



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ**

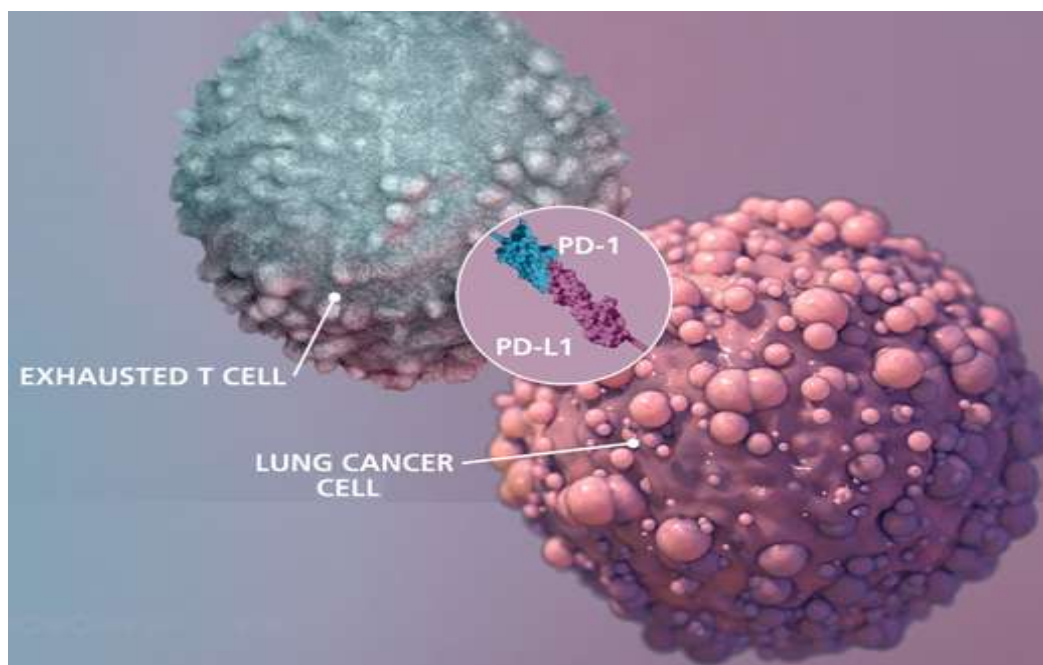
**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων**



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

## **Η ανοσοθεραπεία και ο ρόλος των βιοδεικτών PD-1 και PDL-1 στην αντιμετώπιση του καρκίνου του πνεύμονα**



Όνοματεπώνυμο Φοιτητή (ΑΜ)

**Παπαδοπούλου Μαρία Φωτεινή (62117047)**

Εισηγήτριες

**Αδαμοπούλου Μαρία** Βιολόγος, MSc, PhD

Ακαδημαϊκή Υπότροφος

**Βογιατζάκη Χρυσάνθη** DVM, PhD

Επίκουρη Καθηγήτρια

ΑΙΓΑΛΕΩ, 2022

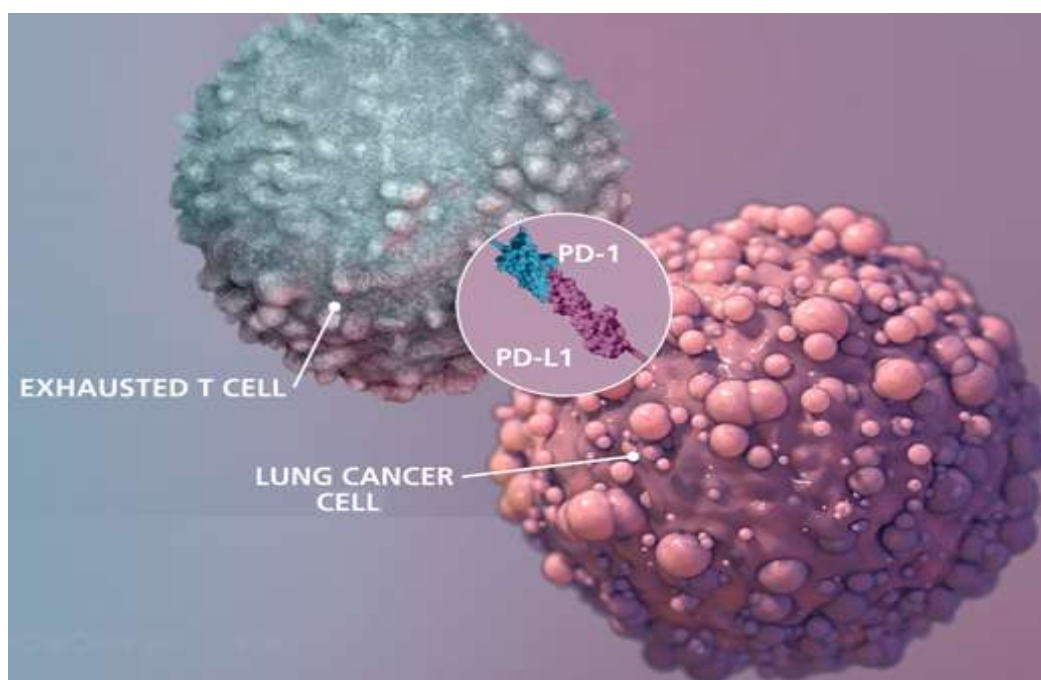


**UNIVERSITY OF WEST ATTICA**  
**FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES**  
**DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES**



**THESIS**

## **Immunotherapy and the Role of PD-1 and PD-L1 Biomarkers in Lung Cancer Treatment**



Student Name

**Papadopoulou Maria Foteini (62117047)**

Supervisors

**Adamopoulou Maria** Biologist, MSc, PhD

**Voyiatzaki Chrysanthi** DVM, PhD

Academic Fellow

Assistant Professor

AIGALEO, 2022

## ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΑΔΑΜΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ

Ακαδημαϊκή Υπότροφος, Τμήμα  
Βιοϊατρικών  
Επιστημών, Τομέας Ιατρικών  
Εργαστηρίων,  
Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

ΒΟΓΙΑΤΖΑΚΗ ΧΡΥΣΑΝΘΗ

Επίκουρη καθηγήτρια, Τμήμα Βιοϊατρικών  
Επιστημών, Τομέας Ιατρικών  
Εργαστηρίων,  
Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

ΑΝΘΟΥΛΗ ΑΝΑΓΝΩΣΤΟΠΟΥΛΟΥ  
ΦΡΑΓΚΙΣΚΗ

Καθηγήτρια, Τμήμα Βιοϊατρικών  
Επιστημών, Τομέας Ιατρικών  
Εργαστηρίων,  
Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

## **EXAMINATION COMMITTEE MEMBERSHIP**

**VOYIATZAKI CHRYSANTHI**

Assistant Professor, Department of  
Biomedical Sciences, University of West  
Attica

**ADAMOPOULOU MARIA**

Academic Fellow, Department of  
Biomedical Sciences, University of West  
Attica

**ANTHOULI ANAGNOSTOPOULOU  
FRAGISKI**

Professor, Department of Biomedical  
Sciences, University of West Attica



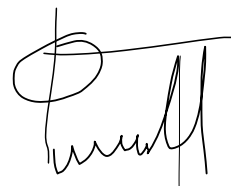


## Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Παπαδοπούλου Μαρία Φωτεινή του Εμμανουήλ, με αριθμό μητρώου 62117047 φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το επιστημονικό περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα



## Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις επιβλέπουσες καθηγήτριες μου, Δρ. Μαρία Αδαμοπούλου και Δρ. Χρυσάνθη Βογιατζάκη για την εισήγηση του θέματος της παρούσας βιβλιογραφικής διπλωματικής εργασίας, την καθοδήγηση και τις σημαντικές συμβουλές που μου πρόσφεραν καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω την αξιότιμη καθηγήτρια κα Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου Φραγκίσκη, της Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής για την ουσιώδη και πολύτιμη υποστήριξη στην ολοκλήρωση αυτού του πονήματος.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου για τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την υπομονή όλων καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.



## Πίνακας περιεχομένων

Συνοτομογραφίες .....	11
Πρόλογος .....	13
<b>A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>14</b>
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή στις κακοήθεις νεοπλασίες.....	14
1.1 Ιστορική αναδρομή: Ανάπτυξη – εξέλιξη – αντίσταση στη θεραπεία .....	14
1.2 Τύποι κακοήθων νεοπλασιών και ταξινόμηση αυτών .....	19
1.3 Καρκίνος του πνεύμονα .....	25
1.3.1 Μη Μικροκυτταρικός Καρκίνος του Πνεύμονα .....	26
1.3.2 Μικροκυτταρικό καρκίνωμα.....	29
1.4 Συμβατικές Θεραπείες και Ανοσοθεραπεία .....	31
1.4.1 Εισαγωγή.....	31
1.4.2 Χειρουργική και χρήση σύγχρονης τεχνολογίας .....	31
1.4.3 Χημειοθεραπεία .....	32
1.4.4 Ακτινοθεραπεία.....	33
1.4.5 Ορμονοθεραπεία.....	33
1.4.6 Επικουρική θεραπεία .....	34
1.4.7 Ανοσοθεραπεία .....	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου .....	37
2.1 Έμφυτη και Προσαρμοστική ανοσία .....	37
2.2 Μηχανισμοί λειτουργίας των Β και Τ λεμφοκυττάρων .....	40
2.2.1 Β λεμφοκύτταρα.....	40
2.2.2 Τ λεμφοκύτταρα .....	40
2.2.3 Η χυμική και η κυτταρομεσολαβητική ανοσολογική απόκριση ως εκδήλωση διαφορετικών δραστικών λειτουργιών.....	42
2.3 Μηχανισμοί ρύθμισης αποφυγής αυτοάνοσης αντίδρασης .....	45
2.4 Μηχανισμοί αντιμετώπισης καρκίνου ή αποτροπής καρκινογένεσης.....	46
<b>B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>55</b>
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Υλικό και Μεθοδολογία .....	55
3.1 Σκοπός.....	55
3.2 Υλικό.....	55
3.3 Μεθοδολογία – Εργαλεία έρευνας.....	56
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Ανοσοθεραπεία καρκίνου .....	57
4.1 Γενικά η ανοσοθεραπεία στην αντιμετώπιση του καρκίνου .....	57
4.2 Μορφές καρκίνου όπου εφαρμόζεται κυρίως η ανοσοθεραπεία.....	61
4.3 Μορφές ανοσοθεραπείας.....	63

4.3.1 Εισαγωγή στις ανοσοθεραπείες .....	63
4.3.2 Θεραπείες ογκολυτικών ιών (Oncolytic virus therapies).....	65
4.3.3 Εμβόλια κατά του καρκίνου (Cancer vaccines) .....	66
4.3.4 Θεραπείες με κυτοκίνες (Cytokine therapies).....	68
4.3.5 Θεραπεία υιοθετούμενων κυττάρων (Adoptive cell therapy- ACT) .....	69
4.3.6 Αναστολείς ελέγχου ανοσοποιητικού σημείου (immune checkpoint inhibitors) .....	71
4.4 Ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες καρκινικών κυττάρων.....	73
4.5 Ανασταλτικοί υποδοχείς PD-1 και PD-L1.....	81
4.5.1 Δομή του γονιδίου των PD-1/PD-L1 και μοριακοί μηχανισμοί.....	81
4.5.2 Φυσιολογικός ρόλος των PD-1/PD-L1 στα υγιή κύτταρα .....	84
4.5.3 Ο ρόλος των PD-1/PD-L1 στα καρκινικά κύτταρα και τα μονοπάτια ογκογονικής σηματοδότησης .....	89
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Ο ρόλος του PD-1/PD-L1 στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα</b> .....	97
5.1 Φαρμακευτική παρεμπόδιση του μονοπατιού PD-1/PD-L1 .....	97
5.2 Εφαρμογή μονοκλωνικών αντισωμάτων στη θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα .....	101
5.2.1 Μονοκλωνικά αντισώματα anti-PD1.....	101
5.2.2 Μονοκλωνικά αντισώματα anti-PD-L1.....	107
5.3 Ανάπτυξη προγνωστικών βιοδεικτών στην ανοσοθεραπεία.....	114
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Συνδυαστικές θεραπείες και Μελλοντικές προοπτικές</b> .....	124
6.1 Συνδυαστικές θεραπείες με Ανοσοθεραπεία .....	124
6.1.1 Εισαγωγή.....	124
6.1.2 Συνδυασμός αντισωμάτων των ICIs .....	126
6.1.3 Συνδυασμός ICIs και Χημειοθεραπείας.....	127
6.1.4 Συνδυασμός ICIs και Ακτινοθεραπείας .....	129
6.2 Μελλοντικές προοπτικές.....	130
<b>Συμπεράσματα</b> .....	136
<b>Περίληψη</b> .....	138
<b>Abstract</b> .....	139
<b>Βιβλιογραφία</b> .....	140

## Συντομογραφίες

- ACT:** Adoptive Cell Therapy, Θεραπεία υιοθετούμενων κυττάρων
- ADCC:** antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, εξαρτώμενη από αντισώματα κυτταρομεσολαβητική κυτταροτοξικότητα
- ALK:** Anaplastic Lymphoma Kinase, Κινάση αναπλαστικού λεμφώματος
- APCs:** antigen presenting cells, αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα
- BCR:** B cell receptor, υποδοχέας B κυττάρου
- CAR:** chimeric antigen receptor, χμαιοειδείς αντιγονικοί υποδοχείς
- CTLA-4:** cytotoxic T lymphocyte antigen 4, αντιγόνο-4 του κυτταροτοξικού T λεμφοκυττάρου
- CTLs:** cytotoxic T lymphocytes, κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα
- DCs:** dendritic cells, δενδριτικά κύτταρα
- ECM:** extracellular matrix, εξωκυτταρική μήτρα
- FDA:** Food and Drug Administration, Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων
- HLA:** Human Leukocyte Antigen, Ανθρώπινα Λευκοκυτταρικά Αντιγόνα
- IARC:** World Health Organization's International Agency for Research on Cancer, Διεθνής Υπηρεσία Έρευνας για τον Καρκίνο
- ICIs:** immune checkpoint inhibitors, αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου
- IFNs:** interferons, ιντερφερόνες
- IHC:** immunohistochemistry, ανοσοϊστοχημεία
- IL-2:** Interleukin-2, Ιντερλευκίνη-2
- irAEs:** immune related adverse events, ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό
- mAbs:** monoclonal antibodies, μονοκλωνικά αντισώματα
- MAPK:** mitogen-activated protein kinase, ενεργοποιημένη μιτογόνοσ πρωτεϊνική κινάση
- MHC:** Major Histocompatibility Complex, μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας
- mTOR:** mammalian Target of Rapamycin, αυξημένος στόχος δράσης της ραπαμυκίνης
- NF-κB:** Nuclear factor-κB, Πυρηνικός παράγοντας – κB

**NSCLC:** Non-small cell lung cancer, Μη Μικροκυτταρικός Καρκίνος Πνεύμονα

**ORR:** Overall response rate, συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης

**OS:** Overall-survival, συνολική επιβίωση

**PD-1:** Programmed cell death protein 1, Πρωτεΐνη 1 προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου

**PD-L1:** Programmed cell death-ligand 1, Συνδέτης 1 προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1

**PFS:** progression free survival, συνολική επιβίωση χωρίς εξέλιξη

**PI3K:** phosphoinositide 3-kinase, φωσφοϊνοσιτιδική 3-κινάση

**SCLC:** Small cell lung cancer, Μικροκυτταρικός Καρκίνος Πνεύμονα

**TAAs:** termed tumour-associated antigens, αντιγόνα που σχετίζονται με τον όγκο

**T<sub>c</sub>:** T cytotoxic, T κυτταροτοξικά

**TCR:** T-cell receptor, υποδοχέας T κυττάρου

**TILs:** Tumor-Infiltrating Lymphocytes, διηθητικά λεμφοκύτταρα σε όγκο

**TIME:** Tumor Immune Microenvironment, ανοσολογικό μικροπεριβάλλον όγκου

**TLR:** Toll-Like Receptor, Toll-Like υποδοχέας

**TPS:** Tumor Proportion Score, ποσοστό έκφρασης αντιγόνου στα κύτταρα όγκου

**T<sub>reg</sub>:** T regulatory cell, T ρυθμιστικό κύτταρο

**EGFR:** Epidermal growth factor receptor, Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα

**NK:** Natural killer cells, κύτταρα φυσικοί φονείς

**T<sub>H</sub>:** T helper, T βοηθητικά

**TMB:** Tumor mutational burden, Φορτίο μετάλλαξης όγκου

**TNM:** Tumor Node Metastasis, Όγκος Λεμφαδένες Μετάσταση

## Πρόλογος

Ο καρκίνος του πνεύμονα, λόγω της αυξημένης συχνότητας του και της έντονης θνητότητας που προκαλεί σε άνδρες και γυναίκες, αποτελεί μείζον ζήτημα στην ιατρική κοινότητα παγκοσμίως. Η εξέλιξη των ιατρικών θεραπευτικών προσεγγίσεων και κυρίως της ανοσοθεραπείας, και με τη βοήθεια διαφόρων βιοδεικτών, κατέχουν έναν πολλά υποσχόμενο ρόλο, στην καθοριστική αντιμετώπιση της νόσου.

Στο πλαίσιο της μελέτης της ανοσοθεραπείας, γίνεται εκτεταμένη γενική ανασκόπηση στην έννοια του καρκίνου, στην παρατήρηση και κατανόηση της λειτουργίας του, καθώς και στην εξέλιξη διαφόρων μεθόδων αντιμετώπισης με το πέρασμα των χρόνων. Ειδικότερα, περιγράφεται ο καρκίνος του πνεύμονα με τους αιτιολογικούς παράγοντες που εν δυνάμει τον προκαλούν καθώς και τα επιδημιολογικά στοιχεία που παρουσιάζονται σε παγκόσμια κλίμακα. Ιδιαίτερη αναφορά δίνεται στην κατηγοριοποίηση του καρκίνου του πνεύμονα και στις ιστολογικές δομές που προκύπτουν από τα παθολογοανατομικά δεδομένα. Τέλος, παρουσιάζονται οι κυριότερες μορφές θεραπείας, που χρησιμοποιούνται σήμερα στην κλινική πράξη.

Επιπρόσθετα, γίνεται αναφορά στο ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου, αναλύοντας τους μηχανισμούς ανοσίας και τα κυρίαρχα κύτταρα του ανοσοποιητικού που συμμετέχουν. Επίσης, περιγράφονται οι ανοσολογικές αποκρίσεις αυτών των κυττάρων έναντι του καρκίνου.

Η ανοσοθεραπεία παρουσιάζεται ως μία πρόσφατη, στην ιατρική, θεραπευτική προσέγγιση σε ποικίλους τύπους καρκινώματος όπως επίσης και στον καρκίνο του πνεύμονα. Σήμερα, έχουν αναπτυχθεί αρκετές μορφές ανοσοθεραπείας, οι οποίες είναι ευρέως γνωστές και διαθέσιμες στην κλινική πράξη. Εκτεταμένη αναφορά γίνεται στους αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου και ειδικότερα στο μονοπάτι PD-1/PD-L1. Τέλος, αναλύεται η δομή και οι μοριακοί μηχανισμοί των μορίων αυτών, καθώς και ο ρόλος τους στα υγιή και στα καρκινικά κύτταρα.

Ακολούθως, αναδεικνύεται η χρησιμότητα της αναστολής των μορίων PD-1/PD-L1, μέσω της φαρμακευτικής παρεμπόδισης του μονοπατιού αυτού. Η μελέτη και η αξιολόγηση των κλινικών δοκιμών, σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα, με διάφορους φαρμακευτικούς αναστολείς, αποκαλύπτει πληθώρα ευεργετικών αποτελεσμάτων κάτω από συγκεκριμένες προϋποθέσεις. Για αυτό το λόγο η ανάπτυξη προγνωστικών βιοδεικτών κρίνεται επιτακτική ανάγκη, προσδοκώντας μία πιο στοχευμένη και ελεγχόμενη εφαρμογή της ανοσοθεραπείας.

Τέλος, υπογραμμίζεται η σημασία της χρήσης συνδυασμού θεραπευτικών σχημάτων τόσο μεταξύ διαφόρων μορφών ανοσοθεραπείας όσο και μεταξύ της ανοσοθεραπείας με άλλες μεθόδους θεραπείας, λόγω της αυξημένης ανταπόκρισης και βελτίωσης των ασθενών με προχωρημένο καρκίνο του πνεύμονα. Έτσι, οι συνδυαστικές θεραπείες αποτελούν γνώμονα εξέλιξης των στρατηγικών αντιμετώπισης του καρκίνου και των μελλοντικών προοπτικών.

## A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή στις κακοήθεις νεοπλασίες

#### 1.1 Ιστορική αναδρομή: Ανάπτυξη – εξέλιξη – αντίσταση στη θεραπεία

Οι κακοήθεις νεοπλασίες εμφανίζονται στην ιστορία της Ιατρικής ήδη από το 1600 π.Χ. στον πάπυρο Edwin Smith, όπου και υπάρχει η παλαιότερη περιγραφή της ασθένειας (Paravramidou et al., 2010).

Μερικές από τις πρώτες ενδείξεις καρκίνου των οστών σε άνθρωπο βρέθηκαν σε μούμιες στην αρχαία Αίγυπτο. Η παλαιότερη καταγεγραμμένη περίπτωση καρκίνου του μαστού στον κόσμο εμφανίζεται το 1500 π.Χ.. Σύμφωνα με επιγραφές εκείνης της εποχής, ο καρκίνος αποτελούσε ανίατη ασθένεια και αντιμετωπιζόταν ως απάλυνση του πόνου των πασχόντων. Υπάρχουν επίσης αναφορές χειρουργικής αφαίρεσης επιφανειακών όγκων παρόμοιες με τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται σήμερα (Sudhakar, n.d.).

Ωστόσο, ο όρος καρκίνωμα προήλθε από τον αρχαίο Έλληνα πατέρα της Ιατρικής, Ιπποκράτη (460–370 π.Χ.). Οι όροι καρκίνος και καρκίνωμα χρησιμοποιούνταν από τους Ιπποκρατικούς ιατρούς για να περιγράψουν τους όγκους. Ο καρκίνος χρησιμοποιήθηκε για οποιοδήποτε μη επουλωτικό οίδημα ή ελκώδες σχηματισμό, ακόμα και για αιμορροΐδες, ενώ το καρκίνωμα προοριζόταν για το μη επουλωτικό «καρκίνο». Οι γιατροί της αρχαιότητας έκαναν χρήση γενικών θεραπειών με έμπλαστρα για τοπική θεραπεία όγκων. Με καυτηριασμό για κάψιμο των ριζών του όγκου καθώς επίσης και αρχαίες χειρουργικές μέθοδοι που περιλάμβαναν εκτομή του όγκου (Paravramidou et al., 2010; Sudhakar, n.d.).

Στα μετέπειτα χρόνια δημιουργήθηκαν πολλές θεωρίες για την προέλευση και δημιουργία του καρκίνου. Μερικές από αυτές τις πρώιμες θεωρίες αναγράφονται παρακάτω:

- Χυμική θεωρία: Ο Ιπποκράτης πίστευε ότι το ανθρώπινο σώμα περιέχει τέσσερις ζωτικούς χυμούς (σωματικά υγρά). Το αίμα, το φλέγμα, την κίτρινη χολή και την μαύρη χολή, όλα σε απόλυτη αρμονία μεταξύ τους. Ο Γαληνός βασιζόμενος σε αυτή τη θεωρία διατύπωσε πως οποιαδήποτε ανισορροπία μεταξύ αυτών των υγρών είναι αποτέλεσμα ασθένειας. Ειδικότερα θεώρησε ότι η περίσσεια μαύρης χολής, σε συγκεκριμένη θέση οργάνου, μπορούσε να προκαλέσει καρκίνο.

Αυτή η θεωρία για τον καρκίνο επικρατούσε για περισσότερα από 1300 χρόνια, μέχρι και τον Μεσαίωνα. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου οι νεκροψίες απαγορεύτηκαν για θρησκευτικούς λόγους, περιορίζοντας έτσι τις γνώσεις για τον καρκίνο (American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).

- Θεωρία μολυσματικών ασθενειών: Ο Zacutus Lusitani (1575-1642) και ο Nicholas Tulp (1593-1674), δύο ιατροί στην Ολλανδία, σύμφωνα με τις παρατηρήσεις που έκαναν σε οικογένειες που έπασχαν από καρκίνο του μαστού, κατέληξαν περίπου ταυτόχρονα στο συμπέρασμα ότι ο καρκίνος είχε μεταδοτικές ιδιότητες. Ο Lusitani και ο Tulp δημοσίευσαν τη θεωρία της μετάδοσης το 1649 και το 1652, αντίστοιχα. Πρότειναν ότι οι ασθενείς που έπασχαν από καρκίνο πρέπει να μένουν μακριά από τους υγιείς, και να απομονώνονται κατά προτίμηση έξω από πόλεις και κωμοπόλεις, προκειμένου να αποτραπεί η περαιτέρω εξάπλωση της ασθένειας. Την περίοδο του 17ου και 18ου αιώνα, αρκετοί θεωρούσαν ότι οι κακοήθειες ήταν άκρως μεταδοτικές ασθένειες. Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός, πως το πρώτο νοσοκομείο θεραπείας καρκινοπαθών ασθενών στη Γαλλία αναγκάστηκε να μεταφερθεί μακριά από την πόλη το 1779, επειδή οι άνθρωποι φοβήθηκαν ότι ο καρκίνος θα εξαπλωθεί σε όλους τους κατοίκους της πόλης (American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).
- Θεωρία λέμφου: Αυτή η θεωρία πρότεινε ότι ο σχηματισμός καρκίνου προέρχεται από υγρό που ονομάζεται λέμφος. Πίστευαν ότι η συνεχής κίνηση των υγρών όπως το αίμα και η λέμφος στο σώμα αποτελούσαν τη ζωή. Η θεωρία της λέμφου για τον καρκίνο υποστηρίχθηκε κυρίως τον 17ο αιώνα. Οι Stahl και Hoffman θεώρησαν ότι ο καρκίνος είναι αποτέλεσμα ζύμωσης και εκφυλισμένης λέμφου, που ποικίλλει στην πυκνότητα, την οξύτητα και την αλκαλικότητα. Η θεωρία της λέμφου απέκτησε γρήγορα ενδιαφέρον από τους επιστήμονες. Ο John Hunter, χειρουργός από τη Σκωτία, από το 1700, συμφώνησε ότι οι κακοήθεις όγκοι αναπτύσσονται από λέμφο που εκτοξεύεται συνεχώς από το αίμα (American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).
- Θεωρία παρασίτων: Μέχρι τον 18ο αιώνα, οι επιστήμονες πίστευαν ότι ο καρκίνος ήταν μεταδοτική ασθένεια και μπορεί εύκολα να εξαπλωθεί μέσω των παρασίτων(Sudhakar, n.d.).
- Θεωρία βλαστήματος: Ο Γερμανός παθολόγος Johannes Muller, το 1838, προσδιόρισε ότι ο καρκίνος αποτελείται από κύτταρα και δεν προέρχεται από τη λέμφο όπως πιστευόταν, ωστόσο θεωρούσε ότι τα κακοήθη κύτταρα δεν έχουν πηγή προέλευσης τα φυσιολογικά κύτταρα. Ο Muller θεώρησε ότι τα κακοήθη κύτταρα αναπτύχθηκαν από εκκολαπτόμενα στοιχεία (βλάστημα) μεταξύ των υγιών ιστών. Ο Rudolph Virchow (1821-1902), ο διάσημος τότε παθολόγος από τη Γερμανία, μετά από εντατική έρευνα, απέδειξε ότι όλα τα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των κακοήθων κυττάρων, έχουν πηγή προέλευσης άλλα ήδη υπάρχοντα κύτταρα του σώματος (American Cancer Society, n.d.).

- Θεωρία χρόνιου ερεθισμού: Ο Virchow ανέφερε ότι ο χρόνιος ερεθισμός ήταν η αιτία ανάπτυξης κακοήθους νεοπλασίας, αλλά πίστευε εσφαλμένα ότι οι καρκίνοι «απλώνονται σαν υγρό». Στη δεκαετία του 1860, ο Γερμανός χειρουργός, Karl Thiersch, απέδειξε ότι οι κακοήθεις νεοπλασίες δίνουν μεταστάσεις μέσω της εξάπλωσης των καρκινικών κυττάρων σε διάφορες περιοχές του σώματος και όχι μέσω κάποιου μη αναγνωρισμένου σωματικού υγρού (American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).
- Θεωρία τραύματος: Παρά την πρόοδο στην αποσαφήνιση του καρκίνου, από τα τέλη του 1800 μέχρι τη δεκαετία του 1920, ορισμένοι θεωρούσαν ότι το τραύμα προκαλεί καρκίνο. Αυτή η πεποίθηση συνεχίστηκε να υπάρχει παρά την αποτυχία εμφάνισης καρκίνου μέσω της πρόκλησης τραυματισμού σε πειραματόζωα (American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).

Ανάπτυξη σύγχρονων γνώσεων για τα αίτια του καρκίνου:

Από τις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα σταδιακά ξεκίνησαν να γίνονται γνωστές χημικές ουσίες και διάφοροι ιοί με καρκινογόνο δράση (American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).

Οι Katsusaburo Yamagiwa και Koichi Ichikawa από το Πανεπιστήμιο του Τόκιο, το 1915, προκάλεσαν την ανάπτυξη καρκίνου σε πειραματόζωα για πρώτη φορά, εφαρμόζοντας λιθανθρακόπισσα (η κοινή πίσσα) σε δέρμα κουνελιού. Είχαν περάσει περισσότερα από 150 χρόνια από τη στιγμή που ο κλινικός ιατρός John Hill του Λονδίνου υπέδειξε τον καπνό ως ουσία με καρκινογόνο δράση (μια ουσία που είναι γνωστό ή πιστεύεται ότι η χρήση της προκαλεί καρκίνο στους ανθρώπους). Πέρασαν αρκετά χρόνια μέχρι να «ανακαλυφθεί ξανά» ο καπνός ως η πιο καταστροφική πηγή χημικών καρκινογόνων ουσιών που γνωρίζει η ανθρωπότητα (American Cancer Society, n.d.).

Σήμερα έχουν αναγνωριστεί και ταυτοποιηθεί επισήμως πολλές ουσίες που προκαλούν καρκίνο όπως: η λιθανθρακόπισσα και τα παράγωγά της (βενζόλιο), μερικοί υδρογονάνθρακες, η ανιλίνη (ουσία που χρησιμοποιείται για την κατασκευή χρωστικών), ο αμίαντος και πολλά άλλα. Η ιονίζουσα ακτινοβολία από διάφορες πηγές προέλευσης, συμπεριλαμβανομένης της έκθεσης στις επιβλαβείς ακτίνες του ήλιου, είναι επίσης γνωστό ότι προκαλεί καρκίνο στον άνθρωπο. Η πολιτεία, για να διασφαλίσει την προστασία του κοινού, έχει θέσει πρότυπα ασφαλείας και κατευθυντήριες οδηγίες για πολλές χημικές καρκινογόνες ουσίες, όπως είναι το βενζόλιο, ο αμίαντος, οι υδρογονάνθρακες στον αέρα, το αρσενικό στο πόσιμο νερό και οι επιβλαβείς για τον οργανισμό ακτινοβολίες (American Cancer Society, n.d.).

Ο Peyton Rous στο Ινστιτούτο Rockefeller στη Νέα Υόρκη, το 1911, περιέγραψε έναν τύπο κακοήθειας (σάρκωμα) σε κοτόπουλα που προκαλείται από έναν ιό,



όπου αργότερα έγινε γνωστός ως ο ιός του σαρκώματος Rous(American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).

Αρκετοί ιοί συνδέονται σήμερα με την ανάπτυξη καρκίνου στους ανθρώπους, όπως:

Η μακροχρόνια μόλυνση με τους ιούς της ηπατίτιδας Β ή C μπορεί να οδηγήσει σε καρκίνο των ηπατικών κυττάρων.

Ένας από τους ιούς του έρπητα, ο ιός Epstein-Barr, προκαλεί στον οργανισμό τη γνωστή, λοιμώδη μονοκυρήνωση και έχει συνδεθεί με την εμφάνιση λεμφωμάτων μη Hodgkin και καρκίνο του ρινοφάρυγγα.

Τα άτομα με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης αρκετών μορφών καρκίνου, ιδιαίτερα του σαρκώματος Kaposi και του λεμφώματος non-Hodgkin.

Οι ιοί των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPVs) έχουν συνδεθεί και αυτοί με πολλούς τύπους καρκίνου, ειδικά με αυτούς του τραχήλου της μήτρας, του αιδοίου, του κόλπου, του πρωκτού και του πέους. Ορισμένοι καρκίνοι κεφαλής και τραχήλου (κυρίως της γλώσσας και των αμυγδαλών) έχουν συνδεθεί επίσης με τους υψηλού κινδύνου τύπους HPV. Σήμερα έχουν κατασκευασθεί εμβόλια που βοηθούν στην πρόληψη της μόλυνσης από τον HPV(American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).

Από το 2014, η Διεθνής Υπηρεσία Έρευνας για τον Καρκίνο (World Health Organization's International Agency for Research on Cancer - IARC) του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας έχει εντοπίσει και επισημάνει περισσότερες από 100 φυσικές, χημικές, και βιολογικές καρκινογόνες ουσίες. Πολλές από αυτές τις συσχετίσεις αναγνωρίστηκαν πολύ πριν οι επιστήμονες κατανοήσουν πολλά για τους μηχανισμούς δημιουργίας, ανάπτυξης και εξέλιξης των κακοηθειών. Σήμερα, η έρευνα συνεχώς ανακαλύπτει νέες καρκινογόνες ουσίες, εξηγεί πώς προκαλούν μεταλλάξεις στα κύτταρα και παρέχει πληροφορίες για τρόπους πρόληψης του καρκίνου(American Cancer Society, n.d.).

Μέχρι τα μέσα του 20ου αιώνα, η επιστημονική κοινότητα είχε τα απαραίτητα εργαλεία που χρειαζόταν για να διερευνήσει μερικά από τα πιο σύνθετα προβλήματα της χημείας και της βιολογίας που παρέμεναν άλυτα. Ο James Watson και ο Francis Crick, στους οποίους απονεμήθηκε το βραβείο Νόμπελ το 1962 για το έργο τους, είχαν ανακαλύψει την ακριβή χημική δομή της διπλής έλικας του DNA, του βασικού υλικού του γονιδιώματος(American Cancer Society, n.d.).

Οι επιστήμονες γνώριζαν ήδη ότι οι κακοήθεις νεοπλασίες μπορούν να προκληθούν από χημικές ουσίες, ακτινοβολία και ιούς, και ότι μερικές φορές οι κακοήθεις όγκοι φαινόταν να εμφανίζονται αποκλειστικά σε οικογένειες. Αλλά καθώς η κατανόηση του DNA και των γονιδίων αυξανόταν, έμαθαν ότι ήταν οι πολυάριθμες μεταλλάξεις του DNA από χημικές ουσίες και ακτινοβολία ή η εισαγωγή νέων αλληλουχιών στο

DNA από ιούς που συχνά οδηγούσαν στην ανάπτυξη καρκίνου. Έτσι, κατέστη δυνατό να εντοπιστεί η ακριβής θέση της βλάβης σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο(American Cancer Society, n.d.).

#### Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια:

Τη δεκαετία του 1970, ανακαλύφθηκαν 2 ιδιαίτερα σημαντικές οικογένειες γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο: τα ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια.

- Ογκογονίδια: Τα γονίδια αυτά προκαλούν τα κύτταρα να αναπτύσσονται με ανεξέλεγκτους ρυθμούς και να μετατρέπονται σε καρκινικά κύτταρα. Ο σχηματισμός τους προκαλείται κυρίως από αλλαγές ή μεταλλάξεις ορισμένων φυσιολογικών γονιδίων του κυττάρου που ονομάζονται πρωτοογκογονίδια. Τα πρωτοογκογονίδια είναι γονίδια υπεύθυνα για τον έλεγχο της συχνότητας διαίρεσης ενός κυττάρου και τον βαθμό της διαφοροποίησής του (ή ειδίκευσης του σε μια συγκεκριμένη λειτουργία στον οργανισμό).
- Γονίδια καταστολής όγκων ή ογκοκατασταλτικά: Αυτά είναι φυσιολογικά γονίδια που ο ρόλος τους είναι να επιβραδύνουν την κυτταρική μιτωτική διαίρεση, να επιδιορθώνουν σφάλματα στην αλληλουχία του DNA και να ελέγχουν το θάνατο των κυττάρων (μια διαδικασία γνωστή ως απόπτωση ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος). Όταν τα ογκοκατασταλτικά γονίδια δεν εκφράζονται με ορθό τρόπο, τα κύτταρα μπορεί να αναπτυχθούν ανεξέλεγκτα, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει την ανάπτυξη καρκίνου(American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).

Με την εξέλιξη της έρευνας, οι επιστήμονες της ιατρικής εντοπίζουν και αναγνωρίζουν τα ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια που καταστρέφονται από διάφορες χημικές ουσίες ή από την ακτινοβολία και εκείνα που, όταν κληρονομούνται, μπορούν να οδηγήσουν σε καρκίνο. Η ανακάλυψη, τη δεκαετία του 1990, δύο γονιδίων που προκαλούν ορισμένους καρκίνους του μαστού, τα BRCA1 και BRCA2, αποτελεί σημαντικό επίτευγμα. Αυτά τα γονίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόληψη και τον εντοπισμό ατόμων που έχουν υψηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν καρκίνο του μαστού(American Cancer Society, n.d.; Sudhakar, n.d.).

Έχουν ανακαλυφθεί και άλλα γονίδια που συνδέονται με μορφές καρκίνου από κληρονομικότητα, όπως του παχέος εντέρου, του ορθού, των νεφρών, των ωοθηκών, του θυρεοειδούς, του παγκρέατος και του μελανώματος του δέρματος. Ο οικογενής ή κληρονομικός καρκίνος δεν είναι τόσο συχνός όσο ο επίκτητος καρκίνος (καρκίνος που προκαλείται από βλάβες στην αλληλουχία του DNA που αποκτούνται και αποθηκεύονται στο γονιδίωμα κατά τη διάρκεια της ζωής ενός ατόμου). Ο καρκίνος που συνδέεται με την κληρονομικότητα είναι λιγότερος από το 15% όλων των κακοηθειών. Ωστόσο, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε αυτούς τους καρκίνους, επειδή με τη συνεχή έρευνα στη γενετική μπορεί να είμαστε σε θέση να

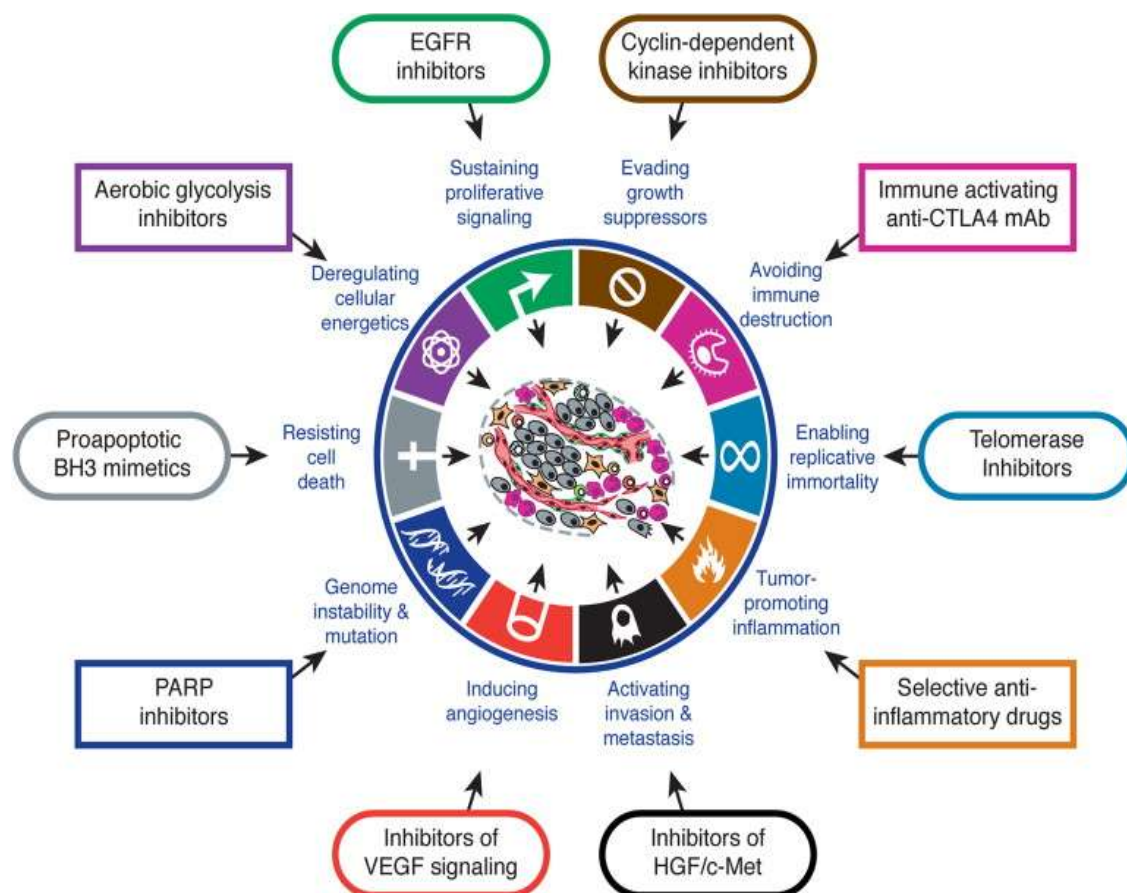
εντοπίζουμε έγκαιρα περισσότερα άτομα με πολύ υψηλό κίνδυνο(American Cancer Society, n.d.).

Μόλις οι ερευνητές αναγνώρισαν τη σημασία συγκεκριμένων γενετικών μεταλλαγών που προκαλούσαν καρκίνο, άρχισαν σύντομα να εργάζονται για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών (π.χ. φάρμακα ή ουσίες που παρεμβαίνουν σε συγκεκριμένα μόρια) για την αντιμετώπισή τους(American Cancer Society, n.d.).

## 1.2 Τύποι κακοήθων νεοπλασμάτων και ταξινόμηση

### Χαρακτηριστικά κακοήθων νεοπλασμάτων:

Τα κακοήθη νεοπλάσματα συνήθως δεν έχουν περιγεγραμμένο σχήμα και δεν περιβάλλονται από ινώδη κάψα. Το γεγονός αυτό τους δίνει τη δυνατότητα να προσβάλλουν τους γειτονικούς υγιείς ιστούς και να επεκτείνονται. Επιπλέον μπορούν και μεθίστανται, δηλαδή δίνουν μεταστάσεις, είτε αιματογενώς είτε λεμφογενώς είτε κατά συνέχεια των ιστών. Τέλος, χαρακτηρίζονται από κυτταρική και πυρηνική ατυπία (Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου Φραγκίσκη, 2009).



Εικόνα 1. Χαρακτηριστικά κακοήθων νεοπλασμάτων [Hanahan et al.,2011].

Στην εικόνα 1 απεικονίζονται σε μορφή κύκλου τα χαρακτηριστικά των κακοήθων νεοπλασμάτων, τα οποία περιληπτικά είναι τα εξής: 1. Αποφυγή της αναστολής της ανάπτυξης 2. Αποφυγή του ανοσοποιητικού 3. Ενεργοποίηση κυτταρικής αθανασίας 4. Φλεγμονή που προάγει την ογκογένεση 5. Ενεργοποίηση της διήθησης και μετάστασης 6. Επαγωγή της αγγειογένεσης 7. Γενωμική αστάθεια και μεταλλάξεις 8. Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο 9. Ανωμαλίες του κυτταρικού μεταβολισμού 10. Εμμένουσα σηματοδότηση πολλαπλασιασμού (Hanahan & Weinberg, 2011).

Αναλυτικότερα τα καρκινικά κύτταρα αποφεύγουν την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης, παρακάμπτοντας ισχυρούς μηχανισμούς οι οποίοι φυσιολογικά ρυθμίζουν αρνητικά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και συχνά εξαρτώνται από τις δράσεις ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Τα καρκινικά κύτταρα αποφεύγουν επίσης αντιδράσεις του ανοσοποιητικού συστήματος, λόγω της ελαττωματικής και μειωμένης δράσης του, κυρίως σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα ή μετά από την επίδραση διαφόρων ιών. Η ενεργοποίηση της κυτταρικής αθανασίας επιτυγχάνεται μέσω της ικανότητας των κυττάρων αυτών να πολλαπλασιάζονται χωρίς να παρουσιάζουν ενδείξεις κυτταρικής γήρανσης, στην οποία φαίνεται να εμπλέκονται άμεσα τα τελομερή των χρωμοσωμάτων. Επιπρόσθετα, η φλεγμονή αποτελεί συνδιεγέρτη της ογκογένεσης συμβάλλοντας ποικιλοτρόπως. Κυρίως, ευνοεί την παρουσία μορίων στο μικροπεριβάλλον του όγκου, όπως είναι οι αυξητικοί παράγοντες οι οποίοι υποστηρίζουν την πολλαπλασιαστική σηματοδότηση, παράγοντες επιβίωσης που αναστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο, προαγγειογενετικούς παράγοντες κ.α. (Hanahan & Weinberg, 2011).

Βασικό χαρακτηριστικό των καρκινικών κυττάρων αποτελεί επίσης η ικανότητα διήθησης και μετάστασης τους. Τα καρκινικά κύτταρα που προέρχονται από επιθηλιακούς ιστούς και στην πορεία εξελίσσονται σε υψηλότερους παθολογικούς βαθμούς κακοήθειας μεθίστανται σε γειτονικούς ιστούς ή και σε απομακρυσμένες περιοχές προκαλώντας μεταστάσεις. Αναδιαμορφώνουν επίσης το σχήμα τους και τους μηχανισμούς προσκόλλησης τους σε άλλα κύτταρα. Τα κακοήθη κύτταρα, για την ανάπτυξή τους, πρέπει να εξασφαλίσουν ένα βιώσιμο και φιλικό περιβάλλον, το οποίο απαιτεί την πρόσβαση σε θρεπτικά συστατικά και οξυγόνο καθώς και την αποβολή των άχρηστων και τοξικών παραγόντων του μεταβολισμού τους και του διοξειδίου του άνθρακα. Αυτό γίνεται εφικτό μέσα από την διαδικασία της αγγειογένεσης την οποία και επάγουν. Η συσσώρευση γονιδιακών μεταλλάξεων και η γενωμική αστάθεια προσδίδει στα καρκινικά κύτταρα πλεονέκτημα, έναντι των φυσιολογικών κυττάρων που διέπονται από συστήματα ρύθμισης και εξάλειψης μεταλλάξεων του γονιδιώματος. Επιτρέπουν έτσι την ανάπτυξη τους και την τελική κυριαρχία τους στο περιβάλλον του ιστού. Άλλο ένα χαρακτηριστικό των κακοήθων κυττάρων που τα κάνει ανθεκτικά είναι η αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο. Έρευνες έχουν αποδείξει πως οι αποπτωτικοί μηχανισμοί εξασθενούν εκείνους τους όγκους που εξελίσσονται σε υψηλού βαθμού κακοήθεια και αντοχή στη θεραπεία. Επιπλέον, οι ανωμαλίες του κυτταρικού μεταβολισμού που παρουσιάζουν τα καρκινικά κύτταρα, όπως είναι ο μεταβολισμός της γλυκόζης παρουσία οξυγόνου, επιτρέπουν την επιβίωσή τους κάνοντάς τα πιο ευέλικτα στο μικροπεριβάλλον του

όγκου. Τέλος, τα καρκινικά κύτταρα απορρυθμίζουν τη σηματοδότηση του πολλαπλασιασμού, προκαλώντας διαταραχή στην ομοίωση του πλήθους των κυττάρων. Επομένως καταστρέφουν τη διατήρηση της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής και λειτουργίας των ιστών (Hanahan & Weinberg, 2011).

Τα κακοήθη νεοπλάσματα ταξινομούνται ανάλογα με τον ιστό προέλευσης τους στις εξής κατηγορίες:

**Συνδετικός ιστός:** Καρκίνος μπορεί να προκληθεί, όταν ο ινώδης ιστός μετατρέπεται σε ίνωμα και στη συνέχεια σε Ινοσάρκωμα. Όταν ο λιπώδης ιστός εξελίσσεται σε λίπωμα και έπειτα σε Λιποσάρκωμα. Όταν ο χόνδρινος ιστός μετατρέπεται σε χόνδρωμα και έπειτα σε Χονδροσάρκωμα. Τέλος όταν ο οστίτης ιστός εξελίσσεται σε οστέωμα και στη συνέχεια σε Οστεοσάρκωμα.

**Ενδοθηλιακός ιστός:** Κακοήθεια προκύπτει, όταν στα αγγεία σχηματίζεται αιμαγγείωμα και μετά Αγγειοσάρκωμα. Όταν στα λεμφαγγεία σχηματίζεται λεμφαγγείωμα και έπειτα Λεμφαγγειοσάρκωμα. Όταν το μεσοθήλιο μετατρέπεται σε κακόηθες Μεσοθηλίωμα.

**Κύτταρα του αίματος:** Η κακοήθεια στα αιμοποιητικά κύτταρα παρουσιάζεται με τη μορφή των Λευχαιμιών, ενώ στο λεμφικό ιστό με τη μορφή των Λεμφωμάτων.

**Μύες:** Οι κακοήθεις νεοπλασίες στους λείους μύες προκύπτει όταν το λειομύωμα μετατρέπεται σε Λειομυοσάρκωμα, ενώ στους γραμμωτούς μύες όταν το ραβδομύωμα μετατρέπεται σε Ραβδομυοσάρκωμα.

**Επιθηλιακός ιστός:** Η κακοήθεια στο πλακώδες επιθήλιο επιτυγχάνεται καθώς το θήλωμα πλακωδών κυττάρων μετατρέπεται σε Πλακώδες καρκίνωμα. Παράλληλα, στα επιθηλιακά κύτταρα των αδένων σχηματίζεται κακοήθεια καθώς το αδένωμα εξελίσσεται σε Αδενοκαρκίνωμα, το θήλωμα σε Θηλώδες καρκίνωμα και το κυσταδένωμα σε Κυσταδενοκαρκίνωμα.

**Μελανοκύτταρα:** Κακοήθεια προκύπτει όταν ο σπίλος εξελιχθεί σε Μελάνωμα (C.Simon Herrington, 2014; Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου Φραγκίσκη, 2009).

#### Επέκταση κακοήθων νεοπλασμάτων:

Τα κακοήθη νεοπλάσματα συνήθως επεκτείνονται μέσω διήθησης ή/και μετάστασης, σε παρακείμενους ιστούς ή/και σε απομακρυσμένες περιοχές αντίστοιχα. Η επέκταση τους μπορεί να γίνει, **Λεμφογενώς** με διήθηση-μετάσταση, **Αιματογενώς** με διήθηση-μετάσταση, **κατά συνέχεια ιστού** και τέλος με το μηχανισμό της **εμφύτευσης** ή αλλιώς εμβολιασμού μέσω διήθησης (Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου Φραγκίσκη, 2009).

### Συστηματικές παρενέργειες κακοήθων νεοπλασμάτων:

Οι συνήθεις ανεπιθύμητες ενέργειες που προκαλούν οι κακοήθεις νεοπλασίες, σε ένα ευρύ φάσμα ασθενών, περιλαμβάνουν την καχεξία, την ανορεξία, το αίσθημα κακουχίας, την αναιμία, την θρομβοπενία και τα παρανεοπλασματικά σύνδρομα. Τα παρανεοπλασματικά σύνδρομα αποτελούν κλινική συμπτωματολογία ανεξάρτητη από τον πρωτοπαθή όγκο και εμφανίζονται μόνο σε ένα πολύ μικρό ποσοστό των ασθενών με καρκίνο. Τα πιο κοινά παρανεοπλασματικά σύνδρομα είναι η υπερασβαιοσιταϊμία, το σύνδρομο Cushing, η υπογλυκαιμία, κ.α. (C.Simon Herrington, 2014; Enck, 2004; Pelosof & Gerber, 2010).

Η πρόγνωση των κακοήθων νεοπλασμάτων εξαρτάται από τους εξής παράγοντες:

1. Ταχύτητα ανάπτυξης του νεοπλάσματος
2. Βαθμός διαφοροποίησης του νεοπλάσματος
3. Την ηλικία του ασθενούς
4. Τη θέση ανάπτυξης του νεοπλάσματος

(Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου Φραγκίσκη, 2009).

### Καρκινογένεση

Καθοριστικός παράγοντας της διαδικασίας της καρκινογένεσης είναι η γενετική βλάβη που αποτρέπει τον κυτταρικό θάνατο. Τέτοιου είδους γενετική αλλοίωση (ή μετάλλαξη) μπορεί να συμβεί από τη δράση περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως χημικά, ακτινοβολία, ιούς ή μπορεί να είναι κληρονομήσιμη. Με βάση αυτή την υπόθεση καρκινογένεσης, ένας κακοήθης όγκος προέρχεται από κλωνική τροποποίηση ενός αρχικού κυττάρου που έχει υποστεί γενετική βλάβη (C.Simon Herrington, 2014).

Δύο λειτουργικές κατηγορίες γονιδίων αποτελούν «στόχους» της κυτταρικής βλάβης: τα ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια.

Αφού έχει γίνει η διάγνωση του καρκίνου, είναι σημαντικό να προβλεφθεί η πιθανή συμπεριφορά του, ώστε να αποφασιστεί η κατάλληλη θεραπεία και να εκτιμηθεί η πρόγνωση για την επιβίωση του ασθενούς. Οι δύο κύριοι παράγοντες είναι η βιολογική φύση του κακοήθους όγκου (διαβάθμιση ή grade) και η επέκτασή του (στάδιο ή stage) (C.Simon Herrington, 2014).

### Σταδιοποίηση των κακοηθών νεοπλασμάτων

Υπάρχουν διάφορα συστήματα σταδιοποίησης των κακοήθων νεοπλασμάτων, το επικρατέστερο όμως στην ιατρική κοινότητα είναι το **TNM**.





**T** :Tumor = Όγκος (Μέγιστη διάμετρος όγκου ή διήθηση)

**N**: Node = Λεμφαδένες (ενδείξεις τοπικής επέκτασης ή προσβολής των λεμφαδένων)

**M**: Metastasis = Μετάσταση (Παρουσία ή απουσία μετάστασης)

Με βάση το TNM προκύπτουν και τα αντίστοιχα στάδια:

- **Στάδιο 0**: Ενδοεπιθηλιακό τοπικό καρκίνωμα (In Situ), χωρίς διηθητική ανάπτυξη. (Πρόκειται για τοπική ακόμη νόσο)
- **Στάδιο I**: T1N0M0
- **Στάδιο II**: T2N1M0
- **Στάδιο III**: T3N2M0
- **Στάδιο IV**: T3N2M1  
(Kalli et al., 2018;Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου Φραγκίσκη, 2009).

<b>Tumor size</b>	<b>Tumor size &lt; 2 cm</b>	<b>Tumor size 2-5 cm</b>	<b>Tumor size &gt; 5 cm</b>	<b>Tumor extends to skin or chest wall</b>
<b>T</b>	 <b>T1</b>	 <b>T2</b>	 <b>T3</b>	 <b>T4</b>
<b>Lymph Nodes</b> <b>N</b>	<b>N0</b> No lymph node metastasis	<b>N1</b> Metastasis to ipsilateral, movable, axillary LNs	<b>N2</b> Metastasis to ipsilateral fixed axillary, or IM LNs	<b>N3</b> Metastasis to infraclavicular/supraclavicular LN, or to axillary and IM LNs
<b>Metastasis</b> <b>M</b>	<b>M0</b> No distant metastasis	<b>M1</b> Distant metastasis	LNs= Lymph Nodes; IM= Internal Mammary	

**Εικόνα 2.** Σταδιοποίηση TNM καρκίνου του μαστού

<https://epomedicine.com/medical-students/tnm-staging-breast-cancer-simplified/>

### Μορφολογικοί χαρακτήρες κακοήθειας – διαβάθμιση

Έχουν αναπτυχθεί διάφορα συστήματα διαβάθμισης για διάφορους τύπους όγκων. Αυτά εκτιμούν το κατά πόσο ο όγκος μοιάζει με τον ιστό από τον οποίο πιθανόν προέρχεται (π.χ. το πλακώδες επιθήλιο) και οι κύριες παράμετροι είναι:

1. Η Μιτωτική δραστηριότητα, δηλαδή ο αριθμός των μιτώσεων ο οποίος είναι μεγαλύτερος και επιταχυνόμενος σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα.

2. Η Πυρηνική ατυπία, δηλαδή ο πολυμορφισμός των πυρήνων που παρουσιάζεται στα καρκινικά κύτταρα έναντι των φυσιολογικών πυρήνων.

3. Η Κυτταρική ατυπία, δηλαδή ο βαθμός διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων στη δομή και στη μορφολογία τους.

4. Η Διατήρηση αρχιτεκτονικής του ιστού προέλευσης και η έκταση της νέκρωσης. Όσο μεγαλύτερη είναι η απόκλιση της αρχιτεκτονικής των καρκινικών κυττάρων από τα κύτταρα του ιστού προέλευσης, τόσο μεγαλύτερος είναι ο πολυμορφισμός και η διαφοροποίησή τους (C.Simon Herrington, 2014).

Έτσι, προκύπτουν οι νεοπλασίες: **Χαμηλής κακοηθείας, Μέσης κακοηθείας και Υψηλής κακοηθείας** (Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου Φραγκίσκη, 2009).

### Καρκινικοί δείκτες

Οι καρκινικοί ή νεοπλασματικοί δείκτες είναι ουσίες που παράγονται από τα κύτταρα του κακοήθους όγκου και ανιχνεύονται στο αίμα. Πολλοί νεοπλασματικοί δείκτες είναι ογκοεμβρυϊκά αντιγόνα, δηλαδή, πρωτεΐνες που προέρχονται συνήθως από τα εμβρυϊκά κύτταρα αλλά όχι από τα φυσιολογικά ώριμα κύτταρα των ενηλίκων. Δυστυχώς οι περισσότεροι από αυτούς τους δείκτες παρουσιάζουν χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Τέλος, οι καρκινικοί δείκτες δεν έχουν αξία τόσο στη διαγνωστική διερεύνηση όσο κατά την παρακολούθηση της νόσου και μετά από τη θεραπεία (C.Simon Herrington, 2014).

Το **ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA)** αποτελεί ένα αντιπροσωπευτικό παράδειγμα καρκινικού δείκτη. Χρησιμοποιείται ευρέως στον προ συμπτωματικό έλεγχο και καμία τιμή δεν μπορεί να αποκλείσει την ύπαρξη καρκινώματος του προστάτη, ενώ οι αυξημένες τιμές του σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με κακοήθεια (Constantinou & Feneley, 2005).

Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι καρκινικοί δείκτες παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**.

Δείκτης	Όγκος
α-Φετοπρωτεΐνη ή α-εμβρυϊκή πρωτεΐνη	Τεράτωμα, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα
Ανθρώπινη χοριονική γοναδοτροφίνη (hCG)	Χοριοκαρκίνωμα, τεράτωμα
Ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA)	Καρκίνωμα προστάτη αδένου
CA125	Καρκίνωμα ωοθήκης
Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA)	Καρκίνωμα, π.χ. εντέρου, πνεύμονα
Καλσιτονίνη	Μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς
Θυρεοσφαιρίνη	Θυλακιδώδες και θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς

**Πίνακας 1.** Συχνά χρησιμοποιούμενοι καρκινικοί δείκτες [C.Simon Herrington, 2014].



### 1.3 Καρκίνος του πνεύμονα

Ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο στις ΗΠΑ, με το μέσο ποσοστό πενταετούς επιβίωσης να ανέρχεται στο 15% και αντιπροσωπεύει περίπου το 13% όλων των νεοδιαγνωσθέντων περιπτώσεων καρκίνου. Το 2006, η ασθένεια αυτή προκάλεσε περισσότερους από 158.000 θανάτους - περισσότερους από τον καρκίνο του παχέος εντέρου, του μαστού και του προστάτη μαζί. Οι ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα συνήθως διαγιγνώσκονται τόσο σε μεσαία όσο και σε προχωρημένα στάδια της ασθένειας, γι' αυτό και έχουν κακή έκβαση στη θεραπεία τους. Μόνο το 10% των περιπτώσεων καρκίνου εντοπίζεται σε ασυμπτωματικούς ασθενείς μέσω ακτινογραφιών θώρακος, ενώ οι περισσότεροι από αυτούς είναι συμπτωματικοί όταν διαγιγνώσκονται. Οι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν γενικά συστηματικά συμπτώματα όπως είναι το αίσθημα κόπωσης, η ανορεξία και η απώλεια βάρους ή με άμεσα συμπτώματα πρωτοπαθούς όγκου ή ενδοθωρακικής ή εξωθωρακικής εξάπλωσης. Τέλος, μια μειοψηφία ασθενών παρουσιάζουν παρανεοπλασματικά σύνδρομα (Collins et al., 2007; Rodríguez-Antona & Taron, 2015).

Αν και τα ποσοστά θνησιμότητας έχουν αρχίσει να μειώνονται μεταξύ των ανδρών στις Ηνωμένες Πολιτείες, έχουν πρόσφατα ξεπεράσει τον καρκίνο του μαστού καταλαμβάνοντας τη θέση του πιο θανατηφόρου καρκίνου στις γυναίκες (Collins et al., 2007).

Επειδή το 1/4 των ενηλίκων καπνίζει, ο καρκίνος του πνεύμονα θα παραμείνει άλυτο πρόβλημα για πολλά χρόνια ακόμα. Έτσι, το κάπνισμα συνδέεται στενά με την εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα στο 90% των περιπτώσεων των γυναικών και στο 79% των περιπτώσεων των ανδρών. Η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα αποτελεί επίσης παράγοντα κινδύνου. Περίπου 3.000 ενήλικες πεθαίνουν κάθε χρόνο από έκθεση στο παθητικό κάπνισμα, με σχέση δόσης-απόκρισης ανάλογη της σχέσης διάρκειας και έντασης στην έκθεση (Collins et al., 2007).

