



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

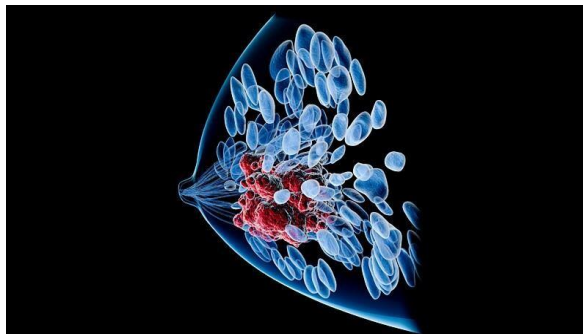


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η συμβολή του μικροπεριβάλλοντος του όγκου στο μεταστατικό δυναμικό στον καρκίνο του μαστού

POST GRADUATE THESIS

The contribution of the tumor microenvironment to the metastatic potential in breast cancer



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Βασιλείου Ιωάννα

Vasileiou Ioanna

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου

Fragkiski Anthouli-Anagnostopoulou

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2024



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences Postgraduate program
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

The contribution of the tumor microenvironment to the metastatic potential in breast cancer

VASILEIOY IOANNA

Dml21003@uniwa.gr

FIRST SUPERVISOR

FRAGKISKI ANTHOYLI-ANAGNOSTOPOULOU

SECOND SUPERVISOR

SOTIRIOS FORTIS

AIGALEO 2024

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 9/2/2024

| | Ονόματα εξεταστών | Υπογραφή |
|---------------------------|----------------------------------|----------|
| 1 ^{ος} Εξεταστής | Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλο | |
| 2 ^{ος} Εξεταστής | Σωτήριος Φόρτης | |

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Βασιλείου Ιωάννα του Δημητρίου, με αριθμό μητρώου 21003 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βιοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής 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 περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή 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

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση» στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής υπό την επίβλεψη της Δρ. Φραγκίσκη Ανθούλης-Αναγνωστοπούλου.

Αρχικά, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην Κυρία Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου για την καθοδήγηση και την στήριξη αλλά και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω τον Κύριο Σωτήριο Φόρτη για τις πολύτιμες επιστημονικές γνώσεις που μου μετέδωσε, τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε και την αδιάκοπη στήριξή του.

Ευχαριστώ πολύ τον κύριο Πέτρο Καρκαλούσο που ήταν πάντα δίπλα μου για τον συντονισμό της εργασίας.

Τέλος, ένα ξεχωριστό μεγάλο ευχαριστώ στους δικούς μου ανθρώπους. Στους γονείς μου, Βασιλείου Δημήτριο και Σταθαρά Αλεξάνδρα, όχι μόνο για τη στήριξη και συμπαράστασή τους όλο αυτό το διάστημα αλλά για όλα αυτά τα χρόνια που είναι δίπλα μου, για τις θυσίες που έχουν κάνει ώστε να πραγματοποιήσω τα όνειρά μου και για τον τρόπο που με μεγάλωσαν ώστε να είμαι σήμερα αυτός ο χαρακτήρας που ελπίζω να τους κάνει περήφανους.

Θα πενθώ πάντα μ' ακούς; Για σένα , μόνος, στον Παράδεισο

Πως αλλιώς, αφού αγαπιούνται οι άνθρωποι.

Οδυσσέας Ελύτης, ΜΟΝΟΓΡΑΜΜΑ

Στον παππού μου,
Πάτερ Βασιλείου Αθανάσιο

Περίληψη

Εισαγωγή: Ο ρόλος του μικροπεριβάλλοντος του καρκίνου του μαστού στη μεταστατική δυνατότητα που έχει, έχει αποτελέσει θέμα έντονης έρευνας. Η κατανόηση των διαδικασιών που συμβαίνουν στο μικροπεριβάλλον του όγκου αποτελεί καίρια πτυχή για την αντιμετώπιση των μεταστάσεων αυτών, την κατανόηση των μηχανισμών που λαμβάνουν χώρα καθώς επίσης και τον σχεδιασμό των κατάλληλων θεραπειών για την έγκυρη και έγκαιρη αντιμετώπισή τους.

Σκοπός: Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει τη συμβολή του μικροπεριβάλλοντος στην εξέλιξη της μεταστατικής ικανότητας στον καρκίνο του μαστού, αναζητώντας νέες πληροφορίες που θα βοηθήσουν στη βελτίωση των θεραπευτικών προσεγγίσεων και στην πρόγνωση των ασθενών. **Μέθοδος:** Η μελέτη πραγματοποιήθηκε μέσω συστηματικής ανάλυσης της βιβλιογραφίας αναφορικά με το μικροπεριβάλλον του καρκίνου σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Χρησιμοποιήθηκαν σύγχρονες μηχανές αναζήτησης για την αξιολόγηση των κυτταρικών και μοριακών παραμέτρων που σχετίζονται με τη μεταστατικότητα. **Αποτελέσματα:** Η παρούσα έρευνα έδειξε επίσης ότι η κατανομή των ανοσοποιητικών κυττάρων εντός των όγκων είναι αυστηρά συνδεδεμένη με τα κλινικά αποτελέσματα της νόσου και τις κλινοπαθολογικές παραμέτρους που τους χαρακτηρίζουν. **Συμπεράσματα:** Η παρούσα εργασία παρέχει νέα στοιχεία για την κατανομή των κυττάρων του ανοσοποιητικού εντός των όγκων, τη σχέση μεταξύ της κατανομής αυτής και των κλινικών αποτελεσμάτων, καθώς και τη δυνατότητα χρήσης της ανοσολογικής υπογραφής του όγκου για την πρόγνωση της νόσου.

Λέξεις κλειδιά: Μετάσταση, Καρκίνος μαστού, Μικροπεριβάλλον,

Abstract

Introduction: The role of the tumor microenvironment in the metastatic potential of breast cancer has been the subject of intense research. Understanding the processes occurring in the tumor microenvironment is a crucial aspect for addressing these metastases, comprehending the mechanisms at play, and designing appropriate treatments for their timely and effective management. **Purpose:** The aim of this study is to investigate the contribution of the tumor microenvironment to the evolution of metastatic capability in breast cancer, seeking new information that will aid in improving therapeutic approaches and patient prognosis.

Method: The study was conducted through a systematic analysis of the literature concerning the cancer microenvironment in breast cancer patients. Modern search engines were utilized to assess cellular and molecular parameters related to metastasis. **Results:** The research also revealed that the distribution of immune cells within the tumors is closely linked to the clinical outcomes of the disease and the clinicopathological parameters characterizing them. **Conclusions:** This work provides new insights into the distribution of immune cells within tumors, the relationship between this distribution and clinical outcomes, and the potential use of the immune signature of the tumor for disease prognosis.

Key words: Metastasis, Breast Cancer, Tumor, Microenvironment

Περιεχόμενα

| | |
|---|-----------|
| Η συμβολή του μικροπεριβάλλοντος του όγκου στο μετα-στατικό δυναμικό στον καρκίνο του μαστού | 1 |
| The contribution of the tumor microenvironment to the metastatic potential in breast cancer | 1 |
| <i>Ευχαριστίες.....</i> | <i>5</i> |
| Περίληψη..... | 7 |
| Abstract | 8 |
| Συντομογραφίες | 10 |
| Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή | 14 |
| 1. 1 Δομή μαστού | 14 |
| 1. 2 Παροχή αίματος, λεμφική παροχέτευση | 16 |
| 1. 3 Ανάπτυξη μαστού | 16 |
| 1. 4 Καλοήθεις παθήσεις μαστού..... | 17 |
| Κεφάλαιο 2. Κακοήθεις παθήσεις του μαστού..... | 20 |
| 2. 1 Μοριακοί υπότυποι του καρκίνου του μαστού | 20 |
| 2. 2 Σύστημα σταδιοποίησης του όγκου TNM | 27 |
| Κεφάλαιο 3. Μικροπεριβάλλον όγκου | 30 |
| 3. 1 Ιστορική αναδρομή - Ανοσοποιητικό σύστημα και καρκίνος | 30 |
| 3. 2 Το ανοσοποιητικό σύστημα και τα κύτταρα του..... | 31 |
| 3. 3 Καρκινογένεση: ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια | 35 |
| 3. 4 Μικροπεριβάλλον όγκου- Γενικά | 36 |
| 3. 5 Το μικροπεριβάλλον του καρκίνου του μαστού στην θεραπευτική | 51 |
| 3. 6 Μικροπεριβάλλον του μεταστατικού όγκου | 55 |
| 3. 7 Στρατηγικές για τη βελτίωση της οξυγόνωσης του όγκου | 58 |
| Κεφάλαιο 4. Ανοσοκύτταρα ως προγνωστικοί δείκτες στο μικροπεριβάλλον του καρκίνου του μαστού. | 62 |
| 4. 1 aTLS & dTLS..... | 62 |
| 4. 2 Κύτταρα CD8+ T, FoxP3+ και CD163+. | 67 |
| Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα | 79 |
| Βιβλιογραφία..... | 81 |

Συντομογραφίες

| | Αγγλική ορολογία | Ελληνική ορολογία |
|------|-------------------------------|---------------------------------------|
| TME | Tumor Microenvironment | Μικροπεριβάλλον Όγκου |
| ECM | Extracellular Matrix | Εξωκυττάρια Μήτρα |
| TNBC | Triple Negative Breast Cancer | Τριπλός Αρνητικός Καρκίνος Μαστού |
| MRI | Magnetic Resonance Imaging | Μαγνητική Τομογραφία |
| MSC | Mammary stem cells | Μαστικά Βλαστοκύτταρα |
| DCIS | Ductal carcinoma in situ | Πορογενές Καρκίνωμα |
| LCIS | Lobular carcinoma in situ | Λοβιακό Καρκίνωμα |
| IDC | Invasive ductal carcinoma | Διηθητικό Πορογενές Καρκίνωμα |
| IBC | Inflammatory breast cancer | Φλεγμονώδης Καρκίνος του μαστού |
| DCs, | dendritic cells | Δενδριτικά κύτταρα |
| CAF | Cancer Affected Fibroblasts | Ινοβλάστες Επηρεαζόμενοι από τον Όγκο |

Πρόλογος

Ο καρκίνος του μαστού έχει διαγνωστεί από την αρχαιότητα όπου ο πατέρας της δυτικής ιατρικής, ο Ιπποκράτης, ανέφερε τον καρκίνου του μαστού ως μια συστηματική ασθένεια. Η θεωρία του αυτή επικράτησε περισσότερο από δυο χιλιάδες χρόνια έως το 1757 όπου ο Γάλλος γιατρός Henri Le Dran υποστήριξε ότι θα μπορούσε να θεραπεύσει τον καρκίνο του μαστού με χειρουργική αφαίρεση του όγκου. Ωστόσο ο William Halsted ήταν αυτός που πραγματοποίησε την πρώτη ριζική μαστεκτομή στα τέλη του δέκατου ένατου αιώνα και η διαδικασία Halsted περιελάμβανε την αφαίρεση ολόκληρου του μαστού, των μυών του θώρακα και των μασχαλιαίων κόμβων (1).

Ο καρκίνος του μαστού θεωρείται η πιο συχνή κακοήθεια στις γυναίκες παγκοσμίως και αποτελεί κορυφαία ανησυχία λόγω του υψηλού ποσοστού θνησιμότητας και νοσηρότητας. Οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού αντιπροσωπεύουν έως και το 36% των ογκολογικών ασθενών (2). Οι ασθενείς που διαγιγνώσκονται με καρκίνο του μαστού τοπικού σταδίου αντιπροσωπεύουν το 63%, με νόσο περιφερικού σταδίου το 27% ενώ με μακρινή (μεταστατική) νόσο μόλις το 6%. Αν και το ποσοστό της μακρινής (μεταστατικής) νόσου είναι μικρό, οι μεταστατικοί όγκοι ευθύνονται για περισσότερο από το 90% όλων των θανάτων που σχετίζονται με καρκίνο. Οι θέσεις μακρινής μετάστασης των ασθενών με καρκίνο του μαστού σταδίου IV περιλαμβάνουν τον πνεύμονα (16,0%), τα οστά (68,8%), το ήπαρ (13,3%) και τον εγκέφαλο (1,9%) (3).

Ο καρκίνος του μαστού έχει ταξινομηθεί σε διαφορετικούς μοριακούς υποτύπους: αυλικός A (Luminal A), αυλικός B (Luminal B), θετικός στον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα 2 (Her2) και τριπλός αρνητικός καρκίνος μαστού (TNBC) (4). Αυτοί οι υπότυποι του καρκίνου του μαστού έχουν διαφορετικές ιστοπαθολογικές και κλινικές συμπεριφορές και σχετίζονται με διαφορετικές ηλικιακές ομάδες και εθνότητες όπως η υπότυποι TNBC και Her2 που είναι πιο συχνοί σε προεμμηνοπαυσιακές και νεότερες γυναίκες, παρουσιάζοντας μεγάλο μεταστατικό δυναμικό με υψηλό ποσοστό υποτροπής (5).

Σημαντικό στο μεταστατικό δυναμικό του καρκίνου του μαστού καθώς και στη διάγνωση και διαχείριση του είναι ένα μελετηθεί το μικροπεριβάλλον του όγκου (TME) (Tumor Microenvironment). Το μικροπεριβάλλον του όγκου περιλαμβάνει τα περιβάλλοντα ανοσοκύτταρα, την εξωκυτταρική μήτρα (ECM), τους ινοβλάστες, τα αιμοφόρα αγγεία, τα φλεγμονώδη κύτταρα που προέρχονται από το μυελό των οστών, τα λεμφοκύτταρα και τα μόρια σηματοδότησης. Η ανάπτυξη και η εξέλιξη του καρκίνου

επηρεάζεται από το μικροπεριβάλλον του όγκου που έχουν δημιουργήσει οι αλληλεπιδράσεις των κακοήθων και μη καρκινικών κυττάρων. Τα μη καρκινικά κύτταρα διεγείρουν τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό ενώ αντίθετα τα κακοήθη κύτταρα με τη βοήθεια του λεμφικού ή κυκλοφορικού συστήματος εξαπλώνονται σε άλλους ιστούς και μέρη του σώματος.

Τα κυτταρικά συστατικά του μικροπεριβάλλοντος του όγκου ποικίλλουν και το κάθε ένα παίζει βασικό ρόλο στην ανάπτυξη του όγκου. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα προστατεύουν τα καρκινικά κύτταρα από το ανοσοποιητικό σύστημα, τα αγγειογενή αγγεία προσφέρουν διατροφική υποστήριξη για την ανάπτυξη του όγκου ενώ τα ανοσοκύτταρα μακροφάγα προωθούν στο κυκλοφορικό σύστημα τα καρκινικά κύτταρα και μπορούν να καταστείλουν τους αντικαρκινικούς ανοσολογικούς μηχανισμούς και αποκρίσεις. Παλαιότερες μελέτες έδειξαν ότι τα μακροφάγα μπορούν να ανταγωνιστούν ή και να αυξήσουν την αντικαρκινική δραστηριότητα των κυτταροτοξικών παραγόντων και της ακτινοβολίας. Τέλος, οι ινοβλάστες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην μεταστατική διαδικασία καθώς επιτρέπουν στα καρκινικά κύτταρα να μεταναστεύουν από την αρχική θέση του όγκου στην κυκλοφορία του αίμα τους (6).

Η σύνθεση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου (TME) διαφέρει μεταξύ των ασθενών και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανταπόκριση ή μη στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου. Το ζήτημα αυτό της ανοσοθεραπευτικής αντοχής θα μπορούσε να επιλυθεί με επαναπρογραμματισμό των συστατικών του TME. Έτσι λοιπόν, η μελέτη και κατανόηση της πολυπλοκότητας των συστατικών του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, εκτός από τη δυνατότητα παρακολούθησης της εξέλιξης της νόσου, μπορεί να εξασφαλίσει μελλοντική προοπτική πιθανών θεραπευτικών στόχων των συστατικών αυτών (7).

Η συχνότητα εμφάνισης αυτού του κακοήθους όγκου αυξάνεται σε όλες τις περιοχές του κόσμου αλλά υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης συμβαίνει στις αναπτυγμένες χώρες (σχεδόν οι μισές περιπτώσεις σε παγκόσμια κλίμακα) (2). Αυτό συμβαίνει λόγω του τροποποιημένου τρόπου ζωής, της καθυστερημένης ηλικίας γάμου και πρώτου παιδιού, της εργασίας αργά τη νύχτα, των θεραπειών ορμονικής υποκατάστασης, του υπερβολικού άγχους και της μικρής σωματικής δραστηριότητας. Στις αναπτυσσόμενες χώρες οι κύριοι λόγοι για την υψηλή συχνότητα εμφάνισης και θνησιμότητας του καρκίνου του μαστού είναι η ελλιπής ενημέρωση ή και η γνώση της νόσου, η καθυστερημένη διάγνωση, οι ανεπαρκείς ιατρικές εγκαταστάσεις καθώς και τα κατάλληλα προγράμματα

προσυμπτωματικού ελέγχου (5).

Παρ όλα αυτά ο καρκίνος του μαστού είναι μια ετερογενής, πολυπαραγοντική και πολύπλοκη ασθένεια και παρά την επίδραση κάποιων γενετικών παραγόντων, όπως οι μεταλλάξεις γονιδίων BRCA1 και RCA2, δεν υπάρχει συγκεκριμένο εμφανές προφίλ κινδύνου στους περισσότερους ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Ωστόσο το 5-10% όλων των περιπτώσεων οφείλεται στις μεταλλάξεις των κληρονομικών γονιδίων υψηλής διεισδυτικότητας (8).

Η πιο κοινή και σημαντική μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο του καρκίνου του μαστού είναι οι μαστογραφία καθώς είναι η μόνη που έχει δείξει μείωση της θνησιμότητας. Επίσης η προσθήκη υπερηχογραφικού ελέγχου στη μαστογραφία έχει αυξήσει την ανίχνευση καρκίνου σε νεότερες γυναίκες με πυκνούς μαστούς (4,3 επιπλέον ανά 1000 περιπτώσεις). Μελέτες που έγιναν σε γυναίκες με πυκνούς μαστούς έδειξαν 77,5% ευαισθησία στην μαστογραφία συνδυασμένη με υπέρηχο ενώ μόλις 50,0% ευαισθησία σε απλή μαστογραφία (9).

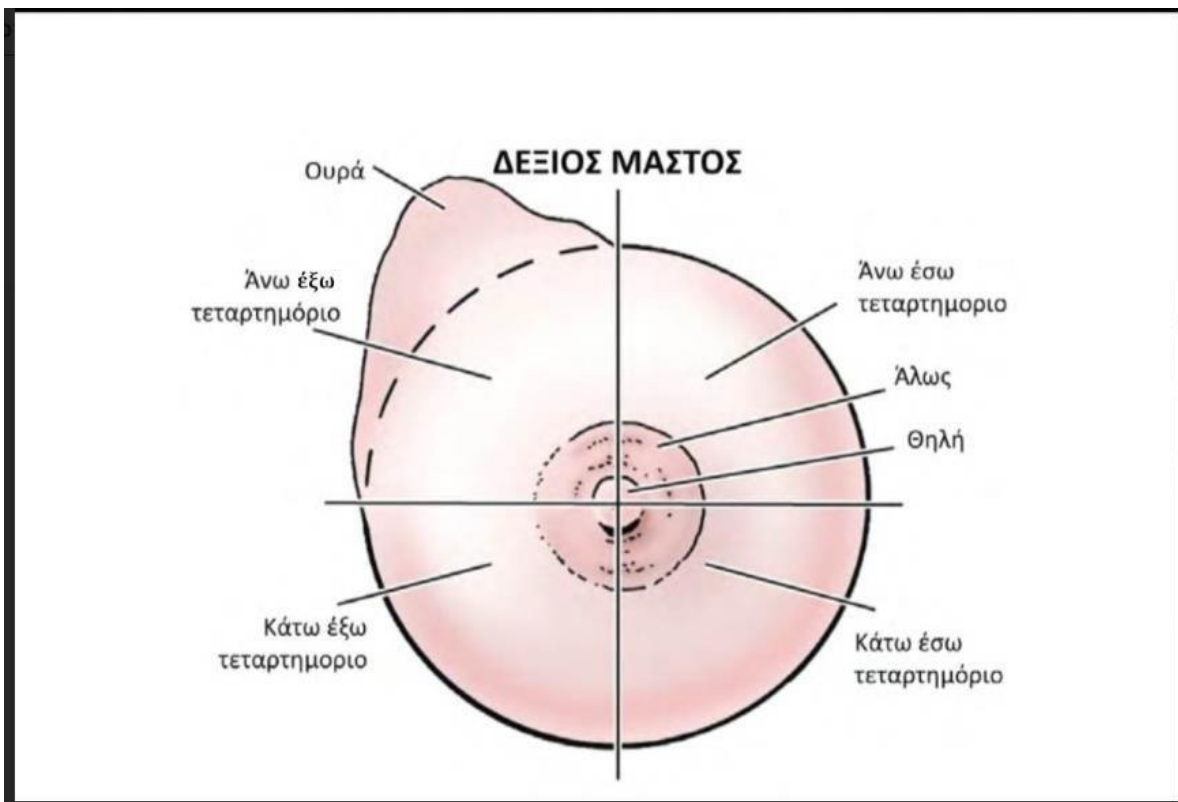
Μια επιπλέον σημαντική μέθοδο σε ασθενείς με νέοδιαγνωσθέντα καρκίνο μαστού είναι η μαγνητική τομογραφία (MRI) Όπου χρησιμοποιείται ως οδηγός για τις χειρουργικές επεμβάσεις καθώς δίνει πληροφορίες για την έκταση της νόσου και την ανίχνευση επιπλέον καρκίνων στους ετερόπλευρους και ομόπλευρους μαστούς οι οποίοι δεν είναι ορατοί μετά από μαστογραφία ή υπερηχογράφημα. Τέλος ένα ακόμη σημαντικό χαρακτηριστικό της μαγνητικής τομογραφίας είναι ότι χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία (10).

Όπως προαναφέρθηκε, ο καρκίνος του μαστού έχει ταξινομηθεί σε διαφορετικούς μοριακούς υποτύπους, οι οποίοι παρουσιάζουν διαφορετικές στρατηγικές θεραπείας με συνδυασμό εισαγωγικής χημειοθεραπείας, χειρουργικής επέμβασης σε χειρουργήσιμους όγκους, ακτινοθεραπείας και επικουρικής χημειοθεραπείας ή/και ενδοκρινικής θεραπείας (11) Η επιλογή της θεραπείας από τους κλινικούς γιατρούς εξαρτάται από το μέγεθος της βλάβης, την παρουσία ή μη μεταστατικής ή ετερόπλευρης νόσου, την ορμονική δεκτικότητα, τους ιστολογικούς δείκτες και την ηλικία και προτίμηση του ασθενούς (12).

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

Τα θηλαστικά ονομάζονται έτσι λόγω της παρουσίας του μαστικού αδένος στο στήθος. Αν και βρίσκεται και στα 2 φύλα, είναι ιδιαίτερα αναπτυγμένος στα θηλυκά και λιγότερο στους άνδρες καθώς η κύρια λειτουργία του είναι να εκκρίνει γάλα κατά τον θηλασμό μετά την κυοφορία των απογόνων του (13).

Πιο συγκεκριμένα, ο μαστικός αδένος βρίσκεται σε ζεύγη στο πρόσθιο θωρακικό τοίχωμα, ένα σε κάθε πλευρά, και διαιρείται για την καλύτερη μελέτη του με μια κάθετη και μια οριζόντια νοητή γραμμή που διαπερνά τη θηλή σε 4 τεταρτημόρια άνω-έσω, άνω-έξω, κάτω-έσω και κάτω-έξω τεταρτημόριο, με ιδιαίτερη σημασία στο άνω-έξω τεταρτημόριο όπου παρατηρείται η πιο συχνή εντόπιση όγκων του μαστού. Τέλος, ένα τμήμα του μαστού εκτείνεται στη μασχάλη μέχρι το τρίτο επίπεδο των πλευρών και ονομάζεται μασχαλιαία ουρά (του Spence) (14).



Εικόνα 1 Διαίρεση μαστού για την καλύτερη μελέτη του (15)

1.1 Δομή μαστού

Με βάση τη δομή του μαστικού αδένος, αυτός χωρίζεται σε 3 μέρη: α) το δέρμα, β) το παρέγχυμα και γ) το στρώμα.

Α) Δέρμα: Το δέρμα αποτελείται από τη θηλή και την θηλαία άλω (Areola), όπου η θηλή αποτελεί μια γονική προεξοχή που περιέχει κυκλικές και διαμήκειες λείες μυϊκές ίνες αλλά και νεύρα καθώς επίσης την διαπερνούν 15-20 γαλακτοφόροι αγωγοί ενώ η σκούρα περιοχή γύρω από τη θηλή (θηλαία άλω) είναι πλούσια σε τροποποιημένους σμηγματογόνους αδένες οι οποίοι προστατεύουν την θηλή και την θηλαία άλω από τη ρωγμή τους λόγω της λιπαρής έκκρισης τους.

Β) Παρέγχυμα: Διακλαδιζόμενη αγωγή και τερματική εκρηκτικοί λοβοί αποτελούν τον αδενικό ιστό του μαστικού αδένα. 15 έως 20 λοβοί αποτελούν τον μαστό οι οποίοι χωρίζονται περαιτέρω από 20 έως 40 και κάθε λοβός αποστραγγίζεται σε ένα κύριο γαλακτοφόρο πόρο. Αυτοί οι πόροι διευρύνονται ώστε να σχηματίσουν τον γαλακτοφόρο κόλπο κάτω από τη θηλή πριν ανοίξουν ξεχωριστά στη θηλή μέσω ενός στενού στομίου.

Γ) Στρώμα: Το στρώμα είναι ινώδες και λιπαρό και στην ουσία αποτελεί τη στήριξη του μαστού γύρω από το παρέγχυμα. Το ινώδες στρώμα διαχωρίζει τους λοβούς δημιουργώντας διαφράγματα γνωστά και ως ανασταλτικοί σύνδεσμοι του Cooper, και αναστέλλει τον μαστικό αδένα από τη θωρακική περιτονία ενώ το λιπαρό στρώμα αναφέρεται στις ποσότητες λίπους που καταλαμβάνουν τον κύριο όγκο του μαστικού αδένα (16)



Εικόνα 2 Δομή μαστού (17)

1.2 Παροχή αίματος, λεμφική παροχέτευση

Η παροχή αίματος των μαστικών αδένων γίνεται από τη διάτρηση κλάδων της εσωτερικής θωρακικής αρτηρίας, από την πλευρική θωρακική αρτηρία, την ανώτερη θωρακική αρτηρία, την ακρομιοθωρακική αρτηρία και από τους πλευρικούς κλάδους της οπίσθιας μεσοπλεύριας αρτηρίας ενώ οι φλέβες που ακολουθούν την πορεία των αρτηριών σχηματίζουν ένα φλεβικό κύκλο γύρω από τη θηλή ο οποίος χωρίζεται σε επιφανειακά και βαθιά σύνολα. Εδώ είναι σημαντικό να αναφερθεί η κλινική σημασία των βαθιών φλεβών μέσω των οποίων το καρκίνωμα του μαστού μπορεί να εξαπλωθεί στο πλέγμα Batson των φλεβών γύρω από τη σπονδυλική στήλη και γνωρίζοντας ότι οι φλέβες αυτές δεν διαθέτουν βαλβίδα, η μετάσταση θα φτάσει γρήγορα στη σπονδυλική στήλη και κατά συνέπεια στο νωτιαίο μυελό.

Μεγάλη κλινική σημασία, όμως, παρουσιάζει και η λεμφική παροχέτευση διότι συνήθως οι κακοήθειες του μαστού κάνουν μετάσταση μέσω των λεμφικών. Το λεμφικό σύστημα είναι ένα δίκτυο αγγείων (λεμφαγγεία) μέσα στα οποία κυκλοφορεί ένα υγρό που ονομάζεται λέμφος. Οι λέμφος παράγεται από τους διάφορους ιστούς και στη συνέχεια εισέρχεται στα λεμφαγγεία και δια μέσω αυτών καταλήγει στο φλεβικό σύστημα του οργανισμού.

