ασθενών με DLBCL¹²⁵. Οι γενετικές αυτές αναδιατάξεις μπορούν να ταυτοποιηθούν με τη χρήση της FISH τόσο κατά τη διάγνωση όσο και κατά την υποτροπή της νόσου, ως προγνωστικό δείκτη αλλά και δείκτη θεραπείας¹²⁶.



Εικόνα 16: Υπότυποι DLBCL¹²⁶

6.3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η μέση ηλικία διάγνωσης του DLBCL είναι τα 65 έτη και το 30% των ασθενών είναι άνω των 75 ετών. Η φυλή φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο καθώς η νόσος εμφανίζεται συχνότερα σε Καυκάσιους, έπειτα σε Αφρο-Αμερικανούς και τέλος σε Γιαπωνέζους/Κινέζους. Επίσης, φαίνεται να υπάρχει υπεροχή των ανδρών, όσων αφορά το φύλο στην εκδήλωση του DLBCL, καθώς οι άντρες νοσούν πιο συχνά από τις γυναίκες¹²⁷.



Εικόνα 17: Επιδημιολογικά στοιχεία του DLBCL¹²⁷

6.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ DLBCL

Επί του παρόντος, οι καθιερωμένοι παράγοντες κινδύνου του DLBCL καλύπτουν κληρονομικές, συμπεριφορικές, λοιμώδεις και περιβαλλοντικές εκθέσεις. Οι ισχυρότεροι συσχετισμοί κινδύνου είναι αυτοί που οδηγούν σε σοβαρή ανοσολογική ανεπάρκεια όπως το HIV/AIDS, τα κληρονομικά σύνδρομα ανοσοανεπάρκειας και οι λήπτες φαρμακευτικής αγωγής μετά από μεταμόσχευση οργάνων. Παράγοντες οι οποίοι οδηγούν σε χρόνια απορρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος χαρακτηρίζονται επίσης ως παράγοντες κινδύνου και περιλαμβάνουν μια σειρά από αυτοάνοσες καταστάσεις (π.χ. σύνδρομο Sjögren, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, ρευματοειδής αρθρίτιδα), ιογενείς λοιμώξεις (π.χ. HIV, KSHV/HHV8, HCV, EBV) καθώς και η παχυσαρκία. Το οικογενειακό ιστορικό NHL/DLBCL, το προσωπικό ιστορικό καρκίνου και οι πολλαπλοί γενετικοί τύποι ευαισθησίας είναι επίσης καλά εδραιωμένοι παράγοντες κινδύνου για το DLBCL. Ακόμη, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις που συνδέουν την εμφάνιση του DLBCL με την έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως τριχλωροαιθυλένιο, βενζόλιο, φυτοφάρμακα και ζιζανιοκτόνα¹²⁷.

6.5 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

Τα βασικά συμπτώματα τα οποία παρατηρούν οι περισσότεροι ασθενείς είναι οι διογκωμένοι λεμφαδένες στο λαιμό, τις μασχάλες ή τη βουβωνική χώρα. Μπορεί να παρατηρηθεί ένα εξόγκωμα ή μια μάζα η οποία δεν υποχωρεί αλλά φαίνεται να μεγαλώνει. Άλλα συμπτώματα τα οποία ίσως κάποιος εμφανίσει περιλαμβάνουν τα εξής:

- Ανεξήγητος πυρετός ο οποίος διαρκεί περισσότερο από δύο μέρες ή επιστρέφει
- Έντονες νυχτερινές εφιδρώσεις
- Ανεξήγητη απώλεια βάρους, σε ποσοστό περίπου 10% του συνολικού βάρους του σώματος, χωρίς προσπάθεια

6.6 ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση του DLBCL ιδανικά γίνεται μέσω της βιοψίας εκτομής ενός ασυνήθιστα διογκωμένου και ύποπτα εμφανιζόμενου λεμφαδένα μετά από κλινική εξέταση και ακτινογραφική απεικόνιση. Αυτό επιτρέπει να εξεταστεί παθολογικά το μεγαλύτερο μέρος του ιστού και έτσι να αποφευχθεί πιθανό σφάλμα δειγματοληψίας και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα τα οποία μπορεί να συμβούν με αναρρόφηση με λεπτή βελόνα. Το DLBCL μπορεί συχνά να προσβάλει τα νεφρά, τα επινεφρίδια, τον εγκέφαλο, τα οστά και άλλους μαλακούς ιστούς. Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των σημείων με την υψηλότερη τυποποιημένη τιμή πρόσληψης (SUV) και πιθανώς την πιο επιθετική νόσο και να αποτελέσει ένδειξη του προτιμώμενου σημείου βιοψίας.

Μορφολογικά, το DLBCL χαρακτηρίζεται από διάχυτη διήθηση μεσαίων προς μεγάλων κυττάρων, με μεγάλους πυρήνες και άφθονο κυτταρόπλασμα, τα οποία διαταράσσουν την μορφολογία του εμπλεκόμενου λεμφαδένα. Τα κύτταρα του DLBCL εκφράζουν τυπικά αντιγόνα που εκφράζουν τα Β-κύτταρα συμπεριλαμβανομένων των CD19, CD20, CD22, CD79a, και CD45. Η πλειοψηφία των κυττάρων εκφράζει επίσης επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη (IG)¹²⁸. Τέλος, περίπου το 14% των περιπτώσεων εκφράζει την CD30, το οποίο μπορεί να προμηνύει ευνοϊκή πρόγνωση¹²⁹.

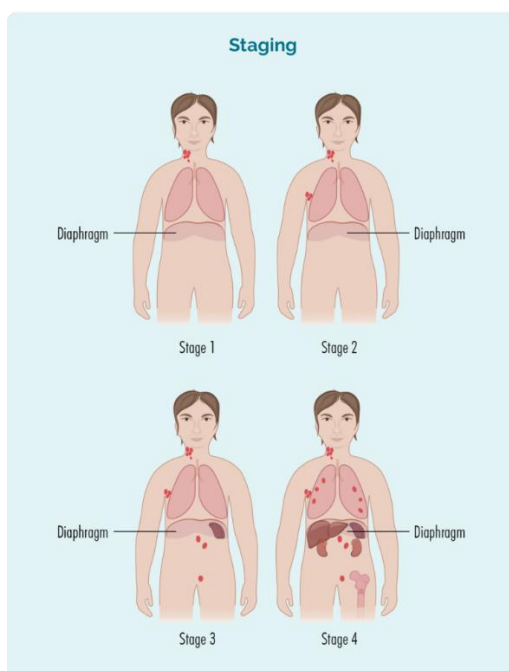
Ακόμη, σημαντικό ρόλο στη διάγνωση του DLBCL παίζουν οι εργαστηριακές εξετάσεις και πιο συγκεκριμένα η πλήρης αιματολογική εξέταση με μέτρηση των λευκοκυττάρων και των τύπων τους, η μέτρηση της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH), η ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ορού και η μέτρηση στον ορό αντισωμάτων έναντι της ηπατίτιδας Β, C και έναντι του HIV ιού¹¹⁷.

6.7 ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ DLBCL

Το τρέχων σύστημα ταξινόμησης Lugano, το οποίο βασίζεται στην ταξινόμηση της Ann Harbor που εισήχθη αρχικά για το λέμφωμα Hodgkin, κατατάσσει τους ασθενείς σε τέσσερα στάδια (I έως IV) ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου¹³⁰. Τα στάδια I και II

ονομάζονται «πρώιμο ή περιορισμένο στάδιο» και περιλαμβάνει μια περιορισμένη περιοχή του σώματός. Τα στάδια III και IV ονομάζονται «προχωρημένο στάδιο» και αφορά πιο διαδεδομένο λέμφωμα (Εικόνα 18). Πιο συγκεκριμένα, κάθε στάδιο σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Ann Arbor χαρακτηρίζεται από τα εξής:

- Στάδιο I: Επηρεάζεται μία περιοχή λεμφαδένων, είτε πάνω είτε κάτω από το διάφραγμα
- Στάδιο II: Επηρεάζονται δύο ή περισσότερες περιοχές λεμφαδένων, στην ίδια πλευρά του διαφράγματος
- Στάδιο III: Επηρεάζονται τουλάχιστον μία περιοχή λεμφαδένων πάνω και τουλάχιστον μία περιοχή λεμφαδένων κάτω από το διάφραγμα
- Στάδιο IV: Το λέμφωμα βρίσκεται σε πολλαπλούς λεμφαδένες και έχει εξαπλωθεί σε άλλα μέρη του σώματος (π.χ. οστά, πνεύμονες)



Εικόνα 18: Στάδια του DLBCL (Πηγή: <https://www.lymphoma.org.au/>)

Επίσης, κατά τη σταδιοποίηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί το πρόθεμα Α ή Β, τα οποία δίνουν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα συμπτώματα του λεμφώματος¹³¹.

6.8 ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Ο διεθνής προγνωστικός δείκτης (International Prognostic Index, IPI) που χρησιμοποιείται ομόφωνα από το 1993 για να χαρακτηρίσει την πρόγνωση στο επιθετικό NHL βασίζεται σε πέντε κλινικά χαρακτηριστικά:

- Ηλικία
- Στάδιο της νόσου
- Αριθμός εξωκομβικών θέσεων
- Performance status με βάση την κλίμακα φυσικής κατάστασης ECOG
- Τιμή της LDH

Ουσιαστικά αφορά έναν τρόπο προκειμένου να αποφασιστεί ποιος ασθενής έχει μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης του λεμφώματος μετά τη θεραπεία.

Ωστόσο, τις τελευταίες δεκαετίες έχει καταβληθεί μεγάλη προσπάθεια να αναγνωριστούν συγκεκριμένοι υπότυποι του DLBCL, βάσει του αρχικού κυττάρου προέλευσης (COO) και των μοριακών χαρακτηριστικών, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανεξάρτητα από το IPI, για να αναγνωριστεί η νόσος υψηλού κινδύνου και να προβλεφθεί τυχόν αποτυχία στην θεραπεία πρώτης γραμμής ή στη φάση υποτροπής της νόσου¹³².

Σε σύγκριση των δύο υποτύπων DLBCL, ο ABC-DLBCL έχει χειρότερη πρόγνωση από τον GCB-DLBCL με τριετή επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου σε ποσοστό περίπου 40-50% και 75% αντίστοιχα για κάθε υπότυπο.

6.9 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

6.9.1 ΘΕΡΑΠΕΙΑ 1^{ης} ΓΡΑΜΜΗΣ

Ο βασικός συνδυασμός φαρμάκων που χρησιμοποιήθηκε από το 1970 για τη θεραπεία των NHL ονομάζεται CHOP και περιλαμβάνει τέσσερα μονοκλωνικά αντισώματα: cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone. Ωστόσο, για την εντατικοποίηση του χημειοθεραπευτικού σχήματος, το 1997, βάσει κλινικών μελετών προστέθηκε στη συγκεκριμένη θεραπεία το anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο ονομάζεται rituximab και εγκρίθηκε τον ίδιο χρόνο από τον FDA. Έτσι το σχήμα

CHOP μετονομάστηκε σε R-CHOP και αποτελεί τη θεραπεία 1ης γραμμής για ασθενείς με DLBCL, αποτελούμενο από 6 κύκλους θεραπείας ανά 21 ημέρες¹³³.

Για τους περισσότερους ασθενείς με LS-DLBCL (Limited Stage-DLBCL), δηλαδή με νόσο σταδίου I ή II κατά Ann Arbor χωρίς την παρουσία ογκώδους μάζας, κλινικές μελέτες έδειξαν πως η ιδανική θεραπευτική προσέγγιση αποτελείται από 4 κύκλους R-CHOP. Ωστόσο, απαιτούνται επιπλέον κλινικές δοκιμές για να φανεί εάν χρειάζεται να καθιερωθεί και η ραδιοθεραπεία σε ασθενείς στους οποίους δεν επιτυγχάνεται πλήρης ύφεση στο ενδιάμεσο του ελέγχου με PET/CT¹³⁴.

Η θεραπεία R-CHOP κρίθηκε αποτελεσματική για ασθενείς ηλικίας 60 έως 80 ετών, οι οποίοι είναι εφικτό να λάβουν πλήρη δόση ανθρακυκλινών. Ωστόσο, το ¼ των νεοδιαγνωσθέντων με DLBCL ασθενών δεν αποτελούν κατάλληλους υποψηφίους για τη χορήγηση πλήρους δόσης ανθρακυκλινών και έτσι η R-CHOP παραμένει μια πρόκληση. Ακόμη, πρόκληση αποτελούν και η μειωμένη φυσική κατάσταση, η αδυναμία, καθώς και συχνές υποκείμενες συννοσηρότητες αλλά και η ίδια η ηλικία, όντας προχωρημένη. Έτσι, το εξασθενημένο θεραπευτικό σχήμα R-miniCHOP, το οποίο βασίζεται στην μειωμένη δόση ανθρακυκλίνης, με ποσοστό διετούς επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου 47% και ποσοστό συνολικής επιβίωσης 59%, είναι πιθανώς το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο θεραπευτικό σχήμα για ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας¹³⁵.