Ο πιο κοινός παράγοντας επαγγελματικού κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα αποτελεί η συχνή έκθεση στον αμίαντο. Άλλες κοινές επαγγελματικές και περιβαλλοντικές αιτίες καρκίνου του πνεύμονα περιλαμβάνουν την έκθεση σε χημικές ουσίες όπως είναι το ραδόνιο, το αρσενικό, το χρώμιο, το νικέλιο, το χλωριούχο βινύλιο και η ιονίζουσα ακτινοβολία. Προϋπάρχουσες μη κακοήθεις πνευμονικές παθήσεις, όπως είναι η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση και η φυματίωση σχετίζονται επίσης με αυξημένα ποσοστά εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα (Collins et al., 2007).

Για τη διευκόλυνση της θεραπευτικής προσέγγισης και τη λήψη έγκυρων προγνωστικών αποφάσεων, ο καρκίνος του πνεύμονα διακρίνεται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, το **Μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα (SCLC)** και το **Μη Μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα (NSCLC)** (Collins et al., 2007).

### 1.3.1 Μη Μικροκυτταρικός Καρκίνος του Πνεύμονα

Ο Μη Μικροκυτταρικός Καρκίνος του Πνεύμονα περιλαμβάνει τα εξής καρκινώματα: το **Αδενοκαρκίνωμα**, το **Πλακώδες καρκίνωμα** και το **Καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα (Μεγαλοκυτταρικό)** (Collins et al., 2007).

**Πίνακας 2.** Κατηγοριοποίηση καρκίνου του πνεύμονα

Μη Μικροκυτταρικός Καρκίνος (NSCLC)	Μικροκυτταρικός Καρκίνος (SCLC)
<ul style="list-style-type: none"><li>• Αδενοκαρκίνωμα</li><li>• Πλακώδες καρκίνωμα</li><li>• Καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα (Μεγαλοκυτταρικό)</li></ul>	

Περίπου το 85% όλων των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα έχουν μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC), ενώ το υπόλοιπο περίπου 15% έχει μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (SCLC) (Rodríguez-Antona & Taron, 2015).

#### **Αδενοκαρκίνωμα**

Τα αδενοκαρκινώματα είναι κακοήθη επιθηλιακά νεοπλάσματα με αδενική διαφοροποίηση ή παραγωγή βλέννας που δίνουν μεταστάσεις νωρίς και συχνά εμφανίζονται σε ασθενείς με υποκείμενη πνευμονοπάθεια. Αποτελούν περίπου το 40% των πρωτοπαθών όγκων του πνεύμονα (συχνότερο εμφάνη). Οι όγκοι εμφανίζονται κυρίως περιφερικά ως καλά περιγεγραμμένες μάζες, κεντρικά ή ενδοβρογχικά από τους βρογχικούς, βλεννώδεις αδένες του πνεύμονα. Έχουν εικόνα διάχυτης πνευμονίας, με αμφοτερόπλευρη βλάβη, εκτεταμένη διήθηση του σπλαγχνικού υπεζωκότα και εικόνα εντοπισμένης ουλής ή διάχυτης διάμεσης ίνωσης.

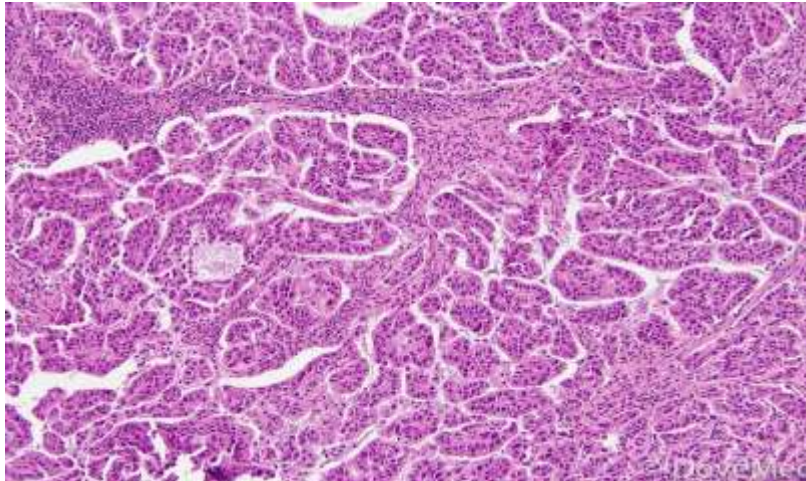
Αρνητικοί προγνωστικοί παράγοντες του αδενοκαρκινώματος αποτελούν ο υψηλός ιστολογικός βαθμός κακοήθειας (Grade), η διήθηση των αγγείων, η αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα, η μεγάλη νέκρωση που προκαλεί και τέλος ο θηλώδες και ο συμπαγής υπότυπος (Bhimji & Wallen, 2021;C.Simon et al.,2014;Collins et al., 2007).

Τα αδενοκαρκινώματα διακρίνονται στους εξής υποτύπους :

- Θηλώδες
- Σωληνώδες
- Λεπιοειδές
- Βρογχιολοκυψελιδικό

- Συμπαγές
- Βλεννώδες

(Bhimji & Wallen, 2021; C.Simon Herrington, 2014).



**Εικόνα 3.** Μικροσκοπική απεικόνιση θηλώδους αδενοκαρκινώματος.

<https://www.dovemed.com/diseases-conditions/papillary-adenocarcinoma-lung/>

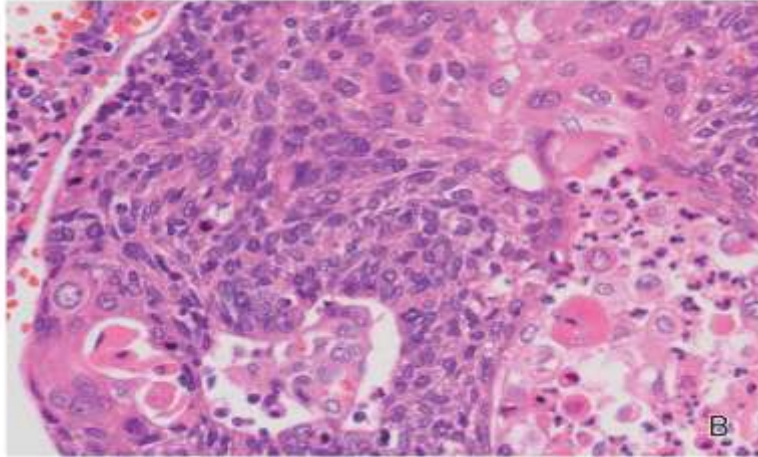
### Πλακώδες καρκίνωμα

Το πλακώδες καρκίνωμα (**Εικόνα 4.**) είναι κακήθες επιθηλιακό νεόπλασμα προερχόμενο από το βρογχικό επιθήλιο. Χαρακτηριστικό του αποτελεί η κερατινοποίηση και/ ή παρουσία μεσοκυττάρων γεφυρών. Στην πλειοψηφία του εντοπίζεται κεντρικά ως ενδοβρογχικές μάζες που μπορεί να εμφανιστούν μετά από αιμόπτυση, μετα-αποφρακτική πνευμονία ή λοβιακή κατάρρευση. Ενώ, σπάνια εντοπίζεται περιφερικά του πνεύμονα (Collins et al., 2007; C.Simon Herrington, 2014; Hashimoto et al., 2021).

Προγνωστικά ιστοπαθολογικά κριτήρια πλακώδους καρκινώματος αποτελούν η σταδιοποίηση TNM, ο ιστολογικός υπότυπος, ο βαθμός διαφοροποίησης και η παρουσία νέκρωσης.

Σταδιοποίηση και επέκταση πλακώδους καρκινώματος πνεύμονα:

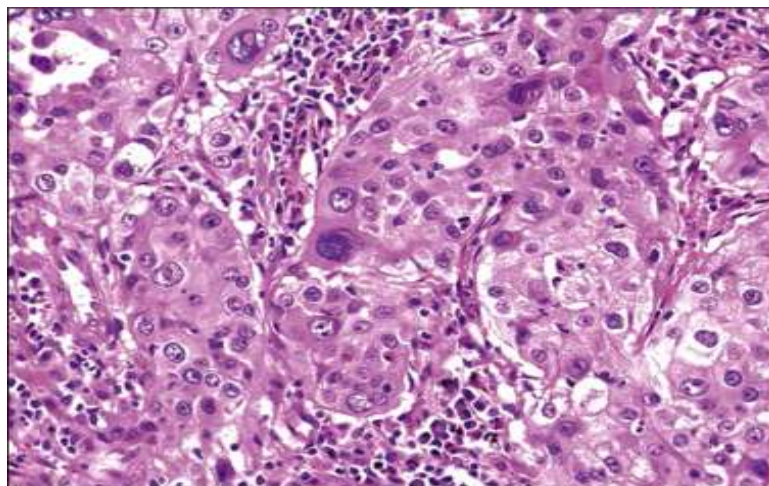
- Η σταδιοποίηση του καρκινώματος ακολουθεί το σύστημα TNM.
- Το πλακώδες καρκίνωμα έχει την τάση να εμφανίζεται τοπικά επιθετικό και επεκτεινόμενο κατά συνέχεια ιστού και σε άλλες διπλανές δομές.
- Μεταστάσεις σε απομακρυσμένα όργανα του σώματος είναι λιγότερο συχνές από ό,τι στα αδενοκαρκινώματα (Collins et al., 2007; Hashimoto et al., 2021).



**Εικόνα 4.** Μικροσκοπική απεικόνιση πλακώδους καρκινώματος(Watanabe et al., 2021).

#### **Καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα (Μεγαλοκυτταρικό)**

Τα μεγαλοκυτταρικά καρκινώματα (**Εικόνα 5.**) είναι ελάχιστα διαφοροποιημένα. Αυτοί οι όγκοι είναι μεγάλες περιφερικές μάζες που συνδέονται με πρώιμες μεταστάσεις. Βασικό χαρακτηριστικό τους είναι η απουσία αδενικής ή πλακώδους διαφοροποίησης καθώς και τα ευδιάκριτα κυτταρικά τους όρια. Τέλος, η νέκρωση του ιστού και η αιμορραγία είναι συχνό φαινόμενο του υπότυπου αυτού όπως επίσης και η ύπαρξη οξείας ή ακόμα και χρόνιας φλεγμονής(Collins et al., 2007; C.Simon Herrington, 2014; G. Wang et al., 2020).

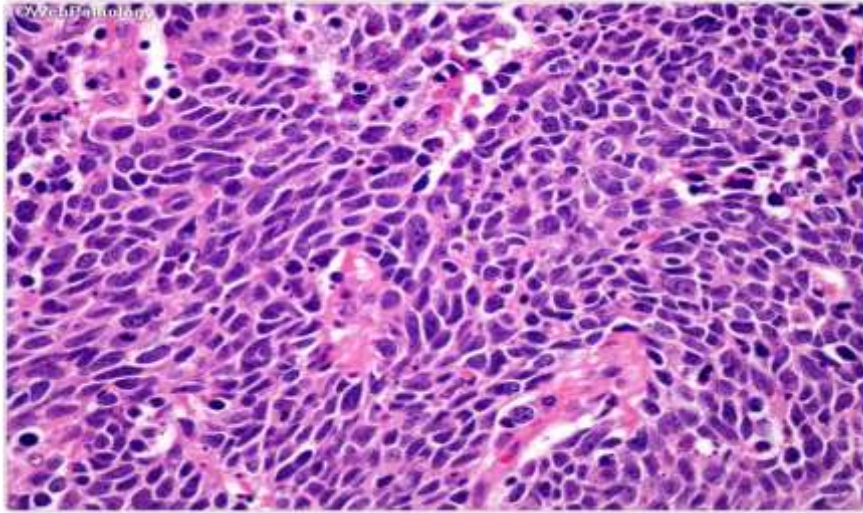


**Εικόνα 5.** Μικροσκοπική απεικόνιση μεγαλοκυτταρικού καρκινώματος (Zander & Farver, 2020).

### 1.3.2 Μικροκυτταρικό καρκίνωμα

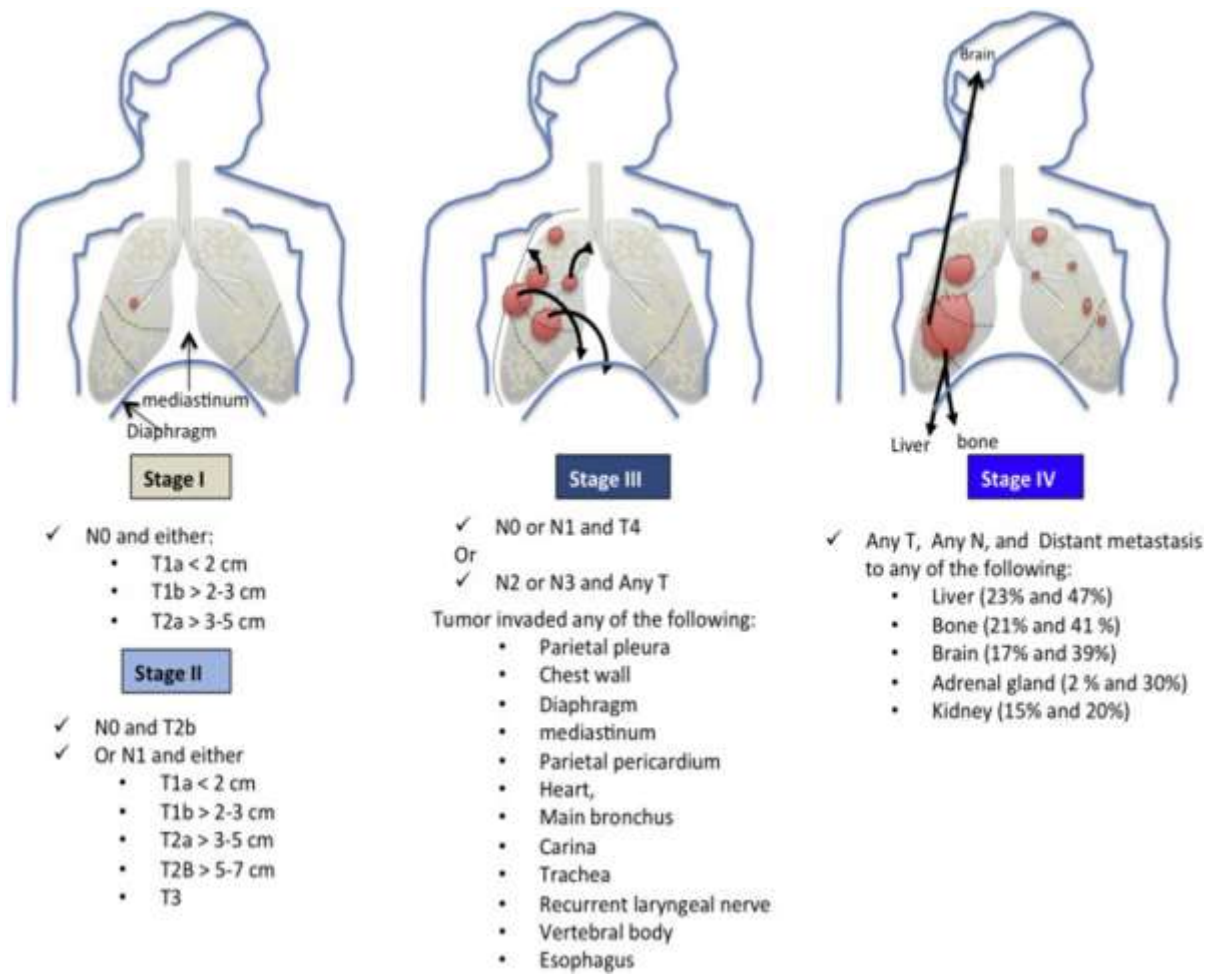
Το μικροκυτταρικό καρκίνωμα (**Εικόνα 6.**) είναι κακόηθες επιθηλιακό νεόπλασμα απαρτιζόμενο από μικρά κύτταρα, τα οποία εμπεριέχουν ελάχιστο κυτταρόπλασμα. Έχει ασαφή κυτταρικά όρια, κοκκιώδης χρωματίνη, απουσία πυρηνίων, υψηλή μιτωτική δραστηριότητα και παρουσιάζει εκτεταμένη νέκρωση.

Τα μικροκυτταρικά καρκινώματα είναι κλινικά πιο επιθετικά. Βρίσκονται συνήθως κεντρικά του πνεύμονα με εκτεταμένη εμπλοκή του μεσοθωρακίου και σχετίζονται με πρώιμες εξωθωρακικές μεταστάσεις, συμπεριλαμβανομένου του παρανεοπλασματικού συνδρόμου. Παρά την ανταπόκρισή τους στη χημειοθεραπεία, είναι συχνά προχωρημένα κατά τη στιγμή της διάγνωσης τους και τις περισσότερες φορές οι ασθενείς έχουν κακή πρόγνωση (Collins et al., 2007; C.Simon Herrington, 2014).



**Εικόνα 6.** Μικροσκοπική απεικόνιση μικροκυτταρικού καρκινώματος.

<https://www.webpathology.com/image.asp?case=420&n=14>



**Εικόνα 7.** Σχηματική απεικόνιση της σταδιοποίησης του Μη Μικροκυτταρικού Καρκίνου του Πνεύμονα (NSCLC)(Lemjabbar-Alaoui et al., 2015).

## 1.4 Συμβατικές Θεραπείες και Ανοσοθεραπεία

### 1.4.1 Εισαγωγή

Οι πιο συχνές θεραπείες για την αντιμετώπιση των κακοηθειών, που χρησιμοποιούνται σήμερα στην κλινική πράξη είναι οι εξής:

- 1) Χειρουργική και χρήση σύγχρονης τεχνολογίας
- 2) Χημειοθεραπεία
- 3) Ακτινοθεραπεία
- 4) Ορμονοθεραπεία
- 5) Επικουρική θεραπεία
- 6) Ανοσοθεραπεία (Sudhakar, n.d.).

Η θεραπεία διαφέρει με βάση τον ιστολογικό τύπο του κακοήθους όγκου, το στάδιο επέκτασης κατά την παρουσίαση και τη λειτουργική αξιολόγηση του ασθενούς.

### 1.4.2 Χειρουργική και χρήση σύγχρονης τεχνολογίας

Οι αρχαίοι χειρουργοί γνώριζαν ότι ο καρκίνος συνήθως επιστρέφει μετά την αφαίρεσή του με χειρουργική επέμβαση. Αφού εφευρέθηκε η αναισθησία το 1846, οι χειρουργοί Bilioth, Handley και Halsted εξέλιξαν τις επεμβάσεις σε καρκινοπαθείς, αφαιρώντας ολόκληρο τον όγκο μαζί με τους λεμφαδένες της γύρω περιοχής. Αργότερα ο Paget ένας χειρουργός διατύπωσε ότι τα καρκινικά κύτταρα εξαπλώνονται από τον πρωταρχικό όγκο σε άλλα σημεία του σώματος μέσω της κυκλοφορίας του αίματος (μετάσταση). Η κατανόηση του μηχανισμού εξάπλωσης του καρκίνου αποτέλεσε βασική προϋπόθεση για την αναγνώριση των περιορισμών που υπάρχουν πάνω στη χειρουργική αφαίρεση του(Sudhakar, n.d.).

Στις αρχές της δεκαετίας του 1970, η πρόοδος στον υπέρηχο (υπερηχογράφημα), την αξονική τομογραφία (σαρώσεις CT), τη μαγνητική τομογραφία (σαρώσεις MRI) και την τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (σαρώσεις PET) έχουν αντικαταστήσει τις περισσότερες διερευνητικές λειτουργίες. Με τη χρήση μικροσκοπικών βιντεοκαμερών και της ενδοσκόπησης, οι χειρουργοί ιατροί μπορούν πλέον να αφαιρέσουν όγκους του οισοφάγου, του παχέος εντέρου και της ουροδόχου κύστης μέσω ειδικά σχεδιασμένων σωλήνων. Πρόσφατα, μελετώνται λιγότερο επεμβατικοί τρόποι καταστροφής όγκων χωρίς την αφαίρεσή τους, συμπεριλαμβανομένου του ψεκασμού με υγρό άζωτο για την κατάψυξη και τη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων (κρυοχειρουργική). Τα λέιζερ επίσης χρησιμοποιούνται για την τομή καρκινικών ιστών και όγκων όπως του τραχήλου, του λάρυγγα, του ορθού, του δέρματος, του ήπατος και άλλων προσβαλλόμενων οργάνων(Sudhakar, n.d.).

### 1.4.3 Χημειοθεραπεία

Τις τελευταίες δεκαετίες του 20ου αιώνα, οι χειρουργοί ανέπτυξαν νέες μεθοδολογίες για τη θεραπεία των κακοηθειών, συνδυάζοντας τη χειρουργική επέμβαση με τη χημειοθεραπεία ή/και την ακτινοβολία. Ο Roentgen ανακάλυψε τις ακτίνες X, 50 χρόνια μετά την ανακάλυψη της αναισθησίας. Με το πέρασμα των χρόνων, η χρήση πολλών χημειοθεραπευτικών φαρμάκων είχε ως αποτέλεσμα την επιτυχή θεραπεία πολλών τύπων καρκίνου (Sudhakar, n.d.).

Παρά την αποτελεσματικότητα των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων έναντι του καρκίνου προκαλούν και πολλές ανεπιθύμητες ενέργειες στους ασθενείς που τα λαμβάνουν.

#### **Παρενέργειες Χημειοθεραπείας:**

Η χορήγηση χημειοθεραπευτικών φαρμάκων συχνά προκαλεί μείωση των έμμορφων συστατικών στο μυελό των οστών με αποτέλεσμα την εμφάνιση αναιμίας και την εξασθένηση των αμυντικών μηχανισμών του οργανισμού. Επηρεάζει σημαντικά τους βλεννογόνους, προκαλεί έλκος και καταστροφή των επιθηλιακών στιβάδων. Επιβραδύνει την ανάπτυξή τους και διεγείρει τη δημιουργία στοματίτιδων και εντερίτιδων. Επίσης, εμφανής είναι η δυσασπορόφηση θρεπτικών ουσιών και η απώλεια σωματικού βάρους. Στις ανεπιθύμητες ενέργειες έρχονται να προστεθούν και οι νευροτοξικές δράσεις όπως είναι οι περιφερικές νευρίτιδες, η υποθερμία, οι παραισθήσεις και οι ληθαργικές καταστάσεις. Επιπλέον, χαρακτηριστικό γνώρισμα αποτελεί η πτώση των τριχών και η δημιουργία αλωπεκίας. Τέλος, μερικοί ασθενείς εμφανίζουν καρδιοπάθεια καθώς και νεφρική ανεπάρκεια, λόγω νέκρωσης των ουροφόρων σωληναρίων.

Σήμερα, μελετώνται νέες προσεγγίσεις για την ελαχιστοποίηση των παρενεργειών της χημειοθεραπείας, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης:

- a) Νέων συνδυασμών φαρμάκων
- b) Θεραπείας με μονοκλωνικά αντισώματα στοχεύοντας συγκεκριμένα τα καρκινικά κύτταρα
- c) Χημειοπροστατευτικών παραγόντων για τη μείωση των παρενεργειών της χημειοθεραπείας
- d) Βλαστοκυττάρων για μεταμόσχευση
- e) Παραγόντων που ξεπερνούν την πολυφαρμακευτική αντοχή (Nurgali et al., 2018).



#### 1.4.4 Ακτινοθεραπεία

Το 1896 ο Roentgen ανακάλυψε τις «ακτίνες Χ» και έπειτα από τρία χρόνια η ακτινοβολία χρησιμοποιήθηκε ως μέσο διάγνωσης για τη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου. Οι ερευνητές, στις αρχές του 20ου αιώνα, προσδιόρισαν ότι η ίδια ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει καρκίνο αλλά και να τον θεραπεύσει. Σήμερα χρησιμοποιούνται διαφόρων ειδών ακτινοθεραπείες, όπου σε αυτές περιλαμβάνονται:

- a) Η σύμμορφη θεραπεία με τη χρήση δέσμης πρωτονίων (η δέσμη πρωτονίων χρησιμοποιείται για την καταστροφή των κακοήθων κυττάρων αντί της χρήσης των ακτίνων Χ)
- b) Η στερεοτακτική χειρουργική και στερεοτακτική θεραπεία (χρησιμοποιείται το gamma knife για τη θεραπεία των όγκων του εγκεφάλου)
- c) Η διεγχειρητική ακτινοθεραπεία (ο καρκίνος αφαιρείται χειρουργικά ακολουθώντας την ακτινοβολία στους παρακείμενους ιστούς) (Sudhakar, n.d.).

Παρά την αποτελεσματικότητα της ακτινοθεραπείας έναντι του καρκίνου προκαλούνται και πολλές ανεπιθύμητες ενέργειες στους ασθενείς που τη λαμβάνουν.

#### **Παρενέργειες Ακτινοθεραπείας:**

Η χρήση της ακτινοθεραπείας προκαλεί ανεπιθύμητες ενέργειες όπως είναι η ακτινοδερματίτις, ο κνησμός και το ερύθημα, που αποτελούν και τις συχνότερες παρενέργειες. Επιπλέον, επιφέρει ανοσοκαταστολή και αναιμία στον ασθενή. Ακόμη, μπορεί να παρουσιαστούν φλεγμονές και οστικές νεκρώσεις καθώς και σκλήρυνση των ιστών, μετά από αρκετό χρόνο ακτινοβόλησης, όπως είναι η πνευμονική ίνωση. Συχνές είναι επίσης, οι συμφύσεις γειτονικών οργάνων όπως είναι οι συμφύσεις εντερικών ελίκων και η πρόκληση ειλεού, ελκών και διαρροϊκών κενώσεων. Καρδιακές παθήσεις μπορεί επίσης να προκληθούν, όπως είναι οξεία περικαρδίτιδα, η ίνωση του μυοκαρδίου και η στένωση στεφανιαίας αρτηρίας. Επιπρόσθετα, μπορεί να προκληθούν μακροχρόνιες νευροτοξικότητες όπως ενδοκρινικές δυσλειτουργίες. Τέλος, η ακτινοθεραπεία μπορεί να οδηγήσει σε αιμορραγίες του πεπτικού σωλήνα και της ουροδόχου κύστης όπως είναι η αιματουρία (Majeed & Gupta, 2021).

#### 1.4.5 Ορμονοθεραπεία

Το 1878 ο Thomas Beatson ανακάλυψε ότι το στήθος των κουνελιών σταμάτησε να παράγει γάλα μετά την αφαίρεση των ωοθηκών τους. Αργότερα οι επιστήμονες εντόπισαν αυτή τη δραματική υποχώρηση του μεταστατικού καρκίνου του

προστάτη μετά την αφαίρεση των όρχεων. Τώρα νέες κατηγορίες φαρμάκων (αναστολείς αρωματάσης, LHRH αναλόγων) χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του καρκινώματος του προστάτη αδένου και του μαστού. Όπως οι ορμόνες επηρεάζουν την ανάπτυξη του καρκίνου, έτσι έχει δημιουργηθεί πρόοδος στην κατανόηση αυτών και συνεπώς στη μείωση του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη αδένου και του μαστού (Sudhakar, n.d.).

#### 1.4.6 Επικουρική Θεραπεία

Είναι η χρήση ακτινοθεραπείας, χημειοθεραπείας, ακτινοβολίας και συστηματικής χημειοθεραπείας μετά από τη χειρουργική επέμβαση και αφαίρεση του όγκου, για την καταστροφή των λίγων εναπομεινάντων καρκινικών κυττάρων στο σώμα. Τα περισσότερα υπάρχοντα δεδομένα για την επικουρική θεραπεία βασίζονται σε αποτελέσματα αναδρομικών μελετών ή μετα-αναλύσεις που στηρίζονται σε αυτές. Ο πρωταρχικός ρόλος της επικουρικής θεραπείας είναι η μείωση του ποσοστού υποτροπής της ασθένειας, που εξαλείφει την πρώιμη μεταστατική νόσο μια και δεν μπορεί να ανιχνευθεί με τις απεικονιστικές τεχνικές. Η θεραπεία αυτή συνιστάται ανεξάρτητα από το στάδιο της κακοήθειας σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του Εθνικού Δικτύου Καρκίνου (National Cancer Center Network). Τα αποτελέσματα της επικουρικής θεραπείας διαφέρουν ανάλογα με τη βαρύτητα του σταδίου του καρκίνου, συμπεριλαμβανομένων των σταδίων της επέκτασης του όγκου και προσβολής των λεμφαδένων. Η επικουρική θεραπεία χρησιμοποιείται σε καρκίνους της ουροδόχου κύστης, του παχέος εντέρου, των όρχεων κ.α. (Sudhakar, n.d.; Suzuki & Bridgewater, 2019).

#### 1.4.7 Ανοσοθεραπεία

Η χρήση βιολογικών παραγόντων που μιμούνται ορισμένα από τα φυσικά σήματα που χρησιμοποιούν τα κύτταρα του σώματος για τον έλεγχο της ανάπτυξης του όγκου ονομάζεται ανοσοθεραπεία. Αυτοί οι φυσικοί βιολογικοί παράγοντες μπορούν τώρα να παραχθούν στο εργαστήριο και περιλαμβάνουν, τις ιντερφερόνες, τις ιντερλευκίνες, τις κυτοκίνες, τους ενδογενείς αγγειοαναστολείς και τα αντιγόνα(Sudhakar, n.d.).

Ο τομέας της ανοσοθεραπείας στην αντιμετώπιση του καρκίνου έχει γνωρίσει εναλλασσόμενες περιόδους ευδοκίας και αποτυχίας στην ανάπτυξη και εφαρμογή στρατηγικών θεραπειών για τον καρκίνο. Στα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα, ο William Coley αντιμετώπιζε ασθενείς με καρκίνο με τοπική ένεση με βακτηριακές τοξίνες, οι οποίες προκάλεσαν αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις σε ένα πλήθος ασθενών. Στη δεκαετία του 1960, οι Thomas και Burnet διατύπωσαν τη θεωρία της ανοσολογικής επιτήρησης του καρκίνου, όπου το ανοσοποιητικό σύστημα

αντιμετωπίζει επιτυχώς τα κακοήθη κύτταρα με ειδικό τρόπο, πιθανότατα μέσω της αναγνώρισης των ειδικών αντιγονικών μορίων που προέρχονται από τον όγκο. Ακολούθησε η αποσαφήνιση της λειτουργίας των T λεμφοκυττάρων στις αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις που οδήγησαν στην κλινική χρησιμότητα του αυξητικού παράγοντα των T λεμφοκυττάρων, την ιντερλευκίνη-2 (IL-2). Η IL-2 πήρε έγκριση από τον FDA για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκινώματος των νεφρικών κυττάρων το 1991 και για το μεταστατικό μελάνωμα, το 1998. Ωστόσο, οι θεραπείες με τη χρήση της IL-2 παρήγαγαν υψηλή τοξικότητα και απέδωσαν σχετικά μειωμένο ποσοστό απόκρισης, υπογραμμίζοντας την ανάγκη ανάπτυξης βελτιωμένων ανοσοθεραπευτικών στρατηγικών(van den Bulk et al., 2018).

Η μετάβαση στην ένταξη της πιο στοχευμένης ανοσοθεραπείας έγινε με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του υβριδώματος, το 1975, στην οποία στηρίχθηκε η παραγωγή και ανάπτυξη των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Αμέσως, δημιουργήθηκαν φαρμακευτικές θεραπείες που βασίζονται στη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων. Η πρώτη έγκριση του FDA λήφθηκε το 1997 για το rituximab, για τη θεραπεία του λεμφώματος από τα B-κύτταρα. Το rituximab είναι ένα γενετικά τροποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει έναντι του αντιγόνου CD20 το οποίο εκφράζεται σε όλα τα B κύτταρα. Προκαλεί τον κυτταρικό θάνατο με κυτταροτοξικότητα που πυροδοτείται από τα αντισώματα, ενεργοποιεί το συμπλήρωμα και επιφέρει την άμεση επαγωγή της απόπτωσης(van den Bulk et al., 2018).

Πιο πρόσφατα, αναπτύχθηκε ένα πλήθος ειδικών μορίων-αντισωμάτων που στοχεύουν τα κυτταρικά σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (π.χ. τα μόρια PD-1/PD-L1 και CTLA-4) για την προώθηση της ενεργοποίησης των T λεμφοκυττάρων και τον παράλληλο έλεγχο του κακοήθους όγκου από το ανοσοποιητικό σύστημα. Αυτή η θεραπευτική στρατηγική έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματική σε όγκους με υψηλό φορτίο μετάλλαξης, θέτοντας τα μεταλλαγμένα αντιγόνα του όγκου (νεοαντιγόνα) στο επίκεντρο, της ανοσοθεραπείας του καρκίνου(van den Bulk et al., 2018).

Σήμερα, οι διάφορες μορφές ανοσοθεραπείας έναντι των νεοπλασματικών κακοηθειών στοχεύουν σε μηχανισμούς αποτροπής της διαφυγής του όγκου. Έτσι, χρησιμοποιούν τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος, για να ενεργοποιήσουν τις αντικαρκινικές ανοσοαποκρίσεις και να αποτρέψουν την ανοχή των καρκινικών κυττάρων (Kennedy & Salama, 2020).

Η απόλυτη επιτυχημένη εφαρμογή των ανοσοθεραπευτικών μεθόδων πρέπει να καθορίζεται από την ικανότητα επίτευξης ισχυρών αποκρίσεων του ανοσοποιητικού συστήματος και της αυξημένης επιβίωσης των ασθενών. Τόσο στα αρχικά στάδια διάγνωσης της νόσου όσο και σε τελικού σταδίου καρκινώματα. Ωστόσο, πρέπει να αντιμετωπιστούν πολλές προκλήσεις για την επίτευξη αυτού του στόχου (Hegde & Chen, 2020).

Οι βασικές προκλήσεις που καλείται να διαχειριστεί η επιστημονική κοινότητα είναι: η ανάπτυξη προκλινικών μοντέλων που βοηθούν στην κατανόηση της ανθρώπινης ανοσίας. Η αποσαφήνιση των κυρίαρχων λειτουργιών της ανοσίας του καρκίνου και η διαλεύκανση των ανοσολογικών μηχανισμών του όγκου. Η κατανόηση των μοριακών και κυτταρικών μονοπατιών της πρωτογενούς έναντι της δευτερογενούς ανοσολογικής διαφυγής. Η διευκρίνιση του οφέλους της ενδογενούς έναντι της συνθετικής ανοσίας και η αποτελεσματική – αποδοτική αξιολόγηση των συνδυασμών ανοσοθεραπείας έναντι του καρκίνου μέσα από κλινικές μελέτες πρώιμης φάσης. Ο πλήρης χαρακτηρισμός της επίδρασης των στεροειδών και των ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου και στις αυτοάνοσες τοξικότητες. Η μεγιστοποίηση εξατομικευμένων και πιο ειδικών προσεγγίσεων στην ανοσοθεραπεία μέσω των πολύτιμων βιοδεικτών. Τέλος η βελτιστοποίηση της μακροπρόθεσμης επιβίωσης των ασθενών με συνδυαστικά σχήματα ανοσοθεραπείας (Hegde & Chen, 2020).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου

### 2.1 Έμφυτη και Προσαρμοστική ανοσία

Ο ανθρώπινος οργανισμός αμύνεται έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών με διάφορους μηχανισμούς ανοσίας. Υπάρχουν δύο συστήματα ανοσίας, το **έμφυτο** σύστημα (ή μη ειδικής ανοσίας) και το **προσαρμοστικό** σύστημα (ή ειδικής ανοσίας), τα οποία συνεργάζονται για να προστατέψουν το σώμα.

Η **έμφυτη ή μη ειδική ανοσία** περιλαμβάνει αμυντικούς μηχανισμούς που από την γέννηση του ατόμου βρίσκονται αδιάκοπα σε λειτουργία. Αντιδρά με ταχύτητα και αμεσότητα, με στόχο την προστασία από ασθένειες. Δεν προϋποθέτει την ειδική αναγνώριση του μικροοργανισμού, αλλά δρα έναντι όλων των παθογόνων μικροβίων. Τέλος, δεν διαθέτει ανοσολογική μνήμη, δηλαδή, δεν μπορεί να ανακαλέσει προηγούμενη επαφή με το ίδιο μικρόβιο (Marshall et al., 2018; Sun et al., 2020).

Το δέρμα, οι βλεννογόνοι με τις εκκρίσεις τους καθώς και η φυσιολογική χλωρίδα του οργανισμού λειτουργούν ως άμυνα πρώτης γραμμής. Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK), τα φαγοκύτταρα, η φλεγμονή, ο πυρετός και οι αντιμικροβιακές ουσίες αποτελούν άμυνα δεύτερης γραμμής. Αυτοί οι μηχανισμοί έγκαιρης προειδοποίησης ανοσίας του οργανισμού, προφυλάσσουν από την είσοδο των μικροβίων στον οργανισμό και συμβάλλουν στην καταπολέμηση εκείνων που έχουν ήδη εισχωρήσει (Marshall et al., 2018; Sun et al., 2020).

Η **προσαρμοστική ή ειδική ανοσία** παρουσιάζει ιδιαίτερη εξειδίκευση, έχει την ικανότητα να αναγνωρίζει και να καταστρέφει, με ειδικό τρόπο, παθογόνους μικροοργανισμούς και μόρια (όπως είναι τα ξένα αντιγόνα). Σε αντίθεση με την έμφυτη ανοσία, οι προσαρμοστικές αποκρίσεις δεν είναι ίδιες για όλα τα μέλη ενός είδους, αλλά είναι αντιδράσεις σε ειδικές αντιγονικές εμφανίσεις και διαθέτουν τέσσερα χαρακτηριστικά:

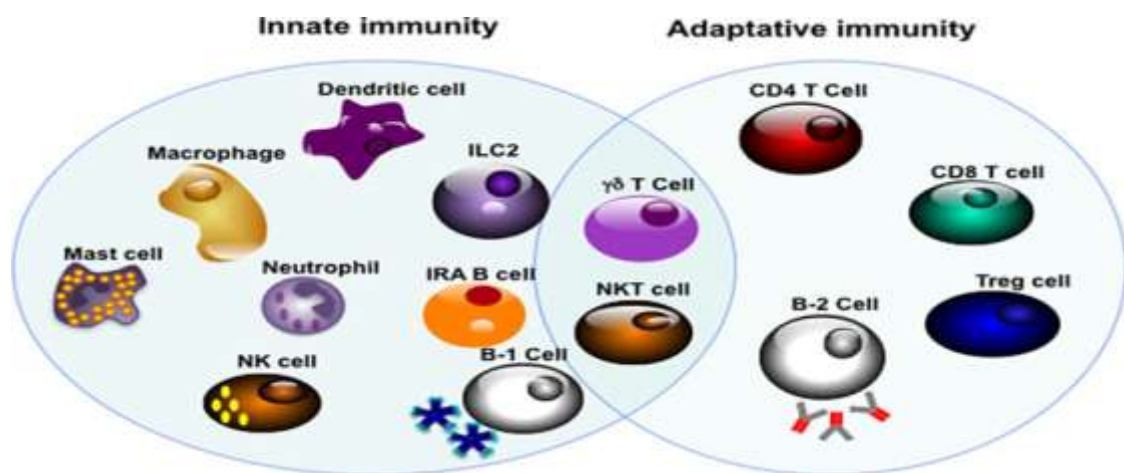
- Αντιγονική ειδικότητα
- Ποικιλομορφία
- Ανοσολογική μνήμη
- Αναγνώριση εαυτών/μη εαυτών κυττάρων (Marshall et al., 2018)

Η αντιγονική ειδίκευση επιτρέπει στο προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα να διακρίνει μικρές αλλά υπάρχουσες διαφορές μεταξύ των αντιγόνων. Τα αντισώματα έχουν μεγάλη διακριτική ικανότητα, αφού μπορούν να διακρίνουν δύο πρωτεϊνικές δομές που διαφέρουν σε ένα μόνο αμινοξύ. Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ικανό να παράγει τεράστια ποικιλομορφία μορίων, τα οποία του επιτρέπουν να αναγνωρίζει δισεκατομμύρια μοναδικές διαφορετικές δομικές αλληλουχίες ξένων αντιγόνων (Goldsby R., 2013).

Μόλις το ανοσοποιητικό σύστημα εντοπίσει και αποκριθεί για πρώτη φορά έναντι ενός ξένου αντιγόνου, εμφανίζει ανοσολογική μνήμη, δηλαδή, μια δεύτερη επαφή με το ίδιο αντιγόνο επάγει μια πιο έντονη και οξεία ανοσολογική απόκριση. Λόγω αυτής της ιδιότητας του, το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να παρέχει αυξημένης διάρκειας ανοσολογική προστασία έναντι πολλών μολυσματικών μικροβίων μετά την πρώτη έκθεση του με αυτά(Goldsby R., 2013).

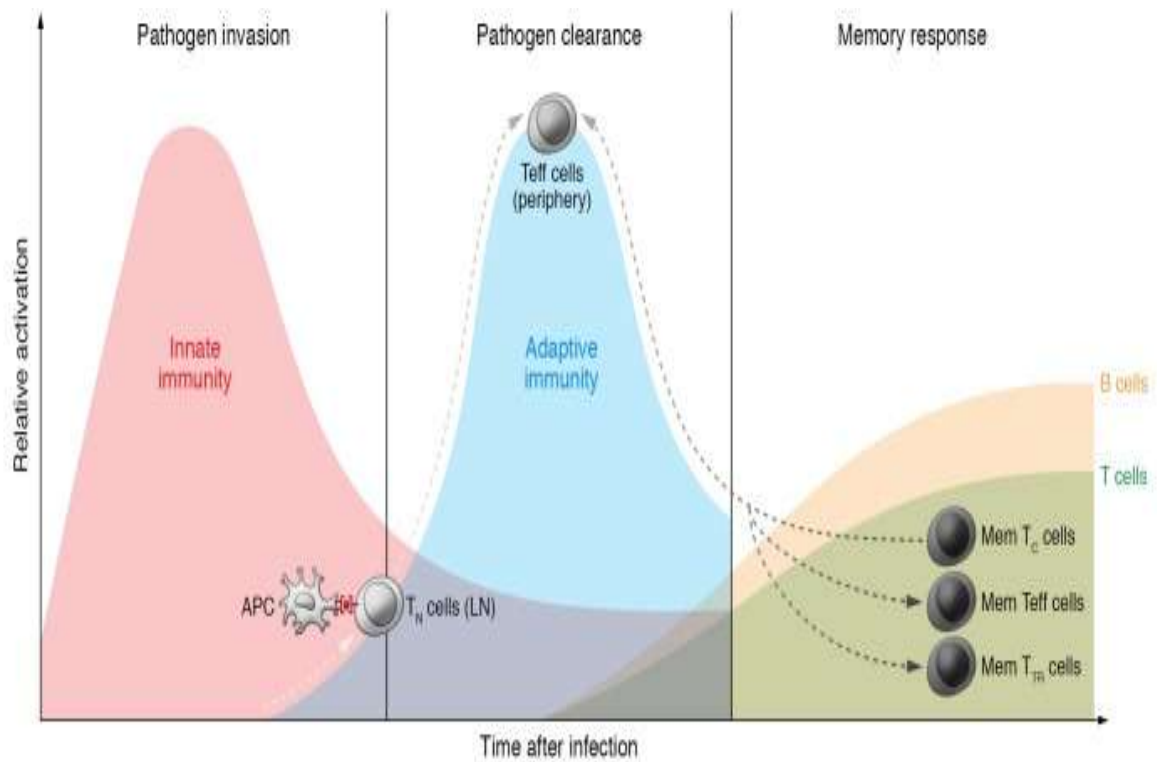
Τέλος, το ανοσοποιητικό σύστημα αποκρίνεται φυσιολογικά μόνο έναντι ξένων αντιγόνων, μπορεί δηλαδή να διακρίνει τα εαυτά από τα μη εαυτά στοιχεία. Η ικανότητα αυτή είναι πρωταρχική και η αδυναμία διάκρισης του εαυτού από το μη εαυτό οδηγεί σε ακατάλληλη απόκριση έναντι των κυττάρων του ίδιου του οργανισμού προκαλώντας μέχρι και θάνατο(Goldsby R., 2013).

Μια αποτελεσματική απόκριση του ανοσοποιητικού περιλαμβάνει δύο κύριες ομάδες κυττάρων: τα **λεμφοκύτταρα** και τα **αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα**. Τα λεμφοκύτταρα απαρτίζουν μία κατηγορία λευκοκυττάρων του αίματος που παράγονται στον μυελό των οστών μέσω της αιμοποίησης. Τα λεμφοκύτταρα όταν εγκαταλείψουν το μυελό των οστών, κυκλοφορούν παράλληλα στο αίμα και τη λέμφο και εδράζονται κυρίως σε όργανα του λεμφικού συστήματος. Βασικές λειτουργίες των λεμφοκυττάρων αποτελούν, η σύνθεση και η έκφραση ειδικών μεμβρανικών υποδοχέων, οι οποίοι συνδέονται με το αντιγόνο. Με τον τρόπο αυτό τα λεμφοκύτταρα μεσολαβούν στον καθορισμό των ανοσολογικών χαρακτηριστικών όπως προαναφέρθηκαν, δηλαδή της ειδικότητας, της ποικιλομορφίας, της ανοσολογικής μνήμης και της αναγνώρισης εαυτών/μη εαυτών κυττάρων. Οι δύο κύριοι υποπληθυσμοί των λεμφοκυττάρων είναι τα **B λεμφοκύτταρα** και τα **T λεμφοκύτταρα**(Goldsby R., 2013).



**Εικόνα 8.** Έμφυτη και προσαρμοστική κυτταρική απόκριση. Τα κύτταρα της έμφυτης ανοσίας χαρακτηρίζονται από γρήγορες αλλά ελάχιστες ειδικές αποκρίσεις, ενώ τα κύτταρα της προσαρμοστικής ανοσίας χαρακτηρίζονται από καθυστερημένες αποκρίσεις οι οποίες όμως είναι πιο ειδικές και αναγνωρίζουν συγκεκριμένους επίτοπους. Ισχυρές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των έμφυτων και προσαρμοστικών

συστημάτων έχουν επισημανθεί κατά την τελευταία δεκαετία (Ait-Oufella et al., 2014)



**Εικόνα 9.** Διαδοχική ενεργοποίηση της έμφυτης και προσαρμοστικής ανοσίας κατά τη διάρκεια της μόλυνσης και ενεργοποίηση μιας μακροπρόθεσμης απόκρισης μνήμης μέσω των T και B λεμφοκυττάρων (Khader et al., 2019).

## 2.2 Μηχανισμοί λειτουργίας των B και T λεμφοκυττάρων

### 2.2.1 B λεμφοκύτταρα

Τα **B λεμφοκύτταρα** (ή B κύτταρα) έχουν σημείο ωρίμανσης το μυελό των οστών. Όταν εγκαταλείψουν το μυελό των οστών, το καθένα από αυτά εμφανίζει στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταρικής του μεμβράνης ένα μοναδικό υποδοχέα που δεσμεύει το αντιγόνο. Ο B κυτταρικός υποδοχέας είναι ένα μεμβρανικό **μόριο αντισώματος**. Τη στιγμή που ένα παρθένο B λεμφοκύτταρο (ένα κύτταρο που δεν έχει έρθει ξανά σε επαφή με κάποιο αντιγόνο) έρχεται για πρώτη φορά σε επαφή με το αντιγόνο που συγγενεύει με το μεμβρανικό αντίσωμά του, το αντιγόνο δεσμεύεται στον υποδοχέα του και προκαλεί άμεσο πολλαπλασιασμό του κυττάρου. Οι απόγονοι του διαφοροποιούνται σε **B κύτταρα μνήμης** και σε **δραστικά B κύτταρα**, που επικαλούνται **πλασματοκύτταρα**. Τα B λεμφοκύτταρα μνήμης έχουν μεγαλύτερο χρόνο ζωής από τα παρθένα B κύτταρα και συνεχίζουν να εκφράζουν τις ίδιες μεμβρανικές ανοσοσφαιρίνες (αντισώματα) με το πατρικό τους κύτταρο. Τα πλασματοκύτταρα, από την άλλη πλευρά, παράγουν την ανοσοσφαιρίνη σε εκκριτική μορφή και διαθέτουν ελάχιστες ή καθόλου μεμβρανικές ανοσοσφαιρίνες. Τα πλασματοκύτταρα αποτελούν το τελευταίο στάδιο ωρίμανσης και δεν υφίστανται περαιτέρω κυτταρική διαίρεση. Παρόλο που η διάρκεια ζωής τους είναι μόνο μία ή δύο εβδομάδες, εκκρίνουν τεράστιες ποσότητες αντισώματος. Επίσης, έχει υπολογιστεί ότι ένα απλό πλασματοκύτταρο μπορεί να εκκρίνει εκατοντάδες έως και χιλιάδες αντισωματικά μόρια ανά δευτερόλεπτο. Τα αντισώματα που εκκρίνονται αποτελούν τα κυρίαρχα δραστικά μόρια της χυμικής ανοσίας (Goldsby R., 2013).

### 2.2.2 T λεμφοκύτταρα

Τα **T λεμφοκύτταρα** (ή T κύτταρα) έχουν πηγή προέλευσης το μυελό των οστών. Η διαφορά τους με τα B κύτταρα είναι, ότι αυτά δεν ωριμάζουν μέσα στο μυελό των οστών, αλλά τα T λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν από το μυελό των οστών και εγκαθίστανται στο θύμο αδένια για να πραγματοποιηθεί η ωρίμανσή τους. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του, το T κύτταρο αρχίζει να εκφράζει στην κυτταρική του μεμβράνη ένα μοναδικό αντιγονοδεσμευτικό μόριο, που ονομάζεται **υποδοχέας του T κυττάρου** (T-cell receptor, **TCR**) (Goldsby R., 2013).

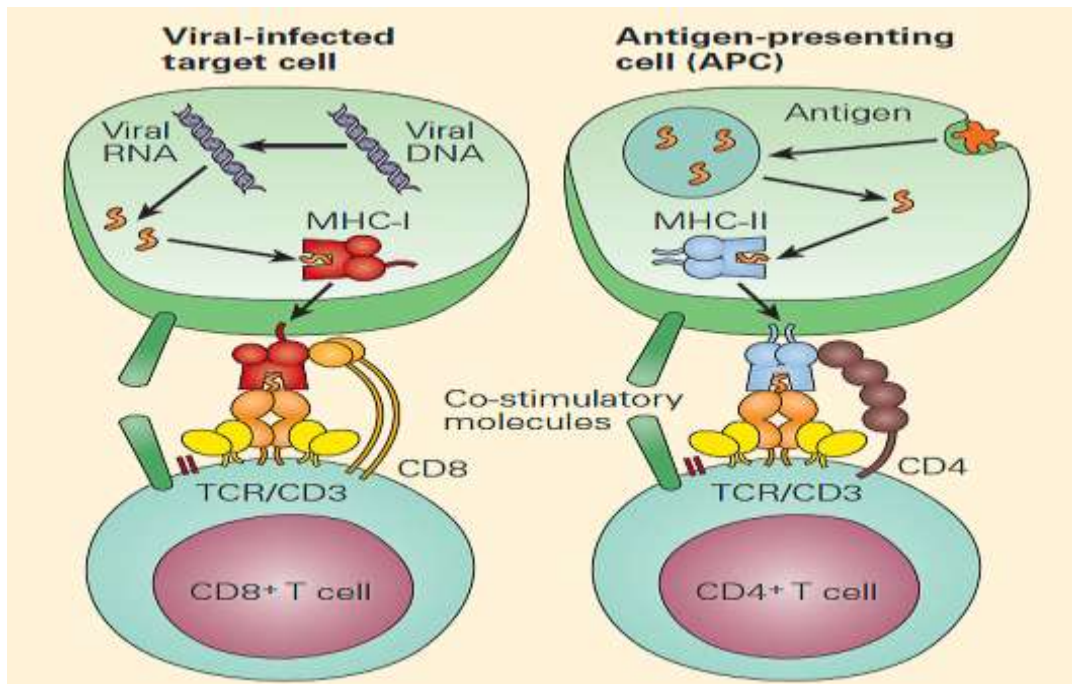
Υπάρχουν δύο καλά αναγνωρισμένοι υποπληθυσμοί T λεμφοκυττάρων: τα **T βοηθητικά** (T helper, **T<sub>H</sub>**) και τα **T κυτταροτοξικά** (T cytotoxic, **T<sub>C</sub>**) κύτταρα. Τα **T<sub>H</sub>** και τα **T<sub>C</sub>** κύτταρα μπορούν να ταξινομηθούν από την εμφάνιση των μεμβρανικών γλυκοπρωτεϊνών CD4 και CD8 στην επιφάνειά τους αντίστοιχα. Τα T κύτταρα που εμφανίζουν τα μόρια **CD4** γενικά λειτουργούν ως **T<sub>H</sub>** κύτταρα, ενώ εκείνα που εμφανίζουν τα μόρια **CD8** λειτουργούν ως **T<sub>C</sub>** κύτταρα. Ένας τρίτος τύπος T κυττάρου, που ονομάζεται **T ρυθμιστικό κύτταρο** (T regulatory cell, **T<sub>reg</sub>**), φέρει CD4



στην κυτταρική επιφάνεια του, αλλά μπορεί να διακριθεί από τα  $T_H$  και τα  $T_C$  με βάση επιφανειακούς δείκτες που σχετίζονται με το στάδιο ενεργοποίησής του (Goldsby R., 2013).

Αντίθετα με τον υποδοχέα της επιφάνειας του Β λεμφοκυττάρου, που συνδέεται με ελεύθερα αντιγόνα, ο υποδοχέας του Τ λεμφοκυττάρου μπορεί να αναγνωρίζει μόνον αντιγόνα που είναι συνδεδεμένα σε μεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες ονομάζονται **μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας** (Major Histocompatibility Complex, **MHC**). Τα μόρια MHC είναι πολυμορφικές (γενετικά ποικιλόμορφες) γλυκοπρωτεΐνες που εντοπίζονται στην επιφάνεια των κυτταρικών μεμβρανών διαφόρων κυττάρων. Έχουν περιγραφεί δύο κύριοι τύποι μορίων MHC: τα μόρια MHC τάξης I, που εκφράζονται σχεδόν σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα των σπονδυλωτών και τα μόρια MHC τάξης II, που εκφράζονται μόνο στα **αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα** (antigen presenting cells, **APCs**). Όταν ένα παρθένο Τ λεμφοκύτταρο έρθει πρώτη φορά σε επαφή με αντιγονικό μόριο συνδεδεμένο σε ένα μόριο MHC πάνω σε ένα κύτταρο, το Τ λεμφοκύτταρο ενεργοποιείται και ξεκινάει οι διαδικασίες του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης σε Τ λεμφοκύτταρα μνήμης και διάφορα δραστικά Τ λεμφοκύτταρα. Τα  $T_H$  κύτταρα αναγνωρίζουν αντιγόνο συνδεδεμένο σε μόρια MHC τάξης II, ενώ τα  $T_C$  αναγνωρίζουν αντιγόνο συνδεδεμένο σε μόρια MHC τάξης I (Goldsby R., 2013; Wiczorek et al., 2017).

Όταν ένα  $T_H$  κύτταρο αναγνωρίσει και αλληλεπιδράσει με ένα σύμπλεγμα αντιγόνου- MHC τάξης II, ενεργοποιείται, υφίσταται μεταβολικό μετασχηματισμό και αρχίζει να εκκρίνει διάφορες κυτταροκίνες. Οι κυτταροκίνες που εκκρίνονται διαδραματίζουν μείζονα ρόλο στην ενεργοποίηση των Β λεμφοκυττάρων, των  $T_C$  κυττάρων, των μακροφάγων και διαφόρων άλλων κυτταρικών τύπων που συμμετέχουν στις διαδικασίες ανοσολογικής απόκρισης (κυτταρομεσολαβητική ή κυτταρική ανοσία). Διαφορές στους τύπους των κυτταροκινών που προέρχονται από τα ενεργοποιημένα  $T_H$  κύτταρα, οδηγούν σε διαφορετικά πρότυπα ανοσολογικής απόκρισης. Μια πιθανή απόκριση είναι η επαγωγή μιας αλλαγής στα  $T_C$  κύτταρα, τα οποία μετατρέπονται σε **κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα** (cytotoxic T lymphocytes, **CTLs**) και εκδηλώνουν δράση κυτταροτοξική. Τα CTLs έχουν ζωτική σημασία στη σωστή λειτουργία της επιτήρησης των κυττάρων του σώματος και της εξάλειψης κυττάρων μολυσμένων με ιούς και κακοήθων κυττάρων (Goldsby R., 2013).



**Εικόνα 10.** Τα  $T_c$  είναι κύτταρα που αναγνωρίζουν με ειδικό τρόπο το αντιγόνο, συνδεδεμένο με μόρια MHC τάξης I (αριστερά) ενώ τα  $T_H$  κύτταρα αναγνωρίζουν αντιγόνο συνδεδεμένο με μόρια MHC τάξης II(δεξιά) (Immunopaedia, n.d.).

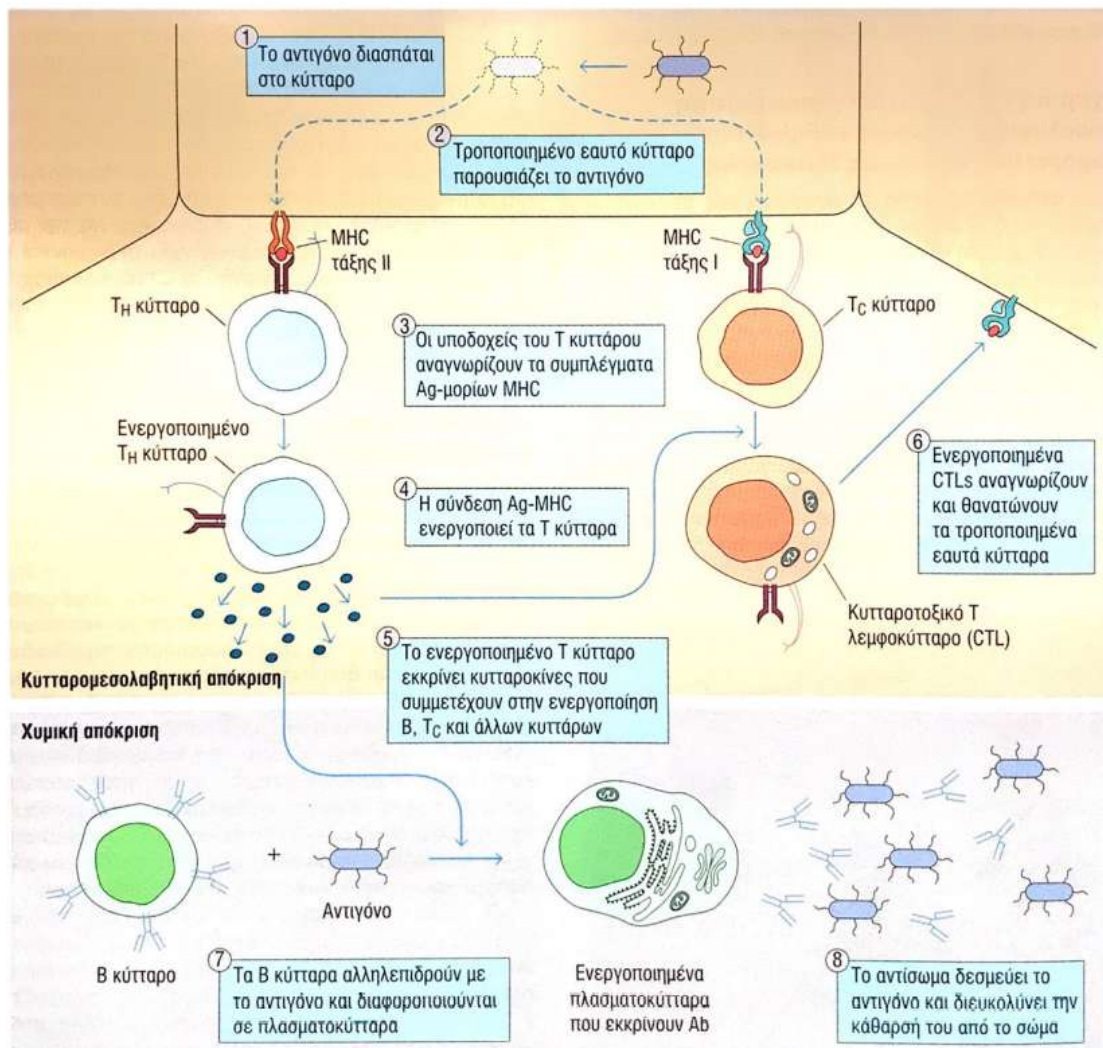
### 2.2.3 Η χυμική και η κυτταρομεσολαβητική ανοσολογική απόκριση ως εκδήλωση διαφορετικών δραστικών λειτουργιών

Όπως αναφέρθηκε, ήδη, οι ανοσολογικές αποκρίσεις μπορούν να διαιρεθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις χυμικές και τις κυτταρομεσολαβητικές αποκρίσεις. Η χυμικού τύπου ανοσία αναφέρεται στην ανοσία που μπορεί να προκληθεί στην περίπτωση που ένα μη ανοσοποιημένο άτομο δεχτεί αντισωματικά μόρια από τον ορό ενός ανοσοποιημένου ατόμου. Από την άλλη πλευρά, η κυτταρομεσολαβητική ανοσία μπορεί να προκληθεί μόνο στην περίπτωση εξωγενούς χορήγησης T λεμφοκυττάρων ενός ανοσοποιημένου ατόμου (**Εικόνα 11.**) (Goldsby R., 2013).