Η αποστράγγιση της λέμφου από τον μαστό γίνεται κυρίως από την μασχαλιαία ομάδα των λεμφαδένων όπου περιέχει την πρόσθια (θωρακική) ομάδα, την οπίσθια (υποπλάτεια) ομάδα, την πλευρική ομάδα, την κεντρική ομάδα και τις κορυφαίες ομάδες και αποστραγγίζουν περίπου το 75% έως 80% ενώ οι εσωτερικοί μαστική κόμβοι είναι ομάδες λεμφαδένων που αποστραγγίζουν το υπόλοιπο 20% έως 25% της λέμφου (13).

1.3 Ανάπτυξη μαστού

Η ανάπτυξη του μαστού διακρίνεται σε 3 στάδια, εμβρυϊκή εφηβική και αναπαραγωγική (18). Οι δύο κύριες διαδικασίες στην προγεννητική ανάπτυξη του μαστού είναι η ανάπτυξη στοιχειώδους μαστικού αδένου ο σχηματισμός πρωτογενούς οφθαλμού μαστού και οι διαδικασίες αυτές δεν διαφέρουν μεταξύ των φύλων. Ήδη από το πρώτο τρίμηνο κύησης παρατηρούνται προγονικά κύτταρα ειδικά για το μαστικό σύστημα ενώ μέχρι τους 6 μήνες της κύησης έχει δημιουργηθεί το βασικό πλαίσιο του αδένου. Μετά τη γέννηση, τα πρώτα 2

χρόνια θεωρούνται πολύ σημαντική περίοδος για την ωρίμανση του μαστού ενώ από τα 2 χρόνια έως και την εφηβεία ο φυσιολογικός μαστικός αδένας παραμένει ήρεμος.

Η εφηβική ανάπτυξη του μαστικού αδένος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την επίδραση των ορμονών φύλου και ιδιαίτερα των οιστρογόνων, η δράση των οποίων εξαρτάται από την παρουσία αυξητικής ορμόνης της υπόφυσης για την ικανότητα αυτής να διεγείρει την παραγωγή ινσουλίνης, όπως για παράδειγμα αυξητικού παράγοντα 1 (IGF-1) στον μαστικό αδένος.

Κατά την εφηβεία ανύψωση της θηλής, διεύρυνση της διαμέτρου της θηλαίας άλω και ένα μικρό ανάχωμα ιστού μαστού παρατηρείται σε κορίτσια μεταξύ 8 έως 14<> ετών ενώ στο αρσενικό λόγω αύξηση της συγκέντρωσης της τεστοστερόνης δεν εμφανίζεται ανάπτυξη μαστού εκτός από κάποιες περιπτώσεις όπου κατά τη διάρκεια της εφηβείας, κυριαρχούν τα οιστρογόνα και μπορεί να εμφανιστεί παροδική γυναικομαστία (40% των ανδρών) (19).

1.4 Καλοήθειες παθήσεις μαστού

Ο όρος καλοήθειες παθήσεις μαστού αναφέρεται σε μια ομάδα βλαβών που παρουσιάζουν ποικιλία συμπτωμάτων και μπορεί να οφείλονται σε διάφορα αίτια. Οι καλοήθειες βλάβες δεν σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για επακόλουθο καρκίνο του μαστού και συνήθως αυξάνονται κατά τη δεύτερη δεκαετία της ζωής και κορυφώνονται κατά την τέταρτη και πέμπτη δεκαετία εν αντιθέσει με τις κακοήθειες ασθένειες όπου η συχνότητα συνεχίζει να αυξάνεται και μετά την εμμηνόπαυση (20).

Κάποιες από τις καλοήθειες παθήσεις είναι: η γυναικομαστία, το ινοαδένωμα, η κύστη, η μαστίτιδα, ο φυλλοειδής όγκος, το ενδοπορικό θήλωμα, φλεγμονές ή απόστημακ. α.

ΓΥΝΑΙΚΟΜΑΣΤΙΑ

Είναι μια κατάσταση όπου παρατηρείται αύξηση του όγκου του ανδρικού μαστού και εμφανίζεται συχνότερα σε περιόδους ορμονικής αλλαγής όπου υπάρχει ανισορροπία στις ορμόνες οιστρογόνα και τεστοστερόνη όπως η γέννηση, η εφηβεία και το γήρας. Οι αιτίες αυτής της κατάστασης μπορεί να περιλαμβάνουν χρήση στεροειδών, ακραία παχυσαρκία, φαρμακολογικούς παράγοντες, ιατρικές καταστάσεις όπως η νόσος του θυροειδούς,

νεφρική ανεπάρκεια αλλά και ο υποσιτισμός.

Η θεραπεία της γυναικομαστίας, η οποία έχει ταξινομηθεί σε 3 βαθμούς, διαφέρει ανάλογα με την ποσότητα της περίσσειας του δέρματος και της πτώσης και μπορεί να περιλαμβάνει φάρμακα ακόμα λιποαναρρόφηση αλλά και χειρουργική εκτομή (21).

ΙΝΟΑΔΕΝΩΜΑ ΜΑΣΤΟΥ

Πρόκειται για καλοήγη, ανώδυνο όγκο του μαστού και εμφανίζεται σαν ένα συμπαγές εξόγκωμα. Μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία αλλά κυρίως εμφανίζεται σε γυναίκες ηλικίας 14-35 ετών. Οι αιτίες του είναι αντικρουόμενες αλλά πιστεύεται ότι η βλάβη αυτή έχει ορμονική αιτιολογία, λόγω της γυναικείας αναπαραγωγικής ορμόνης οιστρογόνο όπου ο ιστός του μαστού παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία και αυτό βασίζεται στο ότι το ινοαδένωμα αναπτύσσεται συνήθως στη διάρκεια της εγκυμοσύνης και δείχνει να συρρικνώνεται κατά την εμμηνόπαυση.

Η πλειονότητα των περιπτώσεων των ινοαδενωμάτων Δεν χρειάζονται θεραπεία καθώς συρρικνώνονται και εξαφανίζονται με το πέρασ του χρόνου. Σε περιπτώσεις όπου το μέγεθός τους είναι μεγάλο (περισσότερο από 2cm) και συμπιέζουν άλλους ιστούς του μαστού ή αναπτύσσονται ταχεία τότε θα πρέπει να αφαιρεθούν με χειρουργική επέμβαση οποία περιλαμβάνει ογκεκτομή ή κρυοπηξία (22).

ΦΥΛΛΟΕΙΔΗΣ ΟΓΚΟΣ

Αντίθετα με το ινοαδένωμα. ο φυλλοειδής όγκος είναι ένα σπάνιο ινοεπιθηλιακό νεόπλασμα που εμφανίζεται κυρίως σε γυναίκες μέσης ηλικίας και παρουσιάζει ένα μορφολογικό συνεχές από καλοήγη έως κακοήγη. Η αιτία της ανάπτυξης του όγκου μπορεί να είναι η γαλουχία, η εγκυμοσύνη, η αυξημένη δραστηριότητα οιστρογόνων και τα τραύματα ενώ αντιμετωπίζεται με τοπική εκτομή η ολική μαστεκτομή σε όγκους μεγάλου μεγέθους (25).

ΚΥΣΤΗ ΜΑΣΤΟΥ

Η πιο συχνή διάγνωση μεταξύ των γυναικών είναι οι κύστες μαστού οι οποίες αποτελούν μέρος μιας μεγαλύτερης καλοήθους ασθένειας γνωστή ως ινοκυστική νόσο μαστού. Η απλή κύστη αποτελείται από μια κοιλότητα γεμάτη υγρό. Μπορεί να είναι μικρές μικροκύστες ή μεγάλες μακροκύστες, να είναι απλές ή πολλαπλές και να παρουσιάζουν συμπτώματα

(πόνος, έκκριση θηλής, εξόγκωμα) ή και όχι. Η εκτροπή της φυσιολογικής ανάπτυξης και υποστροφής σχετίζονται με τις κύστες του μαστού ωστόσο η αιτιολογία τους είναι άγνωστη.

Η θεραπεία των απλών κύστεων είναι η αναρρόφηση ενώ οι πολύπλοκες κύστες του μαστού παρακολουθούνται πιο στενά, κάθε 6 έως 12 μήνες για 2 χρόνια. Σε περίπτωση αλλαγών που μπορούν να παρουσιάσουν ανησυχία είναι απαραίτητη η επανάληψη βιοψίας ή η χειρουργική εκτομή (23).

ΜΑΣΤΙΤΙΔΑ

Πρόκειται για μια φλεγμονή του ιστού του μαστού και μπορεί να διαχωριστεί σε θηλάζουσα και μη γαλουχιακή μαστίτιδα, με την πρώτη να είναι η πιο κοινή μορφή μαστίτιδας, ενώ η μη γαλουχιακή μαστίτιδα διαχωρίζεται σε δύο τύπους, την περιπορική για την ιδιοπαθή κοκκιωματώδη μαστίτιδα.

Η θηλάζουσα μαστίτιδα συμβαίνει κυρίως στις πρώτες 6 εβδομάδες του θηλασμού και προκαλείται συχνότερα από βακτήρια που αποικίζουν στο δέρμα, προκαλώντας παρατεταμένη διόγκωση των γαλακτοφόρων οδών. Οι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν πόνο, οίδημα, ερύθημα αλλά και πυρετό και σε επιμένουσες καταστάσεις αντιμετωπίζεται με αντιβιοτικά.

Η περιπορική μαστίτιδα εμφανίζεται κυρίως σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας και είναι μια καλοήγη φλεγμονή που επηρεάζει τους υποθηλαίους πόρους. Το κάπνισμα ενοχοποιείται για την εμφάνιση της κατάστασης αυτής αν και η γενικότερη αιτιολογία της δεν είναι σαφής ενώ αντιμετωπίζεται κυρίως με φάρμακα ή με αναρρόφηση εάν υπάρχει απόστημα.

Η ιδιοπαθής κοκκιωματώδης μαστίτιδα εμφανίζεται σε γυναίκες εντός 5 ετών από τον τοκετό η κλινική εικόνα μοιάζει με αυτή του καρκίνου του μαστού αλλά εκ των πραγμάτων είναι μια σπάνια καλοήγη φλεγμονή. Η αιτιολογία της δεν έχει διασαφηνιστεί. Ως πιθανές αιτίες έχει αναφερθεί η χρήση αντισυλληπτικών χαπιών, τα αυτοάνοσα νοσήματα, τα τραύματα κ. α. Η αντιμετώπιση της μπορεί να περιλαμβάνει αντιβιοτικά, χειρουργική επέμβαση, κορτικοστεροειδή αν και η κατάσταση αυτή μπορεί να υποχωρήσει και χωρίς θεραπεία μέσα σε διάστημα 5 μηνών (24).

ΕΝΔΟΠΟΡΙΚΟ ΗΛΩΜΑ

Πρόκειται για ένα καλοήγη όγκο που βρίσκεται στους αγωγούς του μαστού και εμφανίζεται σε γυναίκες όλων των ηλικιών αλλά κυρίως σε γυναίκες μεταξύ 35 και 55 ετών. Η εμφάνιση στους άνδρες είναι σπάνια. Η ασθενής παρουσιάζουν εκκρίσεις θηλής αλλά μπορεί να είναι και ασυμπτωματικοί ενώ οι παράγοντες κινδύνου είναι η θεραπεία με ορμόνες, η έκθεση σε οιστρογόνα, η χρήση αντισυλληπτικών και το οικογενειακό ιστορικό. Τέλος, για την αντιμετώπιση του όγκου συνιστάται χειρουργική εκτομή και πλήρη αφαίρεση του όγκου (26).

Κεφάλαιο 2. Κακοήθεις παθήσεις του μαστού

Ο καρκίνος του μαστού (BC) είναι η πιο συχνή κακοήθεια στις γυναίκες και η 5η αιτία θανάτου που σχετίζεται με καρκίνο παγκοσμίως (27).

2.1 Μοριακοί υπότυποι του καρκίνου του μαστού

Ο καρκίνος του μαστού έχει 4 πρωτογενείς μοριακούς υποτύπους, με συγκεκριμένες ιστολογίες και προγνώσεις, που ορίζονται σε μεγάλο βαθμό από ορμονικούς υποδοχείς (HR) και από την έκφραση του υποδοχέα 2 του ανθρώπινου επιδερμικού παράγοντα (HER2) και ταξινομείται από την ανατομική του προέλευση, είτε λοβιακή είτε πορογενή.

Οι 4 μοριακοί υπότυποι είναι:

- Αυλικός A (LUMINAL A) ή HR+/HER2- (HR-θετικός/HER2-αρνητικός)
- Αυλικός B (LUMINAL B) ή HR+/HER2+ (HR-θετικός/HER2-θετικός)
- HER2-θετικός
- Τριπλά αρνητικός (Triple negative) ή HR-/HER2- (HR/HER2-αρνητικό) (28)

ΑΥΛΙΚΟΣ Α

Οι όγκοι αυτοί έχουν βραδύτερο ρυθμό ανάπτυξης από άλλους τύπους. Ονομάζονται HR-θετικοί καθώς ορίζονται από υποδοχείς οιστρογόνων (ER) θετικούς ή/και υποδοχείς προγεστερόνης (PR) θετικούς. Για τη θεραπεία αυτού του τύπου καρκίνου του μαστού χρησιμοποιούνται φάρμακα που μειώνουν την ποσότητα αυτών των ορμονών, αντιμετωπίζεται δηλαδή με ορμονοθεραπεία.

Οι όγκοι αυτοί περιγράφονται επίσης και ως HER2-αρνητικοί. Το HER2 είναι ένα γονίδιο που παράγει μια πρωτεΐνη η οποία εντοπίζεται στην επιφάνεια των κυττάρων του

μαστού και παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική κυτταρική ανάπτυξη. Οι ασθενείς αυτοί εμφανίζουν φυσιολογικά επίπεδα της πρωτεΐνης HER2 (HER-2 negative breast cancer).

ΑΥΛΙΚΟΣ Β

Τα καρκινικά κύτταρα του Αυλικού Β αναπτύσσονται ταχύτερα από του Αυλικού Α και θεωρούνται πιο επιθετικά. Είναι HR-θετικοί όγκοι καθώς είναι θετικοί σε ορμονικούς υποδοχείς (ER ή/και PR) καθώς και HER2 θετικοί δεδομένης της υψηλότερης από την κανονική ποσότητα HER2 πρωτεΐνης. Σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού με υψηλότερα επίπεδα της πρωτεΐνης HER-2 η αντιμετώπιση γίνεται με φάρμακα στοχευμένης θεραπείας anti-HER2 όπως είναι οι τραστουζουμάμπη.

HER2-ΘΕΤΙΚΟΣ

Οι HER2-θετικοί καρκίνοι είναι ER- και PR- αρνητικοί και θετικοί στον ανθρώπινουποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER2). Οι υποδοχείς HER2 όταν λειτουργούν κανονικά ελέγχουν την ανάπτυξη, τη διαίρεση και την επισκευή των υγιών κυττάρων του μαστού. Στις περιπτώσεις όπου οι υποδοχείς αυτοί πολλαπλασιάζονται το αποτέλεσμα είναι η ανεξέλεγκτη και γρήγορη διαίρεση και ανάπτυξη των κυττάρων. Η αντιμετώπιση του HER2 θετικού καρκίνου, ανάλογα με το στάδιο, μπορεί να συνδυάζει χειρουργική επέμβαση, ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία ή/και χορήγηση στοχευμένης θεραπείας, όπως το ανοσοποιητικό μονοκλωνικό αντίσωμα.

ΤΡΙΠΛΑ ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ

Στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού τα κύτταρα δεν περιέχουν υποδοχείς οιστρογόνων, προγεστερόνης ή HER2, συνεπώς δεν μπορεί να αντιμετωπιστεί με ορμονοθεραπεία ή με φάρμακα που αναστέλλουν το HER2. Αυτός ο τύπος καρκίνου του μαστού αρχίζει συνήθως στους αγωγούς του μαστού και αντιμετωπίζεται με διάφορες επιλογές όπως χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία και στοχευμένη θεραπεία χωρίς HER2 (29)

Πίνακας 1 Υπότυποι καρκίνου του μαστού (28)

| ΥΠΟΤΥΠΟΣ | ΑΝΟΣΙΟΙΣΤΟΧΗΜΕΙΑ | ΠΡΟΓΝΩΣΗ | ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ |
|------------------|---|----------|---|
| Αυλικός Α | Θετικός σε υποδοχείς οιστρογόνων Θετικός στον υποδοχέα προγεστερόνης HER2 αρνητικός | Καλή | Ο πιο συνηθισμένος υπότυπος Συνήθως όγκοι χαμηλότερου βαθμού Συνήθως διαγιγνώσκονται σε πρώιμα στάδια Ανταποκρίνεται σε ορμονικές θεραπείες Χαμηλό ποσοστό υποτροπής |
| Αυλικός Β | Θετικός σε υποδοχείς οιστρογόνου Θετικός υποδοχέας προγεστερόνης HER2 θετικός ή αρνητικός | Μέτρια | Τείνουν να είναι υψηλότερου βαθμού Τείνουν να υποτροπιάζουν πιο συχνά από τον Αυλικό Α |
| HER2-θετικός | Αρνητικός υποδοχέας οιστρογόνων Αρνητικός υποδοχέας προγεστερόνης HER2 θετικός | Κακή | Ορισμένοι όγκοι μπορεί να είναι επιδεκτικοί σε anti-HER2 αντισώματα Δεν ανταποκρίνονται όλοι οι όγκοι στα μονοκλωνικά αντισώματα anti-HER2 Στους περισσότερους ασθενείς αναπτύσσεται αντίσταση στα μονοκλωνικά αντισώματα anti-HER2 (ιδιαίτερα στην τραστοζουμάμπη) |
| Τριπλά αρνητικός | Αρνητικός υποδοχέας οιστρογόνων Αρνητικός υποδοχέας προγεστερόνης HER2 αρνητικός | Κακή | Πιο συχνή στις μαύρες γυναίκες Η ηλικία κατά τη διάγνωση συνήθως είναι μικρότερη από άλλους υπότυπους Δεν επιδέχεται ορμονοθεραπεία ή θεραπεία HER2 Τείνει να είναι επιθετικός με υψηλά ποσοστά υποτροπής |

2. 2 Ιστολογική ταξινόμηση του καρκίνου του μαστού

Ο καρκίνος του μαστού κατηγοριοποιείται κυρίως σε καρκινώματα και σαρκώματα. Τα καρκινώματα προκύπτουν όταν ο καρκίνος του μαστού ξεκινά από τα επιθηλιακά κυτταρικά συστατικά του μαστού, συμπεριλαμβανομένων των λοβίων και των τερματικών αγωγών και επεκτείνεται περαιτέρω στα υποκείμενα μαστικά βλαστοκύτταρα (MSC) (Mammary stem cells), που με τη σειρά τους διαφοροποιούνται σε επιθηλιακά κύτταρα. Τα σαρκώματα προέρχονται από τους συνδετικούς ιστούς οι οποίοι στηρίζουν τους λόφους και τους αγωγούς.

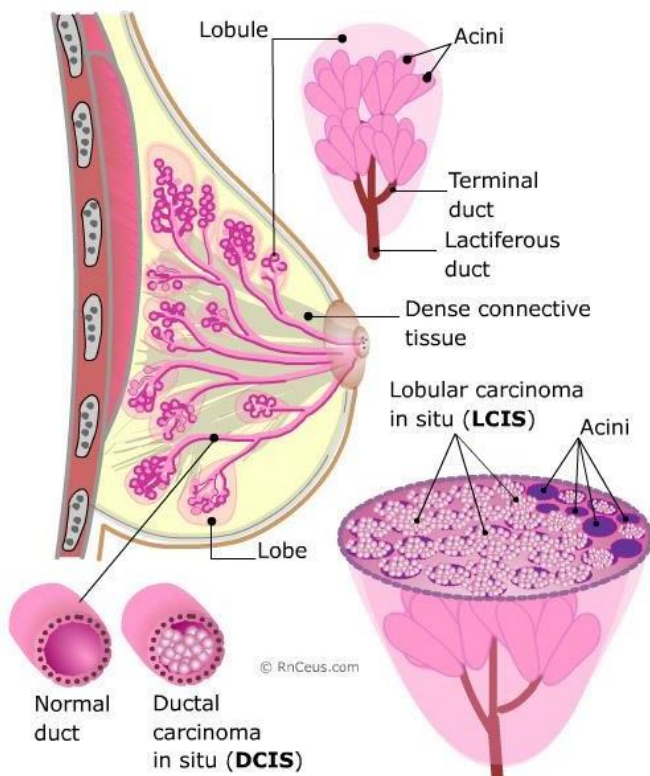
Τα καρκινώματα υποκατηγοριοποιούνται σε *in situ* και διηθητικά. Τα *in situ* εμφανίζονται κυρίως στους λόφους και αγωγούς, σε αντίθεση με τα διηθητικά καρκινώματα, τα οποία μπορούν να διεισδύσουν σε γειτονικούς ιστούς και να προκαλέσουν μετάσταση(30).

Υπάρχουν 2 κύριοι τύποι in situ καρκινωμάτων: το πορογενές, που αντιπροσωπεύει το 80% των προκαρκινικών μορφών, και το λοβιακό καρκίνωμα που αντιστοιχεί στο υπόλοιπο 20%.

Το πορογενές καρκίνωμα in situ (DCIS) (Ductal carcinoma in situ) ονομάζεται και ενδοπορικό καρκίνωμα και προέρχεται από τα επιθηλιακά κύτταρα που καλύπτουν τον γαλακτοφόρο πόρο. Το DCIS είναι ένας μη διηθητικός καρκίνος όπου ανώμαλα κύτταρα βρίσκονται στην επένδυση ενός πόρου του μαστού αλλά δεν έχουν εξαπλωθεί πέρα από αυτό, ενώ συχνά θεωρείται ως μια προκαρκινική κατάσταση. Ο όγκος αναπτύσσεται μέσα στον πόρο και είναι μια μορφή προ-επεμβατική (προ-καρκίνος) η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε αδenoκαρκίνωμα. Αναλυτικότερα, μπορεί να είναι χαμηλού, ενδιάμεσου ή υψηλού βαθμού και αντιμετωπίζεται με ογκεκτομή που σε συνδυασμό με ακτινοθεραπεία μειώνεται ο κίνδυνος υποτροπής.

Το λοβιακό καρκίνωμα in situ (LCIS) (Lobular carcinoma in situ) παραμένει μέσα στους λοβούς, δεν γίνεται αντιληπτό ως εξόγκωμα λόγω της θέσης του βαθύτερα στο στήθος και αναπτύσσεται από αδενωματώδη κύτταρα μέσα στο γάλα παράγοντας λοβούς του μαστού.

Σχηματικά, στην παρακάτω Εικόνα απεικονίζονται οι δύο αυτοί υπότυποι μη διηθητικών καρκινωμάτων, αναφορικά με την παθολογία που εμφανίζουν και την παθολογοανατομική θέση στην οποία εμφανίζονται.



Εικόνα 3 Παθολογοανατομική θέση εμφάνισης των δύο υπότυπων μη-διηθητικών καρκινωμάτων DCIS και LCIS. (31)

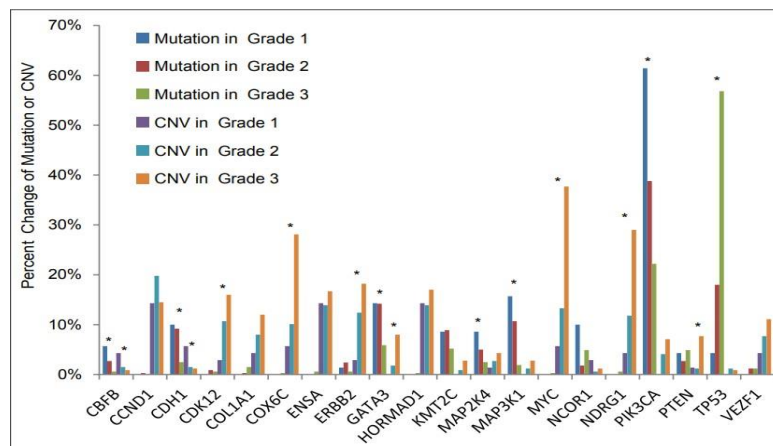
ΔΙΗΘΗΤΙΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ

Τα διηθητικά καρκινώματα αναπτύσσονται στον ιστό του μαστού και εξαπλώνονται στους λεμφαδένες και σε άλλα όργανα. Οι 2 κύριοι τύποι είναι: το διηθητικό λοβιακόκαρκίνωμα (ILC) (Invasive lobular carcinoma) για το διηθητικό πορογενές καρκίνωμα (IDC) (Invasive ductal carcinoma).

Το διηθητικό πορογενές καρκίνωμα (IDC) αντιπροσωπεύει το 70-80% όλων των περιπτώσεων και είναι ο πιο κοινός τύπος διηθητικού όγκου. Εξαπλώνεται μέσω της κυκλοφορίας του αίματος ή μέσω του λεμφικού αγγειακού συστήματος. Μεγαλύτερο κίνδυνο διατρέχουν γυναίκες άνω των 50, γυναίκες με κληρονομικές μεταλλάξεις BRCA1 και BRCA2 καθώς και γυναίκες όπου είχαν ταυτόχρονα τόσο πρώιμη εμμηνοαρχή πριν τα 12 έτη και εμμηνόπαυση μετά τα 55 χρόνια, λόγω μεγάλης έκθεσης στις γυναικείες ορμόνες.

Σύμφωνα με τον στενότερο ιστολογικό χαρακτηρισμό, το πορογενές καρκίνωμα μπορεί να χωριστεί σε υποτύπους: κλασικός μη ειδικός υπότυπος, αποκρινής υπότυπος, μυελοειδές καρκίνωμα, βλεννώδες καρκίνωμα, θηλώδες πορογενές καρκίνωμα και σωληναριακό πορογενές καρκίνωμα.

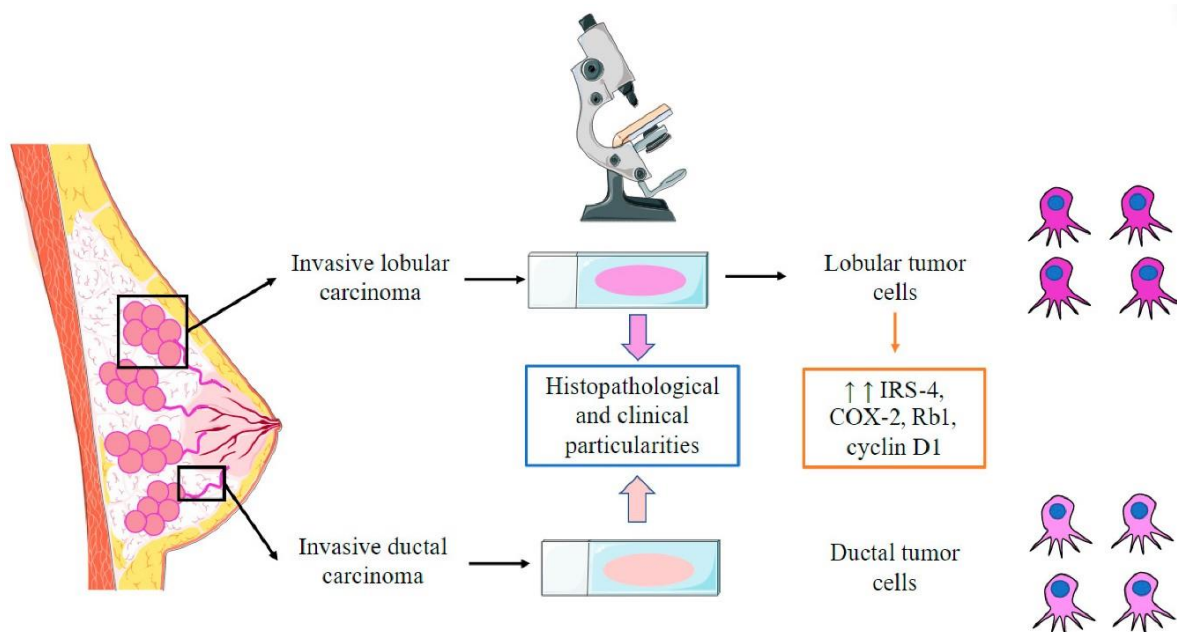
Οι ανωτέρω υπότυποι του πορογενούς καρκινώματος όπως αναφέρθηκαν, οφείλονται και προέρχονται από συγκεκριμένες μεταλλάξεις πολλές από τις οποίες έχουν μελετηθεί αναφορικά με τον επιπολασμό τους στην εμφάνιση αυτού του τύπου καρκίνου [Αυτές περιλαμβάνουν μεταλλάξεις σε TP53, PIK3CA, MAP3K1, GATA3 και CDH1 και CNV (copy number variance) σε COX6C, ERBB2, GATA3, MAP3K1, MYC, NDRG1 και PIK3CA]. Πιοσυγκεκριμένα, οι Shen et al. (2014) στην έρευνά του μελετώντας την συχνότητα εμφάνισης των μεταλλάξεων αυτών κατέληξαν πως το γονίδιο που εμφανίζει την πιο έντονη διαφορά στη συχνότητα μετάλλαξης σε σχέση με τον υπότυπο αυτό ήταν το TP53. Μεταλλάξεις σε αυτό γονίδιο ταυτοποιήθηκαν στο 58% του βαθμού III του διηθητικού τύπου IDC σε σύγκριση με μόνο το 4% του βαθμού I. Παράλληλα παρουσιάζει σύμφωνα με τους ερευνητές ιδιαίτερο ενδιαφέρον ότι οι μεταλλάξεις PIK3CA εμφάνισαν ακόμα μεγαλύτερη συχνότητα από τις μεταλλάξεις TP53, αλλά υπήρξε αντίστροφη συσχέτιση με τον βαθμό του καρκινώματος. Επίσης, ταυτοποιήθηκαν μεταλλάξεις PIK3CA στο 61% των διηθητικών καρκίνων του μαστού 1ου βαθμού I σε σύγκριση με ποσοστό μόνο 27% σε όγκους βαθμού III. Τέλος, τα γονίδια που βρέθηκαν με το πιο σημαντικό CNV ήταν οι MYC, COX6C και NDRG1 [32].