6.9.2 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ

Αρκετές μελέτες εξέτασαν την πιθανή αποτελεσματικότητα της θεραπείας συντήρησης μετά το σχήμα εισαγωγής R-CHOP, προκειμένου να βελτιωθούν τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα αυτής, καθώς αποδείχθηκε ότι αυτή είναι μια στρατηγική χρήσιμη σε λεμφώματα χαμηλού βαθμού. Η χρήση του rituximab δεν έδειξε κανένα όφελος επιβίωσης στη θεραπεία συντήρησης¹³⁶. Το μονοκλωνικό αντίσωμα anelumab δοκιμάστηκε στη φάση II μιας μελέτης, ως θεραπεία επαγωγής και συντήρησης, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα όσον αφορά το ποσοστό αντικειμενικής απόκρισης του όγκου (ORR), αλλά απαιτούνται περισσότερα δεδομένα σχετικά με την επιβίωση των ασθενών¹³³. Οι ηλικιωμένοι ασθενείς μεταξύ

60-80 ετών που έφτασαν σε πλήρη ή μερική ύφεση υποβλήθηκαν σε θεραπεία συντήρησης με lenalidomide. Σε σύγκριση με θεραπεία με εικονικό φάρμακο για 24 μήνες, φάνηκε ότι σε πειραματικό σκέλος βελτιώθηκε η επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου χωρίς όμως να σημειωθεί διαφορά στο ποσοστό της συνολικής επιβίωσης¹³⁷. Συμπερασματικά προκύπτει πως παρόλο που με τη θεραπεία συντήρησης ενδέχεται να μειωθεί το ποσοστό υποτροπής της νόσου, δε συνίσταται η θεραπεία συντήρησης ως χορήγηση ρουτίνας σε ασθενείς με DLBCL.

6.9.3 ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Η υποτροπή της νόσου στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), που εμφανίζεται στο 3-5% των ασθενών με DLBCL, μειώνει τραγικά το χρόνο ζωής των ασθενών, με μέση συνολική επιβίωση λιγότερο από 6 μήνες¹³⁸. Η υποτροπή στο ΚΝΣ συχνά εκδηλώνεται νωρίς μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας, υποδηλώνοντας την παρουσία κρυφής συμμετοχής του ΚΝΣ κατά τη διάγνωση.

Το μοντέλο κινδύνου CNS-IPI, το οποίο περιλαμβάνει τους πέντε παράγοντες κινδύνου IPI και την παρουσία νεφρικής ή επινεφριδιακής συμμετοχής, ταξινομεί τους ασθενείς σε κατηγορίες κινδύνου, με το 12% των ασθενών να έχει υψηλό κίνδυνο υποτροπής στο ΚΝΣ (κίνδυνος σε ποσοστό 10 έως 12%). Άλλοι παράγοντες που μπορεί να αυξήσουν αυτόν τον κίνδυνο είναι ο υπότυπος ABC και η διπλής έκφρασης των MYC και BCL2¹³⁹.

Με βάση τις τρέχουσες οδηγίες και το CNS-IPI, η προφύλαξη του ΚΝΣ με τη χρήση μεθοτρεξάτης συνιστάται για ασθενείς υψηλού κινδύνου και μπορεί να χορηγηθεί είτε ενδορραχιαίως είτε ενδοφλεβίως¹⁴⁰. Σημαντικό είναι ωστόσο το γεγονός πως πρόσφατα δημοσιευμένη αναδρομική ανάλυση δεν βρήκε σημαντική διαφορά στο ποσοστό υποτροπής του ΚΝΣ μεταξύ της ενδορραχιαίας έναντι της ενδοφλέβιας οδού χορήγησης ενώ άλλες μελέτες απέτυχαν να δείξουν μείωση του κινδύνου υποτροπής στο ΚΝΣ σε σχέση με ιστορικά δεδομένα που αφορούν τη συχνότητα υποτροπής¹⁴⁰.

Έτσι, βάσει των δεδομένων αυτών των μελετών και του ότι η ενσωμάτωση συστημικών παραγόντων στο ΚΝΣ παραμένει αναπόδεικτη και αμφιλεγόμενη, η προφυλακτική ενδορραχιαία χημειοθεραπεία δεν συνιστάται πλέον σε ασθενείς με

DLBCL¹⁴¹, ενώ η ενδοφλέβια εάν υποδεικνύεται από τον θεράποντα ιατρό συνίσταται να γίνει αφού ολοκληρωθεί η θεραπεία^{142,143}.

6.9.4 ΑΥΤΟΛΟΓΗ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Μέχρι πρόσφατα, η καθιερωμένη θεραπεία για τους ασθενείς με ανθεκτικό/υποτροπιάζον DLBCL ήταν η χημειοθεραπεία διάσωσης (salvage therapy) με επακόλουθη την αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων (ASCT).

Η ASCT καθιερώθηκε έναντι της χημειοθεραπείας σε ασθενείς με υποτροπιάζον και επιθετικό λέμφωμα, με βάση την μελέτη PARMA το 1990¹⁴⁴.

Η συνήθης προσέγγιση είναι η χορήγηση 2-3 κύκλων του σχήματος διάσωσης και εάν επιτευχθεί τουλάχιστον μερική απόκριση τότε ακολουθεί η ASCT. Υπό αυτές τις συνθήκες ο βασικός παράγοντας πρόγνωσης είναι η κατάσταση του λεμφώματος τη στιγμή της μεταμόσχευσης, αφού οι ασθενείς με μεταβολική συνολική απόκριση έχουν σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα από τους ασθενείς με μερική απόκριση, με ποσοστό επιβίωσης χωρίς εξέλιξης της νόσου 72-87% και 18-49% αντίστοιχα¹⁴⁵. Επιπλέον, η ASCT δεν ενδείκνυται σε ασθενείς με σταθερή νόσο ή νόσο η οποία εξελίσσεται μετά τη θεραπεία διάσωσης¹⁴⁶.

Όσον αφορά τη χημειοθεραπεία διάσωσης, δεν υπάρχει κανένα θεραπευτικό σχήμα που να έχει υπεροχή έναντι του άλλου από άποψη αποτελεσματικότητας καθώς όλα έχουν δείξει πτωχά αποτελέσματα σε ασθενείς που έλαβαν προκαταρκτική θεραπεία με rituximab. Έτσι, η επιλογή του σχήματος διάσωσης εξαρτάται από τον κλινικό γιατρό και το προφίλ τοξικότητας του κάθε σχήματος¹⁴⁵.

6.9.5 ΘΕΡΑΠΕΙΑ Τ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR) ΣΤΗΝ DLBCL

6.9.5.1 ΓΕΝΙΚΑ

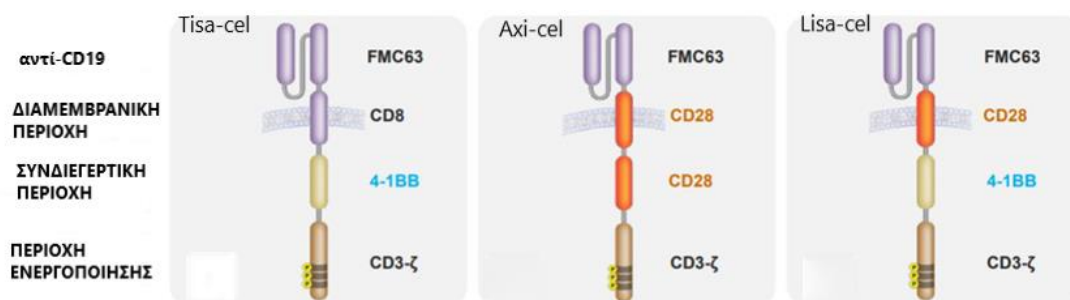
Η ανοσοθεραπεία με τη χρήση αντί-CD19 CAR-T κυττάρων αντιπροσωπεύει μια νέα θεραπευτική προσέγγιση για τους ασθενείς με υποτροπιάζον/ανθεκτικό DLBCL.

Τα τρία CAR-T προϊόντα τα οποία έχουν λάβει έγκριση από τον EMA και τον FDA για τη θεραπεία του R/R DLBCL σε ασθενείς οι οποίοι έχουν λάβει δύο τουλάχιστον θεραπευτικές γραμμές είναι τα εξής¹⁴⁷:

- axicabtagene ciloleucel (axi-cel, 2017)
- tisagenlecleucel (tisa-cel, 2018)
- lisocabtagene maraleucel (liso-cel, 2021)

Τα axi-cel και liso-cel έχουν λάβει επίσης έγκριση ως θεραπεία 2^{ης} γραμμής για ασθενείς οι οποίοι είναι από την αρχή ανθεκτικοί ή αυτούς που υποτροπιάζουν νωρίς.

Η δομή γενικά των τριών αυτών προϊόντων είναι παρόμοια όσον αφορά τη χρήση του ίδιου μεταβλητού θραύσματος μονής αλυσίδας, το FMC63 (που προέρχεται από μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού) και τη χρήση του CD3ζ για ενδοκυτταρική σηματοδότηση. Ωστόσο, χρησιμοποιούν διαφορετικούς συνδυασμούς διαμεμβρανικών και συνδιεγερτικών περιοχών. Πιο συγκεκριμένα, το axi-cel έχει το CD28 ως διαμεμβρανική και συνδιεγερτική περιοχή, το tisa-cel χρησιμοποιεί το CD8 ως διαμεμβρανική και συνδιεγερτική περιοχή και τέλος το liso-cel το CD28 ως διαμεμβρανική περιοχή και το 4-1BB ως συνδιεγερτική (Εικόνα 19).



Εικόνα 19: Εγκεκριμένα CAR-T προϊόντα για τη θεραπεία του R/R DLBCL (με συγκεκριμένες προϋποθέσεις)¹⁴⁸

6.9.5.2 Η CAR-T ΩΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑ 3^{ης} ΓΡΑΜΜΗΣ Ή ΕΠΑΚΟΛΟΥΘΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Γενικά, οι ασθενείς με χημειοανθεκτικό DLBCL που υποβλήθηκαν σε συμβατική θεραπεία είχαν πλήρη ύφεση σε ποσοστό 7%, με μέση συνολική επιβίωση τους 6

μήνες και συνολική επιβίωση 1 έτους με ποσοστό 28%, όπως φαίνεται από την μελέτη SCHOLAR-1¹⁴⁹.

Στις τρεις βασικές κλινικές δοκιμές που έγιναν πήραν μέρος ασθενείς οι οποίοι προηγουμένως είχαν λάβει βαριά θεραπεία και στην πλειονότητα ήταν χημειοανθεκτικοί. Οι εγκριτικές κλινικές δοκιμές είναι οι εξής:

- ZUMA-1 (Axi-cel)
- JULIET (Tisa-cel)
- TRANSCEND (Liso-cel)

Βάσει των κλινικών δοκιμών, τα axi-cel, tisa-cel και liso-cel σχετίζονται με πολύ υψηλό συνολικό ποσοστό απόκρισης, 52-74%, με συνολική επιβίωση 1 έτους σε ποσοστό 40-58%¹⁴⁷.

Πιο συγκεκριμένα, κατά την ZUMA-1 το ποσοστό συνολικής απόκρισης ήταν 74%, με πλήρη ύφεση το 54%. Ο μέσος χρόνος μέχρι την καλύτερη απόκρισης ήταν 1 μήνας. Επιπλέον το 1/3 των ασθενών που πέτυχαν μερική απόκριση τον πρώτο μήνα τελικά πέτυχαν πλήρη ύφεση, με την πλειοψηφία αυτών να γίνεται μέχρι τον έκτο μήνα¹⁵⁰.

Κατά την κλινική δοκιμή JULIET, το καλύτερο ποσοστό συνολικής απόκρισης ήταν 52%, με πλήρη ύφεση το 40%. Περισσότερο από το μισό του ασθενών με αρχική μερική απόκριση κατάφεραν να έχουν τελικά πλήρη ύφεση, χωρίς πρόσθετη θεραπεία.

Κατά την TRANSCEND κλινική δοκιμή, το καλύτερο ποσοστό συνολικής απόκρισης ήταν 73%, με πλήρη ύφεση το 53%, με τα ποσοστά αυτά να είναι συγκρίσιμα μεταξύ των υποομάδων ηλικίας και της ιστολογίας του όγκου¹⁴⁷.

Εξαιρετικά σημαντική είναι η παρατεταμένη διάρκεια ύφεσης της νόσου στο 30-40% περίπου των ασθενών, επιδεικνύοντας ένα πλατό στις καμπύλες επιβίωσης μετά από μακροχρόνια παρακολούθηση (5 χρόνια για το axi-cel, 3 χρόνια για το tisa-cel και 2 χρόνια για το liso-cel)¹⁴⁵. Συμπερασματικά, η θεραπευτική δυνατότητα αυτού του μοντέλου θεραπείας είναι μεγάλη.

6.9.5.3 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ CAR-T ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΣΤΟ DLBCL

Η τοξικότητα που σχετίζεται με τη θεραπεία είναι υψηλή κατά την πρώιμη φάση, δηλαδή μετά τη χορήγηση της θεραπείας, και προέρχεται κυρίως από το CRS (42-92% των ασθενών, βαθμού 3-4 σε 2-22%). Πιο συγκεκριμένα, ο μέσος χρόνος εμφάνισης του ήταν 2 ημέρες μετά την έγχυση του axi-cel, 3 μετά το tisa-cel και 5 μετά το liso-cel και ο μέσος χρόνος επίλυσης του ήταν 8,7 και 5 ημέρες αντίστοιχα. Παρόλο που η τοξικότητα που οφείλεται στο CRS, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, είναι αναστρέψιμη, μπορεί να παρατείνει τη νοσηλεία του ασθενούς στο νοσοκομείο αλλά και στη ΜΕΘ και να απαιτήσει την θεραπεία με tocilizumab (anti-IL-6), κορτικοστεροειδή και άλλα υποστηρικτικά μέτρα, όπως συμπληρωματικό οξυγόνο και αιμοκάθαρση. Στις τρεις κλινικές δοκιμές, υπήρχε ποικιλία στα ποσοστά του CRS με 92% στη ZUMA-1, 58% στη JULIET και 42% στην TRANSCEND¹⁴⁷.