**Χυμική ανοσία:** Περιλαμβάνει τις αλληλεπιδράσεις των B λεμφοκυττάρων με το αντιγόνο και τον μετέπειτα πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή τους σε πλασματοκύτταρα. Το αντίσωμα επιτελεί βασικές λειτουργίες ως ο δραστικός παράγοντας της χυμικής απόκρισης, με τη σύνδεσή του στο αντιγονικό μόριο και την ακολουθούμενη καταστροφή του. Για παράδειγμα, το αντίσωμα έχει την ικανότητα να δεσμεύσει πολλά αντιγόνα, δημιουργώντας συμπλέγματα τα οποία μπορούν να φαγοκυτταρωθούν με μεγαλύτερη ευκολία. Ακόμα, η δέσμευση αντισώματος στο αντιγονικό μόριο ενός μικροβίου μπορεί να πυροδοτήσει την ενεργοποίηση του καταρράκτη του συμπληρώματος με αποτέλεσμα την εξάλειψη

του παθογόνου μικροοργανισμού. Επιπλέον, τα μόρια των αντισωμάτων μπορούν να εξουδετερώσουν ουσίες όπως τοξίνες ή ιικά σωματίδια επικαλύπτοντάς τα και παρεμποδίζοντας έτσι την πρόσδεσή τους σε κύτταρα του ξενιστή (Goldsby R., 2013; Seifert & Küppers, 2016).

**Κυτταρομεσολαβητική ανοσία:** Τα δραστικά T λεμφοκύτταρα, που δημιουργούνται ως απόκριση σε ένα ξένο αντιγόνο, είναι αρμόδια της κυτταρομεσολαβητικής ανοσίας. Τα CTLs και τα T<sub>H</sub> λειτουργούν ως δραστικά κύτταρα. Τα T<sub>H</sub> κύτταρα εκκρίνουν κυτταροκίνες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να ενεργοποιήσουν διάφορα φαγοκύτταρα. Αυτά μπορούν να θανατώσουν ξένους μικροοργανισμούς πιο αποτελεσματικά. Ο τύπος αυτός της κυτταρικής ανοσίας είναι πολύ σημαντικός για την εξάλειψη παθογόνων βακτηριδίων και πρωτοζώων που έχουν προσβάλλει τα κύτταρα του οργανισμού, μολύνοντάς τα. Τα CTLs συμμετέχουν στις κυτταρομεσολαβητικές αποκρίσεις καταστρέφοντας εαυτά κύτταρα, κύτταρα μολυσμένα από ιούς και καρκινικά κύτταρα (Goldsby R., 2013). Μετά την εξάλειψη του αντιγόνου, η πλειονότητα αυτών των κυττάρων καταστρέφεται (έως και 90-95%), μέσω της διαδικασίας της απόπτωσης. Ένα μικρό ποσοστό των T κυττάρων που επιβιώνει, δημιουργεί τα T κύτταρα μνήμης, τα οποία χαρακτηρίζονται από μακροπρόθεσμη επιβίωση και είναι ικανά να αντιμετωπίσουν γρηγορότερα και πιο αποτελεσματικά μία πιθανή επαναλοίμωξη από το ίδιο αντιγόνο (Brummelman et al., 2018).



**Εικόνα 11.** Επισκόπηση του χυμικού και του κυτταρομεσολαβητικού μηχανισμού του ανοσοποιητικού συστήματος [Goldsby R et al., 2013].

Αναλυτικότερα, τα CD4<sup>+</sup> ανοσοδραστικά T κύτταρα αποτελούνται από δύο υποπληθυσμούς, οι οποίοι διαχωρίζονται με βάση τις διαφορετικές ομάδες κυτταροκινών που εκκρίνουν. Ο ένας υποπληθυσμός, που ονομάζεται υποπληθυσμός T<sub>H</sub>1, εκκρίνει IL-2 (ιντερλευκίνη-2), IFN-γ (ιντερφερόνη-γ) και TNF-β (παράγοντας νέκρωσης όγκου-β). Τα T<sub>H</sub>1 κύτταρα είναι υπεύθυνα για τις κλασικές λειτουργίες της κυτταρομεσολαβητικής ανοσίας, όπως η επιβραδυνόμενη τύπου υπερευαισθησία και η ενεργοποίηση των κυτταροτοξικών T κυττάρων. Ο άλλος, ο υποπληθυσμός T<sub>H</sub>2, εκκρίνει IL-4 (ιντερλευκίνη-4), IL-5 (ιντερλευκίνη-5), IL-6 (ιντερλευκίνη-6) και IL-10 (ιντερλευκίνη-10) και έχει αποτελεσματικότερο ρόλο στην ενεργοποίηση των B κυττάρων (Goldsby R., 2013).

## 2.3 Μηχανισμοί ρύθμισης αποφυγής αυτοάνοσης αντίδρασης

Η **ανοχή** του εαυτού είναι η ικανότητα του οργανισμού στην ειδική μη απόκριση στα εαυτά αντιγόνα. Το μέγιστο της ικανότητας ανοχής των εαυτών αντιγόνων δημιουργείται κατά την ανάπτυξη των λεμφοκυττάρων, κατά την οποία τα ανώριμα λεμφοκύτταρα εκτίθενται σε εαυτά συστατικά. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, κύτταρα που αναγνωρίζουν εαυτά στοιχεία, απενεργοποιούνται. Τα κύτταρα που επιβιώνουν, ελευθερώνονται στην περιφέρεια.

Αντιγόνα που δεν έχουν παρουσιαστεί στα ανώριμα λεμφοκύτταρα, κατά τη διάρκεια της κρίσιμης αυτής περιόδου, μπορεί αργότερα να αναγνωριστούν ως μη εαυτά, δηλαδή ως ξένα από το ανοσοποιητικό σύστημα (Goldsby R., 2013).

### **Μηχανισμοί ρύθμισης Β λεμφοκυττάρων**

Η ειδικότητα των αντιγόνων ενός Β λεμφοκυττάρου ορίζεται από το μεμβρανικό υποδοχέα του, δηλαδή από το αντισωματικό μόριο, που εκφράζεται από αυτό. Καθώς ένα Β λεμφοκύτταρο ωριμάζει στο μυελό των οστών, η ειδικότητά του δημιουργείται από τυχαίες αναδιαμορφώσεις μιας σειράς γονιδιακών περιοχών που κωδικοποιούν το μόριο του αντισώματος. Έτσι, όλα τα αντισωματικά μόρια σε ένα συγκεκριμένο Β κύτταρο, έχουν πανομοιότυπη ειδικότητα και ο θυγατρικός κλώνος του κυττάρων έχει την ίδια διακριτή ειδικότητα για ένα μοναδικό αντιγόνο (Goldsby R., 2013).

Οι τυχαίες γονιδιακές αναδιατάξεις κατά το στάδιο της ωρίμανσης παράγουν έναν τεράστιο αριθμό διαφορετικών αντιγονικών ειδικοτήτων. Ο πληθυσμός των Β κυττάρων, που προκύπτει, υπολογίζεται ότι παρουσιάζει συνολικά περισσότερες από  $10^{10}$  διαφορετικές αντιγονικές ειδικότητες. Αυτή η τεράστια ποικιλομορφία σε έναν πληθυσμό ώριμων Β λεμφοκυττάρων μειώνεται, με μια διαδικασία επιλογής τους στο μυελό των οστών. Σύμφωνα με αυτήν αποκλείονται Β κύτταρα των οποίων το μεμβρανικό αντίσωμα αναγνωρίζει εαυτά συστατικά και εξασφαλίζει τη μη παραγωγή αυτό-αντισωμάτων. (Eibel et al., 2014; Goldsby R., 2013).

### **Μηχανισμοί ρύθμισης Τ λεμφοκυττάρων**

Τα γνωρίσματα της ειδικότητας και της ποικιλομορφίας χαρακτηρίζουν επίσης τους υποδοχείς των Τ κυττάρων (TCR). Ο θύμος αδένας αποτελεί τη θέση στην οποία λαμβάνει χώρα η ανάπτυξη και η ωρίμανση των Τ κυττάρων. Η διαδικασία της ωρίμανσης των Τ κυττάρων περιλαμβάνει τυχαίες αναδιατάξεις μιας σειράς γονιδιακών τμημάτων που κωδικοποιούν τον υποδοχέα τους. Κάθε Τ λεμφοκύτταρο εκφράζει κατά προσέγγιση  $10^5$  υποδοχείς, όλους με πανομοιότυπη ειδικότητα για το συγκεκριμένο αντιγόνο. Η τυχαία ανακατανομή των γονιδίων των υποδοχέων είναι ικανή να παράγει  $10^9$  διαφορετικές αντιγονικές ειδικότητες.

Οι Τ κυτταρικοί υποδοχείς που δημιουργούνται μέσω της γονιδιακής αναδιάταξης είναι ικανοί να αναγνωρίζουν τα συμπλέγματα αντιγόνου-μορίων ΜΗC. Οι περισσότεροι όμως Τ κυτταρικοί υποδοχείς, που παράγονται με την παραπάνω τυχαία διαδικασία, δεν μπορούν να αναγνωρίζουν αυτά τα συμπλέγματα και κάποιο μικρό ποσοστό αλληλεπιδρά με συμπλέγματα εαυτών αντιγόνων-μορίων ΜΗC. Τα Τ λεμφοκύτταρα που δεν μπορούν να αναγνωρίσουν τα συμπλέγματα αντιγόνου-μορίων ΜΗC, καθώς και αυτά που αντιδρούν αρκετά ισχυρά με συμπλέγματα εαυτών αντιγόνων-μορίων ΜΗC, εξαιτίας του κινδύνου πρόκλησης αυτοάνοσων νοσημάτων, καταστρέφονται μέσα στο θύμο αδένα με απόπτωση. Ένα ποσοστό μεγαλύτερο του 95% όλων των Τ κυττάρων, πεθαίνουν με τη διαδικασία της απόπτωσης στο θύμο αδένα, χωρίς ποτέ να ωριμάσουν και να βγουν στην κυκλοφορία (Goldsby R., 2013; Kumar et al., 2018).

## 2.4 Μηχανισμοί αντιμετώπισης καρκίνου ή αποτροπής καρκινογένεσης

Οι κυτταρομεσολαβητικές αποκρίσεις διακρίνονται σε δύο κύριες κατηγορίες, με βάση τον κυτταρικό πληθυσμό που ενεργοποιείται.

Στην 1<sup>η</sup> κατηγορία, συμμετέχουν κύτταρα που επιδεικνύουν την ικανότητα **άμεσης κυτταροτοξικής δράσης, τα οποία καταστρέφουν ξένα κύτταρα ή εαυτά κύτταρα που έχουν μεταλλαχθεί, συμπεριλαμβανομένων των προσβεβλημένων από ιούς κυττάρων και των καρκινικών κυττάρων**. Τα διάφορα κυτταροτοξικά κύτταρα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

1. Τα αντιγονοειδικά **κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CTLs)**
2. Τα μη ειδικά σε αποκρίσεις κύτταρα, όπως είναι τα **φυσικά φονικά (NK) κύτταρα** και τα **μακροφάγα**.

Στη 2<sup>η</sup> κατηγορία κυττάρων, που συμμετέχουν στις κυτταρομεσολαβητικού τύπου αποκρίσεις, περιλαμβάνονται οι πληθυσμοί CD4<sup>+</sup> Τ λεμφοκυττάρων (T<sub>H</sub>1 και T<sub>H</sub>2), οι οποίοι ρυθμίζουν τις αντιδράσεις υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου (Goldsby R., 2013).

### **Κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα**

Τα CTLs προέρχονται από τη διαδικασία ενεργοποίησης των Τ κυτταροτοξικών κυττάρων (T<sub>C</sub>). Αυτού του είδους τα κύτταρα έχουν ως κύριο χαρακτηριστικό τους τη **λυτική ικανότητα** και επιτελούν καθοριστικό ρόλο στην αναγνώριση και **θανάτωση των μεταλλαγμένων κυττάρων** (όπως είναι τα κύτταρα μολυσμένα από ιούς και τα **καρκινικά κύτταρα**). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα CTLs ανήκουν στην τάξη των

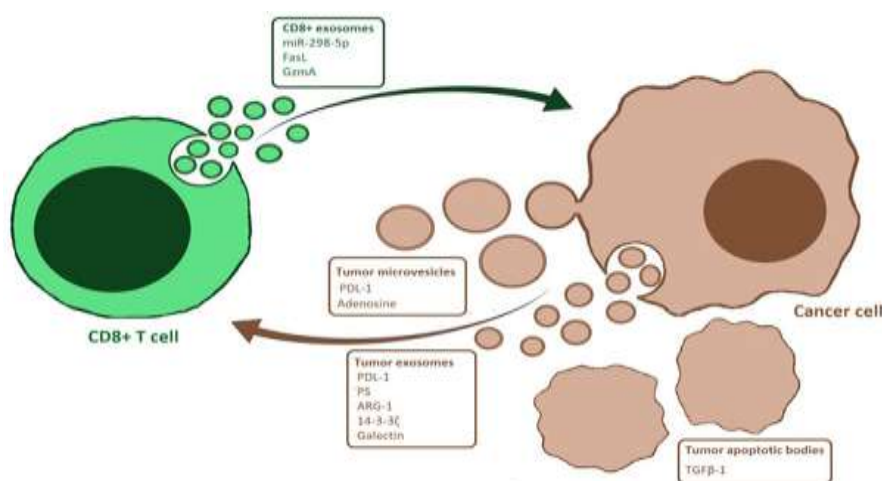
CD8+ και συνεπώς αναγνωρίζουν μόρια συνδεδεμένα στα MHC τάξης I (Goldsby R., 2013).

Το γεγονός ότι όλα σχεδόν τα εμπύρνηνα κύτταρα του σώματος εκφράζουν μόρια MHC τάξης I αποδουκνύει ότι, ένα CTL μπορεί να αναγνωρίζει και να καταστρέφει σχεδόν κάθε σωματικό κύτταρο που φέρει το ειδικό αντιγόνο. Αυτό αναγνωρίζεται από το συγκεκριμένο CTL, σε συνδυασμό με ένα μόριο MHC τάξης I. Η ανοσολογική απόκριση μέσω των CTLs, διακρίνεται σε 2 στάδια:

- Στο 1<sup>ο</sup> στάδιο, πραγματοποιείται ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των παρθένων T<sub>C</sub> κυττάρων, σε δραστικά CTLs.
- Στο 2<sup>ο</sup> στάδιο, τα δραστικά πλέον CTLs αναγνωρίζουν συμπλέγματα αντιγόνου-MHC τάξης I στην κυτταρική επιφάνεια συγκεκριμένων κυττάρων στόχων, έχοντας ως συνέπεια την καταστροφή τους (Andersen et al., 2006; Goldsby R., 2013).

Τα CTLs μπορούν να εξουδετερώσουν τα κακοήθη κύτταρα με τρεις διαφορετικούς τρόπους, ο ένας μέσω της χυμικής ενεργοποίησης και οι άλλοι δύο με άμεση επαφή των κυττάρων στόχων με τα CTLs :

Ο πρώτος τρόπος περιλαμβάνει τη **διαμεσολάβηση κυτταροκινών**, όπως είναι η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNF-α), που παράγονται και εκκρίνονται λόγω της διέγερσης του υποδοχέα TCR. Αυτές οι κυτταροκίνες επηρεάζουν το κύτταρο στόχο ή τα κύτταρα που βρίσκονται σε απόσταση από το τελεστικό T κύτταρο, προκαλώντας κυτταρικό θάνατο (Andersen et al., 2006; del Vecchio et al., 2021).



**Εικόνα 12.** Σχηματική αναπαράσταση της αλληλεπίδρασης CD8+ T κυττάρων και κυττάρων όγκου με τη μεσολάβηση εξωκυτταρικών κυστιδίων [del Vecchio et al, 2021].

Τα κύρια στάδια, των επακόλουθων δύο μηχανισμών, στο μεσολαβούμενο από CTL κυτταρικό θάνατο είναι η δημιουργία συζεύγματος, η επίθεση στη μεμβράνη, η

αποσύνδεση του CTL από το κύτταρο και τέλος η θανάτωση του κυττάρου στόχου(Goldsby R., 2013).

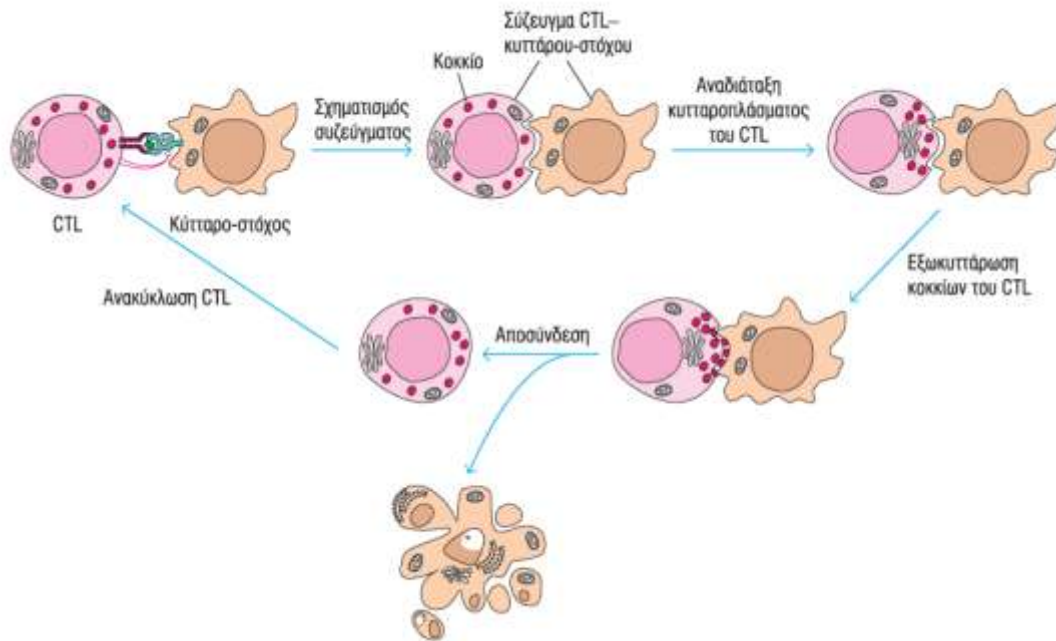
Ο δεύτερος τρόπος δράσης των CTLs περιλαμβάνει την **αλληλεπίδραση των Fas/FasL**. Τα δραστικά CTLs εκφράζουν στην επιφάνειά τους συνδέτες Fas, οι οποίοι συνδέονται με τους υποδοχείς Fas (Fas, CD95) που εκφράζονται στα κύτταρα στόχους(Andersen et al., 2006). Αυτή η αλληλεπίδραση ενεργοποιεί σηματοδοτικά μόρια τα οποία πυροδοτούν το μηχανισμό της απόπτωσης μέσω του καταρράκτη των κασπασών. Συγκεκριμένα, ενεργοποιούνται οι προκασπάσες 8 και 10, οι οποίες έπειτα ενεργοποιούν τις τελεστικές κασπάσες 3, 6 και 7, έχοντας ως αποτέλεσμα την απόπτωση. Μόλις, ολοκληρωθεί η θανάτωση του πρώτου κυττάρου στόχου τα κυτταροτοξικά CD8+ T κύτταρα μετακινούνται στην προσπάθεια εντοπισμού ενός νέου στόχου, ώστε να επιτελέσουν πάλι την ίδια διαδικασία(del Vecchio et al., 2021).

Ο τρίτος μηχανισμός δράσης των CTLs είναι μέσω της **απελευθέρωσης κυτταροτοξικών κοκκίων** στα κύτταρα στόχους(del Vecchio et al., 2021). Με τη βοήθεια του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου έχει ανακαλυφθεί η ύπαρξη πυκνών αποθηκευτικών κοκκίων, σε ποικίλους κλώνους CTL κυττάρων. Αυτά τα κοκκία έχουν απομονωθεί με τη διαδικασία της κλασμάτωσης και έχει δειχθεί ότι μεσολαβούν στην καταστροφή επιλεγμένων κυττάρων. Η εργαστηριακή ανάλυση του περιεχομένου των κοκκίων, απέδειξε ότι εμπεριέχουν μονομερή 65 kDa μίας πρωτεΐνης με την ικανότητα να σχηματίζει πόρους που ονομάζεται περφορίνη, καθώς και αρκετές πρωτεάσες σερίνης, που αποκαλούνται θρυμματίνες(Goldsby R., 2013).

Αναλυτικότερα, η περφορίνη είναι ένα υδρόφοβο μόριο που σχηματίζει πόρους που εξαρτώνται από το ασβέστιο ( $Ca^{2+}$ ) στη μεμβράνη του κυττάρου στόχου. Η περφορίνη και οι θρυμματίνες αποθηκεύονται σε εκκριτικά λυσοσώματα που ονομάζονται και λυτικά κοκκία, τα οποία συγκεντρώνονται γύρω από το κεντρόσωμα σε ενεργοποιημένα CTL. Κατά τη δημιουργία συζεύγματος, το κεντρόσωμα προσανατολίζεται προς το κέντρο της επαφής, τοποθετώντας τα κοκκία σε στενή επαφή με τη συναπτική μεμβράνη. Αυτό το συμβάν πόλωσης πιστεύεται ότι αυξάνει την ισχύ και την ειδικότητα της θανάτωσης προάγοντας την απελευθέρωση του περιεχόμενου των κόκκων στο στόχο(Basu et al., 2016).

Μόλις τα ένζυμα θρυμματίνης B εισχωρήσουν στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου στόχου, πυροδοτούν έναν καταρράκτη διεργασιών που έχει ως συνέπεια τον κατακερματισμό του DNA του επιλεγμένου κυττάρου σε ολιγομερή κομμάτια των 200 ζευγών βάσεων. Αυτός ο τρόπος θραύσης του DNA είναι χαρακτηριστικό αποτέλεσμα της απόπτωσης. Αυτό έχει ως συνέπεια την καταστροφή κακοήθων κυττάρων και σε πολλές περιπτώσεις την αποτροπή καρκινογένεσης (Goldsby R., 2013).





**Εικόνα 13.** Στάδια καταστροφής κυττάρων-στόχων μέσω των CTLs [Goldsby R., et al, 2013].

Ωστόσο, οι πρωτεΐνες αυτές λόγω της ισχυρής κυτταροτοξικής τους δράσης μπορεί να γίνουν επιβλαβείς ακόμα και για τα ίδια τα CTLs. Για το λόγο αυτό τα κύτταρα έχουν επινοήσει ένα περίπλοκο μηχανισμό προστασίας τόσο για τα ίδια όσο και για τα γειτονικά τους κύτταρα. Έτσι, τα εκκριτικά κοκκία οδηγούνται προς την κυτταρική μεμβράνη και απελευθερώνουν το περιεχόμενό τους μόνο κατά την επαφή με ένα κύτταρο στόχο. Ακόμα, τα εκκριτικά λυσοσώματα δεν εξωκυττώνουν το περιεχόμενό τους τυχαία στην κυτταρική επιφάνεια, αλλά κινητοποιούνται, στοχευμένα, σε ένα καθορισμένο σημείο της πλασματικής μεμβράνης που βρίσκεται ακριβώς απέναντι από το κύτταρο στόχο, την εκκριτική περιοχή. Τέλος, τα εκκριτικά κοκκία δεν απελευθερώνουν το κυτταροτοξικό περιεχόμενό τους τυχαία στο εξωκυττάριο περιβάλλον, αλλά σε ένα συγκεκριμένο σημείο-σχισμή που σχηματίζεται μεταξύ του CTL και του κακοήθους κυττάρου (Andersen et al., 2006).

Αφού εξουδετερωθούν τα κύτταρα στόχοι, λαμβάνει χώρα η διαδικασία κυτταρικού θανάτου των ίδιων των τελεστικών κυττάρων, ώστε να τερματιστεί η ανοσολογική απόκριση. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αυτής της φάσης είναι η αλληλοκαταστροφή. Πράγματι, τα κυτταροτοξικά CD8+ T κύτταρα εκφράζουν τα ίδια τους υποδοχείς Fas, έτσι ώστε να μπορεί να αλληλοσκοτώσει το ένα κύτταρο το άλλο χρησιμοποιώντας τις αλληλεπιδράσεις Fas συνδέτη-υποδοχέα Fas. Μετά από αυτή τη διαδικασία, περίπου μόνο το 5% με 10% των κυττάρων μνήμης επιβιώνουν και μπορούν να διαρκέσουν για χρόνια. Μερικά από αυτά τα CD8+ T κύτταρα μνήμης διατηρούν την ικανότητα θανάτωσης, έτσι ώστε σε περίπτωση δευτερογενούς μόλυνσης ή επανεμφάνισης καρκινικών κυττάρων, να ανταποκριθούν γρήγορα και αποτελεσματικά (del Vecchio et al., 2021).

## **Φυσικά φονικά κύτταρα και μακροφάγα**

Τα φυσικά φονικά (natural killer, NK) κύτταρα είχαν ανακαλυφθεί τυχαία από κάποιους ανοσολόγους, που μελετούσαν in vitro τη δραστικότητα κυττάρων ογκοειδικών, σε ποντίκια που έπασχαν από καρκίνο(Goldsby R., 2013).

Ο χαρακτηρισμός αυτής της **μη ειδικής κυτταροτοξικότητας έναντι των καρκινικών κυττάρων** αποκάλυψε ότι για το φαινόμενο αυτό ευθυνόταν ένας πληθυσμός μεγάλων κοκκιωδών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά ονομάστηκαν φυσικά φονικά κύτταρα εξαιτίας της μη ειδικής κυτταροτοξικής τους δράσης. Απαρτίζουν το 5%-10% του συνολικού πληθυσμού των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος και χαρακτηρίζονται από την έκφραση του CD56 και την έλλειψη των CD3 (TCR υποδοχείς) πρωτεϊνών στην επιφάνεια τους. Επιπλέον, συνεισφέρουν στην ανοσολογική άμυνα του οργανισμού έναντι των ιών, άλλων ενδοκυτταρικών παθογόνων και των καρκινικών κυττάρων(del Vecchio et al., 2021; Goldsby R., 2013).

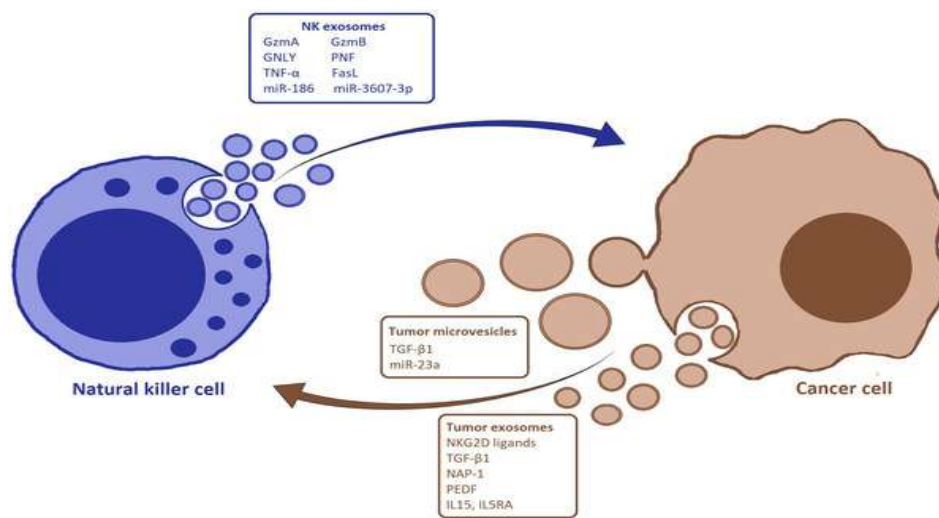
Παράγουν πλήθος ανοσολογικά σημαντικών κυτταροκινών, επηρεάζοντας παράλληλα την έμφυτη και την προσαρμοστική ανοσία. Ειδικότερα, η ικανότητα παραγωγής IFN- $\gamma$  από τα φυσικά φονικά κύτταρα, είναι εφικτό να επηρεάσει τη διέγερση των μακροφάγων στην έμφυτου τύπου ανοσία, μέσω ενεργοποίησης φαγοκυτταρικών και μικροβιοκτόνων δράσεων. Η IFN- $\gamma$ , που εκκρίνεται από τα φυσικά φονικά κύτταρα, μπορεί να προσανατολίσει την απόκριση των πληθυσμών των  $T_H$  κυττάρων προς τον τύπο  $T_H1$  αντί του  $T_H2$ , μέσω της ανασταλτικής δράσης που ασκεί προς την κατεύθυνση  $T_H2$ , μέσω επαγωγής της παραγωγής IL-12 από τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα (del Vecchio et al., 2021; Goldsby R., 2013).

Σε αντίθεση με τα CTLs τα NK κύτταρα, όπως προαναφέρθηκε δεν εκφράζουν αντιγονοειδικούς TCRs. Επιπρόσθετα, η αναγνώριση των κυττάρων δεν περιορίζεται από τα μόρια MHC. Σε αρκετές περιπτώσεις, δηλαδή, καταγράφονται τα ίδια επίπεδα NK κυτταροτοξικότητας έναντι τόσο συνγονικών όσο και αλλογενών κακοήθων κυττάρων. Επιπλέον, σε αντίθεση με την αύξηση της κυτταροτοξικής δράσης των CTLs που καταγράφεται, έπειτα από δεύτερη έκθεση στο ίδιο αντιγόνο, η δραστικότητα των NK κυττάρων δεν ενισχύεται μετά από δεύτερη χορήγηση των ίδιων κακοήθων κυττάρων. Με άλλα λόγια, κατά τη διάρκεια της κυτταρικής απόκρισης από τα φυσικά φονικά κύτταρα, δεν αναπτύσσεται ανοσολογική μνήμη(Goldsby R., 2013).

Τα NK κύτταρα φαίνεται ότι μπορούν να θανατώνουν καρκινικά και κύτταρα μολυσμένα με ιούς, με μηχανισμούς παραπλήσιους με αυτούς που χρησιμοποιούν τα CTLs, δηλαδή με τρεις θεμελιώδεις μηχανισμούς:

Ο πρώτος μηχανισμός αφορά την **παρουσία των εκκριτικών λυσοσωμάτων**. Στο κυτταρόπλασμά τους παρατηρούνται πολυάριθμα κοκκία τα οποία περιέχουν ένζυμα περφορίνης και θρυμματινών. Σε αντίθεση με τα CTLs που προϋποθέτουν

την ενεργοποίησή τους πριν αναπτύξουν τέτοιου είδους κοκκία, τα φυσικά φονικά κύτταρα διαθέτουν εξαρχής αποθηκευτικά κοκκία στο κυτταρόπλασμά τους. Μετά την σύνδεση ενός NK κυττάρου σε ένα επιλεγμένο κύτταρο στόχο, προκαλείται αποκοκκίωση και απελευθέρωση της αποθηκευμένης περφορίνης και των θρυμματινών, στην περιοχή που έγινε η επαφή των αλληλεπιδρώντων κυττάρων. Η περφορίνη και οι θρυμματίνες πιστεύεται ότι παίζουν παρόμοιους ρόλους στη θανάτωση μέσω απόπτωσης που μεσολαβείται από τα NK κύτταρα, και σ' εκείνη που μεσολαβείται από τα CTLs (del Vecchio et al., 2021; Goldsby R., 2013).



**Εικόνα 14.** Σχηματική αναπαράσταση της αλληλεπίδρασης NK κυττάρων και κυττάρων όγκου με τη μεσολάβηση εξωκυτταρικών κυστιδίων [del Vecchio et al, 2021].

Ο δεύτερος μηχανισμός θανάτωσης προκαλείται μέσω της **έκφρασης του συνδέτη FAS** (FASL) ή του συνδέτη που προκαλεί απόπτωση και σχετίζεται με τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (TRAIL), ενός μορίου που ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών TNF. Αυτοί οι συνδέτες συνδέονται με υποδοχείς στην επιφάνεια μολυσμένων κυττάρων από ιό ή καρκινικών κυττάρων προκαλώντας κυτταρικό θάνατο των κυττάρων στόχων, με την ενεργοποίηση του μηχανισμού απόπτωσης των κασπασών (del Vecchio et al., 2021).

Ο  τρίτος μηχανισμός αφορά την **έκκριση κυτταροκινών**, όπως είναι η παραγωγή της ιντερφερόνης-γ (IFN-γ). Για παράδειγμα, τα κύτταρα NK έχουν την ικανότητα να διεγείρουν τα δενδριτικά κύτταρα, τα οποία επάγουν τις αποκρίσεις των CD8+ T κυττάρων μέσω της παραγωγής IFN-γ (del Vecchio et al., 2021).

Η δυνατότητα των φυσικών φονικών κυττάρων να ξεχωρίζουν τα φυσιολογικά κύτταρα από τα κύτταρα μολυσμένα με ιούς ή τα καρκινικά κύτταρα, βασίζεται σε μία ισορροπία μεταξύ των διεγερτικών και των ανασταλτικών μηνυμάτων. Υπάρχουν ποικίλα διαλυτά μόρια που μπορούν να παραδώσουν διεγερτικά σήματα

στα NK κύτταρα, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται διάφορες κυτταροκίνες, όπως η ιντερφερόνη  $\alpha$  και η ιντερφερόνη  $\beta$ , ο TNF- $\alpha$ , η IL-12 και η IL-15. Ακόμα, η αναστολή των NK κυττάρων είναι απαραίτητη για την πρόληψη των επιθέσεων στα ίδια τους τα κύτταρα (Becker et al., 2016; Goldsby R., 2013).

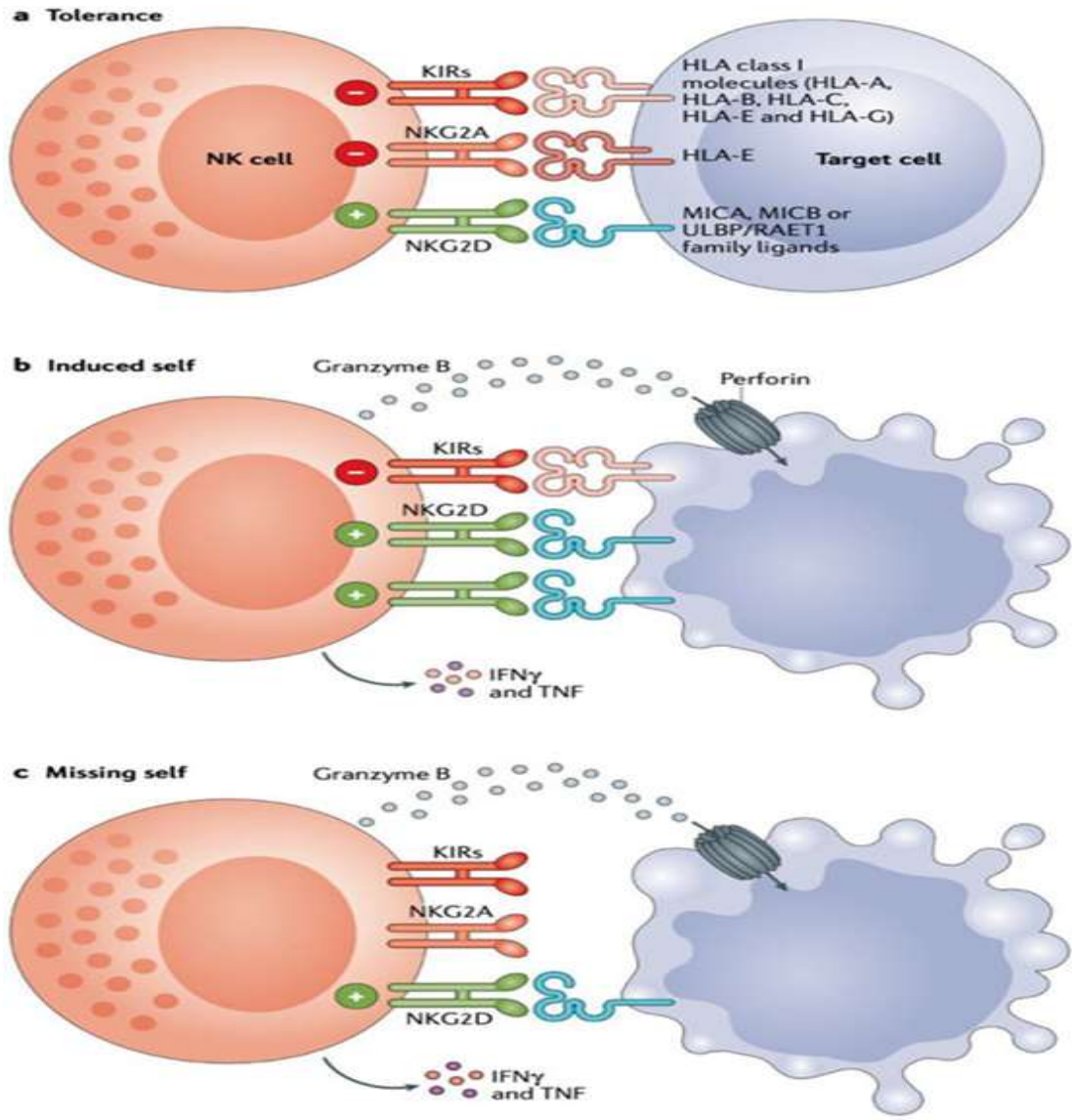
Σημαντικοί υποδοχείς ενεργοποίησης περιλαμβάνουν τους υποδοχείς λεκτίνης τύπου C, CD94/NKG2C και NKG2D και τους υποδοχείς φυσικής κυτταροτοξικότητας (NCR) NKp30, NKp44 και NKp46, οι οποίοι αναγνωρίζουν συνδέτες σε καρκινικά κύτταρα ή κύτταρα μολυσμένα από ιούς (Becker et al., 2016).

Η αναστολή των NK κυττάρων ουσιαστικά μεσολαβείται από αλληλεπιδράσεις των υποδοχέων (KIRs) τύπου ανοσοσφαιρινών των πολυμορφικών φονικών κυττάρων με τους συγγενείς συνδέτες του ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου (Human-leukocyte-antigen, HLA). Αυτοί οι συνδέτες HLA συνδέονται με τους KIR χρησιμοποιώντας απλοποιημένες δομές αμινοξέων (AA) στην άλφα-1 έλικα του μορίου HLA. Οι συνδέτες HLA υποδιαιρούνται σε τρεις κύριες ομάδες, την HLA-ομάδα 1 ή C1 (Ser77/Asn80), την HLA-ομάδα 2 ή C2 (Asn77/Lys80) και την HLA-Bw4 (AA θέση 77-83) που συνδέονται κυρίως με τον ανασταλτικό υποδοχέα KIR. Άλλοι ανασταλτικοί υποδοχείς NK κυττάρων ειδικοί για τα μόρια HLA τάξης I είναι ο CD94/NKG2A με το μη κλασικό μόριο τάξης I HLA-E ως συνδέτη και τον υποδοχέα-1 τύπου Ig λευκοκυττάρου που δεσμεύεται στο HLA-G1 (Becker et al., 2016).

Στην Εικόνα 15 απεικονίζονται τα φυσικά φονικά κύτταρα (NK), τα οποία εκφράζουν μια ποικιλία υποδοχέων με ενεργοποιητικές ή ανασταλτικές λειτουργίες (ή και τις δύο), και η ισορροπία των εισόδων σηματοδότησης μέσω αυτών των υποδοχέων υπαγορεύει την ανοχή ή την ενεργοποίηση της κυτταροτοξικότητας έναντι των κυττάρων στόχων (Myers & Miller, 2021).

- a. Στην περίπτωση που το συνολικό επίπεδο σηματοδότησης του ανασταλτικού υποδοχέα υπερτερεί της σηματοδότησης του ενεργοποιητικού υποδοχέα, η ενεργοποίηση των κυττάρων NK εμποδίζεται, με αποτέλεσμα την ανοχή του κυττάρου που επάγει το σήμα.
- b. Κατά την ιογενή μόλυνση ή το μετασχηματισμό, τα κύτταρα συνήθως ρυθμίζουν προς τα πάνω τους διεγερτικούς υποδοχείς που ενεργοποιούν τα κύτταρα NK όπως το NKG2D. Οι προκύπτουσες αλληλεπιδράσεις επάγουν ένα επίπεδο ενεργοποιητικής σηματοδότησης που ξεπερνά αυτό της συστατικής σηματοδότησης μέσω ανασταλτικών υποδοχέων (όπως οι υποδοχείς που μοιάζουν με ανοσοσφαιρίνη (KIRs) και NKG2A). Η σηματοδότηση ενεργοποιεί την απελευθέρωση κυτοκίνης των κυττάρων NK και την κυτταροτοξικότητα έναντι του κυττάρου στόχου. Αυτή η περίπτωση αναφέρεται ως η απόκριση του «επαγόμενου εαυτού».
- c. Στην περίπτωση που τα μόρια MHC τάξης I των ανασταλτικών υποδοχέων των NK κυττάρων ρυθμίζονται προς τα κάτω, κάτι που συμβαίνει συνήθως στα καρκινικά κύτταρα, η απώλεια ανασταλτικών σημάτων και η

προκύπτουσα αμείωτη θετική σηματοδότηση οδηγεί επίσης σε ενεργοποίηση των NK κυττάρων. Αυτό το φαινόμενο αναφέρεται ως η απάντηση του «ελλείποντος εαυτού».



**Εικόνα 15.** Ενεργοποιητικές και ανασταλτικές λειτουργίες των NK κυττάρων (Myers & Miller, 2021).

Εξαρτώμενη από αντισώματα κυτταρομεσολαβητική κυτταροτοξικότητα: Ένας μεγάλος αριθμός κυττάρων με κυτταροτοξική δράση εκφράζει υποδοχείς στην επιφάνειά του για το Fc τμήμα του αντισωματικού μορίου. Τα κύτταρα αυτά έχουν τη δυνατότητα σύνδεσης μέσω ειδικών υποδοχέων στο Fc τμήμα των αντισωμάτων, δεσμευμένα σε ένα επιλεγμένο κύτταρο με σκοπό την καταστροφή του. Αυτά δεν είναι αντιγονοειδικά, αλλά προσανατολίζονται προς συγκεκριμένους κυτταρικούς στόχους, που καθορίζονται από την ειδικότητα των αντισωμάτων. Η κυτταροτοξικότητα αυτού του είδους ορίζεται ως εξαρτώμενη από αντισώματα κυτταρομεσολαβητική κυτταροτοξικότητα (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)

Τα κύτταρα που εμφανίζουν ADCC είναι τα εξής:

- NK κύτταρα,
- μακροφάγα,
- μονοκύτταρα,
- ουδετερόφιλα και
- ηωσινόφιλα

Η καταστροφή των επιλεγμένων κυττάρων με τη μεσολάβηση της ADCC περιλαμβάνει μία διαδικασία διαφόρων κυτταροτοξικών μηχανισμών, εκτός από τη λύση του κυττάρου μέσω του συμπληρώματος.

Όταν τα μακροφάγα, τα ηωσινόφιλα και τα ουδετερόφιλα συνδέονται με ένα κύτταρο στόχο μέσω του Fc υποδοχέα, καταγράφουν άμεση διέγερση της μεταβολικής τους δραστηριότητας. Έχουν ως συνέπεια την αύξηση των επιπέδων των λυτικών ενζύμων που περιέχονται στα κοκκία ή στα λυσοσώματα τους εντός του κυτταροπλάσματος. Η έκκριση και η ελευθέρωση των λυτικών ενζύμων από τα κοκκία στην περιοχή της επαφής προκαλεί εκτεταμένες βλάβες στο κύτταρο.

Επιπλέον τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, NK κύτταρα και μονοκύτταρα, εκκρίνουν τον παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF), ο οποίος έχει κυτταροτοξική δράση στο δεσμευμένο από αυτά κακόηθες κύτταρο.

Επίσης, επειδή τα φυσικά φονικά κύτταρα και τα ηωσινόφιλα περιέχουν το ένζυμο της περφορίνης στα κυτταροπλασματικά τους κοκκία, είναι πιθανό να λειτουργούν με μηχανισμούς κυτταροτοξικότητας μέσω έκκρισης περφορίνης, με παρόμοιο τρόπο με αυτόν που περιγράφηκε για την κυτταροτοξική δράση μέσω των CTLs (Goldsby R., 2013).

## B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Υλικό και Μεθοδολογία

#### 3.1 Σκοπός

Η ανοσοθεραπεία σε διάφορους τύπους καρκίνου και κυρίως στον καρκίνο του πνεύμονα έχει έναν πολλά υποσχόμενο ρόλο. Η έκφραση συγκεκριμένων βιοδεικτών από τα καρκινικά κύτταρα αποτελεί βασική προϋπόθεση στην αποτελεσματική εφαρμογή των ανοσοθεραπευτικών φαρμάκων.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της αξίας της ανίχνευσης των βιοδεικτών PD-1 και PD-L1 στην αποτελεσματική εφαρμογή της ανοσοθεραπείας στον καρκίνο του πνεύμονα μέσω των βιβλιογραφικών αναφορών. Στο πλαίσιο αυτό, γίνεται εκτεταμένη αναφορά στον καρκίνο του πνεύμονα και στους μηχανισμούς με τους οποίους τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν ανοσία και διαφεύγουν από τον έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος. Ακόμα, τονίζεται η σπουδαιότητα της ανακάλυψης και της κατανόησης της λειτουργίας των μορίων PD-1 και PD-L1, στην εξέλιξη του τομέα της ανοσοθεραπείας. Ο αποκλεισμός των μορίων αυτών, μέσω ειδικά σχεδιασμένων ανασταλτικών φαρμάκων, αποτελεί μία από τις βασικές μεθόδους ανοσοθεραπείας που χρησιμοποιείται σήμερα στην κλινική πράξη.

Η παρουσία των βιοδεικτών PD-1 και PD-L1 χρησιμοποιείται σε πολλές κλινικές μελέτες, ως κατευθυντήριο οδηγός για την χορήγηση ποικίλων ανασταλτικών φαρμάκων, σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα προχωρημένου σταδίου. Η έκβαση των κλινικών δοκιμών δεν παρουσιάζει πάντα ωφέλιμα αποτελέσματα σε όλο το εύρος των συμμετεχόντων, διεγείροντας ερωτήματα και θέτοντας νέους στόχους. Ωστόσο, ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών εμφανίζει βελτίωση και αύξηση του ποσοστού επιβίωσης. Έτσι, η ανοσοθεραπεία πλέον εφαρμόζεται ως θεραπεία πρώτης γραμμής σε ασθενείς που πληρούν συγκεκριμένα κριτήρια. Επιπλέον, διερευνώνται στρατηγικές για πιο εξειδικευμένη και στοχευμένη χρήση των ανοσοθεραπευτικών μεθόδων, μέσω των βιοδεικτών για μεγιστοποίηση των αποτελεσμάτων.

Τέλος, μελετάται η εφαρμογή συνδυαστικών θεραπευτικών προσεγγίσεων με βάση την ανοσοθεραπεία, κυρίως σε επιμένουσες κακοήθειες καθώς και σε μεταστάσεις, με πολλά υποσχόμενα μελλοντικά αποτελέσματα.

#### 3.2 Υλικό

Στην παρούσα βιβλιογραφική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν πηγές με εξολοκλήρου επιστημονικό περιεχόμενο. Εγκεκριμένα επιστημονικά άρθρα, reviews καθώς και επιστημονικά συγγράμματα όπως είναι η Ανοσολογία Kubby (2<sup>η</sup> έκδοση) και η Παθολογική Ανατομική MUIR'S (15<sup>η</sup> έκδοση). Αναλυτικά, όλες οι πηγές που

χρησιμοποιήθηκαν για τη συγγραφή της διπλωματικής μου εργασίας αναγράφονται στο τέλος της παρουσίασης, στην ενότητα ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.

### 3.3 Μεθοδολογία – Εργαλεία έρευνας

Για την κατανόηση του θέματος, αρχικά, έγινε μία μη ειδική έρευνα με βάση τον τίτλο της διπλωματικής εργασίας. Δηλαδή, μέσω του διαδικτύου και των βιβλίων, αναζητήθηκαν πληροφορίες για τις έννοιες του καρκίνου του πνεύμονα και της ανοσοθεραπείας.

Μετά τη γενική αυτή εικόνα, χρησιμοποιήθηκαν αξιόπιστοι επιστημονικοί ιστότοποι, όπως επιστημονικές ηλεκτρονικές βιβλιοθήκες και επιστημονικά συγγράμματα. Συγκεκριμένα, η αναζήτηση πραγματοποιήθηκε, μέσα από το Εθνικό Κέντρο Βιοτεχνολογικής Πληροφόρησης των Ηνωμένων Πολιτειών (National Center for Biotechnology Information, NCBI), από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA), από το PubMed, το Elsevier, το Scopus και το Medline καθώς και από αναγνωρισμένα επιστημονικά περιοδικά, όπως το Journal of Internal Medicine (JIM), το American Family Physician (AFP), το Journal of Clinical Investigation, το Journal of Investigation Dermatology, το Nature Immunology, το Journal of thoracic oncology και το New England Journal of Medicine.

Από τις παραπάνω ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων αναζητήθηκαν επιστημονικά άρθρα με τις λέξεις κλειδιά ή τον συνδυασμό αυτών: Lung cancer, Non-small cell lung cancer, Immunotherapy, Immune checkpoints inhibitors, PD-1, PD-L1 και Biomarkers, καθώς επίσης και με τον χρονικό περιορισμό των δημοσιεύσεων να γίνεται από το 2004 έως το 2022.

Τα επιστημονικά άρθρα επιλέχθηκαν με αφετηρία τη συνάφεια, τίτλου, περίληψης και πλήρους περιεχομένου τους, καθώς παράλληλα γινόταν η χρήση του προγράμματος ταξινόμησης των βιβλιογραφικών αναφορών Mendeley. Βασικός πυλώνας για τη συγγραφή της εργασίας αποτέλεσε, η ομαδοποίηση των επιλεγμένων δημοσιευμάτων σε θεματικές ενότητες. Επιπλέον, η εκτενής αξιολόγηση και διασταύρωση των πληροφοριών και η ένταξή τους σε κείμενο με βάση τα περιεχόμενα που είχαν δημιουργηθεί, διαμόρφωσε την πορεία εξέλιξης της εργασίας. Τέλος, τα συμπεράσματα προέκυψαν μετά την ολοκλήρωση της συγγραφής των δεδομένων, έχοντας μία σφαιρική και πιο ειδική άποψη επί του θέματος.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Ανοσοθεραπεία καρκίνου

### 4.1 Γενικά η ανοσοθεραπεία στην αντιμετώπιση του καρκίνου

Η ανοσοθεραπεία του καρκίνου συχνά θεωρείται ως μια σχετικά πρόσφατη πρόοδος. Στην πραγματικότητα, όμως, θα πρέπει να αναζητήσει κανείς τις απαρχές της εφαρμογής της ανοσοθεραπείας με διαφορετικές ονομασίες από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα. Πρώιμες επιστημονικές απόπειρες, για την εφαρμογή της ρύθμισης του ανοσοποιητικού συστήματος των ασθενών που έπασχαν από καρκίνο, μπορούν να αποδοθούν σε δύο γιατρούς από τη Γερμανία, τον Fehleisen και τον Busch. Αυτοί ξεχωριστά κατέγραψαν αισθητή υποχώρηση του όγκου μετά από μόλυνση και ανάπτυξη ερυσίπελας – μίας λοίμωξης του δέρματος προκαλούμενη από το βακτήριο *Streptococcus pyogenes* (Abbott & Ustoyev, 2019; Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

Οι επόμενες σημαντικές ανακαλύψεις προήλθαν από τον William Bradley Coley που σήμερα είναι γνωστός παγκόσμια ως ο πατέρας της ανοσοθεραπείας. Ο Coley ήταν αυτός που προσπάθησε για πρώτη φορά να εκμεταλλευτεί τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος, το 1891, για τη θεραπεία του καρκίνου των οστών. Επιπλέον, πραγματοποίησε μία ανασκόπηση των περιπτώσεων ασθενών με σάρκωμα, οι οποίοι ανέπτυξαν ερυσίπελας και το σάρκωμα των οποίων εκδήλωσε ύφεση ή εξαφανίστηκε. Έπειτα, ξεκίνησε τη χορήγηση ενέσεων στους όγκους των ασθενών με «το μείγμα τοξινών του Coley», όπως ονομάστηκε. Το μείγμα τοξινών περιείχε ζωντανούς και αδρανοποιημένους *Streptococcus pyogenes* και *Serratia marcescens*. Τα κατορθώματά του ήταν σε μεγάλο βαθμό απαρατήρητα για περισσότερες από πέντε δεκαετίες, καθώς και αρκετές θεμελιώδεις ανακαλύψεις που πραγματοποίησε στον τομέα της ανοσολογίας. Η ύπαρξη των T κυττάρων και η κρισιμότητα του ρόλου τους στην ανοσία το 1967, ενίσχυσε την έρευνα για την ανοσοθεραπεία του καρκίνου που είναι γνωστή σήμερα (Abbott & Ustoyev, 2019; Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

Το επόμενο ορόσημο στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου ήταν όταν ο Thomas και ο Burnet παρουσίασαν για πρώτη φορά την εξαιρετική θεωρία τους για την ανοσοεπιτήρηση του καρκίνου από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού. Ήταν το 1957 όταν πρότειναν για πρώτη φορά ότι τα λεμφοκύτταρα θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως φρουροί προκειμένου να εντοπίσουν και πιθανώς να εξαλείψουν τα σωματικά κύτταρα που μετασχηματίστηκαν από μεταλλάξεις (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

Στα τέλη του 20<sup>ου</sup> οι Schreiber, Dunn, Old και οι ομάδες τους απέδειξαν ότι τα T κύτταρα ήταν σε θέση να παρέχουν αντικαρκινική επιτήρηση και αντικαρκινικές ανοσοαποκρίσεις. Ακολούθησαν περαιτέρω ανακαλύψεις, συμπεριλαμβανομένων των μηχανισμών ανοσοεπεξεργασίας, αποδείξεις για τη διαφυγή καρκινικών

κυττάρων και την αναγνώριση ότι οι ανοσοκατασταλμένοι ασθενείς έχουν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

Πριν από σχεδόν πενήντα χρόνια, ο καθηγητής Lloyd J. Old, που θεωρείται σήμερα πρωτοπόρος της καρκινικής ανοσοογκολογίας, σημείωσε ότι «υπάρχει κάτι μοναδικό σε ένα καρκινικό κύτταρο που το διακρίνει από τα φυσιολογικά κύτταρα και ότι αυτή η διαφορά μπορεί να αναγνωριστεί από το ανοσοποιητικό σύστημα του σώματος». Προέβλεψε σωστά ότι στο μέλλον η ανοσοθεραπεία θα αποτελέσει μία τέταρτη μέθοδο θεραπείας του καρκίνου, μαζί με τη χειρουργική επέμβαση, τη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Πέρασαν αρκετές δεκαετίες εντατικής έρευνας και κλινικών μελετών προτού η ανοσοθεραπεία του καρκίνου φτάσει στη νόμιμη θέση της ως τέταρτος πυλώνας θεραπείας του καρκίνου (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

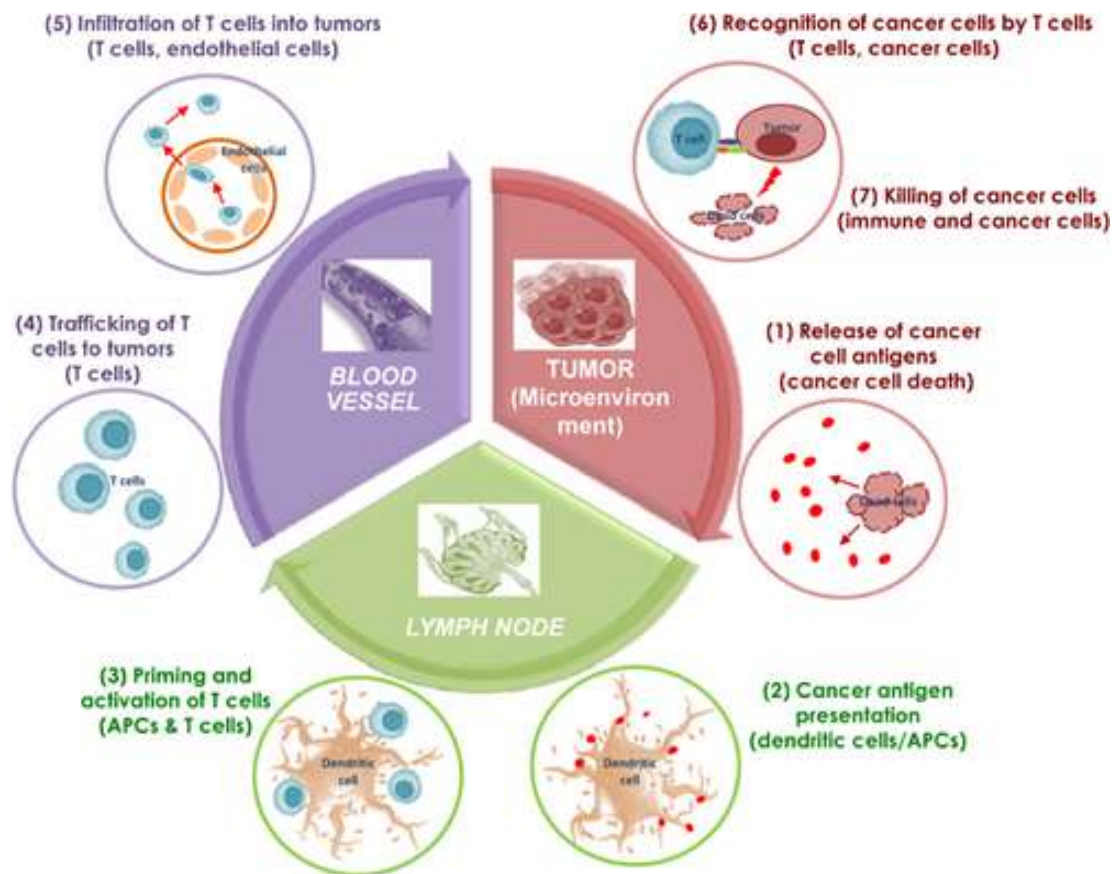
Ειδικά την τελευταία δεκαετία η ανοσοθεραπεία έχει φέρει επανάσταση στον τομέα των θεραπειών των κακοήθων όγκων απομακρύνοντας όλο και περισσότερο τη χημειοθεραπεία και την ακτινοβολία, καθώς αποτελεί στοχευμένη θεραπεία, μειώνοντας τις παρενέργειες που προκαλούν οι κλασικές θεραπείες του καρκίνου. Η ανοσοθεραπεία, η οποία ρυθμίζει τις ανοσολογικές αποκρίσεις κατά των όγκων, έχει δείξει αξιόλογη αποτελεσματικότητα σε πολλαπλούς τύπους καρκίνου και θεωρείται μια νέα και πολλά υποσχόμενη θεραπεία για όγκους (Zhou et al., 2022).

Ο επόμενος καθοριστικός παράγοντας στην εξέλιξη της ανοσοθεραπείας του καρκίνου ήταν η καλύτερη κατανόηση της διαδικασίας της ανοσολογικής επιτήρησης, μέσω της οποίας τα έμφυτα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος θανατώνουν τα καρκινικά κύτταρα. Η πρόσφατη ανακάλυψη των σημείων ελέγχου των T λεμφοκυττάρων, όπως είναι ο CTLA-4 και ο PD-1, ώθησε τον τομέα της ανοσοογκολογίας στη εποχή του σήμερα, με το βραβείο Νόμπελ Ιατρικής να απονέμεται στους Drs. Allison και Honjo το 2018. Αυτά τα κυτταρομεσολαβητικά σήματα έχουν το κρίσιμο καθήκον να διατηρήσουν μια λεπτή ισορροπία μεταξύ της ανοσολογικής επιτήρησης έναντι ξένων παθογόνων ή των μη φυσιολογικών – καρκινικών κυττάρων και της αυτοανοσίας (Esfahani et al., 2020).

Ο μοριακός χαρακτηρισμός των αντιγόνων που σχετίζονται με τον καρκίνο αποδεικνύει ότι η συντριπτική πλειοψηφία των καρκινικών κυττάρων, στην επιφάνεια τους, εκφράζει αντιγόνα που είναι ικανά να αναγνωριστούν από το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου (Gajewski, 2012). Η ανοσολογική επεξεργασία του καρκίνου είναι η διαδικασία κατά την οποία διάφορα συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος προστατεύουν τον ξενιστή από την ανάπτυξη πρωτογενούς κακοήθους όγκου ή ενισχύουν τη διαφυγή του όγκου. Η διαδικασία ρυθμίζεται στενά από τα σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού, τα οποία είναι υποδοχείς στην επιφάνεια των ανοσοκυττάρων και ελέγχουν είτε την ενεργοποίηση είτε την αναστολή των ανοσολογικών αποκρίσεων του ξενιστή. Η ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος είναι αφενός το επιθυμητό αποτέλεσμα για την επίτευξη του ελέγχου του όγκου, αφετέρου όμως μπορεί να οδηγήσει και στην αυτοανοσία. Η ανακάλυψη και η ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των

αναστολέων των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού, του CTLA-4 και του PD-1 έχουν οδηγήσει σε ισχυρές αντινεοπλασματικές αποκρίσεις σε πολλά στάδια του «κύκλου ανοσοποιητικού – καρκίνου» (Esfahani et al., 2020).

Αναλυτικότερα, ο «**κύκλος ανοσοποιητικού – καρκίνου**» αναφέρεται ως μια σειρά από σταδιακά γεγονότα που πρέπει να πραγματοποιηθούν επιτυχώς, ώστε να οδηγήσουν σε μία αντικαρκινική ανοσοαπόκριση με αποτέλεσμα τη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων και αποτελείται από 7 βήματα. Το πρώτο βήμα περιλαμβάνει τα νεοαντιγόνα, που δημιουργούνται και απελευθερώνονται μέσω της διαδικασίας της ογκογένεσης, τα οποία εντοπίζονται και φαγοκυτταρώνονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) (όπως τα δενδριτικά κύτταρα) για επεξεργασία. Στο δεύτερο βήμα, τα δενδριτικά κύτταρα παρουσιάζουν τα δεσμευμένα αντιγόνα στα T λεμφοκύτταρα, εκφράζοντάς τα στην επιφάνειά τους με τη βοήθεια των μορίων MHC τάξης I και II. Στο τρίτο βήμα, ενεργοποιούνται οι αποκρίσεις των T δραστικών κυττάρων έναντι των ειδικών καρκινικών αντιγόνων. Στο τέταρτο βήμα, τα ενεργοποιημένα τελεστικά T κύτταρα οδηγούνται προς τα κύτταρα του όγκου. Στο πέμπτο βήμα, τα T κύτταρα διεισδύουν στα κύτταρα του όγκου. Το έκτο βήμα περιλαμβάνει την αναγνώριση των καρκινικών κυττάρων μέσω της σύνδεσης του υποδοχέα TCR των T κυττάρων και του αντιγόνου που είναι συνδεδεμένο με το μόριο MHC τάξης I. Στο έβδομο και τελευταίο βήμα τα καρκινικά κύτταρα θανατώνονται, απελευθερώνοντας επιπλέον αντιγόνα που σχετίζονται με τον όγκο, ενισχύοντας έτσι την απόκριση για τις επόμενες επαναλήψεις του κύκλου (Lee et al., 2016).