Σχηματικά, στην Εικόνα 4 παρουσιάζονται από τους Shein et al. (2014) τα ανωτέρω στοιχεία.

Αντιθέτως, το διηθητικό λοβιακό καρκίνωμα (ILC) αντιπροσωπεύει το 10% των περιπτώσεων και είναι ο δεύτερος πιο συχνός τύπος διηθητικού καρκίνου. Ξεκινά στους λοβούς και μπορεί να χωριστεί, όπως και το πορογενές, σε υποτύπους: κλασικός (μη ειδικός) υπότυπος, σωληνωτός υπότυπος, ιστιοκυτταροειδής υπότυπος.

Συμπερασματικά για την διάκριση των ανωτέρω υπότυπων πραγματοποιείται συγκεκριμένη ιστοπαθολογοανατομική εξέταση με σκοπό την στοχευμένη διάγνωση όχι μόνο του συγκεκριμένου υποτύπου αλλά και την υποδιαίρεση σε ακόμα πιο συγκεκριμένο υπότυπο με σκοπό την στοχευμένη θεραπεία. Επιπροσθέτως, στην παρακάτω Εικόνα όπως αναπαρίσταται από τους Ortega et al. (2022) φανερώνεται και η σημασία που εμφανίζει και το μικροπεριβάλλον του όγκου με τους ερευνητές να επισημαίνουν πως για την ορθή διάγνωση του ILC καρκινώματος σημασία έχει και η παρουσία συγκεκριμένων ουσιών [33].



Εικόνα 5 Η σειρά της διάγνωσης και οι διαφορές των δύο υποτύπων διηθητικών μορφών καρκίνου IDC και ILC. [31]

ΕΙΔΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΟΓΚΩΝ ΜΑΣΤΟΥ

Ο φλεγμονώδης καρκίνος του μαστού (IBC) (Inflammatory breast cancer) θεωρείται ειδικός ιστολογικός υπότυπος χωρίς συγκεκριμένη μοριακή ταυτότητα. Αντιπροσωπεύει το 1% έως 6% των διηθητικών καρκίνων μαστού και προέρχεται από πορογενή κακοήγη κύτταρα.

Η νόσος Paget του μαστού αντιπροσωπεύει το 1% έως 4% όλων των διηθητικών περιπτώσεων και μπορεί να εμφανιστεί και στους άνδρες (με χειρότερη πρόγνωση). Μπορεί να είναι in situ οι διηθητικό πορογενές καρκίνωμα, προέρχεται από κύτταρα των πόρων και εξαπλώνεται στο δέρμα της θηλαίας άλω και της θηλής.

Το αγγειοσάρκωμα αντιπροσωπεύει λιγότερο από το 1% όλων των καρκινωμάτων του μαστού. Σχηματίζεται μέσα στο στήθος από τη λέμφου ή τα αιμοφόρα αγγεία και μπορεί να εμφανιστεί ως επιπλοκή από την ακτινοθεραπεία.

ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Ο καρκίνος του μαστού κάνει κυρίως μεταστάσεις στον εγκέφαλο, τα οστά, τους πνεύμονες και το ήπαρ. Τα καρκινικά κύτταρα εξαπλώνονται μέσω της λέμφου και του αίματος με λεμφική αποστράγγιση κυρίως στους μασχαλιαίους λεμφαδένες (30-50%) ή στους λεμφαδένες της εσωτερικής αλυσίδας του μαστού (10-40%).

Το ποσοστό επιβίωσης φτάνει το 99% όταν καρκίνος έχει εξαπλωθεί μόνο εντός του μαστού, το ποσοστό μειώνεται στο 86% όταν έχουν επηρεαστεί γειτονικοί λεμφαδένες ενώ πέφτει

στο 28% όταν έχει γίνει μετάσταση σε απομακρυσμένο σημείο του σώματος (32).

2.2 Σύστημα σταδιοποίησης του όγκου TNM

Το σύστημα TNM (Tumor Node Metastasis) αξιολογεί ανατομικούς παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό της πιθανής έκβασης της νόσου (πρόγνωση).

Αυτοί οι παράγοντες είναι:

- T: το μέγεθος του όγκου
- N: ο αριθμός και η θέση των καρκινικών λεμφαδένων
- M: η παρουσία ή απουσία μεταστάσεων





Το μέγεθος του όγκου (T) είναι ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας. Γυναίκες που νοσούν και παρουσιάζουν μικρή διάσταση πρωτοπαθούς όγκου ($\leq 1\text{cm}$), ο οποίος περιορίζεται στον μαστικό αδένα, έχουν μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης (5 έτη). Επίσης ένας κόμπος μεγάλου μεγέθους προδιαθέτει τη συμμετοχή περιφερειακών λεμφαδένων.

Σημαντικός προγνωστικός παράγοντας είναι και η κατάσταση των λεμφαδένων (N). Τα ποσοστά επιβίωσης αυξάνονται (5 έτη) όταν ο αριθμός των κατελημμένων λεμφαδένων είναι μικρός ή δεν υπάρχουν περιφερειακοί κατελημμένοι λεμφαδένες (32).

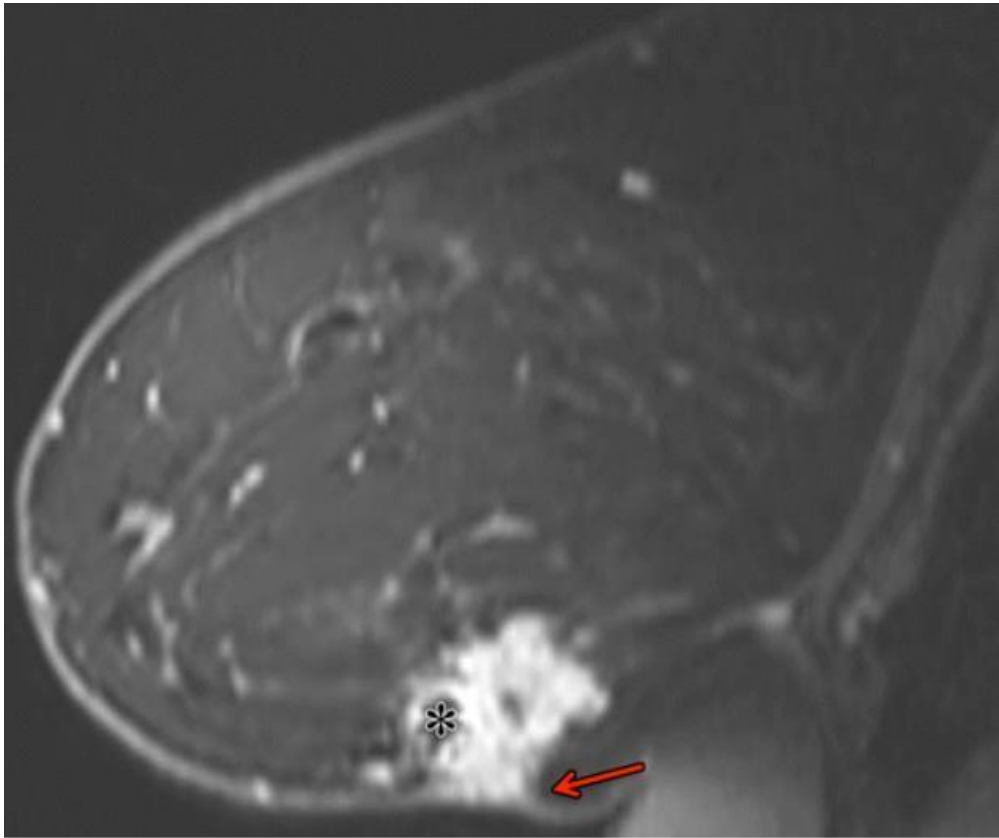
Έτσι ο κάθε όγκος λαμβάνει μια βαθμολογία T, N και M όπου:

- Διάσταση πρωτοπαθούς όγκου: Tis ως T4 (υποκατηγορίες T4: T4α,β,γ,δ)
- Κατάσταση περιφερειακών λεμφαδένων: N0 ως N3
- Μετάσταση: M0 ή M1

και ο όγκος ανάλογα των βαθμολογιών αυτών κατατάσσεται σε στάδιο 0, I, II, III ή IV. Τα στάδια I-III αφορούν πρώιμο καρκίνο μαστού ενώ το στάδιο IV αφορά μεταστατικό καρκίνο (34).

| | | | | |
|---|--|--|---|---|
| <p>ΜΕΓΕΘΟΣ Ο-ΓΚΟΥ</p> <p>T</p> | <p>Μέγεθος όγκου <2 cm</p>  <p>T1</p> | <p>Μέγεθος όγκου 2-5 cm</p>  <p>T2</p> | <p>Μέγεθος όγκου > 5cm</p>  <p>T3</p> | <p>Ο όγκος επεκτείνεται στο δέρμα ή στο θωρακικό τοίχωμα</p>  <p>T4</p> |
| <p>ΛΕΜΦΑΔΕ ΝΕΣ</p> <p>N</p> | <p>N0</p> <p>ΚΑΜΙΑ ΜΕΤΑ- ΣΤΑΣΗ ΣΤΟΥΣ ΛΕΜΦΑΔΕ ΝΕΣ</p> | <p>N1</p> <p>ΜΕΤΑΣΤΑΣ Η ΣΤΟΥΣ ΕΣΩΘΕΝ,ΚΙ ΝΗΤΟΥΣ ΜΑΣΧΑΛΙΑ ΙΟΥΣ ΛΕΜΦΑΔΕ ΝΕΣ</p> | <p>N2</p> <p>ΜΕΤΑΣΤΑΣ Η ΣΤΟΥΣ ΕΣΩ ΣΤΑΘΕΡΟΥ Σ ΜΑΣΧΑΛΙΑ ΙΟΥΣ ΉΕΣΩ ΜΑΣΤΙΚΟΥ Σ ΛΕΜΦΑΔΕ ΝΕΣ</p> | <p>N3</p> <p>ΜΕΤΑΣΤΑΣΗ ΣΕ Υ- ΠΟΚΛΕΙΔΙΚΟΥΣ/Υ- ΠΕΡΚΛΕΙΔΙΚΟΥΣ ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΣ Ή ΣΕ ΜΑΣΧΑΛΙΑΙΟΥΣΚΑΙ ΕΣΩ ΜΑΣΤΙ- ΚΟΥΣ ΛΕΜΦΑΔΕ- ΝΕΣ</p> |
| <p>ΜΕΤΑΣΤΑΣ Η</p> <p>M</p> | <p>M0</p> <p>ΧΩΡΙΣ ΜΑΚΡΙΝΗ ΜΕΤΑΣΤΑΣ Η</p> | <p>M1</p> <p>ΑΠΟΜΑΚΡ Υ- ΣΜΈΝΗ ΜΕΤΑ- ΣΤΑΣΗ</p> | | |

Πίνακας 2 TNM και σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού (34)



Εικόνα 6 Διηθητικό πορογενές καρκίνωμα (Στάδιο T2N1M0) του δεξιού μαστού σε γυναίκα 55 ετών (35)

Κεφάλαιο 3. Μικροπεριβάλλον όγκου

3.1 Ιστορική αναδρομή - Ανοσοποιητικό σύστημα και καρκίνος

Οι πρώτες ενδείξεις ότι το ανοσοποιητικό σύστημα εμπλέκεται στον έλεγχο του καρκίνου εντοπίστηκαν πριν από περισσότερο από έναν αιώνα. Παρ όλα αυτά, η ανοσολογία των όγκων θεωρείται αναδυόμενος τομέας. Πράγματι, η σχέση του ανοσοποιητικού συστήματος με το καρκίνο άρχισε να γίνεται γνωστή και να διερευνάται τις τελευταίες δυο δεκαετίες, φέρνοντας στο προσκήνιο 2 βασικές έννοιες: ανοσοεπιτήρηση και ανοσοεπεξεργασία για τη σημασία της ανοσολογικής συσσωμάτωσης.

Το 1863 ο Rudolf Virchow μίλησε για τη σχέση μεταξύ καρκίνου και φλεγμονών και έθεσε την εικασία ότι σοβαροί ερεθισμοί στους ιστούς μπορούν να προκαλέσουν καρκίνο. Η θεωρία του, που έγινε γνωστή ως «θεωρία χρόνιου ερεθισμού», επιβεβαιώθηκε το 1990 από αναμφισβήτητα στοιχεία για κάποιους τύπους καρκίνου.

Αργότερα, το 1891 ο William Bradley Coley, χειρουργός σαρκώματος οστών, άρχισε να μελετά την ανοσοθεραπεία. Ο Coley με αφορμή την παλινδρόμηση του οποίου σε ασθενή μολυσμένο από στρεπτόκοκκο, διατύπωσε για πρώτη φορά ότι ο ιός θα μπορούσε να καταπολεμηθεί με ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενή (36). Μέχρι τον θάνατό του, το 1936, ο Coley μελετούσε ο εμβολιασμός με ζωντανές βακτηριακές καλλιέργειες, που έγιναν αργότερα γνωστές ως «τοξίνες του Coley», έχει επίδραση στην ανθρώπινη κακοήθεια. Πράγματι, τα κλινικά αποτελέσματα που καταγράφηκαν αρχικά ήταν εκπληκτικά, με πολλές περιπτώσεις πλήρους υποχώρησης της προχωρημένης κακοήθειας. Η θεωρία του Coley ήταν ότι μια ανοσολογική αντίδραση ενάντια σε μια τοξίνη που βρίσκεται στο μολυσματικό υλικό αντέδρασε και κατέστρεψε τα καρκινικά κύτταρα (37). Παρά τα αξιοσημείωτα αποτελέσματα οι κλινικοί γιατροί δεν εμπιστεύονταν τα αποτελέσματα του και με την πάροδο του χρόνου οι μέθοδοι αντικαταστάθηκαν με χημειοθεραπευτικές και ακτινοθεραπευτικές προσεγγίσεις.

Ο George Beatson, επίσης έφερε στην επιφάνεια ένα σημαντικό στοιχείο στην προσπάθεια του να θεραπεύσει έναν ανεγχείρητο καρκίνο μαστού εκμεταλλευόμενος την κατάλυση των ωοθηκών. Αξιοποιώντας τις σχέσεις μεταξύ καρκίνου και στεροειδών ορμονών φύλου, άνοιξε το δρόμο για την ορμονική θεραπεία σε ορμονοευαίσθητους καρκίνους όπως μαστού, προστάτη κ. α. Η μέθοδός του έγινε ευρέως διαδεδομένη και

χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα.

Το 1909 ο Paul Ehrlich προσέγγισε την ιδέα ότι η άμυνα του ξενιστή μπορεί να σταματήσει τα πλασματικά κύτταρα να εξελιχθούν σε όγκο (36).

Από το 1957 επανεξεταστεί και η υπόθεση για τη ανοσοβιολογική επιτήρηση του καρκίνου από πολλούς επιστήμονες. Τη χρονιά εκείνη, ο Frank Macfarlane Burnet διατύπωσε τη θεωρία της ανοσοεπιτήρησης (Immunosurveillance theory), η οποία υποστηρίζει ότι το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να αναγνωρίζει ειδικά αντιγόνα όπου εκφράζονται από μετασχηματισμένα κύτταρα και να τα εξαλείψει. (38) Ενώ το 1959 και ο Lewis Thomas ανέπτυξε τη θεωρία ότι το χημικό ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να αναγνωρίσει εμφανιζόμενα αντιγόνα όγκων.

Η κυτταρική θεραπεία ή η μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων (HSCT) (hematopoietic stem cell transplantation) ήρθε στο προσκήνιο όταν το 1957 ο Edward Donnall Thomas θεράπευσε ασθενή με λευχαιμία μετά από έγχυση μυελού των οστών από το πανομοιότυπο δίδυμο του. Η επιτυχία αυτή βασίζεται στην ικανότητα των βλαστικών κυττάρων που προέρχονται από τον δότη να εξασφαλίζουν άλλου ανούσια με αποτέλεσμα την εξάλειψη της υπολειμματικής νόσου αλλά και την περίπτωση υποτροπής. Τέλος, το 1957 η ανακάλυψη των ιντερφερονών (IFN) (interferone) και των Τ-κυττάρων, από τους Isaacs και Lindenmann, ο ρόλος αυτών στις προσαρμοστικές ανοσολογικές αποκρίσεις ήταν καθοριστικής σημασίας για την πρόοδο της βασικής ανοσολογίας και αποτέλεσε την αρχή πολλών κρίσιμων ευρημάτων.

Άλλοι τύποι ανοσοκυττάρων, εκτός από τα Τ-κύτταρα, που χρησιμοποιήθηκαν για κυτταρική ανοσοθεραπεία ήταν τα δενδρικά κύτταρα (DCs) (dendritic cells), τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK) (natural killer cells), τα κύτταρα φονείς που ενεργοποιούνται με λεμφοκίνη (LAK) (lymphokine activation killer cells) και τα κύτταρα δολοφόνοι που προκαλούνται από κυτοκίνες (CIK) (cytokine-induced killer cells) (36).

3.2 Το ανοσοποιητικό σύστημα και τα κύτταρα του

Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ένα εκπληκτικό και περίπλοκο δίκτυο μεταξύ κυττάρων και πρωτεϊνών που συνεργάζονται αρμονικά ώστε να παρέχουν άμυνα στον οργανισμό στην έκθεσή του σε παθογόνα ή/και άλλα ξένα μόρια αναγνωρίζοντας τα και απωθώντας τα.

Το ανοσοποιητικό σύστημα διαιρείται σε 2 μεγάλα υποσυστήματα ο

καθορίζονται από την ειδικότητα για την ταχύτητα της αντίδρασης τους:

- Ενδογενές ή έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα
- Προσαρμοστικό ή επίκτητο ανοσοποιητικό σύστημα

ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ Η ΕΜΦΥΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα περιλαμβάνει ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, τα κύτταρα φυσικούς φονείς (NK) και ένα σύνολο πρωτεϊνών, που ονομάζονται πρωτεΐνες του συμπλέγματος, όπου παρέχουν άμεση άμυνας του ξενιστή.

Αν και η έμφυτη αναλογική απόκριση είναι ταχεία μπορεί, λόγω έλλειψης ειδικότητας, να βλάψει τους φυσιολογικούς ιστούς (39).

ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ

Βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος και είναι τα περισσότερα από όλους τους τύπους των λευκών αιμοσφαιρίων. Τα ουδετερόφιλα είναι αυτά που στρατολογούνται πρώτα και μεταναστεύουν στο σημείο της μόλυνσης μέσω των κυτταρικών και μητρικών συστατικών των τοιχωμάτων των αιμοφόρων αγγείων. Βασική τους λειτουργία είναι η φαγοκυττάρωση και ο θάνατος ενδοκυτταρικών και εξωτερικών παθογόνων, η αναδιαμόρφωση ιστών και η έκρηξη ανοσορρυθμιστικών μορίων που μπορούν με τη σειρά τους να ρυθμίσουν την ενεργοποίηση και στρατολόγηση διαφορετικών προφλεγμονωδών λευκοκυττάρων (40).

ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα μονοκύτταρα βρίσκονται και αυτά στην κυκλοφορία του αίματος και αποτελούν το ~ 10% των λευκών αιμοσφαιρίων. Αποτελούν ένα συστατικό του «μονοπύρηνου φαγοκυτταρικού συστήματος», το οποίο μοιράζονται με τα δενδρικά και τα μακροφάγα κύτταρα (41). Τα μονοπύρηννα και τα μακροφάγα έχουν σημαντικό ρόλο τόσο στην επισκευή των ιστών όσο και στους μηχανισμούς ίνωσης και αναγέννησης τους. Μετά από τραυματισμό τα μακροφάγα αποτελούν πηγή μεταλλοπρωτεϊνών μήτρας (MMPs) (Matrix Metalloproteinase), χημειοκινών και άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών που οδηγούν στην κυτταρική απόκριση (42).

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ

Το σύστημα συμπληρώματος αποτελείται από περισσότερες από 20 γλυκοπρωτεΐνες, κάποιες από τις οποίες είναι ρυθμιστικές, και λειτουργούν με τέτοιο μεθοδικό τρόπο ώστε να επιτίθεται σε ξένα κύτταρα και μικρόβια. Για την ενεργοποίηση του συμπλέγματος στην παρουσία μιας ξένης ουσίας υπάρχουν τρία μονοπάτια: το κλασικό, από αντίδρασης αντιγόνου-αντισώματος, το εναλλακτικό, από πολυσακχαρίτες από ζυμομύκητες, και από αρνητικά κατά Gram βακτήρια (39).

ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΥΣΙΚΟΙ ΦΟΝΕΙΣ (NK)

Τα κύτταρα φυσικοί φονείς αποτελούν το 10 έως 15% του πληθυσμού των λεμφοκυττάρων του αίματος και είναι πολύ σημαντικά για την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων, την πρόληψη της εμφάνισης όγκων καθώς έχουν και άμεση απόκριση σε ιογενείς λοιμώξεις (43).

ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΟ Η ΕΠΙΚΤΗΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Στην επίκτητη ανοσία η απόκριση αποτελείται από αντιγονοειδικές αντιδράσεις μέσω T-λεμφοκυττάρων και των B-λεμφοκυττάρων. Η επίκτητη ανοσία είναι ακριβής αλλά χρειάζεται περισσότερο χρόνο να αναπτυχθεί σε σχέση με την έμφυτη.

Η δημιουργία ειδικών υποδοχέων T-κυττάρων (TCR) (T-Cell receptor) και υποδοχέων B-κυττάρων (BCR) (B-Cell receptor) (αντισώματα) καθιστά την επίκτητη ανοσία, μια ανόσια «μνήμης» καθώς τα ανοσολογικά κύτταρα θυμούνται μια επόμενη επαφή με το ίδιο παθογόνο (39,44).

T-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ Η T-ΚΥΤΤΑΡΑ

Αυτά τα κύτταρα είναι υπεύθυνα για την κυτταρική ανοσία. Υπάρχουν τα κυτταροτοξικά (CD8) κύτταρα όπου είναι υπεύθυνα να καταστρέφουν κύτταρα μολυσμένα με ιούς ή άλλα παθογόνα ή και κύτταρα με άλλου τύπου βλάβες, και τα βοηθητικά (CD4) κύτταρα που ρυθμίζουν τις ενδογενείς και επίκτητες ανοσολογικές αντιδράσεις. Τα CD4-T κύτταρα μπορούν να ομαδοποιηθούν περαιτέρω σε ομάδες όπου περιλαμβάνουν T-βοηθητικά (Th)1 (Th1), Th2, Th9, Th17, Th22, θυλακιδώδη βοηθητικά T (Tfh) και τα ρυθμιστικά T-κύτταρα (Tregs). Τα Tregs είναι σημαντικός παράγοντας για την ομοίωση του ανοσοποιητικού συστήματος και εμπλέκονται, εκτός των άλλων, στην πρόωξη της εξέλιξης του καρκίνου.

B-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ Η Β-ΚΥΤΤΑΡΑ

Αυτά τα κύτταρα είναι υπεύθυνα για τη χημική ανοσία. Μετά την αλληλεπίδραση μεταξύ αντιγόνων που συνδέονται με τον υποδοχέα των Β-κυττάρων (BCR), τα Β-κύτταρα ενεργοποιούνται σε πλασματοκύτταρα που παράγουν ανοσοσφαιρίνες (Ig), δηλαδή αντισώματα (45).

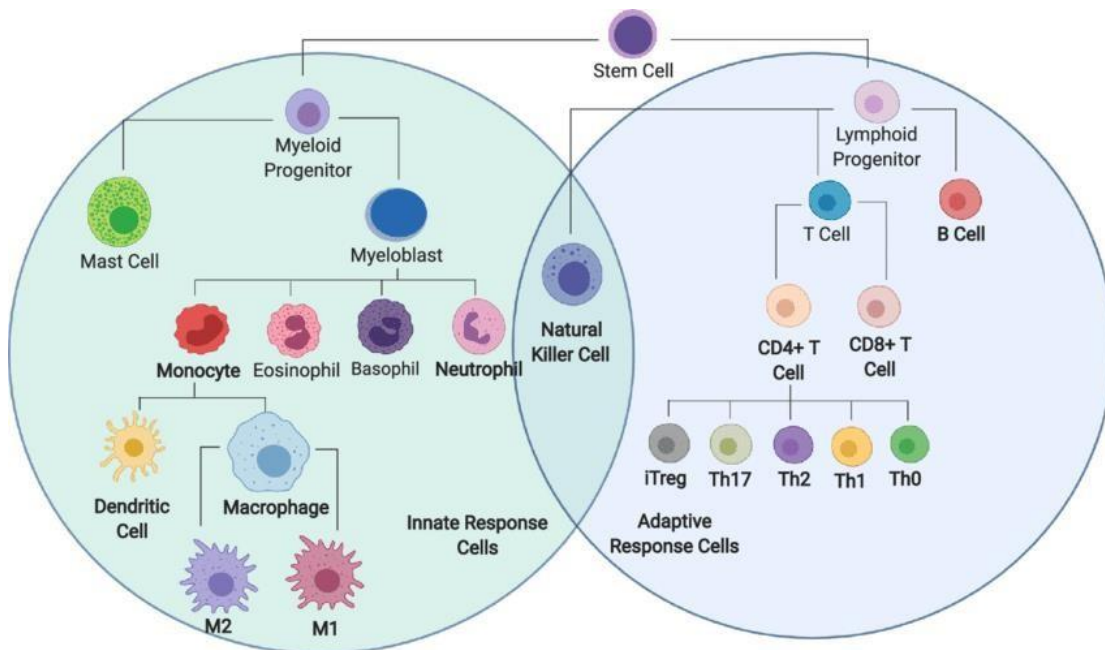
ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ

Ένα ακόμη σημαντικό ρυθμιστικό συστατικό του ανοσοποιητικού συστήματος είναι η αντιφλεγμονώδης κυτοκίνες και ειδικοί αναστολείς κυτοκινών. Οι αναστολείς αυτοί λειτουργούν ως ανοσορρυθμιστικά στοιχεία που περιορίζουν τις επιβλαβείς επιδράσεις από παρατεταμένη ή υπερβολική φλεγμονή. Σε παθολογικές συνθήκες, όμως, μπορούν να θέσουν σε κίνδυνο τον ξενιστή από παρατεταμένη λοίμωξη καθώς μπορούν να υπεραντισταθμίζουν και να αναστέλλουν την ανοσολογική απόκριση.