Ακόμη, μετά την έγχυση των CAR-T προϊόντων παρατηρούνται νευρολογικά συμβάντα, τα οποία πλέον αναγνωρίζονται ως κομμάτι του συνδρόμου ICANS (21–64% των ασθενών, βαθμού 3–4 σε 10–28%)¹⁴⁵. Πιο συγκεκριμένα, τα ποσοστά των νευρολογικών συμβάντων στις ZUMA-1, JULIET και TRANSCEND ήταν αντίστοιχα 67%, 21% και 30%¹⁴⁷.

Επίσης συχνά οι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν κυτταροπενία, πέραν της ημέρας 30, η οποία μπορεί να είναι σοβαρή στο 30-40% των περιπτώσεων, καθώς και απλασία Β-κυττάρων και υπογαμμασφαιριναιμία, που μπορεί να οδηγήσουν σε σοβαρή ανοσοκαταστολή και αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων που είναι ικανές να οδηγήσουν ακόμη και στο θάνατο (βαθμού 3-5 στο 12-28% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία σε κλινικές δοκιμές)¹⁴⁵.

Δεδομένης της ανάγκης για ταχεία θεραπεία σε ασθενείς με επιθετικά και χημειοανθεκτικά νοσήματα, όπως στο R/R DLBCL, η καθυστέρηση στην κατασκευή του CAR-T προϊόντος αποτελεί εμπόδιο, καθώς κατά την καθυστέρηση αυτή ενδέχεται να επηρεαστεί η καταλληλότητα του ασθενούς. Επομένως, στις περισσότερες περιπτώσεις απαιτείται η θεραπεία «γεφύρωσης» (bridging therapy), όπου με στεροειδή, ακτινοθεραπεία και ανοσοθεραπεία γίνεται έλεγχος της νόσου έως ότου το προϊόν μπορεί να εγχυθεί. Στην περίπτωση αυτή, οι ασθενείς των οποίων η γενική

κατάσταση έχει επιδεινωθεί ή που έχουν μεγάλο όγκο όγκου ή υψηλά επίπεδα LDH έχουν χειρότερα αποτελέσματα με την θεραπεία CAR-T^{145,151,152}.

Τέλος, ένα σημαντικό μειονέκτημα είναι η πιθανή εγγενής δυσλειτουργία των T-κυττάρων στο εγχυόμενο προϊόν. Η παρουσία «εξαντλημένων» φαινοτύπων T-κυττάρων περιορίζει την επέκταση του προϊόντος και ρυθμιστικά κύτταρα CAR-T έχουν συσχετιστεί με τη αποτυχία της θεραπείας¹⁵³.

6.9.5.4 Η CAR-T ΩΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑ 2^{ης} ΓΡΑΜΜΗΣ

Τα αποτελέσματα των τριών βασικών κλινικών δοκιμών οδήγησε σε αύξηση του αριθμού των μελετών για αντί-CD19 CAR-T θεραπείες στο DLBCL. Μία επιτυχημένη κατεύθυνση στην οποία στράφηκε η επιστημονική κοινότητα είναι οι τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες φάσης 3, και πιο συγκεκριμένα οι ZUMA-7, BELINDA και TRANSFORM στις οποίες έγινε σύγκριση της CAR-T θεραπείας και των axi-cel, tisa-cel και liso-cel αντίστοιχα, με την τυπική θεραπεία 2^{ης} γραμμής (2-3 κύκλοι χημειοανσοθεραπείας διάσωσης και ακολουθεί η ASCT εάν επιτευχθεί μερική απόκριση ή πλήρης ύφεση) σε ασθενείς με ανθεκτικό DLBCL στην πρώτη γραμμή χημειοανσοθεραπείας ή σε πρώιμη υποτροπή (κατά το πρώτο έτος μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας πρώτης γραμμής).

Τα αποτελέσματα των ZUMA-7 και TRANSFORM ήταν εξαιρετικά θετικά. Η ZUMA-7 έδειξε πως το axi-cel με μία διάμεση παρακολούθηση 24,9 μηνών, αποτέλεσε στη σημαντική βελτίωση των τιμών πλήρης ύφεσης (65% έναντι 32%) και της 2-ετούς επιβίωσης ελεύθερης συμβάντος (41% έναντι 16%). Ακόμη, η θεραπεία με axi-cel οδήγησε στη μείωση του κινδύνου θανάτου κατά 27,4% και την απόλυτη βελτίωση της επιβίωσης κατά 8,6 ποσοστιαίες μονάδες στα 4 χρόνια. Στην TRANSFORM, με τη διάμεση παρακολούθηση να είναι 6,2 μήνες, η θεραπεία με liso-cel οδήγησε σε σημαντική βελτίωση της επιβίωσης ελεύθερης συμβάντος (διάμεση τιμή 10,1 έναντι 2,3 μήνες)^{154,155}.

Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώνουν την υπεροχή των axi-cel και liso-cel έναντι της τυπικής γραμμής θεραπείας, σε ασθενείς με πρωτοπαθές ανθεκτικό DLBCL ή πρώιμης υποτροπής (εντός ενός μήνα από την έναρξη της θεραπείας 1^{ης} γραμμής)^{145,156}.

Μάλιστα το 2022 το axi-cel πρώτα και έπειτα το liso-cel πήραν έγκριση από τον FDA και τον EMA ως CAR-T θεραπεία 2^{ης} γραμμής για το DLBCL στην ομάδα ασθενών που προαναφέρθηκε.

6.9.5.5 ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΤΗΣ CAR-T ΓΙΑ ΤΟ DLBCL

Υπάρχουν αρκετές ακόμη εν εξελίξει και προγραμματισμένες κλινικές δοκιμές με τη χρήση CAR-T κυττάρων σε ασθενείς με R/R DLBCL. Κάποιες από αυτές επικεντρώθηκαν στη βελτίωση των αποτελεσμάτων στον πληθυσμό ασθενών τρίτης γραμμής μέσω συνδυαστικών σχημάτων. Εδώ συμπεριλαμβάνονται η ZUMA-6 όπου το axi-cel συνδυάζεται με το atezolizumab, η PORTIA όπου το tisa-cel συνδυάζεται με το pembrolizumab και η PLATFORM όπου υπάρχει συνδυασμός του liso-cel με durvalumab ή ibrutinib.

Επιπλέον, μια ομάδα από μελέτες διερευνούν κύτταρα CAR-T σε άλλους πληθυσμούς ασθενών. Για παράδειγμα, η ZUMA-12 μελετά τη χρήση του axi-cel σε ασθενείς υψηλού κινδύνου με υποβέλτιστη ενδιάμεση απόκριση στη θεραπεία πρώτης γραμμής, η BIANCA διερευνά το tisa-cel σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες με B-NHL και το TRANSCEND WORLD διερευνά το liso-cel σε ενήλικες με NHL των B-κυττάρων συμπεριλαμβανομένων ασθενών με πρωτοπαθή συμμετοχή του ΚΝΣ¹⁴⁷.

7. ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

7.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (Acute Lymphoblastic Leukemia-ALL) είναι μια ταχέως αναπτυσσόμενη μορφή κακοήθειας του αίματος που αναπτύσσεται πιο συχνά στα παιδιά, αλλά μπορεί να εμφανιστεί και στους ενήλικες. Αποτελεί έναν σπάνιο τύπο νεοπλασματικής κακοήθειας, προσβάλλοντας λιγότερο από το 1% των ανθρώπων σε σύγκριση με όλους τους τύπους καρκίνου στις ΗΠΑ. Στο 80% των περιπτώσεων η ΟΛΛ εμφανίζεται στα παιδιά και εφήβους, όπου έχει παρουσιαστεί πολύ σημαντική πρόοδος στην πορεία των ασθενών, ενώ η πρόγνωση για τους

ενήλικες ασθενείς παραμένει πτωχή, με μόνο το 30-40% αυτών να κατορθώνει μακροχρόνια ύφεση.

7.2 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΟΛΛ

Η παθογένεια της ΟΛΛ οφείλεται στον υπέρμετρο πολλαπλασιασμό και συσσώρευση ενός κλωνικού πληθυσμού νεοπλασματικών λεμφοκυττάρων στο μυελό των οστών, στο περιφερικό αίμα και σε εξωμυελικές περιοχές, παρεμποδίζοντας έτσι τη φυσιολογική αιμοποίηση. Μελέτες έχουν δείξει πως ορισμένα γενετικά σύνδρομα (π.χ. σύνδρομο Down, σύνδρομο Bloom, νευροϊνωμάτωση κ.ά.) αποτελούν παράγοντες προδιάθεσης για την εμφάνιση της ΟΛΛ σε παιδιά. Άλλοι προδιαθεσικοί παράγοντες είναι η ιοντίζουσα ακτινοβολία, τα φυτοφάρμακα, συγκεκριμένοι διαλύτες και ιοί όπως ο Epstein-Barr και ο HIV. Ωστόσο, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων η ΟΛΛ εμφανίζεται ως μια *de novo* κακοήθεια σε ένα κατά τα άλλα υγιές άτομο. Το χαρακτηριστικό της ΟΛΛ είναι οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αλλά δεν αρκούν από μόνες τους για να προκαλέσουν λευχαιμία.

Κάποιες από τις πιο χαρακτηριστικές χρωμοσωμικές μετατοπίσεις είναι η αναδιάταξη ETV6-RUNX1 που προκύπτει από t(12;21)(p13;q22) και απαντάται σε 25% των *standard risk* ασθενών με Β-ΟΛΛ, η αναδιάταξη BCR-ABL1 που προκύπτει από t(9;22)(q34;q11.2), γνωστή ως χρωμόσωμα Φιλαδέλφεια θετικό (Ph+) που απαντάται σε 3-5% των ασθενών με Β-ΟΛΛ και σχετίζεται με φτωχότερη πρόγνωση, η αναδιάταξη TCF3-PBX1 που προκύπτει από t(1;19)(q22;p13.3) και δε θεωρείται πλέον κακός προγνωστικός παράγοντας και η αναδιάταξη KMT2A (MLL) που συνδέεται με πιο φτωχή πρόγνωση. Επίσης όσον αφορά τις μεταλλάξεις στο RAS μονοπάτι (KRAS, NRAS, HRAS, CBL και FLT3) συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και γενικά φτωχότερη πρόγνωση.

Τέλος, όσον αφορά τις δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, συναντάμε είτε υπερδιπλοειδία (25% των ασθενών με Β-ΟΛΛ) που αποτελεί θετικό για την πορεία των ασθενών προγνωστικό παράγοντα, είτε υποδιπλοειδία (1-2% των ασθενών) που σχετίζεται με κατώτερα ποσοστά επιβίωσης^{157,158}.

7.3 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

Η κλινική εικόνα της ΟΛΛ μπορεί να είναι άτυπη, εμφανίζοντας έναν συνδυασμό συμπτωμάτων λόγω ανεπάρκειας του μυελού των οστών (ανααιμία, θρομβοπενία, λευκοπενία). Μπορεί να συνυπάρχουν Β-συμπτώματα (πυρετός, απώλεια βάρους, νυχτερινές εφιδρώσεις), αιμορραγία ή μώλωπες, ανορεξία, δύσπνοια και μολύνσεις. Συχνά ενδέχεται να υπάρχει και συμμετοχή εξωμυελικών περιοχών.

7.4 ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση της ΟΛΛ καθορίζεται από την παρουσία λεμφοβλαστών σε ποσοστό 20% και άνω στο μυελό των οστών ή στο περιφερικό αίμα. Η εκτίμηση της μορφολογίας των κυττάρων του αίματος, η κυτταρομετρία ροής, ο ανοσοφαινότυπος και τα κυτταρογενετικά τεστ είναι σημαντικά τόσο για την επιβεβαίωση της διάγνωσης όσο και για την διαστρωμάτωση του κινδύνου. Η οσφυονωτιαία παρακέντηση και η ανάλυση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού αποτελούν βασικά στοιχεία κατά τη διάγνωση για να εκτιμηθεί η πιθανή εμπλοκή του κεντρικού νευρικού συστήματος. Εάν αυτό εμπλέκεται, τότε απαιτείται να γίνει μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου. Ένα ακόμη είδος αξιολόγησης της νόσου είναι η πλήρης μέτρηση κυττάρων του αίματος και επίχρισμα αυτού έτσι ώστε να εκτιμηθούν και τα ποσοστά των άλλων κυτταρικών σειρών. Επιπλέον, το προφίλ πήξης του αίματος παίζει σημαντικό ρόλο καθώς και τα επίπεδα βιοχημικών δεικτών όπως το ουρικό οξύ, το ασβέστιο και η LDH για την παρακολούθηση της τυχόν εμφάνισης του συνδρόμου λύσης όγκου.