**Εικόνα 16.** Ο «κύκλος ανοσοποιητικού – καρκίνου» είναι μία κυκλική διαδικασία που οδηγεί στη συσσώρευση ανοσοδιεγερτικών σημάτων που μπορεί να ισχυροποιούν και να διευρύνουν τις αποκρίσεις των Τ κυττάρων. Ο «κύκλος ανοσοποιητικού – καρκίνου» είναι ένα χρήσιμο πλαίσιο για την απεικόνιση του μηχανισμού της ανοσοθεραπείας του καρκίνου, όπου κάθε βήμα παρέχει μία μεθοδολογία πιθανής θεραπευτικής παρέμβασης(Lee et al., 2016).

## 4.2 Μορφές καρκίνου όπου εφαρμόζεται κυρίως η ανοσοθεραπεία

Η αξιολόγηση της ανοσολογικής απόκρισης στους όγκους αποκτά μεγαλύτερη σημασία καθώς οι προγνωστικές επιπτώσεις αυτής της απόκρισης αναγνωρίζονται όλο και περισσότερο και καθώς οι ανοσοθεραπείες αξιολογούνται και εφαρμόζονται σε διαφορετικούς τύπους όγκων. Ωστόσο, πολλές διαφορετικές προσεγγίσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση και την περιγραφή της ανοσολογικής απόκρισης.

Διάφορες στρατηγικές ανοσοθεραπείας χρησιμοποιούνται σήμερα για την θεραπεία ποικίλων τύπων κακοηθειών. Σημαντικές ερευνητικές προσπάθειες βρίσκονται σε εξέλιξη για τον εντοπισμό αξιόπιστων βιοδεικτών για την επιλογή ασθενών με την υψηλότερη πιθανότητα ανταπόκρισης σε ανοσοθεραπευτικούς παράγοντες (Hendry et al., 2017).

Κύριες μορφές καρκίνου όπου εφαρμόζεται σήμερα η ανοσοθεραπεία είναι οι εξής:

- Πρωτοπαθές δερματικό μελάνωμα: Η ανοσολογική απόκριση του ξενιστή στο μελάνωμα έχει επισημανθεί από τα πρόσφατα εντυπωσιακά αποτελέσματα της θεραπείας με την εφαρμογή των αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου, η οποία αποτελεί πλέον πρότυπο φροντίδας στο μεταστατικό μελάνωμα (Hendry et al., 2017).
- Καρκίνος παχέος εντέρου: Οι ανοσοθεραπείες του καρκίνου αυτού ταξινομούνται με βάση τους τύπους των ανοσολογικών μηχανισμών που εμπλέκονται είτε μέσω παθητικών ή/και ενεργητικών μηχανισμών είτε με βάση την εξειδίκευση του αντιγόνου. Οι παθητικές ανοσοθεραπείες είναι μονοκλωνικά αντισώματα (monoclonal antibodies – mAbs) στόχευσης όγκου, μεταβίβαση υιοθετούμενων κυττάρων (Adoptive cell transfer – ACT) και ογκολυτική ιοθεραπεία. Αντίθετα, οι ενεργητικές ανοσοθεραπείες είναι ανοσοτροποποιητικά mAbs, αντικαρκινικά εμβόλια, ανοσοδιεγερτικές κυτοκίνες, αναστολείς ανοσοκατασταλτικού μεταβολισμού, αγωνιστές του υποδοχέα αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition receptor - PRR), ανοσογονικός επαγωγέας κυτταρικού θανάτου και άλλους μη ειδικούς ανοσοθεραπευτικούς παράγοντες (Johdi & Sukor, 2020).
- Καρκινώματα του ανώτερου γαστρεντερικού σωλήνα: Ως ομάδα, τα καρκινώματα του στομάχου, του παγκρέατος και του ήπατος είναι σχετικά κοινά και επίσης ευθύνονται για έναν δυσανάλογα υψηλό αριθμό θανάτων από καρκίνο. Η χρόνια φλεγμονή λόγω μόλυνσης και άλλων αιτιών ευθύνεται τουλάχιστον εν μέρει για πολλές περιπτώσεις. Η θεραπεία της μεταστατικής νόσου με χημείο-ακτινοθεραπεία έχει γενικά μέτρια αποτελέσματα. Οι αρχικές δοκιμές παραγόντων ανοσοθεραπείας σε αυτήν την ομάδα όγκων έχουν αναφέρει μικτή επιτυχία, υποδηλώνοντας την ανάγκη για προγνωστικούς βιοδείκτες και την εξατομικευμένη προσέγγιση στη χρήση αυτών των παραγόντων (Hendry et al., 2017; Johdi & Sukor, 2020).

- Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα: Το ανοσολογικό μικροπεριβάλλον στον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα έχει μελετηθεί εκτενώς και υπάρχουν λεπτομερείς περιγραφές στη βιβλιογραφία. Όπως το μελάνωμα, έτσι και το μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα συχνά περιέχει υψηλό φορτίο σωματικών μεταλλάξεων. Οι αναστολές του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική πρόοδο. Ειδικότερα, οι θεραπείες με τους πιο γνωστούς αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου, που εφαρμόζονται ευρέως σήμερα, είναι η αναστολή του μονοπατιού PD-1 και PD-L1 καθώς και η αναστολή του μονοπατιού CTLA-4. Η δράση τους αποδεδειγμένα προκαλεί έντονη αντικαρκινική απόκριση και ύφεση της ασθένειας σε ένα μεγάλο ποσοστό πασχόντων. Εκτενής ανάλυση αυτών παρουσιάζεται στην επόμενη ενότητα (Hendry et al., 2017; Suresh et al., 2018)
- Καρκίνος μαστού: Η σημασία των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος στο μικροπεριβάλλον του όγκου έχει αποσαφηνιστεί και η αντικαρκινική επίδραση των ανοσολογικών σημείων ελέγχου (immune checkpoint inhibitors-ICIs) έχει αναφερθεί και στον καρκίνο του μαστού. Τα μονοκλωνικά αντισώματα (mAbs) anti- PD-1/anti- PD-L1 έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά σε διάφορους τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού(Nakayama et al., 2019).
- Ουροθηλιακό καρκίνωμα: Η επιτυχής εισαγωγή της θεραπείας με ενδοκυτταρικό βάκιλο Calmette-Guerin (BCG) για μη μυοδιηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα υψηλού κινδύνου τις τελευταίες δεκαετίες μπορεί να θεωρηθεί ως πρώιμη απόδειξη της πιθανής αποτελεσματικότητας της ανοσοθεραπείας στο ουροθηλιακό καρκίνωμα. Περαιτέρω υποστήριξη για την ανοσοθεραπεία στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης πυροδοτήθηκε από την πρόσφατη έγκριση του FDA του αναστολέα PD-L1 για χρήση σε προχωρημένο ουροθηλιακό καρκίνωμα(Hendry et al., 2017).
- Λεμφώματα Non-Hodgkin: Τα αντι-CD19 CAR T κύτταρα ενδείκνυνται πλέον για τη θεραπεία υποτροπιαζόμενων/ανθεκτικών επιθετικών λεμφωμάτων Β-κυττάρων μετά από τουλάχιστον δύο προηγούμενες γραμμές θεραπείας στις οποίες επιτυγχάνονται διαρκείς υφέσεις σε περίπου 40% των προηγουμένως ανίατων ασθενών. Αυτές οι δοκιμές κατέδειξαν αξιοσημείωτα βελτιωμένο λειτουργικό σύστημα σε σύγκριση με αυτό που θα αναμενόταν με τις συμβατικές θεραπείες. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει μια δραματική αλλαγή προς το καλύτερο στη φυσική ιστορία των ασθενών με πολλαπλή υποτροπή ή ανθεκτικότητα στα επιθετικά λεμφώματα Β-κυττάρων(Abramson et al., 2020).

## 4.3 Μορφές ανοσοθεραπείας

### 4.3.1 Εισαγωγή στις ανοσοθεραπείες

Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος είναι το κυτταρικό υπόβαθρο της ανοσοθεραπείας. Αν και έχουν γίνει τεράστιες προσπάθειες στους χαρακτηρισμούς των T-κυττάρων, άλλα ανοσοκύτταρα από το έμφυτο και το προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα, συμπεριλαμβανομένων των δενδριτικών κυττάρων, των μακροφάγων, των NK κυττάρων και των B κυττάρων, έχουν επίσης αποδειχθεί ότι συμβάλλουν στην εξέλιξη του όγκου και στις αποκρίσεις ανοσοθεραπείας (Y. Zhang & Zhang, 2020).

Οι ανοσοθεραπείες του καρκίνου στην κλινική πράξη μπορούν τυπικά να κατηγοριοποιηθούν σε 3 κύριους τύπους: **επικουρικές ή μη ειδικές θεραπείες, στοχευμένες θεραπείες** (μονοκλωνικά αντισώματα – mAbs και αναστολείς μικρών μορίων) και **εμβόλια**. Πρώτον, οι μη ειδικές ανοσοθεραπείες περιλαμβάνουν φάρμακα όπως κυτοκίνες και άλλες ουσίες που διεγείρουν μια ανοσολογική απόκριση. Οι συνθετικές κυτοκίνες οδηγούν στην ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος που στη συνέχεια στοχεύουν και θανατώνουν τα καρκινικά κύτταρα. Δεύτερον, οι στοχευμένες ανοσοθεραπείες καρκίνου είναι mAb που συνδέονται με συγκεκριμένα αντιγόνα και έχουν διπλή λειτουργία, είτε επιτίθενται απευθείας στα κύτταρα είτε τα επισημαίνουν με σκοπό την καταστροφή τους. Οι 3 μηχανισμοί δράσης τους περιλαμβάνουν: (1) τα mAbs που μεταφέρουν φάρμακα ή τοξίνες στα κύτταρα-στόχους, (2) τα mAb που επισημαίνουν τα καρκινικά κύτταρα για καταστροφή από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού και (3) τα mAbs που εμποδίζουν μια οδό σηματοδότησης για να σταματήσει η ανάπτυξη ή ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων στόχων. Και τρίτον, τα εμβόλια περιέχουν αντιγόνα από καρκινικά κύτταρα και έχουν σχεδιαστεί για να διεγείρουν το ανοσοποιητικό σύστημα, ώστε να επιτεθεί και να καταπολεμήσει έναν όγκο (Lee et al., 2016).

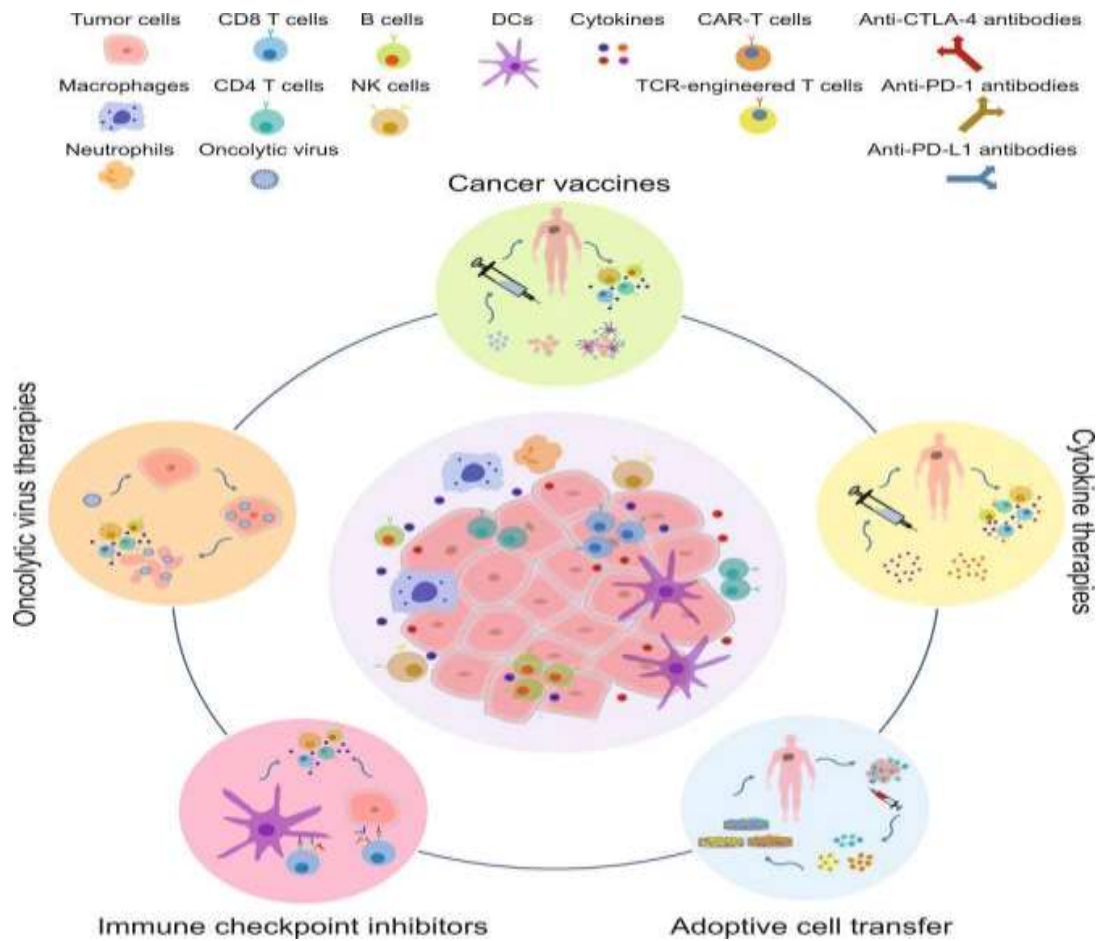
#### Κριτήρια απόκρισης στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου

Τα κριτήρια απόκρισης στην ανοσοθεραπεία του όγκου περιλαμβάνουν 4 διαφορετικά μοτίβα απόκρισης. Είναι (1) η συρρίκνωση στις βασικές βλάβες, χωρίς δημιουργία νέων βλαβών, (2) η ανθεκτική σταθερή νόσος, σε ορισμένους ασθενείς παρατηρείται ακολουθούμενη αργή αλλά σταθερή μείωση του συνολικού φορτίου όγκου, (3) η απόκριση μετά από αύξηση του συνολικού φορτίου όγκου και (4) η ανταπόκριση στη θεραπεία παρουσία νέων βλαβών (Lee et al., 2016).

Παρακάτω θα αναλυθούν οι κυριότερες μορφές ανοσοθεραπείας, οι οποίες χωρίζονται σε 5 μεγάλες κατηγορίες:

- **Θεραπείες ογκολυτικών ιών** (Oncolytic virus therapies)
- **Εμβόλια κατά του καρκίνου** (Cancer vaccines)
- **Θεραπείες με κυτοκίνες** (Cytokine therapies)

- **Θεραπεία υιοθετούμενων κυττάρων** (Adoptive cell therapy- ACT)
- **Αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου** (immune checkpoint inhibitors)



**Εικόνα 17.** Κυριότερες μορφές ανοσοθεραπείας (Zhang & Zhang, 2020).



### 4.3.2 Θεραπείες μέσω ογκολυτικών ιών (Oncolytic virus therapies)

Αναφορές για ιούς που έχουν θεραπευτικά οφέλη στον καρκίνο άρχισαν να εμφανίζονται στις αρχές του περασμένου αιώνα. Πολλαπλές αναφορές ασθενών με λευχαιμία παρουσίασαν ύφεση της ασθένειας μετά από ιογενείς λοιμώξεις. Με αποτέλεσμα η ιατρική κοινότητα στη συνέχεια να χρησιμοποιεί ιούς για τη θεραπεία του καρκίνου. Ειδικά κατά τη διάρκεια του 1950 και του 1960, πολλαπλοί ιοί άγριου τύπου όπως, της ηπατίτιδας, του Epstein-Barr, του Δυτικού Νείλου, της Ουγκάντα, του δάγκειου πυρετού, του κίτρινου πυρετού και άλλοι χρησιμοποιήθηκαν για τη θεραπεία διάφορων μορφών καρκίνου (Hemminki et al., 2020).

Για περισσότερο από έναν αιώνα, η παραδοσιακή ανοσοθεραπεία έχει προσεγγίσει τον καρκίνο αξιοποιώντας βακτηριακές ή ιογενείς λοιμώξεις για να ενισχύσει τις ανοσολογικές αποκρίσεις του οργανισμού. Ήδη από το 1863, ο Virchow ανακάλυψε για πρώτη φορά τη σύνδεση μεταξύ όγκων και φλεγμονής, αφού παρατήρησε ότι οι νεοπλασματικοί ιστοί ήταν συχνά διακοσμημένοι με λευκοκύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ανοσοθεραπεία, προσπάθησε για πρώτη φορά να αξιοποιήσει τις λειτουργικές δυνατότητες του ανοσοποιητικού συστήματος για τη θεραπεία του καρκίνου, αφού παρατηρήθηκαν ότι μείγματα ζωντανών και απενεργοποιημένων *Streptococcus pyogenes* και *Serratia marcescens* θα μπορούσαν να προκαλέσουν υποχώρηση του όγκου σε ασθενείς με σάρκωμα. Αν και μια τέτοια πρωτοποριακή στρατηγική παρείχε μια απόδειξη της ιδέας για τη θεραπεία του καρκίνου με τη χρήση του ανοσοποιητικού συστήματος, οι άγνωστοι μηχανισμοί δράσης και οι πιθανοί κίνδυνοι μόλυνσης εμπόδισαν την περαιτέρω πρόδοό της. Δεκαετίες αργότερα, εφευρέθηκαν θεραπείες με βάση τους ογκολυτικούς ιούς, οι οποίες αξιοποιούν γενετικά τροποποιημένους ιούς για να μολύνουν κύτταρα του όγκου (Y. Zhang & Zhang, 2020).

Η θεραπεία των ογκολυτικών ιών βρίσκεται μεταξύ της ανοσοθεραπείας και των βιολογικών θεραπειών του καρκίνου. Στη θεραπεία αυτή χρησιμοποιούνται υπάρχοντες βιολογικοί παράγοντες για τη θεραπεία του καρκίνου. Οι γενετικά τροποποιημένοι ιοί στερούνται της αρχικής μολυσματικότητας τους, αλλά εξακολουθούν να είναι σε θέση να διεισδύουν και να λύουν τα καρκινικά κύτταρα. Τα καρκινικά κύτταρα που πεθαίνουν απελευθερώνουν πολλά μόρια που προσελκύουν περαιτέρω τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, επιδεινώνοντας την ανοσολογική απόκριση του οργανισμού και το συνολικό δυναμικό φλεγμονής της περιοχής (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

Ο πρώτος ογκολυτικός ιός, T-VEC, (talimogene laherparepvec, επίσης γνωστός ως Imlygic), έλαβε έγκριση από τον FDA το 2015 για τη θεραπεία του μεταστατικού μελανώματος. Ο T-VEC είναι ένας ιός απλού έρπητα 1, γενετικά τροποποιημένος με τρόπο που του επιτρέπει να εκφράζει τον παράγοντα διέγερσης των αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF), μια ισχυρή κυτοκίνη που προσελκύει πολλούς τύπους ανοσοκυττάρων. Οι ενέσεις γίνονται απευθείας στο σημείο του

όγκου, ειδικά σε μεταστάσεις και σε εκείνες τις περιοχές που δεν μπορούν να αφαιρεθούν χειρουργικά. Άλλοι ογκολυτικοί ιοί που παρουσιάζουν πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα στις κλινικές μελέτες είναι μεταξύ άλλων ο Rexa-Vec (κατά του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος), ο CG0070 (κατά του καρκίνου της ουροδόχου κύστης) και ο G47Δ (κατά του γλοιοβλαστώματος και του καρκίνου του προστάτη) (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019; Mondal et al., 2020; Y. Zhang & Zhang, 2020).

Παρά τα επιτυχημένα αποτελέσματα που έχουν προκύψει, υπάρχει τουλάχιστον ένα σημαντικό μειονέκτημα στη χρήση των ογκολυτικών ιών: είναι η επίκτητη ανοσία που δημιουργείται, ειδική έναντι του ιού που χρησιμοποιείται. Μπορεί να διακόψει οριστικά οποιαδήποτε επαναλαμβανόμενη θεραπεία στον ίδιο ασθενή (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

### 4.3.3 Εμβόλια κατά του καρκίνου (Cancer vaccines)

Πιθανόν να μην υπάρχει άλλη ιατρική καινοτομία που να έχει πιο σημαντικό αντίκτυπο στην ιατρική και στην παγκόσμια υγεία από την εφεύρεση και την ανάπτυξη των εμβολίων. Ακριβώς όπως το ανοσοποιητικό μας σύστημα εργάζεται ασταμάτητα για την πρόληψη των λοιμώξεων και μας προστατεύει από δυνητικά επιβλαβή παράσιτα, ιούς, και βακτήρια έτσι παίζει επίσης κεντρικό ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου. Είναι δυνατό να ενισχυθεί αυτή η ικανότητά του, είτε αποτρέποντας τη μόλυνση, είτε «διδάσκοντας» στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος πως να αναγνωρίζουν και να σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα μόλις αυτά εμφανιστούν στο σώμα. Αρκετά εγκεκριμένα από τον FDA εμβόλια πρόληψης του καρκίνου έχουν χρησιμοποιηθεί τα τελευταία είκοσι χρόνια. Αυτά περιλαμβάνουν το εμβόλιο για την ηπατίτιδα Β (HBV) και το εμβόλιο για τους ιούς των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV), τα οποία αποτρέπουν τη μόλυνση από ογκογόνους ιούς, που προκαλούν καρκίνο. Ο αντίκτυπος της ιογενούς καρκινογένεσης γίνεται ολοένα και πιο εμφανής και η πρόληψη μέσω του εμβολιασμού είναι ο πιο σημαντικός και αποτελεσματικός τρόπος μείωσης αυτής της συχνότητας εμφάνισης καρκίνου.

Εκτός από τον προληπτικό ρόλο των εμβολίων όπως τα εμβόλια HPV και HBV, υπάρχει επίσης εντατική, συνεχής έρευνα από τους καρκινογενετιστές και τους ανοσοογκολόγους για εμβόλια που στοχεύουν στον ήδη υπάρχοντα καρκίνο.

Υπάρχουν **δύο κύριοι τύποι θεραπευτικών εμβολίων** κατά του καρκίνου, τα **αυτόλογα** και τα **αλλογενή** εμβόλια:

- Ο πρώτος τύπος είναι ένα εξατομικευμένο εμβόλιο κατά του καρκίνου που παρασκευάζεται από τα κύτταρα του ίδιου του ασθενούς και βασίζεται είτε σε καρκινικά κύτταρα είτε σε υγιή κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα κύτταρα λαμβάνονται από το άτομο, επεξεργάζονται και

πολλαπλασιάζονται στο εργαστήριο και στη συνέχεια εγχέονται ξανά στην κυκλοφορία του ασθενούς. Τα επεξεργασμένα κύτταρα αναγνωρίζουν τα καρκινικά κύτταρα και ενεργοποιούν την ανοσολογική απόκριση κατά του καρκίνου. Αυτός ο τύπος θεραπείας θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί μαζί με άλλες θεραπείες καρκίνου, όπως χειρουργική επέμβαση ή ακτινοβολία, προκειμένου να εξαλειφθούν ίχνη καρκινικών κυττάρων που επιμένουν. Στην ιδανική περίπτωση, ορισμένα κύτταρα μνήμης θα παρέμεναν στο σύστημα του ασθενούς με την προϋπόθεση ότι θα μπορούσαν να ανταποκριθούν αμέσως, εάν εμφανιστούν ξανά καρκινικά κύτταρα.

- Ο δεύτερος τύπος εμβολίων κατά του καρκίνου, τα αλλογενή εμβόλια, βασίζονται σε κύτταρα που αναπτύσσονται αποκλειστικά στο εργαστήριο (μη εαυτά κύτταρα). Αυτός ο τύπος εμβολίου είναι πιο δύσκολο να αναπτυχθεί αλλά πιο ελκυστικός επειδή είναι δυνητικά λιγότερο δαπανηρή η κατασκευή του. Ο στόχος είναι να ενεργοποιηθεί το ανοσοποιητικό σύστημα αντί να επιτεθεί σε ένα συγκεκριμένο καρκινικό κύτταρο, έτσι ώστε αυτή η μορφή θεραπείας να έχει δυνατότητες ενάντια σε κάθε τύπο καρκίνου. Παρά τη σημαντική ερευνητική προσπάθεια μέσω των κλινικών δοκιμών, κανένα δεν έχει ακόμη αποδειχθεί αρκετά αποτελεσματικό για την έγκριση του FDA (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

Τα εμβόλια κατά του καρκίνου χρησιμοποιούν ειδικά αντιγόνα όγκου για να πυροδοτήσουν αντικαρκινικές ανοσοαποκρίσεις που προκαλούνται από T-κύτταρα. Οι βασικές μελέτες προήλθαν από την ταυτοποίηση των MZ2-E και MZ2-D, τα οποία είναι αντιγόνα που προέρχονται από κύτταρα μελανώματος και κωδικοποιούνται από την οικογένεια γονιδίων MAGE (Melanoma-associated antigen) και μπορούν να αναγνωριστούν από τα κυτταροτοξικά T κύτταρα για να πυροδοτήσουν αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις. Ταυτόχρονα, ένα άλλο αντιγόνο ανθρώπινου μελανώματος, το gp100, αποδείχθηκε ότι σχετίζεται με την απόρριψη όγκου in vivo επάγοντας ανοσολογικές αποκρίσεις που προκαλούνται από διηθητικά λεμφοκύτταρα (Tumor-Infiltrating Lymphocytes- TILs) σε ασθενείς με μελάνωμα. Αυτά τα ευρήματα άνοιξαν το δρόμο για τη χρήση αντιγόνων προερχόμενα από όγκους ως εμβόλια στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου (Y. Zhang & Zhang, 2020).

Εκτός από τα αντιγόνα όγκου, ο εμβολιασμός με βάση τα δενδριτικά κύτταρα έδειξε επίσης σημαντικά κλινικά αποτελέσματα. Τα δενδριτικά κύτταρα (DCs) είναι τα καλύτερα εξοπλισμένα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην πρόκληση αντικαρκινικής ανοσίας. Συγκεκριμένα, μετά την ενεργοποίηση από αντιγόνα όγκου, τα DCs μπορούν να εσωτερικεύσουν, να επεξεργαστούν και στη συνέχεια να παρουσιάσουν τους επεξεργασμένους επίτοπους στα T κύτταρα και να επάγουν κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα (CTL) (Y. Zhang & Zhang, 2020). Το 2010 ο FDA ενέκρινε το Provenge ως το πρώτο αυτόλογο εμβόλιο κατά του καρκίνου, γνωστό και ως sipuleucel-T, για τη θεραπεία του ανθεκτικού καρκίνου του προστάτη, μια ανοσοθεραπεία με βάση τα δενδριτικά κύτταρα (Igarashi & Sasada, 2020).

Μια άλλη πολλά υποσχόμενη προσέγγιση στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου περιλαμβάνει τη χρήση εξατομικευμένων εμβολίων που έχουν σχεδιαστεί για να πυροδοτούν de novo αποκρίσεις T-λεμφοκυττάρων έναντι των νεοαντιγόνων που προσδίδουν υψηλή εξειδίκευση στον ασθενή. Τα νεοαντιγόνα είναι αντιγόνα που κωδικοποιούνται από μεταλλαγμένα γονίδια που υπάρχουν στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων (termed tumour-associated antigens – **TAAs**). Επομένως εδώ και αρκετά χρόνια έχουν μελετηθεί εκτενώς λόγω του πρωταρχικού τους ρόλου στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου. Ως αποτέλεσμα σωματικών μεταλλάξεων ειδικών για τον όγκο, τα νεοαντιγόνα δεν υπάρχουν στην επιφάνεια των κυττάρων του φυσιολογικού ιστού. Σε κάποιες περιπτώσεις όμως μπορεί να εκφραστούν και σε μη κακοήθεις ιστούς, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο αυτοάνοσων τοξικοτήτων που προκαλούνται από το εμβόλιο. Όντας εξαιρετικά ανοσογονικά, μπορούν να ενεργοποιήσουν την ανοσολογική απόκριση των CD8+ T κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων, παρέχοντας έναν τέλειο στόχο για ανοσοθεραπείες καρκίνου με βάση τα T κύτταρα. Η παρουσίαση και το φορτίο των νεοαντιγόνων έχουν συσχετιστεί θετικά με την πρόγνωση σε ασθενείς, σε ποικίλους τύπους καρκίνων και με το όφελος από τους αναστολείς του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου (ICIs), σε ασθενείς με μελάνωμα, μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC) ή καρκίνο του παχέος εντέρου να αυξάνεται (Blass & Ott, 2021).

#### 4.3.4 Θεραπείες με κυτοκίνες (Cytokine therapies)

Οι κυτοκίνες ή κυτταροκίνες είναι μικρές πρωτεΐνες που παράγονται φυσικά και εκκρίνονται από πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και άλλους κυτταρικούς τύπους (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019). Λειτουργώντας ως αγγελιοφόροι της έμφυτης και προσαρμοστικής ανοσίας, επιτρέπουν στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος να επικοινωνούν σε μικρές αποστάσεις με παρακρινή και αυτοκρινή τρόπο. Λαμβάνοντας υπόψη την ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να αναγνωρίζει και να καταστρέφει καρκινικά κύτταρα, έχει υπάρξει σημαντικό ενδιαφέρον τις τελευταίες δεκαετίες για την αξιοποίηση των κυτοκινών για τη θεραπεία του καρκίνου (Conlon et al., 2019).

Τα τελευταία χρόνια, ένας αριθμός κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένων της ιντερλευκίνης (IL)-2, IL-12, IL-15, IL-21, του παράγοντα διέγερσης αποικιών των μακροφάγων κοκκιοκυττάρων (GM-CSF) και της ιντερφερόνης (IFN)-α έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητά τους σε προκλινικά μοντέλα καρκίνου σε ποντίκια. Αυτή η προκλινική έρευνα υποστήριξε την αξιολόγηση των κυτοκινών σε κλινικές δοκιμές (Waldmann, 2018).

Οι ιντερφερόνες προσδιορίστηκαν για πρώτη φορά από τους Isaacs και Lindenmann το 1957 και ταξινομούνται με βάση την ικανότητα τους να δεσμεύουν συγκεκριμένους υποδοχείς. Ο τύπος I περιλαμβάνει τις IFN-α και IFN-β, ο τύπος II περιλαμβάνει την IFN-γ, ενώ πρόσφατα περιγράφηκε και ο τύπος III της IFNs (Conlon

et al., 2019). Η IFN-α, αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην αποτελεσματικότητα της αντικαρκινικής ανοσίας. Η IFN-α συμβάλλει στον έλεγχο του όγκου, συμπεριλαμβανομένης της άμεσης εκρίζωσης κυττάρων όγκου μέσω της πρόκλησης γήρανσης, της απόπτωσης και της ενίσχυσης αποτελεσματικών αντικαρκινικών ανοσολογικών αποκρίσεων μέσω της διέγερσης της ωρίμανσης των DC και της ενίσχυσης της κυτταροτοξικότητας των T-κυττάρων. Κλινικές μελέτες έχουν αποδείξει τον θεραπευτικό ρόλο της IFN-α σε υψηλές δόσεις στη χρόνια μυελοειδή λευχαιμία και το μελάνωμα (Conlon et al., 2019; Y. Zhang & Zhang, 2020).

Η πιθανή εφαρμογή των κυτοκινών στη θεραπεία του καρκίνου επωφελήθηκε από την αναγνώριση και ταυτοποίηση της **ιντερλευκίνης 2 (IL-2)** το 1976, που παλαιότερα ονομάστηκε T-κυτταρικός αυξητικός παράγοντας, και επέτρεψε στους ερευνητές να καλλιεργήσουν T λεμφοκύτταρα in vitro για πρώτη φορά (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019; Y. Zhang & Zhang, 2020). Η IL-2 ενεργοποιεί και προάγει τον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων και των NK κυττάρων (Zhou et al., 2022). Η IL-2 κλωνοποιήθηκε το 1983 και χρησιμοποιήθηκε αμέσως σε κλινικές δοκιμές που οδήγησαν σε πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα, συμπεριλαμβανομένης της συρρίκνωσης του όγκου. Αποδείχθηκε αποτελεσματική εάν χορηγηθεί σε μεγάλες ποσότητες σε ασθενείς με μεταστατικούς καρκίνους μέσω της ενίσχυσης της παραγωγής των T λεμφοκυττάρων. Ως εκ τούτου συνήθως ονομάζεται «ανοσοδιεγερτική κυτοκίνη». Ο FDA των ΗΠΑ ενέκρινε τη χρήση της ιντερλευκίνης 2 ως ανοσοθεραπευτική θεραπεία το 1992 για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου των νεφρικών κυττάρων και το 1998 για το μεταστατικό μελάνωμα (Waldmann, 2018; Wrangle et al., 2018).

Παρά τα κλινικά οφέλη των κυτοκινών, η κακή ανεκτικότητα και η σοβαρή τοξικότητα που προκαλούν, παρεμποδίζουν τις περαιτέρω εφαρμογές τους ως μονοθεραπείες. Ωστόσο, εξακολουθούν να διερευνώνται σε συνδυασμό με άλλες ανοσοθεραπείες, όπως με τη θεραπεία μεταφοράς υιοθετούμενων κυττάρων (ACT)

(Y. Zhang & Zhang, 2020).

#### 4.3.5 Θεραπεία υιοθετούμενων κυττάρων (Adoptive cell therapy- ACT)

Η Adoptive Cell Therapy (ACT) περιλαμβάνει την απομόνωση των T κυττάρων του ασθενούς, τα οποία είναι ειδικά για τον όγκο. Με τροποποίηση και πολλαπλασιασμό αυτών των κυττάρων στο εργαστήριο και στη συνέχεια με επανέγχυσή τους στην κυκλοφορία του ασθενούς, επιτυγχάνεται η εξάλειψη των καρκινικών κυττάρων, κάτι που αποδεικνύει η παρατεταμένη κλινική αποτελεσματικότητά τους (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019; Y. Zhang & Zhang, 2020).

Επί του παρόντος, δύο τύποι γενετικά τροποποιημένων T κυττάρων έχουν εφευρεθεί και έχουν επιτύχει ουσιαστική πρόοδο στη θεραπεία των κακοήθων

όγκων, οι **χιμαιρικοί αντιγονικοί υποδοχείς** (chimeric antigen receptor - **CAR**) T κυττάρων και οι **υποδοχείς T-κυττάρων (TCR)**.

Οι θεραπείες με CAR-T κύτταρα χρησιμοποιούν θραύσματα αντισωμάτων για την αναγνώριση ειδικών αντιγόνων που εκφράζονται στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων (Y. Zhang & Zhang, 2020). Το ωφέλιμο φορτίο που παρέχεται από τα αντισώματα αποτελείται από ισχυρά αντικαρκινικά T κύτταρα και όχι από τοξίνες ή ισότοπα. Αυτή η μορφή ανοσοθεραπείας T κυττάρων παρακάμπτει την ανάγκη για προϋπάρχουσα ανοσία κατά του καρκίνου (Joseph A Trapani, 2017). Η πρώτη γενιά κυττάρων CAR-T περιλάμβανε γενετικά τροποποιημένα T κύτταρα με αντισωματική ειδικότητα εκφραζόμενη από χιμαιρικά μόρια ανοσοσφαιρίνης-TCR ως λειτουργικούς υποδοχείς. Ωστόσο, αυτά τα κύτταρα CAR-T δεν μπόρεσαν να παραμείνουν μακροπρόθεσμα στο σώμα μέχρι το 1998, όταν οι Maher και η ομάδα του δημιούργησαν μια νέα γενιά κυττάρων CAR-T εισάγοντας συνδιεγερτικά μόρια όπως το CD28 στα τροποποιημένα CAR- T, για να επιτρέψουν στα τροποποιημένα κύτταρα να επιμείνουν και να παραμείνουν ενεργά στο σώμα (Y. Zhang & Zhang, 2020).

Ωστόσο, η υποτροπιάζουσα οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία B-κυττάρων σε παιδιά ήταν η πρώτη ασθένεια που εγκρίθηκε από τον FDA για θεραπεία με CAR T-κύτταρα (θεραπεία με το Yescarta) το 2017 και ακολούθησε η έγκριση θεραπείας για το διάχυτο λέμφωμα μεγάλων B κυττάρων (θεραπεία με το Tisagenlecleucel) και ορισμένους ακόμα τύπους λεμφώματος. Τέλος, το 2021 ο FDA ενέκρινε τη χρήση κυττάρων CAR-T χρησιμοποιώντας το αντιγόνο ωρίμανσης των B-κυττάρων για τη θεραπεία στο πολλαπλό μύελωμα (B-cell maturation antigen – BCMA), (θεραπεία με το Idecabtagene vicleucel) (Hernández-López et al., 2021; Taefehshokr et al., 2022).

Η θεραπεία με TCR-T αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τους Clay και την ομάδα του, οι οποίοι απέδειξαν ότι η μεταφορά γονιδίου TCR σε λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος (PBLs) που προέρχονται από ασθενείς με μελάνωμα θα μπορούσε να δημιουργήσει τελεστικά T κύτταρα με αντικαρκινική δραστηριότητα in vitro. Το κλινικό δυναμικό μιας τέτοιας θεραπείας επιβεβαιώθηκε στη συνέχεια σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα με παλίνδρομους όγκους όταν υποβλήθηκαν σε θεραπεία με TCR-κύτταρα. Συγκεκριμένα, το αντιγόνο του καρκίνου των όρχεων NY-ESO-1, που εκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα, έχει στοχευθεί χρησιμοποιώντας γενετικά τροποποιημένα κύτταρα TCR-T, που τελικά οδήγησαν σε υποχώρηση του όγκου.

Συμπερασματικά, οι θεραπείες με CAR-T-κύτταρα και TCR-T-κύτταρα έχουν επιτύχει σημαντικές προόδους στη θεραπεία του καρκίνου και έχουν δημιουργήσει ενθαρρυντικά κλινικά αποτελέσματα (Y. Zhang & Zhang, 2020).

### 4.3.6 Αναστολείς ελέγχου ανοσοποιητικού σημείου (immune checkpoint inhibitors)

Παρά τη μνημειώδη πρόοδο στις θεραπείες ACT, μια νέα κατηγορία μονοκλωνικών αντισωμάτων (monoclonal antibodies – mAbs), οι **αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου** (immune checkpoint inhibitors - **ICIs**), εισέρχονται πλέον στην ιατρική πράξη και έχουν γίνει μια από τις πιο σημαντικές μορφές ανοσοθεραπείας. Μέχρι τώρα, έχουν αναφερθεί πολλοί ICIs όπως οι PD-1/PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, BTLA, A2aR, OX40 κ.λπ. (P. Wang et al., 2022).

Η ανακάλυψη αντισωμάτων γύρω στο 1890 έχει αποδοθεί ποικιλοτρόπως στους Paul Ehrlich, Emil von Behring και Kitasato Shibasaburo και έχουν γίνει από τότε καθιερωμένες μορφές ανοσοθεραπείας σε ένα ευρύ φάσμα ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου. Δρουν με διάφορους τρόπους, για παράδειγμα εμποδίζοντας ένα αντιγόνο να προσκολληθεί στον υποδοχέα του στην επιφάνεια του κυττάρου ή επισημαίνοντας ένα αντιγόνο προς καταστροφή. Τα μονοκλωνικά αντισώματα χρησιμοποιούνται συνήθως, «μόνα» υποδηλώνοντας ότι είναι ένας μεμονωμένος τύπος αντισώματος, που στοχεύει ένα συγκεκριμένο αντιγόνο και «κλωνικά» υπονοώντας ότι πολλαπλασιάζονται χιλιάδες φορές προκειμένου να αποκτήσουν μια θεραπευτική, κλινικά αποτελεσματική δόση.

Η κύρια δράση του αντισώματος είναι να συνδέεται ειδικά στα αντιγόνα του κυττάρου και να επισημαίνει το καρκινικό κύτταρο που πρόκειται να καταστραφεί από εξειδικευμένα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Ορισμένα αντισώματα λειτουργούν σηματοδοτώντας το ανοσοποιητικό σύστημα και ενεργοποιώντας το να συνεχίσει την επίθεση, ενώ άλλα αντισώματα μπορεί να διακόψουν τη σηματοδότηση που παρακινεί τα καρκινικά κύτταρα να αναπτυχθούν, να διαιρεθούν και να εξαπλωθούν (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

Οι ICIs έχουν σχεδιαστεί για να αναζωογονούν τις αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις. Διακόπτουν συνανασταλτικά μονοπάτια σηματοδότησης και προάγουν την εξάλειψη κακοήθων κυττάρων με τη μεσολάβηση του ανοσοποιητικού, ωστόσο συχνά χρησιμοποιούνται από καρκινικά κύτταρα για να αποφύγουν την ανοσοεπιτήρηση. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι στόχοι για ICIs είναι το αντιγόνο-4 του κυτταροτοξικού T λεμφοκυττάρου (cytotoxic T lymphocyte antigen 4 - **CTLA-4**), ο προγραμματισμένος υποδοχέας κυτταρικού θανάτου 1 (Programmed cell death-1 - **PD-1**) και ο προγραμματισμένος κυτταρικός συνδέτης-1 (Programmed cell death ligand-1 - **PD-L1**) (Hargadon et al., 2018).

#### **Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4)**

Το μόριο CTLA-4 είναι μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη τύπου 1 της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών, το οποίο εκφράζεται στην επιφάνεια των T κυττάρων ως συνανασταλτικό μόριο και λειτουργεί για να ρυθμίζει αρνητικά την ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Μια πρωτοποριακή μελέτη έδειξε ότι ο

αποκλεισμός του CTLA-4 με αντισώματα θα μπορούσε να προκαλέσει αποτελεσματικές ανοσολογικές αποκρίσεις και να οδηγήσει σε υποχώρηση του όγκου, ανοίγοντας την εποχή της χρήσης αντισωμάτων για την ενίσχυση των αντικαρκινικών ανοσολογικών αποκρίσεων (van Coillie et al., 2020; Y. Zhang & Zhang, 2020).

Το CTLA-4 είναι το πρώτο μόριο ανοσολογικού σημείου ελέγχου που ανακαλύφθηκε, το 1987, από τον Brunet και την ομάδα του. Ωστόσο, η λειτουργία αυτού του μορίου παρέμεινε ασαφής μέχρι το 1995, όταν οι Krummel και Allison το εντόπισαν ως ένα κρίσιμο μόριο του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού με μεγάλες δυνατότητες ως μελλοντικό στόχο αντικαρκινικής θεραπείας (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019; van Coillie et al., 2020).

Το πρώτο ανασταλτικό αντίσωμα CTLA-4 αναπτύχθηκε αμέσως και δοκιμάστηκε σε ζώα ένα χρόνο αργότερα, το 1996. Ο πρώτος αναστολέας σημείου ελέγχου που εγκρίθηκε από τον FDA ήταν το ipilimumab το 2011 για τη θεραπεία του προχωρημένου μελανώματος. Σήμερα έχει εγκριθεί για διάφορους τύπους καρκίνου και το πιο ελπιδοφόρο αποτέλεσμα είναι ότι πάνω από το 20% των ασθενών που εγγράφηκαν στις πρώτες κλινικές δοκιμές ipilimumab (πριν από την έγκριση του 2011) είναι ακόμη ζωντανοί και δεν παρουσιάζουν στοιχεία ασθένειας (Dobosz & Dzieciatkowski, 2019).

### **Programmed cell death-1 (PD-1)**

Ο PD-1 ανακαλύφθηκε ότι εκφράζεται στην επιφάνεια των T-κυττάρων και αρχικά θεωρήθηκε ότι εμπλέκεται στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, αργότερα, όμως, αποδείχθηκε να ενεργεί ως αρνητικός ρυθμιστής των ανοσολογικών αποκρίσεων. Ωστόσο, οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί του PD-1 παρέμειναν ασαφείς μέχρι την ανακάλυψη του συνδέτη του, PD-L1, που εκφράζεται σε φυσιολογικούς ιστούς και ρυθμίζει την ανοσολογική ανοχή καταστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων που προκαλείται από τον TCR και την ενεργοποίηση της έκκρισης κυτοκινών, όπως IFN- $\gamma$  και IL-2, όταν δεσμεύεται με τον PD-1 (βλέπε παράγραφο 4.5.2) (Y. Zhang & Zhang, 2020).

Σε ένα αυτόνομο ανοσολογικό περιβάλλον, **ο PD-1 είναι απαραίτητος για τη διατήρηση της αναστολής των T κυττάρων και την πρόληψη της αυτοανοσίας.** Η γενετική έλλειψη του PD-1 οδηγεί σε βαθιά και πολύπλοκη πολυοργανική αυτοάνοση καταστροφή. Ομοίως, ο αποκλεισμός των αλληλεπιδράσεων PD-1/PD-L1 επιταχύνει τον αυτοάνοσο διαβήτη και αναστρέφει την ανοσολογική ανοχή. Μαζί αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν έναν κεντρικό ρόλο για τον PD-1 ως κύρια ανασταλτική οδό που ελέγχει την ανοσία (Fife et al., 2009).

Τα καρκινικά κύτταρα, ωστόσο, εκφράζουν επίσης ανώμαλα το PD-L1 για να ξεφύγουν από την ανοσολογική επιτήρηση. Μελέτες έχουν δείξει ότι η παρεμπόδιση του PD-1 ή του PD-L1 θα μπορούσε να ενεργοποιήσει την



κυτταροτοξική ικανότητα των T κυττάρων και να προκαλέσει υποχώρηση του όγκου, υποδηλώνοντας ότι ο PD-1 ή ο PD-L1 θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως θεραπευτικοί στόχοι. Πράγματι, ο αποκλεισμός της οδού PD-1 έχει επιτύχει αξιοσημείωτα κλινικά αποτελέσματα και τα αντισώματα που ειδικά στοχοποιούν τον PD-1 ή τον PD-L1 έχουν εγκριθεί για τη θεραπεία πολλών καρκίνων (Y. Zhang & Zhang, 2020).

Οι θεραπείες που στοχεύουν την οδό PD-1 με συνολικά υψηλά ποσοστά ανταπόκρισης περιλαμβάνουν κακοήθειες όπως το δερματικό μελάνωμα, το μη μικροκυτταρικό καρκίνο, το μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, τον καρκίνο των νεφρών, το λέμφωμα Hodgkin, τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης και τον καρκίνο του μαστού. Τα πρώτα κλινικά δεδομένα σε ασθενείς με μελάνωμα υποδεικνύουν ότι ο συνδυασμένος αποκλεισμός των οδών CTLA-4 και PD-1 (ipilimumab/nivolumab) οδηγεί σε ακόμη καλύτερη επιβίωση (Joseph A Trapani, 2017).

Τα αντισώματα του σημείου ελέγχου χορηγούνται με ενδοφλέβια έγχυση και έχουν χρόνο ημιζωής περίπου τρεις εβδομάδες. Η επαναλαμβανόμενη χορήγηση του φαρμάκου είναι απαραίτητη, ενώ επιτακτική είναι η αποκρυπτογράφηση για το πότε η θεραπεία μπορεί να μειωθεί με ασφάλεια, ώστε να περιοριστεί το κόστος. Αν και είναι καλά ανεκτή συνολικά, περίπου το 10% των ληπτών αποκλεισμού σημείων ελέγχου αναπτύσσουν σοβαρές αυτοάνοσες επιδράσεις, όπως φλεγμονώδη κολίτιδα, μυοκαρδίτιδα, πνευμονίτιδα ή δερματικά εξανθήματα, που απαιτούν ειδική αντιμετώπιση (Joseph A Trapani, 2017).

Τα **κριτήρια επιλογής ασθενών** (inclusion criteria) στις κλινικές μελέτες χορήγησης παραγόντων ICIs ποικίλουν και μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τον σκοπό της έρευνας, τους αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου που χρησιμοποιούνται κ.α. Μερικά από τα κριτήρια που μπορεί να λαμβάνονται είναι η ηλικία, το φύλο, η εθνικότητα, το στάδιο της κακοήθειας, η ιστολογία του όγκου, τυχόν προγενέστεροι κύκλοι θεραπείας, η παρουσία ειδικών βιοδεικτών κ.α.

Ειδικότερα, στις κλινικές μελέτες ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα στους οποίους χορηγούνται αναστολείς του μονοπατιού PD-1/PD-L1, τα κριτήρια επιλογής μπορεί να περιλαμβάνουν, τον ιστολογικό τύπο του όγκου (πλακώδες ή μη πλακώδες καρκίνωμα), προηγούμενη χορήγηση θεραπείας (χημειοθεραπεία) και το ποσοστό επιπέδου έκφρασης του μορίου PD-L1 στην επιφάνεια των κακοήθων κυττάρων (Nasser et al., 2020).

## 4.4 Ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες καρκινικών κυττάρων

Η αποτελεσματικότητα της ανοσοθεραπείας έναντι των κακοηθειών θεωρείται φτωχή στην πλειοψηφία των ασθενών, παρά την αξιοσημείωτη αποτελεσματικότητά της σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με καρκίνο (Zhou et

al., 2022). Κυρίως λόγω περιορισμένων ποσοστών ανταπόκρισης, της αδυναμίας πρόβλεψης της κλινικής αποτελεσματικότητας και των πιθανών παρενεργειών όπως οι αυτοάνοσες αντιδράσεις ή τα σύνδρομα απελευθέρωσης κυτοκίνης. Αυτό έχει ως συνέπεια, την παρεμπόδιση της περαιτέρω εφαρμογής των ανοσοθεραπειών στην κλινική πράξη (Y. Zhang & Zhang, 2020).

Έχει αναφερθεί ότι η υποαπόκριση ή η μη ανταπόκριση των ασθενών με καρκίνο στην ανοσοθεραπεία μπορεί να οφείλεται στην ετερογένεια του **ανοσολογικού μικροπεριβάλλοντος του όγκου** (Tumor Immune Microenvironment - **TIME**), (Εικόνα 18.). Το TIME και τα συστατικά του μπορεί να διαφέρουν ευρέως κατά τη διάρκεια της νεοπλασματικής εξέλιξης και μεταξύ διαφορετικών ασθενών. Αυτές οι παραλλαγές, καθώς και η ετερογένεια του μικροπεριβάλλοντος του όγκου και των συστατικών του, έχουν βαθιά επίδραση στην έκβαση της ανοσοθεραπείας (Zhou et al., 2022).

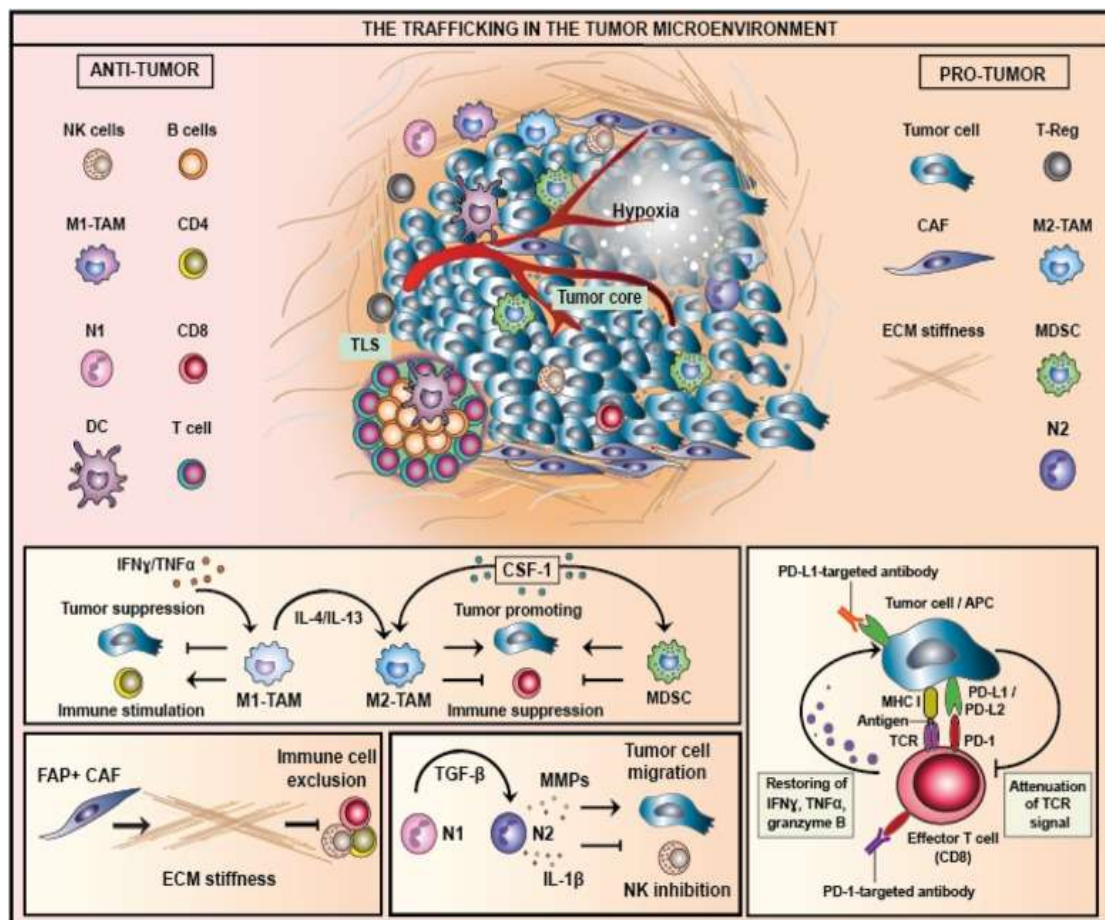
Τα καρκινικά βλαστοκύτταρα που περιέχονται στο TIME, αποτελούν κύτταρα του όγκου με την ικανότητα να αυτοανανεώνονται προκαλώντας και αυξάνοντας την ογκογένεση. Στο TIME εκτός από τα κακοήθη κύτταρα περιλαμβάνονται τα γύρω κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, τα αιμοφόρα αγγεία, η εξωκυτταρική μήτρα (extracellular matrix – ECM), οι ινοβλάστες, τα λεμφοκύτταρα, τα φλεγμονώδη κύτταρα που έχουν προέλθει από τον μυελό των οστών και τα μόρια σηματοδότησης. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κακοήθων και των φυσιολογικών κυττάρων δημιουργούν ένα μικροπεριβάλλον που επηρεάζει άμεσα τις διαδικασίες ανάπτυξης και την εξέλιξη του καρκίνου. Τα μη κακοήθη κύτταρα στο TIME συχνά επιτελούν μια προογκογονική λειτουργία σε όλες τις φάσεις της καρκινογένεσης διεγείροντας τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα καρκινικά όμως κύτταρα εισβάλλουν στους υγιείς ιστούς και εξαπλώνονται σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος μέσω του λεμφικού ή του κυκλοφορικού συστήματος (Arneth, 2020).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην ευδοκιμία του κακοήθους όγκου και στην προστασία των καρκινικών κυττάρων από το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα κακοήθη αγγεία συνήθως διακλαδίζονται προς τα έξω από προϋπάρχοντα αγγεία ή προέρχονται από ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα. Με αυτόν τον τρόπο, τα κύτταρα αυτά προσφέρουν θρεπτική υποστήριξη για την ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου (Arneth, 2020).

Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού, για παράδειγμα τα κοκκιοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και τα μακροφάγα, εμπλέκονται σε διάφορες ανοσολογικές αποκρίσεις, όπως φλεγμονώδεις αντιδράσεις που ενορχηστρώνονται από τον όγκο για την προώθηση της επιβίωσης του. Από αυτά ιδιαίτερος είναι ο ρόλος των μακροφάγων, τα οποία συνδέονται με την ανάπτυξη του καρκίνου. Αναλυτικότερα, προάγουν τη διαφυγή των καρκινικών κυττάρων στο κυκλοφορικό σύστημα, αφού τα βοηθούν να εξαγγειωθούν σε απομακρυσμένες περιοχές, όπως οι πνεύμονες. Το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία μεταστάσεων. Ακόμη, μπορούν

να καταστείλουν τις αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις, επιτρέποντας την ανοχή του όγκου(Arneth, 2020).

Οι ινοβλάστες επιτρέπουν στα καρκινικά κύτταρα να μεταναστεύσουν από την πρωτογενή θέση του όγκου στην κυκλοφορία του αίματος προκαλώντας μεταστάσεις σε διάφορα όργανα. Επιπλέον, οι ινοβλάστες παρέχουν μια αξιόπιστη δίοδο για τα ενδοθηλιακά κύτταρα που υφίστανται αγγειογένεση στον όγκο(Arneth, 2020).



**Εικόνα 18.** Το μικροπεριβάλλον του κακοήθους όγκου απαρτίζεται ένα σύνθετο σύστημα καρκινικών και φυσιολογικών στρωματικών κυττάρων, όπως είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα και οι ινοβλάστες, με κύριο χαρακτηριστικό τη διήθηση του όγκου από λευκοκύτταρα(Galli et al., 2020).

### Τα καρκινικά κύτταρα και η λειτουργία τους

Τα καρκινικά κύτταρα αποτελούν τα κυρίαρχα κυτταρικά συστατικά του ανοσολογικού μικροπεριβάλλοντος του όγκου (TIME). Παίζουν σημαντικό ρόλο στο TIME και μπορούν να αναστείλουν άμεσα τη λειτουργία των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Μέσω της έκκρισης αντιγόνων του όγκου ή της δημιουργίας ενός μικροπεριβάλλοντος που δεν ευνοεί τον μεταβολισμό των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, προκαλούν αδρανοποίηση και αναστολή της λειτουργίας των ανοσοκυττάρων.

Τα καρκινικά κύτταρα μπορούν επίσης να αναστείλουν τη λειτουργία των ανοσοκυττάρων μέσω της έκκρισης ανασταλτικών κυτοκινών, της σύλληψης χημειοκινών και της έκκρισης VEGF (αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας). Αυτά μπορούν να καταστέλλουν την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων (DC) και να ενεργοποιούν άμεσα τα ρυθμιστικά T κύτταρα (Tregs) και τα σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού.

Η βαθύτερη ανάλυση της πολυπλοκότητας και της ετερογένειας του ανοσολογικού μικροπεριβάλλοντος του όγκου και των συστατικών του, κρίνεται αναγκαία, καθώς είναι πιθανό να αποκαλύψει προηγμένους βιοδείκτες χρήσιμους στον εντοπισμό πληθυσμών ασθενών που ανταποκρίνονται στην τρέχουσα ανοσοθεραπεία. Θα ωφελήσουν επίσης στην αναζήτηση νέων στόχων για θεραπευτική διαμόρφωση έναντι των κακοηθειών (Zhou et al., 2022).

### Μηχανισμοί αντίστασης στην ανοσοθεραπεία

**Πίνακας 3.** Ορολογία για διαφορετικούς μηχανισμούς αντίστασης στην ανοσοθεραπεία [Sharma et al., 2017].

Πρωτογενής αντίσταση	Ένα κλινικό σενάριο όπου ένας καρκίνος δεν ανταποκρίνεται σε μια στρατηγική ανοσοθεραπείας. Ο μηχανισμός βάση της έλλειψης απόκρισης στην ανοσοθεραπεία μπορεί να περιλαμβάνει την προσαρμοστική ανοσολογική αντίσταση
Προσαρμοστική ανοσοαντίσταση	Ένας μηχανισμός αντίστασης όπου ένας καρκίνος αναγνωρίζεται από το ανοσοποιητικό σύστημα αλλά προστατεύεται από την προσαρμογή του στην επίθεση του ανοσοποιητικού. Δεδομένης της εξελισσόμενης φύσης της αλληλεπίδρασης ανοσοποιητικού/καρκινικού κυττάρου, αυτό θα μπορούσε κλινικά να εκδηλωθεί ως πρωτογενής αντίσταση, μικτές αποκρίσεις ή επίκτητη αντίσταση
Επίκτητη αντίσταση	Ένα κλινικό σενάριο στο οποίο ένας καρκίνος αρχικά ανταποκρίθηκε στην ανοσοθεραπεία αλλά μετά από ένα χρονικό διάστημα υποτροπίασε και εξελίχθηκε

## Πρωτογενής και Προσαρμοστική Αντίσταση στην Ανοσοθεραπεία

Οι ασθενείς που έχουν πρωτογενή αντίσταση στους αναστολείς των σημείων ελέγχου (**Εικόνα 19.**) δεν ανταποκρίνονται στην αρχική θεραπεία. Οι συνεχιζόμενες μελέτες δείχνουν ότι οι **ενδογενείς** αλλά και οι **εξωγενείς** παράγοντες του καρκινικού κυττάρου συμβάλλουν στους μηχανισμούς αντίστασης. Ο πιο ξεκάθαρος λόγος για τον οποίο ένας όγκος δεν θα ανταποκρινόταν στη θεραπεία σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού ή στο ACT είναι η έλλειψη αναγνώρισης των καρκινικών κυττάρων από τα T κύτταρα λόγω απουσίας ειδικών αντιγόνων του όγκου. Εναλλακτικά, τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να εμφανίζουν αντιγόνα, αλλά αναπτύσσουν μηχανισμούς για την αποφυγή της παρουσίας τους στην επιφάνεια που περιορίζεται από τα MHC, είτε λόγω αλλαγών στον μηχανισμό παρουσίασης αντιγόνων όπως υπομονάδες πρωτεασώματος ή μεταφορείς που έχουν συσχετιστεί με την επεξεργασία του αντιγόνου (transporters associated with antigen processing - TAP), με τη βήτα-2-μικροσφαιρίνη (B2M) ή με το ίδιο το MHC. Η B2M απαιτείται για την αναδίπλωση και μεταφορά του HLA τύπου I στην επιφάνεια του κυττάρου και η γενετική του ανεπάρκεια θα οδηγούσε σε έλλειψη αναγνώρισης των CD8 T κυττάρων(Sharma et al., 2017).