Οι αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες είναι ανοσορρυθμιστικά μόρια, που ελέγχουν την προφλεγμονώδη απόκριση κυτοκίνης, και περιλαμβάνουν τον ανταγωνιστή του υποδοχέα ιντερλευκίνης (IL)-1, IL-4, IL6, IL-10, IL-11 και IL-13.

Οποιαδήποτε γενετική, περιβαλλοντική ή μικροβιακή διαταραχή αυτό του ρυθμιστικού δικτύου κυτοκινών μπορεί να επιφέρει αρκετά επιβλαβείς συνέπειες (46).

Συνολικά, στην παρακάτω Εικόνα απεικονίζονται οι προγονικές και θυγατρικές σχέσεις που εμφανίζουν τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος συνολικά [47].



Εικόνα 7 Διαγραμματική απεικόνιση της σχέσης και της παραγωγής των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος [47].

3.3 Καρκινογένεση: ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Ο καρκίνος αποτελεί τις περισσότερες φορές ένα γενετικό νόσημα. Η ογκογένεση είναι αποτέλεσμα μεταλλάξεων σε ένα ή περισσότερα από τα γονίδια που ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Χαρακτηριστικά του καρκίνου είναι ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός κυττάρων, που προ-κύπτει από ανώμαλη μεταγωγή σήματος, η μετάσταση, η απώλεια απόπτωσης και η αγγειογένεση.

Τα γονίδια, οι μεταλλάξεις των οποίων ευθύνονται για τη γένεση του καρκίνου διακρίνονται σε 2 κατηγορίες: στα ογκογονίδια και στα ογκοκατασταλτικά γονίδια (47).

3.3.1 Ογκογονίδια

Τα πρώτο-ογκογονίδια βρίσκονται σε κάθε φυσιολογικό κύτταρο λειτουργώντας ως αυξητικοί παράγοντες, παράγοντες πυρηνικής μεταγραφής και μορφοτροπείς κυτταρικών σημάτων. Στα γονιδιώματα των θηλαστικών υπάρχει μια σειρά πρώτο-ογκογονιδίων για τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού και της φυσιολογικής κυτταρικής διαφοροποίησης. Εάν ο έλεγχος της συμπεριφοράς τους ή ο τρόπος που δομούνται οι κωδικοποιημένες πρωτεΐνες τους υποστεί οποιαδήποτε αλλαγή, τότε τα ογκογονίδια μπορούν να παρουσιαστούν στα καρκινικά κύτταρα ως ενεργοποιημένα ογκογονίδια.

Με το σχηματισμό αυτών των ογκογονιδίων γίνεται περαιτέρω πολλαπλασιασμός των κυττάρων με αποτέλεσμα να συμβάλλουν σημαντικά στην παθογένεση του καρκίνου. Η ενεργοποίηση των πρώτο-ογκογονιδίων τα καθίστασει ογκογονίδια όπου σήμερα έχουν αναγνωριστεί 50-60.

3.3.2 Ογκοκατασταλτικά Γονίδια

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια συμβάλλουν σημαντικά στη διαφοροποίηση και φυσιολογική ανάπτυξη του κυττάρου και εμποδίζουν την ανάπτυξη καρκίνου. Βρίσκονται και αυτά στα φυσιολογικά κύτταρα και αποτελούν μια μεγάλη ομάδα με κοινό χαρακτηριστικό την προστασία του οργανισμού από νεοπλασίες. Οι μεταλλάξεις που μπορούν να οδηγήσουν σε έλλειψη ή αδρανοποίηση τους έχει ως συνέπεια τον καρκίνο.

Η πρωτεΐνη ρετινοβλαστώματος 1 (RB1) και η πρωτεΐνη p53 είναι κάποια από τα παραδείγματα ογκοκατασταλτικών γονιδίων (48).

3.4 Μικροπεριβάλλον όγκου- Γενικά

Αν και η βιολογία του καρκίνου έχει εστιάσει κυρίως στις γενετικές και επιγενετικές αλλοιώσεις των καρκινικών κυττάρων που μπορούν να οδηγήσουν σε κακοήθεια, ένας καταρράκτης νέων στοιχείων αποκαλύπτει ότι το TME έχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου (49).

Το TME είναι ένα πολύπλοκο και εξειδικευμένο δίκτυο το οποίο αποτελείται από διάφορους κυτταρικούς τύπους και παράγοντες που βοηθούν στην ανάπτυξη και μετάσταση του όγκου μέσω επιμονής παροχής θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου εμποδίζοντας έτσι τόσο την ανοσολογική επιτήρηση όσο και την ικανότητα μεταφοράς φαρμάκων. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και των κυτταρικών και ακυτταρικών συστατικών του TME είναι αναγκαίες ώστε να δημιουργηθεί κλινική εξέλιξη, ετερογένεια και ενίσχυση της φαρμακευτικής αντοχής στα καρκινικά κύτταρα (50).

Η μεταβλητότητα του TME εξαρτάται εκτός από την γονιδιωματική αστάθεια, από τη θέση και τον τύπο του όγκου, την παρουσία λεμφαδένων, την παρουσία μεταλλάξεων, την ύπαρξη λιπώδους ιστού στην περιοχή αλλά και από τις θεραπευτικές παρεμβάσεις. Παρόλα αυτά, υπάρχουν κάποια σταθερά χαρακτηριστικά στο TME, όπως τα στρωματικά κύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα συστατικά των έμφυτων και προσαρμοστικών ανοσοκυττάρων και η εξοκυτταρική μήτρα. Τα στοιχεία αυτά του TME αλληλοεπιδρούν

μεταξύ τους δημιουργώντας εξειδικευμένα μικροπεριβάλλοντα εντός του TME που με τη σειρά τους συμβάλλουν στην ανθεκτικότητα και ανοσογονικότητα του όγκου.

Το TME, αναφέρεται στο πολύπλοκο οικοσύστημα κυττάρων, μορίων και δομών που περιβάλλουν και αλληλοεπιδρούν με καρκινικά κύτταρα μέσα σε έναν όγκο. Αυτό το μικροπεριβάλλον διαδραματίζει όπως αναφέρθηκε ιδιαίτερα κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη του όγκου, την εξέλιξη και την ανταπόκριση του σώματος στους διάφορους τύπους καρκίνου. Συνολικά, αποτελείται και ρυθμίζεται από διάφορες παραμέτρους:

Τα καρκινικά κύτταρα: Τα ίδια τα πρωτογενή καρκινικά κύτταρα, τα οποία μπορεί να είναι διαφορετικών τύπων και να έχουν διάφορες γενετικές μεταλλάξεις. Τα καρκινικά κύτταρα συχνά οδηγούν στην ανάπτυξη του όγκου και αποτελούν στόχο των θεραπειών για τον καρκίνο. Παράλληλα σημαντικό παράγοντα διαδραματίζει η ετερογένεια. Οι όγκοι συχνά αποτελούνται από πολλαπλούς υποπληθυσμούς καρκινικών κυττάρων με διακριτές γενετικές μεταλλάξεις. Αυτή η ετερογένεια μπορεί να οδηγήσει σε αντίσταση στη θεραπεία και απαιτεί προσαρμοσμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις, ενώ παράλληλα και η ύπαρξη μεταλλάξεων οδηγών σε καρκινικά κύτταρα βοηθά στην καθοδήγηση της επιλογής στοχευμένων θεραπειών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι στοχευμένες θεραπείες HER2 για HER2-θετικό καρκίνο του μαστού (50).

Τα στρωματικά κύτταρα: Αυτά περιλαμβάνουν ινοβλάστες, κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι ινοβλάστες παράγουν την εξωκυττάρια μήτρα (ECM: extracellular matrix), η οποία παρέχει δομική υποστήριξη στον όγκο. Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα λεμφοκύτταρα που διεισδύουν στον όγκο (TILs), μπορούν να έχουν τόσο προκαρκινικές όσο και αντικαρκινικές λειτουργίες, ενώ παράλληλα στην θεμέλια ουσία ανευρίσκονται και τα ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία σχηματίζουν και υποστηρίζουν τα αιμοφόρα αγγεία μέσα στον όγκο. Παράλληλα, οι ινοβλάστες που σχετίζονται με τον καρκίνο (CAFs) μπορούν να αναδιαμορφώσουν την εξωκυτταρική μήτρα, προωθώντας την εισβολή του όγκου. Η στόχευση των CAFs μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη του όγκου, ενώ και η σύνθεση και οι καταστάσεις ενεργοποίησης των ανοσοκυττάρων εντός της TME επηρεάζουν την ανοσολογική απόκριση στον καρκίνο. Ολοκληρώνοντας, οι ανοσοθεραπείες στοχεύουν στην αναζωογόνηση της αντικαρκινικής ανοσίας.

Κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος: Το ανοσοποιητικό σύστημα παίζει κρίσιμο ρόλο στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος

όπως τα Τ κύτταρα, τα Β κύτταρα, τα μακροφάγα και τα δενδρικά κύτταρα μπορούν να διεισδύσουν στους όγκους. Η δραστηριότητά τους μπορεί να επηρεάσει την έκβαση του καρκίνου και οι ανοσοθεραπείες έχουν σχεδιαστεί για να χειραγωγούν αυτές τις ανοσολογικές αποκρίσεις με σκοπό να στοχεύσουν θεραπευτικά στα καρκινικά κύτταρα. Πιο συγκεκριμένα, τα μόρια των ανοσολογικών σημείων ελέγχου όπως το PD-1 και το CTLA-4 μπορούν να εμφανίσουν αύξηση στην TME, καταστέλλοντας τη δραστηριότητα των Τ-κυττάρων. Οι αναστολείς των ανοσολογικών σημείων ελέγχου μπλοκάρουν αυτά τα μόρια, επιτρέποντας στο ανοσοποιητικό σύστημα να επιτεθεί στα καρκινικά κύτταρα. Ενώ, αναλύοντας τα λεμφοκύτταρα που διηθούνται από όγκους (TILs) επισημαίνεται πως η παρουσία TILs, ιδιαίτερα κυτταροτοξικών Τ κυττάρων, σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση, με τα TILs να αποτελούν το επίκεντρο της έρευνας ανοσοθεραπείας.

Θεμέλια ουσία (ECM): Η ECM είναι ένα πολύπλοκο δίκτυο πρωτεϊνών και υδατανθράκων που περιβάλλει τα κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Παρέχει μηχανική και βιοχημική υποστήριξη και μπορεί να επηρεάσει τη συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της διήθησης που μπορεί να παρουσιαστεί σε αυτούς τους τύπου καρκίνου σε άλλους παρακείμενους ιστούς, καθώς επίσης και της μετάστασης.

Αιμοφόρα αγγεία: Το μικροπεριβάλλον του όγκου μπορεί να διεγείρει την ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων (αγγειογένεση) για την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών ουσιών στα καρκινικά κύτταρα. Αυτή η διαδικασία είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του όγκου και μπορεί να αποτελεί θεραπευτική προσέγγιση σε αντι-αγγειογενετικές θεραπείες ως αντικαρκινική.

Μόρια σηματοδότησης: Διάφορα μόρια σηματοδότησης, όπως αυξητικοί παράγοντες, κυτοκίνες και χημειοκίνες, παράγονται στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Μπορούν να προωθήσουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, να καταστείλουν την ανοσολογική απόκριση ή να συμβάλουν στη φλεγμονή και την αγγειογένεση (51).

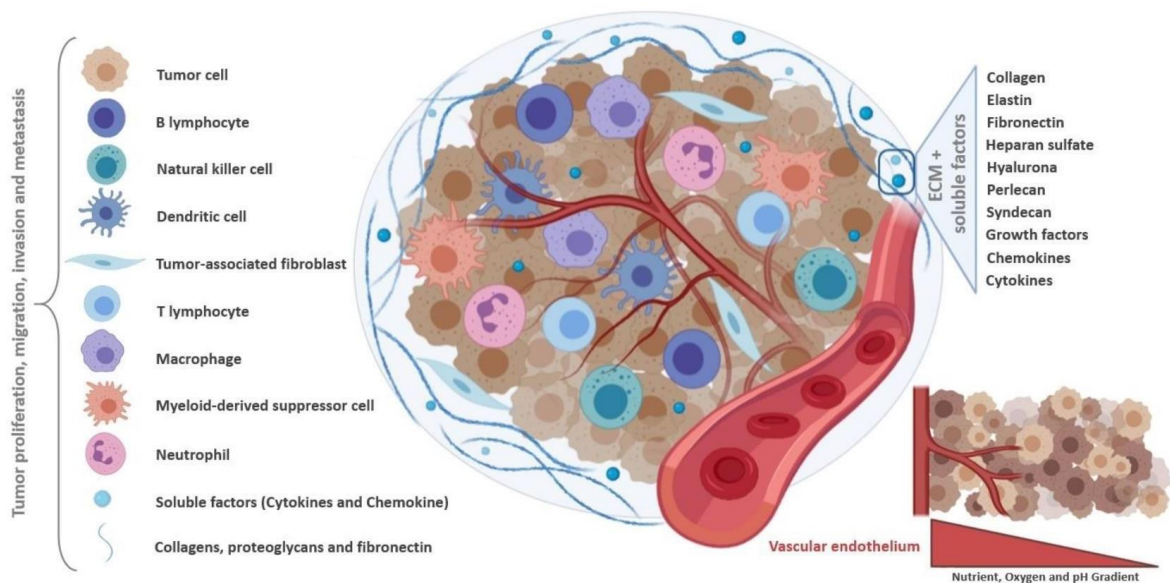
Επίπεδα οξυγόνου: Οι όγκοι συχνά έχουν περιοχές με χαμηλά επίπεδα οξυγόνου (υποξία) λόγω κακής παροχής αίματος. Αυτό μπορεί να επηρεάσει τη συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων και να κάνει τον όγκο πιο ανθεκτικό στη θεραπεία (51).

Μεταβολίτες: Οι μεταβολικές συνθήκες εντός του μικροπεριβάλλοντος του όγκου μπορεί να διαφέρουν από τον φυσιολογικό ιστό, επηρεάζοντας την παραγωγή ενέργειας και τη βιοσύνθεση. Αυτές οι συνθήκες μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη συμπεριφορά των

καρκινικών κυττάρων (51).

pH και όξινο περιβάλλον: Οι όγκοι τείνουν να είναι πιο όξινοι λόγω του τροποποιημένου μεταβολισμού και της παραγωγής γαλακτικού οξέος. Αυτό μπορεί να επηρεάσει την ανοσολογική απόκριση και να συμβάλει στην υποβάθμιση των ιστών (51).

Συνολικά, στην παρακάτω Εικόνα παρουσιάζονται σχηματικά οι ανωτέρω παράγοντες που επηρεάζουν αλλά και συγκροτούν το μικροπεριβάλλον του καρκινικού όγκου.



Εικόνα 8 Σχηματική αναπαράσταση του μικροπεριβάλλοντος του καρκινικού όγκου. [52].

3.4.1 Κύτταρα του ανοσοποιητικού

Τα ανοσοκύτταρα αποτελούν έναν ιδιαίτερα κρίσιμο παράγοντα του περιβάλλοντος του όγκου. Εξαρτώμενα από τις παρούσες συνθήκες, υπάρχει μια διχοτομία στη σχέση μεταξύ των ανοσοκυττάρων και του περιβάλλοντος του όγκου. Συγκεκριμένα, τα ανοσοκύτταρα μπορούν είτε να καταστείλουν την ανάπτυξη του όγκου είτε να την προωθήσουν, ανάλογα με τις συγκεκριμένες συνθήκες που επικρατούν. Η μακροχρόνια φλεγμονή λόγω χρόνιας λοίμωξης αποτελεί κοινό μηχανισμό που προκαλεί τη δημιουργία όγκων σε πολλούς είδους καρκίνους, συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου του παχέος εντέρου, του καρκίνου του ήπατος και του τραχήλου της μήτρας. Συνοπτικά, τα ανοσοκύτταρα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: τα ανοσοκύτταρα προσαρμοστικής ανοσίας και τα ανοσοκύτταρα φυσικής ανοσίας. Η προσαρμοστική ανοσία ενεργοποιείται με την έκθεση σε συγκεκριμένα αντιγόνα και εκμεταλλεύεται την

ανοσολογική μνήμη για να αναγνωρίσει τον κίνδυνο και να ενισχύσει τις ανοσολογικές αντιδράσεις. Τα κύτταρα T, τα κύτταρα B και τα κύτταρα φυσικής ανοσίας (NK) ανήκουν στην κατηγορία της προσαρμοστικής ανοσίας. Η φυσική ανοσία αποτελεί έναν μη ειδικό μηχανισμό άμυνας που ενεργοποιείται εντός λίγων ωρών από την είσοδο ενός ξένου αντιγόνου στο σώμα. Κύτταρα που συμμετέχουν σε μια ανοσοκυτταρική απάντηση φυσικής ανοσίας περιλαμβάνουν τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και, τέλος, τα δενδριτικά κύτταρα. (53).

Ειδικότερα, κάθε T-κύτταρο στοχεύει τον δικό του υποδοχέα T-κυττάρων (TCR), ο οποίος αναγνωρίζει ένα συγκεκριμένο αντίγονο. Εντός του περιβάλλοντος του όγκου υπάρχουν διάφορες διακριτές πληθυσμιακές ομάδες των T-κυττάρων που επηρεάζουν την ογκογένεση. Τα κυτταροτοξικά T-κύτταρα (CD8+) ανιχνεύουν μη φυσιολογικά αντιγόνα των όγκων που εκφράζονται στα κύτταρα του καρκίνου και στοχεύουν τα κύτταρα του όγκου για καταστροφή. Εκτός από τον φόνο των κυττάρων του όγκου, τα κυτταροτοξικά T-κύτταρα καταστέλλουν επίσης την αγγειογένεση μέσω της έκκρισης της ιντερφερόνης-γάμμα (IFN- γ). Τα CD4+ T-κύτταρα διαφοροποιούνται σε διάφορους υποτύπους και, ως εκ τούτου, συντονίζουν μια ευρεία γκάμα ανοσολογικών αντιδράσεων στο πλαίσιο του περιβάλλοντος του όγκου. Τα Th-1 κύτταρα είναι προφλεγμονώδη CD4+ T-κύτταρα που υποστηρίζουν τα CD8+ κύτταρα μέσω της έκκρισης της Ιντερφερόνης-2 (IL-2) και της IFN- γ . Αυξημένα επίπεδα Th-1 κυττάρων στο περιβάλλον του όγκου συνδέονται με θετικά αποτελέσματα σε πολλούς τύπους καρκίνου. Τα κύτταρα T Tregs απαιτούνται κανονικά για να καταστέλλουν φλεγμονές αντιδράσεις και να ελέγχουν την αυτοανοσία. Στο πλαίσιο του περιβάλλοντος του όγκου, τα Tregs αυξάνονται τοπικά και προάγουν την ανάπτυξη και την πρόοδο του όγκου καταστέλλοντας τις ανοσολογικές αντιδράσεις κατά αυτού. Για παράδειγμα, οι Tregs εκκρίνουν IL-2, η οποία ρυθμίζει την ισορροπία και τη λειτουργία των φυσικών δολοφόνων (NK) και υποστηρίζουν άμεσα την επιβίωση των κυττάρων του των καρκινικών κυττάρων μέσω της έκκρισης παραγόντων ανάπτυξης καθώς επίσης και έμμεσα μέσω της αλληλεπίδρασης με τα στρωματικά κύτταρα όπως οι ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ανοσία μέσα στο περιβάλλον του όγκου χωρίζεται σε τρεις βασικές κατηγορίες: ανοσοδιηθημένο, ανοσοαποκλεισμένο και ανοσοσιωπηλό (54).

Σε έναν ανοσοδιηθημένο όγκο, τα ανοσοκύτταρα (π.χ. κυτταροτοξικά T-κύτταρα) διανέμονται ομοιόμορφα σε όλο τον όγκο, υποδεικνύοντας μια ενεργή

ανοσολογική αντίδραση. Εναλλακτικά, ορισμένοι όγκοι κατατάσσονται ως ανοσοαποκλεισμένοι, όπου τα T-κύτταρα βρίσκονται στην περιφέρεια των όγκων και δεν έχουν διηθηθεί στο περιβάλλον του όγκου. Τέλος, ορισμένοι όγκοι κατηγορούνται ως «ανοσοσιωπηλοί», καθώς εντελώς τοποθετήσεις ανοσοκυττάρων, υποδηλώνοντας ότι δεν υπάρχει ανοσολογική αντίδραση στον όγκο (55).

Τα B-κύτταρα είναι εξειδικευμένα ανοσοκύτταρα που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή αντισωμάτων, την παρουσίαση αντιγόνων και την έκκριση κυτοκινών. Συνήθως, τα B-κύτταρα συγκεντρώνονται στο όριο των όγκων και βρίσκονται συχνά στους παρακείμενους λεμφαδένες - κοντά στο περιβάλλον του όγκου. Σε σύγκριση με τα T-κύτταρα, το περιβάλλον του όγκου έχει σχετικά λίγα διηθημένα B-κύτταρα. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η παρουσία και η λειτουργία των B-κυττάρων είναι σημαντικές κατά την ογκογένεση. Τα B-κύτταρα που διεισδύουν στον όγκο είναι σημαντικά για τον σχηματισμό «τριτογενών λεμφοειδών δομών», που αποτελούν έκτοπες λεμφοειδείς δομές που δημιουργούνται εντός του περιβάλλοντος του όγκου. Οι τριτογενείς αυτές λεμφοειδείς δομές επιτρέπουν τη στενή συσχέτιση μεταξύ T-κυττάρων και B-κυττάρων και αποτελούν θετικό προγνωστικό δείκτη στον καρκίνο του μαστού, το μελάνωμα και τον καρκίνο των ωοθηκών. Οι «αντικαρκινικοί ρόλοι» των B-κυττάρων περιλαμβάνουν την παρουσίαση αντιγόνων στα T-κύτταρα, την παραγωγή αντικαρκινικών αντισωμάτων και την έκκριση κυτοκινών που προωθούν τις χημειοτακτικές ανοσολογικές αντιδράσεις (π. χ. IFN- γ). Αντίστοιχα, τα B-κύτταρα μπορούν να έχουν προ-ογκογεννητικά αποτελέσματα, και η παρουσία τους στο περιβάλλον του όγκου μπορεί να προβλέπει κακή πρόγνωση σε άλλους είδους καρκίνου όπως αυτοί της ουροδόχου κύστεως, του προστάτη και των νεφρικών κυττάρων (55).

Συνεχίζοντας, αναφορικά με τα κύτταρα φυσικούς – φονείς ή τα κύτταρα φυσικοί-δολοφόνοι -όπως λέγονται αλλιώς- «περιφρουρούν» φυσικά το αίμα και αναζητούν μολυσμένα από ιούς κυτταρικά οικοσυστήματα του οργανισμού ή κύτταρα όγκου. Σε λειτουργικό επίπεδο, τα NK κύτταρα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: είτε συμμετέχουν άμεσα στην κυτταρομεσολαβούμενη εξόντωση των κυττάρων του όγκου, είτε εκκρίνουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Παράλληλα, τα NK κύτταρα είναι υ- ψηλά αποτελεσματικά στην εξόντωση κυττάρων του όγκου εντός της κυκλοφορίας του αίματος και μπορούν να συμμετάσχουν στον φραγμό της μεταστάσεως, αλλά είναι λιγότερο αποτελεσματικά στην εξόντωση εντός του περιβάλλοντος του όγκου.

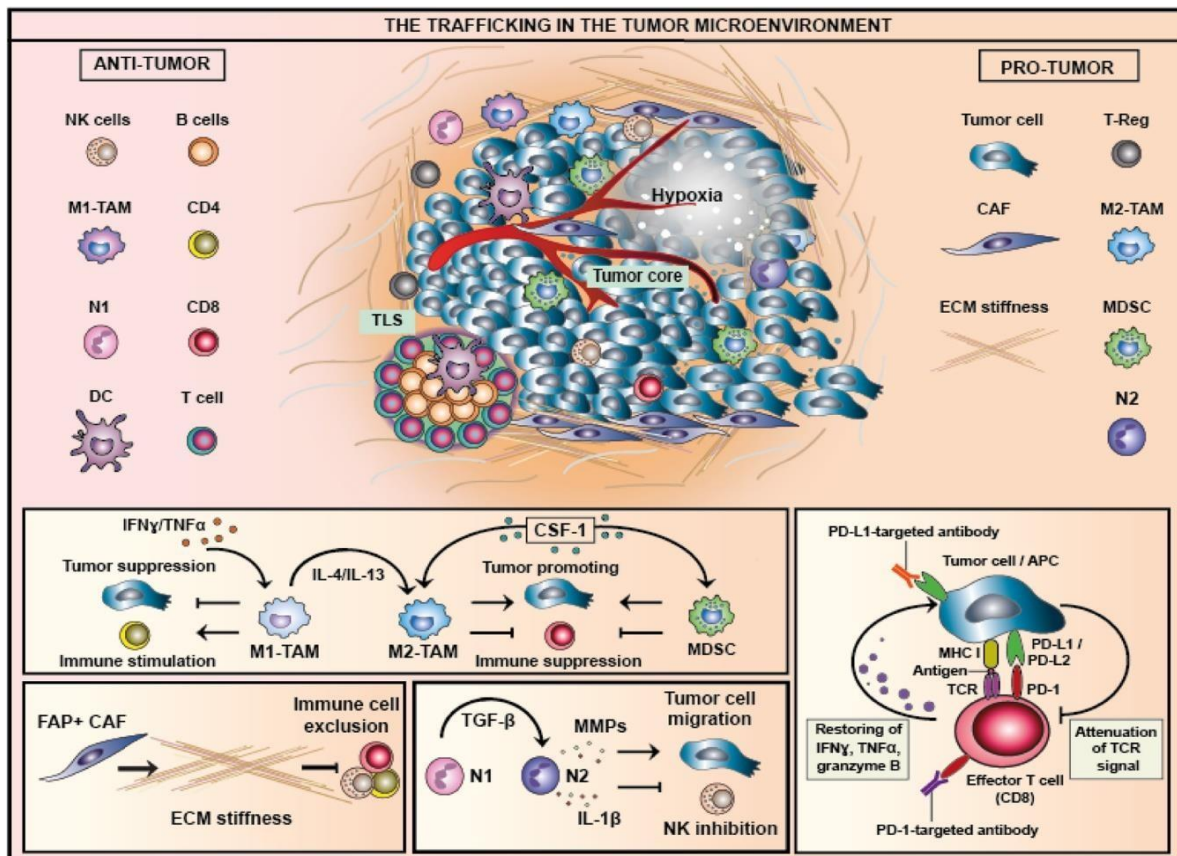
Τα μακροφάγα αποτελούν μία από τις κυριότερες συνιστώσες του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος που καθορίζουν τις ανοσολογικές αντιδράσεις μέσω της φαγοκυττάρωσης των παθογόνων και της αντιγονοπαρουσίασης, ενώ επίσης διαδραματίζουν μείζονα ρόλο στην επούλωση των τραυματισμένων ιστών. Τα μακροφάγα που προ-έρχονται από μονοκύτταρα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν είτε σε φλεγμονώδη μακροφάγα M1 που φαγοκυτταρώνουν και καταστρέφουν κύτταρα, είτε σε ανοσοκατασταλτικά μακροφάγα M2 που συμμετέχουν στην επούλωση των πληγών. Και οι δύο κατηγορίες μακροφάγων μπορούν να βρεθούν εντός του όγκου, αλλά το περιβάλλον του όγκου προάγει την ανάπτυξη των μακροφάγων τύπου M2 μέσω της αποσιώπησής τους και της έκκρισης κυττακινών (π. χ. IL-4), για να υποστηρίξει την ανάπτυξη και την πρόοδο του. Ορισμένοι τύποι όγκων μπορεί να εμφανίζουν μεγάλο βαθμό διήθησης μακροφάγων σε αυτούς και να αποτελούν έως και το 50% της μάζας του (54).