7.5 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΛΛ

Η πρώτη προσπάθεια ταξινόμησης της ΟΛΛ έγινε με τα μορφολογικά κριτήρια κατά FAB, όπου οι ασθενείς με ΟΛΛ χωρίζονταν σε 3 υποτύπους (L1, L2, L3) ανάλογα με το μέγεθος των κυττάρων, του κυτταροπλάσματος, του πυρήνα και της βασηοφιλίας. Το 1997, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έκανε μια προσπάθεια ταξινόμησης και

διαφοροποίησης με βάση τη μορφολογία και το κυτταρογενετικό προφίλ των βλαστών του αίματος και αναγνωρίστηκαν 3 τύπου ΟΛΛ: Β-Λεμφοβλαστική, Τ-Λεμφοβλαστική και Burkitt-cell Λευχαιμία. Το 2008, μετά από αναθεώρηση η Burkitt-cell Λευχαιμία έπαψε να διαφοροποιείται από το Λέμφωμα Burkitt, συνεπώς οι υπότυποι έγιναν δύο: Β-ΟΛΛ με επαναλαμβανόμενες (recurrent) γενετικές ανωμαλίες και Β-ΟΛΛ μη περεταίρω προσδιοριζόμενη. Η Β-ΟΛΛ με γενετικές ανωμαλίες μπορεί αφορά υποτύπους με συγκεκριμένες χρωμοσωμικές αναδιατάξεις που φαίνονται στον Πίνακα 1. Στους ενήλικες η Β-ΟΛΛ αποτελεί το 75% των περιπτώσεων ενώ η Τ-ΟΛΛ το 25% αυτών¹⁵⁹.

Πίνακας 1: Ταξινόμηση της ΟΛΛ σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας¹⁵⁹

Category in WHO Classification
PRECURSOR LYMPHOID NEOPLASMS
B lymphoblastic leukemia/lymphoma
B lymphoblastic leukemia/lymphoma, NOS
B lymphoblastic leukemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities
B lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
B lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(v;11q23); <i>MLL</i> rearranged
B lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(12;21)(p13;q22); <i>TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)</i>
B lymphoblastic leukemia/lymphoma with hyperdiploidy
B lymphoblastic leukemia/lymphoma with hypodiploidy (hypodiploid ALL)
B lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(5;14)(q31;q32); <i>IL3-IGH</i>
B lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3); <i>E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)</i>
T lymphoblastic leukemia/lymphoma

7.6 ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Η ακριβής αξιολόγηση των προγνωστικών παραγόντων είναι υψίστης σημασίας για την διαχείριση της ΟΛΛ. Ιστορικά μιλώντας, η ηλικία και ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα κατά τη διάγνωση, χρησιμοποιήθηκαν για να γίνει η διαστρωμάτωση κινδύνου των ασθενών με ΟΛΛ. Η αύξηση της ηλικίας προμηνύει χειρότερη πρόγνωση. Ειδικότερα, οι ασθενείς άνω των 60 ετών έχουν ιδιαίτερα πτωχή πρόγνωση, με μόνο το 10-15% αυτών να έχει μακροπρόθεσμη επιβίωση¹⁶⁰. Η ηλικία αποτελεί εν μέρει υποκατάστατο άλλων προγνωστικών παραγόντων καθώς οι

ηλικιωμένοι τείνουν να έχουν νόσο με εγγενώς δυσμενή βιολογική πορεία (π.χ. Φιλαδέλφεια θετικό χρωμόσωμα, υποδιπλοειδία), συννοσηρότητες και ανικανότητα ανοχής βασικών σχημάτων χημειοθεραπείας. Τα αποτελέσματα της μελέτης MRC UKALL XII/ECOG E2993, της μεγαλύτερης πιθανής δοκιμής για τον προσδιορισμό της βέλτιστης θεραπείας, έδειξαν πως η Ph(-) ΟΛΛ θα μπορούσε να μπει στην κατηγορία χαμηλού κινδύνου (χωρίς παράγοντες κινδύνου με βάση την ηλικία ή τον αριθμό των λευκοκυττάρων), ενδιάμεσου κινδύνου (>35 ετών ή αυξημένος αριθμός λευκοκυττάρων) και υψηλού κινδύνου (>35 ετών και αυξημένος αριθμός λευκοκυττάρων). Τα επίπεδα της 5ετούς συνολικής επιβίωσης με βάση τις συγκεκριμένες κατηγορίες κινδύνου ήταν 55%, 34% και 5% αντίστοιχα¹⁶¹.

Ενώ οι κλινικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόγνωση και στην επιλογή της θεραπείας, οι κυτταρογενετικοί παράγοντες είναι εξίσου σημαντικοί στον προσδιορισμό του κινδύνου της νόσου. Η κυτταρογενετική ανωμαλία με τον μεγαλύτερο αντίκτυπο στην πρόγνωση και στη θεραπεία της ΟΛΛ είναι το χρωμόσωμα Φιλαδέλφεια t(9;22). Ο επιπολασμός του t(9;22) στους ενήλικες με ΟΛΛ κυμαίνεται μεταξύ 15-50% και αυξάνεται με την ηλικία. Η (Ph+) ΟΛΛ έχει επηρεάζει σημαντικά τόσο την πρόγνωση όσο και την θεραπεία της νόσου. Ιστορικά μιλώντας, οι ασθενείς με (Ph+) ΟΛΛ έχουν 10% πιθανότητα για 1 έτους επιβίωση αν και πλέον με την ανάπτυξη της θεραπείας με TKIs (Tyrosine Kinase Inhibitors) τα επίπεδα της επιβίωσης βελτιώθηκαν. Η μεταγενέστερη ανάλυση του MRC UKALL XII/ECOG E2993 εντόπισε κυτταρογενετικές υποομάδες Ph(-) ασθενών με πτωχότερα αποτελέσματα. Αυτές οι υποομάδες περιλάμβαναν τις αναδιατάξεις t(4;11), KMT2A, t(8;14) καθώς επίσης σύνθετο καρυότυπο (≥ 5 χρωμοσωμικές ανωμαλίες) and χαμηλή υποδιπλοειδία (30–39 χρωμοσώματα)/σχεδόν τριπλοειδία (60–78 χρωμοσώματα). Σε αντίθεση, οι ασθενείς με υπερδιπλοειδία και del(9p) παρουσίασαν σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα¹⁶². Σε επόμενη μελέτη, το the Southwest Oncology Group (SWOG) έδειξε πως μεταξύ 200 ασθενών που μελετήθηκαν, το κυτταρογενετικό προφίλ αυτών ήταν πιο σημαντικός προγνωστικός παράγοντας απ' ό τι η ηλικία και ο αριθμός των λευκοκυττάρων του αίματος¹⁶³. Πιο πρόσφατα, ένα υποσύνολο ασθενών με ΟΛΛ υψηλού κινδύνου χωρίς αναδιάταξη t(9;22), αναγνωρίστηκε να έχει παρόμοιο κυτταρογενετικό προφίλ με αυτό των ασθενών με Ph(+) ΟΛΛ. Αυτός ο τύπος της

νόσου ονομάστηκε Ph-like ΟΛΛ και σχετίζεται με πτωχή ανταπόκριση σε χημειοθεραπεία επαγωγής, αυξημένη ελάχιστη υπολειπόμενη νόσο (MRD) και πτωχά ποσοστά επιβίωσης¹⁶⁴⁻¹⁶⁶.

Ένας ακόμη αξιοσημείωτος προγνωστικός παράγοντας που καθορίζει την πορεία της νόσου είναι η απόκριση στην αρχική θεραπεία. Πρόσφατα, καθιερώθηκε ως βασική στρατηγική η εκτίμηση της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (MRD) των ασθενών, χρησιμοποιώντας τεχνικές όπως η κυτταρομετρία ροής και η PCR¹⁶⁴. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει τη σημασία της MRD για τον προσδιορισμό του κινδύνου της νόσου¹⁶⁷⁻¹⁶⁹.

Τέλος, με βάση τα όσα είναι γνωστά για τους προγνωστικούς παράγοντες σε ενήλικες ασθενείς με ΟΛΛ, το National Comprehensive Cancer Network (NCCN) έχει αναπτύξει συστάσεις για την προσέγγιση της διαστρωμάτωση κινδύνου. Το National Cancer Institute ορίζει ως έφηβους και νεαρούς ενήλικες τα άτομα ηλικίας 15-39 ετών. Το NCCN αναγνωρίζει πως αυτή η ηλικιακή ομάδα μπορεί να επωφεληθεί από τη θεραπεία με παιδιατρικά εμπνευσμένα σχήματα και έτσι αυτή η κατηγορία αντιμετωπίζεται ξεχωριστά από τους ενήλικες ασθενείς άνω των 40 ετών. Και οι δύο ηλικιακές ομάδες διαχωρίζονται έπειτα σε υποομάδες υψηλού κινδύνου Ph(+) και βασικού ρίσκου Ph(-). Το Ph(-) υποσύνολο μπορεί να κατηγοριοποιηθεί περαιτέρω με βάση την παρουσία MRD, τον αριθμό των λευκοκυττάρων και το κυτταρογενετικό προφίλ (όπως αναφέρθηκε παραπάνω).

7.7 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

7.7.1 ΚΑΘΙΕΡΩΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η δομή της θεραπείας για τους ενήλικες με ΟΛΛ βασίστηκε σε παιδιατρικά πρωτόκολλα, δυστυχώς όμως ενώ στα παιδιά με ΟΛΛ σταθερού κινδύνου (standard-risk) το ποσοστό μακροχρόνιας επιβίωσης αγγίζει το 90%, στους ενήλικες το ποσοστό δεν είναι τόσο καλό.

Η χημειοθεραπεία αποτελεί την πρώτη γραμμή θεραπείας για τους ενήλικες με ΟΛΛ και αποτελείται από τρεις φάσεις:

- Έφοδος: στόχος της είναι η εξάλειψη των λευχαιμικών κυττάρων (βλαστών) ενώ πλήρης ύφεση επιτυγχάνεται όταν δεν υπάρχει ένδειξη βλαστών στο αίμα και στο μυελό των οστών και η φυσιολογική αιμοποίηση έχει αποκατασταθεί.
- Εντατικοποίηση: κατά τη φάση αυτή η θεραπεία γίνεται πιο ισχυρή και μπορεί να διαρκέσει πολλούς μήνες. Στόχος εδώ είναι η μείωση στον αριθμό των καρκινικών κυττάρων που υπάρχουν ακόμη στο σώμα και η αποτροπή της υποτροπής της νόσου.
- Συντήρηση: στόχος της είναι η διατήρηση της νόσου σε ύφεση με την συνέχιση της χημειοθεραπείας.

Παράλληλα με τη χημειοθεραπεία χορηγείται και ενδορραχιαία χημειοθεραπεία και κρανιακή ακτινοβολία για την προφύλαξη του κεντρικού νευρικού συστήματος (CNS prophylaxis) καθ' όλη τη διάρκεια της θεραπείας. Σε συνδυασμό με την χημειοθεραπεία μπορεί επίσης να γίνει και θεραπεία με στοχευμένα φάρμακα στις τρεις αυτές φάσεις^{159,170}.

Μετά την θεραπεία εφόδου, κάποιοι ασθενείς συνεχίζουν στις άλλες δύο φάσεις που αναφέρθηκαν, ενώ όσοι είναι επιλέξιμοι μπορεί να ακολουθήσουν την αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (Allo-SCT)¹⁷¹.

Οι ασθενείς με Rh(+) ΟΛΛ χρήζουν ιδιαίτερης σημασίας, καθώς περίπου το 5-20% εξ αυτών παρουσίαζαν 5ετή επιβίωση και η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων αποτελούσε την μόνη θεραπεία. Πολλές μελέτες έδειξαν πως η allo-SCT μπορεί να βελτιώσει την συνολική επιβίωση σε ποσοστό 35-55%, ωστόσο η διαθεσιμότητα των κατάλληλων δοτών αποτελεί σημαντικό περιορισμό¹⁷². Έτσι, η έλευση των αναστολέων τυροσινικής κινάσης (TKIs) αποτέλεσε σημείο καμπής για τη θεραπεία των ασθενών με Rh(+) ΟΛΛ¹⁷³.

7.7.2 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΤΡΟΠΙΑΖΟΥΣΑΣ ΟΛΛ

Ενώ το 85-90% των ασθενών παραμένουν σε ύφεση μετά την αρχική θεραπεία επαγωγής, υπάρχουν υποομάδες ασθενών που παρουσιάζουν υποτροπή της νόσου. Συνεπώς, στις υποομάδες αυτές με υποτροπιάζουσα Ph(-) ΟΛΛ παρέχονται κάποιες επιλογές θεραπείας διάσωσης (salvage therapy). Σ' αυτές περιλαμβάνεται η επαυξημένη κυτταροτοξική χημειοθεραπεία, η αναδιαμορφωμένη χημειοθεραπεία ενός παράγοντα και η θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα.

Πιο συγκεκριμένα, η καινοτομία της χρήσης των μονοκλωνικών αντισωμάτων παρέχει θεραπεία πιθανώς χωρίς να γίνει Allo-SCT. Το blinatumomab αποτελεί αντίσωμα διπλής ειδικότητας και εγκρίθηκε από τον FDA το 2016 για τη θεραπεία της υποτροπιάζουσας και ανθεκτικής ΟΛΛ¹⁷⁴. Ο μηχανισμός λειτουργίας του είναι η σύνδεση του CD19 των Β νεοπλασματικών λεμφοκυττάρων με το CD3 των Τ λεμφοκυττάρων που οδηγεί στην ενεργοποίηση εξειδικευμένης αντίδρασης με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο των νεοπλασματικών Β λεμφοκυττάρων ¹⁷⁵. Η τοξικότητα που επάγεται από το blinatumomab είναι σε αποδεκτά πλαίσια. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες είναι πυρετός, ρίγη, ουδετεροπενία, αναιμία και υπογαμμασφαιριναιμία. Πιο σημαντικά αλλά και πιο σπάνια ανεπιθύμητα συμπτώματα είναι το CRS, η επιρροή στην ψυχική κατάσταση αλλά και οι επιληπτικές κρίσεις¹⁷⁶. Επίσης, θάνατος από σήψη έχει καταγραφεί και ενδέχεται να σχετίζεται με την θεραπεία με blinatumomab.