## Ενδογενείς Παράγοντες Ογκοκυττάρων για Πρωτογενή και Προσαρμοστική Αντίσταση

Οι ενδογενείς παράγοντες των καρκινικών κυττάρων που συμβάλλουν στην αντίσταση στην ανοσοθεραπεία περιλαμβάνουν την έκφραση ή την καταστολή ορισμένων γονιδίων και οδών στα καρκινικά κύτταρα που εμποδίζουν τη διήθηση των κυττάρων του ανοσοποιητικού ή τη λειτουργία εντός του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Αυτοί οι μηχανισμοί μπορεί να υπάρχουν κατά τη στιγμή της αρχικής παρουσίασης, οι οποίοι υπογραμμίζουν τους πρωτογενείς μηχανισμούς αντίστασης ή αυτοί οι μηχανισμοί μπορεί να εξελιχθούν αργότερα, οι οποίοι υπογραμμίζουν τους μηχανισμούς προσαρμοστικής αντίστασης. Πολλαπλοί ενδογενείς μηχανισμοί έχουν πρόσφατα εντοπιστεί και περιλαμβάνουν: 1) τη σηματοδότηση μέσω της οδού ενεργοποιημένης μιτογόνου πρωτεϊνικής κινάσης (Mitogen-activated Protein Kinase - MAPK) και/ή απώλεια της έκφρασης PTEN, η οποία ενισχύει τη σηματοδότηση PI3K, 2) την έκφραση της οδού σηματοδότησης WNT/ $\beta$ -κατενίνης, 3) την απώλεια οδών σηματοδότησης ιντερφερόνης- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) και 4) την έλλειψη αποκρίσεων T κυττάρων λόγω απώλειας έκφρασης αντιγόνου του όγκου(Sharma et al., 2017).

## Εξωγενείς Παράγοντες Ογκοκυττάρων για Πρωτογενή και Προσαρμοστική Αντίσταση

Οι εξωγενείς μηχανισμοί των καρκινικών κυττάρων που καταλήγουν σε πρωτογενή ή/και προσαρμοστική αντίσταση εμπλέκουν διαφορετικούς παράγοντες από τα κακοήθη κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του όγκου, συμπεριλαμβανομένων των ρυθμιστικών T κυττάρων (Tregs), των κατασταλτικών κυττάρων που προέρχονται από μυελοειδή κύτταρα (MDSCs), των μακροφάγων M2 και άλλων ανασταλτικών

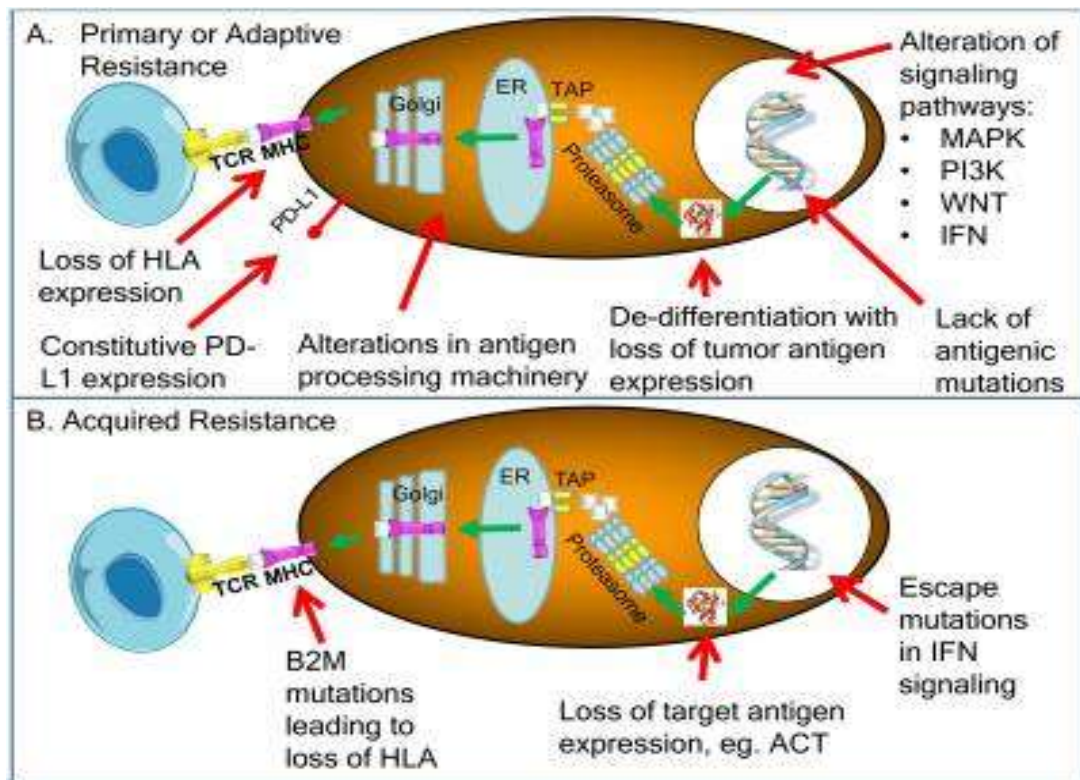
ανοσολογικών σημείων ελέγχου, τα οποία μπορεί όλα να συμβάλλουν στην αναστολή των αντικαρκινικών ανοσολογικών αποκρίσεων(Sharma et al., 2017).

#### Επίκτητη Αντοχή στην Ανοσοθεραπεία

Ένα χαρακτηριστικό της ανοσοθεραπείας του καρκίνου είναι η πρόκληση μακροχρόνιων αποκρίσεων του όγκου. Ωστόσο, με υψηλότερη δραστηριότητα και ευρύτερη χρήση των ανοσοθεραπειών, ο παρονομαστής των ασθενών με απόκριση έχει αυξηθεί και οι πιθανότητες εύρεσης ασθενών που ανταποκρίθηκαν για ένα χρονικό διάστημα και στη συνέχεια υποτροπίασαν αυξάνεται.

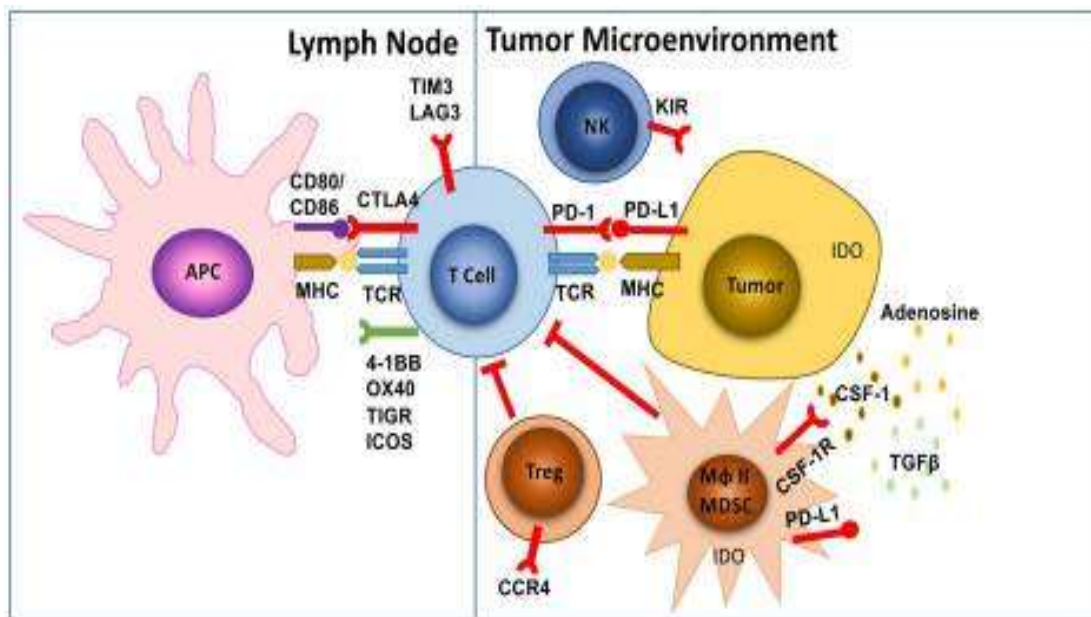
Γίνεται σαφές ότι περίπου το ένα τέταρτο έως το ένα τρίτο των ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα που έχουν αντικειμενικές ανταποκρίσεις στη θεραπεία αποκλεισμού σημείου ελέγχου με anti-CTLA-4 ή anti-PD-1 θα υποτροπιάσουν με την πάροδο του χρόνου ακόμη και παρά τη συνεχιζόμενη θεραπεία. Οι πιθανοί μηχανισμοί υποτροπής περιλαμβάνουν απώλεια της λειτουργίας των T κυττάρων, έλλειψη αναγνώρισης των T κυττάρων με μείωση της παρουσίας αντιγόνων του όγκου και ανάπτυξη παραλλαγών μετάλλαξης διαφυγής στον καρκίνο. Υπάρχουν ενδείξεις ότι καθένας από αυτούς τους μηχανισμούς μπορεί να οδηγήσει σε επίκτητη αντίσταση στη θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου ή ACT(Sharma et al., 2017).

Στην εικόνα 19 αναπαρίστανται Α) οι ενδογενείς παράγοντες που καταλήγουν σε προσαρμοστική ή πρωτογενή αντίσταση, συμπεριλαμβανομένης της έλλειψης αντιγονικών μεταλλάξεων, της απώλειας έκφρασης αντιγόνου όγκου, της απώλειας έκφρασης HLA, των αλλαγών στον μηχανισμό επεξεργασίας αντιγόνου, των αλλαγών πολλών οδών σηματοδότησης (MAPK, PI3K, WNT, IFN) και Έκφραση PD-L1. Β) οι ενδογενείς παράγοντες που σχετίζονται με την επίκτητη αντίσταση του καρκίνου, συμπεριλαμβανομένης της απώλειας αντιγόνου στόχου, HLA, αλλοιωμένης σηματοδότησης IFN, καθώς και ανεπάρκεια λειτουργικότητας των Τ κυττάρων(Sharma et al., 2017).



**Εικόνα 19.** Γνωστοί ενδογενείς μηχανισμοί αντίστασης στην ανοσοθεραπεία [Sharma et al., 2017].

Στην εικόνα 20 αναπαρίστανται οι πιο γνωστοί εξωγενείς μηχανισμοί αντίστασης στην ανοσοθεραπεία. Αυτοί περιλαμβάνουν τους CTLA-4, PD1 και άλλα σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού, εξάντληση των Τ λεμφοκυττάρων και αλλαγή φαινοτύπου, ανοσοκατασταλτικούς πληθυσμούς κυττάρων (Tregs, MDSC, μακροφάγα τύπου II), απελευθέρωση κυτοκίνης και μεταβολίτη στο μικροπεριβάλλον του όγκου (CSF-1, μεταβολίτες τρυπτοφάνης β, TGF , αδενοσίνη). LN: λεμφαδένας; TME: μικροπεριβάλλον όγκου; APC: κύτταρα που παρουσιάζουν αντιγόνο. MHC: κύριο σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας. TCR: Υποδοχέας Τ κυττάρων. TLR: υποδοχέας διοδίων. Treg: ρυθμιστικό Τ κύτταρο; MDSC: κατασταλτικό κύτταρο που προέρχεται από μυελοειδή. Μφ II: μακροφάγα τύπου II(Sharma et al., 2017).



**Εικόνα 20.** Γνωστοί εξωγενείς μηχανισμοί αντίστασης στην ανοσοθεραπεία[Sharma et al., 2017].



## 4.5 Ανασταλτικοί υποδοχείς PD-1 και PD-L1

### 4.5.1 Δομή του γονιδίου των PD-1/PD-L1 και μοριακοί μηχανισμοί

#### PD-1

Η προγραμματισμένη πρωτεΐνη κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1), που αναφέρεται και ως CD279, ονομάστηκε έτσι από τον Tasuku Honjo και τους συνεργάτες του και ανακαλύφθηκε μέσα από κυτταρικές σειρές το 1992 (Han et al., 2020; P. Wang et al., 2022). Εκφράζεται σε πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος όπως, σε ενεργοποιημένα T κύτταρα (CD4 and CD8), σε B λεμφοκύτταρα, σε κύτταρα φυσικούς φονείς (NK), σε μονοκύτταρα και σε δενδριτικά κύτταρα (Bardhan et al., 2016; Velcheti & Schalper, 2016).

Ο PD-1 είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη βάρους 55 kDa και αποτελείται από 288 αμινοξέα με μια εξωκυτταρική αμινοτελική περιοχή (IgV-Like), μια περιοχή διαπερατή στη μεμβράνη και μια κυτταροπλασματική ουρά που βρίσκεται στα N και C άκρα, αντίστοιχα, με δύο βάσεις τυροσίνης (**Εικόνα 14**). Ο PD-1 είναι 15% παρόμοιος με την αλληλουχία αμινοξέων του μορίου CD28, 20% παρόμοιος με το CTLA4 και 13% παρόμοιος με τον επαγόμενο διεγέρτη T-κυττάρων (Han et al., 2020). Ο PD-1 κωδικοποιείται από το ανθρώπινο γονίδιο PDCD1 που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 2q37.3. Στο γονίδιο PDCD1, έχουν εντοπιστεί αρκετοί πολυμορφισμοί, όπως ο PDCD-1.1, ο PDCD-1.3 κ.α. για τους οποίους γίνονται μελέτες για την διαπίστωση συσχέτισης πολυμορφισμών και κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου (J. Zhang et al., 2016).

Ο PD-1 έχει 2 γνωστούς συνδέτες, τον PD-L1 και τον PD-L2, και οι δύο εκφράζονται σε σχετικά χαμηλά επίπεδα σε υγιείς ιστούς. Μεσολαβούν στη φυσική ανοσολογική ανοχή για την αποφυγή αυτοάνοσων αποκρίσεων ιστού και βλάβης μετά από παρατεταμένη φλεγμονώδη απόκριση (Velcheti & Schalper, 2016).

#### PD-L1/PD-L2

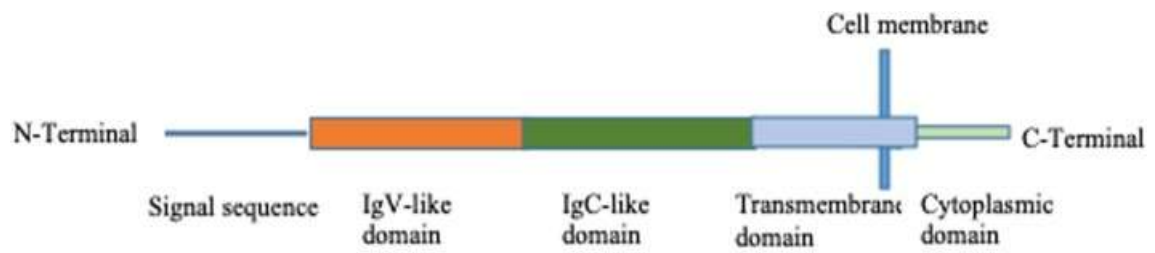
Η προγραμματισμένη πρωτεΐνη συνδέτης κυτταρικού θανάτου-1 (PD-L1), που αναφέρεται επίσης και ως B7-H1 ή CD274 και η προγραμματισμένη πρωτεΐνη συνδέτης κυτταρικού θανάτου-2 (PD-L2), που αναφέρεται και ως B7-DC ή CD273, είναι οι συνδέτες του PD-1 (Akinleye & Rasool, 2019; Patsoukis et al., 2020). Ο PD-L1 περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Dong το 1999 ως B7-H1 και προσδιορίστηκε ως το τρίτο μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών B7 εμφανίζοντας ομολογία 15%-20% με τις πρωτεΐνες B7.1 και B7.2 (Kythreotou et al., 2018). Εκφράζεται συνήθως σε μακροφάγα, μερικά ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα και B κύτταρα, DCs και μερικά επιθηλιακά κύτταρα, ιδιαίτερα υπό φλεγμονώδεις συνθήκες (Han et al., 2020). Ο PD-L2 εκφράζεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα σε σύγκριση με τον PD-L1

ωστόσο, παρουσία σημάτων T<sub>H</sub>2, η έκφραση του PD-L2 ρυθμίζεται αυξητικά (Velcheti & Schalper, 2016).

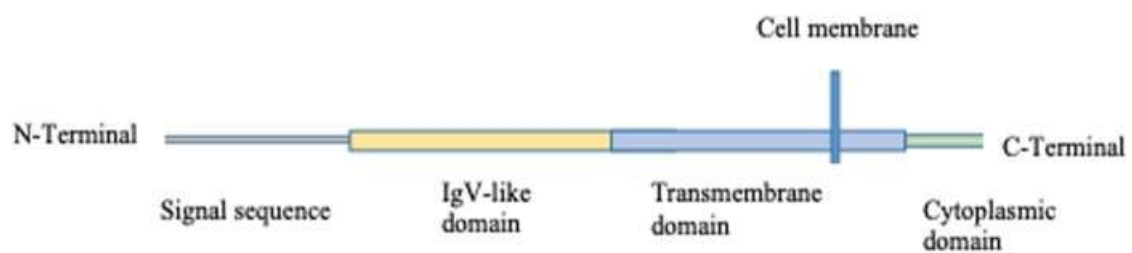
Ο PD-L1 είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη τύπου 1, η οποία κωδικοποιείται μέσα από επτά εξόνια, που αντιστοιχούν σε μια πρωτεΐνη 40 kDa, 290 αμινοξέων. Αποτελείται από εξωκυτταρικές περιοχές που μοιάζουν με IgV και IgC, μια υδρόφοβη διαμεμβρανική περιοχή και μια κοντή κυτταροπλασματική ουρά (**Εικόνα 21.**) που αποτελείται από 30 αμινοξέα, με ασαφείς ιδιότητες μεταγωγής σήματος (Bardhan et al., 2016; Kythreotou et al., 2018). Ο PD-L1 κωδικοποιείται από το ανθρώπινο γονίδιο PDCDL1 ή γονίδιο Cd274 που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 9, στη θέση p24.1 (Akinleye & Rasool, 2019; Kythreotou et al., 2018).

Ο PD-L2 κωδικοποιείται από το γονίδιο Pdcd1lg2 δίπλα στο γονίδιο Cd274 που διαχωρίζεται από 42 kb παρεμβατικού γονιδιωματικού DNA στον άνθρωπο. Αποτελείται από 273 υπολείμματα αμινοξέων και από επτά εξόνια που αποτελούν περιοχή παρόμοια με την IgV, περιοχή παρόμοια με την IgC, διαμεμβρανική περιοχή και κυτταροπλασματική (ενδοκυτταρική) περιοχή (Akinleye & Rasool, 2019).

Η ταυτότητα αμινοξέων μεταξύ του PD-L1 και του PD-L2 είναι περίπου 40% όμοια, ενώ οι PD-Ls και οι B7s έχουν περίπου 20% ομοιότητα. Η ανάλυση της κρυσταλλικής δομής δείχνει ότι ο PD-1 χρησιμοποιεί συγκεκριμένα την μπροστινή β-όψη του για να συνδεθεί με την β-όψη του PD-L1 ή του PD-L2 (Bardhan et al., 2016).



PD-L1 Protein



PD-1 Protein

**Εικόνα 21.** Οι PD-L1 και PD-1 είναι και οι δύο πρωτεΐνες διαμεμβρανικές που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Το PD-L1 περιέχει κυρίως κυτταροπλασματική περιοχή, διαμεμβρανική περιοχή και δύο εξωκυτταρικές περιοχές που μοιάζουν με IgV και IgC. Ενώ, η πρωτεΐνη PD-1 αποτελείται μόνο από έναν εξωκυτταρικό τομέα, ένα διαμεμβρανικό τομέα και ένα κυτταροπλασματικό τομέα. [Akinleye & Rasool, 2019]

## 4.5.2 Φυσιολογικός ρόλος των PD-1/PD-L1 στα υγιή κύτταρα

Τα αυξανόμενα στοιχεία δείχνουν ότι η ενεργοποίηση της σηματοδότησης PD-1/PD-L1 ρυθμίζει αρνητικά τις ανοσοαποκρίσεις που προκαλούνται από τα Τ κύτταρα στους περιφερικούς ιστούς για να περιορίσει τις αποκρίσεις των τελεστικών Τ κυττάρων και να προστατεύσει τους ιστούς από βλάβες που προκαλούνται από το ανοσοποιητικό σύστημα, η οποία είναι επίσης γνωστή ως ανοχή περιφερικών Τ κυττάρων (Akinleye & Rasool, 2019).

### PD-1

Το PD-1 είναι αναστολέας τόσο των προσαρμοστικών όσο και των ενδογενών ανοσολογικών αποκρίσεων και όπως αναφέρθηκε ήδη εκφράζεται σε ενεργοποιημένα Τ λεμφοκύτταρα, λεμφοκύτταρα φυσικούς φονείς (NK), Β λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα (DCs) και μονοκύτταρα. Αξίζει να σημειωθεί ότι το PD-1 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στα ογκογονοειδικά Τ κύτταρα (Bardhan et al., 2016). Ο PD-1 δεν εκφράζεται σε ανενεργά Τ κύτταρα αλλά εκφράζεται επαγωγίμως μετά την ενεργοποίηση από αλληλεπιδράσεις των μορίων MHC και CD28/B7 και του υποδοχέα TCR/αντιγόνο (Akinleye & Rasool, 2019).

Μεταγραφικοί παράγοντες όπως ο πυρηνικός παράγοντας των ενεργοποιημένων Τ λεμφοκυττάρων (Nuclear factor of activated T cells - **NFAT**), ο **NOTCH**, η πρωτεΐνη Forkhead box O1 (**FOXO1**) και η ιντερφερόνη ρυθμιστικός παράγοντας 9 (**IRF9**) μπορεί να πυροδοτήσουν τη μεταγραφή του PD-1 (Han et al., 2020). Ενώ το T-bet λειτουργεί ως μεταγραφικός καταστολέας του PD-1 (Bardhan et al., 2016).

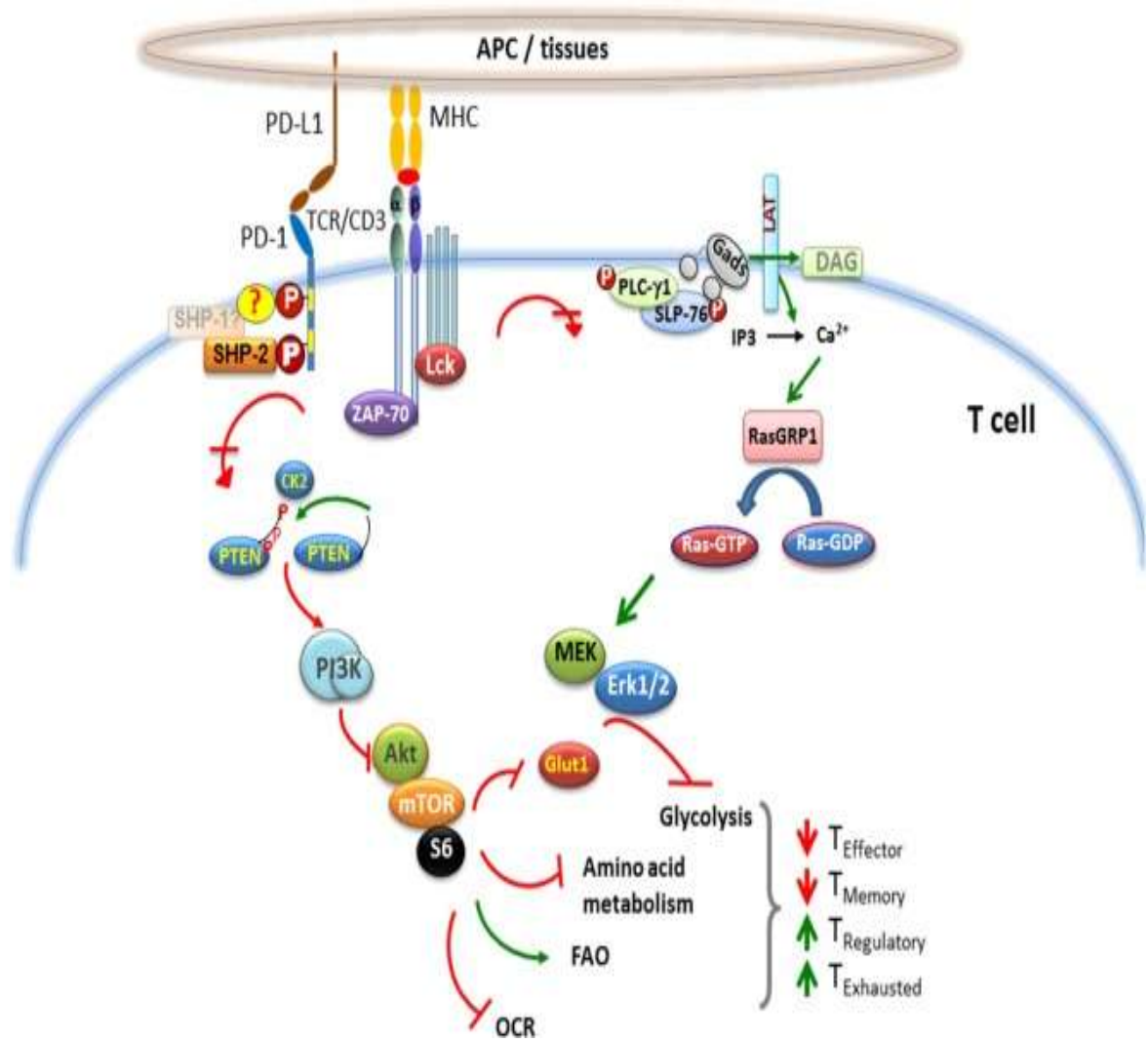
Όταν εμπλέκεται με τους συνδέτες του, ο άξονας PD-1:

- μειώνει τις αποκρίσεις των Τ κυττάρων με διάφορους τρόπους, σε μεγάλο βαθμό στην παραγωγή κυτταροκινών παρά στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, με σημαντικές επιδράσεις στην παραγωγή IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  και IL-2
- ασκεί δράση στη διαφοροποίηση και την επιβίωση των κυττάρων άμεσα με την αναστολή των πρώιμων γεγονότων ενεργοποίησης που ρυθμίζονται θετικά από το CD28 ή έμμεσα μέσω της IL-2
- αναστέλλει τις κινάσες που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων μέσω της δραστηριότητας της φωσφατάσης SHP2 και άλλων οδών σηματοδότησης
- αναστέλλει την επαγωγή του παράγοντα επιβίωσης των κυττάρων Bcl-xL καθώς και την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων που σχετίζονται με τη λειτουργία των τελεστικών κυττάρων και περιορίζει την αυτοανοσία τη στιγμή της φλεγμονής, η οποία είναι ανταπόκριση σε λοιμώξεις
- αναστέλλει επίσης τη λυτική δραστηριότητα σε ενεργοποιημένα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των Β κυττάρων και των NK κυττάρων. Εκφράζεται επίσης, σε μεγάλο βαθμό στα ρυθμιστικά Τ κύτταρα ( $T_{Reg}$ ), όπου μπορεί να ενεργοποιηθούν και να πολλαπλασιαστούν και να αναστέλλουν, αντί να προάγουν, ανοσοαποκρίσεις μέσω έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα

FOXP3, έλλειψη έκφρασης τελεστικών κυτταροκινών όπως η IFN $\gamma$ , και παραγωγή ανασταλτικών κυτταροκινών όπως TGF $\beta$ , IL-10 και IL-35 (Akinleye & Rasool, 2019).

#### Επίδραση του PD-1 στα κύρια μονοπάτια σηματοδότησης των κυττάρων TCR

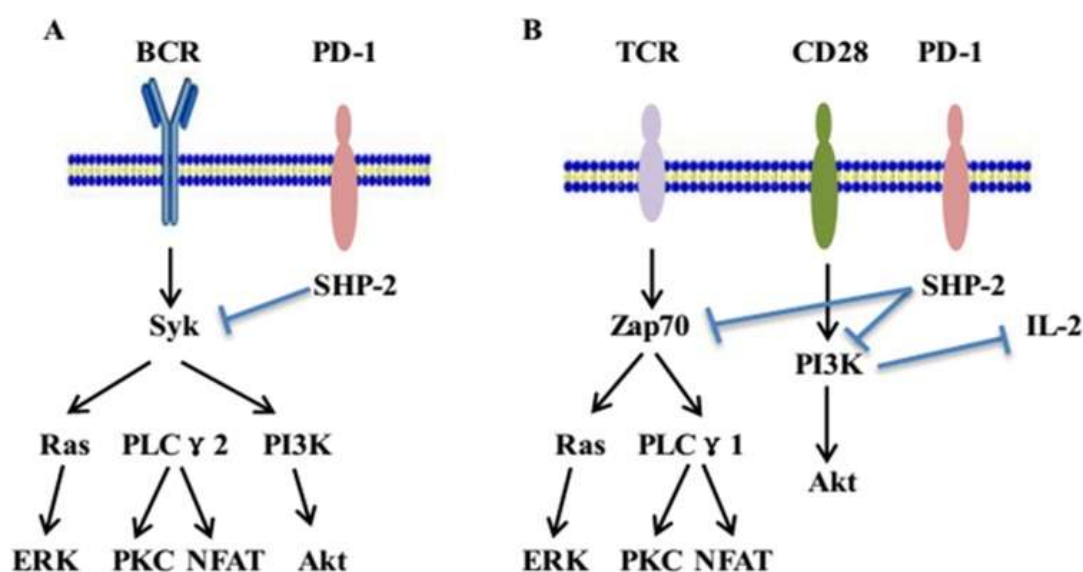
Όταν το T λεμφοκύτταρο συναντά ένα ξένο αντιγόνο που παρουσιάζεται από το μόριο MHC στην επιφάνεια του APC, ο TCR φωσφορυλιώνεται κατά τον ολιγομερισμό των αλυσίδων TCR/CD3, ακολουθούμενο από στρατολόγηση του ενεργοποιημένου Lck και Zap-70 στο φωσφορυλιωμένο ITAM (μοτίβα τυροσίνης) της ουράς TCR, οδηγώντας στην εκκίνηση του καταρράκτη σηματοδότησης TCR. Κατά τη διασύνδεση του TCR, όταν το PD-1 αλληλεπιδρά με τους συνδέτες του, τα δύο υπολείμματα τυροσίνης στην κυτταροπλασματική ουρά του PD-1 φωσφορυλιώνονται και το SHP-2 στρατολογείται στο ITSM (επίσης πιθανώς SHP-1). Ως αποτέλεσμα, το Lck και το Zap-70 αποφωσφορυλιώνονται. Η σύνδεση του PD-1 προκαλεί επίσης αναστολή των οδών PI3K/Akt/mTOR και Ras/MAPK/Erk, οδηγώντας σε μείωση της γλυκόλυσης και του μεταβολισμού των αμινοξέων και αύξηση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων στα T κύτταρα. Αυτή η αλλαγή στον μεταβολικό, επαναπρογραμματισμό των T κυττάρων, μπορεί να αλλάξει την πορεία της διαφοροποίησης των T κυττάρων, οδηγώντας σε εξασθενημένη διαφοροποίηση των T τελεστικών κυττάρων και των T κυττάρων μνήμης, ενώ ενισχύει τη διαφοροποίηση των ρυθμιστικών T κυττάρων και των εξαντλημένων T κυττάρων (Bardhan et al., 2016). **(Εικόνα 22.)**



**Εικόνα 22.** Επίδραση του PD-1 στα κύρια μονοπάτια σηματοδότησης και επακόλουθος μεταβολικός επαναπρογραμματισμός στα T κύτταρα.[Bardhan et al., 2016].

### Επίδραση του PD-1 στα κύρια μονοπάτια σηματοδότησης των B κυττάρων

Η ανασταλτική σηματοδότηση της οδού PD-1 αναλύθηκε αρχικά σε κυτταρική B σειρά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η σύνδεση του PD-1 καταστέλλει τα σήματα του υποδοχέα των B κυττάρων (B cell receptor – BCR) στρατολογώντας το μόριο SHP-2, το οποίο αποφωσφορυλιώνει τους μετατροπείς σήματος του BCR, όπως το Syk, προκαλώντας την απενεργοποίηση του καταρράκτη σηματοδότησης μορίων, συμπεριλαμβανομένων των PLC $\gamma$ 2, PI3K και ERK. Τέλος, οι απενεργοποιημένοι μετατροπείς σήματος οδηγούν στην καταστολή των αποκρίσεων οξείας φάσης όπως είναι η κινητοποίηση του Ca $^{2+}$  καθώς και σε μακροπρόθεσμες επιδράσεις όπως είναι η καθυστέρηση της κυτταρικής ανάπτυξης (**Εικόνα 23.**) (Zhu & Lang, 2017).



**Εικόνα 23.** Η ανασταλτική σηματοδότηση της οδού PD-1 [Zhu & Lang, 2017].

Η ανασταλτική σηματοδότηση της οδού PD-1 διαφέρει στα B και στα T κύτταρα. Αναλυτικότερα στην εικόνα 23, στα αριστερά (A), στα B κύτταρα, η σύνδεση PD-1 μαζί με τη σηματοδότηση BCR οδηγεί σε φωσφορυλίωση. Στη συνέχεια, το SHP-2 αποφωσφορυλιώνει τα BCR-εγγύς μόρια σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένου του Syk, τα οποία εξασθενούν την ενεργοποίηση σηματοδότησης του καταρράκτη μορίων. Στα δεξιά (B), στα T κύτταρα, η σύνδεση του PD-1 μαζί με τη σηματοδότηση TCR έχει ως αποτέλεσμα τη φωσφορυλίωση του υπολείμματος τυροσίνης και τη στρατολόγηση του SHP-2. Η στρατολόγηση του SHP-2 αποφωσφορυλιώνει τη σηματοδότηση μέσω των μονοπατιών PI3K ή Zap70 και αναστέλλει τον καταρράκτη σηματοδότησης. Εν τω μεταξύ, ο αποκλεισμός της ενεργοποίησης του PI3K και η επακόλουθη μείωση της IL-2 επάγει περαιτέρω την ανεργία των T-κυττάρων CD8+ και CD4+ (Zhu & Lang, 2017).

Ο PD-1 παίζει δύο αντίθετους ρόλους, καθώς μπορεί να είναι ευεργετικός και επιβλαβής. Όσον αφορά τις ευεργετικές του επιδράσεις, παίζει βασικό ρόλο στη

μείωση της ρύθμισης των αναποτελεσματικών ή επιβλαβών ανοσολογικών αποκρίσεων και στη διατήρηση της ανοσολογικής ανοχής. Ωστόσο, ο PD-1 προκαλεί τη διαστολή των κακοήθων κυττάρων παρεμβαίνοντας στην προστατευτική ανοσοαπόκριση (Han et al., 2020).

### **PD-L1**

Ο PD-L1 όπως έχει αναφερθεί εκφράζεται συνήθως σε μακροφάγα, μερικά ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα και Β κύτταρα, σε δενδριτικά κύτταρα και σε μερικά επιθηλιακά κύτταρα, ιδιαίτερα υπό φλεγμονώδεις συνθήκες (Han et al., 2020). Ο PD-1, κατά την αλληλεπίδραση με τον PD-L1, εξουδετερώνει τον καταρράκτη σηματοδότησης της σύνδεσης του υποδοχέα Τ κυττάρων (TCR) και της συνδιέγερσης CD28. Όταν ο PD-L1 αλληλεπιδρά με τον PD-1, τα ανασταλτικά μοτίβα με βάση την τυροσίνη του ανοσοϋποδοχέα και τα μοτίβα μεταγωγής με βάση την τυροσίνη ανοσοϋποδοχέα στην ενδοκυτταρική περιοχή του PD-1 φωσφορυλιώνονται (Johnson & Dong, 2017).

### Η έκφραση του PD-L1 μπορεί να είναι **συστατική ή επαγόμενη**.

- Συστατική, δηλαδή, χαμηλού επιπέδου έκφραση PD-L1 μπορεί να βρεθεί, σε λεμφοκύτταρα ηρεμίας, αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) και σε κύτταρα κερατοειδούς, συγκυτιοτροφοβλαστικά κύτταρα και κύτταρα νησιδίων Langerhans όπου συμβάλλει στην ομοίωση των ιστών στις προφλεγμονώδεις αποκρίσεις.
- Στο πλαίσιο της φλεγμονής και/ή της λοίμωξης, ο PD-L1 επάγεται ως κατασταλτικό σήμα σε αιμοποιητικά, ενδοθηλιακά και επιθηλιακά κύτταρα. Η έκφραση του PD-L1 επηρεάζεται κυρίως από υποδοχείς τύπου toll (TLRs), έναν υπότυπο μη καταλυτικών υποδοχέων, που εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στα APC και ενεργοποιείται από μοριακά σχετιζόμενα με παθογόνο μοτίβα. Η ρύθμιση του PD-L1 με τη μεσολάβηση TLR βασίζεται στην ενεργοποίηση των κινασών MEK/ERK, οι οποίες ενισχύουν τη μεταγραφή του αγγελιοφόρου RNA PD-L1 (mRNA) μέσω του πυρηνικού παράγοντα kappa B. Οι υποδοχείς ιντερφερόνης-γ (IFN-γ) 1 και 2 είναι επίσης εμπλεκόμενοι στη ρύθμιση της έκφρασης του PD-L1, σε μεγάλο βαθμό μέσω της μεσολαβούμενης από Jak/STAT ενεργοποίησης της IRF-1. Η μεσολαβούμενη από ιντερφερόνη ενεργοποίηση του Jak/STAT μπορεί και αυτή με τη σειρά της να ρυθμίσει θετικά την έκφραση του PD-L1 μέσω της οδού MEK/ERK και της οδού κίνησης φωσφατιδυλ-ινοσιτόλης 3 (PI3K)/AKT (Kythreotou et al., 2018).

### Ο ρόλος του PD-L1 στην έκφραση του σε δενδριτικά κύτταρα

Τα **δενδριτικά κύτταρα** εκφράζουν το PD-L1 στην κυτταρική επιφάνειά τους κατά την ενεργοποίηση από διάφορους υποδοχείς τύπου toll. Προκειμένου να



δημιουργηθεί μια αποτελεσματική απόκριση αντικαρκινικών CD8 T κυττάρων, τα σήματα παρέχονται από τα δενδριτικά κύτταρα κατά τη φάση εκκίνησης του πολλαπλασιασμού των T κυττάρων καθώς και στη διαφοροποίησή τους σε τελεστικά CD8 T κύτταρα και σε CD8 T κύτταρα μνήμης. Έχει αποδειχθεί ότι τα CD8 T κύτταρα εμφανίζουν αυξημένο πολλαπλασιασμό όταν εκκινούνται απουσία σηματοδότησης PD-L1, υποδεικνύοντας ότι η σηματοδότηση PD-L1 χρησιμεύει στον περιορισμό της πολλαπλασιαστικής ικανότητας των CD8 T κυττάρων κατά την ενεργοποίησή τους. Σε μία πειραματική δοκιμή εκκίνησης *in vivo*, βρέθηκε ότι ο αριθμός των αντιγονοειδικών CD8 T κυττάρων αυξήθηκε σημαντικά σε ζώα που ανοσοποιήθηκαν με ενεργοποιημένα δενδριτικά κύτταρα που δεν είχαν εκφράσει PD-L1 στην επιφάνειά τους σε σύγκριση με ενεργοποιημένα δενδριτικά κύτταρα με έκφραση του PD-L1 (Johnson & Dong, 2017).

#### Ο ρόλος του PD-L1 στην έκφραση του σε τελεστικά CD8 T κύτταρα

Τα CD8 T κύτταρα ρυθμίζουν θετικά την έκφραση του PD-L1 κατά τη διέγερση τους με αντιγόνο. Ο PD-L1 που εκφράζεται από τα τελεστικά CD8 T κύτταρα απαιτείται για την επιβίωσή τους κατά τη φάση συστολής μιας ανοσολογικής απόκρισης. Τα κύτταρα CD8 T με ανεπάρκεια PD-L1 εμφανίζουν αυξημένη συστολή και αυξημένη ευαισθησία στη θανάτωση από άλλα CD8+ T κύτταρα. Κατά την *in vitro* διέγερση με αντιγόνο, τα CD8 T κύτταρα με έλλειψη του PD-L1 εξέφρασαν χαμηλότερα επίπεδα Bcl-xL, ενός αντιαποπτωτικού μορίου. Οι Saha και η ομάδα του, απέδειξαν ότι τα CD8 T κύτταρα αλλογενούς δότη με ανεπάρκεια PD-L1 είχαν μειωμένη παραγωγή κυτοκίνης και μειωμένη μεταβολική δραστηριότητα σε αυτές συμπεριλαμβάνεται η μειωμένη γλυκολυτική ικανότητα, η μειωμένη οξειδωτική φωσφορυλίωση και η μειωμένη οξείδωση λιπαρών οξέων σε σύγκριση με τα CD8 T κύτταρα άγριου τύπου αλλογενούς δότη (Johnson & Dong, 2017).

#### 4.5.3 Ο ρόλος των PD-1/PD-L1 στα καρκινικά κύτταρα και τα μονοπάτια ογκογονικής σηματοδότησης

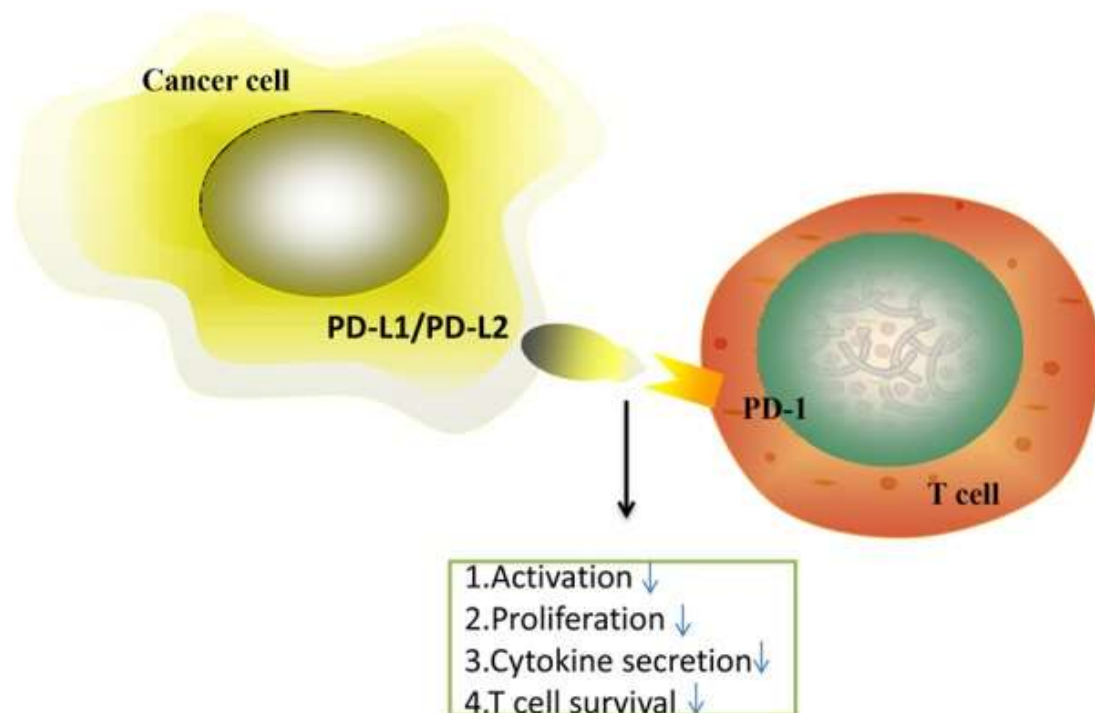
Η σηματοδότηση με τη μεσολάβηση του PD-L1 μελετήθηκε για πρώτη φορά σε καρκινικά κύτταρα. Ο PD-L1 θεωρείται μια ανοσολογική ασπίδα που μεταδίδει αντι-αποπτωτικά σήματα σε καρκινικά κύτταρα μετά την σύνδεση του με τον συνδέτη του, PD-1, που εκφράζεται σε T κύτταρα. Έτσι επάγεται αντίσταση κατά της θανάτωσης, που προκαλείται από τα T κύτταρα (φυσιολογικά), προστατεύοντας τα καρκινικά κύτταρα (Patsoukis et al., 2020).

Μια μεγάλη ποικιλία συμπαγών όγκων, συμπεριλαμβανομένου του ουροθηλιακού, των ωοθηκών, του μαστού, του τραχήλου της μήτρας, του παχέος εντέρου, του παγκρέατος, του στομάχου, του μελανώματος, του γλοιοβλαστώματος, του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα και των αιματολογικών κακοηθειών έχουν

βρεθεί ότι εκφράζουν τον PD-L1 στην επιφάνεια των καρκινικών τους κυττάρων και σε μικρότερου βαθμού τον PD-L2, που συσχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση.

Η έκφραση του μορίου PD-L1 σε καρκινικά κύτταρα μπορεί να μεσολαβείται από εγγενείς κυτταρικούς μηχανισμούς που ενεργοποιούνται από ογκογόνες μεταλλάξεις. Η έκφραση PD-L1 στα κακοήθη κύτταρα και στα κύτταρα του ανοσοποιητικού που διεισδύουν μέσα στον όγκο μπορεί επίσης να προκληθεί από τοπική φλεγμονή, δηλαδή, όταν η IFN- $\gamma$  τύπου I/II απελευθερώνεται από ενεργοποιημένα T κύτταρα, μια κατάσταση που ονομάζεται «προσαρμοστική ανοσοαντίσταση».

Όταν το μονοπάτι PD-1/PD-L1 είναι ενεργό στο μικροπεριβάλλον του όγκου, προάγει την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων μέσω αντιαποπτωτικών σημάτων που μεσολαβούνται μέσω του PD-L1 και αναστέλλει την ενεργοποίηση των οδών σηματοδότησης, που είναι κρίσιμα για την επιβίωση, την επέκταση και διαφοροποίηση των T κυττάρων που αναγνωρίζουν τα αντιγόνα του όγκου. Η μη ισορροπημένη ενεργοποίηση των γεγονότων σηματοδότησης στα T κύτταρα έχει ως αποτέλεσμα την ανοχή του όγκου αναστέλλοντας τη δημιουργία των T τελεστικών λεμφοκυττάρων και των T λεμφοκυττάρων μνήμης και προάγοντας τη διαφοροποίηση των κυττάρων T<sub>EX</sub> και T<sub>Reg</sub>(Bardhan et al., 2016).

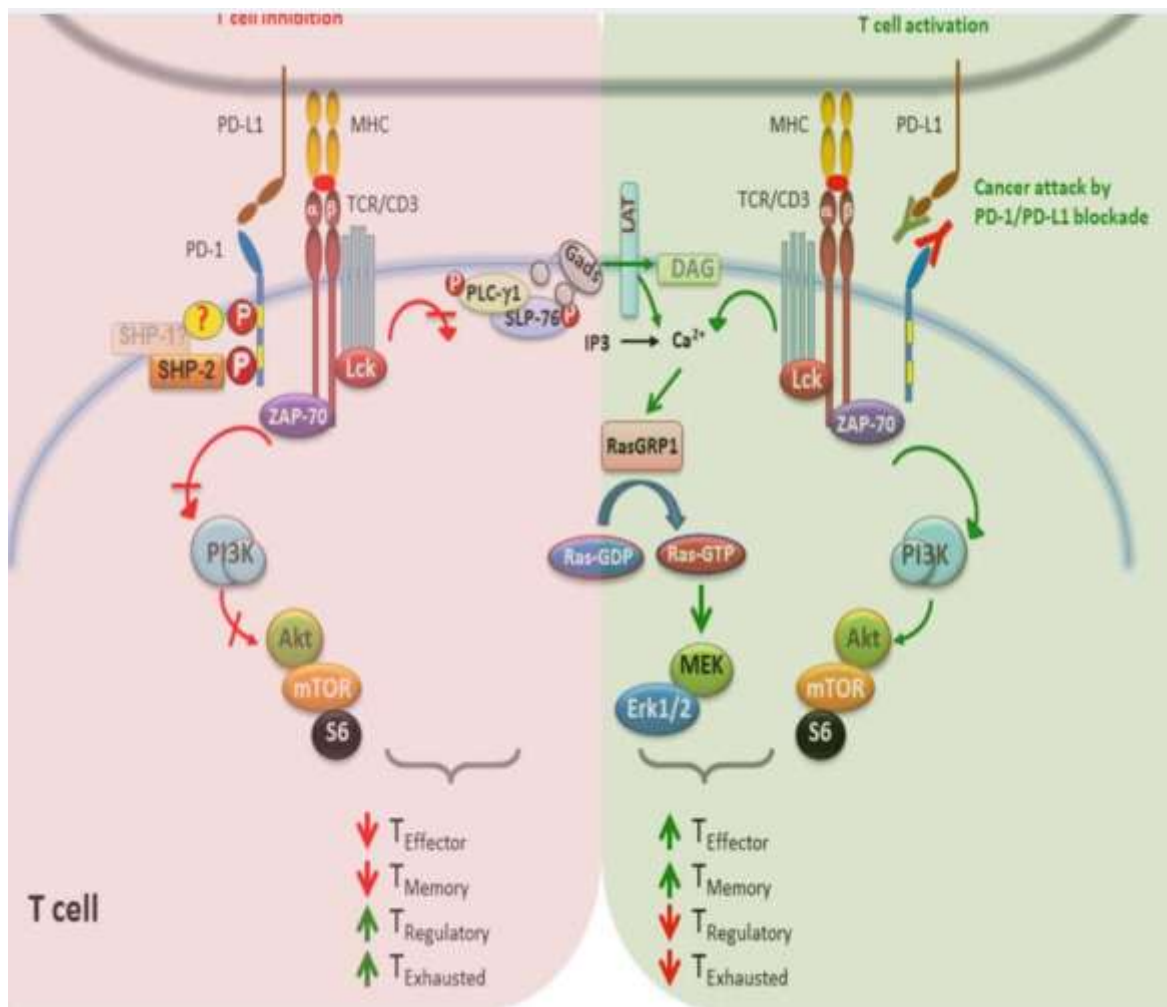


**Εικόνα 24.** Ο άξονας PD-1/PD-L1 αναστέλλει την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση και την κυτταροτοξική έκκριση μέσα στα καρκινικά κύτταρα[Han et al., 2020].

Ο αποκλεισμός της οδού PD-1/PD-L1 από αντισώματα αντι-PD-1 ή αντι-PD-L1 καταστέλλει την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων, αναστρέφει τις επιδράσεις του PD-1 στη σηματοδότηση των T κυττάρων και προάγει την ανάπτυξη των T τελεστικών κυττάρων και T κυττάρων μνήμης ενώ αποτρέπει τη διαφοροποίηση των κυττάρων  $T_{EX}$  και  $T_{Reg}$ . Μαζί, αυτοί οι κυτταρικοί μηχανισμοί σηματοδότησης και λειτουργίας ισχυροποιούν τις αντικαρκινικές αποκρίσεις των T κυττάρων, οδηγώντας σε υποχώρηση και απόρριψη του όγκου. **(Εικόνα 25.)** (Bardhan et al., 2016).

Ως εκ τούτου, η ύπαρξη T κυττάρων των οποίων η λειτουργία διακυβεύεται από συγκεκριμένα σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού είναι η κύρια προϋπόθεση για την πρόκληση ανοσοαπόκρισης. Η έκφραση γονιδίου τύπου TH1 και η δημιουργία κλώνων TCR αποτελεί προϋπόθεση στη διήθηση των T λεμφοκυττάρων στον όγκο και διαμορφώνει την κλινική απόκριση στη θεραπεία με αντι-PD-1/PD-L1. Η έκφραση του PD-L1 στον όγκο γίνεται πιο ουσιαστική όταν παράλληλα υπάρχει ενεργή απόκριση των T κυττάρων, στην απόκριση της ανοσοθεραπείας (Ai et al., 2020).

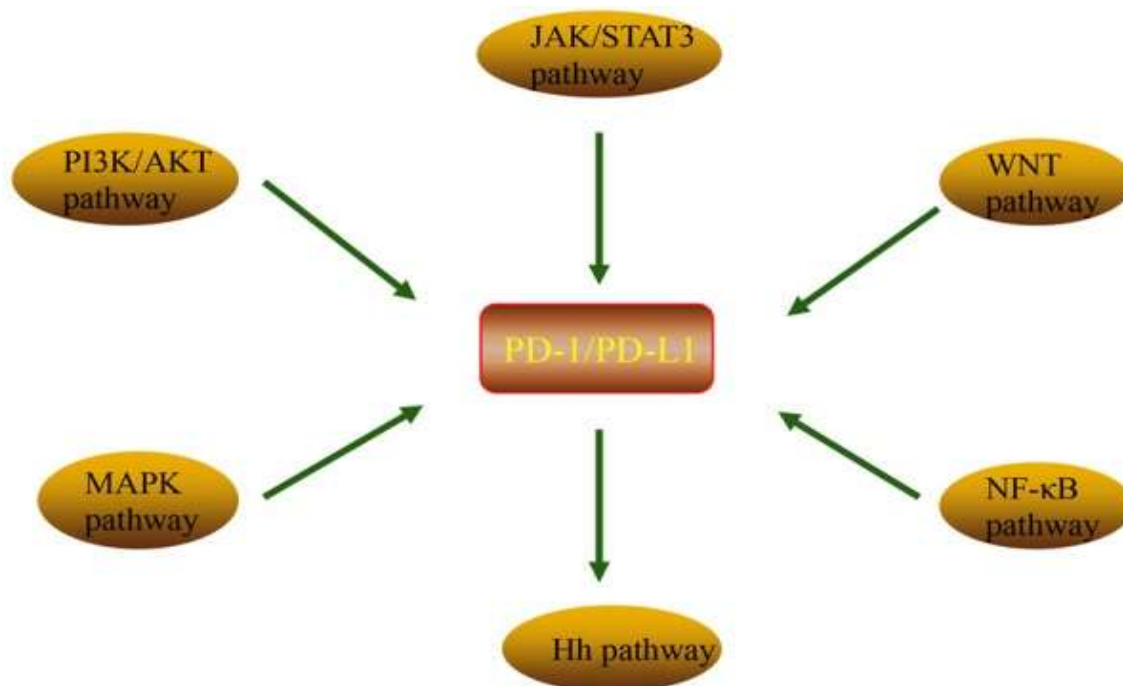
Στην Εικόνα 25 (Αριστερά) εμφανίζεται η οδός PD-1/PD-L1 να είναι ενεργή, προάγει την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων μέσω αντιαποπτωτικών σημάτων που διαμεσολαβούνται μέσω του PD-L1 και αναστέλλει τις οδούς σηματοδότησης που οδηγούν στην ενεργοποίηση και επέκταση των T κυττάρων που αναγνωρίζουν τα αντιγόνα του όγκου. Μαζί, αυτά τα συμβάντα οδηγούν σε εξασθενημένη ενεργοποίηση T τελεστικών και T κυττάρων μνήμης και διαφοροποίηση προτιμήσεων των κυττάρων  $T_{EX}$  και  $T_{Reg}$ , τα οποία προάγουν την ανοχή του όγκου. (Δεξιά) Ο αποκλεισμός της οδού του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου PD-1/PD-L1 από ειδικά αντισώματα αντι-PD-1 ή αντι-PD-L1 καταστέλλει την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων και ενισχύει τις αντικαρκινικές αποκρίσεις των T κυττάρων, οδηγώντας σε υποχώρηση και απόρριψη του όγκου. Σε αντίθεση με την εξασθενημένη σηματοδότηση TCR που προκαλείται από εμπλοκή PD-1, ο αποκλεισμός PD-1/PD-L1 προκαλεί ενεργοποίηση των T κυττάρων αυξάνοντας τις οδούς PI3K/Akt ή Ras/MAPK, προάγοντας τη διαφοροποίηση των T τελεστικών και T κυττάρων μνήμης και την καταστολή του  $T_{EX}$  και  $T_{reg}$  (Bardhan et al., 2016).



**Εικόνα 25.** Ο αποκλεισμός PD-1/PD-L1 ενισχύει την απόρριψη του όγκου ενεργοποιώντας τα T κύτταρα [ Bardhan et al., 2016].

## Μονοπάτια ογκογονικής σηματοδότησης

Ο άξονας PD-1/PD-L1 μπορεί να διαμορφωθεί από διάφορα σήματα στα καρκινικά κύτταρα (**Εικόνα 26.**), τα οποία ασκούν κρίσιμο ρόλο στην ογκογένεση. Το μονοπάτι PI3K/AKT, το μονοπάτι MAPK, το μονοπάτι JAK/STAT, το μονοπάτι WNT, το μονοπάτι NF-κB και το μονοπάτι Hedgehog (Hh) προάγουν την έκφραση του άξονα PD-1/PD-L1 στα καρκινικά κύτταρα (Han et al., 2020).



**Εικόνα 26.** Διάφορα μονοπάτια ρύθμιση της έκφρασης PD-1/PD-L1. Το μονοπάτι PI3K/AKT, το μονοπάτι MAPK, το μονοπάτι JAK/STAT, το μονοπάτι WNT, το μονοπάτι NF-κB και το μονοπάτι Hedgehog (Hh) προάγουν την έκφραση του άξονα PD-1/PD-L1. [ Han et al., 2020]

### Σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT

Η οδός φωσφοϊνοσιτιδικής 3-κινάσης (phosphoinositide 3-kinase - **PI3K**)/πρωτεϊνικής κινάσης B (**AKT**) σχετίζεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και μπορεί να ρυθμίσει μια ποικιλία κυτταρικού πολλαπλασιασμού και διαδικασιών που σχετίζονται με την απόπτωση. Αυξημένος στόχος δράσης της ραπαμυκίνης (mammalian Target Of Rapamycin - **mTOR**) στα θηλαστικά έχει επίσης αναφερθεί σε ανθρώπινους καρκίνους. Επιπλέον, η οδός mTOR εμπλέκεται στη ρύθμιση του εγγενούς και προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος. Προηγούμενα δεδομένα έχουν αναφέρει ότι η ενεργοποίηση του PI3K/AKT ενισχύει τη διατροφική πρόσληψη και την παραγωγή ενέργειας των CD8-T κυττάρων και το mTOR είναι

υπεύθυνο για τη ρύθμιση των βιολογικών επιδράσεων της διέγερσης των κυττάρων του ανοσοποιητικού. Η ενεργοποίηση του PI3K/AKT μπορεί να προάγει την έκφραση του PD-L1 μέσω αυξημένης εξωτερικής σηματοδότησης ή μειωμένης έκφρασης αρνητικών ρυθμιστών, όπως η φωσφατάση και το ομόλογο τενσίνης (PTEN). Η μείωση του PTEN μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση του PI3K/AKT και να διευκολύνει την έκφραση του PD-L1(Han et al., 2020).

Ομοίως, οι Zhao και η ομάδα του απέδειξαν ότι ο αποκλεισμός PD-1/PD-L1 μπορεί να μειώσει την απόπτωση των CD8+ T κυττάρων μέσω της ρύθμισης της οδού PI3K/AKT/mTOR σε στρωματικούς όγκους του γαστρεντερικού συστήματος (Gastrointestinal Stromal Tumors - GIST), υποδεικνύοντας ότι το PD-1/PD-L1 παίζει σημαντικό ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα σε συνδυασμό με την οδό PI3K/AKT/mTOR. Έχει επίσης αναφερθεί ότι η μείωση του PD-L1 στα κύτταρα GIST μπορεί να μειώσει την έκφραση των PI3K, p-AKT και p-PI3K. Επιπλέον, οι Wei και οι συνεργάτες του απέδειξαν ότι η υπερέκφραση του PD-L1 ενεργοποίησε το PI3K/AKT στον πυρήνα στα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου(Han et al., 2020).

### **Σηματοδοτικό μονοπάτι MAPK**

Το μονοπάτι σηματοδότησης της ενεργοποιημένης μιτογόνου πρωτεϊνικής κινάσης (Mitogen-activated Protein Kinase – **MAPK**) είναι ένα σημαντικό σύστημα μεταγωγής σήματος. Αυτό σχετίζεται με τη μετατροπή των εξωκυτταρικών σημάτων σε ενδοκυτταρικές αποκρίσεις και μπορεί επίσης να ρυθμίσει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση, εισβολή, μετάσταση και θάνατο μέσω ενεργοποίησης της φωσφορυλίωσης(Han et al., 2020). Το μονοπάτι αυτό συχνά ενεργοποιείται τυχαία σε πολλούς τύπους καρκίνου μέσω ογκογονικών μεταλλάξεων που δημιουργούνται, όπως είναι η ενεργοποίηση του από τη μετάλλαξη του BRAF σε κύτταρα μελανώματος(Sumimoto et al., 2006).

Η αμινοτελική κινάση c-Jun (c-Jun), η p38MAPK και η ERK είναι τρεις παράλληλες οδοί που εμπλέκονται στην οδό MAPK. Η πρόσφατη έρευνα έχει σταδιακά επικεντρωθεί στη συσχέτιση μεταξύ του άξονα PD-1/PD-L1 και της οδού MAPK. Σε επιπλέον έρευνα αποδείχθηκε ότι η αναστολή της οδού MAPK εμπόδισε τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα, το επαγόμενο από IFN-γ mRNA CD274, την πρωτεΐνη PD-L1 και την ανοδική ρύθμιση της μεμβράνης σε κύτταρα αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα. Επιπρόσθετα, έχει αναφερθεί ότι το αντίσωμα PD-L1 συνδέεται με τα σηματοδοτικά μόρια MAPK στα κύτταρα του λεμφώματος Hodgkin (HL). Βρήκαν επίσης ότι τα p-P38 και p-ERK μειώθηκαν σε όλες τις γραμμές HL μετά τη χρήση ενός αντισώματος αντι-PD-L1. Ομοίως, η αναστολή του MEK1/2, ενός σημαντικού παράγοντα της οδού MAPK, μπορεί να αποτρέψει σημαντικά την έκφραση PD-L1 στο νεφρικό καρκίνωμα(Han et al., 2020).