Επομένως, τα ουδετερόφιλα αποτελώντας την κυριότερη αμυντική γραμμή του ανοσοποιητικού έναντι των αντιγόνων, αποτελούν περισσότερο από το 70% των κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων. Στο πλαίσιο του καρκίνου, μπορούν να δράσουν είτε για να καταστείλουν είτε για να προωθήσουν της ανάπτυξη του όγκου, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκεται αλλά και τα συγκεκριμένα παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά του, αλλά και τις βιοχημικές παραμέτρους που καθορίζουν τον τύπο του καρκίνου. Αρχικά, με την πρωταρχική ανάπτυξη του όγκου τα ουδετερόφιλα καταφθάνουν στο περιβάλλον του όγκου και επάγουν φλεγμονώδεις διεργασίες μέσω της απελευθέρωσης κυττοκινών και αντιδραστικών οξειδίων με σκοπό την θανάτωση των καρκινικών κυττάρων. Έπειτα, επάγεται η ανάπτυξη του όγκου μέσω τροποποίησης του εξωκυττάρου πλέγματος (απελευθέρωση του VEGF και παραγωγής της μεταλλοπρωτεάσης του πλέγματος (MMP)-9) με σκοπό την νεοαγγείωση των νεοσυντιθέμενων καρκινικών κυττάρων και, τελικά, της τελικής διήθησής τους στους παρακείμενους ιστούς (54).

Τέλος, τα δενδριτικά κύτταρα (DCs) διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα ως κύτταρα παρουσίασης αντιγόνων (αντιγονοπαρουσιαστικά). Αναγνωρίζουν, αιχμαλωτίζουν και παρουσιάζουν αντιγόνα στα T-κύτταρα (κύτταρα παρουσίασης αντιγόνων, APC) στα δευτερεύοντα λεμφοειδή όργανα (π. χ. λεμφαδένες). Τελικά, τα DCs γεφυρώνουν το χάσμα μεταξύ της προσαρμοστικής και της ενδοκρινούς

ανοσίας για να εκκινήσουν εξειδικευμένες και στοχευμένες ανοσιακές αντιδράσεις των T-κυττάρων. Το περιβάλλον του όγκου διαμορφώνει σε κάθε περίπτωση την λειτουργία των DCs παρέχοντας περιβαλλοντικά σήματα που είτε δημιουργούν μια ανοσιακή αντίδραση στα κύτταρα του όγκου είτε τα αποδέχονται. Οι κυττοκίνες που εκκρίνονται από το περιβάλλον του όγκου προκαλούν τα DCs να ανέχονται την παρουσία των κυττάρων του όγκου και να αποκλείουν την έναρξη μιας ανοσιακής αντίδρασης γεγονός που συνηγορεί τελικώς υπέρ της ανάπτυξής του (55).

Στην Εικόνα 9 απεικονίζονται σχηματικά οι ανωτέρω πληροφορίες αναλύοντας την αλληλεπίδραση των διαφόρων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος που εμπλέκονται στην ανοσιακή απάντηση έναντι των καρκινικών κυττάρων [56].

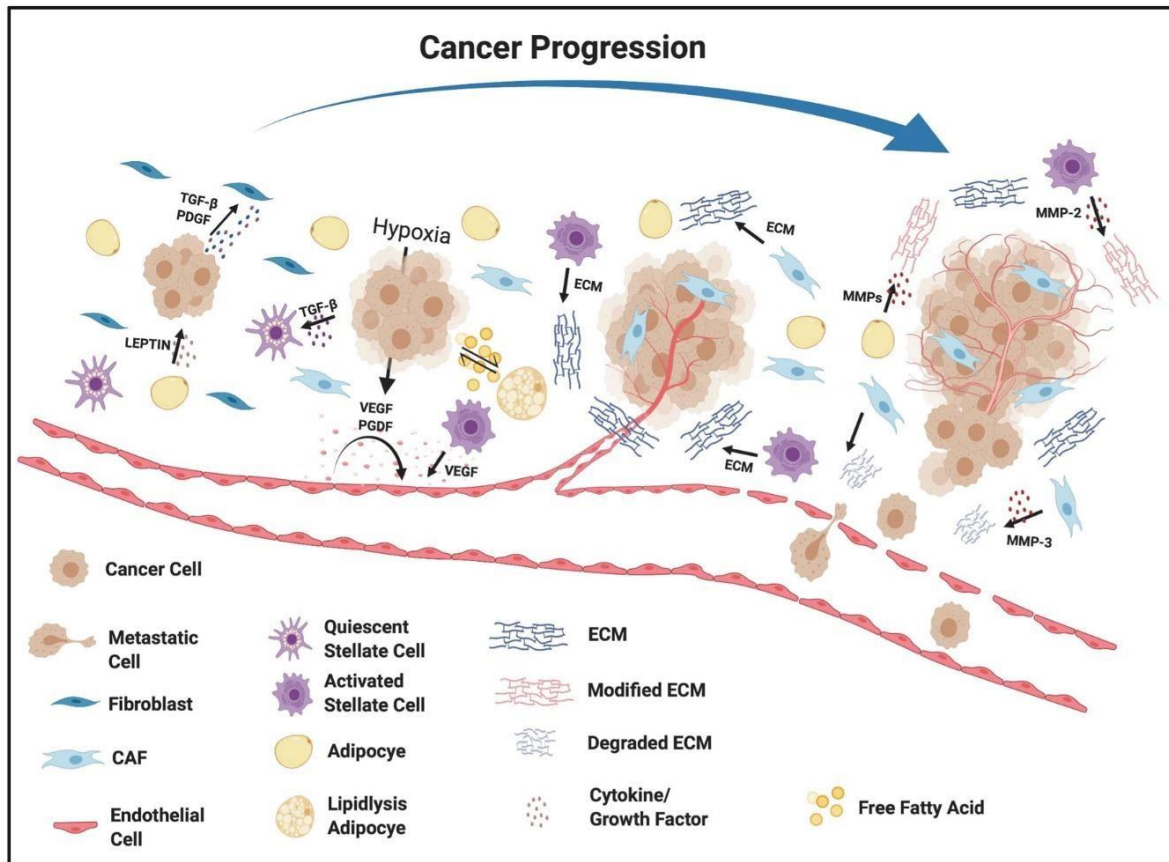


Εικόνα 9 Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος στο μικροπεριβάλλον ενός όγκου [56]

3.4.2 Στρωματικά κύτταρα

Τα καρκινικοί κύτταρα προσελκύουν υποστηρικτικά κύτταρα από το κοντινό γειτονικό ιστό του ενδογενούς στρώματος προκειμένου να προωθήσουν τα κρίσιμα βήματα που χρειάζονται για το σχηματισμό του όγκου. Η σύνθεση του στρώματος μπορεί να ποικίλει σημαντικά ανάμεσα στους διάφορους τύπους όγκων και να περιλαμβάνει: ενδοθηλιακά κύτταρα του αγγειακού συστήματος, ίνες, λιποκύτταρα και αστεροειδή κύτταρα. Αφού

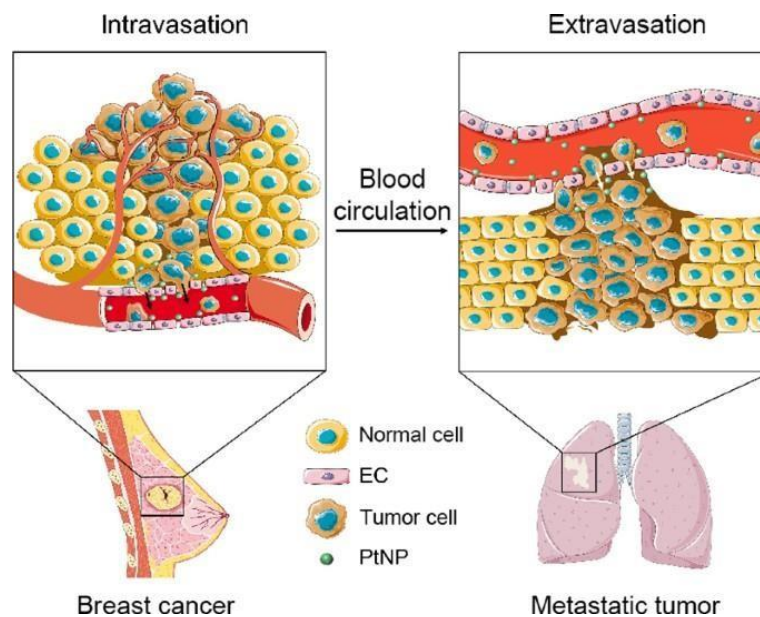
προσελκυσθούν στο περιβάλλον του όγκου, τα κύτταρα του στρώματος εκκρίνουν πολλούς παράγοντες που επηρεάζουν την αγγειογένεση, την πρόληψη, την εισβολή και τη μετάσταση. Στην παρακάτω Εικόνα απεικονίζεται συνολικά αυτή η διεργασία (51).



Εικόνα 10 Η σημασία των στρωματικών κυττάρων στην ανάπτυξη του περιβάλλοντος του όγκου.

Το αγγειακό ενδοθήλιο αποτελεί ένα λεπτό στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων (ΕΚ) και συμβάλλει στον σχηματισμό των αιμοφόρων αγγείων. Το αγγειακό ενδοθήλιο όχι μόνο χωρίζει το κυκλοφορούν αίμα από τους παρακείμενους και διερχόμενους ιστούς, αλλά παράλληλα διανέμει νερό και θρεπτικά συστατικά, διατηρεί τη μεταβολική ισορροπία, μεταφέρει κύτταρα του ανοσοποιητικού, καθώς επίσης και συμμετέχει στο σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων. Κατά τα αρχικά στάδια της ανάπτυξης του όγκου, τα καρκινικά κύτταρα εξαρτώνται από την παθητική διάχυση για την ανταλλαγή αερίου και τη μεταφορά θρεπτικών συστατικών. Όταν οι όγκοι φθάνουν σε όγκο 1-2 mm³, η έλλειψη οξυγόνου και η αύξηση των μεταβολικών αποβλήτων οδηγεί στην υποξία και την οξίνιση του περιβάλλοντος του όγκου, όπως αναφέρθηκαν εν συντομία προηγουμένως. Για να ξεπεράσουν την υποξία και την οξίνιση, οι όγκοι πρέπει να αναπτύξουν τον δικό τους αγγειακό προμηθευτή. Ένα υποξικό περιβάλλον συνεπάγεται

την ενεργοποίηση των επενδυτικών παραγόντων υποξίας (HIFs), παραγόντων μεταγραφής που είναι κρίσιμοι για τον συντονισμό των κυτταρικών αντιδράσεων στη χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου. Η βλάστηση των αγγείων είναι ένα μέσο που χρησιμοποιούν συχνά οι όγκοι για να υιοθετήσουν υπάρχοντα αιμοφόρα αγγεία και να επιδιώξουν την ανάπτυξη νέων αγγείων. Συγκεκριμένα, οι HIFs ενθαρρύνουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα να εκκρίνουν παράγοντες που ευνοούν την αγγειογένεση, όπως ο παράγοντας PDGF που προέρχεται από αιμοπετάλια, ο επιδερμικός παράγοντας ανάπτυξης (EGF) και ο παράγοντας αγγειογένεσης (VEGF). Με αυτοκρινή και παρακρινή επιρροή, ο VEGF ενθαρρύνει την μετανάστευση των ΕΚs για τον σχηματισμό νέων αγγείων. Στη συνέχεια, τα ΕΚs εκκρίνουν πρωτεΐνες για τον σχηματισμό νέων βασικών μεμβρανών, ενώ συχνά τα αγγεία αίματος στο περιβάλλον του όγκου αποτυγχάνουν να επιτύχουν τα τελικά στάδια της ωρίμανσης, με αποτέλεσμα αυτά να είναι διαρρέυσια στουςιστούς (57).



Εικόνα 11 Τα κύτταρα του ενδοθηλίου στην διαδικασία της μετάστασης του

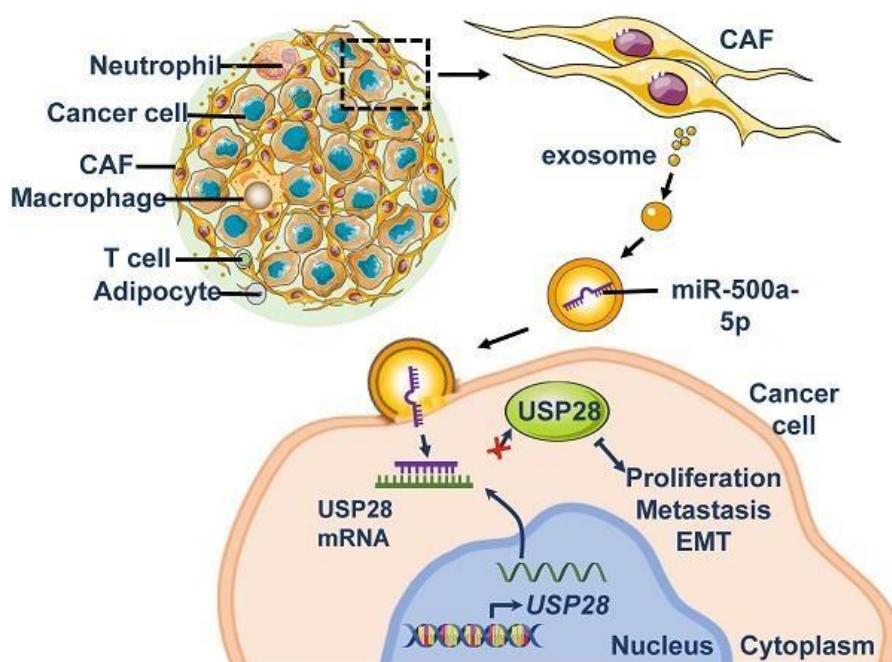
Πέρα όμως από την αγγειογένεση, τα κύτταρα του ενδοθηλίου διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην προώθηση της μετακίνησης, εισβολής και μεταστάσεως των καρκινικών κυττάρων. Τα ΕΚs εμφανίζουν μεγάλη πλαστικότητα και μπορούν να αλλάξουν τη κυτταρική διαφοροποίησή τους. Κατά την πρόοδο του όγκου, τα ΕΚs

υποβάλλονται σε ενδοθηλιακή μεσεγχυματική μετάβαση για να γίνουν κύτταρα ίνωσης που συσχετίζονται με τον καρκίνο (CAFs). Η μετάβαση από ένα EK σε ένα CAF κύτταρο μεσολαβείται από τον παράγοντα ανάπτυξης TGF-β και τον BMP με επακόλουθη την απώλεια της σύνδεσης μεταξύ των κυττάρων, καθώς επίσης και την παράλληλη επαγωγή της μετακίνησης ,μέσω της απώλειας των ενδοθηλιακών ιδιοτήτων. Τα CAF είναι κρίσιμα για την ενίσχυση της μετακίνησης και εισβολής των καρκινικών κυττάρων. Η μετάσταση είναι μια διαδικασία πολλών σταδίων που περιλαμβάνει τη μεταφορά των καρκινικών κυττάρων από τον πρωτεύοντα όγκο σε απομακρυσμένες τοποθεσίες. Τα καρκινικά κύτταρα πρέπει πρώτα να δραπετεύσουν από τον πρωτεύοντα όγκο και να εισέλθουν στο αγγειακό σύστημα σε μία διαδικασία γνωστή ως ενδοθηλίωση. Κατά την ενδοθηλίωση, τα καρκινικά κύτταρα προσκολλώνται τα EKs και αυτή η αλληλεπίδραση αλλάζει το ενδοθηλιακό φραγμό και επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να μεταναστεύουν μεταξύ δύο EKs.

Στην παραπάνω Εικόνα απεικονίζονται σχηματικά αυτές οι αλλαγές που σκοπό έχουν την διήθηση των καρκινικών κυττάρων εντός του ενδοθηλίου με αποτέλεσμα την μετάσταση στην περίπτωση του καρκίνου του μαστού (57).

Οι ίνες που σχετίζονται με τον καρκίνο (CAFs) αποτελούν σημαντικό στοιχείο του στρώματος του όγκου και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη διευκόλυνση της αμοιβαίας επικοινωνίας μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Παρόλο που ποικίλουν στην καταγωγή τους, οι CAFs πολλές φορές προέρχονται από ίνες που κατοικούν συνήθως στον ιστό. Οι CAFs δημιουργούνται επίσης από τα λιποκύτταρα, τα EKs, τις περικυττάριας, τα αστεροειδή κύτταρα και τα μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού των οστών. Κατά την διάρκεια τραυματισμού, οι ίνες που κατοικούν συνήθως στους ιστούς μπορούν να μετατραπούν αναστρέψιμα σε μυϊκές ίνες, οι οποίες συμμετέχουν ενεργά στην αποκατάσταση των πληγών. Οι μυϊκές ίνες ενεργοποιούνται από τη σήμανση του TGF-β και αναπτύσσουν χαρακτηριστικά που είναι σημαντικά για την αποκατάσταση των πληγών, όπως η πολλαπλασιασμό, οι συσπαστικές ιδιότητες και η δημιουργία της εξωκυττάριας μήτρας , όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Επιπροσθέτως, οι όγκοι έχουν περιγραφεί εύστοχα ως «πληγές που δεν διορθώνονται ποτέ». Στο περιβάλλον του όγκου, τα καρκινικά κύτταρα και άλλα κύτταρα του στρώματος εκκρίνουν παράγοντες αναστροφής της ανάπτυξης (TGF-β, PDGF και FGF2) για να μετατρέπουν τις ίνες σε CAFs (58).

Έτσι, συνολικά, οι CAFs παράγουν την πλειονότητα των εξωκυττάρων συστατικών όπως αποτελούν και οι αυξητικοί παράγοντες, οι κυτταροκίνες και τα συστατικά της θεμέλιας ουσίας. Παράλληλα, οι CAFs διαμορφώνουν μέσω τεσσάρων βασικών σημείων το μικροπεριβάλλον τους. Αρχικά με την ανάπτυξη του όγκου και μέσω των μεταστάσεων, με την αγγειογένεση, την αναδιαμόρφωση της θεμέλιας ουσίας και, τέλος, την ανοσοκαταστολή. Επίσης, σε όγκους επιθηλιακής προέλευσης, η επιθηλιακή μεσεγχυματική μετάβαση αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα βήματα για την μετάσταση, στην οποία τα επιθηλιακά κύτταρα χάνουν την κυτταρική πολικότητα και τις κυτταρικές συνδέσεις τους και οδηγούνται στην μετάσταση και στην παρακείμενη διήθηση σε άλλους ιστούς. Ένας τρόπος με τον οποίο οι CAFs ελέγχουν τη μετάσταση είναι μέσω της εκκριτικής δράσης του TGF- β , ενός αυξητικού παράγοντα που απαιτείται για την EMT και τη νεοαγγειογένεση. Για να διευκολύνουν τη μετακίνηση των καρκινικών κυττάρων μέσα από το TME, οι CAFs εκκρίνουν το MMP-3 που αποσυνδέει την E-cadherin για να προωθήσει την εισβολή των καρκινικών κυττάρων. Η εξωκυτταρική μήτρα είναι επίσης μια σημαντική πηγή του VEGF, το οποίο μπορεί να απελευθερωθεί από το MMP-13 για την προώθηση της νεοαγγειογένεσης. Γενικά, οι CAFs προωθούν ένα ανοσοκατασταλτικό φαινότυπο μέσω της παραγωγής ανοσορρυθμιστικών χημειοκινών και κυτταροκινών (58).



Εικόνα 12 Ο ρόλος και η λειτουργία των κυττάρων CAFs στο μικροπεριβάλλον του όγκου και την ογκογένεση. [58]

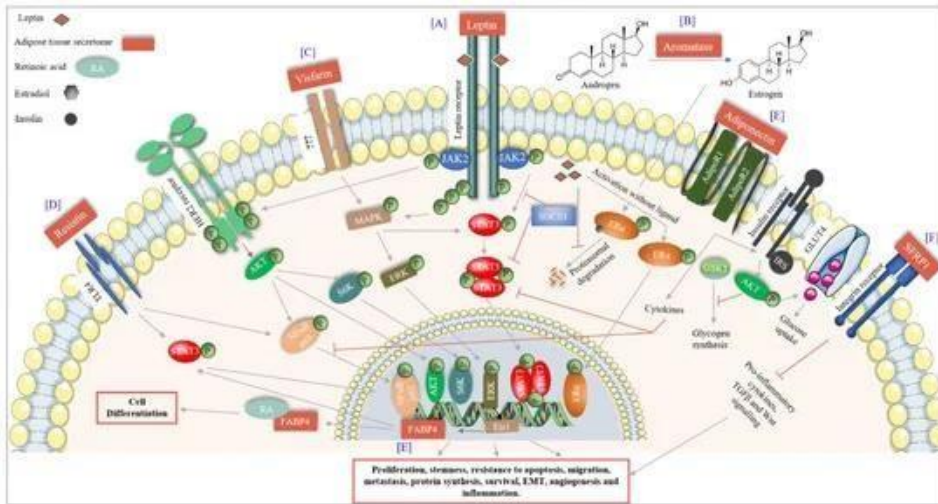
Στην Εικόνα 12 αναπαρίσταται σχηματικά ο ρόλος και η λειτουργία των κυττάρων CAFs στο μικροπεριβάλλον του καρκίνου του μαστού. Συγκεκριμένα, όπως επισημαίνουν οι ερευνητές, τα εξομοσώματα είναι μικρές μεμβρανώδεις κύστες με μέγεθος σωματιδίου 30-150 nm. Αυτά τα μικρά εξωκυττάρια σωματίδια αποτελούν κρίσιμους κυτταρικούς πομπούς πληροφοριών στο μικροπεριβάλλον του όγκου, που περικλείουν ποικίλες πρωτεΐνες, λιπίδια, mRNA, microRNAs και lncRNAs. Ανάμεσα στα μόρια που μεταφέρονται από τα εξομοσώματα, τα miRNAs έχουν προσελκύσει πολλή προσοχή λόγω των βασικών χαρακτηριστικών τους. Τα miRNAs αυτά μπορούν να απορροφηθούν από γειτονικά ή απομακρυσμένα κύτταρα και στη συνέχεια να προάγουν την ογκογόνο σηματοδότηση με την ταυτόχρονη καταστολή των στόχων mRNA στα κύτταρα-δέκτες.

Συνεχίζοντας, τα λιποκύτταρα είναι εξειδικευμένα κύτταρα μέσα στο σώμα που ρυθμίζουν την ισορροπία της πρόληψης και δαπάνης ενέργειας του οργανισμού -το ισοζύγιο- και είναι υπεύθυνα για την αποθήκευση της υπερβολικής ενέργειας αυτούς με τη μορφή λίπους. Παράλληλα, τα λιποκύτταρα ασκούν την επίδρασή τους στο περιβάλλον του όγκου μέσω της έκκρισης μεταβολιτών, ενζύμων, ορμονών, αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών. Στα πλαίσια του περιβάλλοντος του όγκου, τα λιποκύτταρα βρίσκονται σε δυναμική και αμοιβαία σχέση με τα καρκινικά κύτταρα για να υποστηρίξουν την πρόοδο του όγκου. Ο ιστό του μαστού αποτελείται κυρίως από λευκό λιπώδες ιστό (WAT), γι' αυτό και τα λιποκύτταρα είναι κρίσιμοι παράγοντες στο περιβάλλον του καρκίνου του μαστού. Οι καρκινικά κύτταρα του μαστού μπορούν να ενθαρρύνουν τα λιποκύτταρα να υποστούν λιπόλυση, η οποία διασπά τις αποθέσεις λίπους και καθιστά τα ελεύθερα λιπαρά οξέα διαθέσιμα για την απορρόφησή τους από τα καρκινικά κύτταρα. Επίσης, τα καρκινικά κύτταρα του μαστού χρησιμοποιούν τα ελεύθερα λιπαρά οξέα για την παραγωγή ενέργειας, τον σχηματισμό της κυτταρικής μεμβράνης, των βιοενεργών μορίων του λίπους και των εξομοσωμάτων, όπως αναφέρθηκαν και προηγουμένως από τα κύτταρα CAFs.

Η λεπτίνη είναι μία ιδιαίτερα σημαντική ορμόνη που παράγεται από τα λιποκύτταρα και προάγει απευθείας την πρόοδο του όγκου επηρεάζοντας τόσο άμεσα την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του μαστού, όσο και έμμεσα με την ενεργοποίηση των μακροφάγων. Επιπροσθέτως, τα λιποκύτταρα διαδραματίζουν

μείζονα ρόλο μέσω της έκκρισης μεταλλοπρωτεϊνών (MMP-1, ο MMP-7, ο MMP-10, ο MMP-11 και ο MMP-14), μέσω της τροποποίησης των συστατικών της εξωκυττάριας μήτρας. Χαρακτηριστικά, περισσότερο από το 40% των ασθενών με καρκίνο παρουσιάζουν συνυπάρχουσα παχυσαρκία, καθιστώντας την κύριο παράγοντα κινδύνου για πολλούς τύπους καρκίνου, όπως αυτός του μαστού, του παγκρέατος και των ωοθηκών. Ο λευκός λιπώδης ιστός είναι ένα ενδοκρινές όργανο και μπορεί να προωθήσει τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων του μαστού στο ήπαρ και στονπνεύμονα μέσω της παρακρινούς σήμανσης (51).

Πολλές μελέτες έχουν δείξει τον ρόλο του λιπώδους ιστού του μαστού στη μορφογένεση των μαστικών αδένων. Ο λιπώδης ιστός του μαστού αποτελεί ένα σημαντικό ενδοκρινικό σύστημα του μαστού και εκκρίνει πολλούς αυξητικούς παράγοντες και ένζυμα. Έχει αποδειχθεί μέσω πειραμάτων *in vitro* ότι ο λιπώδης ιστός του μαστού διαδραματίζει ρόλο στη διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού. Πειράματα χρησιμοποιώντας ένα σύστημα συμβατικής μεταμόσχευσης με κύτταρα του μαστού έχουν δείξει ότι ο λιπώδης ιστός του μαστού είναι υπεύθυνος για τη χαρακτηριστική μορφογένεση των επιθηλιακών κυττάρων του. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η απώλεια του λιπώδους ιστού του μαστού - χρησιμοποιώντας το μοντέλο ποντικού A-ZIP/F1 - οδηγεί σε μειωμένη γονιμότητα και διόγκωση των προστατικών σωλήνων του μαστού. Μια μελέτη από τον Hu κ. ά. το 2002 έδειξε την πλήρη απώλεια της ανάπτυξης του πορογενούς επιθηλίου όταν υπάρχει κληρονομική απώλεια της λεπτίνης ή απουσία του υποδοχέα της, ενώ η δομή του πορογενούς επιθηλίου ανακτιέται με την επανακυκλοφορία της λεπτίνης. Αντίθετα, παρατηρείται ανώμαλη ανάπτυξη του μαστού κατά την παρουσία υπερέκφρασης της αδιπονεκίνης σε ποντίκια (59).



Εικόνα 13 Η σημασία του λιπώδους ιστού στον μαστό για την ανάπτυξη των καρκινικών όγκων [59].

Η μελέτη των Landskroner-Eiger κ. ά. (2010), έδειξε ότι τα λιποκύτταρα του μαστού παίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη του μαστού κατά την προεφηβεία, την εφηβεία και την ενηλικίωση. Είναι γνωστό ότι κατά τη μετάβαση από την προεφηβεία στην εφηβεία, λαμβάνει χώρα ταχύς σχηματισμός των πορογενών κυττάρων του επιθηλίου, ενώ κατά την ενηλικίωση, αρχίζουν να αναπτύσσονται παρακλάδια ακραίων πόλων. Αυτή η μελέτη υπογραμμίζει επίσης ότι η απώλεια των λιποκυττάρων που είναι εξειδικευμένοι για τον μαστό οδηγεί σε επιβράδυνση όλων αυτών των διεργασιών, με αποτέλεσμα λιγότερα σημεία κλαδοποίησης, λιγότερα TEB, υπερβολική λοβοποίηση και αλλαγές στον πληθυσμό και στην απόπειρα θανάτου των TEB που συσχετίζονται με το επιθήλιο, υποδηλώνοντας τη σημασία του λιπώδους ιστού του μαστού τόσο στην ανάπτυξη όσο και στη διατήρηση του μαστού (59). Στην Εικόνα 13 απεικονίζονται συνολικά όλα τα ανωτέρω.