7.7.3 ΘΕΡΑΠΕΙΑ Τ-ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΧΙΜΑΙΡΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΠΟΔΟΧΕΑ (CAR)

Τα ιδανικά αντιγόνα-στόχοι για την CAR-T θεραπεία είναι αυτά τα οποία εκφράζονται ομοιογενώς στους όγκους, αλλά όχι σε φυσιολογικούς ιστούς γιατί έτσι θα μπορούσε να προκληθεί τοξικότητα από το CAR-T προϊόν. Κάποιοι από τους βιοδείκτες που εκφράζονται σε διαφορετικά επίπεδα στην επιφάνεια των κυττάρων με ΟΛΛ είναι οι εξής: TSLPR, CD19, CD22 και CD20¹⁷⁷.

Στην περίπτωση των κακοηθειών των Β-κυττάρων, το CD19 επιλέγεται ως ένας ιδανικός στόχος ακόμη και αν δεν αποτελεί ένα τόσο ειδικό-για όγκους αντιγόνο, διότι εκφράζεται καθ' όλη τη διάρκεια ανάπτυξης των Β-κυττάρων και υπάρχουν υψηλά ποσοστά έκφρασής του στις περισσότερες κακοήθειες Β-κυττάρων, ενώ την ίδια

στιγμή δεν εκφράζεται από τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο της απλαστικής αναιμίας¹⁷⁸.

Το CD20 εκφράζεται σε μια πληθώρα λεμφοειδών κακοηθειών. Η CAR-T θεραπεία έχει δείξει υψηλή αποτελεσματικότητα σε *in vivo* και *in vitro* μοντέλα με ΟΛΛ, στοχεύοντας είτε μόνο το CD20, είτε το CD20 σε συνδυασμό με το CD19.

Η θυμική στρωματική λεμφοποιητίνη (TSLP) είναι ένας βιολογικός παράγοντας παρόμοιος με την IL-7, ο οποίος παίζει σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση των κυττάρων του αιμοποιητικού συστήματος και στην παιδιατρική διέγερση οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας¹⁷⁷. Η υπερέκφραση του υποδοχέα της TSLP έχει παρατηρηθεί στο 15% των ασθενών χωρίς τυπικές χρωμοσωμικές αναδιατάξεις και σχετίζεται με υψηλότερο ρίσκο υποτροπής της νόσου¹⁷⁹. Έτσι προκύπτει πως ο υποδοχέας της TSLP θα μπορούσε να αποτελέσει έναν υποψήφιο στόχο για την CAR-T θεραπεία σε συγκεκριμένες περιπτώσεις της Β-ΟΛΛ.

Οι κλινικές δοκιμές της CAR-T θεραπείας για τη θεραπεία πολλών αιματολογικών κακοηθειών, συμπεριλαμβανομένης της ΟΛΛ, έχουν βελτιώσει σημαντικά την προοπτική των παιδιών με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο. Η απόδειξη αυτού ήρθε με τις αρχικές μελέτες πάνω σε μια μικρή ομάδα ασθενών με ανθεκτική στη χημειοθεραπεία ασθένεια, που έδειξε αξιοσημείωτα αποτελέσματα. Η επιτυχημένη θεραπεία των ασθενών μέσω της χρήσης αντί-CD19 CAR-T κυττάρων αποτέλεσε τη βάση για περαιτέρω έρευνα της CAR-T θεραπείας στην ΟΛΛ.

Το Tisagenlecleucel (Kymriah) αποτελεί ένα προϊόν το οποίο εγκρίθηκε το 2017 από τον FDA, την ΕΕ και την Ιαπωνία, για τη θεραπεία των παιδιών και νέων ενήλικων ασθενών με ανθεκτική/υποτροπιάζουσα Β-ΟΛΛ¹⁸⁰. Στη συγκεκριμένη θεραπεία χρησιμοποιούνται αυτόλογα αντί-CD19 CAR-T κύτταρα. Βάση κλινικών δεδομένων, το 83% των ασθενών πέτυχε μερική ή ολική απόκριση με μία μόνο έγχυση του tisagenlecleucel σε σύντομη χρονική περίοδο. Επιπλέον, το διάστημα μετά την αρχική θεραπεία χωρίς συγκεκριμένες επιπλοκές καθώς και η συνολική επιβίωση των ασθενών ήταν υψηλότερη με τη χρήση του CAR-T προϊόντος σε σύγκριση με άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις¹⁸¹.

7.7.4 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ CAR-T ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Σε ασθενείς με οξεία λευχαιμία, το βασικό πρόβλημα και τον κύριο μηχανισμό διαφυγής του όγκου μετά την CAR-T θεραπεία αποτελεί η υποδραστηριοποίηση ή ακόμη και η απώλεια του αντιγονικού επιτόπου CD19. Η εισαγωγή γονιδίων που οδηγεί σε μετατόπιση πλαισίου και η διαγραφή στα εξόνια 2-5 του CD19, που κωδικοποιούν την εξωκυτταρική επικράτεια, οδηγούν σε απώλεια του επιτόπου κατά 10 ή 20% σε παιδιά με Β-ΟΛΛ στα οποία έχει γίνει αντί-CD19 ανοσοθεραπεία. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ορατά με κυτταρομετρία ροής¹⁷⁷.

Ένας τρόπος για να ξεπεραστεί αυτή η πρόκληση της απώλειας του αντιγονικού επιτόπου με τη χρήση της CAR-T θεραπείας, είναι η χρήση επιπλέον στόχων. Αυτή η στρατηγική μπορεί να υλοποιηθεί με 4 διαφορετικές μεθόδους:

- Κάνοντας διάφορους κυτταρικούς πληθυσμούς να εκφράζουν ποικίλα CARs και εγχύοντάς τα διαδοχικά
- Χρησιμοποιώντας φορείς οι οποίοι θα έχουν δύο ή τρία διακριτά γονίδια ενδιαφέροντος (bicistronic/tricistronic vectors) μέσω της έκφρασης δύο ή τριών διαφορετικών CARs σε ένα κύτταρο
- Κατασκευάζοντας T-κύτταρα με δύο διαφορετικούς CAR φορείς
- Κωδικοποιώντας διαλληλικά CARs σε μία χιμαιρική πρωτεΐνη από έναν και μόνο φορέα^{177,182}

Επιπλέον, ένας τρόπος για να μειώσουμε την πιθανότητα της αντιγονικής απώλειας και το ποσοστό υποτροπής είναι η χρήση CAR-T κυττάρων από δότη και η διπλή στόχευση έναντι των CD19/CD22. Κάτι τέτοιο μπορεί να επιτευχθεί μέσω της κατασκευής T κυττάρων τα οποία εκφράζουν ταυτόχρονα ScFv (Single chain variable fragment).

Επίσης, μια νέα τεχνική επιτρέπει τη χρήση ενός φορέα ο οποίος εκφράζει ταυτόχρονα τρία CARs (CD19/CD20/CD22) σε ένα T-κύτταρο¹⁸³. Αυτό αποτελεί την τέλεια λύση για την θεραπεία της ΟΛΛ, εξαιτίας της ταυτόχρονης στόχευσης 3 αντιγόνων.

Δύο από τα βασικά σύνδρομα τα οποία αναπτύσσονται εξαιτίας της τοξικότητας της CAR-T θεραπείας σε ασθενείς με ΟΛΛ, ιδίως σε ενήλικες, είναι το σύνδρομο CRS και το σύνδρομο ICANS. Οι πιο συχνές παρενέργειες αυτών είναι υπογαμμασφαιριναιμία, ναυτία, ταχυκαρδία, εμετοί, διάρροιες, λοιμώξεις, υποξία, αδυναμία συγκέντρωσης. Η χρήση βιοδεικτών, όπως η CRP, που επιτρέπουν την διαστρωμάτωση των ασθενών υψηλού κινδύνου πριν τη θεραπεία έτσι ώστε να επέμβουμε προληπτικά, θα μπορούσε να μειώσει την προοπτική εμφάνισης σοβαρού CRS μετά την έγχυση.

Επιπλέον, το σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων (MAS) και το δευτεροπαθές αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο (sHLH) αναγνωρίστηκαν ως την αιτία σοβαρών ανοσολογικών διαταραχών που χαρακτηρίζονται από γεγονότα όπως η προφλεγμονώδης παραγωγή κυττοκινών και η διήθηση λεμφοϊστοκυτταρικού ιστού. Σε σπάνιες περιπτώσεις, το CRS μπορεί να εξελιχθεί σε ανθεκτικό HLH/MAS-like και να προκαλέσει τόσο τοξικότητα ώστε να επιφέρει ακόμη και θάνατο. Μια από τις πιο σημαντικές προκλήσεις των σοβαρών ανοσολογικών διαταραχών είναι η ικανότητα να διακρίνουμε το MAS/sHLH από το CRS. Η ομάδα CARTOX ανέπτυξε μια προσέγγιση για την παρακολούθηση, την βαθμολόγηση και την διαχείριση αυτών των τοξικοτήτων. Ακόμη, στις προσπάθειες που γίνονται για να αντιμετωπιστεί και να αποφευχθεί αυτή η πολυπλοκότητα είναι η χρήση βιοδεικτών, όπως η φερριτίνη και το προφίλ των κυττοκινών καθώς και η χρήση στεροειδών και/ή του φαρμάκου anakinra χωρίς να επηρεάζεται η αποτελεσματικότητα της CAR-T θεραπείας¹⁷⁷.

Μια τελευταία πρόκληση για την αποτελεσματική χρήση της CAR-T θεραπείας στην αντιμετώπιση των συμπαγών όγκων και των αιματολογικών νεοπλασιών είναι η έκφραση των γονιδίων PD-L1 και PD-L2. Οι πρωτεΐνες αυτές παρεμποδίζουν την αντικαρκινική δραστηριότητα της CAR-T θεραπείας καθώς αποτρέπουν τη δράση των T-κυττάρων. Με τη χρήση μορίων τα οποία ονομάζονται checkpoint inhibitors μπορούμε να στοχεύσουμε σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος, έτσι ώστε να υπάρχει βελτίωση της αντί-CD19 CAR-T θεραπείας σε υποτροπιάζουσα ΟΛΛ¹⁸⁵. Πιο συγκεκριμένα, σε μια κλινική μελέτη στην οποία συμμετείχαν 13 παιδιά (ηλικίας 4 έως 17 ετών) με ανθεκτική/υποτροπιάζουσα ΟΛΛ και αντιμετώπισή της με αντί-CD19 CAR-T θεραπεία, παρατηρήθηκε πως όταν παρεμποδίζεται η λειτουργία της PD-1 έχουμε τη συνεπαγόμενη βελτίωση του ποσοστού επιτυχίας της CAR-T

θεραπείας και τη μείωση του ποσοστού υποτροπής της Β-ΟΛΛ. Επιπλέον, ο σχεδιασμός μεταλλάξεων στην CD28 συνδιεγερτική περιοχή των CAR-T κυττάρων δεύτερης γενιάς, αποτελεί μια ακόμη στρατηγική με την οποία όχι μόνο βελτιώνεται η αντοχή των CAR-T κυττάρων αλλά μειώνεται και η έκφραση του PD-1, όπως παρατηρήθηκε σε μοντέλα ποντικών με Β-ΟΛΛ¹⁸⁶.

Η τελευταία στρατηγική για την βελτίωση της λειτουργίας της CAR-T θεραπείας είναι μηχανική τροποποίηση των CAR-T κυττάρων έτσι ώστε να επιτευχθεί η συνέκφραση διάφορων μορίων, όπως ρυθμιστικά μόρια, μόρια αποκλεισμού σε σημεία ελέγχου (checkpoint blockade) και κυτοκίνες. Με αυτό τον τρόπο βελτιώνεται η αντί-ογκογόνος δράση της θεραπείας, διότι διεγείρεται η προφλεγμονώδης επίδραση μέσω των δενδριτικών κυττάρων, των μακροφάγων και των φυσικών φονικών κυττάρων¹⁸⁷.

7.7.5 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

Οι ασθενείς με ΟΛΛ, λόγω των ποικίλων μοριακών και γενετικών αλλοιώσεων, είναι πιθανό να χρειάζονται παραπάνω από μία θεραπευτική προσέγγιση για την αποτελεσματικότερη θεραπεία. Έτσι, ανάλογα με τον ανοσοφαινότυπο κάθε ασθενούς εφαρμόζεται και μια πιο προσωποποιημένη θεραπεία.

Οι επιλογές και οι μελλοντικές θεραπευτικές προσεγγίσεις είναι αρκετές¹⁷⁷.

- Το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT/mTOR αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο στόχο για την αναστολή μικρών μορίων.
- Τα μονοκλωνικά αντισώματα, τα οποία αναγνωρίζουν επιφανειακά αντιγόνα των καρκινικών κυττάρων, όπως το CD19, το CD20 και το CD22 αποτελούν επίσης έναν πιθανό τρόπο θεραπείας
- Τα συζευγμένα αντισώματα σαν το inutuzumab ozogamicin προσδένονται σε λευχαιμικά κύτταρα, εσωτερικοποιούνται και απελευθερώνουν εκεί τις τοξίνες που προσβάλλουν και σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα.
- Τα αντισώματα διπλής ειδικότητας, σαν το blinatumomab, οδηγούν στην άμεση ενεργοποίηση των T-κυττάρων εναντίων των βλαστών.

- Οι αναστολείς τυροσινικής κινάσης (TKIs) μελετώνται για τη θεραπεία των ασθενών με Ph+ ΟΛΛ και TKIs δεύτερης και τρίτης γενιάς για τη θεραπεία των ασθενών υψηλού κινδύνου Ph-like.