### Σηματοδοτικό μονοπάτι JAK-STAT

Η ενεργοποίηση σηματοδότησης **JAK** της οδού **STAT** είναι μια εξελικτικά συντηρημένη οδός σηματοδότησης που χρησιμοποιείται από μια ποικιλία κυτοκινών, IFNs, αυξητικών παραγόντων και συναφών μορίων. Αυτή η προσέγγιση παρέχει έναν κρίσιμο μηχανισμό για εξωκυτταρικούς παράγοντες για τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης. Ως εκ τούτου, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βασικό παράδειγμα του τρόπου με τον οποίο τα κύτταρα ανταποκρίνονται στις περιβαλλοντικές συνθήκες και ερμηνεύουν αυτά τα σήματα για να ρυθμίσουν την κυτταρική τους ανάπτυξη και διαφοροποίηση. Πρόσφατα, η οδός JAK/STAT αναφέρθηκε ότι επάγει την έκφραση PD-L1 σε καρκίνους.

Ερευνητικές μελέτες ανέφεραν ότι ο AG490, ένας αναστολέας της JAK2, κατέστειλε την ανοδική ρύθμιση του PD-L1 τόσο στο mRNA όσο και στα επίπεδα πρωτεΐνης. Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν ότι η οδός JAK/STAT ρυθμίζει την έκφραση του PD-L1. Επιπλέον, η σηματοδότηση του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών (FGFR)2 ενεργοποίησε αποτελεσματικά το μονοπάτι σηματοδότησης JAK/STAT3, το οποίο συνοδεύτηκε από αυξημένη έκφραση PD-L1 *in vitro*. Σε μοντέλα ξеноμοσχευμάτων στον καρκίνου του παχέος εντέρου, η υπερέκφραση του FGFR2 προώθησε την έκφραση PD-L1 και αύξησε το μέγεθος των όγκων. Αυτή η επίδραση μπορεί να αποκλειστεί μέσω της αρνητικής ρύθμισης της οδού JAK/STAT3 από αναστολείς JAK (Han et al., 2020).

### Σηματοδοτικό μονοπάτι WNT

Ο εξελικτικά διατηρημένος καταρράκτης σηματοδότησης **Wnt** παίζει θεμελιώδεις ρόλους κατά την ανάπτυξη και την ομοιοστάση σχεδόν σε κάθε σύστημα ιστού και οργάνου. Η οριοθέτηση του μονοπατιού Wnt παρέχει μια εικόνα για τις βασικές μοριακές διεργασίες και τα αλληλοεπιδρώντα συστατικά που βρίσκονται κάτω από αυτό το διατηρημένο μονοπάτι. Η αυστηρά συντονισμένη ρύθμιση του μονοπατιού Wnt διασφαλίζει την κανονική εμβρυϊκή ανάπτυξη και τη συντήρηση του ενήλικα ιστού και η δυσλειτουργία αυτής της οδού σηματοδότησης μπορεί να προκαλέσει πληθώρα παθολογιών από γενετικές ελλείψεις στον άνθρωπο. Όπως, νευροεκφυλισμό, σκελετικές ατέλειες μέχρι και διάφορους τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένων κακοηθειών του γαστρεντερικού, του μαστού και του επιθηλίου (Harb et al., 2019).

Η απορυθμισμένη σηματοδότηση WNT έχει αποδειχθεί ότι διευκολύνει τον κακοήγη μετασχηματισμό, την εξέλιξη του όγκου και την αντίσταση στη συμβατική θεραπεία του καρκίνου. Ένας μεγάλος όγκος στοιχείων δείχνει ότι τα μη φυσιολογικά σήματα WNT μπορούν επίσης να διαταράξουν την ανοσοπαρακολούθηση του καρκίνου, προάγοντας έτσι την ανοσολογική διαφυγή και την αντίσταση σε μια ποικιλία ανοσοθεραπειών, συμπεριλαμβανομένων των αναστολέων ανοσολογικών σημείων ελέγχου. Για παράδειγμα, η χρήση εκλεκτικών αναστολέων ή ενεργοποιητών WNT για τη μείωση ή την αύξηση της έκφρασης PD-

L1, αντίστοιχα, για τη θεραπεία του τριπλού αρνητικού καρκίνου του μαστού (TNBC), βασίζεται στη λειτουργική διασταύρωση μεταξύ της δραστηριότητας WNT και της έκφρασης PD-L1(Han et al., 2020).

### **Σηματοδοτικό μονοπάτι NF-κΒ**

Πρόσφατα αποδείχθηκε πως η έκφραση του γονιδίου PD-L1 έχει πιθανότητα να προκληθεί από τον υποδοχέα τύπου Toll (TLR) ή από πυρηνικό παράγοντα (NF)-κΒ που καθοδηγείται από την IFN-γ. Μέσα από έρευνες παρατηρήθηκε ότι ο αναστολέας NF-κΒ κουρκουμίνη, σε συνδυασμό με θεραπεία αναστολής σημείων ελέγχου anti-CTLA-4, μείωσε την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού, του καρκινώματος του παχέος εντέρου και των κυτταρικών σειρών μελανώματος, υποδηλώνοντας ότι η αναστολή του NF-κΒ πιθανότατα να παίζει διπλό ρόλο:

- a) στόχευση του πολλαπλασιασμού και της επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων, καθώς και
- b) στόχευση των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος

Ο NF-κΒ πιθανόν να εμπλέκεται στην επαγόμενη από LMP1 έκφραση PD-L1, καθώς ο φαιναιθυλεστερας του καφεϊκού οξέος αναστολέας του NF-κΒ μείωσε την επαγωγή PD-L1. Ο NF-κΒ είναι επίσης ένας βασικός μεσολαβητής της επαγόμενης από INF-γ έκφρασης PD-L1. Ο αναστολέας NF-κΒ, αλλά όχι οι αναστολείς MAPK, PI3K ή STAT3, κατάργησε την επαγόμενη από IFN έκφραση του PD-L1(Han et al., 2020).

### **Σηματοδοτικό μονοπάτι Hedgehog**

Το μονοπάτι σηματοδότησης **Hedgehog (Hh)**, είναι γνωστό επί του παρόντος ότι, αποτελεί κρίσιμο σημείο για τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του υποστρώματος και οι μεταλλάξεις σε αυτό το μονοπάτι μπορεί να οδηγήσουν σε σχηματισμό όγκου. Ως αποτέλεσμα, μικροί μοριακοί αναστολείς που μεταβάλλουν τη σύνθεση αυτής της οδού, συμπεριλαμβανομένων των SMO και GLI, έχουν βρεθεί στο επίκεντρο των πρόσφατων θεραπευτικών εξελίξεων. Η σηματοδότηση Hh μπορεί να ρυθμίσει την έκφραση του PD-L1 και η αναστολή της σηματοδότησης Hh μπορεί να προκαλέσει λεμφοκυτταρική αντικαρκινική δραστηριότητα. Σε μελέτη αναφέρθηκε ότι τα σήματα Hh βοηθούν στην πρόκληση έκφρασης PD-L1 στον καρκίνο του στομάχου, η αναστολή PD-1/PD-L1 αντιστρέφει την επαγόμενη από το Gli2 ανοχή και συνιστάται η συνδυασμένη φαρμακευτική αναστολή της σηματοδότησης Hh και των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος, ως κατάλληλη θεραπευτική αντιμετώπιση για επιλεγμένους ασθενείς(Han et al., 2020).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Ο ρόλος του PD-1/PD-L1 στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα

### 5.1 Φαρμακευτική παρεμπόδιση του μονοπατιού PD-1/PD-L1

#### Anti-CTLA-4

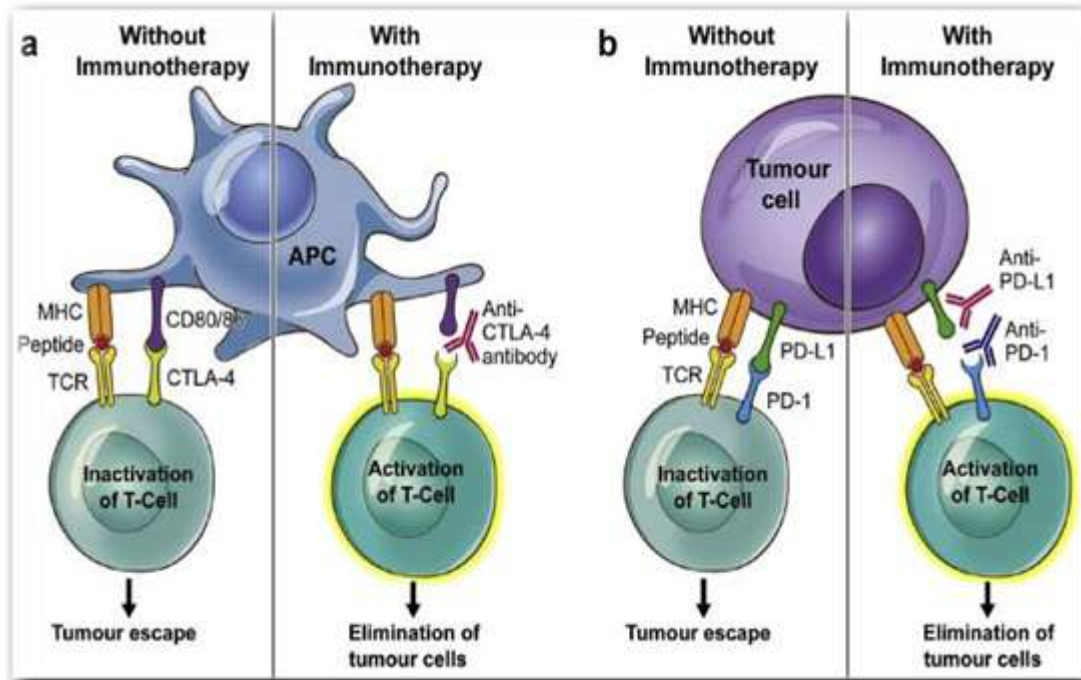
Ο χειρισμός των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού, όπως ο αποκλεισμός των συνδετών, των υποδοχέων ή και των δύο, μέσω των **μονοκλωνικών αντισωμάτων** (Monoclonal antibodies - **mAbs**) αποτελεί μία από τις πιο επιτυχημένες αντικαρκινικές θεραπείες μέχρι σήμερα. Πρώιμα πειραματικά μοντέλα σε ποντίκια έδειξαν ότι η χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων **αντι-CTLA-4 (ipilimumab)** όχι μόνο προκάλεσε ενεργοποίηση των T-κυττάρων, αλλά οδήγησε επίσης σε υποχώρηση του όγκου σε συγκεκριμένους τύπους καρκινώματος. Η κλινική επιτυχία του ipilimumab στο μελάνωμα ενθάρρυνε την ανάπτυξη νέων αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου. Το **Tremelimumab**, ένα αντι-CTLA-4 αντίσωμα, αναπτύχθηκε μετά το ipilimumab και δοκιμάστηκε σε κλινικές δοκιμές, αλλά απέτυχε να λάβει την έγκριση του Οργανισμού Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ως μονοθεραπεία, τοποθετώντας το ipilimumab ως το μόνο αντίσωμα κατά του CTLA-4 που αποδείχθηκε θεραπευτικό για το μελάνωμα. Αν και το ipilimumab έχει βελτιώσει τα ποσοστά επιβίωσης για το μελάνωμα, η κλινική εφαρμογή του σε άλλες κακοήθειες έχει περιοριστεί (Lewis et al., 2020).

#### Anti-PD-1/ anti-PD-L1

Δεδομένων των περιορισμών του, οι ερευνητές έχουν ανακατευθύνει το ενδιαφέρον τους σε άλλες ανασταλτικές επιφανειακές πρωτεΐνες. Τα αντισώματα που στοχεύουν το μονοπάτι PD-1/PD-L1 αντιπροσωπεύουν τη δεύτερη γενιά αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου. Η ανάπτυξη των **αναστολέων PD-1, Pembrolizumab** και **Nivolumab**, έχει επεκτείνει την επιβίωση για ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με ένα ευρύ φάσμα κακοηθειών, που κυμαίνονται από το NSCLC έως τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Αντίθετα, το φάσμα των κακοηθειών που ανταποκρίνονται στους **αναστολείς PD-L1, Atezolizumab** και **Durvalumab** είναι μικρό και η θεραπεία έχει περιοριστεί στο ουροθηλιακό καρκίνωμα, το NSCLC και το μεταστατικό καρκίνωμα των κυττάρων Merkel. (**Πίνακας 4.**) (Lewis et al., 2020).

Οι αναστολείς των μορίων PD-1 και PD-L1 διαταράσσουν τον άξονα PD-1 αναστρέφοντας έτσι την καταστολή των T κυττάρων και ενισχύουν την ενδογενή αντικαρκινική ανοσία για να απελευθερώσουν μακροχρόνιες αντισεπλασματικές αποκρίσεις σε ασθενείς με ευρύ φάσμα καρκίνων (Akinleye & Rasool, 2019).

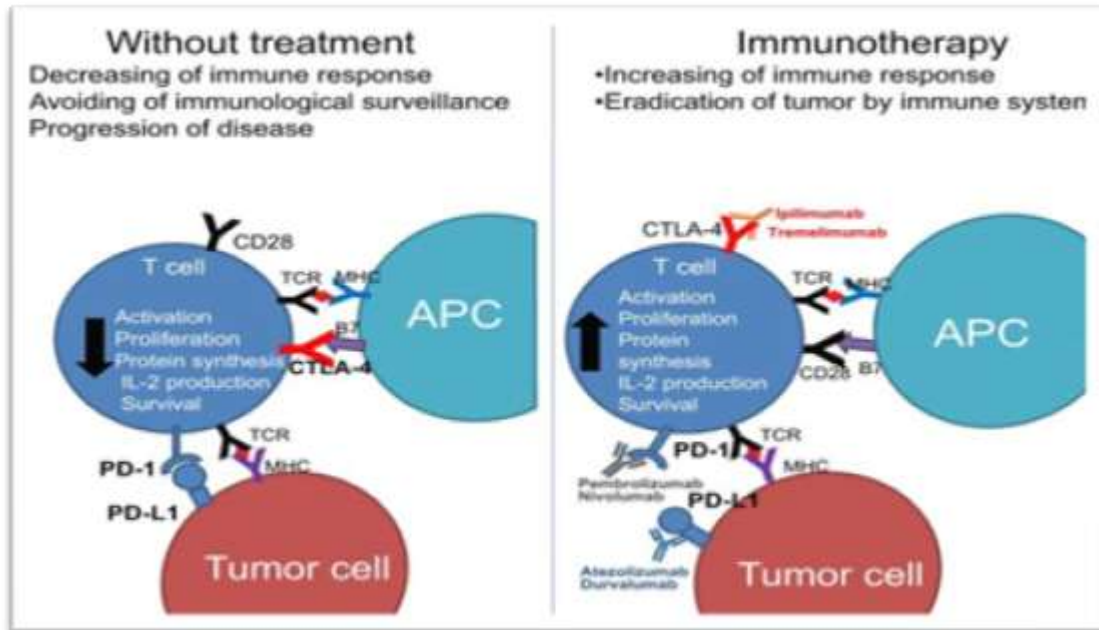
Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι ο αποκλεισμός του PD-1 μόνο ή του PD-L1 οδηγεί σε αύξηση των Τ-λεμφοκυττάρων και της IFN- $\gamma$  στη θέση του όγκου. Η αύξηση της αναλογίας τελεστικών προς κατασταλτικά κύτταρα συνήθως υποστηρίζει ένα αντικαρκινικό μικροπεριβάλλον. Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η εξουδετέρωση των PD-1, PD-L1 ή PD-L2 μπορεί να είναι αποτελεσματική στον έλεγχο της ανάπτυξης του όγκου αλλάζοντας τη δυναμική του μικροπεριβάλλοντος του όγκου(Ohaegbulam et al., 2015).



**Εικόνα 27.** Αλληλεπιδράσεις συνδέτη-υποδοχέα μεταξύ καρκινικών κυττάρων και ενεργοποιημένων Τ κυττάρων και στόχοι για θεραπεία μέσω των αντι-PD-1 και αντι-CTLA-4. (α) Η αλληλεπίδραση του υποδοχέα CTLA-4 στα Τ κύτταρα με τον συνδέτη του CD-80 (ομόλογο Β-7), σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα προάγει τη διαφυγή του όγκου. Η δέσμευση ενός αντισώματος αντι-CTLA-4 προάγει την ενεργοποίηση των Τ-κυττάρων και την εξάλειψη των καρκινικών κυττάρων. (β) Η αλληλεπίδραση του υποδοχέα PD-1 στα Τ κύτταρα με τον συνδέτη PD-L1 σε κύτταρα όγκου προάγει την ανεργία των Τ-κυττάρων και τη διαφυγή του όγκου. Παρουσία ενός αντισώματος αντι-PD-1 ή αντι-PD-L1, τα Τ κύτταρα ενεργοποιούνται και ξεκινούν την διαδικασία καταστροφής των καρκινικών κυττάρων(Lewis et al., 2020).

**Πίνακας 4.** Αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού και οι κλινικές τους ενδείξεις. Οι αναστολείς του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου ταξινομούνται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: μονοκλωνικά αντισώματα anti-CTLA-4, μονοκλωνικά αντισώματα anti-PD-1 και μονοκλωνικά αντισώματα anti-PD-L1. Κάθε αναστολέας του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου είναι εγκεκριμένος από τον FDA για συγκεκριμένες κλινικές ενδείξεις. Το Tremelimumab είναι ο μόνος αναστολέας του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου που απέτυχε να λάβει την έγκριση του FDA[Lewis et al., 2020].

<b>Anti-CTLA-4</b> monoclonal antibody (mAb)	<b>Ipilimumab</b> (Yervoy®)	Unresectable or metastatic melanoma
	<b>Tremelimumab</b>	No clinical indication
<b>Anti-PD-1</b> monoclonal antibody (mAb)	<b>Pembrolizumab</b> (Keytruda®)	Hodgkin's lymphoma
		Metastatic non-squamous NSCLC
		Locally advanced or metastatic urothelial carcinoma
	<b>Nivolumab</b> (Opdivo®)	Unresectable or metastatic melanoma
		Non-squamous and metastatic squamous NSCLC
		Advanced RCC
		Hodgkin's lymphoma
		Locally advanced or metastatic urothelial carcinoma
		Metastatic colorectal cancer
		HCC
Squamous cell cancer of head and neck		
<b>Anti-PD-L1</b> mAb	<b>Atezolizumab</b> (Tecentriq®)	Locally advanced or metastatic urothelial carcinoma Metastatic NSCLC
	<b>Avelumab</b> (Bevacio®)	Metastatic Merkel Cell carcinoma Locally advanced or metastatic urothelial carcinoma
	<b>Durvalumab</b> (Imfinzi®)	Unresectable stage III NSCLC Locally advanced or metastatic urothelial carcinoma
Anti-CTLA-4 mAb + Anti-PD-1 mAb	<b>Ipilimumab + Nivolumab</b> (Yervoy® + Opdivo®)	Unresectable or metastatic melanoma
		RCC
		Metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck
		Metastatic NSCLC



**Εικόνα 28.** Σχέση μεταξύ της κατάστασης του ανοσοποιητικού συστήματος και της ανταπόκρισης των αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου: αναστολείς CTLA-4 (ipilimumab και tremelimumab), αναστολείς PD-1 (pembrolizumab και nivolumab), αναστολείς PD-L1 (atezolizumab και durvalumab)(Denisenko et al., 2018).

#### Ανεπιθύμητες ενέργειες των ICIs

Αν και οι ICIs είναι γενικά καλά ανεκτοί από τον οργανισμό σε σύγκριση με τις παρενέργειες των χημειοθεραπειών, εμφανίζουν και αυτές μερικές τοξικότητες. Η πλειονότητα είναι ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό (immune related adverse events - **irAEs**) και προκύπτουν από την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος με μη ειδικό τρόπο και την πρόκληση αυτοάνοσης καταστροφής ή αλλοίωσης των ιστών, αν και οι μηχανισμοί διαφοροποιούνται ανάλογα με τα εμπλεκόμενα όργανα. Οι τοξικότητες που έχουν επίδραση στο ανοσοποιητικό κυμαίνονται από τον υποθυρεοειδισμό που έχει την μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης ή το δερματικό εξάνθημα έως πιο σοβαρές και σπάνιες εκδηλώσεις όπως είναι η πνευμονίτιδα, η κολίτιδα, η αυτοάνοση ηπατίτιδα και εγκεφαλίτιδα. Μια μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα πως το 7–13% των ασθενών με NSCLC που έλαβαν θεραπεία με αναστολείς του άξονα PD-1 παρουσίασαν τοξικότητες τρίτου βαθμού ή υψηλότερου. Η συχνότητα εμφάνισης υψηλού βαθμού παρενεργειών μεταξύ ασθενών για όλες τις μορφές καρκίνου, που έλαβαν θεραπεία με φαρμακευτικούς αναστολείς PD-1 και PD-L1 πιστεύεται ότι είναι μικρότερη από 20%. Σε κλινικές δοκιμές, έως και το 2% των καρκινοπαθών ασθενών που τους χορηγήθηκε θεραπεία με αυτούς τους φαρμακευτικούς ανασταλτικούς παράγοντες έχουν αποβιώσει από τοξικότητες που σχετίζονται με τη θεραπεία. Ευτυχώς, η πλειοψηφία των παρενεργειών μπορεί να αντιμετωπιστεί με επιτυχία μέσω κορτικοστεροειδών και άλλων συμπληρωματικών φαρμάκων(Doroshov et al., 2019; Havel et al., 2019).

## 5.2 Εφαρμογή μονοκλωνικών αντισωμάτων στη θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα

### 5.2.1 Μονοκλωνικά αντισώματα anti-PD1

Πολλά αντισώματα αντι-PD-1 έχουν παραχθεί μέχρι σήμερα. Το nivolumab (Opdivo), το pembrolizumab (Keytruda) εγκρίθηκαν από τον FDA τον Μάρτιο του 2015 και τον Οκτώβριο του 2015, αντίστοιχα για τη θεραπευτική αντιμετώπιση του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα. Τα Pidilizumab, AMP-224, AMP-514 και PDR001 βρίσκονται ακόμη σε πειραματική φάση ανάπτυξης(Jiang et al., 2019; U.S Food and Drug Administration, n.d.).

#### **Nivolumab**

Το nivolumab αποτελεί ένα πλήρως ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα IgG4, που συνδέεται ειδικά με το PD-1 με υψηλή συγγένεια και εξειδίκευση και ήταν ο πρώτος παράγοντας αποκλεισμού του PD-1 που έδειξε κλινική δραστηριότητα σε διαφορετικούς τύπους καρκίνων(Bardhan et al., 2016; Han et al., 2020). Το nivolumab μελετήθηκε για πρώτη φορά κλινικά σε μια δοκιμή φάσης I σε ασθενείς με προχωρημένους συμπαγείς όγκους(Ohaegbulam et al., 2015).

Το nivolumab αξιολογήθηκε στη δοκιμή κλιμάκωσης δόσης Φάσης I Checkmate 003 (Πίνακας 5.) σε 129 ασθενείς με NSCLC που υποβλήθηκαν σε ισχυρή προθεραπεία. Χορηγήθηκε σε 1, 3 και 10 mg/kg ενδοφλέβια, κάθε 2 εβδομάδες για έως και 96 εβδομάδες. Η μέση συνολική επιβίωση (Overall-survival -OS) της κοόρτης των 3 mg/kg ήταν μεγαλύτερη από τη μέση επιβίωση των 1 και 10 mg/kg (14,9 έναντι 9,2 μηνών). Η μέση συνολική επιβίωση χωρίς εξέλιξη (progression free survival –PFS) ήταν 2,3 μήνες, η μέση διάρκεια ανταπόκρισης ήταν 17,0 μήνες και το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης (Overall response rate -ORR) ήταν 17%, παρόμοιο για το πλακώδες και το μη πλακώδες NSCLC. Δεκαοκτώ ασθενείς διέκοψαν τη μελέτη χωρίς εξέλιξη και το 50% από αυτούς συνέχισαν να ανταποκρίνονται 9 μήνες μετά την τελευταία δόση. Η δοσολογική χορήγηση των 3 mg/kg κάθε δύο εβδομάδες nivolumab προσδιορίστηκε ως η δόση που θα χρησιμοποιηθεί σε περαιτέρω δοκιμές.

Η Checkmate 063 (Πίνακας 5.), μια δοκιμή Φάσης II, αξιολόγησε τη δραστηριότητα του nivolumab σε 117 ασθενείς με προχωρημένο πλακώδες NSCLC που είχαν υποβληθεί σε προηγούμενη θεραπεία. Το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης ήταν το κύριο τελικό σημείο ως αποτέλεσμα αυτής της δοκιμής. Περίπου το 14,6% (17/117) των ασθενών έλαβε ανταπόκριση και το 26% (30/117) είχε σταθερή νόσο. Η ανταπόκριση επιτεύχθηκε σε διάμεσο χρόνο 3,3 μηνών και η πλειονότητα των απαντήσεων ήταν σε εξέλιξη τη στιγμή της αναφοράς. Μετά από αυτά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα, το nivolumab συγκρίθηκε με τη χημειοθεραπεία σε δύο τυχαιοποιημένες δοκιμές Φάσης III σε δεύτερη γραμμή σε προχωρημένο πλακώδες και μη πλακώδες NSCLC(D. L. Cortinovis et al., 2016).

Η Checkmate 017 (Πίνακας 5.), μια τυχαιοποιημένη ανοιχτή δοκιμή Φάσης III, χρησιμοποίησε nivolumab ή docetaxel σε προχωρημένο πλακώδες NSCLC μετά την εξέλιξη του με χημειοθεραπεία πρώτης γραμμής με βάση την πλατίνα (Han et al., 2020). Η μέση συνολική επιβίωση ήταν το κύριο τελικό αποτέλεσμα και ήταν σημαντικά μεγαλύτερο στο σκέλος του nivolumab σε σύγκριση με τη docetaxel (9,3 έναντι 6,0 μηνών). Το nivolumab μείωσε τον κίνδυνο θανάτου κατά 41%(D. L. Cortinovis et al., 2016).

Το nivolumab συγκρίθηκε επίσης με τη docetaxel στην Checkmate 057 (Πίνακας 5.), μια τυχαιοποιημένη δοκιμή Φάσης III σε μη πλακώδες προχωρημένο NSCLC μετά από διπλή χημειοθεραπεία με βασικό συστατικό την πλατίνα. Η μέση συνολική επιβίωση ήταν το κύριο καταληκτικό σημείο και όπως είχε προηγουμένως παρατηρηθεί στο πλακώδες καρκίνωμα, βελτιώθηκε για ασθενείς που έλαβαν nivolumab σε σύγκριση με αυτούς που έλαβαν docetaxel (12,2 έναντι 9,4 μηνών)(D. L. Cortinovis et al., 2016). Ένα βασικό πλεονέκτημα της ανοσοθεραπείας έναντι των περιορισμένων επιλογών χημειοθεραπείας που διατίθενται μετά τη χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα είναι η μεγαλύτερη διάρκεια του οφέλους της θεραπείας. Όπως αυτό φαίνεται από τα δεδομένα μακροπρόθεσμης επιβίωσης από πολλαπλές μελέτες, συμπεριλαμβανομένης της φάσης III στις κλινικές δοκιμές, Checkmate 017 και Checkmate 057 με χρήση του nivolumab έναντι της docetaxel σε ασθενείς με προηγμένο πλακώδες και μη πλακώδες NSCLC(Han et al., 2020).

Η κλινική δοκιμή Checkmate 012 (Πίνακας 5.), πρόκειται για μια μελέτη κοόρτης Φάσης I που αξιολόγησε την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της μονοθεραπείας με nivolumab σαν φάρμακο στην 1<sup>η</sup> γραμμή θεραπείας ή συνδυασμένη με διπλή χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα. Παρατηρήθηκε κλινική δραστηριότητα ανεξάρτητα από την έκφραση PD-L1 και το υψηλότερο συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης σχετιζόταν με μεγαλύτερη έκφραση PD-L1. Η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης, της επιβίωσης χωρίς εξέλιξη, της μέσης επιβίωσης και του PD-L1 δεν είναι σαφής. Το ιστορικό καπνίσματος φαίνεται να σχετίζεται με υψηλότερη δραστηριότητα του nivolumab(D. L. Cortinovis et al., 2016).

Ο μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (SCLC) σχετίζεται στενά με τη χρήση καπνού και ως εκ τούτου χαρακτηρίζεται από υψηλή μεταλλακτική επιβάρυνση. Η ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία δεύτερης γραμμής είναι περίπου 9-23% ανάλογα με την ευαισθησία στην πλατίνα. Η Checkmate 032 (Πίνακας 5.), είναι μία ανοιχτή δοκιμή Φάσης I/II με ασθενείς που νοσούν από περιορισμένο ή εκτεταμένο SCLC, έπειτα από χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα. Η έκφραση του PD-L1 στο SCLC ήταν χαμηλότερη σε σύγκριση με το NSCLC και δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του PD-L1 και της απόκρισης(D. L. Cortinovis et al., 2016).

**Πίνακας 5.** Σημαντικές κλινικές δοκιμές του nivolumab στον καρκίνο του πνεύμονα [Cortinovis et al., 2016].

Trial	No. patients	Phase	Histology	Setting	Treatment	Outcome	Safety	Notes
<b>CheckMate 003</b>	129	Phase I	Non-small cell lung cancer (NSCLC)	Pretreated	Nivolumab dose escalation	OS 3 mg/kg 14.9 months vs. mOS 1 and 10 mg/kg 9.2 months	3 treatment-related deaths (associated with pneumonitis)	
<b>CheckMate 063</b>	117	Phase II	Squamous NSCLC	Pretreated	Nivolumab 3 mg/kg	OS 8.2 months 1-year OS 41%	17% of the pts reported Grade 3 or 4 treatment-related AEs. Two treatment-associated deaths (pneumonia and ischemic stroke)	PD-L1 cutoff of 5%; nivolumab demonstrated activity irrespective of PD-L1 expression
<b>CheckMate 017</b>	272	Phase III	Squamous NSCLC	Pretreated	Nivolumab vs. docetaxel	OS 9.3 vs. 6.0 months	Grade 3 or 4 treatment related were reported in 7% of the pts in the nivolumab arm vs. 55% in the docetaxel arm	Nivolumab demonstrated activity irrespective of PD-L1 expression
<b>CheckMate 057</b>	582	Phase III	Non-squamous NSCLC	Pretreated	Nivolumab vs. docetaxel	OS 12.2 vs. 9.4 months	Grade 3 or 4 treatment-related AEs were reported in 10% of the pts in the nivolumab arm vs. 54% in the docetaxel arm	PD-L1 cutoff $\geq 1$ , $\geq 5$ , and $\geq 10\%$ ; relevant predictive association between OS, median progression-free survival, overall response rate (ORR), and PD-L1 expression
<b>CheckMate 012</b>	52	Phase I	NSCLC	I line	Nivolumab 3 mg/kg	OS 19.4 months 12-month OS 73%	19% of pts reported Grades 3–4 treatment-related AEs; 12% discontinued because of a treatment-related AE	PD-L1 cutoff $\geq 1$ and $< 1\%$ , $\geq 5$ and $< 5\%$ ; clinical activity regardless of PD-L1 expression,

Trial	No. patients	Phase	Histology	Setting	Treatment	Outcome	Safety	Notes
								but higher ORR for greater PD-L1 expression. Not clear correlation between PFS, OS, and PD-L1 expression
<b>CheckMate 012</b>	56	Phase I	NSCLC	I line	Nivolumab + platinum-based doublet chemotherapy (PT-DC)	OS PT-DC + Nivo 10 mg/kg from 11.6 to 19.2 months; plus Nivo 5 mg/kg not reached	45% of pts reported Grade 3 or 4 treatment-related AEs. 21% of pts discontinued because of a treatment-related AEs	Nivolumab demonstrated activity irrespective of PD-L1 expression
<b>CheckMate 032</b>	216	Phase I/II	Small cell lung cancer	Pretreated	Nivolumab or sequentially cohorts nivolumab + ipilimumab	OS Nivo 4.4 months; OS Nivo + IPI 6–7.7 months; 1-year OS 33 and 35–43%	Grade 3 or 4 treatment-related AEs events occurred in 13% of pts in the nivolumab 3 mg/kg cohort, 30% in the nivo1 mg/kg + ipilimumab 3 mg/kg, and 19% in the nivolumab 3 mg/kg + ipilimumab 1 mg/kg. Two pts who received Nivo 1 mg/kg + ipilimumab 3 mg/kg died from treatment-related AEs (myasthenia gravis and renal failure); 1 who received nivolumab 3 mg/kg + ipilimumab 1 mg/kg died from treatment-related pneumonitis	No correlation between PD-L1 expression and an



## Pembrolizumab

Το Pembrolizumab, προηγουμένως γνωστό ως Lambrolizumab, είναι ένα πολύ υψηλής συγγένειας ανθρωποποιημένο αντίσωμα IgG4 που στρέφεται κατά του ανθρώπινου PD-1 (Bardhan et al., 2016; Ohaegbulam et al., 2015). Είναι επίσης το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει το PD-1 στο οποίο έχει χορηγηθεί επιταχυνόμενη έγκριση από τον FDA (Ohaegbulam et al., 2015).

Στη δοκιμή KEYNOTE-001 Φάσης I, η οποία ξεκίνησε το 2008 και δημοσιεύτηκε το 2015 (Cohen et al., 2019; Garon et al., 2019), πήραν μέρος 495 ασθενείς με προχωρημένο μη εγχειρήσιμο ή μεταστατικό NSCLC, οι οποίοι έλαβαν θεραπεία με pembrolizumab. Τα βασικά κριτήρια αποκλεισμού των ασθενών περιλάμβαναν ιστορικό πνευμονίτιδας, προηγούμενη συστηματική ανοσοκατασταλτική θεραπεία ή ενεργό αυτοάνοσο νόσημα. Η αρχική επιλογή των ασθενών αφορούσε άτομα ηλικίας  $\geq 18$  ετών με επαρκή λειτουργία οργάνων και δεν απαιτούσε έλεγχο για μεταλλάξεις EGFR ή αναδιατάξεις ALK (Garon et al., 2015). Ωστόσο, μια μεταγενέστερη τροποποίηση του πρωτοκόλλου επέβαλε έλεγχο για αυτές τις γενετικές εκτροπές. Η μετάλλαξη EGFR ήταν θετική στο 1,5% των ασθενών που εξετάστηκαν και η μετατόπιση ALK στο 2% των ασθενών που δοκιμάστηκαν. Το καρκίνωμα ήταν μη πλακώδες στο 81% των ασθενών και πλακώδες στο 17% των ασθενών. Οι περισσότεροι ασθενείς έλαβαν pembrolizumab σε 10 mg/kg κάθε 2 ή 3 εβδομάδες (N = 489) και πολύ λίγοι σε δόση 2 mg/kg κάθε 3 εβδομάδες (N = 6). Το ORR ήταν 19,4% και η διάμεση διάρκεια ανταπόκρισης ήταν 12,5 μήνες. Η διάμεση PFS ήταν 3,7 μήνες για όλους τους ασθενείς και η διάμεση OS ήταν 12 μήνες. Μετά από διερευνητική ανάλυση στην ομάδα που λάμβανε τη θεραπεία, επικυρώθηκε μια αποκοπή θετικότητας PDL1  $\geq 50\%$  σε 204 ασθενείς ως δυνητικός βιοδείκτης για την πρόβλεψη των αποκρίσεων στο pembrolizumab. Για ασθενείς με όγκους που εμφανίζουν  $\geq 50\%$  κύτταρα θετικά σε PDL1, 1–49% κύτταρα θετικά σε PDL1 και  $< 1\%$  κύτταρα θετικά σε PDL1, τα ORR ήταν 45,2%, 16,5% και 10,7% αντίστοιχα. Για περιπτώσεις με  $\geq 50\%$  θετικά σε PDL1 κύτταρα, η διάμεση PFS ήταν 6,3 μήνες και η διάμεση OS δεν είχε επιτευχθεί. Αυτά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το pembrolizumab είχε αντικαρκινική δράση στο NSCLC. Η έκφραση PDL1  $\geq 50\%$  συσχετίστηκε με βελτιωμένη αποτελεσματικότητα του pembrolizumab (Kwok et al., 2016).

Στη δοκιμή KEYNOTE-010, η οποία ήταν μια τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης II/III, οι ασθενείς με NSCLC που είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία και εμφάνιζαν τουλάχιστον 1% θετικά σε PDL1 κύτταρα όγκου κατανεμήθηκαν τυχαία σε αναλογία 1:1:1 για να λάβουν ένα πρόγραμμα 3 εβδομάδων pembrolizumab στα 2 mg/kg, pembrolizumab στα 10 mg/kg ή docetaxel στα 75 mg/m<sup>2</sup>. Όλοι οι ασθενείς προηγουμένως δεν είχαν λάβει docetaxel. Η προηγούμενη θεραπεία περιελάμβανε χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα και κατάλληλη στοχευόμενη θεραπεία για ευαισθητοποιημένο EGFR ή αναδιάταξη της ALK. Τα κύρια καταληκτικά σημεία ήταν η OS και η PFS, πρώτον σε ολόκληρη την κοόρτη και δεύτερον σε ασθενείς με όγκους που εμφάνιζαν  $\geq 50\%$  θετικά κύτταρα PDL1. Εντάχθηκαν συνολικά 1034

ασθενείς (pembrolizumab σε 2 mg/kg, N = 345, pembrolizumab σε 10 mg/kg, N = 346, docetaxel, N = 343). Κατά τη στιγμή της ανάλυσης, 521 ασθενείς είχαν πεθάνει. Η διάμεση OS ήταν σημαντικά ανώτερη στις ομάδες του pembrolizumab σε σύγκριση με την ομάδα της docetaxel (Kwok et al., 2016). Έτσι, η μέση επιβίωση ήταν 10,4 μήνες για αυτή του pembrolizumab των 2mg/kg και 12,7 μήνες για την ομάδα pembrolizumab των 10mg/kg έναντι 8,2 μήνες στην ομάδα της docetaxel. Ειδικότερα στην ομάδα με θετική έκφραση του PD-L1>50% των κυττάρων, η μέση επιβίωση ήταν 14,9 μήνες για το pembrolizumab 2mg/kg και 17,3 μήνες για το pembrolizumab 10mg/kg. Η μελέτη αυτή έδωσε την έγκριση στο pembrolizumab για χρήση ως θεραπεία 2ης γραμμής, σε ασθενείς που είναι θετικοί για το PD-L1>1%(D. Cortinovis et al., 2017).

Στη μελέτη KEYNOTE-024 το pembrolizumab αξιολογήθηκε ως μονοθεραπεία πρώτης γραμμής σε καρκινοπαθείς με προχωρημένο NSCLC με έκφραση του PD-L1  $\geq 50\%$  έναντι της επιλογής με χημειοθεραπεία με βασικό συστατικό την πλατίνα. Στην ομάδα του pembrolizumab, τόσο η μέση επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) όσο και η 6 μηνών συνολική επιβίωση βελτιώθηκαν σε σύγκριση με τη χημειοθεραπεία, οδηγώντας στην έγκριση του FDA για το pembrolizumab για αυτόν τον πληθυσμό. Η ανάλυση εντόπισε όφελος στους ασθενείς στην ομάδα του pembrolizumab σε αντίθεση με εκείνους της ομάδας χημειοθεραπείας (διάμεση OS 30,0 έναντι 14,2 μηνών)(Doroshov et al., 2019).

Επεκτείνοντας τον ίδιο σχεδιασμό σε ασθενείς με έκφραση του PD-L1  $\geq 1\%$ , η μελέτη KEYNOTE-042 βρήκε ένα συνολικό όφελος επιβίωσης σε όλους τους ασθενείς, με διάμεση OS 16,7 έναντι 12,1 μηνών. Ωστόσο, μια διερευνητική ανάλυση καρκινοπαθών ασθενών με PD-L1  $\geq 1-49\%$  δεν βρήκε σημαντικές διαφορές στο OS σε αυτόν τον πληθυσμό, υποδηλώνοντας ότι η θεραπεία πρώτης γραμμής με μοναδικό φάρμακο το pembrolizumab θα πρέπει να περιορίζεται σε ασθενείς με έκφραση του PD-L1  $\geq 50\%$  ή περισσότερο. Ωστόσο, σε ασθενείς που δεν είναι υποψήφιοι για χημειοθεραπεία με βάση την κατάσταση απόδοσης τους ή με άλλες συννοσηρότητες, το pembrolizumab από μόνο του μπορεί να είναι μια λογική επιλογή ανοσοθεραπείας(Doroshov et al., 2019).

Συμπερασματικά, το pembrolizumab έχει δείξει σημαντική αποτελεσματικότητα για το NSCLC ανθεκτικό στη συμβατική χημειοθεραπεία, μια κακοήθεια όπου πριν υπήρχαν λίγες επιλογές θεραπείας. Τον Οκτώβριο του 2015, ο FDA των ΗΠΑ ενέκρινε το pembrolizumab για τη θεραπεία των μεταστατικών NSCLC που εκφράζουν το PD-L1, τα οποία δείχνουν εξέλιξη της νόσου κατά ή μετά από χημειοθεραπεία που περιέχει πλατίνα(Kwok et al., 2016).

Το pembrolizumab έχει επιδείξει πολλά υποσχόμενη κλινική δράση σε κλινικές μελέτες πρώιμης φάσης για τη θεραπεία ασθενών με υποτροπιάζοντα ή μεταστατικό SCLC που είχαν υποβληθεί στο παρελθόν σε δύο ή περισσότερες σειρές θεραπειών. Στη φάση Ib, της μελέτης πολυκοόρτης KEYNOTE-028, έλαβαν μέρος ασθενείς που προηγουμένως είχαν υποβληθεί σε θεραπεία για θετικό PD-L1 υποτροπιάζον ή μεταστατικό SCLC, που έλαβαν μονοθεραπεία με pembrolizumab.

Στη φάση II, ανοικτής μελέτης πολυκοόρτης KEYNOTE-158, έλαβαν μέρος ασθενείς με υποτροπιάζοντα ή μεταστατικό SCLC ανεξάρτητα από την κατάσταση PD-L1 τους, οι οποίοι έλαβαν μονοθεραπεία με pembrolizumab. Και στις δύο μελέτες, το pembrolizumab επέδειξε ένα ευνοϊκό προφίλ ασφάλειας, σύμφωνα με αυτό που παρατηρήθηκε για μονοθεραπεία με pembrolizumab σε άλλους τύπους όγκων. Οι ασθενείς έλαβαν pembrolizumab (10 mg/kg κάθε 2 εβδομάδες στην KEYNOTE-028 και 200 mg κάθε 3 εβδομάδες στην KEYNOTE-158) για έως και 2 χρόνια ή έως ότου τεκμηριωθεί η εξέλιξη της νόσου, η μη αποδεκτή τοξικότητα, η παροδική ασθένεια που εμποδίζει την περαιτέρω θεραπεία της μελέτης ή την απόσυρση από τη μελέτη(Chung et al., 2020).

Η μονοθεραπεία με pembrolizumab παρέχει μια θεραπευτική επιλογή που είναι καλύτερα ανεκτή από τη χημειοθεραπεία στο πλαίσιο της τρίτης γραμμής σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί προηγουμένως σε ισχυρή προθεραπεία. Με βάση τα αποτελέσματα των μελετών KEYNOTE-028 και KEYNOTE-158, το pembrolizumab εγκρίθηκε πρόσφατα από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ για τη θεραπεία ασθενών με μεταστατικό SCLC με εξέλιξη της νόσου κατά τη διάρκεια ή μετά από χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα και τουλάχιστον μία άλλη προηγούμενη γραμμή θεραπείας(Chung et al., 2020).

### 5.2.2 Μονοκλωνικά αντισώματα anti-PD-L1

Πολλά μονοκλωνικά αντισώματα αντι-PD-L1 είναι διαθέσιμα στο εμπόριο. Το Atezolizumab και το durvalumab εγκρίθηκαν από τον FDA τον Οκτώβριο του 2016 και τον Φεβρουάριο του 2018, αντίστοιχα για τη θεραπεία του ανεγχείρητου NSCLC σταδίου 3. Τα BMS-936559 και CK-301 βρίσκονται ακόμη σε πειραματική φάση ανάπτυξης (Akinleye & Rasool, 2019; Jiang et al., 2019).

#### **Atezolizumab**

Το Atezolizumab, παλαιότερα γνωστό ως MPDL3280, είναι ένα πλήρως ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα IgG1 κατά του PD-L1. Η ένωση του αναστέλλει την αλληλεπίδραση του PD-L1, ειδικά στα κύτταρα του όγκου και στα κύτταρα του ανοσοποιητικού που διεισδύουν στον όγκο, τόσο με το PD-1 όσο και με το B7.1, αλλά όχι την αλληλεπίδραση του PD-L2. Μέσω της αναστολής του PD-L1, το Atezolizumab μειώνει τα ανοσοκατασταλτικά σήματα που βρίσκονται στο μικροπεριβάλλον του όγκου και κατά συνέπεια αυξάνει την ανοσία που προκαλείται από τα T κύτταρα έναντι των όγκων. Το Atezolizumab εγκρίθηκε από τον FDA τον Οκτώβριο του 2016 για το μεταστατικό NSCLC του οποίου η νόσος εξελίχθηκε κατά τη διάρκεια ή μετά από χημειοθεραπεία που περιέχει πλατίνα (Akinleye & Rasool, 2019).

Μια μελέτη φάσης I της μονοθεραπείας με Atezolizumab έδειξε ανθεκτικές αντineοπλασματικές αποκρίσεις στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και έδειξε συσχέτιση της έκφρασης PD-L1 σε καρκινικά κύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού που διεισδύουν στον όγκο σε ασθενείς που εμφάνισαν αντικειμενική απόκριση(Rittmeyer et al., 2017).

Η τυχαίοποιημένη κλινική μελέτη φάσης II POPLAR, πραγματοποιήθηκε στην Ευρώπη, την Ασία και τη Βόρεια Αμερική και χρησιμοποιεί το Atezolizumab έναντι της docetaxel ως θεραπεία 2ης γραμμής σε ασθενείς με προχωρημένο NSCLC που είχαν υποβληθεί προηγουμένως σε θεραπεία. Οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν με βάση το επίπεδο έκφρασης PD-L1, τον αριθμό των προηγούμενων γραμμών χημειοθεραπείας που είχαν λάβει και την πλακώδη έναντι της μη πλακώδους ιστολογικής ταξινόμησης τους. Το Atezolizumab βελτίωσε τη μέση συνολική επιβίωση σε σύγκριση με τη docetaxel στους 12,6 μήνες έναντι των 9,7 μηνών αντίστοιχα. Ακόμα, ένα ενθαρρυντικό αποτέλεσμα της μελέτης ήταν το γεγονός ότι ο βαθμός έκφρασης του PD-L1 στην επιφάνεια των κυττάρων αποτέλεσε σημαντικό παράγοντα ανταπόκρισης και ειδικά των ασθενών με θετικότητα στο PD-L1>50%(Mazieres et al., 2021).

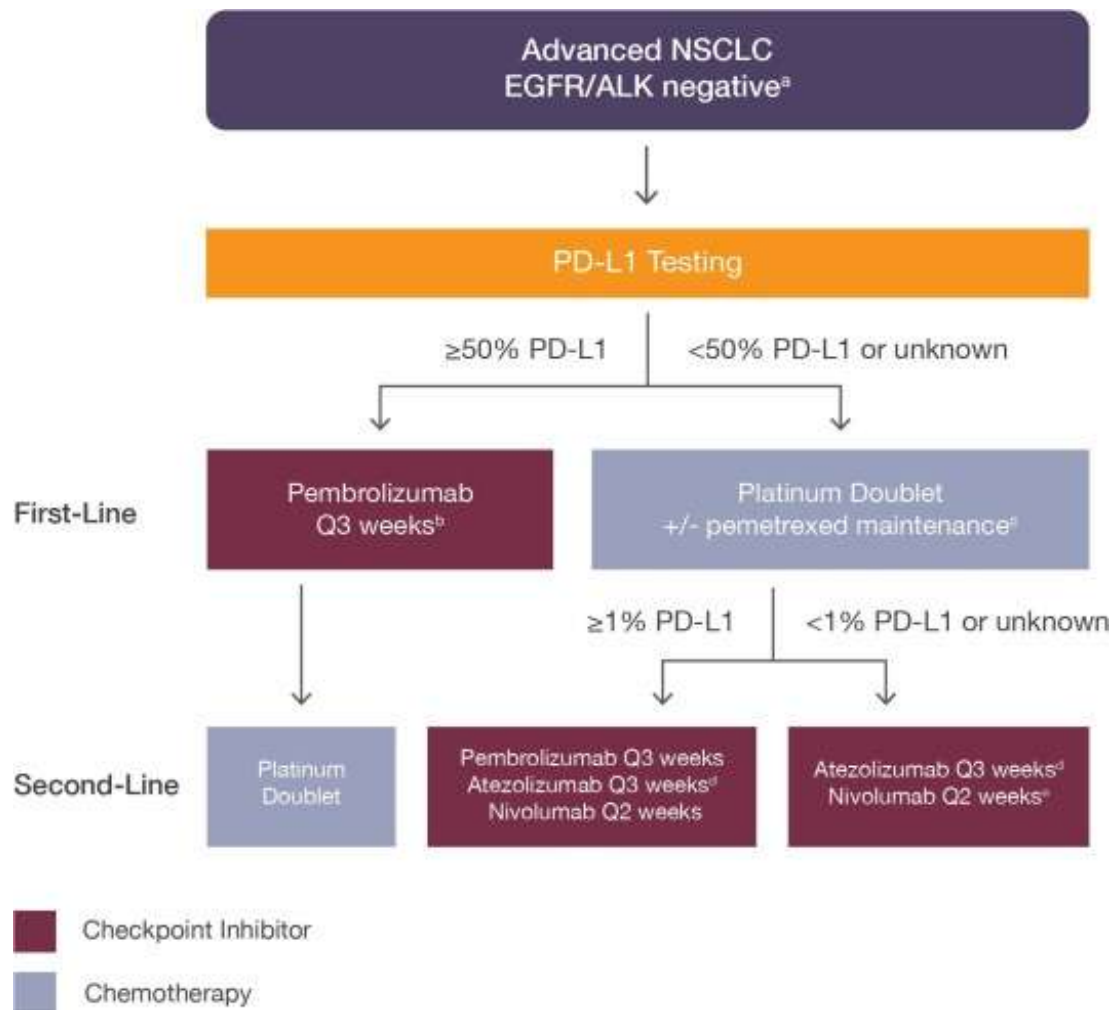
Η ΟΑΚ είναι μια τυχαίοποιημένη, ανοιχτή, διεθνής κλινική μελέτη φάσης III που πραγματοποιήθηκε σε 194 ακαδημαϊκά ιατρικά κέντρα και σε κοινοτικές ογκολογικές εφαρμογές σε 31 χώρες παγκοσμίως. Όπως στη μελέτη POPLAR έτσι και σε αυτή, χρησιμοποιήθηκε το Atezolizumab έναντι της docetaxel ως θεραπεία 2ης γραμμής σε ασθενείς με NSCLC προχωρημένου βαθμού που είχαν υποβληθεί προηγουμένως σε θεραπεία με βασικό συστατικό την πλατίνα. Οι ασθενείς ομοίως κατηγοριοποιήθηκαν με βάση την έκφραση του PD-L1, τον αριθμό προηγούμενων σχημάτων χημειοθεραπείας (ένα έναντι δύο) και ιστολογικά (μη πλακώδες έναντι πλακώδες καρκίνωμα)(Rittmeyer et al., 2017). Και σε αυτή τη μελέτη το Atezolizumab βελτίωσε τη μέση συνολική επιβίωση σε σύγκριση με τη docetaxel στους 13,3 μήνες έναντι των 9,8 μηνών αντίστοιχα(Mazieres et al., 2021). Συμπερασματικά, αυτή η μελέτη φάσης III, χρησιμοποιώντας το Aatezolizumab, δείχνει ένα κλινικά σημαντικό όφελος επιβίωσης σε σχέση με τη docetaxel σε ασθενείς με NSCLC που έλαβαν προηγούμενη θεραπεία, ανεξάρτητα από την έκφραση ή την ιστολογία του PD-L1. Αυτά τα κλινικά σχετικά δεδομένα υποστηρίζουν το atezolizumab ως μια νέα θεραπευτική επιλογή που θα οδηγήσει τους ερευνητές να διερευνήσουν τη συνεργική αποτελεσματικότητα του σε συνδυασμό με καθιερωμένο(α) σχήμα(τα) χημειοθεραπείας (Akinleye & Rasool, 2019).

Η BIRCH είναι μια παγκόσμια, πολυκεντρική κλινική μελέτη φάσης II, που χρησιμοποιεί το Atezolizumab, σε καρκινοπαθείς με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό NSCLC, ως θεραπεία 1ης γραμμής. Όλοι οι ασθενείς που έλαβαν μέρος σε αυτή τη δοκιμή εξετάστηκαν για τη θετικότητα της έκφρασης του PD-L1 τόσο στα καρκινικά κύτταρα όσο και στα ανοσοδιηθητικά κύτταρα τους. Η BIRCH περιελάμβανε τρεις ομάδες ασθενών: Την κοόρτη 1 (χωρίς προηγούμενη χημειοθεραπεία για προχωρημένο NSCLC [1<sup>ης</sup> γραμμής]), την κοόρτη 2 (εξέλιξη κατά

τη διάρκεια ή μετά ένα προηγούμενο σχήμα με βάση την πλατίνα για προχωρημένο NSCLC [2<sup>ης</sup> γραμμής]) και την κοόρτη 3 (εξέλιξη κατά τη διάρκεια ή μετά από τουλάχιστον δύο προηγούμενα σχήματα χημειοθεραπείας για προχωρημένη νόσο [ $\geq 3$  γραμμής]). Για όλες τις ομάδες, χορηγήθηκαν 1.200 mg atezolizumab με ενδοφλέβια έγχυση κάθε 3 εβδομάδες. Οι ασθενείς στις κοόρτες 2 και 3 θα μπορούσαν να συνεχίσουν τη θεραπεία για όσο διάστημα έλαβαν κλινικό όφελος σύμφωνα με την αξιολόγηση του ερευνητή (απουσία τόσο μη αποδεκτής τοξικότητας όσο και συμπτωματικής επιδείνωσης που αποδίδεται στην εξέλιξη της νόσου). Οι ασθενείς της κοόρτης 1 έπρεπε να διακόψουν το atezolizumab σε περίπτωση εξέλιξης της νόσου. Τα αποτελέσματα της μελέτης ήταν ενθαρρυντικά καθώς η μέση συνολική επιβίωση για τους συμμετέχοντες της κοόρτης 1 ήταν 23,5 μήνες, της κοόρτης 2 ήταν 15,5 μήνες και της κοόρτης 3 ήταν 13,2 μήνες (Peters et al., 2017).

### **Durvalumab**

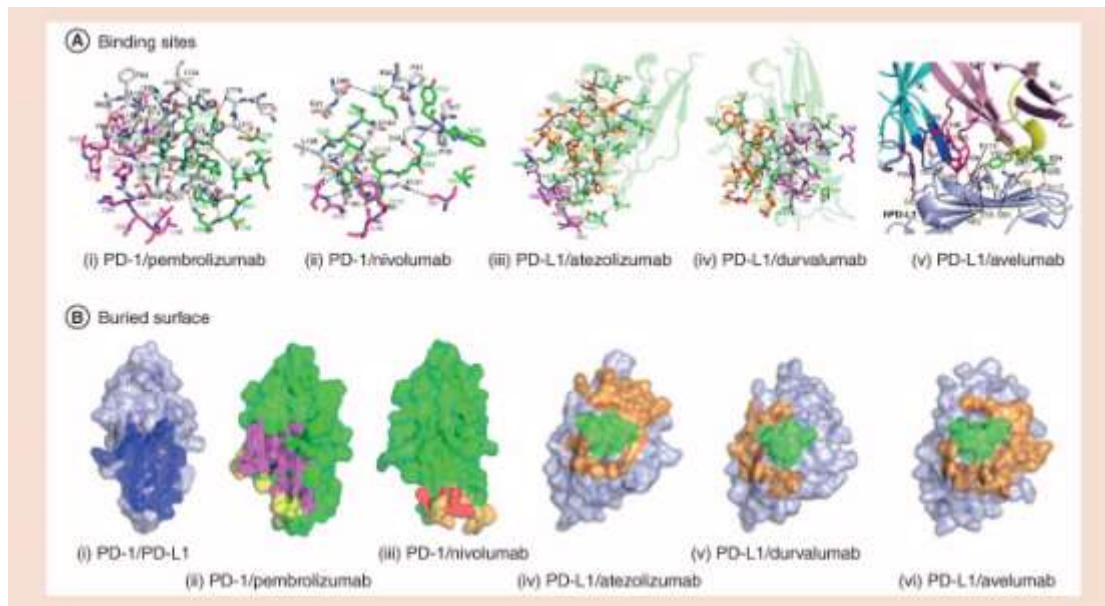
Το Durvalumab, γνωστό και ως MEDI4736, είναι ένα πλήρως ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα IgG1 που συνδέεται με υψηλή συγγένεια και ειδικότητα στο PD-L1, εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση με τα μόρια PD-1 και CD80 (Akinleye & Rasool, 2019). Μετά από τις δοκιμές Φάσης I και II πραγματοποιήθηκε η κλινική μελέτη PACIFIC Φάσης III ως 2<sup>ης</sup> γραμμής θεραπεία. Η μελέτη αυτή αφορά ασθενείς με μη εγχειρήσιμο NSCLC σταδίου 3, οι οποίοι έλαβαν το durvalumab σε συνδυασμό με χημειοανοσοθεραπεία ως θεραπεία που συγκρίθηκε με εικονικό φάρμακο. Το Durvalumab εμφάνισε ένα διαχειρίσιμο προφίλ ασφάλειας και δεν επηρέασε αρνητικά την ποιότητα ζωής που αναφέρθηκε από τους ασθενείς. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης, δημοσιεύτηκαν στο Journal of Clinical Oncology τον Μάιο του 2019, και έδειξαν ότι τα ποσοστά OS 36 μηνών με το durvalumab και το εικονικό φάρμακο ήταν 83,1% και 74,6%, αντίστοιχα. Με βάση αυτά, το durvalumab έλαβε παγκόσμια έγκριση και το "σχήμα PACIFIC" έγινε το νέο πρότυπο φροντίδας σε αυτό το πλαίσιο (Akinleye & Rasool, 2019; Faivre-Finn et al., 2021).



**Εικόνα 29.** Πιθανός αλγόριθμος θεραπείας με χρήση αναστολέων σημείων ελέγχου σε προηγμένο NSCLC [Melosky et al., 2018].

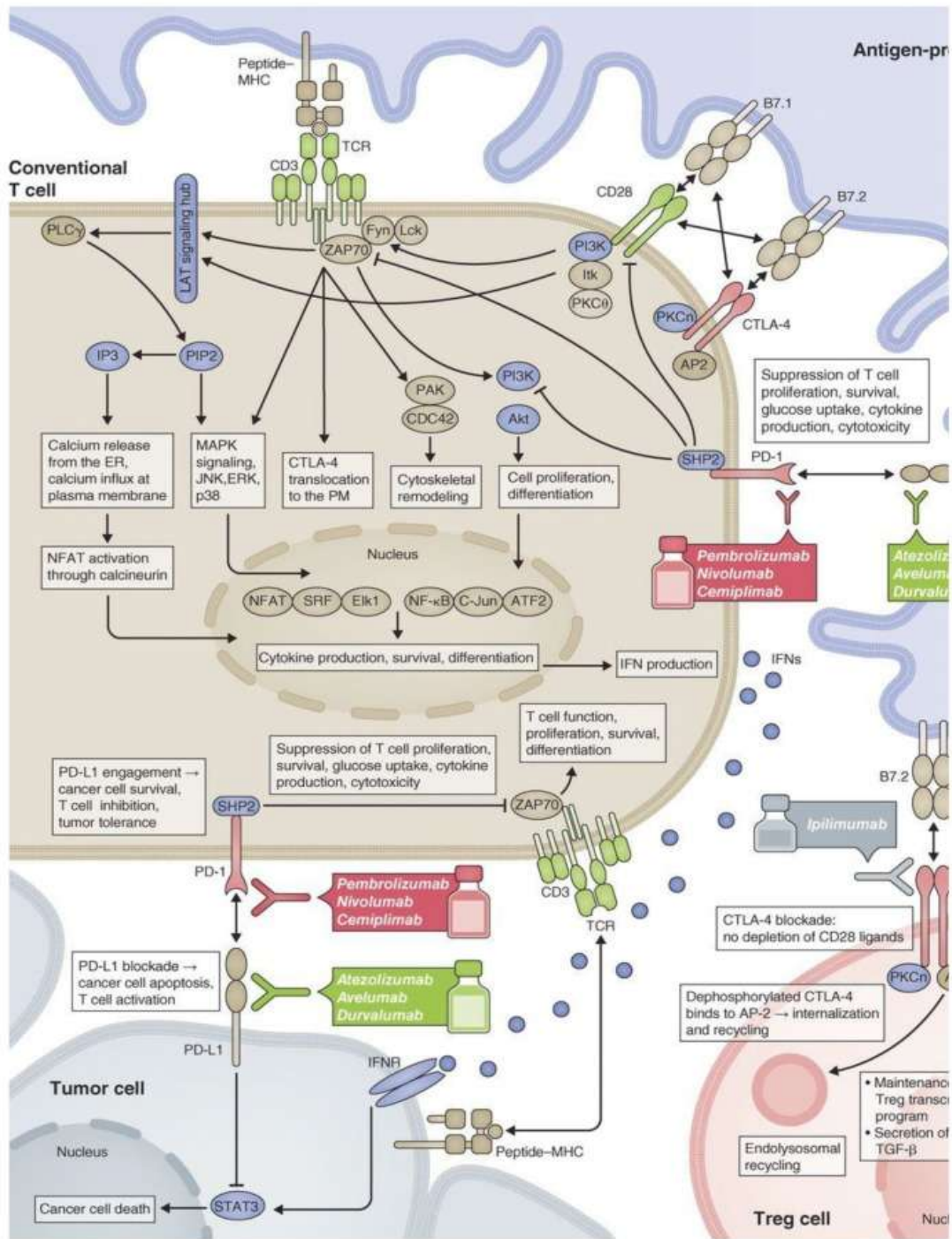
Στην εικόνα 29 αναπαρίσταται ένας πιθανός αλγόριθμος θεραπείας με χρήση αναστολέων σημείων ελέγχου σε προηγμένο NSCLC. Παράγοντες που αποδεικνύουν αποτελεσματικότητα εντός των περιγραφόμενων υποπληθυσμών που αναφέρονται και ταξινομούνται με βάση την αποτελεσματικότητα και την ευκολία χορήγησης.