Τα αστεροειδή κύτταρα είναι σιωπηλά στρωματικά κύτταρα προελεύσεως μεσεγχυματικού ιστού που βρίσκονται στο ήπαρ και το πάγκρεας. Μετά από ζημιά στον ιστό, τα αστεροειδή κύτταρα ενεργοποιούνται και εισέρχονται στον κυτταρικό κύκλο, προσπαθώντας να μετατραπούν σε προμυοϊνοβλάστες, ενώ μια χαρακτηριστική ιδιότητά τους είναι η αποθήκευση της βιταμίνης A σε σταγόνες λιπιδίων. Στο ήπαρ, τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα (HSC) βρίσκονται συνήθως μπορούν να αποτελούν έως και το 15% της μάζας του ήπατος. Ο κυρίαρχος τύπος καρκίνου του ήπατος είναι ο επιπολασμός του κυττάρου του ήπατος (HCC) και τα HSC λειτουργούν για την προώθηση της αμοιβαίας επικοινωνίας στο TME. Ένας βασικός παράγοντας σήμανσης, το TGF-β,

παράγεται από το HCC και ενθαρρύνει τα HSC να ενεργοποιηθούν. Μόλις ενεργοποιηθούν τα HSC τροποποιούν τον EKM και παράγουν προαγγειογόνους παράγοντες όπως το VEGF-A και το MMP-2. Οι λιπιδικές σταγόνες είναι κρίσιμες δομές στα HSC που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή νέου EKM και τη διαφοροποίησή τους μέσω της παραγωγής του MMP. Το κυριότερο είναι ότι αυτά τα κύτταρα είναι υπεύθυνα για την προώθηση της δεσμοπλαστικής φαινοτυπίας των όγκων PDAC και του υποξικού τους περιβάλλοντος, η σημασία του οποίου αναφέρθηκε προηγουμένως (60).

3.5 Το μικροπεριβάλλον του καρκίνου του μαστού στην θεραπευτική

Οι πιο πρόσφατες θεραπευτικές προσεγγίσεις του μεταστατικού καρκίνου του μαστού έχουν επικεντρωθεί στη στόχευση διαφόρων στοιχείων του μικροπεριβάλλοντος του όγκου (TME), ιδιαίτερα των στρωματικών κυττάρων, τα οποία είναι γενετικά σταθερά και λιγότερο ευαίσθητα στη χημειοαντίσταση. Επιπλέον, οι τρεις κύριες θεραπείες στόχευσης του TME βρίσκονται επί του παρόντος σε κλινική χρήση για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Αυτοί είναι οι αναστολείς αρωματάσης, οι οποίοι είναι φάρμακα τα οποία εμποδίζουν το ένζυμο αρωματάση, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα, έναν βασικό παράγοντα για την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού. Έπειτα, υπάρχουν οι αναστολείς αγγειογένεσης, που όπως και αναφέρθηκε, αυτά τα φάρμακα στοχεύουν τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF), μια πρωτεΐνη που προάγει το σχηματισμό αιμοφόρων αγγείων και την ανάπτυξη όγκων, και τέλος, οι αναστολείς HER2. Αυτά τα φάρμακα μπλοκάρουν το HER2, έναν υποδοχέα κινάσης τυροσίνης που παίζει ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων (61).

Ενώ οι αναστολείς αρωματάσης και οι αναστολείς HER2 θεωρούνται τυποποιημένες θεραπείες για τον καρκίνο του μαστού, η αποτελεσματικότητα των αναστολέων αγγειογένεσης παραμένει αβέβαιη. Οι αναστολείς VEGF έχουν δείξει θετικά στοιχεία στην παράταση της επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου όταν συνδυάζονται με χημειοθεραπεία, αλλά έχουν επίσης σημαντικές παρενέργειες και μπορεί ακόμη και να ενισχύσουν την εξέλιξη του όγκου σε ορισμένες περιπτώσεις. Συνολικά, η στόχευση της TME είναι πολλά υποσχόμενη για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού, αλλά η προσεκτική εξέταση των πιθανών ανεπιθύμητων ενεργειών είναι ζωτικής σημασίας για την αποφυγή διαταραχής των φυσιολογικών διεργασιών (62).

Επιπροσθέτως, έχουν διερευνηθεί συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος ως πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι. Μια θεωρία είναι ότι η επαναφορά ενός αντιφλεγμονώδους περιβάλλοντος κατά του όγκου θα μπορούσε να ελέγξει την ανάπτυξη του όγκου. Για παράδειγμα, οι ανταγωνιστές του παράγοντα νέκρωσης όγκου επάγουν την σταθεροποίηση και μερική ανταπόκριση στον καρκίνο του μαστού (63). Άλλες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί στο συγκεκριμένο πεδίο, είχαν ως στόχο τον «επαναπρογραμματισμό» των TAM από το φαινότυπο M2 στον φαινότυπο M1 ή την αναστολή της στρατολόγησης TAM στην περιοχή του όγκου, η οποία βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας (64). Σε ζωικό μοντέλο επιμύων με καρκίνο του μαστού, ο αποκλεισμός της στρατολόγησης μακροφάγων με ανταγωνιστές υποδοχέα παράγοντα διέγερσης αποικιών-1 (CSF1R), σε συνδυασμό με το φάρμακο πακλιταξέλη, οδήγησε σε βελτιωμένη επιβίωση επιβραδύνοντας παράλληλα την ανάπτυξη του πρωτογενούς καρκίνου και μειώνοντας τις πνευμονικές μεταστάσεις (64). Στους ανθρώπους, ο συνδυασμός ενός αναστολέα CSF1R με χημειοθεραπεία δοκιμάζεται επί του παρόντος σε μελέτη φάσης Ib/II σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού (NCT01596751). Επιπλέον, η τραβεκτενίνη, ένα φάρμακο με επιλεκτικές κυτοτοξικές επιδράσεις στα TAM, έχει δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε κλινική δοκιμή φάσης II σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού (65).

Μια ενδιαφέρουσα πρόσφατη ανακάλυψη είναι ότι η υπερέκφραση γλυκοπρωτεΐνης πλούσια σε ιστιδίνη από τα κύτταρα του όγκου επάγει τη μετατροπή των TAM από τον τύπο M2 στον τύπο M1 σε μοντέλα όγκων συγγενών ποντικών, οδήγησε σε μειωμένη ανάπτυξη του όγκου και λιγότερες πνευμονικές μεταστάσεις (66). Λαμβάνοντας υπόψη όμως και τη συμβατική χημειοθεραπεία, φαίνεται ότι η χορήγηση δοξορουβικίνης οδηγεί σε εξάντληση των TAM καθώς και σε μετατόπιση της διήθησης μυελοειδών κυττάρων από τα ανοσοκατασταλτικά TAM σε άλλα πειράματα επιμύων (67). Επιπλέον, δεδομένου ότι τα TAM διεισδύουν αυθόρμητα σε καρκίνους του μαστού, πρόσφατες μελέτες έχουν επικεντρωθεί σε αυτά τα κύτταρα ως φυσικούς φορείς για τη χορήγηση θεραπευτικών ουσιών στον όγκο (68).

Συνολικά στην Εικόνα 3. 5. 1 απεικονίζονται τα στοιχεία του μικροπεριβάλλοντος του όγκου με τις πιθανές θεραπευτικές τους χρήσεις.

| Component | Mechanistics | Therapeutic potential | Clinical evidence |
|------------------|--|--|--|
| CAF | MP production TGF- β secretion VEGF secretion CXCL12 secretion | MP inhibitors TGF- β blockers (IN-1130) VEGF inhibitors (bevacizumab) CXCR4 antagonists (byrostatin-5, AMD3100, MSX-11) | No conclusive clinical benefit [93, 94] (mouse models) [73, 95–97] [82, 98] (in vitro and mouse models) |
| DC | Inhibition of T-cell proliferation T _{reg} recruitment Immunosuppression | DC vaccines | [99, 100] |
| TAM | M2 polarization ECM remodeling through MP secretion Angiogenesis T _{reg} recruitment | TAM inhibitors (trabectedin) TAM depletion (doxorubicin) CSFR1 antagonists | [45, 80] [81] [79] (mouse models) |
| T _{reg} | Suppression of immune cells RANKL production | Anti-CD25 antibodies Anti-RANKL antibodies (denosumab) | [101] [102] |
| T _{eff} | T-cell exhaustion through PD-1/PD-L1 signaling | Anti-PD-1 antibodies Anti-PD-L1 antibodies | [84–88] |
| ECM | ECM remodeling Increased stiffness | ECM degradation inhibitors LOX inhibitors (magnolol, β -aminopropionitrile) | [103] [90, 91] (in vitro and mouse models) |

T_{eff} = Effector T cells; MP = metalloproteinases.

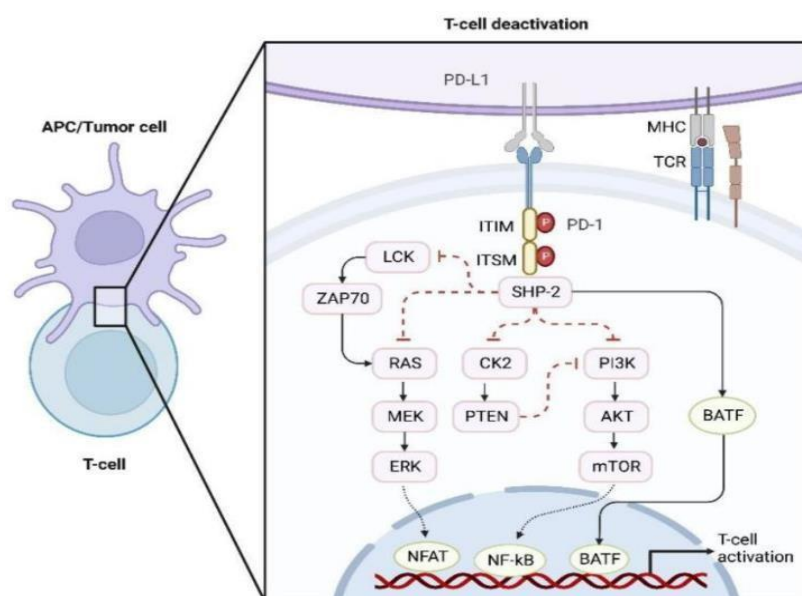
Εικόνα 3. 5. 1 Συγκεντρωτικός πίνακας των στοιχείων που υπάρχουν στο μικροπεριβάλλον του μεταστατικού καρκίνου και των πιθανών θεραπευτικών χρήσεων τους [69].

Επίσης σημαντικό είναι να τονιστεί πως βρίσκονται σε εξέλιξη-μελέτη πολλοί παράγοντες για τη στόχευση του άξονα CXCL12/CXCR4. Μεταξύ αυτών, το φάρμακο antiCXCR4 AMD3100 (Plerixafor[®]) είναι το πιο μελετημένο και έχει αποδειχθεί ότι μειώνει το μεταστατικό δυναμικό διαφορετικών τύπων όγκων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού, σε ζωικά μοντέλα (70, 71). Το AMD3100 δοκιμάζεται επί του παρόντος σε κλινικές δοκιμές φάσης I/II ως θεραπευτική επιλογή για λευχαιμία αλλά δεν έχει ακόμη δοκιμαστεί σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού (72). Ένας άλλος αναστολέας CXCR4, το MSX122, δοκιμάζεται επί του παρόντος σε κλινική δοκιμή φάσης I για προχωρημένες κακοήθειες ασθενείς (70), αλλά πιθανές παρενέργειες που έχουν ανιχνευθεί στην τάξη των βλαστοκυττάρων στον κανονικό ιστό μπορεί να αποτρέψουν την επιτυχημένη κλινική χρήση.

Μια άλλη στρατηγική που στοχεύει τα ανοσοκύτταρα είναι ο αποκλεισμός της οδού PD-1/PD-L1. Πολλές πρόσφατες κλινικές δοκιμές φάσης I διερεύνησαν τις επιδράσεις ανθρώπινων αντι-PD-1 και αντι-PDL1 αντισωμάτων σε ασθενείς με διάφορους τύπους προχωρημένων συμπαγών καρκίνων (73). Αξιοσημείωτη είναι η επιτυχία που καταγράφηκε σε καρκίνους που θεωρούνταν ανθεκτικοί στην ανοσοθεραπεία εδώ και πολύ καιρό, όπως οι μη μικροκυτταρικοί καρκίνοι του πνεύμονα. Επιπλέον, ορισμένες από αυτές τις ανταποκρίσεις ήταν διαρκείς, υποδηλώνοντας ότι η στόχευση της οδού σηματοδότησης PD-1/PD-L1 πιθανότατα θα

εξελιχθεί σε σημαντική θεραπευτική μέθοδο για ασθενείς με προχωρημένες κακοήθεις νεοπλασίες. Είναι ενδιαφέρον ότι προκαταρκτικά αποτελέσματα μιας συνεχιζόμενης κλινικής δοκιμής φάσης Ia που δοκιμάζει ένα αντίσωμα anti-PD-L1 (MPDL3280A) σε μια μικρή ομάδα ασθενών με μεταστατικό τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού έδειξαν αντικειμενικές ανταποκρίσεις στο 24% και πλήρη ανταπόκριση στο 10% των ασθενών, αντίστοιχα (74).

Στην Εικόνα 14 απεικονίζεται το συγκεκριμένο σηματοδοτικό μονοπάτι αναφορικά με τον ρόλο της χημειοταξίας στην θεραπευτική του μεταστατικού καρκίνου του μαστού (75).



Εικόνα 14 Ο ρόλος του μονοπατιού PD1-PDL1 στο μικροπεριβάλλον του μεταστατικού καρκίνου του μαστού.

Η οδός σηματοδότησης PD-1 / PD-L1 παίζει κρίσιμο ρόλο στην εξέλιξη και τη μετάσταση του καρκίνου του μαστού. Οι θεραπείες αντισωμάτων που στοχεύουν σε αυτό το μονοπάτι έχουν καταδείξει πολύ θετικά ευρήματα σε προκλινικές μελέτες και τώρα διερευνώνται σε επίπεδο κλινικών δοκιμών.

Τα T ρυθμιστικά κύτταρα (T reg) είναι ένα άλλο σημαντικό συστατικό του μικροπεριβάλλοντος του καρκίνου του μαστού που μπορεί να καταστείλει την αντικαρκινική ανοσολογική απόκριση. Στρατηγικές για την καταστροφή των T reg κυττάρων, όπως η εξουδετέρωση της IL-2, διερευνώνται ως πιθανές θεραπευτικές

προσεγγίσεις. Η δυσκαμψία του στρώματος του όγκου μπορεί επίσης να προωθήσει την εξέλιξη του καρκίνου του μαστού. Οι αναστολείς LOX, οι οποίοι μειώνουν τη δυσκαμψία του στρώματος του όγκου, έχουν δείξει επίσης πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα σε προκλινικές μελέτες. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τον προσδιορισμό της κλινικής αποτελεσματικότητας αυτών των θεραπευτικών προσεγγίσεων. Ωστόσο, η δυνατότητα στόχευσης του μικροπεριβάλλοντος του καρκίνου του μαστού είναι ένας συναρπαστικός τομέας έρευνας που θα μπορούσε να οδηγήσει σε νέες και αποτελεσματικές θεραπείες για αυτήν την ασθένεια.

3.6 Μικροπεριβάλλον του μεταστατικού όγκου

Η υπόθεση «των σπόρων» υποδηλώνει ότι τα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα (σπόροι) εξαπλώνονται σε ορισμένα όργανα (εδάφη) λόγω του συγκεκριμένου μικροπεριβάλλοντος τους, γεγονός που οδηγεί σε πρότυπα προτίμησης οργάνων στη μετάσταση του όγκου. Διαφορετικοί υπότυποι καρκίνου του μαστού έχουν διαφορετικές μεταστατικές προτιμήσεις. Για παράδειγμα, οι υπότυποι του luminal A είναι πιο πιθανό να κάνουν μετάσταση στο οστό, ενώ οι βασικοί καρκίνοι του μαστού είναι πιο πιθανό να κάνουν μετάσταση στον εγκέφαλο και τον πνεύμονα (76,77).

Επιπροσθέτως, οι ασθενείς με εγκεφαλικές μεταστάσεις έχουν κακή πρόγνωση και η παρουσία εγκεφαλικών μεταστάσεων σχετίζεται με την έκφραση της nestin, prominin-1 (CD133) και CK-5 στον πρωτοπαθή όγκο. Αυτές οι πρωτεΐνες είναι δείκτες νευρικών βλαστικών κυττάρων και η έκφρασή τους υποδηλώνει ότι τα καρκινικά κύτταρα του μαστού που κάνουν μετάσταση στον εγκέφαλο μπορεί να μοιράζονται χαρακτηριστικά με τα νευρικά βλαστοκύτταρα.

Το μικροπεριβάλλον του εγκεφάλου μπορεί να ευνοήσει την ανάπτυξη εγκεφαλικών μεταστάσεων. Τα αστροκύτταρα και τα μικρογλοία, τα οποία είναι άφθονα στον εγκέφαλο, μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα καρκινικά κύτταρα του μαστού για να προωθήσουν την ανάπτυξη και τη μετάστασή τους. Ο VEGF μπορεί επίσης να συμβάλει στο σχηματισμό εγκεφαλικών μεταστάσεων ενισχύοντας τη διαενδοθηλιακή μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων. Τα αστροκύτταρα μπορούν επίσης να διευκολύνουν τον αποικισμό διεγείροντας την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων.

Ταυτόχρονα, τα αστροκύτταρα μπορούν να αυξήσουν την έκφραση των γονιδίων επιβίωσης και να ενεργοποιήσουν οδούς που σχετίζονται με την αντίσταση στη

χημειοθεραπεία στα καρκινικά κύτταρα του μαστού. Μπορούν επίσης να κάνουν τα καρκινικά κύτταρα του μαστού πιο μεταναστευτικά και επεμβατικά. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα αστροκύτταρα επηρεάζουν άμεσα την ανάπτυξη του όγκου και τη μετάσταση στον καρκίνο του μαστού. Σύμφωνα με αυτά, η συν-καλλιέργεια με αστροκύτταρα που πραγματοποιήθηκε σε έρευνα αύξησε την έκφραση γονιδίων επιβίωσης, συμπεριλαμβανομένων των GSTA5, BCL2L1 και TWIST1, στα κύτταρα MDA-MB-231 και ενεργοποίησε μονοπάτια που σχετίζονται με την αντοχή στη χημειοθεραπεία (77).

Επιπλέον, τα κύτταρα του όγκου που προϋποθέτονται από αστροκύτταρα γίνονται εξαιρετικά μεταναστευτικά και επεμβατικά, γεγονός που προάγει τη μετάσταση των κυττάρων MDA-MB-231 στον εγκέφαλο (78), και αυτό το αποτέλεσμα μεσολαβείται από MMP-2 και MMP-9 που εκκρίνονται από αστροκύτταρα (78). Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι αστροκύτταρα επηρεάζουν άμεσα την ανάπτυξη και τη μετάσταση του όγκου.

Εκτός από τον χαρακτηρισμό του μεταστατικού μικροπεριβάλλοντος, πρέπει να εντοπιστούν οι διαφορές στα χαρακτηριστικά των TILs στο μικροπεριβάλλον μεταξύ πρωτογενών όγκων και μεταστατικών όγκων σε TNBCs. Δυστυχώς, τα δείγματα βιοψίας μεταστάσεων είναι πολύ σπάνια, γεγονός που έχει εμποδίσει την πρόοδο της έρευνας σε αυτόν τον τομέα. Επομένως, οι περισσότερες μελέτες σε αυτόν τον τομέα αναφέρονται σε διάφορες πρώτες μεταστατικές θέσεις και σε όλους τους υποτύπους καρκίνου του μαστού. Ειδικότερα, διαπιστώθηκε ότι οι μεταστατικές θέσεις περιείχαν σημαντικά λιγότερα TILs από τον πρωτογενή όγκο (79-80), γεγονός που υποδηλώνει ότι η εξέλιξη και η μετάσταση του όγκου μπορεί να αυξήσουν την ανοσολογική απόκριση. Ενδιαφέρουν παρουσιάζει επίσης και η σύνθεση του πληθυσμού TIL μεταστάσεων και οι συναφείς πληθυσμοί τους στην πρωτογενή θέση του όγκου του καρκίνου του μαστού, όπου παρέμειναν σχεδόν αναλλοίωτα στον μεταστατικό όγκο τους, ανεξάρτητα από τη μεταστατική θέση, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο πρωτογενής όγκος παίζει εγγενή ρόλο στην επίδραση της ανοσολογικής σύνθεσης (79).

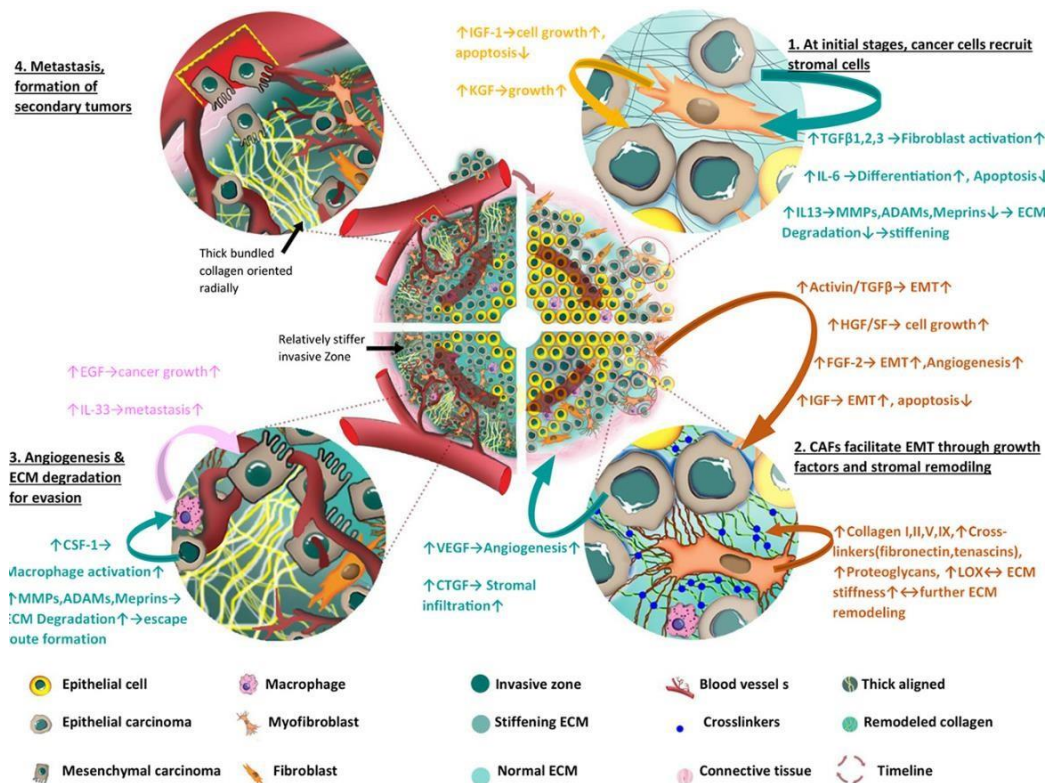
Σε μια ανάλυση υπότυπων καρκίνου του μαστού, τα πρωτογενή TNBCs περιείχαν μεγαλύτερους αριθμούς όλων των τύπων TILs από τις ζευγαρωμένες μεταστάσεις τους, ενώ τα μεταστατικά TNBCs περιείχαν λιγότερα TILs από τα luminal MBCs (81).

Έτσι, η προγνωστική αξία της λεμφοκυτταρικής διήθησης σε μεταστατικούς

όγκους δικαιολογεί διερεύνηση. Για παράδειγμα, μια μελέτη αρνητικών σε ER καρκίνων του μαστού έδειξε ότι ένα υψηλότερο ποσοστό TILs σε μεταστατικούς όγκους του μαστού ενδεικνυόταν καλύτερη πρόγνωση (80), ενώ μια άλλη μελέτη υποδηλώνει ότι χαμηλότεροι λόγοι κυττάρων CD8+/FoxP3+ σε MBCs θα μπορούσαν να σχετίζονται με βελτιωμένη επιβίωση μετά την ανάπτυξη της μετάστασης (81).

Συνοπτικά, το μικροπεριβάλλον του όγκου του TNBC όχι μόνο επηρεάζει σημαντικά τη κακοήγη συμπεριφορά και την ανάπτυξη των κυττάρων του καρκίνου του μαστού, αλλά και επαναπρογραμματίζει τα γύρω κύτταρα. Οι μοναδικές αλληλεπιδράσεις κυττάρων προς κύτταρα στο TNBC διακρίνουν αυτή την ασθένεια από άλλους υποτύπους και οι φαινότυποι και οι αλλαγές στην έκφραση γονιδίων που προκαλούνται από αλληλεπιδράσεις κυττάρων προς κύτταρα, οι οποίες μπορεί να σχετίζονται με την κατάσταση ER, PR και HER2, διατηρούν το μικροπεριβάλλον του μεταστατικού καρκίνου του μαστού. Οι όγκοι TNBC επαναπρογραμματίζουν πιο αποτελεσματικά τα γύρω κύτταρα, τα οποία συνήθως εξουδετερώνουν την εξέλιξη των καρκινικών κυττάρων, για να αναπτύξουν μοναδικές οδούς σηματοδότησης που μερικές φορές μπορεί να σχηματίσουν έναν θετικό κύκλο ανατροφοδότησης. Έτσι, η κατανόηση του χαρακτηρισμού αυτού του μικροπεριβάλλοντος του όγκου μπορεί να παρέχει την ακριβή πρόβλεψη της πρόγνωσης, και η μελέτη των μοναδικών χαρακτηριστικών του TNBC μπορεί να φωτίσει την ετερογένεια αυτού του όγκου.

Στην Εικόνα 3. 6. 115 απεικονίζεται σχηματικά το μεταστατικό αυτό περιβάλλον του καρκίνου του μαστού αναφορικά με τα μεταβολικά μονοπάτια που ενεργοποιούνται καθ' όλη την διαδικασία ενεργοποίησης των καρκινικών κυττάρων μέχρι και το στάδιο της μετάστασης[82].



Εικόνα 3.6.115 Σχηματική αναπαράσταση των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στο μικροπεριβάλλον του μεταστατικού καρκίνου του μαστού [82].

3.7 Στρατηγικές για τη βελτίωση της οξυγόνωσης του όγκου

Όπως περιεγράφηκε παραπάνω, το πυκνό εξωκυττάριο στρώμα που δημιουργείται στο μικροπεριβάλλον του όγκου (ECM) και το έντονο κυτταρικό στρες που εφαρμόζεται σε αδφούς όγκους συμβάλλουν στη μετάσταση όχι μόνο αυξάνοντας άμεσα το δυναμικό εισβολής και μετάστασης των καρκινικών κυττάρων, αλλά και προκαλώντας υποξία και εμποδίζοντας τη χορήγηση φαρμάκων λόγω ισχαιμίας που προκαλείται από τη συμπίεση των αγγείων (84). Υπάρχουν δύο κύριες στρατηγικές για την υπερνίκηση αυτών των φυσιολογικών ανωμαλιών του TME: (i) η αναδιαμόρφωση των αγγείων και (ii) η στρατηγική ομαλοποίησης του εξωκυττάριου στρώματος.