8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η CAR-T αποτελεί μια επαναστατική θεραπεία στην αντιμετώπιση των νεοπλασματικών κακοηθειών, η οποία ξεκίνησε περίπου 20 χρόνια πριν. Πρόκειται στην ουσία για την γενετική τροποποίηση των αυτόλογων T λεμφοκυττάρων του ασθενούς, έτσι ώστε να εκφράζουν έναν χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα (CAR), μέσω του οποίου αναγνωρίζουν και επιτίθενται σε καρκινικά κύτταρα. Η πρόοδος των κλινικών δοκιμών και η ανάγκη για επίλυση κάποιων δυσκολιών οδήγησε στην εξέλιξη του αρχικού CAR προϊόντος, σε CARs 2^{ης}, 3^{ης} και 4^{ης} γενιάς. Παρά τις προκλήσεις που υπάρχουν (π.χ. τοξικότητα, αντιγονική διαφυγή), η CAR-T θεραπεία αποτελεί ένα εξατομικευμένο, σύγχρονο και ισχυρό εργαλείο.

Το ΠΜ αποτελεί τη 2^η πιο συχνή αιματολογική κακοήθεια και αφορά τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό μονοκλωνικών πλασματοκυττάρων και την παραγωγή μη φυσιολογικών ανοσοσφαιρινών. Η πρώτη γραμμή θεραπείας που ακολουθείται για τη θεραπεία του ΠΜ είναι η αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (ASCT), σε ασθενείς οι οποίοι θεωρούνται κατάλληλοι (π.χ. ασθενείς >75 ετών θεωρούνται ακατάλληλοι). Για τους ασθενείς οι οποίοι δεν μπορούν να λάβουν ASCT, ακολουθείται η θεραπεία με τη χρήση ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων (π.χ. lenalidomide), αναστολείς πρωτεασώματος, μονοκλωνικών αντισωμάτων (έναντι CD38) καθώς και μονοκλωνικών αντισωμάτων συζευγμένων με φάρμακα (ADCs). Όσον αφορά τους ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική νόσο και μη απόκριση σε τουλάχιστον τρεις προηγούμενες θεραπευτικές γραμμές, η CAR-T θεραπεία και η έγκριση των προϊόντων ide-cel και cilta-cel (το 2021 και 2022 αντίστοιχα) ήταν επαναστατική, καθώς βελτίωσε το προσδόκιμο ζωής των ασθενών. Συμπερασματικά προκύπτει πως για τη θεραπεία του ΠΜ, ο συνδυασμός διαφορετικών ανοσοθεραπευτικών στρατηγικών που στοχεύουν τον BCMA, μαζί με τη χρήση ανοσορυθμιστικών φαρμάκων είναι το κλειδί για τον έλεγχο της πορείας της νόσου.

Το DLBCL είναι ένα επιθετικό λέμφωμα, αποτελεί τον πιο κοινό τύπο NHL και χαρακτηρίζεται από τον διάχυτο πολλαπλασιασμό μεγάλων Β λεμφοκυττάρων. Διαχωρίζεται σε δύο βασικούς τύπους, ανάλογα με το στάδιο διαφοροποίησης των Β-κυττάρων, με τον υπότυπο ABC-DLBCL να έχει χειρότερη πρόγνωση από τον GCB-DLBCL. Η θεραπεία 1^{ης} γραμμής που ακολουθείται κυρίως ονομάζεται R-CHOP. Για τους ασθενείς με ανθεκτικό/υποτροπιάζον DLBCL, καθιερωμένη στρατηγική αποτελούσε η χημειοθεραπεία διάσωσης με επακόλουθη την ASCT. Ωστόσο, η CAR-T θεραπεία και η έγκριση των αντι-CD19 προϊόντων axi-cel, tisa-cel και liso-cel (το 2017, 2018 και 2021 αντίστοιχα) από τον FDA και EMA, άνοιξε νέο ελπιδοφόρο δρόμο στη θεραπεία ασθενών με ανθεκτικό/υποτροπιάζον DLBCL που έχουν λάβει προηγουμένως θεραπεία βάσει δύο τουλάχιστον πρωτοκόλλων και έτσι εντάσσεται ως θεραπεία 3^{ης} γραμμής. Ωστόσο, εντυπωσιακό είναι το γεγονός πως, πρόσφατα, το 2022, το axi-cel και το liso-cel πήραν έγκριση από τον FDA και τον EMA για τη χρήση ως θεραπεία 2^{ης} γραμμής για ασθενείς με ανθεκτικό DLBCL στην πρώτη γραμμή ανοσοχημειοθεραπείας ή σε πρώιμη υποτροπή (κατά το πρώτο έτος μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας πρώτης γραμμής). Έτσι, οι μέχρι τώρα επιτυχημένες αλλά και οι μελλοντικές κλινικές δοκιμές της CAR-T θεραπείας έναντι του DLBCL δείχνουν τον καθοριστικό της ρόλο στην αντιμετώπιση του DLBCL.

Η Β-ΟΛΛ αποτελεί έναν σπάνιο τύπο νεοπλασματικής κακοήθειας που εμφανίζεται κυρίως σε παιδιά και εφήβους και χαρακτηρίζεται από τον υπέρμετρο πολλαπλασιασμό και συσσώρευση ενός κλωνικού πληθυσμού λεμφοκυττάρων στο μυελό των οστών, στο περιφερικό αίμα και σε εξωμυελικές περιοχές. Στους ενήλικες εμφανίζεται σε πολύ μικρότερο ποσοστό από τους νέους, με την πρόγνωση ωστόσο να είναι πολύ πτωχότερη. Η δομή της θεραπείας για τους ενήλικες με ΟΛΛ βασίζεται σε παιδιατρικά πρωτόκολλα, με την χημειοθεραπεία να αποτελεί την καθιερωμένη θεραπεία. Ακολουθεί η θεραπεία επαγωγής και η allo-ASCT σε επιλέξιμους ασθενείς. Στο 85% περίπου των ασθενών που υποτροπιάζουν, μπορεί να εφαρμοσθεί η θεραπεία διάσωσης, που περιλαμβάνει την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων. Ωστόσο, ιδίως στην περίπτωση της Β-ΟΛΛ η CAR-T θεραπεία αποτέλεσε σημείο-σταθμό, διότι το tisa-cel είναι το πρώτο αντί-CD19 CAR-T προϊόν που εγκρίθηκε το 2017 από τον FDA και τον EMA για την θεραπεία των παιδιών και νέων ενήλικων

ασθενών με ανθεκτική/υποτροπιάζουσα Β-ΟΛΛ. Βάσει κλινικών μελετών, πάνω από 80% των ασθενών εμφάνισε ανταπόκριση στη θεραπεία. Συμπερασματικά, προκύπτει πως ο συνδυασμός των θεραπευτικών πρωτοκόλλων, όπως χημειοθεραπείας, ASCT και CAR-T θεραπείας, αναλόγως την κλινική περίπτωση και λαμβάνοντας υπόψιν τις παρενέργειες της εκάστοτε προσέγγισης, μπορεί να οδηγήσει στην αποτελεσματικότερη θεραπεία της Β-ΟΛΛ.

Όπως φαίνεται, η CAR-T θεραπεία ήρθε για να αλλάξει τα δεδομένα στη θεραπεία των νεοπλασματικών κακοηθειών. Ωστόσο, κάποιες προκλήσεις εξακολουθούν να υπάρχουν. Κάποιες από αυτές είναι το κόστος και η διαθεσιμότητα της θεραπείας και η συλλογή των Τ λεμφοκυττάρων, η οποία είναι χρονοβόρα και πολύπλοκη ιδιαίτερα για ασθενείς με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα. Επιπλέον, η CAR-T δεν ενδείκνυται για τη θεραπεία συμπαγών όγκων, εξαιτίας της ετερογένειας του μικροπεριβάλλοντος. Με τη συνεχή έρευνα και την υποστήριξη, φυσικά, της πολιτείας η CAR-T θεραπεία μπορεί να γίνει ασφαλέστερη και αποτελεσματικότερη, έτσι ώστε να συνεχίσει να προσφέρει ελπίδα σε ακόμη περισσότερους ασθενείς.

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kindt, T.J., et al., *Kuby Immunology. 6th Ed. 2007, New York: W.H. Freeman. Xxii, 574, A-31, G-12, AN-27, I-27 p.*
2. Owen, J. A. P. J. S. S. A. J. P. P. K. J. *Kuby Immunology. vol. xxvii (New York : W.H. Freeman, c2013., 2013).*
3. LeBien, T. W. & Tedder, T. F. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* **112**, 1570–80 (2008).
4. Matthias, P. & Rolink, A. G. Transcriptional networks in developing and mature B cells. *Nat Rev Immunol* **5**, 497–508 (2005).
5. Janeway, C. and P. T. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease.* (London ; San Francisco New York, 1996).
6. Klein, U. & Dalla-Favera, R. Germinal centres: role in B-cell physiology and malignancy. *Nat Rev Immunol* **8**, 22–33 (2008).
7. Delves, P. J. and I. M. R. *Roitt's Essential Immunology.* (Chichester, West Sussex, 2011).
8. Parham, P. a. C. J. ., *The Immune System.* (2009).
9. Freda K. Stevenson, S. K. A. J. D. A. J. S. G. P. B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 4313–4320 (2011).
10. Petlickovski, A. et al. Sustained signaling through the B-cell receptor induces Mcl-1 and promotes survival of chronic lymphocytic leukemia B cells. *Blood* **105**, 4820–7 (2005).
11. Goldsby R. - Kindt T. - Kuby J. - Osborne B. *Immunology.* (2013).
12. Goldsby R. - Kindt T. - Kuby J. - Osborne B. *Immunology.* (Broken Hill Publishers Ltd, 2013).
13. Goldsby R. - Kindt T. - Kuby J. - Osborne B. *Immunology.* (2013).
14. Maude, S. L. et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* **378**, 439–448 (2018).

15. Dotti, G., Gottschalk, S., Savoldo, B. & Brenner, M. K. Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells. *Immunol Rev* **257**, 107–26 (2014).
16. Eshhar, Z., Waks, T., Gross, G. & Schindler, D. G. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**, 720–4 (1993).
17. Dotti, G., Gottschalk, S., Savoldo, B. & Brenner, M. K. Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells. *Immunol Rev* **257**, 107–26 (2014).
18. Hudecek, M. *et al.* Receptor affinity and extracellular domain modifications affect tumor recognition by ROR1-specific chimeric antigen receptor T cells. *Clin Cancer Res* **19**, 3153–64 (2013).
19. Chmielewski, M., Hombach, A., Heuser, C., Adams, G. P. & Abken, H. T cell activation by antibody-like immunoreceptors: increase in affinity of the single-chain fragment domain above threshold does not increase T cell activation against antigen-positive target cells but decreases selectivity. *J Immunol* **173**, 7647–53 (2004).
20. Lu, J. & Jiang, G. The journey of CAR-T therapy in hematological malignancies. *Molecular Cancer* vol. 21 Preprint at <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01663-0> (2022).
21. Hombach, A. *et al.* T cell activation by recombinant FcepsilonRI gamma-chain immune receptors: an extracellular spacer domain impairs antigen-dependent T cell activation but not antigen recognition. *Gene Ther* **7**, 1067–75 (2000).
22. Brownlie, R. J. & Zamoyska, R. T cell receptor signalling networks: branched, diversified and bounded. *Nat Rev Immunol* **13**, 257–69 (2013).
23. Gajewski, T. F. *et al.* Immune resistance orchestrated by the tumor microenvironment. *Immunol Rev* **213**, 131–45 (2006).

24. Brocker, T. Chimeric Fv-zeta or Fv-epsilon receptors are not sufficient to induce activation or cytokine production in peripheral T cells. *Blood* **96**, 1999–2001 (2000).
25. Krause, A. *et al.* Antigen-dependent CD28 signaling selectively enhances survival and proliferation in genetically modified activated human primary T lymphocytes. *J Exp Med* **188**, 619–26 (1998).
26. Pegram, H. J., Park, J. H. & Brentjens, R. J. CD28z CARs and armored CARs. *Cancer J* **20**, 127–33 (2014).
27. Zhai, X., Mao, L., Wu, M., Liu, J. & Yu, S. Challenges of Anti-Mesothelin CAR-T-Cell Therapy. *Cancers* vol. 15 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cancers15051357> (2023).
28. Smith, J. W. Apheresis techniques and cellular immunomodulation. *Ther Apher* **1**, 203–6 (1997).
29. June, C. H. Principles of adoptive T cell cancer therapy. *J Clin Invest* **117**, 1204–12 (2007).
30. Gattinoni, L. *et al.* A human memory T cell subset with stem cell-like properties. *Nat Med* **17**, 1290–7 (2011).
31. Levine, B. L., Miskin, J., Wonnacott, K. & Keir, C. Global Manufacturing of CAR T Cell Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev* **4**, 92–101 (2017).
32. Han, D., Xu, Z., Zhuang, Y., Ye, Z. & Qian, Q. Current Progress in CAR-T Cell Therapy for Hematological Malignancies. *J Cancer* **12**, 326–334 (2021).
33. Vormittag, P., Gunn, R., Ghorashian, S. & Veraitch, F. S. A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Curr Opin Biotechnol* **53**, 164–181 (2018).
34. Kebriaei, P. *et al.* Phase I trials using Sleeping Beauty to generate CD19-specific CAR T cells. *J Clin Invest* **126**, 3363–76 (2016).
35. Kochenderfer, J. N. *et al.* B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood* **119**, 2709–20 (2012).