Συνομογραφίες: ALK: κινάση αναπλαστικού λεμφώματος, EGFR: υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, NSCLC: μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα, PD-1: πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1, PD-L1: προγραμματισμένος συνδέτης κυτταρικού θανάτου 1 (Melosky et al., 2018).



**Εικόνα 30.** (Α) Στερεοδιάταξη της λεπτομερούς διεπαφής των αναστολέων PD-1/PD-1 (i) pembrolizumab και (ii) nivolumab. Στερεοδιάταξη της λεπτομερούς διεπαφής των αναστολέων PD-L1/PD-L1 θραύσματος Fab, (iii) atezolizumab, (iv) durvalumab και (v) avelumab. (Β) Επιφανειακές αναπαραστάσεις των μορίων PD-1 στις σύνθετες δομές των PD-1/PD-L1 (i), PD-1/pembrolizumab (ii), PD-1/nivolumab (iii), PD-L1/atezolizumab (iv), PD-L1/durvalumab (v) και PD-L1/avelumab (vi)(N. Zhang et al., 2019).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η αναγνώριση των μοριακών μηχανισμών με τους οποίους τα καρκινικά κύτταρα αποφεύγουν την κυτταροτοξική βλάβη που προκαλείται από Τ κύτταρα έχει οδηγήσει στη σύγχρονη εποχή της ανοσοθεραπείας του καρκίνου. Οι παράγοντες που απελευθερώνουν αυτούς τους περιορισμούς του ανοσοποιητικού στοχεύουν στην ανάκτηση των δυσλειτουργικών Τ κυττάρων και την υποχώρηση διαφόρων καρκίνων. Η επιδίωξη αυτή έφερε την ανάγκη δημιουργίας κλινικών μελετών οι οποίες με τη σειρά τους, μέσω των αποτελεσμάτων τους, προάγουν ανασταλτικά φάρμακα για την αντιμετώπιση του καρκίνου. Έτσι, η πρώτη έγκριση από τον FDA αποδόθηκε το 2011 στο ipilimumab, φάρμακο-αναστολέας του CTLA-4. Έπειτα, η έγκριση δόθηκε σε αρκετούς φαρμακευτικούς ανασταλτικούς παράγοντες, όπως οι αναστολείς PD-1 nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab και οι αναστολείς PD-L1 atezolizumab, avelumab και durvalumab που βρίσκονται στον τρέχοντα κατάλογο των εγκεκριμένων παραγόντων εκτός από το ipilimumab (**Εικόνα 31.**) (Vaddepally et al., 2020).

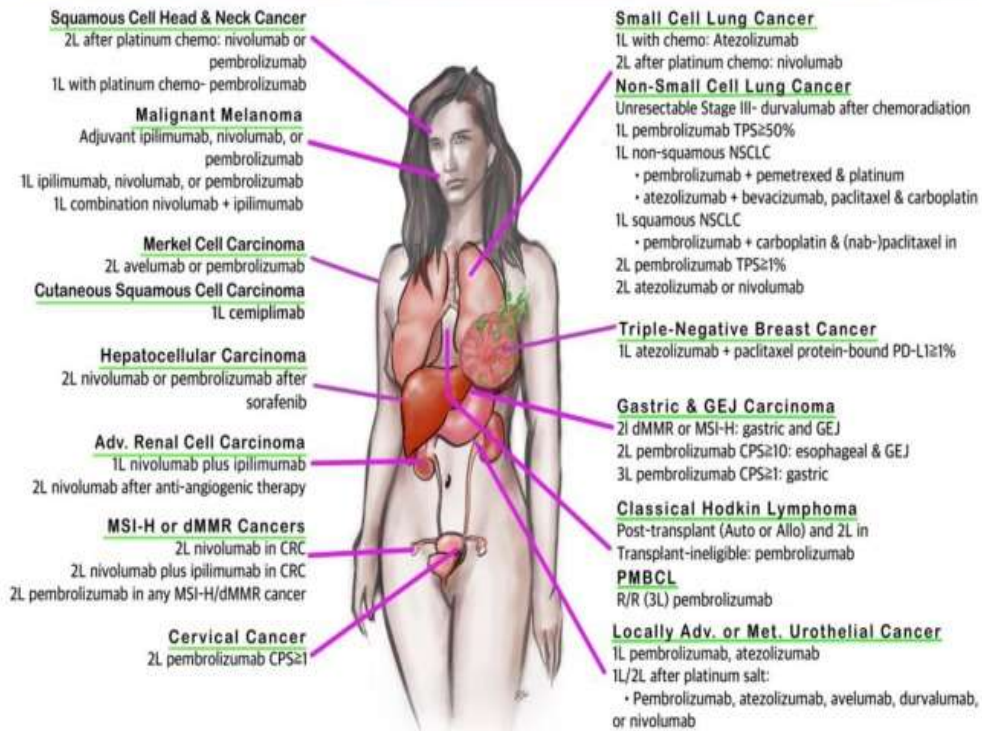


Artwork by Neil Smith (neil@neilsmithillustration.co.uk).

**Εικόνα 31.** Μηχανισμός δράσης όλων των εγκεκριμένων από τον FDA αναστολέων σημείων ελέγχου (δημοσιεύεται με άδεια από το Journal of Cell Biology)[Vaddepally et al., 2020].



## U.S. FDA APPROVED IMMUNE-CHECKPOINT INHIBITORS



**Εικόνα 32.** Εγκεκριμένοι από τον FDA αναστολείς ανοσοποιητικού σημείων ελέγχου (copyright owned by Raju Vaddepally, et al.) [Vaddepally et al., 2020]

## 5.3 Ανάπτυξη προγνωστικών βιοδεικτών στην ανοσοθεραπεία

Η ανάπτυξη των αναστολέων PD1/PD-L1 άνοιξε νέους δρόμους στις εφαρμογές της ανοσοθεραπείας. Μαζί με αυτούς αναπτύχθηκαν και μέθοδοι προσδιορισμού της έκφρασης των PD1/PD-L1 στους όγκους, σε μία προσπάθεια ταξινόμησης των ασθενών, για μία πιο στοχευμένη και αποτελεσματική ανοσοθεραπεία (Bodor et al., 2020).

Οι αναστολείς PD-1 nivolumab και pembrolizumab, μαζί με τον αναστολέα PD-L1 atezolizumab, έχουν όλοι επιδείξει οφέλη επιβίωσης έναντι της χημειοθεραπείας και έχουν εγκριθεί για τη θεραπεία δεύτερης γραμμής του μεταστατικού NSCLC. Από αυτούς τους τρεις παράγοντες, το pembrolizumab είναι ο μοναδικός αναστολέας σημείου ελέγχου, που ως μόνος παράγοντας, έχει εγκριθεί ως πρώτης γραμμής θεραπεία, αλλά μόνο σε ασθενείς με υψηλή έκφραση PD-L1. Ο συνδυασμός δύο μεθόδων αποκλεισμού σημείων ελέγχου έχει επίσης διερευνηθεί, και συγκεκριμένα ο αναστολέας CTLA-4 ipilimumab, με το nivolumab έχει δείξει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα που αποδεικνύουν ενισχυμένη αντινεοπλασματική δράση με τον συνδυασμό και αυξημένη επιβίωση χωρίς εξέλιξη (PFS). Το φορτίο μετάλλαξης όγκου (TMB) έχει επισημανθεί ως ένας δυνητικά σημαντικός βιοδείκτης στις μελέτες ipilimumab-nivolumab καθώς ασθενείς με όγκους με υψηλό φορτίο μετάλλαξης εμφανίζουν μεγαλύτερη ανταπόκριση στην αναστολή διπλού σημείου ελέγχου με αντικειμενικό ποσοστό ανταπόκρισης 45% για το σκέλος ipilimumab-nivolumab έναντι 27% για το σκέλος της χημειοθεραπείας. Αυτό το όφελος παρατηρήθηκε σε όλες τις υποομάδες που εκφράζουν PD-L1 ανεξαρτήτως επιπέδου, συμπεριλαμβανομένων των όγκων με επίπεδα έκφρασης μικρότερα από 1% (Bodor et al., 2020).

### Έκφραση του PD-L1 ως βιοδείκτη

Ο έλεγχος της έκφρασης του **PD-L1** με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας (immunohistochemistry - **IHC**), (Πίνακας 6.) ήταν η πρώτη εγκεκριμένη από τον FDA συνοδευτική διαγνωστική εξέταση για τους αναστολείς του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου (Doroshov et al., 2019; Pharaon et al., 2020). Με αυτή τη μέθοδο υπολογίζεται το ποσοστό έκφρασης του PD-L1 στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων του όγκου (Tumor Proportion Score - **TPS**) (Doroshov et al., 2019).

Ο έλεγχος της έκφρασης του PD-L1 με τη χρήση IHC έχει γίνει γρήγορα μια τυποποιημένη εξέταση που πραγματοποιείται κατά την αρχική διάγνωση του καρκίνου. Διάφορα αντισώματα έχουν μελετηθεί για την ανίχνευση της έκφρασης του PD-L1 με IHC με βάση την ιστολογία του όγκου. Η ενσωμάτωση της δοκιμής PD-L1 στην τυπική περίθαλψη καθιερώθηκε από αρκετές κλινικές μελέτες που υποδεικνύουν το ισχυρότερο όφελος του ICI σε επιλεγμένες ομάδες ασθενών που

εκφράζουν υψηλό PD-L1 (TPS  $\geq$ 50%). Το εκτιμώμενο ποσοστό των ασθενών με NSCLC που εκφράζουν PD-L1 κυμαίνεται από 24% έως 60%. Αν και δεν είναι ακόμα σαφές εάν οι πάσχοντες με NSCLC με υψηλή έκφραση PD-L1 έχουν καλύτερη πρόγνωση από εκείνους με χαμηλά ή καθόλου επίπεδα PD-L1, τα δημοσιευμένα δεδομένα φαίνεται να υποδηλώνουν κακή πρόγνωση που σχετίζεται με υψηλά επίπεδα PD-L1(Pharaon et al., 2020; Tsoukalas et al., 2019).

Υπάρχει μια σειρά από εμπορικά διαθέσιμες πλατφόρμες δοκιμών και καθένας από τους τρέχοντες εγκεκριμένους αναστολείς σημείων ελέγχου του FDA στο NSCLC έχει διαφορετικό αντίσωμα PD-L1 IHC που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της έκφρασης του. Για παράδειγμα, το nivolumab χρησιμοποιεί ένα αντίσωμα 28-8 ενώ το pembrolizumab χρησιμοποιεί έναν κλώνο αντισώματος 22C3. Ο συνοδός κλώνος αντισώματος του Atezolizumab είναι ο SP142 και το durvalumab χρησιμοποιεί ένα αντίσωμα SP263. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά συστήματα βαθμολόγησης σε μελέτες για καθέναν από αυτούς τους παράγοντες για τον καθορισμό των επιπέδων έκφρασης του PD-L1. Σε αντίθεση με τα αντισώματα 22C3, 28-8 και SP263 που αξιολογούν την έκφραση PD-L1 μόνο στις μεμβράνες των καρκινικών κυττάρων, η ανάλυση αντισωμάτων SP142 που χρησιμοποιείται από το Atezolizumab μετρά το επίπεδο PD-L1 τόσο στα καρκινικά κύτταρα όσο και στα διεισδυτικά ανοσοκύτταρα. Το σύστημα βαθμολόγησης του Atezolizumab έχει ως αποτέλεσμα τέσσερις κατηγορίες από την ελάχιστη έως τη μεγαλύτερη έκφραση PD-L1 με βάση το επίπεδο έκφρασης σε κύτταρα όγκου και σε ανοσοκύτταρα(Bodor et al., 2020).

Η οπτική παρατήρηση των βιοδεικτών στο μικροσκόπιο μπορεί να γίνει με την επεξεργασία των ιστών και τη χρώση τους:

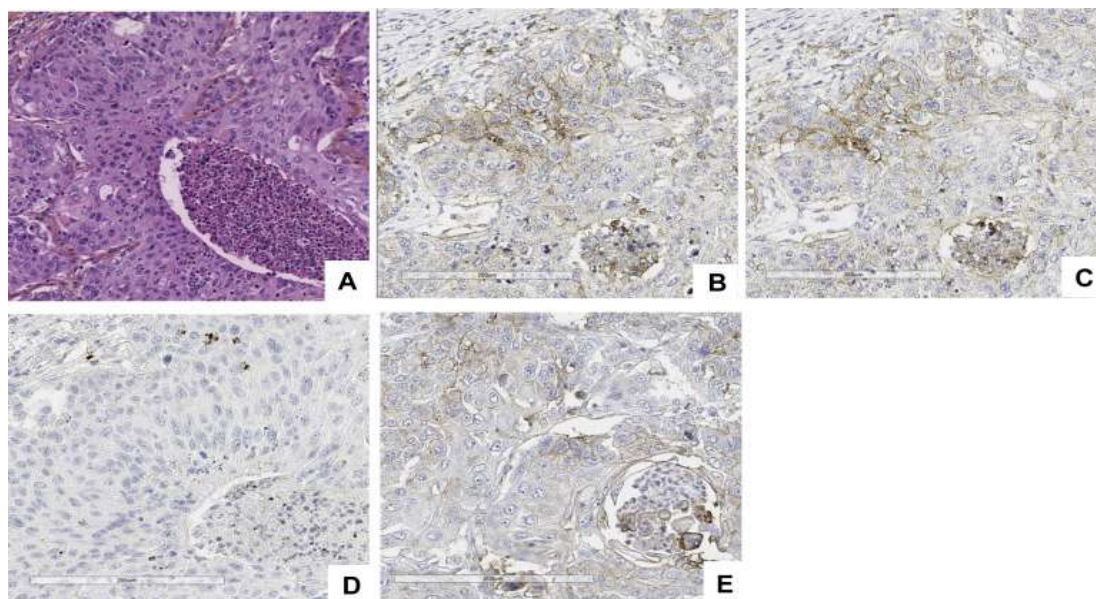
Για παράδειγμα στην **Εικόνα 33**, το πλακώδες καρκίνωμα του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα βάφεται με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης σαφράν (A). Η ανάλυση του 28-8 αποτυπώνεται στην πλατφόρμα DAKO (B). Η ανάλυση του 22C3 αποτυπώνεται στην πλατφόρμα DAKO (C). Η ανάλυση του SP142 αποτυπώνεται στην πλατφόρμα Ventana (D) και η ανάλυση του SP263 αποτυπώνεται στην πλατφόρμα Ventana (E). Τα B, C και E δείχνουν μεμβρανώδη χρώση του PD-L1 σε 50% ή περισσότερα καρκινικά κύτταρα (Βαθμολογία αναλογίας όγκου [TPS]  $>$  50%). Στο E αν και υπάρχουν σπάνια κύτταρα του ανοσοποιητικού, κανένα καρκινικό κύτταρο δεν είναι θετικό για PD-L1 (TPS  $<$  1%)(Lantuejoul et al., 2020).

Αντίστοιχα στην **Εικόνα 34**, το αδενοκαρκίνωμα του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα βάφεται με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης σαφράν (A). Η ανάλυση του 28-8 αποτυπώνεται στην πλατφόρμα DAKO (B). Η ανάλυση του 22C3 αποτυπώνεται στην πλατφόρμα DAKO (C). Η ανάλυση του SP142 αποτυπώνεται στην πλατφόρμα Ventana (D) και ο προσδιορισμός του SP263 αποτυπώνεται στην πλατφόρμα Ventana (E). Τα B, C και E δείχνουν μεμβρανώδη χρώση του PD-L1 σε περισσότερο από το 50% των καρκινικών κυττάρων (Δείκτης αναλογίας όγκου [TPS]  $\geq$  50%). Στο D, αν και υπάρχουν διάσπαρτα κύτταρα του ανοσοποιητικού αλλά

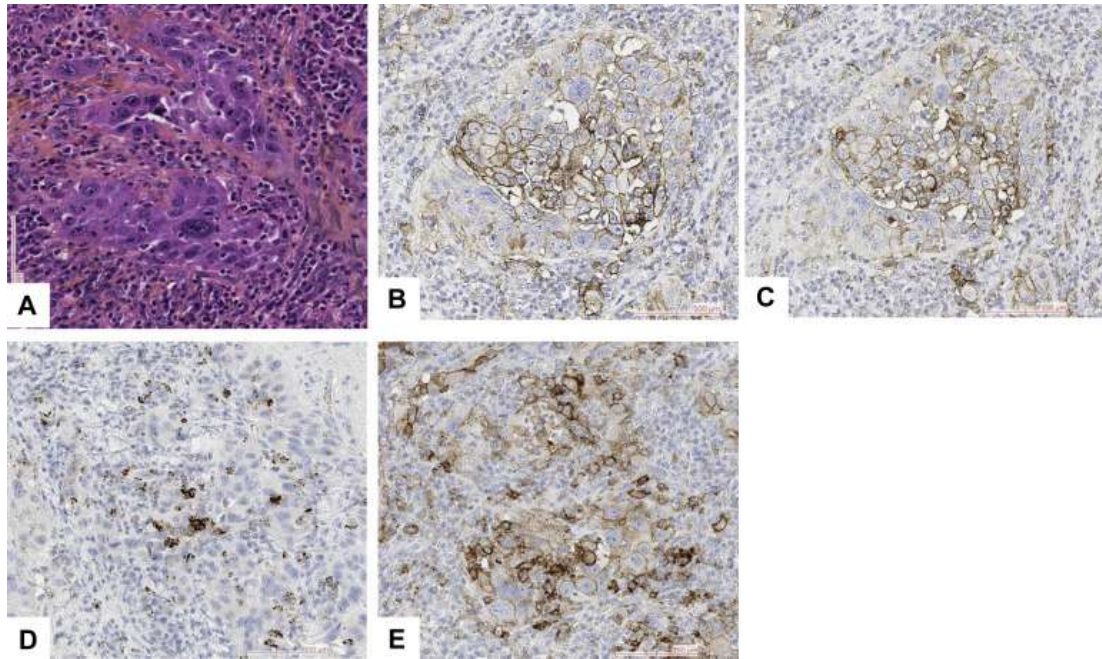
κανένα καρκινικό κύτταρο δεν είναι θετικό για PD-L1 (TPS < 1%) (Lantuejoul et al., 2020).

Ενώ η έκφραση του PD-L1 στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων μέσω IHC παραμένει ο καλύτερος βιοδείκτης για την πρόβλεψη της ανταπόκρισης ενός όγκου στην ανοσοθεραπεία και η δοκιμή αυτή είναι το τρέχον πρότυπο φροντίδας για κάθε νεοδιαγνωσθέν NSCLC, δεν πληρεί όλες τις προϋποθέσεις για τον τέλειο προγνωστικό παράγοντα ανταπόκρισης (Bodor et al., 2020; Pharaon et al., 2020). Αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι δεν ανταποκρίνονται όλοι οι ασθενείς με υψηλή έκφραση PD-L1 στη θεραπεία ή δεν επιδεικνύουν διαρκές κλινικό όφελος, ενώ ορισμένοι ασθενείς με χαμηλή ή καθόλου έκφραση PD-L1 έχουν όφελος (Bodor et al., 2020).

Οι περιορισμοί του PD-L1 ως βιοδείκτη έχουν προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον για άλλους πιθανούς δείκτες απόκρισης, και κυρίως το TMB έχει αναδειχθεί ότι έχει πιθανή προγνωστική αξία, όπου και συζητείται παρακάτω (Bodor et al., 2020).



**Εικόνα 33.** Εικόνες ανοσοϊστοχημείας θετικών PD-L1 δειγμάτων πλακώδους καρκινώματος [Lantuejoul et al., 2020].



**Εικόνα 34.** Εικόνες ανοσοϊστοχημείας θετικών PD-L1 δειγμάτων αδενοκαρκινώματος[Lantuejoul et al., 2020].

#### **Φορτίο μετάλλαξης όγκου (TMB)**

Ένας άλλος δυνητικά προγνωστικός βιοδείκτης, απόκρισης της ανοσοθεραπείας του NSCLC, είναι το φορτίο μετάλλαξης όγκου (Tumor mutational burden - **TMB**),(Πίνακας 6.). Το TMB ορίζεται ως ο συνολικός αριθμός σωματικών μεταλλάξεων που εντοπίζονται στην αλληλουχία του DNA ενός δείγματος όγκου, συμπεριλαμβανομένων τόσο της αντικατάστασης βάσεων όσο και των σύντομων προσθηκών/διαγραφών, ανά περιοχή κωδικοποίησης στο γονιδίωμα του όγκου(Bodor et al., 2020; Doroshov et al., 2019).

Ο αριθμός των σωματικών μεταλλάξεων ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών τύπων καρκίνου, με το μελάνωμα να έχει μερικές από τις υψηλότερες τιμές μετάλλαξης και τους καρκίνους του γαστρεντερικού, όπως ο καρκίνος του παγκρέατος και ο καρκίνος του παχέος εντέρου να έχουν μερικές από τις χαμηλότερες. Ο NSCLC εκτείνεται σε ένα εύρος μεταλλακτικής επιβάρυνσης, με σχετικά υψηλό αριθμό σωματικών μεταλλάξεων να παρατηρούνται στον καρκίνο του πνεύμονα που σχετίζεται με το κάπνισμα, ενώ οι όγκοι που δεν σχετίζονται με το κάπνισμα παρουσιάζουν χαμηλότερη επιβάρυνση(Bodor et al., 2020). Ένας αυξημένος αριθμός μη συνώνυμων σωματικών μεταλλάξεων έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μοναδικών νεοαντιγόνων που παρουσιάζονται στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων. Το γεγονός αυτό με τη σειρά του αυξάνει την ανοσογονικότητα και έχει ως αποτέλεσμα οι όγκοι να γίνονται πιο ευαίσθητοι στη θεραπεία με παράγοντες ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου καθώς ευνοείται η αναγνώριση και η θανάτωση του όγκου από τα προσαρμοστικά ανοσοκύτταρα(Bodor et al., 2020; Doroshov et al., 2019; Pharaon et al., 2020).

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθενείς με υψηλό TMB (μεγαλύτερη ή ίση με 10 μεταλλάξεις ανά μεγαβάση) που υποβάλλονται σε θεραπεία με αντισώματα anti-PD-1/PD-L1 έχουν καλύτερη επιβίωση χωρίς εξέλιξη (PFS), ποσοστό αντικειμενικής απόκρισης (ORR) και συνολική επιβίωση (OS)(Pharaon et al., 2020). Οι συσχετίσεις μεταξύ του TNM και της ευαισθησίας στους ICIs είναι επίσης εμφανείς στους λεγόμενους «υπερμεταλλαγμένους» όγκους των ασθενών με επιβλαβείς αλλοιώσεις των γονιδίων επιδιόρθωσης του DNA. Όπως δηλαδή τα MLH1, MSH2, MSH6 και PMS2, που χαρακτηρίζονται από αυξημένες διηθήσεις CD8+ T κυττάρων, καθώς και σε κακοήθειες, με μεταλλάξεις στα BRCA2, POLD1 και POLE(Doroshov et al., 2019).

Οι περιορισμοί που σχετίζονται με το TMB περιλαμβάνουν: μεταβλητότητα στα επίπεδα TMB σε διαφορετικούς τύπους όγκων, ασυνεπείς μεθόδους ανίχνευσης και έλλειψη τυποποιημένου διαχωρισμού για τον καθορισμό της υψηλής κατάστασης TMB. Πρόσφατα, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για τη χρήση του TMB σε συνδυασμό με την έκφραση PD-L1 για να προσδιοριστούν πιο συγκεκριμένα οι ομάδες ασθενών που θα ανταποκρίνονταν στους ICIs(Pharaon et al., 2020).

### **Διηθητικά λεμφοκύτταρα όγκου**

Η έκταση της λεμφοκυτταρικής διήθησης που παρατηρείται εντός του ιστού του όγκου μπορεί να έχει προγνωστική αξία καθώς προηγούμενες μελέτες έχουν συσχετίσει υψηλά επίπεδα λεμφοκυττάρων διηθούμενα σε όγκους (TILs),( Πίνακας 6.) με βελτιωμένη επιβίωση σε μια σειρά τύπων καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του NSCLC. Προηγούμενη έρευνα στο NSCLC έχει δείξει ότι τα υψηλά επίπεδα TILs, συμπεριλαμβανομένων των CD8+, CD3+ και CD4+, συσχετίζονται με βελτιωμένη επιβίωση. Μια υψηλή πυκνότητα TILs θεωρείται ότι αντανακλά σε μεγαλύτερη ανοσολογική αναγνώριση των καρκινικών κυττάρων σε έναν ασθενή και αντιπροσωπεύει ένα μικροπεριβάλλον όγκου με φλεγμονή προκαλούμενη από τα T-κύτταρα. Αυτός ο φλεγμονώδης φαινότυπος όγκου μπορεί να είναι πιο ευαίσθητος στον αποκλεισμό του σημείου ελέγχου, δηλαδή λειτουργεί ως προγνωστικός του ρόλος. Έτσι, η πυκνότητα των TILs έχει μελετηθεί για την προγνωστική τους αξία ως βιοδείκτη για την ανοσοθεραπεία(Bodor et al., 2020).

### **Ειδικοί Γονότυποι Όγκων**

Ο έλεγχος για μεταλλάξεις ενός γονιδίου, όπως ο **EGFR** και το **ALK**, (Πίνακας 6.) είναι το πρότυπο φροντίδας για κάθε ασθενή που παρουσιάζει μεταστατικό NSCLC. Παρά τις ισχυρές παρατεταμένες αποκρίσεις που μπορεί να έχουν πολλοί ασθενείς, ενώ λαμβάνουν από του στόματος αγωγή με στοχευμένο παράγοντα, όπως ένας αναστολέας κινάσης τυροσίνης σε μεταλλαγμένους όγκους του εξωνίου 19 και 21 του EGFR. Όλοι οι ασθενείς θα προχωρήσουν πάντα στη θεραπεία ή θα διακόψουν τη θεραπεία λόγω τοξικότητας. Δυστυχώς, οι θετικοί όγκοι EGFR και ALK δεν έχουν

δείξει την ίδια ανταπόκριση στον αποκλεισμό των σημείων ελέγχου με άλλους γονότυπους. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένα πρόσφατα στοιχεία που υποδηλώνουν ότι η θετικότητα του όγκου στον EGFR σχετίζεται με πρόοδο και ότι αυτή μπορεί να διαμεσολαβείται από την ανοδική ρύθμιση των PD-1 και PD-L1 που παρατηρείται με ενεργοποίηση του EGFR.

Σε πρόσφατη μελέτη, ο Toki και οι συνεργάτες του μελέτησαν 150 δείγματα όγκων NSCLC θετικού EGFR και διαπίστωσαν ότι έχουν χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης PD-L1 καθώς και υψηλή πυκνότητα «ανενεργών» TILs. Η σχετικά υψηλή συχνότητα των ανενεργών TILs στο μικροπεριβάλλον του όγκου θετικού EGFR μπορεί να εξηγήσει τη σχετική έλλειψη απόκρισης που παρατηρείται σε τέτοιους όγκους, όταν στοχεύονται με ανοσοθεραπεία (Bodor et al., 2020).

### Προφίλ γονιδιακής έκφρασης

Το προφίλ γονιδιακής έκφρασης (**Πίνακας 6.**) είναι ένας ενεργός τομέας έρευνας με μελέτες που υποδηλώνουν την πιθανή χρησιμότητα του ως βιοδείκτη αποκλεισμού σημείων ελέγχου. Τα αποτυπώματα των γονιδίων του ανοσοποιητικού, ιδιαίτερα εκείνων που σχετίζονται με τη σηματοδότηση της **IFN-γ** και των ενεργοποιημένων **T-κυττάρων** μπορεί να έχουν προγνωστική αξία και να έχουν συσχετιστεί με την απόκριση ανοσοθεραπείας σε αρκετούς τύπους καρκίνου.

Στην κλινική μελέτη POPLAR, Φάσης II όπου χορηγήθηκε atezolizumab ως θεραπεία δεύτερης γραμμής στον προχωρημένου NSCLC, οι όγκοι με υψηλή έκφραση των γονιδίων του T<sub>effector</sub> και της IFN-γ, έδειξε βελτιωμένη επιβίωση των ασθενών. Μια άλλη πρόσφατη μελέτη εξέτασε αναδρομικά τη βάση δεδομένων ασθενών με NSCLC από την αρχική μελέτη Rizvi et al., του 2015 και μέσω του προφίλ γονιδιώματος του όγκου διαπιστώθηκε η έκφραση χημειοκίνης και ενός ανοσοκατασταλτικού μορίου όπου επιβεβαίωσε την έκφραση του PD-L1. Έτσι, βελτίωσε την ικανότητα πρόβλεψης της ανταπόκρισης στη θεραπεία με το pembrolizumab. Το προφίλ πολλαπλών γονιδίων υπόσχεται τον εντοπισμό ανοσογόνων όγκων που είναι πιθανό να ωφελήσουν τους παράγοντες ανοσοθεραπείας, αν και απαιτείται περαιτέρω κλινική μελέτη (Bodor et al., 2020).

### Βιοδείκτες με βάση τον ορό

Οι βιοδείκτες περιφερικού αίματος (**Πίνακας 6.**) είναι μια ελκυστική εναλλακτική λύση σε δείκτες που βασίζονται σε όγκο (δεδομένης της σχετικής ευκολίας και λιγότερο επεμβατικής φύσης των αιμοληψιών) καθώς και για τις περιστασιακές αλλά όχι ασυνήθιστες περιπτώσεις ανεπαρκούς δειγματοληψίας ιστού σε ορισμένες βιοψίες όγκου. Η αναλογία ουδετερόφιλων προς λεμφοκύτταρα (neutrophil to lymphocyte ratio - **NLR**) έχει συγκεντρώσει μεγάλο ενδιαφέρον ως βιοδείκτης και μπορεί εύκολα να υπολογιστεί από τη διαφορά που αναφέρεται με μια τυπική πλήρη αιματολογική εξέταση. Η NLR είναι η αναλογία του απόλυτου αριθμού

ουδετερόφιλων προς τον απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων. Ένα μικροπεριβάλλον όγκου με υψηλή διήθηση ουδετερόφιλων αλλά χαμηλή λεμφοκυτταρική διήθηση, πιστεύεται ότι προάγει μεγαλύτερη αγγειογένεση και αναστέλλει την κυτταρική απόπτωση, ενισχύοντας έτσι την ογκογένεση και οδηγώντας σε δυσμενή αποτελέσματα. Η χρησιμότητά του έχει μελετηθεί σε διάφορους τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του μελανώματος, του μαστού και διαφόρων καρκίνων του γαστρεντερικού. Η NLR έχει μελετηθεί και στο NSCLC και μια υψηλή αναλογία μπορεί να είναι αρνητικός προγνωστικός δείκτης σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του πνεύμονα που υποβάλλονται σε θεραπεία με ανοσοθεραπεία. Άλλοι δείκτες που βασίζονται στην εξέταση αίματος, όπως ο απόλυτος αριθμός ηωσινοφίλων, ο απόλυτος αριθμός μονοκυττάρων, κ.α. έχουν επίσης μελετηθεί με κάποια συσχέτιση με την απόκριση. Η NLR και άλλοι τέτοιοι δείκτες περιφερικού αίματος μπορεί να έχουν χρησιμότητα σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με αποκλεισμό σημείων ελέγχου, αν και οι μέχρι τώρα μελέτες ήταν μικρές και αναδρομικές.

Το φορτίο μετάλλαξης όγκου με βάση το αίμα (Blood-based Tumor mutational burden- **bTMB**) είναι ένας άλλος ερευνητικός δείκτης με βάση τον ορό που έχει τραβήξει το ενδιαφέρον. Σε μια μελέτη από τον Gandara και τους συναδέλφους του, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία FoundationOne CDx για τον προσδιορισμό του bTMB και εμφανίστηκε θετική συσχέτιση μεταξύ TMB αίματος και ιστού σε ένα υποσύνολο δειγμάτων που ελήφθησαν από τις δοκιμές δεύτερης γραμμής atezolizumab, POPLAR και OAK(Bodor et al., 2020).



**Πίνακας 6.** Βιοδείκτες με βάση ιστούς και ορό για την απόκριση ανοσοθεραπείας (immunotherapy - IO) στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [Bodor et al., 2020].

Biomarker of Interest	Assay Details	Outcomes/Literature Support
<b>Tissue-based</b>		
<b>PD-L1 Expression</b>	Immunohistochemistry (IHC) to determine proportion of PD-L1 positivity/expression.	Greater PD-L1 positivity/expression associated with improved outcomes in first-line and second-line advanced NSCLC trials using IO. <sup>13-15</sup>
<b>Tumor Mutational Burden (TMB)</b>	Whole exome sequencing or FoundationOne CDx assay to quantify the number of somatic mutations per coding area of a tumor genome.	Higher TMB associated with improved PFS, though not OS, with first-line ipilimumab/nivolumab in advanced NSCLC, irrespective of PD-L1 expression. <sup>17</sup>
<b>Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs)</b>	Assessment of lymphocyte infiltration seen within tumor tissue.	Higher TIL density associated with improved survival in NSCLC. <sup>47,48</sup> Extent of PD-L1 expression on TILs associated with response to atezolizumab. <sup>50</sup>
<b>Tumor Specific Genotypes</b>	Fluorescence in situ hybridization (FISH) or next generation sequencing to identify genomic alterations in EGFR, ALK, KRAS etc.	EGFR and ALK mutated tumors associated with poorer outcomes in second-line IO trials. <sup>54</sup> STK11/LKB1 co-mutation associated with IO resistance. <sup>61</sup>
<b>Gene Expression Signatures</b>	Multi-gene profiling to identify immunogenic gene signatures, e.g. activated T-cell, IFN-γ	High expression of T-effector and INF-γ related gene signature associated with improved OS with second-line atezolizumab in advanced NSCLC. <sup>27</sup>
<b>Serum-based</b>		
<b>Complete Blood Count (CBC) Markers (NLR, PLR, etc.)</b>	Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), platelet to lymphocyte ratio (PLR), absolute eosinophil count, and others as calculated from CBC differential.	Higher NLR associated with poorer prognosis in advanced NSCLC. <sup>71,72</sup> NLR correlated to treatment response in second-line nivolumab studies. <sup>74,75</sup>
<b>Blood Tumor Mutational Burden (bTMB)</b>	FoundationOne CDx with quantification of single nucleotide variants, GuardantOMNI CDx assay.	Higher bTMB associated with longer PFS with second-line atezolizumab in advanced NSCLC. <sup>78</sup> High bTMB subgroup with improved OS with first-line tremelimumab/durvalumab

## Απεικονιστικοί βιοδείκτες ανοσοθεραπείας

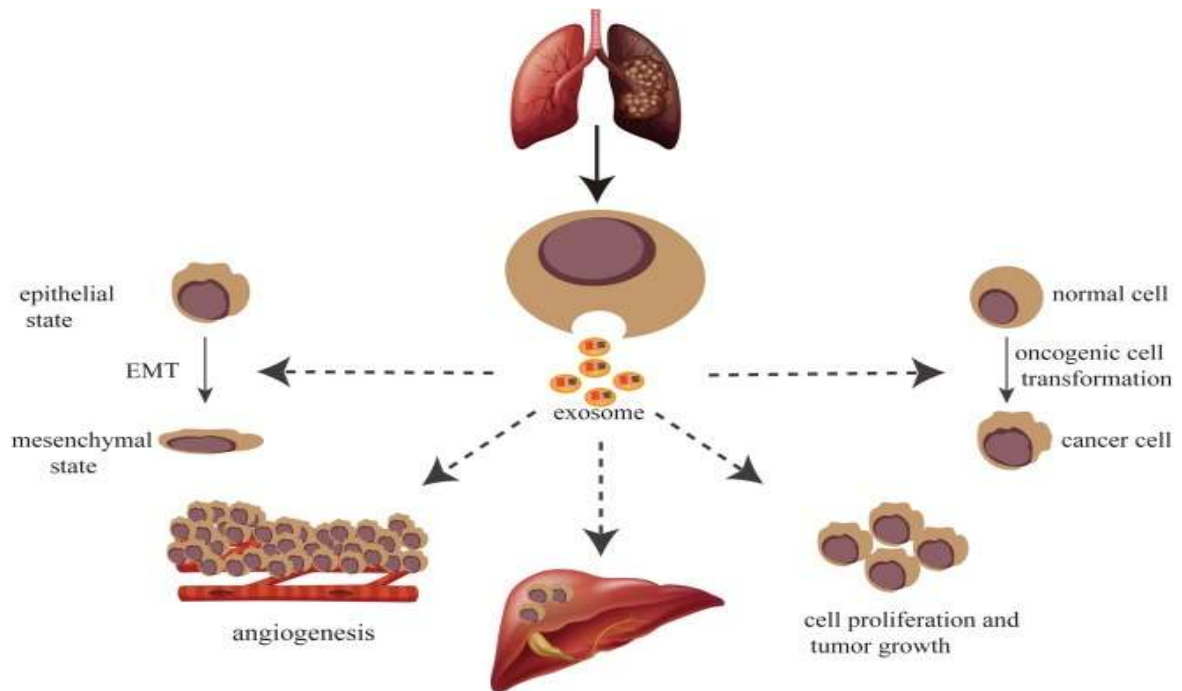
Καθώς η ανοσοθεραπεία έγινε μια σημαντική θεραπευτική στρατηγική για πολλούς τύπους καρκίνου, ένα νέο πεδίο έρευνας άνοιξε για την ανακάλυψη βιοδεικτών απεικόνισης εκτός από τους προγνωστικούς μοριακούς βιοδείκτες. Η απεικόνιση PET και υπολογιστικής τομογραφίας εκπομπής μονού φωτονίου (single-photon emission computer tomography- **SPECT**) χρησιμοποιεί ραδιοϊσότοπα για την επισήμανση συγκεκριμένων κυττάρων για στόχευση και οπτικοποίηση μέσω της απεικόνισης. Πολλές κλινικές μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη επί του παρόντος για την εξέταση διαφόρων απεικονιστικών δεικτών ή ραδιοσημάνσεων που θα μπορούσαν να παρέχουν προγνωστική εικόνα της απόκρισης στα αντισώματα anti-PD-1/PD-L1(Pharaon et al., 2020).

## Εξωσώματα

Είναι σημαντικό να βρεθούν βιοδείκτες για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα και την ευεργετική διερεύνηση ασφαλών και αποτελεσματικών μεθόδων μοριακής στοχευμένης θεραπείας. Μία από τις αρχές, για την επίτευξη των στόχων αυτών, είναι η αναγνώριση **εξωσωμάτων**, τα οποία μπορούν να ανιχνευθούν σε διάφορα σωματικά υγρά όπως το αίμα, τα ούρα, το ENY και το πλευριτικό υγρό. Εξ ορισμού, τα εξωσώματα είναι μικρά κυστίδια, με μεμβράνη διπλής λιπιδικής στοιβάδας, που σχηματίστηκαν αρχικά από την ενδοκυτταρική διαδικασία, με διάμετρο περίπου 30-100 nm. Αυτά είναι κυστίδια νανοκλίμακας που περιέχουν βιοενεργά μόρια όπως πρωτεΐνες, DNA, miRNAs, mRNAs και πρωτεΐνες που εκκρίνονται από διάφορους τύπους ζώντων κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα. Τα βιοενεργά μόρια που εκκρίνονται από τα εξωσώματα εισέρχονται στα κύτταρα-στόχους μέσω σύντηξης, ενδοκυττάρωσης και ειδικής δέσμησης με τη μεσολάβηση του υποδοχέα, καθιστώντας βασικούς ρυθμιστές της επικοινωνίας κυττάρου-κυττάρου στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Τα εξωσώματα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του καρκίνου του πνεύμονα, την εισβολή και τη μετάσταση του καρκίνου και την αγγειογένεση εμπλέκοντας την επαφή κύτταρο με κύτταρο και ελέγχοντας τη μεταγωγή σήματος των κυττάρων (διακυτταρική επικοινωνία),(**Εικόνα 35.**)(Xu et al., 2021).

Μια εκτενής βιβλιογραφία υπογραμμίζει μια σημαντική σχέση μεταξύ των εξωσωμάτων και του καρκίνου του πνεύμονα, καθιστώντας τα εξωσώματα δυνητικά ιδανικούς βιοδείκτες για την έγκαιρη διάγνωση και ανίχνευση του καρκίνου του πνεύμονα. Έχει αναφερθεί ότι ορισμένα εξωσώματα μπορεί να εμπλέκονται στην παρουσίαση και τη συνδιέγερση αντιγόνων. Οι ερευνητές διερεύνησαν τον ρόλο των εξωσωμάτων στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα μέσω μιας κλινικής δοκιμής φάσης II. Τα εξωσώματα έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά, όπως μεταφορά βιομορίων, σταθερότητα του κυκλοφορικού και ειδικότητα όγκου. Επίσης, τα εξωσώματα εμπλέκονται στη χορήγηση φαρμάκων και έχουν μελετηθεί

ευρέως για βιολογικά στοχευμένη θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα(Χυ et al., 2021).



**Εικόνα 35.** Ο ρόλος των εξωσωμάτων στον καρκίνο του πνεύμονα. Τα εξωσώματα που προέρχονται από καρκινικά κύτταρα επηρεάζουν την εξέλιξη του καρκίνου του πνεύμονα και εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη μετάσταση, την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (epithelial-mesenchymal transition - EMT) και την αγγειογένεση στον καρκίνο του πνεύμονα(Χυ et al., 2021).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Συνδυαστικές Θεραπείες και Μελλοντικές προοπτικές

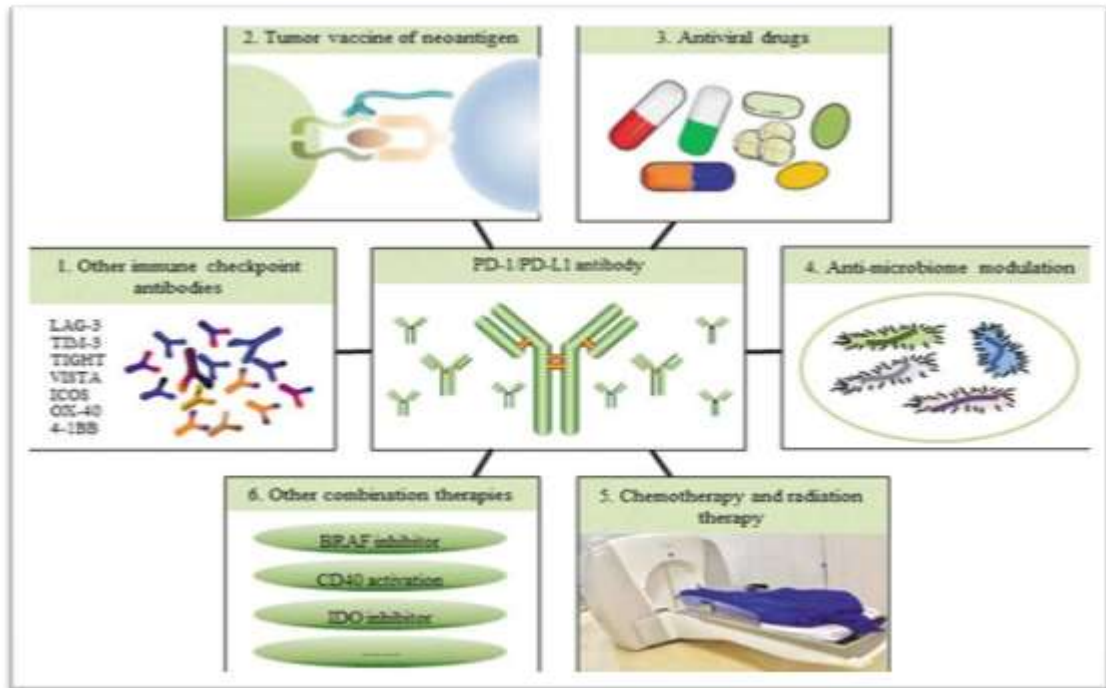
### 6.1 Συνδυαστικές Θεραπείες με Ανοσοθεραπεία

#### 6.1.1 Εισαγωγή

Επί του παρόντος, ένας αυξανόμενος αριθμός ερευνητών συνειδητοποιεί ότι οι αποκρίσεις στη θεραπεία με αντισώματα αντι-PD-1/PD-L1 και σε άλλες ανοσοθεραπείες εξαρτώνται από το μικροπεριβάλλον του όγκου (TIME), το οποίο μπορεί να διακριθεί ως ανοσογονικό (θερμό) TIME ή μη ανοσογονικό (ψυχρό) TIME. Μεγάλες ποσότητες TILs και κυτοκινών και υψηλή έκφραση PD-L1 εμφανίζονται σε θερμούς όγκους, ενώ οι ψυχροί όγκοι δεν δείχνουν σχεδόν καμία έκφραση PD-L1 και καμία διήθηση T-κυττάρων. Επομένως, κάποιος από τους λόγους για τους οποίους οι συνδυαστικές θεραπείες με αντισώματα anti-PD-1/PD-L1 μπορεί να παρέχουν καλύτερα κλινικά αποτελέσματα είναι οι εξής:

- 1) Θα δημιουργήσουν ένα θερμό TIME, για παράδειγμα, αύξηση της έκφρασης PD-L1 ή αύξηση των TIL, η οποία μπορεί να ενισχύσει την αντικαρκινική δραστηριότητα.
- 2) Θα στοχεύουν άλλους τύπους κυττάρων στο TIME, όπως τα MDSC, και θα παρέχουν αθροιστική επίδραση σε ολόκληρο το μικροπεριβάλλον του όγκου ή
- 3) μπορεί να μειώσουν τη δόση ή τον χρόνο θεραπείας σε σύγκριση με μία μόνο θεραπεία, η οποία μπορεί να μειώσει τις παρενέργειες των φαρμάκων.

Συνολικά, υπάρχουν πολλές μέθοδοι συνδυαστικής θεραπείας (**Εικόνα 36.**) και αυτές οι συνδυαστικές θεραπείες έχουν συνεργετικά αποτελέσματα, τα οποία μπορούν να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα των θεραπειών σε διάφορους καρκίνους (Jiang et al., 2019).



**Εικόνα 36.** Συνδυαστικές θεραπείες με αντισώματα anti-PD-1/PD-L1. Λόγω της πολυπλοκότητας του μικροπεριβάλλοντος του όγκου και της πολυπλοκότητας της ρύθμισης των σημείων ελέγχου στα TIL, μόνο μερικώς επιτυχή κλινικά αποτελέσματα του αποκλεισμού PD-1/PD-L1 έχουν επιτευχθεί σε ορισμένους όγκους. Επομένως, απαιτούνται συνδυαστικές θεραπείες. Αναπτύσσονται συνεχείς μελέτες, όπως η χρήση αντισωμάτων PD-1/PD-L1 σε συνδυασμό με άλλα αντισώματα σημείων ελέγχου, εμβόλια όγκων, αντιικά φάρμακα, ρύθμιση κατά του μικροβιώματος, χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία ή αναστολείς κινάσης ή ενζύμου. Οι συνδυαστικές θεραπείες θα είναι μια μελλοντική κατεύθυνση για τη θεραπεία ασθενών με καρκίνο (Jiang et al., 2019).

### 6.1.2 Συνδυασμός αντισωμάτων των ICIs

Τα CTLA-4 και PD-1 αναστέλλουν την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων με διαφορετικούς τρόπους. Ο πρώτος ασθενής στον οποίο χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός πρωτεϊνών ανοσολογικού σημείου ελέγχου υποβλήθηκε σε θεραπεία με αντισώματα anti-PD-1 και CTLA-4 το 2009. Σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα, το ποσοστό ανταπόκρισης στη συνδυαστική θεραπεία αποκλεισμού PD-1 και CTLA-4 ήταν περίπου 60% σε μελέτες Φάσης II και Φάσης III σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία αποκλεισμού του PD-1. Σημειωτέον, παρατηρήθηκε ελαφρώς υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης 3 ετών, αλλά και υψηλότερη συχνότητα τοξικότητας (Jiang et al., 2019).

Κατά τη διάρκεια του 2018, δημοσιεύθηκαν τρεις εργασίες αναφορικά με τη θεραπεία του καρκινώματος του πνεύμονα με αποκλεισμό του PD-1 και του CTLA-4. Αυτές απέδειξαν μεγαλύτερο κλινικό όφελος σε ασθενείς με υψηλό φορτίο μετάλλαξης όγκου (TMB) σε σύγκριση με ασθενείς με χαμηλό TMB, συμπεριλαμβανομένων βελτιωμένων αντικειμενικών αποκρίσεων, ανθεκτικών οφελών και ποσοστών επιβίωσης χωρίς εξέλιξη. Επομένως, το TMB μπορεί να είναι χρήσιμο ως γονιδιωματικός καθοριστικός παράγοντας για τον εντοπισμό ασθενών που μπορεί να ωφεληθούν από την ανοσοθεραπεία συνδυασμού αποκλεισμού PD-1 και CTLA-4 (Jiang et al., 2019).

Διεξάγονται επίσης πρόσθετες κλινικές μελέτες και πειράματα προκλινικών μοντέλων όγκου που αξιολογούν άλλες πρωτεΐνες σημείου ελέγχου σε συνδυασμό με αντισώματα anti-PD-1/PD-L1. Ο LAG-3, ο TIM-3, ο ανοσιακός υποδοχέας των Τ κυττάρων με περιοχές Ig και ITIM (T cell immune receptor with Ig and ITIM - TIGIT), και ο καταστολέας Ig της περιοχής V ενεργοποίησης Τ-κυττάρων (V-domain Ig suppressor of T-cell activation - VISTA) είναι πρωτεΐνες σημείου ελέγχου στα Τ κύτταρα. Μια ερευνητική μελέτη που χρησιμοποιεί anti-LAG-3 με και χωρίς αντισώματα anti-PD-1 στρατολογεί επί του παρόντος ασθενείς για να ελέγξει την ασφάλεια, την ανεκτικότητα και την αποτελεσματικότητά του για τη θεραπεία συμπαγών όγκων. Αξιοσημείωτη είναι επίσης και η στόχευση των TIM-3, TIGIT και VISTA σε συνδυασμό με τη στόχευση του μονοπατιού PD-1 όπου βελτίωσε τις αντικαρκινικές ανοσοαποκρίσεις. Η χρήση συνδυασμού χαμηλής δόσης των αναστολέων σημείου ελέγχου φαίνεται επίσης να είναι η βέλτιστη προσέγγιση για την ενίσχυση των κλινικών οφελών (Jiang et al., 2019).

Δυστυχώς, οι ασθενείς όπως έχει αναφερθεί μπορεί να εμφανίσουν ανεπιθύμητες ενέργειες όπως η ανάπτυξη δερματίτιδας, κολίτιδας, ηπατίτιδας, παγκρεατίτιδας και πνευμονίτιδας μετά από θεραπεία με αντισώματα anti-CTLA-4 ή anti-PD-1/PD-L1. Στην πραγματικότητα, οι συνδυαστικές θεραπείες σημείων ελέγχου έχουν ιδιαίτερα υψηλή τοξικότητα και παρενέργειες. Για παράδειγμα, οι περισσότεροι ασθενείς με μελάνωμα εμφανίζουν ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό (irAEs) κατά τη διάρκεια θεραπειών συνδυασμού αντισωμάτων anti-PD-1/PD-L1 και anti-CTLA-4. Ως εκ τούτου, ενδέχεται να απαιτηθούν περαιτέρω

μελέτες για τη διερεύνηση των μηχανισμών αυτών των θεραπειών σημείων ελέγχου για τη βελτίωση των τοξικοτήτων(Jiang et al., 2019).

### 6.1.3 Συνδυασμός ICIs και Χημειοθεραπείας

Παρά τις προόδους που περιγράφονται στη χρήση των ICIs ως μονοθεραπεία ενός παράγοντα, μόνο μια μειοψηφία ασθενών ανταποκρίνεται στη θεραπεία. Πιο πρόσφατα, συνδυασμοί μεταξύ των ICIs όπως αναφέρθηκαν παραπάνω αλλά και συνδυασμοί ICIs και χημειοθεραπείας έχουν διερευνηθεί με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Ο συνδυασμός ICIs με χημειοθεραπεία έχει τη δυνατότητα συνέργειας μέσω πολλών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της βελτίωσης της παρουσίας αντιγόνου στα T κύτταρα και της εξάλειψης των ανοσοκατασταλτικών στοιχείων του ανοσοποιητικού μικροπεριβάλλοντος του όγκου(Doroshov et al., 2019).

Το πρώτο μήνυμα ότι η χημειοθεραπεία συνδυαστική με ICIs μπορεί να βελτιώσει τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε στην Κοόρτη G της KEYNOTE-021, μιας ανοιχτής μελέτης Φάσης II, η οποία τυχαιοποίησε ασθενείς που δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία για προχωρημένο μη πλακώδες NSCLC και συνδύασε την καρβοπλατίνα (carboplatin) και το pemetrexed με ή χωρίς ταυτόχρονη χορήγηση rembrolizumab ως θεραπεία πρώτης γραμμής. Αξίζει να σημειωθεί ότι η πρωταρχική έκβαση του ORR επιτεύχθηκε σε ποσοστό 55% των συμμετεχόντων που λάμβαναν συνδυαστική θεραπεία έναντι 29% εκείνων που υποβλήθηκαν μόνο σε χημειοθεραπεία, γεγονός που οδήγησε την έγκριση του FDA για το rembrolizumab σε αυτό το πλαίσιο(Awad et al., 2021; Doroshov et al., 2019).

Η κλινική μελέτη KEYNOTE-189 Φάσης III, παρόμοιου σχεδιασμού με την KEYNOTE-021, τυχαιοποίησε ασθενείς που δεν είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία για το μεταστατικό μη πλακώδες NSCLC στην οποία οι συμμετέχοντες έλαβαν καρβοπλατίνα και pemetrexed με rembrolizumab ή εικονικό φάρμακο. Ο συνδυασμός rembrolizumab βελτίωσε τόσο την PFS (8,8 έναντι 4,9 μηνών) όσο και την OS 12 μηνών (69,2% έναντι 49,4%) σε σύγκριση με τη χημειοθεραπεία μόνο. Αυτό το πλεονέκτημα επιβίωσης παρατηρήθηκε μεταξύ ασθενών με θετική και αρνητική έκφραση PD-L1 όγκου (με TPS <1%, ≥1%, 1–49%, ≥50%). Παρενέργειες 3<sup>ου</sup> βαθμού ή υψηλότερου εμφανίστηκαν στο 67,2% των ασθενών στην ομάδα συνδυασμού rembrolizumab και στο 65,8% των συμμετεχόντων που έλαβαν χημειοθεραπεία μόνο, υποδηλώνοντας ότι προστίθεται μικρή τοξικότητα με τη χρήση των ICIs(Doroshov et al., 2019).

Δύο κλινικές δοκιμές εξέτασαν τη δραστηριότητα του atezolizumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία για τη θεραπεία πρώτης γραμμής του μεταστατικού μη πλακώδους NSCLC. Η κλινική μελέτη IMpower 150 Φάσης III, τυχαιοποίησε τους ασθενείς σε τρεις ομάδες ανάλογα με τον συνδυασμό της φαρμακευτικής αγωγής:

- a) Atezolizumab, Bevacizumab, Carboplatin και Paclitaxel (ABCP)
- b) Atezolizumab, Carboplatin και Paclitaxel (ACP)
- c) Bevacizumab, Carboplatin και Paclitaxel (BCP)

Τα δεδομένα που προέρχονται από τη σύγκριση των ομάδων ABCP και BCP είναι πλέον διαθέσιμα. Σε ασθενείς που δεν εμφανίζουν αλλοιώσεις EGFR και ALK, τόσο η διάμεση τιμή PFS όσο και η OS βελτιώθηκαν στην ομάδα που περιελάμβανε atezolizumab (mPFS 8,3 έναντι 6,8 μηνών· mOS 19,2 έναντι 14,7 μηνών) σε σύγκριση με την ομάδα που έλαβε χημειοθεραπεία και bevacizumab. Οι ασθενείς με όλα τα επίπεδα έκφρασης PD-L1 τόσο σε κύτταρα όγκου όσο και σε κύτταρα του ανοσοποιητικού επωφελήθηκαν, με το όφελος να αυξάνεται με υψηλότερη έκφραση. Ωστόσο, οι ασθενείς με έκφραση 0% του PD-L1 είχαν επίσης βελτιωμένη επιβίωση. Είναι ενδιαφέρον ότι οι ασθενείς με αλλοιώσεις EGFR και ALK βρέθηκαν επίσης να ωφελούνται από τη συνδυαστική θεραπεία με Atezolizumab. Μια υψηλότερη συχνότητα ανεπιθύμητων ενεργειών βαθμού  $\geq 3$  παρατηρήθηκε στην ομάδα συνδυασμού του Atezolizumab (55,7% έναντι 47,7%), που αποτελούνταν κυρίως από ναυτία, διάρροια, ανορεξία, ουδετεροπενία, εμπύρετη ουδετεροπενία και θρομβοπενία. Το όφελος όμως παραμένει μεγαλύτερο και ο FDA ενέκρινε το ABCP για την πρώτη γραμμή θεραπείας ασθενών με μεταστατικό μη πλακώδες NSCLC χωρίς αλλοιώσεις στους EGFR ή ALK (Doroshov et al., 2019; Socinski et al., 2018, 2021).

Η κλινική μελέτη IMpower 132 εξέτασε επίσης το ρόλο του Atezolizumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία, ως πρώτη γραμμή θεραπείας, για το μη πλακώδες NSCLC σταδίου IV στο οποίο δεν είχε προηγηθεί θεραπεία. Η PFS βελτιώθηκε στην ομάδα που περιείχε Atezolizumab (7,6 έναντι 5,2 μηνών) και το όφελος παρατηρήθηκε σε ασθενείς με θετική και αρνητική έκφραση PD-L1. Ωστόσο, δεδομένα για την OS δεν είναι ακόμη διαθέσιμα (Doroshov et al., 2019).

Με βάση τις παραπάνω μελέτες, είναι σαφές ότι τόσο το pembrolizumab όσο και το atezolizumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία βελτιώνουν την OS στη θεραπεία πρώτης γραμμής του μεταστατικού **μη πλακώδους NSCLC**.

Οι αναστολείς PD-(L)1 έχει επίσης αποδειχθεί ότι βελτιώνουν τα αποτελέσματα σε ασθενείς που δεν είχαν λάβει θεραπεία στο μεταστατικό **πλακώδες NSCLC** σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία. Η κλινική μελέτη KEYNOTE-407, περιλάμβανε ασθενείς με μεταστατικό πλακώδες NSCLC που δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν 4 κύκλους θεραπείας με carboplatin και με taxane με ή χωρίς pembrolizumab. Οι ασθενείς στην ομάδα που περιείχε pembrolizumab είχαν σημαντική βελτιωμένη διάμεση OS σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν χημειοθεραπεία μόνο (15,9 έναντι 11,3 μηνών). Το όφελος παρατηρήθηκε σε όλες τις ομάδες PD-L1 TPS. Το γεγονός αυτό, οδήγησε στην έγκριση του FDA και στην καθιέρωση αυτής της τριπλέτας ως ένα καινούριο πρότυπο φροντίδας για αυτή την πληθυσμιακή ομάδα ασθενών. Ανεπιθύμητες ενέργειες βαθμού  $\geq 3$  παρατηρήθηκαν στο 69,8% των ασθενών που έλαβαν pembrolizumab έναντι του 68,2% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία μόνο με



χημειοθεραπεία, γεγονός που υποδηλώνει ότι η προσθήκη pembrolizumab δεν αύξησε σημαντικά την τοξικότητα (Doroshov et al., 2019; Jotte et al., 2020).

Τα δεδομένα από την τυχαιοποιημένη μελέτη IMpower 131 Φάσης III, υποδηλώνουν ότι το atezolizumab σε συνδυασμό με χρήση χημειοθεραπείας μπορεί επίσης να επιτελέσει σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση του μεταστατικού πλακώδους NSCLC ως θεραπεία πρώτης γραμμής. Οι συμμετέχοντες της μελέτης που έλαβαν atezolizumab με carboplatin και nab-paclitaxel είχαν αυξημένη διάμεση PFS σε σύγκριση με εκείνους που τους χορηγήθηκαν μόνο χημειοθεραπευτικά (6,3 έναντι 5,6 μηνών). Αυτό το όφελος βρέθηκε σε όλα τα επίπεδα έκφρασης PD-L1 αλλά ήταν πιο έντονο σε εκείνα με τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης. Η ενδιάμεση ανάλυση OS δεν έδειξε καμία σημαντική διαφορά στην επιβίωση, αλλά εκκρεμεί εκτενέστερη παρακολούθηση. Αν και αυτά τα δεδομένα είναι ενθαρρυντικά, το pembrolizumab είναι ο μόνος ICI που έχει δείξει όφελος στη συνολική επιβίωση μέχρι σήμερα σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία για την πρώτη γραμμής διαχείριση του μεταστατικού πλακώδους NSCLC (Doroshov et al., 2019; Jotte et al., 2020).

#### 6.1.4 Συνδυασμός ICIs και Ακτινοθεραπείας

Η ακτινοθεραπεία είναι η πιο σημαντική μη χειρουργική θεραπεία στη διεπιστημονική διαχείριση ασθενών με NSCLC. Εκτός από τη βλάβη του DNA και τη διαμόρφωση της μεταγωγής σήματος, συγκεκριμένα, οι επαγόμενες από την ακτινοβολία αντικαρκινικές διεργασίες περιλαμβάνουν επίσης αλλαγή του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Η ακτινοβολία μπορεί να ρυθμίσει την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή στη θέση του όγκου ενεργοποιώντας τη στρατολόγηση και την ενεργοποίηση αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων και την έναρξη των ειδικών αποκρίσεων των T-κυττάρων κατά του όγκου απελευθερώνοντας πολλά μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με τη βλάβη. Ωστόσο, η ανοσολογική διαφυγή αναπτύσσεται συχνά με την υποτροπή του όγκου, περιορίζοντας έτσι τη διάρκεια της αντικαρκινικής ανοσολογικής απόκρισης στην ακτινοθεραπεία (Gong et al., 2017).