3.7.1 Αναδιαμόρφωση των αγγείων

Σε αντίθεση με την αγγειακή διαταραχή, η στρατηγική ομαλοποίησης των αγγείων περιλαμβάνει την αποκατάσταση ενός λειτουργικού αγγειακού συστήματος και διαμεσολαβείται από την αύξηση της κάλυψης των ενδοθηλιακών κυττάρων από τα γειτονικά κύτταρα του μικροπεριβάλλοντος, περιορίζοντας τη διαρροή των αιμοφόρων

αγγείων και, κατά συνέπεια, αυξάνοντας την άρδευση και την οξυγόνωση του όγκου. Αυτή η προσέγγιση μετριάζει το γεωμετρικό εμπόδιο κατά της ροής του αίματος και αποκαθιστά την ισορροπία μεταξύ προ- και αντιαγγειογονικής σηματοδότησης (84). Ένας κλασικός θεραπευτικός στόχος της αγγειακής ομαλοποίησης είναι η σηματοδότηση VEGF, η οποία είναι αυξημένη στους περισσότερους όγκους. Το Bevacizumab, το πρώτο εγκεκριμένο αντιαγγειογόνο φάρμακο και τα παράγωγά του χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκινώματος του παχέος εντέρου (84). Το Bevacizumab αλληλεπιδρά με το διαλυτό VEGF αποτρέποντας τη δέσμευση των υποδοχέων. Για να αποφευχθεί επίκτητη αντοχή του όγκου, αυτά τα αντιαγγειογόνα φάρμακα χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με αναστολείς τυροσινικής κινάσης υποδοχέων (π. χ. , σοραφενίμπη και σουνατινίμπη) που δρουν στην αλυσίδα σηματοδότησης ή ως κοκτέιλ (π. χ. , με Herceptin) (84). Μια εναλλακτική θεραπευτική προσέγγιση είναι η εφαρμογή αντιαγγειογονικών πεπτιδίων όπως θρομβοσπονδίνη (TSP), ενδοστατίνη, πεπτίδια πήξης, παράγοντες ανάπτυξης και χημικίνες, όλα με υψηλό ποσοστό επιτυχίας στις κλινικές δοκιμές λόγω της χαμηλής τοξικότητάς τους και της υψηλής ειδικότητάς τους για τους υποδοχείς τους (84). Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η προεπεξεργασία όγκων με αναστολείς σηματοδότησης VEGF βελτιώνει τη χορήγηση τόσο ενδιάμεσων όσο και μεγάλων σωματιδίων νανοσωματιδίων (NPs) προκαλώντας αγγειακή ομαλοποίηση, αυξάνοντας την έκφραση των MMPs και την αποικοδόμηση των ινών κολλαγόνου και, κατά συνέπεια, ενισχύοντας τη διείσδυση του φαρμάκου (85, 86). Ωστόσο, δεν ωφελούνται όλοι οι τύποι καρκίνου από τη στρατηγική αγγειακής ομαλοποίησης. Για παράδειγμα, το λιγότερο διαπερατό και συμπιεσμένο αγγειακό σύστημα των αδρών όγκων μπορεί να μην εμφανίζει το αναμενόμενο φαινότυπο ομαλοποίησης (83). Η πυκνότητα των αγγείων, η δόση του αντιαγγειογονικού φαρμάκου και τα διαστήματα θεραπείας είναι σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν το θεραπευτικό αποτέλεσμα (87). Επιπλέον, η μείωση του μεγέθους των πόρων των αγγείων μπορεί να εμποδίσει μεγάλα NPs να εισέλθουν στο στρώμα του όγκου (88).

3. 7. 2 Στρατηγική ομαλοποίησης του ECM για την αντιμετώπιση της υποξίας

Η «πυκνή» θεμέλια ουσία (ECM: Extracellular matrix) στους όγκους μπορεί να εμποδίσει τη διήθηση των ανοσοκυττάρων, δημιουργώντας ένα ανοσοαποκλεισμένο μικροπεριβάλλον όγκου (TME) που προάγει την ανάπτυξη και τη μετάσταση του όγκου.

Η ECM μπορεί επίσης να συμπιέσει τα ενδοκαρκινικά αγγεία, οδηγώντας σε αναποτελεσματική και ετερογενή ροή αίματος εντός του όγκου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ανεπαρκή παροχή φαρμάκων και ανοσοκυττάρων στον όγκο, καθώς και την υποξία, η οποία υποστηρίζει περαιτέρω την εξέλιξη του όγκου. Η στρατηγική ομαλοποίησης του στρώματος στοχεύει στην εξουδετέρωση αυτών των επιδράσεων με την αποκατάσταση της λειτουργικότητας των αγγείων και τη μείωση της δυσκαμψίας του όγκου. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω δύο κύριων προσεγγίσεων:

Αρχικά με τον επαναπρογραμματισμό CAF. Πιο συγκεκριμένα αυτό περιλαμβάνει τη μετατροπή ινοβλαστών που σχετίζονται με τον καρκίνο (CAFs) από τους φυσιολογικούς ομολόγους τους, γεγονός που μπορεί να βοηθήσει στη διάσπαση της ECM και στη μείωση της δυσκαμψίας του όγκου. Έπειτα με την αναδιαμόρφωση ECM. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει την άμεση τροποποίηση της ECM για να γίνει λιγότερο συμπαγής και πιο ανεκτική στη διήθηση των ανοσοκυττάρων στο μικροπεριβάλλον του όγκου από την συστηματική και τη λεμφική κυκλοφορία. Η ομαλοποίηση του στρώματος έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την αιμάτωση του όγκου και καταστέλλει την εισβολή και τη μετάσταση. Πρόκειται για μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση για τον καρκίνο του μαστού, καθώς έχει παρατηρηθεί αυξημένη πυκνότητα ECM και συμπίεση αγγείων όχι μόνο σε πρωτοπαθείς όγκους αλλά και σε μεταστάσεις καρκίνου του μαστού στους πνεύμονες (89).

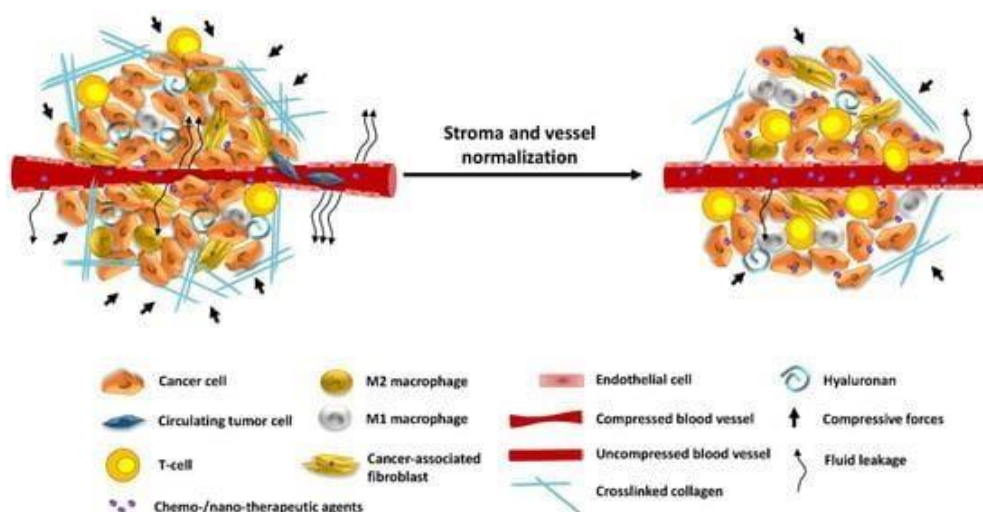
Τα CAFs είναι εξαιρετικά ετερογενή, αλλά μπορούν να χωριστούν ευρέως σε μυοϊνοβλαστικούς και μη μυοϊνοβλαστικούς πληθυσμούς. Τα μυοϊνοβλαστικά CAFs είναι υπεύθυνα για την εναπόθεση ECM και την ενίσχυση των ιστών, ενώ οι μη μυοϊνοβλάστες εμπλέκονται στη φλεγμονώδη σηματοδότηση. Αυτή η προσέγγιση μειώνει το στερεό στρες και το IFP σε μοντέλα όγκων και μπορεί να ενισχύσει τη δραστηριότητα κυτταροτοξικών παραγόντων, όπως η ταξόλη και η 5'-φθοριοουρακίλη (5'-FU). Ωστόσο, αυτή η στρατηγική έχει αποτύχει σε κλινικές δοκιμές και ορισμένες προκλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η υπερβολική εξάντληση των CAFs μπορεί να τροφοδοτήσει την εξέλιξη του όγκου (90).

Εκτός από το ρόλο τους στη συσσώρευση κυτταρικού στρες, τα CAFs προωθούν επίσης τη δημιουργία ενός ανοσοκατασταλτικού μικροπεριβάλλοντος όγκου (TME). Το κάνουν αυτό απελευθερώνοντας ανοσοκατασταλτικούς αγγελιοφόρους όπως οι TGF- β , CXCL12, IL-6, CXCL-1 και G-SCF. Αυτοί οι προσδέτες μπορούν να εμποδίσουν την

ενδοκαρκινική κυτταροτοξική διήθηση και δραστηριότητα των T κυττάρων και μπορούν να ενισχύσουν την πρόσληψη ανοσοκατασταλτικών κυττάρων όπως MDSCs, ουδετερόφιλα και TAM τύπου M2. Η στόχευση τόσο των οδών TGF- β όσο και PD-1 / PD-L1 έχει καταδείξει θετικά σημεία για την υπέρβαση των ανοσοκατασταλτικών επιδράσεων των CAFs. Αυτή η προσέγγιση έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τη διήθηση των T κυττάρων και μειώνει το μεταστατικό φορτίο σε προκλινικά μοντέλα και έχει επίσης δείξει κλινική δραστηριότητα σε ασθενείς με μεταστατικό ουροθηλιακό καρκίνο (90,91).

Συνολικά, η στόχευση των CAFs είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για την ανακούφιση του ενδοκαρκινικού στερεού στρες και τη βελτίωση της θεραπείας του καρκίνου. Αυτή η προσέγγιση μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες, όπως οι αναστολείς σημείων ελέγχου, για να ξεπεραστούν οι ανοσοκατασταλτικές επιδράσεις των CAFs και να βελτιωθούν τα αποτελέσματα των ασθενών με πρωτογενή και μεταστατικό καρκίνο του μαστού.

Συνολικά, στην Εικόνα 16 συνοψίζονται κάποιες προτάσεις αναφορικά με την βελτίωση των υπάρχοντων θεραπευτικών προσεγγίσεων στοχεύοντας στην αμεσότερη και αποτελεσματικότερη προσπέλαση των φαρμάκων στον πρωτογενή και μεταστατικό καρκίνο του μαστού (92).



Εικόνα 16 Προσεγγίσεις για τη βελτίωση των θεραπειών αναφορικά με τον μεταστατικό καρκίνο του μαστού [92]

Κεφάλαιο 4. Ανοσοκύτταρα ως προγνωστικοί δείκτες στο μικροπεριβάλλον του καρκίνου του μαστού.

4.1 aTLS & dTLS

Οι τριτοταγείς λεμφοειδείς δομές (TLS) που εδράζονται στις περιοχές γύρω από το κέντρο του καρκίνου του μαστού έχουν συγκεντρώσει σημαντική προσοχή σε πρόσφατες έρευνες λόγω της πιθανής προγνωστικής σημασίας τους στην διάγνωση του καρκίνου του μαστού και στις μεταστατικές καταστάσεις του. Αυτά τα λεμφοειδή συσσωματώματα, διαφορετικά από τα συμβατικά λεμφοειδή όργανα, χαρακτηρίζονται από την οργανωμένη διήθηση των ανοσοκυττάρων μέσα στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Αναδυόμενα στοιχεία υποδεικνύουν συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας περιπλασματικού TLS και της βελτιωμένης πρόγνωσης σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Η σύνθεση αυτών των δομών, η οποία περιλαμβάνει την ύπαρξη T και B λεμφοκυττάρων, δενδριτικά κύτταρα και άλλα ανοσοποιητικά συστατικά, συνεπάγεται πιθανό ρόλο στην ενορχήστρωση μιας αποτελεσματικής αντικαρκινικής ανοσολογικής απόκρισης. Η περίπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή μέσα στο μικροπεριβάλλον έχει ωθήσει τις έρευνες σχετικά με τις λειτουργικές επιπτώσεις του TLS. Ενώ η έρευνα σε αυτόν τον τομέα βρίσκεται σε εξέλιξη, τα τρέχοντα ευρήματα υπογραμμίζουν τη σημασία του περικαρκινικού TLS ως πιθανών βιοδεικτών για την πρόγνωση στον καρκίνο του μαστού, προσφέροντας πληροφορίες για την περίπλοκη δυναμική της ανοσολογικής απόκρισης και την επίδρασή της στην εξέλιξη της νόσου. Η συνεχής διερεύνηση αυτών των δομών μπορεί να αποφέρει πολύτιμες γνώσεις για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπευτικών στρατηγικών για ασθενείς με καρκίνο του μαστού (93).

Τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των 167 ασθενών με καρκίνο μαστού που αναλύθηκαν από μια μελέτη συνοψίζονται στην Εικόνα 4. 1. Οι περινεοπλασματικές ενεργές τριτοταγείς λεμφοειδείς δομές – εφαιπτόμενες TLS (aTLS) και οι απομακρυσμένες τριτοταγείς λεμφοειδείς δομές (dTLS) ποσοτικοποιήθηκαν από τους ερευνητές και διερευνήθηκε η συσχέτισή τους με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών. Συγκεκριμένα, ορισμένα aTLS και dTLS εμφάνισαν ομάδες καρκινικών κυττάρων. Η πλειοψηφία των ασθενών ωστόσο εμφάνισε aTLS. Ασθενείς με ευνοϊκότερους

προγνωστικούς δείκτες, όπως χαμηλότερο στάδιο TNM, καλά διαφοροποιημένα καρκινικά κύτταρα (G1,2), απουσία διηθημένων λεμφαδένων (N0) και μικρότερους όγκους ($T \leq 2$ cm), βρέθηκαν να έχουν χαμηλότερες αθροίσεις aTLS, με στατιστικά σημαντικές διαφορές που παρατηρούνται κυρίως στον βαθμό του όγκου. Αντίθετα, η dTLS ήταν παρούσα σε μικρό ποσοστό των ασθενών και οι ασθενείς με βαθμολογία 3, εμφάνισαν στατιστικά υψηλότερη dTLS σε σύγκριση με τους βαθμούς 1 και 2. Πιο συγκεκριμένα, όλοι οι ασθενείς με μοριακούς υποτύπους HER2+ (Luminal B/HER2+ και HER2+) εμφάνισαν aTLS, ενώ dTLS ανιχνεύθηκαν συχνότερα σε ασθενείς χωρίς ορμονικούς υποδοχείς (είτε HER2+, είτε TNBC)

Table 1 Univariate and multivariate analyses

| Univariate | DFS | | | OS | | |
|-----------------------------------|--------------|--------------|---------------------------------------|--------------|--------------|---------------------------------------|
| | <i>p</i> | Hazard ratio | 95.0% CI for exp (<i>B</i>) (range) | <i>p</i> | Hazard ratio | 95.0% CI for exp (<i>B</i>) (range) |
| Molecular subtypes | 0.001 | 1.555 | 1.197–2.019 | 0.008 | 1.650 | 1.130–2.409 |
| Early advanced stage | 0.001 | 4.332 | 1.837–10.212 | 0.006 | 17.564 | 2.293–134.540 |
| T status | 0.000 | 2.988 | 1.771–5.038 | 0.000 | 4.041 | 2.003–8.153 |
| N status | 0.000 | 2.168 | 1.467–3.205 | 0.000 | 3.229 | 1.844–5.654 |
| Grade | 0.188 | 1.559 | 0.805–3.019 | 0.036 | 3.317 | 1.083–10.160 |
| Hormone receptors | 0.003 | 0.323 | 0.152–0.689 | 0.010 | 0.249 | 0.086–0.719 |
| HER-2/neu | 0.591 | 1.247 | 0.564–2.758 | 0.539 | 0.670 | 0.187–2.403 |
| Reinforced signatures | 0.001 | 3.773 | 1.675–8.496 | 0.004 | 9.206 | 2.039–41.567 |
| Multivariate | DFS | | | OS | | |
| | <i>p</i> | Hazard ratio | 95.0% CI for exp (<i>B</i>) (range) | <i>p</i> | Hazard ratio | 95.0% CI for exp (<i>B</i>) (range) |
| Molecular subtypes | 0.022 | 2.092 | 1.115–3.924 | 0.196 | 2.038 | 0.692–5.998 |
| Early–advanced stage | 0.415 | 1.984 | 0.382–10.299 | 0.033 | 20.878 | 1.280–340.628 |
| T status | 0.049 | 2.475 | 1.004–6.101 | 0.662 | 1.331 | 0.369–4.802 |
| N status | 0.654 | 1.162 | 0.602–2.44 | 0.743 | 1.152 | 0.495–2.78 |
| Grade | 0.387 | 0.693 | 0.302–1.591 | 0.706 | 1.378 | 0.261–7.276 |
| Hormone receptors | 0.562 | 1.684 | 0.290–9.789 | 0.815 | 0.698 | 0.035–14.106 |
| HER-2/neu | 0.756 | 0.847 | 0.298–2.407 | 0.016 | 0.140 | 0.028–0.690 |
| Reinforced signatures | 0.009 | 3.450 | 1.366–8.708 | 0.014 | 11.026 | 1.631–74.533 |
| 2. Model after stepwise selection | | | | | | |
| Molecular subtypes | 0.000 | 1.685 | 1.268–2.241 | 0.000 | 2.432 | 1.528–3.871 |
| Early–advanced stage | – | – | – | 0.002 | 37.148 | 3.808–362.371 |
| T status | 0.000 | 3.522 | 1.774–6.993 | – | – | – |
| HER-2/neu | – | – | – | 0.012 | 0.158 | 0.037–0.666 |
| Reinforced signature | 0.009 | 2.981 | 1.307–6.802 | 0.003 | 12.583 | 2.362–67.024 |

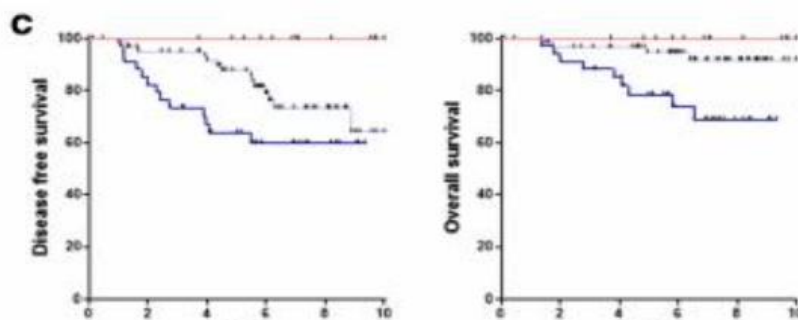
All categorical covariates were transformed into numeric codes as follows: early–advanced stage (I–IIA; 1, IIB, IIIA, III3; 2), T status (T1; 1, T2; 2, T3; 3), N stage (N0; 0, N1; 1, N2; 2, N3; 3), grade (G1; 1, G2; 2, G3; 3), hormone receptors (neg; 0, pos; 1), HER-2/neu (neg; 0, pos; 1), reinforced signatures (RFCIS; 1, R UCIS; 2), molecular subtypes (Lum A; 1, Lum B; 2; luminal B/Her2+, 3, HER2+, 4 TNBC, 5)

CI confidence interval, HR hazard ratio

Εικόνα 4. 1 Τα κλινιπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν στην έρευνα.

(94).

Σε μια μελέτη σειράς 112 ασθενών των ίδιων ερευνητών με τεκμηριωμένα δεδομένα κλινικής παρακολούθησης (κλινικοπαθολογικές και θεραπευτικές λεπτομέρειες) διερευνήθηκε η συσχέτιση μεταξύ των περιογκογονικών τριτοταγών λεμφοειδών δομών (TLS) και της επιβίωσης χωρίς νόσο (DFS) καθώς και της συνολικής επιβίωσης (OS). Οι ασθενείς με ενεργό TLS (aTLS) εμφάνισαν σημαντικά μειωμένο DFS σε σύγκριση με εκείνους χωρίς aTLS και παρόλο που η OS ήταν επίσης χαμηλότερη σε ασθενείς με aTLS, τα στοιχεία αυτά δεν εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα. Ομοίως, οι ασθενείς με αδρανή TLS (dTLS) εμφάνισαν σημαντικά επιβαρυνμένη DFS και OS από εκείνους χωρίς dTLS. Συγκεκριμένα, η συνδυασμένη παρουσία τόσο του aTLS όσο και του dTLS (aTLS + dTLS+) εντοπίστηκε σε μια υποομάδα της έρευνας με τα φτωχότερα κλινικά αποτελέσματα όσον αφορά τόσο το DFS όσο και το OS. Οι ασθενείς με όγκους aTLS + dTLS είχαν χαμηλότερο κίνδυνο υποτροπής και θανάτου σε σύγκριση με εκείνους με όγκους aTLS + dTLS+. Όπως αναμενόταν, οι ασθενείς που δεν είχαν τόσο aTLS όσο και dTLS (δηλ. aTLS- dTLS-) παρουσίασαν τα πιο ευνοϊκά κλινικά αποτελέσματα όπως διαφαίνεται και στις Εικόνες 4. 2 και 4. 3 αντίστοιχα όπου παρουσιάζονται τα στοιχεία των δύο υποομάδων aTLS+ και dTLS+ (Εικόνα 4. 2) και της υποομάδας aTLS- και dTLS-.



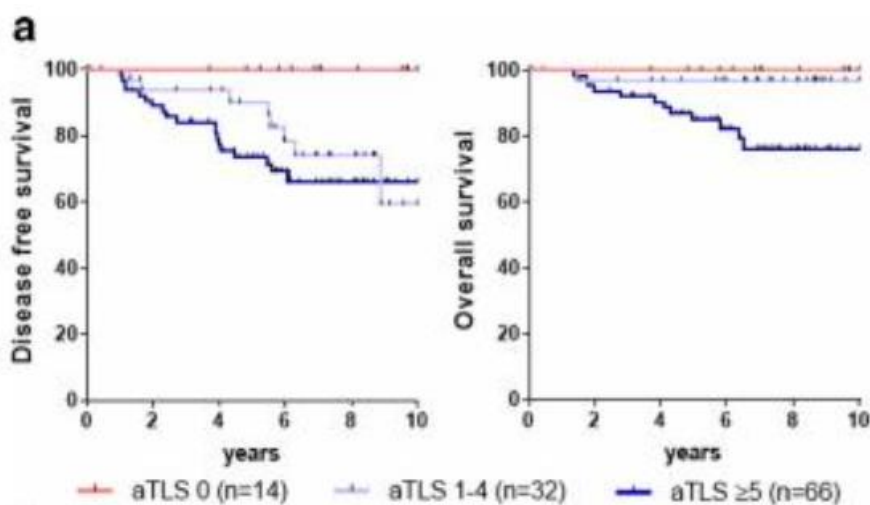
Εικόνες 4. 2 και 4. 3. Απεικόνιση των υποομάδων aTLS+ και dTLS+ και της υποομάδας aTLS- και dTLS-.

Λεπτομερείς στατιστικές διαφορές μεταξύ αυτών των ομάδων, με σημαντικές διακρίσεις που επισημαίνονται με έντονους χαρακτήρες, παρουσιάζονται στην Εικόνα 4. 4.

| | Comparisons | Log Rank p | Gehan Breslow p | Hazard Ratio |
|-----|--------------------------|------------|-----------------|--------------|
| DFS | aTLS-dTLS- vs aTLS+dTLS- | 0.0423 | 0.0611 | 0.2702 |
| | aTLS-dTLS- vs aTLS+dTLS+ | 0.0098 | 0.0112 | 0.2190 |
| | aTLS+dTLS- vs aTLS+dTLS+ | 0.0471 | 0.0094 | 0.4354 |
| OS | aTLS-dTLS- vs aTLS+dTLS- | 0.3206 | 0.3319 | 0.2873 |
| | aTLS-dTLS- vs aTLS+dTLS+ | 0.0357 | 0.0419 | 0.2245 |
| | aTLS+dTLS- vs aTLS+dTLS+ | 0.0066 | 0.0079 | 0.2028 |

Εικόνα 4. 4 Συγκριτική ανάλυση των υπομάδων που ερευνήθηκαν αναφορικά με τα στοιχεία aTLS και dTLS. [93]

Στη συνέχεια, αξιολογήθηκαν το DFS και το OS σε ασθενείς ταξινομημένους με βάση τον αριθμό των aTLS. Είναι ενδιαφέρον ότι σε όγκους aTLS+, ο αριθμός των aTLS (δηλ. aTLS1-4 έναντι aTLS \geq 5) δεν επηρέασε ουσιαστικά το DFS, με τις δύο ομάδες να εμφανίζουν στατιστικά χαμηλότερο DFS σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς aTLS (βλ. Εικόνα 4. 5).



Εικόνα 4. 5 Διαγράμματα επιβίωσης για τους ασθενείς με όγκους aTLS+ και aTLS-. [94]

Αντίθετα, όσον αφορά την OS, οι ασθενείς με aTLS \geq 5 είχαν σημαντικά χαμηλότερη OS σε σύγκριση με εκείνους με όγκους aTLS 1-4, ενώ η τελευταία ομάδα εμφάνισε OS παρόμοια με τους ασθενείς χωρίς aTLS (βλ. Εικόνα 4. 6).

b

| | Comparisons | Log Rank p | Gehan Breslow p | Hazard Ratio |
|-----|--|------------|-----------------|--------------|
| DFS | TLS ₀ vs TLS ₁₋₄ | 0.0385 | 0.0582 | 0.2120 |
| | TLS ₀ vs TLS _{2,5} | 0.0222 | 0.0265 | 0.2777 |
| | TLS ₁₋₄ vs TLS _{2,5} | 0.3795 | 0.1710 | 0.7045 |
| OS | TLS ₀ vs TLS ₁₋₄ | 0.5083 | 0.5083 | 0.2375 |
| | TLS ₀ vs TLS _{2,5} | 0.0750 | 0.0877 | 0.2813 |
| | TLS ₁₋₄ vs TLS _{2,5} | 0.0302 | 0.0515 | 0.2852 |

Εικόνα 4. 6 Σχηματική απεικόνιση των υποομάδων για τα OS και DFS [93].

Σε αυτή τη μελέτη, διερευνήθηκε η παρουσία, η αφθονία και τα ανοσολογικά χαρακτηριστικά των περικαρκινικών τριτοταγών λεμφοειδών δομών (TLS) τόσο ανεξάρτητα όσο και σε συνδυασμό με ενδοκαρκινικές διηθήσεις, χρησιμοποιώντας διαφορετικές πυκνότητες κυττάρων CD8+ και CD163+ σε πυρήνες όγκων (TC) και σε IM. Αυτές οι αναλύσεις παρείχαν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την *in situ* προσαρμοστική ανοσολογική κατάσταση, εισάγοντας ενισχυμένες και αναλυτικές «βιουπογραφές» για κλινικά αποτελέσματα σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού (BCa). Η μελέτη αυτή είναι η πρώτη που αποκαλύπτει ότι η ύπαρξη και ο αυξημένος αριθμός περικαρκινικών TLS σχετίζονται με δυσμενή κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά και φτωχότερη πρόγνωση στον μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Το TLS περιλαμβάνει δομές που κυμαίνονται από απλές ομάδες λεμφοκυττάρων έως σύνθετους σχηματισμούς που μοιράζονται μορφολογικές, κυτταρικές και μοριακές ομοιότητες με δευτερογενή λεμφοειδή όργανα, ιδιαίτερα λεμφαδένες. Δεδομένων αυτών των ομοιοτήτων, τα φλεβίδια με το υψηλό κυβοειδές επιθήλιο (HEV), ένα χαρακτηριστικό αυτών των δομών, μπορεί να διαδραματίσουν κρίσιμο ρόλο στην πρόσληψη κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων σε ενδοκαρκινικό TLS [93]. Η πιθανή συμβολή του TLS στον ανοσολογικό έλεγχο της ανάπτυξης του όγκου παραμένει υποθετική. Ενώ η παρουσία ενδοκαρκινικού TLS έχει συνδεθεί με αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις σε διάφορους καρκίνους, συμπεριλαμβανομένου του BCa, τα ευρήματα των ερευνών αυτών δείχνουν ότι το περικαρκινικό TLS συσχετίζεται σημαντικά με ιστολογικούς όγκους βαθμού 3. Αυτή η παρατήρηση είναι σύμφωνη με παρόμοιες μελέτες αναφορικά με το BCa και το καρκίνωμα της ουροθηλιακής ουροδόχου κύστης [98].