36. Sterner, R. C. & Sterner, R. M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer Journal* vol. 11 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00459-7> (2021).
37. Lee, D. W. *et al.* ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant* **25**, 625–638 (2019).
38. Dotti, G., Gottschalk, S., Savoldo, B. & Brenner, M. K. Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells. *Immunol Rev* **257**, 107–26 (2014).
39. Ramos, C. A. *et al.* Clinical responses with T lymphocytes targeting malignancy-associated κ light chains. *J Clin Invest* **126**, 2588–96 (2016).
40. Wilkie, S. *et al.* Dual targeting of ErbB2 and MUC1 in breast cancer using chimeric antigen receptors engineered to provide complementary signaling. *J Clin Immunol* **32**, 1059–70 (2012).
41. Flugel, C. L. *et al.* Overcoming on-target, off-tumour toxicity of CAR T cell therapy for solid tumours. *Nature Reviews Clinical Oncology* vol. 20 49–62 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00704-3> (2023).
42. Joshua, D. E., Bryant, C., Dix, C., Gibson, J. & Ho, J. Biology and therapy of multiple myeloma. *Medical Journal of Australia* vol. 210 375–380 Preprint at <https://doi.org/10.5694/mja2.50129> (2019).
43. Wadhera, R. K. & Rajkumar, S. V. Prevalence of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance: A Systematic Review. *Mayo Clin Proc* **85**, 933–942 (2010).
44. Landgren, O. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* **113**, 5412–5417 (2009).

45. Kuehl, W. M. & Bergsagel, P. L. Molecular pathogenesis of multiple myeloma and its premalignant precursor. *Journal of Clinical Investigation* **122**, 3456–3463 (2012).
46. Manier, S. *et al.* Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol* **14**, 100–113 (2017).
47. Katznel, J. A., Hari, P. & Vesole, D. H. Multiple Myeloma: Charging Toward a Bright Future. *CA Cancer J Clin* **57**, 301–318 (2007).
48. Jemal, A. *et al.* Cancer Statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* **56**, 106–130 (2006).
49. Bladé, J. Multiple Myeloma in Patients Younger Than 30 Years. *Arch Intern Med* **156**, 1463 (1996).
50. Brigle, K. & Rogers, B. Pathobiology and Diagnosis of Multiple Myeloma. *Seminars in Oncology Nursing* vol. 33 225–236 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2017.05.012> (2017).
51. Firth, J. Haematology: multiple myeloma. *Clinical Medicine* **19**, 58–60 (2019).
52. Chng, W. J. *et al.* Molecular Dissection of Hyperdiploid Multiple Myeloma by Gene Expression Profiling. *Cancer Res* **67**, 2982–2989 (2007).
53. Fonseca, R. *et al.* The recurrent IgH translocations are highly associated with nonhyperdiploid variant multiple myeloma. *Blood* **102**, 2562–2567 (2003).
54. Chiecchio, L. *et al.* Timing of acquisition of deletion 13 in plasma cell dyscrasias is dependent on genetic context. *Haematologica* **94**, 1708–1713 (2009).
55. Chng, W.-J. *et al.* Clinical and biological implications of MYC activation: a common difference between MGUS and newly diagnosed multiple myeloma. *Leukemia* **25**, 1026–1035 (2011).
56. Kawano, Y. *et al.* Targeting the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Immunol Rev* **263**, 160–172 (2015).
57. Bianchi, G. & Munshi, N. C. Pathogenesis beyond the cancer clone(s) in multiple myeloma. *Blood* **125**, 3049–3058 (2015).

58. Reagan, M. R. & Ghobrial, I. M. Multiple Myeloma Mesenchymal Stem Cells: Characterization, Origin, and Tumor-Promoting Effects. *Clinical Cancer Research* **18**, 342–349 (2012).
59. Rajee, N. & Roodman, G. D. Advances in the Biology and Treatment of Bone Disease in Multiple Myeloma. *Clinical Cancer Research* **17**, 1278–1286 (2011).
60. Reagan, M. R., Liaw, L., Rosen, C. J. & Ghobrial, I. M. Dynamic interplay between bone and multiple myeloma: Emerging roles of the osteoblast. *Bone* **75**, 161–169 (2015).
61. Abe, M. *et al.* Osteoclasts enhance myeloma cell growth and survival via cell-cell contact: a vicious cycle between bone destruction and myeloma expansion. *Blood* **104**, 2484–2491 (2004).
62. Caers, J. *et al.* Neighboring adipocytes participate in the bone marrow microenvironment of multiple myeloma cells. *Leukemia* **21**, 1580–1584 (2007).
63. Monteith, B. E., Sandhu, I. & Lee, A. S. Management of Multiple Myeloma: A Review for General Practitioners in Oncology. *Current Oncology* vol. 30 4382–4401 Preprint at <https://doi.org/10.3390/curroncol30050334> (2023).
64. Rajkumar, S. V. *et al.* International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The Lancet Oncology* vol. 15 e538–e548 Preprint at [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70442-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70442-5) (2014).
65. Dimopoulos, M. A. *et al.* Role of Magnetic Resonance Imaging in the Management of Patients With Multiple Myeloma: A Consensus Statement. *Journal of Clinical Oncology* **33**, 657–664 (2015).
66. Kumar, S. K. *et al.* Risk of progression and survival in multiple myeloma relapsing after therapy with IMiDs and bortezomib: A multicenter international myeloma working group study. *Leukemia* **26**, 149–157 (2012).
67. Kastiris, E. *et al.* Improved survival of patients with multiple myeloma after the introduction of novel agents and the applicability of the International Staging

- System (ISS): an analysis of the Greek Myeloma Study Group (GMSG). *Leukemia* **23**, 1152–1157 (2009).
68. Greipp, P. R. *et al.* International Staging System for Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Oncology* **23**, 3412–3420 (2005).
 69. Palumbo, A. *et al.* Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *Journal of Clinical Oncology* **33**, 2863–2869 (2015).
 70. Chesi, M. *et al.* The *t(4;14)* Translocation in Myeloma Dysregulates Both *FGFR3* and a Novel Gene, *MMSET*, Resulting in *IgH/MMSET* Hybrid Transcripts.
 71. Shaughnessy, J. *et al.* Cyclin D3 at 6p21 is dysregulated by recurrent chromosomal translocations to immunoglobulin loci in multiple myeloma. *Blood* **98**, 217–223 (2001).
 72. Quach, H. *et al.* Treatment of patients with multiple myeloma who are eligible for stem cell transplantation: position statement of the International Myeloma Foundation of Australia. *Medical and Scientific Advisory Group. Intern Med J* **45**, 94–105 (2015).
 73. Gibson, J., Ho, P. J. & Joshua, D. Evolving transplant options for multiple myeloma: Autologous and nonmyeloablative allogenic. *Transplant Proc* **36**, 2501–2503 (2004).
 74. Terpos, E. Multiple Myeloma: Clinical Updates From the American Society of Hematology Annual Meeting, 2017. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* **18**, 321–334 (2018).
 75. Krishnan, A. *et al.* Autologous haemopoietic stem-cell transplantation followed by allogeneic or autologous haemopoietic stem-cell transplantation in patients with multiple myeloma (BMT CTN 0102): a phase 3 biological assignment trial. *Lancet Oncol* **12**, 1195–1203 (2011).

76. Kyle, R. A. *et al.* A Long-Term Study of Prognosis in Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *New England Journal of Medicine* **346**, 564–569 (2002).
77. Facon, T. *et al.* Final analysis of survival outcomes in the phase 3 FIRST trial of up-front treatment for multiple myeloma. *Blood* **131**, 301–310 (2018).
78. Egan, J. B. *et al.* Whole-genome sequencing of multiple myeloma from diagnosis to plasma cell leukemia reveals genomic initiating events, evolution, and clonal tides. *Blood* **120**, 1060–1066 (2012).
79. Facon, T. *et al.* Final analysis of survival outcomes in the phase 3 FIRST trial of up-front treatment for multiple myeloma. *Blood* **131**, 301–310 (2018).
80. Zamagni, E., Tacchetti, P., Pantani, L. & Cavo, M. Anti-CD38 and anti-SLAMF7: the future of myeloma immunotherapy. *Expert Rev Hematol* **11**, 423–435 (2018).
81. Varga, C., Maglio, M., Ghobrial, I. M. & Richardson, P. G. Current use of monoclonal antibodies in the treatment of multiple myeloma. *Br J Haematol* **181**, 447–459 (2018).
82. Kumar, S. K. *et al.* Safety and tolerability of ixazomib, an oral proteasome inhibitor, in combination with lenalidomide and dexamethasone in patients with previously untreated multiple myeloma: an open-label phase 1/2 study. *Lancet Oncol* **15**, 1503–1512 (2014).
83. Kumar, S. K. *et al.* Risk of progression and survival in multiple myeloma relapsing after therapy with IMiDs and bortezomib: A multicenter international myeloma working group study. *Leukemia* **26**, 149–157 (2012).
84. Stewart, A. K. *et al.* Carfilzomib, Lenalidomide, and Dexamethasone for Relapsed Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine* **372**, 142–152 (2015).

85. Bringhen, S. *et al.* Once-weekly carfilzomib, pomalidomide, and low-dose dexamethasone for relapsed/refractory myeloma: a phase I/II study. *Leukemia* **32**, 1803–1807 (2018).
86. Scott, A. *et al.* ‘Real-world’ Australian experience of pomalidomide for relapsed and refractory myeloma. *Leuk Lymphoma* **59**, 1514–1516 (2018).
87. Yu, B., Jiang, T. & Liu, D. BCMA-targeted immunotherapy for multiple myeloma. *Journal of Hematology and Oncology* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00962-7> (2020).
88. Feins, S., Kong, W., Williams, E. F., Milone, M. C. & Fraietta, J. A. An introduction to chimeric antigen receptor (CAR) T-cell immunotherapy for human cancer. *Am J Hematol* **94**, (2019).
89. Jayaraman, J. *et al.* CAR-T design: Elements and their synergistic function. *EBioMedicine* **58**, 102931 (2020).
90. Shah, N., Chari, A., Scott, E., Mezzi, K. & Usmani, S. Z. B-cell maturation antigen (BCMA) in multiple myeloma: rationale for targeting and current therapeutic approaches. *Leukemia* **34**, 985–1005 (2020).
91. Brudno, J. N. *et al.* T Cells Genetically Modified to Express an Anti-B-Cell Maturation Antigen Chimeric Antigen Receptor Cause Remissions of Poor-Prognosis Relapsed Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Oncology* **36**, 2267–2280 (2018).
92. Munshi, N. C. *et al.* Idecabtagene Vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine* **384**, 705–716 (2021).
93. Raje, N. *et al.* Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine* **380**, 1726–1737 (2019).
94. Berdeja, J. G. *et al.* Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *The Lancet* **398**, 314–324 (2021).

95. Shah, N. N. & Fry, T. J. Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy. *Nat Rev Clin Oncol* (2019) doi:10.1038/s41571-019-0184-6.
96. Samur, M. K. *et al.* Biallelic loss of BCMA as a resistance mechanism to CAR T cell therapy in a patient with multiple myeloma. *Nat Commun* **12**, 868 (2021).
97. Da Vià, M. C. *et al.* Homozygous BCMA gene deletion in response to anti-BCMA CAR T cells in a patient with multiple myeloma. *Nat Med* **27**, 616–619 (2021).
98. Laurent, S. A. *et al.* γ -secretase directly sheds the survival receptor BCMA from plasma cells. *Nat Commun* **6**, 7333 (2015).
99. Sommermeyer, D. *et al.* Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8+ and CD4+ subsets confer superior antitumor reactivity in vivo. *Leukemia* **30**, 492–500 (2016).
100. Smith, E. L. *et al.* Development and Evaluation of an Optimal Human Single-Chain Variable Fragment-Derived BCMA-Targeted CAR T Cell Vector. *Molecular Therapy* **26**, 1447–1456 (2018).
101. Wang, D. *et al.* A phase 1 study of a novel fully human BCMA-targeting CAR (CT103A) in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Blood* **137**, 2890–2901 (2021).
102. Guedan, S. *et al.* Enhancing CAR T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation. *JCI Insight* **3**, (2018).
103. Yeku, O. O. & Brentjens, R. J. Armored CAR T-cells: utilizing cytokines and pro-inflammatory ligands to enhance CAR T-cell anti-tumour efficacy. *Biochem Soc Trans* **44**, 412–418 (2016).
104. Works, M. *et al.* Anti-B-cell Maturation Antigen Chimeric Antigen Receptor T cell Function against Multiple Myeloma Is Enhanced in the Presence of Lenalidomide. *Mol Cancer Ther* **18**, 2246–2257 (2019).
105. Kloss, C. C. *et al.* Dominant-Negative TGF- β Receptor Enhances PSMA-Targeted Human CAR T Cell Proliferation And Augments Prostate Cancer Eradication. *Molecular Therapy* **26**, 1855–1866 (2018).