Οι PD-1 και PD-L1 θα μπορούσαν να προκαλέσουν διαφυγή των καρκινικών κυττάρων από την ανοσοαπόκριση του ξενιστή μέσω της αναστολής της λειτουργίας των τελεστικών T-κυττάρων. Εκτός από τις φλεγμονώδεις κυτοκίνες, μεταξύ των οποίων η ιντερφερόνη γ (IFN-γ) είναι η πιο ισχυρή, η έκφραση του PD-L1 μπορεί επίσης να ρυθμιστεί σε ένα ογκογόνο περιβάλλον, όπως η ενεργοποίηση του μονοπατιού EGFR, της φωσφοϊνοσιτιδικής 3-κινάσης (PI3K)/AKT, και του MEK/ERK. Μια πρόσφατη μελέτη των Dovedi et al. έχει δείξει ότι μετά την παροχή ακτινοθεραπείας, η έκφραση PD-L1 κυττάρων όγκου ρυθμίζεται προς τα πάνω από την IFN-γ που παράγεται από CD8 T κύτταρα. Επιπλέον, η ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει τοπική φλεγμονώδη απόκριση και ταυτόχρονα να προκαλέσει έκφραση

PD-L1 στο μικροπεριβάλλον του όγκου, το οποίο μειώνει την ευαισθησία της αντικαρκινικής ανοσοαπόκρισης. Έτσι, εάν ξεπεραστεί η επαγόμενη από το PD-1/PD-L1 ανοσολογική διαφυγή, η ακτινοθεραπεία μπορεί να έχει τη δυνατότητα να δημιουργήσει ανθεκτικές αποκρίσεις έναντι των καρκινικών κυττάρων(Gong et al., 2017).

Μέχρι σήμερα, τα μονοκλωνικά αντισώματα PD-1, συμπεριλαμβανομένων των pembrolizumab και nivolumab, έχουν εγκριθεί ως τυπική θεραπεία δεύτερης γραμμής για το NSCLC μετά την αποτυχία ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία. Παρόλα αυτά, η διεύρυνση του πληθυσμού των ασθενών που επωφελούνται από τα αντισώματα anti-PD-1/PD-L1 εξακολουθεί να είναι μια ανικανοποίητη ανάγκη στην κλινική πράξη, επειδή λίγοι ασθενείς με NSCLC ανταποκρίνονται στα αντισώματα anti-PD-1/PD-L1(Gong et al., 2017).

Η αθροιστική επίδραση της ακτινοθεραπείας και της ανοσοθεραπείας διερευνήθηκε στην κλινική μελέτη PACIFIC Φάσης III. Ένα μακροπρόθεσμο όφελος επιβίωσης παρατηρήθηκε με τον αναστολέα PD-L1 durvalumab έναντι εικονικού φαρμάκου όταν χρησιμοποιήθηκε ως θεραπεία σταθεροποίησης σε ασθενείς με μη χειρουργήσιμο NSCLC σταδίου 3, οι οποίοι δεν είχαν εξέλιξη της νόσου έπειτα από ταυτόχρονη χημειοακτινοθεραπεία(Horvath et al., 2020). Είναι σημαντικό το γεγονός, ότι η ακτινοθεραπεία σε συνδυασμό με τα αντισώματα anti-PD-L1 ενισχύουν συνεργετικά την αντικαρκινική ανοσία στο NSCLC και σε άλλους τύπους καρκίνου(Gong et al., 2017).

## 6.2 Μελλοντικές προοπτικές

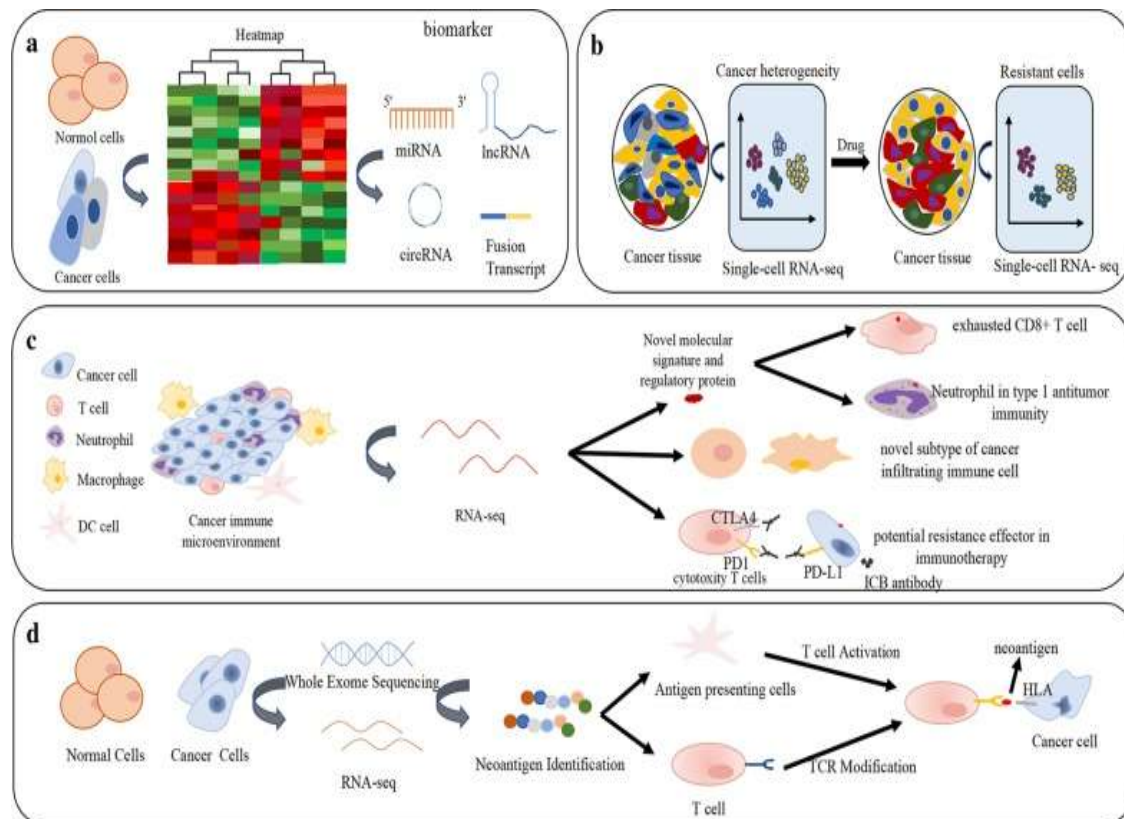
Υπάρχουν ακόμη πολλές συνδυαστικές θεραπείες που βρίσκονται υπό ανάπτυξη για εφαρμογή όπως είναι ο συνδυασμός αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου με χρήση εμβολίων, με νεοαντιγόνα όγκου και ο συνδυασμός των ICIs με αντιικά φάρμακα(Jiang et al., 2019). Αυτές οι εφαρμογές αποτελούν ισχυρό κίνητρο ανάπτυξης συνδυαστικών προσεγγίσεων και εξέλιξης των θεραπειών κατά του καρκίνου, αν και απαιτούνται περισσότερες κλινικές δοκιμές και ολοκληρωμένες μελέτες, για την επικύρωση της ασφάλειας και της αξιοπιστίας τους(Horvath et al., 2020).

Ακόμα, πολλές από τις νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις είτε στοχεύουν στην αναστολή εγγενών ανοσοκατασταλτικών (IDO, CD73/αδενοσίνη, VEGF, CCR4, CXCR2, αργινάση) είτε προωθούν προφλεγμονώδη/ανοσογόνα μονοπάτια (STING, RIG-I, PAMP). Οι συνδυασμοί αυτών των στοχευμένων προσεγγίσεων με διαφορετικά ICIs είναι συχνά συνεργικοί και μπορεί να εξελιχθούν ως ελπιδοφόρες στρατηγικές για να ξεπεραστεί η αντίσταση στην ανοσοθεραπεία(Horvath et al., 2020).

### Η τεχνολογία του RNA στην αντιμετώπιση του καρκίνου

Η ανάλυση της αλληλουχίας του RNA έδωσε τη δυνατότητα στους ερευνητές να εμβαθύνουν περισσότερο στον εσωτερικό μικρόκοσμο του κυττάρου και να κατανοήσουν τη δραστηριότητα του κυττάρου σε μοριακό επίπεδο. Επιπλέον, η συνεχής έρευνα συνέβαλε στην αποσαφήνιση τόσο του γονιδιώματος όσο και των μεταγραφικών και μεταφραστικών λειτουργιών. Ως αναπόσπαστο μέρος της αλληλουχίας υψηλής απόδοσης, η αλληλουχία RNA (RNA sequencing - **RNA-seq**) και ειδικά η αλληλουχία του μονοκυτταρικού RNA (single-cell RNA sequencing - **scRNA-seq**), παρέχει βιολογικές πληροφορίες για ένα μεμονωμένο καρκινικό κύτταρο. Αναλύει τους καθοριστικούς παράγοντες της ετερογένειας του όγκου και προσδιορίζει τη μοριακή βάση του σχηματισμού πολλών ογκολογικών ασθενειών, προσφέροντας έτσι σημαντικές γνώσεις για την έρευνα των θεραπειών του καρκίνου (Hong et al., 2020).

Η αλληλουχία του RNA έχει συμβάλλει σημαντικά στην έρευνα για τον καρκίνο (**Εικόνα 37.**), στην οποία συμπεριλαμβάνονται μελέτες ανάλυσης της διαφορικής έκφρασης γονιδίων και βιοδεικτών. Επίσης ερευνάται η ετερογένεια και η εξέλιξη του καρκίνου, καθώς και η αντίσταση της φαρμακευτικής αγωγής έναντι των κακοηθειών. Τέλος, μελετάται το μικροπεριβάλλον του καρκίνου, η ανάλυση των νεοαντιγόνων, η ανοσοθεραπεία κ.α. (Hong et al., 2020).



**Εικόνα 37.** a) Ανάλυση της διαφορικής έκφρασης των καρκινικών κυττάρων, με αλληλουχία RNA μπορεί να αναγνωρίσει πιθανούς ειδικούς βιοδείκτες, συμπεριλαμβανομένων, των αντιγράφων σύντηξης, lncRNA, miRNA και circRNA. b) Η ετερογένεια και η ανθεκτικότητα στα φάρμακα των καρκινικών κυττάρων που προσδιορίζονται από το RNA-seq. c) Η νέα μοριακή υπογραφή των κυττάρων, οι ρυθμιστικές πρωτεΐνες και οι άγνωστοι υπότυποι των διεισδυτικών ανοσοκυττάρων του όγκου και ο δυνητικός παράγοντας αντίστασης στην ανοσοθεραπεία μπορούν να αναγνωριστούν από το RNA-seq. d) Η δημιουργία προφίλ του νεοαντιγόνου μέσω του RNA-seq και η τροποποίηση του TCR με στόχο τα νεοαντιγόνα [Hong et al., 2020].

Το RNAi (RNA interference) περιγράφηκε για πρώτη φορά σε οργανισμό το 1998, έκτοτε αυτή η τεχνολογία γονιδιακής σίγασης έχει αναπτυχθεί ευρέως. Φυσιολογικά, το RNAi είναι ένας αρχαίος κυτταρικός αμυντικός μηχανισμός που προστατεύει τα φυτά και τους ασπόνδυλους οργανισμούς από ιούς και διάφορα γενετικά στοιχεία. Το RNAi μεσολαβείται από μικρά παρεμβαλλόμενα RNA, τα οποία καλούνται siRNA (short interfering RNAs). Σημαντική ανακάλυψη αποτέλεσε το γεγονός ότι η μετάβαση μορίων siRNA σε κύτταρα θηλαστικών προκάλεσε σιγή ειδικών γονιδίων. Αυτό έδειξε ότι το RNAi θα μπορούσε δυνητικά να εφαρμοστεί ως ειδικό μέσο αναστολής της έκφρασης οποιουδήποτε γονιδίου ενδιαφέροντος σε θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπινων κυττάρων (Lage, 2005).

Ένα σημαντικό μειονέκτημα της εφαρμογής των siRNAs είναι η παροδική δράση αναστολής της έκφρασης γονιδίου. Έτσι, έχουν αναπτυχθεί πιο αποτελεσματικά και σταθερά μακροπρόθεσμα γονιδιακά συστήματα μεσολάβησης του RNAi. Αυτές οι προσεγγίσεις χρησιμοποιούν πλασμιδικούς ή ιικούς φορείς έκφρασης, για την παραγωγή μικρών φουρκετών RNA, τα λεγόμενα shRNAs (short hairpin RNAs) (Lage, 2005; Maduri, 2015).

Οι αρχικές *in vitro* μελέτες με χρήση του RNAi έγιναν σε γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο και αφορούσαν τη σίγαση γνωστών και κοινών ογκογονιδίων όπως το K-ras, το μεταλλαγμένο p53 ή το Bcr-Abl. Ωστόσο, είναι σημαντικό να καταγραφεί ότι για την επιλεκτική θεραπεία των κακοήθων κυττάρων χωρίς να επηρεάζονται βλαπτικά τα φυσιολογικά κύτταρα, τα siRNA ή τα shRNAs θα πρέπει να επιλέγονται για να στοχεύουν ένα γονίδιο που εμπλέκεται ειδικά στην ανάπτυξη ή την επιβίωση του κακοήθους κυττάρου ή να χορηγούνται επιλεκτικά στα νεοπλασματικά κύτταρα (Lage, 2005).

Παρόλο που η θεραπεία με RNAi από μόνη της είναι πολύ ισχυρή έναντι του καρκίνου, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με φαρμακευτικές θεραπείες όπου μπορεί να ενισχύσει τη δράση του φαρμάκου με διάφορους τρόπους, όπως η ευαισθητοποίηση των καρκινικών κυττάρων προς το φάρμακο ή η καταστολή της ικανότητας των καρκινικών κυττάρων να αναπτύσσουν αντίσταση στο φάρμακο (Maduri, 2015).

Για παράδειγμα, η χρήση χημειοθεραπευτικών παραγόντων πολλές φορές εμφανίζει δόσοεξαρτώμενες τοξικότητες. Σε περίπτωση τέτοιων φαρμάκων, οι παρενέργειες μπορεί να ελαττωθούν με τη μείωση της δόσης, παράλληλα όμως οδηγεί και σε απώλεια της αποτελεσματικότητας. Ο συνδυασμός του φαρμάκου με RNAi επιλύει αυτό το πρόβλημα. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί καταστέλλοντας την παραγωγή οποιουδήποτε παράγοντα προαγωγής καρκίνου, ο οποίος οδηγεί σε ελάττωση της απαιτούμενης δόσης του φαρμάκου. Μια τέτοια επιτυχημένη προσπάθεια ήταν η αναστολή ενός αντιαποπτωτικού παράγοντα, της λευχαιμίας των μυελοειδών κυττάρων-1 από το siRNA, που αύξησε την αποπτωτική αποτελεσματικότητα της επιρουβικίνης και της 5-φλουροουρακίλης σε κυτταρικές σειρές Hep3B, HepG2 και Huh7 ανθρώπινου ηπατικού καρκινώματος (Maduri, 2015).

## Η τεχνολογία του RNA στην αντιμετώπιση του καρκίνου του πνεύμονα

Μικρά μόρια RNA, τα microRNAs (miRNAs) αποτελούμενα από περίπου 20-24 νουκλεοτίδια, έχει βρεθεί ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της ογκογένεσης ρυθμίζοντας τον κυτταρικό κύκλο, τη μετάσταση, την αγγειογένεση, τον μεταβολισμό και την απόπτωση. Τα miRNA ουσιαστικά ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων μέσω της μετα-μεταγραφικής ρύθμισης του mRNA. Έχουν επίσης κατηγορηθεί για τη συμβολή τους στη ρύθμιση των μεταβολικών μηχανισμών των καρκινικών κυττάρων και της αντίστασης ή της ευαισθησίας στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Ακόμα, έχει αποδειχθεί ότι τα miRNAs παίζουν ρόλο στη ρύθμιση των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού, όπως είναι ο PD-1 και ο συνδέτης του PD-L1. Τέλος κρίσιμη είναι η διερεύνηση της σημασίας τους στον καρκίνο του πνεύμονα(Iqbal et al., 2019).

Τα κυκλοφορούντα miRNA μπορούν να γίνουν αντληπτά σε οποιοδήποτε στάδιο, ξεκινώντας από την πρώιμη έως την εξέλιξη και ακόμη και μετά τη μετάσταση του καρκίνου του πνεύμονα. Το γεγονός αυτό τα καθιστά δυνητικούς βιοδείκτες, επιτρέποντάς την παρατήρησή τους και τις αλλαγές που υφίστανται σε πραγματικό χρόνο. Για παράδειγμα, το miR-195-5p αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα μέσω αρκετών στόχων, αλλά ρυθμίζεται αρνητικά στο πλάσμα σε περίπτωση προχωρημένων κλινικών σταδίων ή λεμφαδενικών μεταστάσεων. Αυτές οι αλλαγές παρατηρούνται σε πρώιμο στάδιο, ακόμη και πριν από την εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων ή πριν από την εξέταση βιοψίας. Το προφίλ έκφρασης των miRNA για τον καρκίνο του πνεύμονα θα μπορούσαν να είναι διαγνωστικός δείκτης καθώς τα miRNAs έχουν βρεθεί ότι υπάρχουν και εκφράζονται σταθερά σε σωματικά υγρά όπως ο ανθρώπινος ορός/πλάσμα και τα πτύελα σε σημαντική ποσότητα. Επιπλέον, τα επίπεδα των κυκλοφορούντων miRNAs συμβαδίζουν με την επιβίωση του ασθενούς, την εξέλιξη του καρκίνου και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Τέλος, τα miR-145-5p, miR-21-5p, miR-221-3p, miR-222-5p, miR-20a-5p, miR-146a-5p και miR-223-3p έχουν αποδειχθεί επισήμως ως βιοδείκτες στην έγκαιρη ανίχνευση του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα(Iqbal et al., 2019).

Τα εμβόλια με βάση το RNA έχουν αναδειχθεί ως ένα πολλά υποσχόμενο υποκατάστατο για τα συμβατικά εμβόλια. Το πεδίο του εμβολίου κατά του καρκίνου βρίσκεται σε φάση ανάπτυξης και μόνο λίγες μελέτες είναι διαθέσιμες, ιδιαίτερα για την θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα. Ωστόσο, τα αποτελέσματα τους υποδηλώνουν τη σημασία της ανοσοθεραπείας που βασίζεται σε mRNA σε συνδυασμούς με αναστολείς του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα(Khan et al., 2021).

Ο εκ των προτέρων προσδιορισμός των μηχανισμών αντίστασης για την έναρξη στοχευμένων θεραπειών θα απεικονίσει μια σημαντική πρόκληση. Η βαθύτερη ανάλυση του καρκινικού όγκου, συμπεριλαμβανομένης της αλληλουχίας ολόκληρου του γονιδιώματος, της αλληλουχίας μονοκυτταρικού RNA, της πολυδιάστατης

κυτταρομετρίας ροής ή της επιγενετικής ενδέχεται να εφαρμοστούν στο μέλλον για την εύρεση χρήση εξατομικευμένων στρατηγικών θεραπειάς(Horvath et al., 2020).

## Συμπεράσματα

Στην παρούσα βιβλιογραφική εργασία μελετήθηκε και αναλύθηκε εκτενώς ο ρόλος του καρκίνου του πνεύμονα και η αξία των ανοσοθεραπευτικών μεθόδων και ιδιαίτερα της αναστολής του μονοπατιού PD-1/PD-L1.

Αναλυτικότερα, μέσω της περιγραφής των διάφορων τύπων κακοηθειών συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του πνεύμονα συλλέχθηκαν πολύτιμες πληροφορίες για την αξιολόγηση και κατηγοριοποίηση της ασθένειας αυτής. Ακόμα, αναδείχθηκε ο όγκος των προσπαθειών και η συμβολή των ερευνητών για την καταπολέμηση του καρκίνου από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα, μέσω των διαφόρων τύπων θεραπείας που αναπτύχθηκαν.

Η κατανόηση του ανοσοποιητικού συστήματος και ειδικότερα των κυτταρικών λειτουργιών και των σηματοδοτικών μηχανισμών, αποτέλεσε αξιοσημείωτο επίτευγμα καθώς ερευνήθηκαν κυτταρικοί και μοριακοί παράγοντες, τόσο σε υγιείς όσο και σε καρκινικούς ιστούς. Η δράση των T και B λεμφοκυττάρων έναντι των καρκινικών κυττάρων έγινε η αφορμή για την ανάπτυξη και χρήση των μεθόδων ανοσοθεραπείας.

Πλέον, στην κλινική πράξη είναι διαθέσιμες ποικίλες ανοσοθεραπευτικές μέθοδοι όπως:

- Οι Θεραπείες ογκολυτικών ιών (Oncolytic virus therapies)
- Τα Εμβόλια κατά του καρκίνου (Cancer vaccines)
- Οι Θεραπείες με κυτοκίνες (Cytokine therapies)
- Η Θεραπεία υιοθετούμενων κυττάρων (Adoptive cell therapy- ACT)
- Οι Αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου (immune checkpoint inhibitors)

Παρόλα αυτά τα καρκινικά κύτταρα πολλές φορές παρουσιάζουν ανοχή, με αποτέλεσμα την αδυναμία καταπολέμησής τους. Για το λόγο αυτό ερευνήθηκε το TIME, δηλαδή το μικροπεριβάλλον του όγκου. Η ετερογένεια και η πολυπλοκότητα του TIME και των δραστηριοτήτων που επιτελούνται μέσα σε αυτό καθώς και οι μηχανισμοί αντίστασης που εκδηλώνουν, χρήζουν ιδιαίτερης προσοχής και πιο εκτεταμένης έρευνας.

Το μονοπάτι του PD-1/PD-L1 όταν ενεργοποιείται σε φυσιολογικά κύτταρα επιτελεί στην αρνητική ρύθμιση των ανοσοαποκρίσεων που προκαλούνται από τα T κύτταρα στους περιφερικούς ιστούς, όταν η δράση τους πρέπει να περιοριστεί. Ωστόσο, όταν τα μόρια PD-1/PD-L1 εκφράζονται στο μικροπεριβάλλον του όγκου προκαλούν τη διαφυγή και απόκρυψη των καρκινικών κυττάρων από την στενή επιτήρηση του ανοσοποιητικού συστήματος, λόγω ενεργοποίησης διάφορων σηματοδοτικών μονοπατιών.



Στο σημείο αυτό η ανοσοθεραπεία με τη φαρμακευτική χορήγηση των αναστολέων ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου (ICIs), προκαλεί αναστολή του μονοπατιού αυτού και κατ' επέκταση ύφεση της ασθένειας, δίνοντας ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Οι πιο γνωστοί φαρμακευτικοί αναστολείς που έχουν πάρει έγκριση από τον FDA είναι το Pembrolizumab και το Nivolumab ως anti-PD-1 μόρια και το Atezolizumab και Durvalumab ως anti-PD-L1 μόρια.

Ποικίλες κλινικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σε ασθενείς με προχωρημένο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, δοκιμάζοντας την αποτελεσματικότητα διαφόρων ανασταλτικών παραγόντων.

Για το φαρμακευτικό αναστολέα Nivolumab οι βασικές κλινικές δοκιμές που μελετήθηκαν ήταν η CheckMate 003, η CheckMate 063, CheckMate 017 κ.α. Για το Pembrolizumab αναφέρθηκαν οι κλινικές μελέτες KEYNOTE-001, KEYNOTE-010 και KEYNOTE-024. Για το Atezolizumab αναλύθηκαν οι κλινικές μελέτες POPLAR, OAK και BIRCH. Τέλος, για το Durvalumab μελετήθηκε κλινική δοκιμή PACIFIC.

Παράλληλα με την θεραπεία αναπτύχθηκαν και μέθοδοι προσδιορισμού της έκφρασης ορισμένων βιοδεικτών στους όγκους. Η έκφραση των μορίων αυτών στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων όπως η έκφραση του PD-L1, του TMB, των TILs κ.α. αποσκοπεί σε μία προσπάθεια ταξινόμησης των ασθενών, για μία πιο στοχευμένη και αποτελεσματική ανοσοθεραπεία.

Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι η χρήση της ανοσοθεραπείας συνδυαστικά με άλλες κλασικές μεθόδους θεραπείας επιφέρει καλύτερα αποτελέσματα με περισσότερες προοπτικές σε περιπτώσεις καρκίνου προχωρημένου σταδίου.

## Περίληψη

Ο καρκίνος του πνεύμονα, αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο, λόγω της συχνότητας και της καθυστερημένης διάγνωσης του. Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στην αντιμετώπιση του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα, ο οποίος καταλαμβάνει το μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης σε άνδρες και γυναίκες. Η ανάπτυξη της τεχνολογίας και η εξέλιξη των επιστημών της βιολογίας του ανθρώπου και της ιατρικής συνέβαλαν στην κατανόηση των λειτουργιών του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπου και στην εύρεση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Στη φαρέτρα της κλινικής ιατρικής, βρίσκονται σήμερα κλασικές μέθοδοι θεραπείας όπως είναι η χειρουργική, η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία ενώ, πρόσφατα εντάχθηκε και η ανοσοθεραπεία. Η ανακάλυψη και η κατανόηση του μονοπατιού PD-1/PD-L1 έφερε επανάσταση στον τομέα της ανοσοθεραπείας, με την αναστολή του μονοπατιού αυτού ως φαρμακευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του πνεύμονα και άλλων τύπων καρκίνου. Οι κυριότεροι ανασταλτικοί παράγοντες (ICIs) είναι το Pembrolizumab και το Nivolumab ως anti-PD-1 μόρια και το Atezolizumab και το Durvalumab ως anti-PD-L1 μόρια. Αυτά έχουν αξιολογηθεί σε διάφορες κλινικές μελέτες, οι οποίες ερεύνησαν τον τρόπο δράσης τους. Τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα των μελετών, ενέκριναν την χρήση των φαρμάκων από τον FDA. Πλέον διάφοροι αναστολείς των PD-1 και PD-L1 είναι διαθέσιμοι στην κλινική πράξη ενώ, ο συνδυασμός τους με άλλες μεθόδους θεραπείας συνιστά εργαλείο πολλών κλινικών μελετών με ελπιδοφόρα μελλοντικά αποτελέσματα.

**Λέξεις κλειδιά:** Καρκίνος του πνεύμονα, Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα, Ανοσοθεραπεία, Αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου, PD-1, PD-L1, Βιοδείκτες

## Abstract

Lung cancer is the leading cause of death due to its frequency and delayed diagnosis. Particular emphasis has been depicted on the treatment of non-small cell lung cancer, which is connected with highest incidence in both men and women. The development of technology and the evolution of the sciences of human biology and medicine have contributed to better understanding of the functions of the human immune system and to the discovery of new therapeutic approaches. However, although the classic methods of treatment, such as surgery, chemotherapy and radiotherapy, are still used as basic treatment in clinical medicine, recently immunotherapy was additionally applied. The discovery and understanding of the PD-1 / PD-L1 pathway has been a revolution in the field of immunotherapy. More specifically, the inhibition of the particular pathways could substantially contribute towards a more effective treatment for lung and other types of cancer. The major inhibitor agents (ICIs) are Pembrolizumab and Nivolumab as anti-PD-1 molecules and Atezolizumab and Durvalumab as anti-PD-L1 molecules. These have been evaluated in various clinical studies regarding their mode of action on cancer cells. The encouraging results of these studies, lead to the approval of the above drug agents by the FDA. Various PD-1 and PD-L1 inhibitors are now available in clinical practice and their combination with other treatments represent a powerful tool with promising future results in various clinical trials.

**Keywords:** Lung cancer, Non-small cell lung cancer, Immunotherapy, Immune checkpoints inhibitors, PD-1, PD-L1, Biomarkers

## Βιβλιογραφία

- Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου Φραγκίσκη. (2009). *Ιστοπαθολογία με Στοιχεία Ογκολογίας, Βασικές Γνώσεις*. Π.Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ.
- Abbott, M., & Ustoyev, Y. (2019). Cancer and the Immune System: The History and Background of Immunotherapy. *Seminars in Oncology Nursing*, 35(5), 150923. <https://doi.org/10.1016/J.SONCN.2019.08.002>
- Abramson, J. S., Ghosh, N., & Smith, S. M. (2020). ADCs, BiTEs, CARs, and Small Molecules: A New Era of Targeted Therapy in Non-Hodgkin Lymphoma. *American Society of Clinical Oncology Educational Book. American Society of Clinical Oncology. Annual Meeting*, 40(40), 302–313. [https://doi.org/10.1200/EDBK\\_279043](https://doi.org/10.1200/EDBK_279043)
- Ai, L., Xu, A., & Xu, J. (2020). Roles of PD-1/PD-L1 Pathway: Signaling, Cancer, and Beyond. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1248, 33–59. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3266-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3266-5_3)
- Ait-Oufella, H., Sage, A. P., Mallat, Z., & Tedgui, A. (2014). Adaptive (T and B Cells) immunity and control by dendritic cells in atherosclerosis. *Circulation Research*, 114(10), 1640–1660. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302761>
- Akinleye, A., & Rasool, Z. (2019). Immune checkpoint inhibitors of PD-L1 as cancer therapeutics. *Journal of Hematology & Oncology*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/S13045-019-0779-5>
- American Cancer Society. (n.d.). *Understanding Cancer Causes: Ancient Times to Present*. Retrieved February 20, 2022, from <https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-of-cancer/modern-knowledge-and-cancer-causes.html>
- Andersen, M. H., Schrama, D., Thor Straten, P., & Becker, J. C. (2006). Cytotoxic T Cells. *Journal of Investigative Dermatology*, 126(1), 32–41. <https://doi.org/10.1038/SJ.JID.5700001>
- Arneth, B. (2020). Tumor Microenvironment. *Medicina*, 56(1). <https://doi.org/10.3390/MEDICINA56010015>
- Awad, M. M., Gadgeel, S. M., Borghaei, H., Patnaik, A., Yang, J. C. H., Powell, S. F., Gentzler, R. D., Martins, R. G., Stevenson, J. P., Altan, M., Jalal, S. I., Panwalkar, A., Gubens, M., Sequist, L. v., Saraf, S., Zhao, B., Piperdi, B., & Langer, C. J. (2021). Long-Term Overall Survival From KEYNOTE-021 Cohort G: Pemetrexed and Carboplatin With or Without Pembrolizumab as First-Line Therapy for Advanced Nonsquamous NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology*, 16(1), 162–168. <https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2020.09.015/ATTACHMENT/133593A4-E936-41A6-9A72-F05C7C6AD81F/MMC1.PDF>
- Bardhan, K., Anagnostou, T., & Boussiotis, V. A. (2016). The PD1:PD-L1/2 Pathway from Discovery to Clinical Implementation. *Frontiers in Immunology*, 7(DEC), 550. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2016.00550>

- Basu, R., Whitlock, B. M., Husson, J., le Floc'h, A., Jin, W., Oyler-Yaniv, A., Dotiwala, F., Giannone, G., Hivroz, C., Biais, N., Lieberman, J., Kam, L. C., & Huse, M. (2016). Cytotoxic T cells use mechanical force to potentiate target cell killing. *Cell*, *165*(1), 100. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2016.01.021>
- Becker, P. S. A., Suck, G., Nowakowska, P., Ullrich, E., Seifried, E., Bader, P., Tonn, T., & Seidl, C. (2016). Selection and expansion of natural killer cells for NK cell-based immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, *65*(4), 477. <https://doi.org/10.1007/S00262-016-1792-Y>
- Bhimji, S. S., & Wallen, J. M. (2021). Lung Adenocarcinoma. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519578/>
- Blass, E., & Ott, P. A. (2021). Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, *18*(4), 215. <https://doi.org/10.1038/S41571-020-00460-2>
- Bodor, J. N., Bumber, Y., & Borghaei, H. (2020). Biomarkers for immune checkpoint inhibition in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer*, *126*(2), 260. <https://doi.org/10.1002/CNCR.32468>
- Brummelman, J., Pilipow, K., & Lugli, E. (2018). The Single-Cell Phenotypic Identity of Human CD8+ and CD4+ T Cells. *International Review of Cell and Molecular Biology*, *341*, 63–124. <https://doi.org/10.1016/BS.IRCMB.2018.05.007>
- Chung, H. C., Piha-Paul, S. A., Lopez-Martin, J., Schellens, J. H. M., Kao, S., Miller, W. H., Delord, J. P., Gao, B., Planchard, D., Gottfried, M., Zer, A., Jalal, S. I., Penel, N., Mehnert, J. M., Matos, I., Bannouna, J., Kim, D. W., Xu, L., Krishnan, S., ... Ott, P. A. (2020). Pembrolizumab After Two or More Lines of Previous Therapy in Patients With Recurrent or Metastatic SCLC: Results From the KEYNOTE-028 and KEYNOTE-158 Studies. *Journal of Thoracic Oncology*, *15*(4), 618–627. <https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2019.12.109>
- Cohen, A. Y., Kian, W., Roisman, L. C., Levitas, D., Peled, N., & Dudnik, Y. (2019). Are we facing a cure in lung cancer?—KEYNOTE-001 insights. *Annals of Translational Medicine*, *7*(Suppl 6), S215–S215. <https://doi.org/10.21037/ATM.2019.08.87>
- Collins, L. G., Haines, C., Perkel, R., & Enck, R. E. (2007). Lung cancer: diagnosis and management. *American Family Physician*, *75*(1), 56–63.
- Conlon, K. C., Miljkovic, M. D., & Waldmann, T. A. (2019). Cytokines in the Treatment of Cancer. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, *39*(1), 6. <https://doi.org/10.1089/JIR.2018.0019>
- Constantinou, J., & Feneley, M. R. (2005). PSA testing: an evolving relationship with prostate cancer screening. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* *2006 9:1*, *9*(1), 6–13. <https://doi.org/10.1038/sj.pcan.4500838>
- Cortinovis, D., Gregorc, V., Migliorino, M. R., Abate, M. I., Manzo, A., Malapelle, U., & Morabito, A. (2017). New perspectives in the second-line treatment of non squamous NSCLC patients: Results from a large Italian Lung Cancer Working Group. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *109*, 35–41. <https://doi.org/10.1016/J.CRITREVONC.2016.11.015>

- Cortinovis, D. L., Canova, S., Abbate, M., Colonese, F., & Bidoli, P. (2016). Focus on Nivolumab in NSCLC. *Frontiers in Medicine*, 3(DEC), 1. <https://doi.org/10.3389/FMED.2016.00067>
- C.Simon Herrington. (2014). *MUIR'S Παθολογική Ανατομική* (Π.Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ, Ed.; 15η). BROKEN HILL.
- del Vecchio, F., Martinez-Rodriguez, V., Schukking, M., Cocks, A., Broseghini, E., & Fabbri, M. (2021). Professional killers: The role of extracellular vesicles in the reciprocal interactions between natural killer, CD8+ cytotoxic T-cells and tumour cells. *Journal of Extracellular Vesicles*, 10(6). <https://doi.org/10.1002/JEV2.12075>
- Denisenko, T. v., Budkevich, I. N., & Zhivotovsky, B. (2018). Cell death-based treatment of lung adenocarcinoma. *Cell Death & Disease*, 9(2). <https://doi.org/10.1038/S41419-017-0063-Y>
- Dobosz, P., & Dzieciatkowski, T. (2019). The Intriguing History of Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 10, 2965. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.02965/BIBTEX>
- Doroshov, D. B., Sanmamed, M. F., Hastings, K., Politi, K., Rimm, D. L., Chen, L., Melero, I., Schalper, K. A., & Herbst, R. S. (2019). Immunotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: Facts and Hopes. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25(15), 4592. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1538>
- Eibel, H., Kraus, H., Sic, H., Kienzler, A. K., & Rizzi, M. (2014). B cell Biology: An Overview. *Current Allergy and Asthma Reports 2014 14:5*, 14(5), 1–10. <https://doi.org/10.1007/S11882-014-0434-8>
- Enck, R. E. (2004). Paraneoplastic syndromes. *American Journal of Hospice and Palliative Medicine*, 21(2), 85–86. <https://doi.org/10.1177/104990910402100202>
- Esfahani, K., Roudaia, L., Buhlaiga, N., del Rincon, S. v., Papneja, N., & Miller, W. H. (2020). A review of cancer immunotherapy: from the past, to the present, to the future. *Current Oncology*, 27(Suppl 2), S87. <https://doi.org/10.3747/CO.27.5223>
- Faivre-Finn, C., Vicente, D., Kurata, T., Planchard, D., Paz-Ares, L., Vansteenkiste, J. F., Spigel, D. R., Garassino, M. C., Reck, M., Senan, S., Naidoo, J., Rimmer, A., Wu, Y. L., Gray, J. E., Özgüroğlu, M., Lee, K. H., Cho, B. C., Kato, T., de Wit, M., ... Antonia, S. J. (2021). Four-Year Survival With Durvalumab After Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC—an Update From the PACIFIC Trial. *Journal of Thoracic Oncology*, 16(5), 860–867. <https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2020.12.015/ATTACHMENT/9E8E9FAF-2FAF-4304-8161-727B681A54DF/MMC1.DOCX>
- Fife, B. T., Pauken, K. E., Eagar, T. N., Obu, T., Wu, J., Tang, Q., Azuma, M., Krummel, M. F., & Bluestone, J. A. (2009). Interactions between programmed death-1 and programmed death ligand-1 promote tolerance by blocking the T cell receptor-induced stop signal. *Nature Immunology*, 10(11), 1185. <https://doi.org/10.1038/NI.1790>
- Gajewski, T. F. (2012). Cancer immunotherapy. *Molecular Oncology*, 6(2), 242. <https://doi.org/10.1016/J.MOLONC.2012.01.002>

- Galli, F., Aguilera, J. V., Palermo, B., Markovic, S. N., Nisticò, P., & Signore, A. (2020). Relevance of immune cell and tumor microenvironment imaging in the new era of immunotherapy. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 39(1). <https://doi.org/10.1186/S13046-020-01586-Y>
- Garon, E. B., Hellmann, M. D., Rizvi, N. A., Carcereny, E., Leighl, N. B., Ahn, M. J., Eder, J. P., Balmanoukian, A. S., Aggarwal, C., Horn, L., Patnaik, A., Gubens, M., Ramalingam, S. S., Felip, E., Goldman, J. W., Scalzo, C., Jensen, E., Kush, D. A., & Hui, R. (2019). Five-Year Overall Survival for Patients With Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer Treated With Pembrolizumab: Results From the Phase I KEYNOTE-001 Study. *Journal of Clinical Oncology*, 37(28), 2518. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.00934>
- Garon, E. B., Rizvi, N. A., Hui, R., Leighl, N., Balmanoukian, A. S., Eder, J. P., Patnaik, A., Aggarwal, C., Gubens, M., Horn, L., Carcereny, E., Ahn, M.-J., Felip, E., Lee, J.-S., Hellmann, M. D., Hamid, O., Goldman, J. W., Soria, J.-C., Dolled-Filhart, M., ... Gandhi, L. (2015). Pembrolizumab for the Treatment of Non–Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*, 372(21), 2018–2028. [https://doi.org/10.1056/NEJMOA1501824/SUPPL\\_FILE/NEJMOA1501824\\_DISCLOSURE\\_S.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMOA1501824/SUPPL_FILE/NEJMOA1501824_DISCLOSURE_S.PDF)
- Goldsby R., K. T. , O. B. (2013). *KUBY Ανοσολογία* (2η ελληνική Έκδοση). BROKEN HILL .
- Gong, X., Li, X., Jiang, T., Xie, H., Zhu, Z., Zhou, F., & Zhou, C. (2017). Combined Radiotherapy and Anti–PD-L1 Antibody Synergistically Enhances Antitumor Effect in Non–Small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 12(7), 1085–1097. <https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2017.04.014>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2011.02.013>
- Han, Y., Liu, D., & Li, L. (2020). PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *American Journal of Cancer Research*, 10(3), 727. <https://doi.org/10.1016/J.AJCR.2020.03.011>
- Harb, J., Lin, P. J., & Hao, J. (2019). Recent Development of Wnt Signaling Pathway Inhibitors for Cancer Therapeutics. *Current Oncology Reports*, 21(2), 1–9. <https://doi.org/10.1007/S11912-019-0763-9/TABLES/2>
- Hargadon, K. M., Johnson, C. E., & Williams, C. J. (2018). Immune checkpoint blockade therapy for cancer: An overview of FDA-approved immune checkpoint inhibitors. *International Immunopharmacology*, 62, 29–39. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2018.06.001>
- Hashimoto, A., Kawasaki, Y., Tominaga, A., Kakutani, T., Kodama, K., Nogi, S., Tsuno, H., Ogihara, H., Nunokawa, T., Ikenaka, T., Watai, K., Saito, I., & Matsui, T. (2021). Squamous Cell Lung Cancer. *JCR: Journal of Clinical Rheumatology*, 26(5), e137–e137. <https://doi.org/10.1097/rhu.0000000000001010>
- Havel, J. J., Chowell, D., & Chan, T. A. (2019). The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy. *Nature Reviews. Cancer*, 19(3), 133. <https://doi.org/10.1038/S41568-019-0116-X>
- Hegde, P. S., & Chen, D. S. (2020). Top 10 Challenges in Cancer Immunotherapy. *Immunity*, 52(1), 17–35. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2019.12.011>

- Hemminki, O., dos Santos, J. M., & Hemminki, A. (2020). Oncolytic viruses for cancer immunotherapy. *Journal of Hematology & Oncology*, *13*(1). <https://doi.org/10.1186/S13045-020-00922-1>
- Hendry, S., Salgado, R., Gevaert, T., Russell, P. A., John, T., Thapa, B., Christie, M., van de Vijver, K., Estrada, M. v., Gonzalez-Ericsson, P. I., Sanders, M., Solomon, B., Solinas, C., van den Eynden, G. G. G. M., Allory, Y., Preusser, M., Hainfellner, J., Pruneri, G., Vingiani, A., ... Fox, S. B. (2017). Assessing tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors: a practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in melanoma, gastrointestinal tract carcinomas, non-small cell lung carcinoma and mesothelioma, endometrial and ovarian carcinomas, squamous cell carcinoma of the head and neck, genitourinary carcinomas, and primary brain tumors. *Advances in Anatomic Pathology*, *24*(6), 311. <https://doi.org/10.1097/PAP.000000000000161>
- Hernández-López, A., Téllez-González, M. A., Mondragón-Terán, P., & Meneses-Acosta, A. (2021). Chimeric Antigen Receptor-T Cells: A Pharmaceutical Scope. *Frontiers in Pharmacology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.720692>
- Hong, M., Tao, S., Zhang, L., Diao, L. T., Huang, X., Huang, S., Xie, S. J., Xiao, Z. D., & Zhang, H. (2020). RNA sequencing: new technologies and applications in cancer research. *Journal of Hematology & Oncology*, *13*(1), 166. <https://doi.org/10.1186/S13045-020-01005-X>
- Horvath, L., Thienpont, B., Zhao, L., Wolf, D., & Pircher, A. (2020). Overcoming immunotherapy resistance in non-small cell lung cancer (NSCLC) - novel approaches and future outlook. *Molecular Cancer*, *19*(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-020-01260-Z>
- Igarashi, Y., & Sasada, T. (2020). Cancer Vaccines: Toward the Next Breakthrough in Cancer Immunotherapy. *Journal of Immunology Research*, *2020*. <https://doi.org/10.1155/2020/5825401>
- Immunopaedia. (n.d.). *MHC & Antigen Presentation | Immunopaedia*. Retrieved February 22, 2022, from <https://www.immunopaedia.org.za/immunology/basics/4-mhc-antigen-presentation/>
- Iqbal, M. A., Arora, S., Prakasam, G., Calin, G. A., & Syed, M. A. (2019). MicroRNA in lung cancer: role, mechanisms, pathways and therapeutic relevance. *Molecular Aspects of Medicine*, *70*, 3–20. <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2018.07.003>
- Jiang, Y., Chen, M., Nie, H., & Yuan, Y. (2019). PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, *15*(5), 1111. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1571892>
- Johdi, N. A., & Sukor, N. F. (2020). Colorectal Cancer Immunotherapy: Options and Strategies. *Frontiers in Immunology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01624>
- Johnson, R. M. G., & Dong, H. (2017). Functional Expression of Programmed Death-Ligand 1 (B7-H1) by Immune Cells and Tumor Cells. *Frontiers in Immunology*, *8*(AUG), 1. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00961>
- Joseph A Trapani, P. K. D. (2017). *RACGP - Immunotherapy of cancer*. Australian Family Physician. <https://www.racgp.org.au/afp/2017/april/immunotherapy-of-cancer/>



- Jotte, R., Cappuzzo, F., Vynnychenko, I., Stroyakovskiy, D., Rodríguez-Abreu, D., Hussein, M., Soo, R., Conter, H. J., Kozuki, T., Huang, K. C., Graupner, V., Sun, S. W., Hoang, T., Jessop, H., McClelland, M., Ballinger, M., Sandler, A., & Socinski, M. A. (2020). Atezolizumab in Combination With Carboplatin and Nab-Paclitaxel in Advanced Squamous NSCLC (IMpower131): Results From a Randomized Phase III Trial. *Journal of Thoracic Oncology*, *15*(8), 1351–1360.  
<https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2020.03.028/ATTACHMENT/32A8C8D7-B1F1-41EE-AE70-B9483EEAA3D7/MMC1.DOCX>
- Kalli, S., Semine, A., Cohen, S., Naber, S. P., Makim, S. S., & Bahl, M. (2018). American joint committee on cancer's staging system for breast cancer, eighth edition: What the radiologist needs to know. *Radiographics*, *38*(7), 1921–1933.  
<https://doi.org/10.1148/RG.2018180056/ASSET/IMAGES/LARGE/RG.2018180056.FIG14G.JPEG>
- Kennedy, L. B., & Salama, A. K. S. (2020). A review of cancer immunotherapy toxicity. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *70*(2), 86–104. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21596>
- Khader, S. A., Divangahi, M., Hanekom, W., Hill, P. C., Maeurer, M., Makar, K. W., Mayer-Barber, K. D., Mhlanga, M. M., Nemes, E., Schlesinger, L. S., van Crevel, R., Vankalayapati, R., Xavier, R. J., & Netea, M. G. (2019). Targeting innate immunity for tuberculosis vaccination. *The Journal of Clinical Investigation*, *129*(9), 3482.  
<https://doi.org/10.1172/JCI128877>
- Khan, P., Siddiqui, J. A., Lakshmanan, I., Ganti, A. K., Salgia, R., Jain, M., Batra, S. K., & Nasser, M. W. (2021). RNA-based therapies: A cog in the wheel of lung cancer defense. *Molecular Cancer*, *20*(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-021-01338-2>
- Kumar, B. v., Connors, T. J., & Farber, D. L. (2018). Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity*, *48*(2), 202.  
<https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2018.01.007>
- Kwok, G., Yau, T. C. C., Chiu, J. W., Tse, E., & Kwong, Y. L. (2016). Pembrolizumab (Keytruda). *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, *12*(11), 2777.  
<https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1199310>
- Kythreotou, A., Siddique, A., Mauri, F. A., Bower, M., & Pinato, D. J. (2018). PD-L1. *Journal of Clinical Pathology*, *71*(3), 189–194. <https://doi.org/10.1136/JCLINPATH-2017-204853>
- Lage, H. (2005). Potential applications of RNA interference technology in the treatment of cancer. *Future Oncology*, *1*(1), 103–113.  
<https://doi.org/10.1517/14796694.1.1.103/ASSET/IMAGES/LARGE/GRAPHIC25.JPEG>
- Lantuejoul, S., Sound-Tsao, M., Cooper, W. A., Girard, N., Hirsch, F. R., Roden, A. C., Lopez-Rios, F., Jain, D., Chou, T. Y., Motoi, N., Kerr, K. M., Yatabe, Y., Brambilla, E., Longshore, J., Papotti, M., Sholl, L. M., Thunnissen, E., Rekhtman, N., Borczuk, A., ... Mino-Kenudson, M. (2020). PD-L1 Testing for Lung Cancer in 2019: Perspective From the IASLC Pathology Committee. *Journal of Thoracic Oncology*, *15*(4), 499–519.  
<https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2019.12.107>

- Lee, L., Gupta, M., & Sahasranaman, S. (2016). Immune Checkpoint inhibitors: An introduction to the next-generation cancer immunotherapy. *The Journal of Clinical Pharmacology*, *56*(2), 157–169. <https://doi.org/10.1002/JCPH.591>
- Lemjabbar-Alaoui, H., Hassan, O. U., Yang, Y.-W., & Buchanan, P. (2015). Lung cancer: Biology and treatment options. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, *1856*(2), 189–210. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2015.08.002>
- Lewis, A. L., Chaft, J., Girotra, M., & Fischer, G. W. (2020). Immune checkpoint inhibitors: a narrative review of considerations for the anaesthesiologist. *BJA: British Journal of Anaesthesia*, *124*(3), 251. <https://doi.org/10.1016/j.BJA.2019.11.034>
- Maduri, S. (2015). Applicability of RNA interference in cancer therapy: Current status. *Indian Journal of Cancer*, *52*(1), 11. <https://doi.org/10.4103/0019-509X.175598>
- Majeed, H., & Gupta, V. (2021). Adverse Effects Of Radiation Therapy. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563259/>
- Marshall, J. S., Warrington, R., Watson, W., & Kim, H. L. (2018). An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma, and Clinical Immunology : Official Journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology*, *14*(Suppl 2), 49. <https://doi.org/10.1186/S13223-018-0278-1>
- Mazieres, J., Rittmeyer, A., Gadgeel, S., Hida, T., Gandara, D. R., Cortinovis, D. L., Barlesi, F., Yu, W., Matheny, C., Ballinger, M., & Park, K. (2021). Atezolizumab Versus Docetaxel in Pretreated Patients With NSCLC: Final Results From the Randomized Phase 2 POPLAR and Phase 3 OAK Clinical Trials. *Journal of Thoracic Oncology*, *16*(1), 140–150. <https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2020.09.022/ATTACHMENT/66987FD3-5D97-4746-8AB7-D42973C522B8/MMC1.DOCX>
- Melosky, B., Chu, Q., Juergens, R. A., Leighl, N., Ionescu, D., Tsao, M. S., McLeod, D., & Hirsh, V. (2018). Breaking the biomarker code: PD-L1 expression and checkpoint inhibition in advanced NSCLC. *Cancer Treatment Reviews*, *65*, 65–77. <https://doi.org/10.1016/J.CTRV.2018.02.005>
- Mondal, M., Guo, J., He, P., & Zhou, D. (2020). Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, *16*(10), 2389. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1723363>
- Myers, J. A., & Miller, J. S. (2021). Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, *18*(2), 85. <https://doi.org/10.1038/S41571-020-0426-7>
- Nakayama, Y., Mimura, K., Tamaki, T., Shiraishi, K., Kua, L. F., Koh, V., Ohmori, M., Kimura, A., Inoue, S., Okayama, H., Suzuki, Y., Nakazawa, T., Ichikawa, D., & Kono, K. (2019). Phospho-STAT1 expression as a potential biomarker for anti-PD-1/anti-PD-L1 immunotherapy for breast cancer. *International Journal of Oncology*, *54*(6), 2030. <https://doi.org/10.3892/IJO.2019.4779>
- Nasser, N. J., Gorenberg, M., & Agbarya, A. (2020). First line Immunotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer. *Pharmaceuticals*, *13*(11), 1–24. <https://doi.org/10.3390/PH13110373>

- Nurgali, K., Jagoe, R. T., & Abalo, R. (2018). Editorial: Adverse Effects of Cancer Chemotherapy: Anything New to Improve Tolerance and Reduce Sequelae? *Frontiers in Pharmacology*, 9(MAR), 245. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2018.00245>
- Ohaegbulam, K. C., Assal, A., Lazar-Molnar, E., Yao, Y., & Zang, X. (2015). Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends in Molecular Medicine*, 21(1), 24. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2014.10.009>
- Papavramidou, N., Papavramidis, T., & Demetriou, T. (2010). Ancient Greek and Greco-Roman methods in modern surgical treatment of cancer. *Annals of Surgical Oncology*, 17(3), 665–667. <https://doi.org/10.1245/s10434-009-0886-6>
- Patsoukis, N., Wang, Q., Strauss, L., & Boussiotis, V. A. (2020). Revisiting the PD-1 pathway. *Science Advances*, 6(38). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABD2712>
- Pelosof, L. C., & Gerber, D. E. (2010). Paraneoplastic Syndromes: An Approach to Diagnosis and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, 85(9), 838. <https://doi.org/10.4065/MCP.2010.0099>
- Peters, S., Gettinger, S., Johnson, M. L., Jänne, P. A., Garassino, M. C., Christoph, D., Toh, C. K., Rizvi, N. A., Chaft, J. E., Costa, E. C., Patel, J. D., Chow, L. Q. M., Koczywas, M., Ho, C., Früh, M., van den Heuvel, M., Rothenstein, J., Reck, M., Paz-Ares, L., ... Felip, E. (2017). Phase II Trial of Atezolizumab As First-Line or Subsequent Therapy for Patients With Programmed Death-Ligand 1–Selected Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer (BIRCH). *Journal of Clinical Oncology*, 35(24), 2781. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.9476>
- Pharaon, R., Koczywas, M. A., Salgia, S., Mohanty, A., & Massarelli, E. (2020). Biomarkers in immunotherapy: literature review and future directions. *Journal of Thoracic Disease*, 12(9), 5119. <https://doi.org/10.21037/JTD.2020.04.15>
- Rittmeyer, A., Barlesi, F., Waterkamp, D., Park, K., Ciardiello, F., von Pawel, J., Gadgeel, S. M., Hida, T., Kowalski, D. M., Dols, M. C., Cortinovis, D. L., Leach, J., Polikoff, J., Barrios, C., Kabbinar, F., Frontera, O. A., de Marinis, F., Turna, H., Lee, J. S., ... Gandara, D. R. (2017). Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet (London, England)*, 389(10066), 255. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32517-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32517-X)
- Rodríguez-Antona, C., & Taron, M. (2015). Pharmacogenomic biomarkers for personalized cancer treatment. *Journal of Internal Medicine*, 277(2), 201–217. <https://doi.org/10.1111/joim.12321>
- Seifert, M., & Küppers, R. (2016). Human memory B cells. *Leukemia* 2016 30:12, 30(12), 2283–2292. <https://doi.org/10.1038/leu.2016.226>
- Sharma, P., Hu-Lieskovan, S., Wargo, J. A., & Ribas, A. (2017). Primary, Adaptive and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell*, 168(4), 707. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.01.017>
- Socinski, M. A., Jotte, R. M., Cappuzzo, F., Orlandi, F., Stroyakovskiy, D., Nogami, N., Rodríguez-Abreu, D., Moro-Sibilot, D., Thomas, C. A., Barlesi, F., Finley, G., Kelsch, C., Lee, A., Coleman, S., Deng, Y., Shen, Y., Kowanz, M., Lopez-Chavez, A., Sandler, A., & Reck, M. (2018). Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous

- NSCLC. *New England Journal of Medicine*, 378(24), 2288–2301.  
[https://doi.org/10.1056/NEJMOA1716948/SUPPL\\_FILE/NEJMOA1716948\\_DISCLOSURE\\_S.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMOA1716948/SUPPL_FILE/NEJMOA1716948_DISCLOSURE_S.PDF)
- Socinski, M. A., Nishio, M., Jotte, R. M., Cappuzzo, F., Orlandi, F., Stroyakovskiy, D., Nogami, N., Rodríguez-Abreu, D., Moro-Sibilot, D., Thomas, C. A., Barlesi, F., Finley, G., Kong, S., Lee, A., Coleman, S., Zou, W., McClelland, M., Shankar, G., & Reck, M. (2021). IMpower150 Final Overall Survival Analyses for Atezolizumab Plus Bevacizumab and Chemotherapy in First-Line Metastatic Nonsquamous NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology*, 16(11), 1909–1924.  
<https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2021.07.009/ATTACHMENT/615E83AB-CFA9-41D6-B37D-CD34C23DD14C/MMC1.DOCX>
- Sudhakar, A. (n.d.). *History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods*.  
<https://doi.org/10.4172/1948-5956.100000e2>
- Sumimoto, H., Imabayashi, F., Iwata, T., & Kawakami, Y. (2006). The BRAF–MAPK signaling pathway is essential for cancer-immune evasion in human melanoma cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 203(7), 1651. <https://doi.org/10.1084/JEM.20051848>
- Sun, L., Wang, X., Saredy, J., Yuan, Z., Yang, X., & Wang, H. (2020). Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. *Redox Biology*, 37, 101759.  
<https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2020.101759>
- Suresh, K., Naidoo, J., Lin, C. T., & Danoff, S. (2018). Immune Checkpoint Immunotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer: Benefits and Pulmonary Toxicities. *Chest*, 154(6), 1416.  
<https://doi.org/10.1016/J.CHEST.2018.08.1048>
- Suzuki, E., & Bridgewater, J. (2019). Adjuvant therapy for resected gallbladder cancer. *Chinese Clinical Oncology*, 8(4), 39. <https://doi.org/10.21037/cco.2019.07.02>
- Taefehshokr, S., Parhizkar, A., Hayati, S., Mousapour, M., Mahmoudpour, A., Eleid, L., Rahmanpour, D., Fattahi, S., Shabani, H., & Taefehshokr, N. (2022). Cancer immunotherapy: Challenges and limitations. *Pathology - Research and Practice*, 229, 153723. <https://doi.org/10.1016/J.PRP.2021.153723>
- Tsoukalas, N., Kiakou, M., Tsapakidis, K., Tolia, M., Aravantinou-Fatorou, E., Baxevanos, P., Kyrgias, G., & Theocharis, S. (2019). PD-1 and PD-L1 as immunotherapy targets and biomarkers in non-small cell lung cancer. *JBUON*, 24(3), 883–888.
- U.S Food and Drug Administration. (n.d.). *FDA Approves Keytruda (pembrolizumab) for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer*. Retrieved February 27, 2022, from <https://www.drugs.com/newdrugs/fda-approves-keytruda-pembrolizumab-advanced-non-small-cell-lung-cancer-4273.html>
- Vaddepally, R. K., Kharel, P., Pandey, R., Garje, R., & Chandra, A. B. (2020). Review of Indications of FDA-Approved Immune Checkpoint Inhibitors per NCCN Guidelines with the Level of Evidence. *Cancers*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/CANCERS12030738>
- van Coillie, S., Wiernicki, B., & Xu, J. (2020). Molecular and Cellular Functions of CTLA-4. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1248, 7–32.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-15-3266-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3266-5_2)

- van den Bulk, J., Verdegaal, E. M., & de Miranda, N. F. (2018). Cancer immunotherapy: broadening the scope of targetable tumours. *Open Biology*, 8(6). <https://doi.org/10.1098/rsob.180037>
- Velcheti, V., & Schalper, K. (2016). Basic Overview of Current Immunotherapy Approaches in Cancer. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*, 36, 298–308. [https://doi.org/10.1200/edbk\\_156572](https://doi.org/10.1200/edbk_156572)
- Waldmann, T. A. (2018). Cytokines in Cancer Immunotherapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(12). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A028472>
- Wang, G., Chai, Q., Xiao, Y., Peng, W., Teng, M., Wang, J., Lin, H., Su, X., & Wu, L. (2020). Case Report: Therapeutic Response to Chemo-Immunotherapy in an Advanced Large Cell Lung Carcinoma Patient With Low Values of Multiple Predictive Biomarkers. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.607416>
- Wang, P., Tang, L., Zhou, B., Cheng, L., Zhao, R. C., & Zhang, J. (2022). Analytical methods for the detection of PD-1/PD-L1 and other molecules related to immune checkpoints. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 146, 116505. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2021.116505>
- Watanabe, H., Tomita, S., Ikoma, Y., Kohno, M., Masuda, R., & Iwazaki, M. (2021). A surgical Case of Synchronous Multiple Primary Lung Cancers with Small Cell Carcinoma and Squamous Cell Carcinoma. *Tokai J Exp Clin Med*, 46(1), 29–32.
- Wieczorek, M., Abualrous, E. T., Sticht, J., Álvaro-Benito, M., Stolzenberg, S., Noé, F., & Freund, C. (2017). Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins: Conformational Plasticity in Antigen Presentation. *Frontiers in Immunology*, 8(MAR). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00292>
- Wrangle, J. M., Patterson, A., Johnson, C. B., Neitzke, D. J., Mehrotra, S., Denlinger, C. E., Paulos, C. M., Li, Z., Cole, D. J., & Rubinstein, M. P. (2018). IL-2 and Beyond in Cancer Immunotherapy. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 38(2), 45. <https://doi.org/10.1089/JIR.2017.0101>
- Xu, K., Zhang, C., Du, T., Gabriel, A. N. A., Wang, X., Li, X., Sun, L., Wang, N., Jiang, X., & Zhang, Y. (2021). Progress of exosomes in the diagnosis and treatment of lung cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 134, 111111. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2020.111111>
- Zander, D. S., & Farver, C. F. (2020). Molecular basis of pulmonary disease. *Essential Concepts in Molecular Pathology*, 285–321. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813257-9.00018-8>
- Zhang, J., Zhao, T., Xu, C., Huang, J., & Yu, H. (2016). The association between polymorphisms in the PDCD1 gene and the risk of cancer: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine*, 95(40). <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004423>
- Zhang, N., Tu, J., Wang, X., & Chu, Q. (2019). Programmed cell death-1/programmed cell death ligand-1 checkpoint inhibitors: Differences in mechanism of action. *Immunotherapy*, 11(5), 429–441. <https://doi.org/10.2217/IMT-2018-0110/ASSET/IMAGES/LARGE/FIGURE2.JPEG>

- Zhang, Y., & Zhang, Z. (2020). The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. *Cellular and Molecular Immunology*, 17(8), 807. <https://doi.org/10.1038/S41423-020-0488-6>
- Zhou, C., Liu, Q., Xiang, Y., Gou, X., & Li, W. (2022). Role of the tumor immune microenvironment in tumor immunotherapy (Review). *Oncology Letters*, 23(2), 1–7. <https://doi.org/10.3892/OL.2021.13171/HTML>
- Zhu, X., & Lang, J. (2017). Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget*, 8(57), 97671. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.18311>

Πηγή εικόνας εξωφύλλου:

<https://medicalxpress.com/news/2017-03-cancer-immunotherapy-revived-cells-fuel.html>