106. Battram, A. M. *et al.* T cells isolated from G-CSF-treated multiple myeloma patients are suitable for the generation of BCMA-directed CAR-T cells. *Mol Ther Methods Clin Dev* **26**, 207–223 (2022).
107. Turtle, C. J. *et al.* CD19 CAR–T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients. *Journal of Clinical Investigation* **126**, 2123–2138 (2016).
108. Depil, S., Duchateau, P., Grupp, S. A., Mufti, G. & Poirot, L. ‘Off-the-shelf’ allogeneic CAR T cells: development and challenges. *Nat Rev Drug Discov* **19**, 185–199 (2020).
109. Metelo, A. M. *et al.* Allogeneic Anti-BCMA CAR T Cells Are Superior to Multiple Myeloma-derived CAR T Cells in Preclinical Studies and May Be Combined with Gamma Secretase Inhibitors. *Cancer Research Communications* **2**, 158–171 (2022).
110. Mailankody, S. *et al.* Allogeneic BCMA-targeting CAR T cells in relapsed/refractory multiple myeloma: phase 1 UNIVERSAL trial interim results. *Nat Med* **29**, 422–429 (2023).
111. FÜchsl, F. & Krackhardt, A. M. Adoptive Cellular Therapy for Multiple Myeloma Using CAR- and TCR-Transgenic T Cells: Response and Resistance. *Cells* **11**, 410 (2022).
112. Linette, G. P. *et al.* Cardiovascular toxicity and titin cross-reactivity of affinity-enhanced T cells in myeloma and melanoma. *Blood* **122**, 863–871 (2013).
113. Bousi, L. S., Avigan, Z. M. & Rosenblatt, J. Immunotherapy for the treatment of multiple myeloma. *Frontiers in Immunology* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1027385> (2022).
114. Braunstein, M., Weltz, J. & Davies, F. A new decade: novel immunotherapies on the horizon for relapsed/refractory multiple myeloma. *Expert Review of Hematology* vol. 14 377–389 Preprint at <https://doi.org/10.1080/17474086.2021.1909469> (2021).

115. Yu, B. & Liu, D. Antibody-drug conjugates in clinical trials for lymphoid malignancies and multiple myeloma. *J Hematol Oncol* **12**, 94 (2019).
116. Lassiter, G. *et al.* Belantamab mafodotin to treat multiple myeloma: A comprehensive review of disease, drug efficacy and side effects. *Current Oncology* vol. 28 640–660 Preprint at <https://doi.org/10.3390/currenconcol28010063> (2021).
117. Sandeep A. Padala; Avyakta Kallam. *Diffuse Large B-Cell Lymphoma*. (Treasure Island (FL)).
118. van Leeuwen, M. T. *et al.* Lymphoid neoplasm incidence by WHO subtype in Australia 1982-2006. *Int J Cancer* **135**, 2146–56 (2014).
119. Xie, Y., Pittaluga, S. & Jaffe, E. S. The Histological Classification of Diffuse Large B-cell Lymphomas. *Seminars in Hematology* vol. 52 57–66 Preprint at <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2015.01.006> (2015).
120. Alizadeh, A. A. *et al.* Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* **403**, 503–11 (2000).
121. Davis, R. E., Brown, K. D., Siebenlist, U. & Staudt, L. M. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* **194**, 1861–74 (2001).
122. Davis, R. E. *et al.* Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* **463**, 88–92 (2010).
123. Chen, L. *et al.* SYK inhibition modulates distinct PI3K/AKT- dependent survival pathways and cholesterol biosynthesis in diffuse large B cell lymphomas. *Cancer Cell* **23**, 826–38 (2013).
124. Herrera, A. F. *et al.* Relapsed or Refractory Double-Expressor and Double-Hit Lymphomas Have Inferior Progression-Free Survival After Autologous Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol* **35**, 24–31 (2017).
125. Aukema, S. M. *et al.* Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* **117**, 2319–31 (2011).

126. Liu, Y. & Barta, S. K. Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *American Journal of Hematology* vol. 94 604–616 Preprint at <https://doi.org/10.1002/ajh.25460> (2019).
127. Wang, S. S. Epidemiology and Etiology of Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL). *Semin Hematol* (2023) doi:10.1053/j.seminhematol.2023.11.004.
128. Swerdlow, S. H. *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* **127**, 2375–90 (2016).
129. Hu, S. *et al.* CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood* **121**, 2715–24 (2013).
130. Armitage, J. O. Staging Non-Hodgkin Lymphoma. *CA Cancer J Clin* **55**, 368–376 (2005).
131. Cheson, B. D. Staging and response assessment in lymphomas: The new Lugano classification. *Chinese Clinical Oncology* vol. 4 Preprint at <https://doi.org/10.3978/j.issn.2304-3865.2014.11.03> (2015).
132. International Non-Hodgkin’s Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin’s lymphoma. *N Engl J Med* **329**, 987–94 (1993).
133. Vodicka, P., Klener, P. & Trneny, M. Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL): Early Patient Management and Emerging Treatment Options. *Oncotargets and Therapy* vol. 15 1481–1501 Preprint at <https://doi.org/10.2147/OTT.S326632> (2022).
134. Poeschel, V. *et al.* Four versus six cycles of CHOP chemotherapy in combination with six applications of rituximab in patients with aggressive B-cell lymphoma with favourable prognosis (FLYER): a randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet* **394**, 2271–2281 (2019).

135. Peyrade, F. *et al.* Attenuated immunochemotherapy regimen (R-miniCHOP) in elderly patients older than 80 years with diffuse large B-cell lymphoma: a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* **12**, 460–8 (2011).
136. Habermann, T. M. *et al.* Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* **24**, 3121–7 (2006).
137. Thieblemont, C. *et al.* Lenalidomide Maintenance Compared With Placebo in Responding Elderly Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With First-Line Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone. *J Clin Oncol* **35**, 2473–2481 (2017).
138. Sehn, L. H. & Salles, G. Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine* **384**, 842–858 (2021).
139. Schmitz, N. *et al.* CNS International Prognostic Index: A Risk Model for CNS Relapse in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With R-CHOP. *J Clin Oncol* **34**, 3150–6 (2016).
140. Vodicka, P., Klener, P. & Trneny, M. Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL): Early Patient Management and Emerging Treatment Options. *OncoTargets and Therapy* vol. 15 1481–1501 Preprint at <https://doi.org/10.2147/OTT.S326632> (2022).
141. Eyre, T. A., Djebbari, F., Kirkwood, A. A. & Collins, G. P. Efficacy of central nervous system prophylaxis with stand-alone intrathecal chemotherapy in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with anthracycline-based chemotherapy in the rituximab era: a systematic review. *Haematologica* **105**, 1914–1924 (2020).
142. Portell, C. A. CNS prophylaxis in DLBCL: first do no harm. *Blood* **139**, 2420–2421 (2022).
143. Wilson, M. R. *et al.* Timing of high-dose methotrexate CNS prophylaxis in DLBCL: a multicenter international analysis of 1384 patients. *Blood* **139**, 2499–2511 (2022).

144. Philip, T. *et al.* Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* **333**, 1540–5 (1995).
145. García-Sancho, A. M., Cabero, A. & Gutiérrez, N. C. Treatment of Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: New Approved Options. *J Clin Med* **13**, 70 (2023).
146. Snowden, J. A. *et al.* Indications for haematopoietic cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2022. *Bone Marrow Transplant* **57**, 1217–1239 (2022).
147. Westin, J. R. *et al.* Efficacy and safety of CD19-directed CAR-T cell therapies in patients with relapsed/refractory aggressive B-cell lymphomas: Observations from the JULIET, ZUMA-1, and TRANSCEND trials. *American Journal of Hematology* vol. 96 1295–1312 Preprint at <https://doi.org/10.1002/ajh.26301> (2021).
148. Vucinic, V. *et al.* Production and Application of CAR T Cells: Current and Future Role of Europe. *Front Med (Lausanne)* **8**, 713401 (2021).
149. Crump, M. *et al.* Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study. *Blood* **130**, 1800–1808 (2017).
150. Locke, F. L. *et al.* Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol* **20**, 31–42 (2019).
151. Nastoupil, L. J. *et al.* Standard-of-Care Axicabtagene Ciloleucel for Relapsed or Refractory Large B-Cell Lymphoma: Results From the US Lymphoma CAR T Consortium. *J Clin Oncol* **38**, 3119–3128 (2020).
152. Kwon, M. *et al.* Axicabtagene ciloleucel compared to tisagenlecleucel for the treatment of aggressive B-cell lymphoma. *Haematologica* **108**, 110–121 (2023).
153. Haradhvala, N. J. *et al.* Distinct cellular dynamics associated with response to CAR-T therapy for refractory B cell lymphoma. *Nat Med* **28**, 1848–1859 (2022).

154. Kamdar, M. *et al.* Lisocabtagene maraleucel versus standard of care with salvage chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation as second-line treatment in patients with relapsed or refractory large B-cell lymphoma (TRANSFORM): results from an interim analysis of an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet* **399**, 2294–2308 (2022).
155. Bishop, M. R. *et al.* Second-Line Tisagenlecleucel or Standard Care in Aggressive B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* **386**, 629–639 (2022).
156. Westin, J. R. *et al.* Survival with Axicabtagene Ciloleucel in Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine* **389**, 148–157 (2023).
157. Belson, M., Kingsley, B. & Holmes, A. Risk factors for acute leukemia in children: a review. *Environ Health Perspect* **115**, 138–45 (2007).
158. Tasian, S. K. & Hunger, S. P. Genomic characterization of paediatric acute lymphoblastic leukaemia: an opportunity for precision medicine therapeutics. *Br J Haematol* **176**, 867–882 (2017).
159. Terwilliger, T. & Abdul-Hay, M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer Journal* vol. 7 Preprint at <https://doi.org/10.1038/BCJ.2017.53> (2017).
160. Rowe, J. M. Prognostic factors in adult acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* **150**, 389–405 (2010).
161. Rowe, J. M. *et al.* Induction therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia: results of more than 1500 patients from the international ALL trial: MRC UKALL XII/ECOG E2993. *Blood* **106**, 3760–7 (2005).
162. Moorman, A. V *et al.* Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood* **109**, 3189–97 (2007).

163. Pullarkat, V., Slovak, M. L., Kopecky, K. J., Forman, S. J. & Appelbaum, F. R. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood* **111**, 2563–72 (2008).
164. Roberts, K. G. *et al.* Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* **371**, 1005–15 (2014).
165. Roberts, K. G. *et al.* Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* **22**, 153–66 (2012).
166. Hunger, S. P. & Mullighan, C. G. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood* **125**, 3977–87 (2015).
167. Sutton, R. *et al.* Clinical significance of minimal residual disease at day 15 and at the end of therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* **146**, 292–9 (2009).
168. Jacquy, C. *et al.* A prospective study of minimal residual disease in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukaemia: MRD level at the end of induction is a strong predictive factor of relapse. *Br J Haematol* **98**, 140–6 (1997).
169. Brüggemann, M. *et al.* Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **107**, 1116–23 (2006).
170. Jabbour, E., O'Brien, S., Konopleva, M. & Kantarjian, H. New insights into the pathophysiology and therapy of adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* **121**, 2517–28 (2015).
171. Narayanan, S. & Shami, P. J. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. *Crit Rev Oncol Hematol* **81**, 94–102 (2012).
172. Thomas, X. *et al.* Outcome of treatment in adults with acute lymphoblastic leukemia: analysis of the LALA-94 trial. *J Clin Oncol* **22**, 4075–86 (2004).

173. Thomas, D. A. *et al.* Treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphocytic leukemia with hyper-CVAD and imatinib mesylate. *Blood* **103**, 4396–407 (2004).
174. Kantarjian, H. *et al.* Blinatumomab versus Chemotherapy for Advanced Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* **376**, 836–847 (2017).
175. Nagorsen, D., Kufer, P., Baeuerle, P. A. & Bargou, R. Blinatumomab: a historical perspective. *Pharmacol Ther* **136**, 334–42 (2012).
176. Topp, M. S. *et al.* Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* **16**, 57–66 (2015).
177. Sheykhhasan, M., Manoochehri, H. & Dama, P. Use of CAR T-cell for acute lymphoblastic leukemia (ALL) treatment: a review study. *Cancer Gene Ther* **29**, 1080–1096 (2022).
178. Forsberg, M. H., Das, A., Saha, K. & Capitini, C. M. The potential of CAR T therapy for relapsed or refractory pediatric and young adult B-cell ALL. *Ther Clin Risk Manag* **14**, 1573–1584 (2018).
179. Shaltiel, I. A. *et al.* Distinct phosphatases antagonize the p53 response in different phases of the cell cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 7313–8 (2014).
180. Zheng, P.-P., Kros, J. M. & Li, J. Approved CAR T cell therapies: ice bucket challenges on glaring safety risks and long-term impacts. *Drug Discov Today* **23**, 1175–1182 (2018).
181. Whittington, M. D. *et al.* Long-term Survival and Value of Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy for Pediatric Patients With Relapsed or Refractory Leukemia. *JAMA Pediatr* **172**, 1161–1168 (2018).
182. Majzner, R. G. & Mackall, C. L. Tumor Antigen Escape from CAR T-cell Therapy. *Cancer Discov* **8**, 1219–1226 (2018).

183. Liu, J., Zhong, J. F., Zhang, X. & Zhang, C. Allogeneic CD19-CAR-T cell infusion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in B cell malignancies. *J Hematol Oncol* **10**, 35 (2017).
184. Lee, D. W. *et al.* ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant* **25**, 625–638 (2019).
185. Liu, X. *et al.* A Chimeric Switch-Receptor Targeting PD1 Augments the Efficacy of Second-Generation CAR T Cells in Advanced Solid Tumors. *Cancer Res* **76**, 1578–90 (2016).
186. Boucher, J. C. *et al.* CD28 Costimulatory Domain-Targeted Mutations Enhance Chimeric Antigen Receptor T-cell Function. *Cancer Immunol Res* **9**, 62–74 (2021).
187. Yeku, O. O., Purdon, T. J., Koneru, M., Spriggs, D. & Brentjens, R. J. Armored CAR T cells enhance antitumor efficacy and overcome the tumor microenvironment. *Sci Rep* **7**, 10541 (2017).