Οι περίπλοκοι ρόλοι του TLS στη διαμόρφωση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, συμπεριλαμβανομένων των πιθανών θετικών και αρνητικών επιπτώσεών τους στην πρόγνωση του καρκίνου, χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.

Τέλος, στην Εικόνα 4. 7 απεικονίζεται ο επιπολασμός των διαφόρων τύπων καρκίνου του μαστού.

| Molecular Subtype | aTLS | | dTLS | |
|-------------------|----------|----------|-----------|----------|
| | aTLS- | aTLS+ | dTLS- | dTLS+ |
| Luminal A | 9(22%) | 32(78%) | 33(80.5%) | 8(19.5%) |
| Luminal B | 7(13%) | 48(87%) | 41(74%) | 14(26%) |
| Luminal B/Her2+ | 0(0%) | 32(100%) | 23(72%) | 9(28%) |
| HER2+ | 0(0%) | 16(100%) | 8(50%) | 8(50%) |
| TNBC | 2(10%) | 18(90%) | 8(40%) | 12(60%) |
| Unclassified | 1(33.3%) | 2(67.7%) | 3(100%) | 0(0%) |

Εικόνα 4. 7 Επιπολασμός των διαφόρων τύπων καρκίνου του μαστού και της παρουσίας ή όχι aTLS και D [93].

4. 2 Κύτταρα CD8+ T, FoxP3+ και CD163+.

Η θεωρία ανοσοεπεξεργασίας του καρκίνου υποθέτει ότι η εξέλιξη του όγκου προκύπτει από δυναμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος και των καρκινικών κυττάρων. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις δημιουργούν ενδογενή αντικαρκινική ανοσία (EAI), η οποία διαμορφώνει επιλεκτικά φαινότυπους όγκου σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του όγκου. Ωστόσο, η παρατεταμένη έκθεση σε καρκινικά κύτταρα μπορεί να οδηγήσει τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού στο μικροπεριβάλλον αυτό, να υιοθετήσουν έναν «εξαντλημένο» φαινότυπο, καθιστώντας τα αδρανή. Οι θεραπείες που επανενεργοποιούν την EAI, κυρίως ανοσοθεραπείες, δείχνουν αποτελεσματικότητα στην επίτευξη μακροχρόνιων κλινικών αποτελεσμάτων. Παρά τις αρχικές ανταποκρίσεις στις ανοσοθεραπείες, ένας σημαντικός αριθμός ασθενών εμφανίζει υποτροπή. Αυτή η υποτροπή συμβαίνει επειδή οι όγκοι αναπτύσσουν επίκτητη ανοσολογική αντίσταση (AIR), καταστέλλοντας την EAI (99).

Στη μελέτη που ακολουθεί καταδεικνύεται ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις των κυττάρων CD163+ και FoxP3+ σε όγκους καρκίνου του μαστού συμπίπτουν με την παρουσία κυττάρων CD8+, ιδιαίτερα όταν τα τελευταία εμφανίζουν αφθονία. Αυτή η μορφή AIR συνδέεται με τη μειωμένη επιβίωση των ασθενών (99).

Το μικροπεριβάλλον του όγκου δημιουργεί ένα ευνοϊκό περιβάλλον για την εμφάνιση ανθεκτικών μηχανισμών, οι οποίοι μπορεί είτε να προϋπάρχουν λόγω

ενεργοποίησης μεταλλάξεων σε ογκογόνες οδούς είτε να προκληθούν ως απόκριση ανάδρασης στην ενδοκαρκινική ανοσολογική πίεση. Αυτή η επίκτητη ή προσαρμοστική ανοσοαντίσταση χαρακτηρίζεται κυρίως από την παρουσία κατασταλτικών κυττάρων, ανασταλτικών παραγόντων και ανασταλτικών υποδοχέων και των συνδετών τους. Αυτά τα στοιχεία, είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό, λειτουργούν για να εξουδετερώσουν την ανοσολογική αντιδραστικότητα που κατευθύνεται από τον όγκο, εμποδίζοντας έτσι τόσο την ενισχυμένη ενδογενή αντικαρκινική ανοσία όσο και την επαγόμενη αντικαρκινική ανοσία που προκαλείται από ανοσοθεραπείες ή άλλες στοχευμένες θεραπείες (100).

Σε αυτό το πλαίσιο, ο όρος «ανοσοαντίσταση» μπορεί να αποδώσει με μεγαλύτερη ακρίβεια τους ποικίλους βαθμούς ανοσοεπιτήρησης και, σε μικρότερο βαθμό, την ανοσοδιαφυγή. Για παράδειγμα, πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει τη συσχέτιση μεταξύ του προγραμματισμένου συνδέτη θανάτου 1 (PD-L1) και άλλων συνδετήρων ανοσολογικών σημείων ελέγχου ή των υποδοχέων τους, με μεγάλο βαθμό ανοσολογικών διηθήσεων. Επιπλέον, αυτά τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος εμφανίζουν συχνά έκκριση κυτοκινών Th1, υποδεικνύοντας την παρουσία αντικαρκινικής ανοσίας εντός των διαμερισμάτων του μικροπεριβάλλοντος του όγκου.

Η επίκτητη ανοσολογική αντίσταση (AIR) αναφέρεται σε μία κατάσταση στην οποία οι ασθενείς με καρκίνο, αρχικά ανταποκρινόμενοι σε ανοσοθεραπείες, εμφανίζουν επιδείνωση – υποτροπή της νόσου μετά από μια ορισμένη περίοδο. Αναγνωρίζοντας το AIR ως απόκριση ανατροφοδότησης του όγκου έναντι ανοσολογικών επιθέσεων που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια ανοσοθεραπειών, είναι εύλογο ότι το AIR μπορεί επίσης να εκδηλωθεί πριν από την έναρξη της θεραπείας, χρησιμεύοντας ως μηχανισμός αποφυγής της ενδογενούς προσαρμοστικής αντικαρκινικής ανοσίας (EAAI). Σε μια μελέτη (101), αξιολογήθηκε το EAAI σε δείγματα πρωτοπαθούς όγκου μαστού, εξετάζοντας τη συσχέτισή του με τα κλινικά αποτελέσματα των ασθενών. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι συγκεντρώσεις των κυττάρων CD8+, αξιολογώντας έτσι την αντικαρκινική κυτταροτοξικότητα στο μικροπεριβάλλον του όγκου, και έπειτα των κυττάρων CD163+ και FoxP3+, που δρουν ως κατασταλτικά στοιχεία. Από την ανάλυση αυτή εντοπίστηκε άμεση συσχέτιση μεταξύ της συχνότητας εμφάνισης των κυττάρων CD8+ και των συγκεντρώσεων των κυττάρων CD163+ και/ή FoxP3+ στην πλειονότητα των όγκων των ασθενών που μελετήθηκαν.

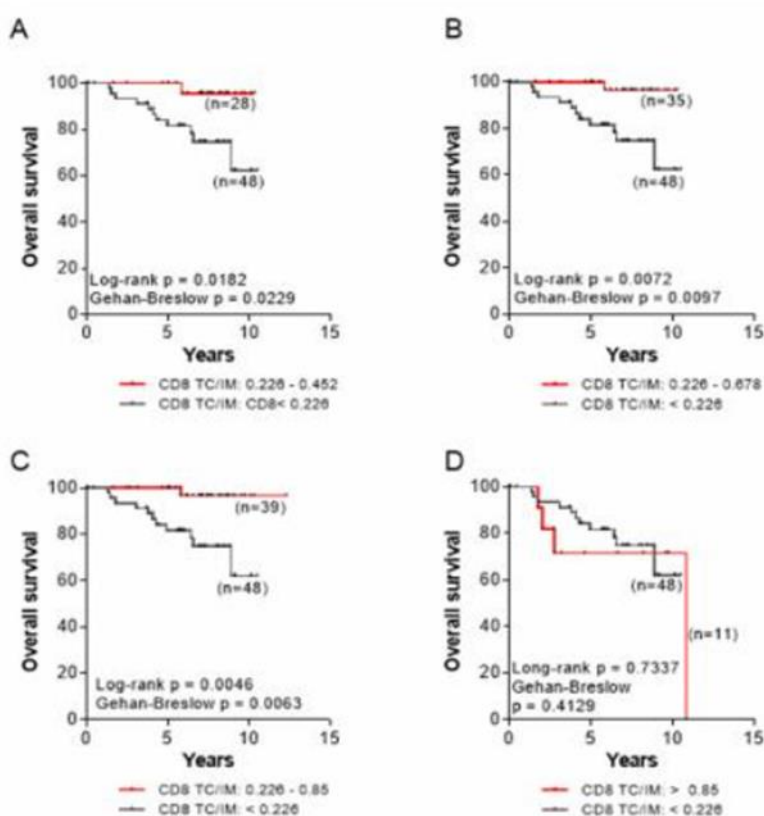
Αναλυτικότερα, οι ασθενείς με όγκους όπου υπάρχει πληθώρα από κύτταρα

CD8+ στο μικροπεριβάλλον ανάπτυξης, ανέπτυξαν κυρίως AIR, που χαρακτηρίζεται από αυξημένη ενδοκαρκινική πυκνότητα κυττάρων CD163+ ή/και FoxP3+ και μειωμένη συνολική επιβίωση (OS). Επιπλέον, καταδεικνύεται μέσω της έρευνας αυτής, ότι η εμφάνιση AIR εξαρτάται από τις αναλογίες των κυττάρων CD8+ στο κέντρο του όγκου προς τη διήθηση των λεμφοκυττάρων της περιφέρειας. Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι οι όγκοι αναπτύσσουν AIR μόνο όταν αντιμετωπίζουν ισχυρή ενδογενή ανοσολογική πίεση από τα παρακείμενα κύτταρα του οργανισμού (101).

Τα διαθέσιμα δεδομένα υποδηλώνουν συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων συγκεντρώσεων των κυττάρων CD8+ σε πυρήνες όγκων (TC) ή της διηθούμενης περιφέρειας με αυξημένες συγκεντρώσεις των κυττάρων που εμφανίζουν κατασταλτικούς φαινότυπους (δηλαδή των CD163+ και FoxP3+) και συνολικά μειωμένη συνολική επιβίωση (OS). Αναγνωρίζοντας τις δυναμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και των ανοσολογικών στοιχείων εντός του όγκου, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής μετανάστευσης από το IM στο TC που ρυθμίζεται από τους ινοβλάστες και τις χημειοκίνες, έχει αξιολογηθεί η σχέση πυκνότητας των κυττάρων CD8+ στο TC και IM. Αυτή η σχέση αντιπροσωπευόταν καλύτερα από τις αναλογίες TC προς IM. Στις αναλύσεις που έχουν διεξαχθεί, η διάμεση τιμή CD8+ TC/IM ήταν 0,226 (101). Οι ασθενείς με όγκους που είχαν τιμές CD8+ TC/IM έως δύο, τρεις ή τέσσερις φορές υψηλότερες από τη διάμεση τιμή έδειξαν σημαντικά βελτιωμένη OS σε σύγκριση με εκείνους με CD8+ TC/IM κάτω από τη διάμεση τιμή. Είναι ενδιαφέρον επίσης να τονιστεί ότι στην εν λόγω έρευνα οι ασθενείς με εξαιρετικά υψηλές αναλογίες CD8+ TC/IM (>0,85, κυμαινόμενες από 3,8 έως 53) είχαν μειωμένη OS, παρόμοια με τα αποτελέσματα των ασθενών με CD8+ TC/IM κάτω από τη διάμεση τιμή. Στην Εικόνα 4. 2. 1 απεικονίζονται οι συσχετίσεις μεταξύ των αναλογιών CD8+ TC/IM και της συνολικής επιβίωσης όπως εξετάστηκαν για ασθενείς που εμπίπτουν σε διαφορετικές κατηγορίες της ανωτέρω αναλογίας που μελετάται: Αρχικά εντοπίζονται (Α) Οι ασθενείς με αναλογίες CD8+ TC/IM μεταξύ 0,226–0,452 οι οποίοι συγκρίθηκαν με εκείνους με αναλογίες κάτω από 0,226. (Β) Οι ασθενείς με αναλογίες CD8+ TC/IM μεταξύ 0,226–0,678 συγκρίθηκαν με εκείνους με αναλογίες κάτω από 0,226. (Γ) Οι ασθενείς με αναλογίες CD8+ TC/IM μεταξύ 0,226–0,85 συγκρίθηκαν με εκείνους με αναλογίες κάτω από 0,226, και τέλος, (Δ) οι ασθενείς με αναλογία CD8+ TC/IM άνω του 0,85 συγκρίθηκαν με εκείνους με αναλογίες κάτω του 0,226. Η ανάλυση είχε ως στόχο να αποσαφηνίσει τυχόν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ αυτών των συγκεκριμένων κατηγοριών αναλογίας CD8+ TC

/IM και των συνολικών αποτελεσμάτων επιβίωσης στην ομάδα ασθενών που μελετήθηκαν κάθε φορά.

Σε αυτή τη συγκεκριμένη υποομάδα, που περιλαμβάνει την πλειοψηφία των ασθενών (63,6%) οι αναλογίες CD163+ TC/IM και FoxP3+ TC/IM βρέθηκαν να είναι πάνω από τις διάμεσες τιμές. Οι διάμεσες τιμές TC/IM για το CD163 ήταν 0,270 και για το FoxP3 ήταν 0,341. Οι αναλογίες σε αυτή την υποομάδα κυμαίνονταν μεταξύ 0,301–2,792 (1,1–10,34 φορές υψηλότερες) για το CD163+ TC/IM και μεταξύ 0,389–3,932 (1,1–11,53 φορές υψηλότερες) για το FoxP3+ TC/IM. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών στη συγκεκριμένη ομάδα παρουσίασε υψηλότερες πυκνότητες κυττάρων CD163+ και FoxP3+ στον πυρήνα του όγκου προς τις διηθημένες περιοχές του όγκου και αναλογικά σε σύγκριση με τις διάμεσες τιμές (101).



Εικόνα 4. 2. 1 Διαγραμματική συσχέτιση των τιμών OS και των αναλογιών των ανοσοκυττάρων στο μικροπεριβάλλον του μεταστατικού καρκίνου του μαστού[101].

Τα δεδομένα δείχνουν ότι οι ασθενείς με υψηλές πυκνότητες κατασταλτικών κυττάρων FoxP3+ ή CD163+ είτε στο κέντρο του όγκου είτε στο διηθημένο μικροπεριβάλλον, παρά το γεγονός ότι είχαν αυξημένο αριθμό κυττάρων CD8+,

εμφάνισαν τάσεις προς μικρότερη συνολική επιβίωση (OS) σε σύγκριση με εκείνους με χαμηλές συχνότητες κυττάρων FoxP3+ ή CD163+. Αν και δεν επιτεύχθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε αυτό, πιθανώς λόγω της σχετικά σύντομης κλινικής παρακολούθησης (διάμεση τιμή 6,88 έτη) και του περιορισμένου αριθμού ασθενών ανά ομάδα, προέκυψε μια πιο έντονη στατιστική διαφορά όταν εξετάστηκαν οι συνδυασμένες πυκνότητες των κυττάρων FoxP3+ και CD163+, είτε στο κέντρο του όγκου είτε στο διηθημένο χείλος του περιθωρίου. Αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί από μια ισχυρή καταστολή της αντικαρκινικής ανοσολογικής απόκρισης όταν και οι δύο τύποι κατασταλτικών κυττάρων είναι παρόντες σε μεγάλους αριθμούς ενδοκαρκινικά, με αποτέλεσμα τις μειωμένες τιμές OS για τους ασθενείς αυτούς. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με χαμηλή πυκνότητα κυττάρων FoxP3+ ή/και CD163+ εμφάνισαν (μεταξύ 2. 480 και 5. 195), σημαντικά χαμηλότερο κίνδυνο θανάτου. Μια άλλη αξιοσημείωτη παρατήρηση από τη μελέτη μας είναι η μειωμένη OS σε ασθενείς με εξαιρετικά υψηλές αναλογίες CD8+ TC / IM. Οι όγκοι από αυτούς τους ασθενείς εμφάνισαν επίσης υψηλές αναλογίες FoxP3+ και CD163+ TC / IM. Αυτό υποδηλώνει ότι η βραχύτερη OS σε αυτούς τους ασθενείς μπορεί να αποδοθεί στην επίκτητη ανοσολογική αντίσταση (AIR), που αναπτύχθηκε από όγκους που στρατολογούν καταστολείς FoxP3+ και CD163+ για να εξουδετερώσουν την ισχυρή ενδογενή αντικαρκινική ανοσία. Με βάση αυτά τα ευρήματα, προτάθηκε από τους ερευνητές αυτούς (101) ένα υποθετικό σενάριο όπου τα κύτταρα FoxP3+ και CD163+ που διεισδύουν στον όγκο αποτελούν κατασταλτικά κυκλώματα εγγενώς συνδεδεμένα με το ανοσοποιητικό σύστημα, αντί να οργανώνονται από τα καρκινικά κύτταρα.

Αυτό σημαίνει ότι οι ασθενείς με φλεγμονώδεις όγκους T-κυττάρων, που προκύπτουν από ισχυρή προϋπάρχουσα αντικαρκινική ανοσία, θα μπορούσαν να επωφεληθούν από θεραπευτικές παρεμβάσεις που στοχεύουν στην αντιστροφή των ρυθμιστικών ανοσολογικών οδών. Εναλλακτικά, μια μεγαλύτερη έκφραση Treg/CD163 θα μπορούσε να προκληθεί από την έκφραση χημειοτακτικών κυτοκινών ή χημειοκινών, προσελκύοντας αυτά τα κύτταρα στον όγκο και διαμορφώνοντας ένα ευνοϊκότερο μικροπεριβάλλον καρκίνου.

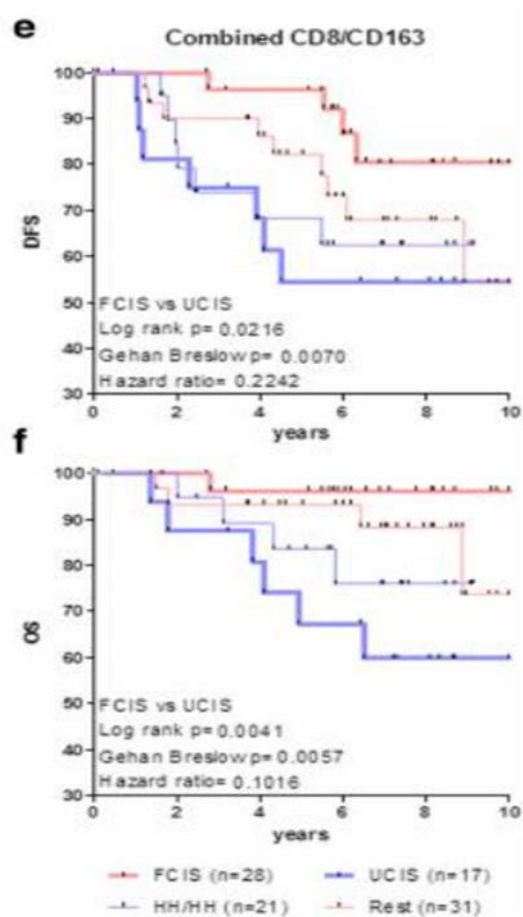
Προηγούμενες μελέτες (102,103) κατέδειξαν την αποτελεσματικότητα μιας ανοσολογικής κλίμακας, που προκύπτει από την αξιολόγηση των λεμφοκυττάρων που διηθούνται από τον όγκο (TILs) σε συνδυασμένες περιοχές όγκου (πυρήνας όγκου (TC) και διηθητικό μέτωπο (IM), στην ακριβή πρόβλεψη της υποτροπής και της επιβίωσης του

όγκου σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου πρώιμου σταδίου. Με βάση αυτή την έννοια, προσπαθήσαν επίσης άλλοι ερευνητές (104) να διερευνήσουν εάν η συνδυασμένη ανάλυση των συγκεντρώσεων των κυττάρων CD8+ και CD163+ σε TC και IM θα μπορούσε να ενισχύσει την προγνωστική ακρίβεια για υποτροπή ή επιβίωση στον καρκίνο του μαστού (BCa) (103).

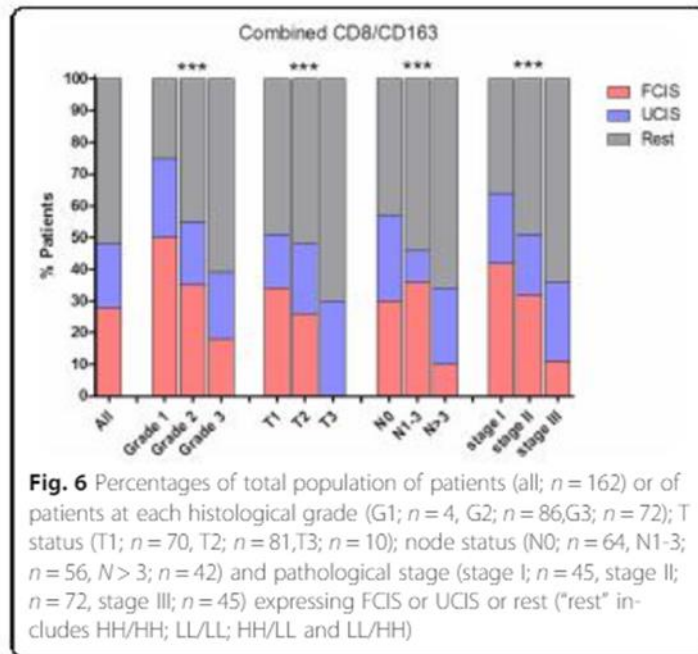
Για τον δείκτη CD8, η κοινή ανάλυση των περιοχών TC και IM με υψηλή πυκνότητα σε TC και χαμηλή πυκνότητα σε IM (CD8+ H/L) έναντι του αντίστροφου συνδυασμού (χαμηλή πυκνότητα σε TC και υψηλή πυκνότητα σε IM· CD8+ H/L) διευκόλυνε μια πιο ακριβή διάκριση τόσο για την επιβίωση χωρίς νόσο (DFS) όσο και για τη συνολική επιβίωση (OS) μεταξύ διαφορετικών ομάδων ασθενών. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με CD8+ HL εμφάνισαν ευνοϊκότερη πρόγνωση από τους ασθενείς με CD8+ H/L. Αντίθετα, οι χαμηλές πυκνότητες κυττάρων CD163+ σε TC σε συνδυασμό με υψηλές πυκνότητες στο IM (δηλ. CD163+ H/L) έναντι του αντίστροφου CD163+ HL, συσχετίστηκαν με αξιοσημείωτες τάσεις για βελτιωμένα κλινικά αποτελέσματα όσον αφορά τόσο το DFS όσο και το OS (103).

Τα τρέχοντα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η διακριτή κατανομή κάθε δείκτη ανοσολογικού κυττάρου (CD8+ ή CD163+) σε συνδυασμένες περιοχές όγκων έχει δυνητική προγνωστική αξία τόσο για την επιβίωση χωρίς νόσο (DFS) όσο και για τη συνολική επιβίωση (OS). Για περαιτέρω διερεύνηση του ζητήματος αυτού, εξετάστηκε (103) εάν μια κοινή αξιολόγηση των συγκεντρώσεων των κυττάρων CD8+ και CD163+ στον πυρήνα του όγκου (TC) και στο διηθητικό μέτωπο (IM) θα μπορούσε να ενισχύσει την προγνωστική ισχύ για κλινικά αποτελέσματα των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Αυτή η ανάλυση συνέκρινε ασθενείς με υψηλές συγκεντρώσεις κυττάρων CD8+ HL ή CD163+ H/L ή και τις δύο μορφές κυττάρων (που ορίζονται ως η ομάδα με τα ευνοϊκά συνδυασμένα ανοσολογικά χαρακτηριστικά FCIS), με ασθενείς με μειωμένες συγκεντρώσεις CD8+ LH (εξαιρουμένων των ταυτόχρονων πυκνοτήτων CD163+ H/L) ή μειωμένες συγκεντρώσεις CD163+ HL (εξαιρουμένων των ταυτόχρονων πυκνοτήτων CD8+ H/L) ή και τα δύο. Η τελευταία ομάδα αναγνωρίστηκε ότι έχει δυσμενείς συνδυασμένες ανοσολογικές υπογραφές (UCIS). Μια πιο έντονη και εξαιρετικά σημαντική διάκριση τόσο για το DFS όσο και για το OS παρατηρήθηκε μεταξύ των ασθενών με FCIS σε σύγκριση με εκείνους με UCIS. Τα εκτιμώμενα ποσοστά για την χρονική παρέλευση των 5 ετών τόσο για την DFS όσο και για την OS σε ασθενείς με FCIS ήταν 96,3%, σε αντίθεση με τα ποσοστά 54,5% για

την DFS και 67,3% για την OS σε εκείνους με UCIS (Εικόνα 4. 2. 2). Αντίθετα, σε αυτόν τον τύπο ανάλυσης, η ομοιογενής κατανομή και στις δύο περιοχές του όγκου (δηλαδή, συνδυασμένες CD8+/CD163+ υψηλές ή/και χαμηλές κυτταρικές πυκνότητες τόσο στην TC όσο και στην IM; HH/HH, LL/LL, HH/LL και LL/HH) απέτυχαν να κάνουν σημαντικές διακρίσεις για DFS ή OS. Συγκεκριμένα, οι υπογραφές LL/LL, HH/LL και LL/HH παρουσίασαν παρόμοια τάση για βελτιωμένα κλινικά αποτελέσματα, αν και κατώτερα από τα FCIS, οδηγώντας στην ομαδοποίησή τους ως «υπόλοιπα».



Εικόνα 4. 2. 2 Ποσοστά DFS και OS σε ασθενείς με FCIS και UCIS σε διάστημα 5 ετών.



Εικόνα 4. 2. 3 Ποσοστά του γενικού πληθυσμού των ασθενών αναφορικά με το παθολογικό στάδιο στο οποίο βρίσκονται.

Στην Εικόνα 4. 2. 4 απεικονίζονται τα ποσοστά επιπολασμού από τους διάφορους τύπους αναλογιών των ανοσοκυττάρων. Η ανάλυση ξεκίνησε με την ενσωμάτωση καθιερωμένων προγνωστικών βιοδεικτών στον καρκίνο του μαστού,

Table 3 Multivariate Cox proportional hazard analysis for DFS and OS of patients with non-metastatic invasive breast cancer

| | DFS | | | OS | | |
|---------------------------------|--------------|-------|-------------------------|--------------|-------|-------------------------|
| | Hazard Ratio | P | 95.0% CI for HR (range) | Hazard Ratio | P | 95.0% CI for HR (range) |
| Model before stepwise selection | | | | | | |
| Age ^a | 1.031 | 0.948 | 0.411–2.589 | 4.391 | 0.188 | 0.486–39.703 |
| T status ^b | 2.613 | 0.010 | 1.255–5.439 | 3.679 | 0.028 | 1.148–11.793 |
| N stage ^b | 1.222 | 0.512 | 0.671–2.225 | 1.125 | 0.815 | 0.420–3.010 |
| Grade ^b | 1.142 | 0.750 | 0.504–2.585 | 4.189 | 0.027 | 1.180–14.867 |
| HER-2/neu | 0.928 | 0.884 | 0.342–2.520 | 0.066 | 0.016 | 0.007–0.606 |
| Hormone Receptors | 0.277 | 0.004 | 0.277–0.669 | 0.168 | 0.007 | 0.046–0.621 |
| Signatures ^b | 2.063 | 0.041 | 1.031–4.126 | 4.850 | 0.014 | 1.374–17.122 |
| Model after stepwise selection | | | | | | |
| T status ^b | 2.999 | 0.001 | 1.602–5.615 | 3.522 | 0.005 | 1.477–8.398 |
| Hormone Receptors | 0.269 | 0.002 | 0.116–0.621 | 0.231 | 0.014 | 0.072–0.742 |
| Signatures ^b | 2.146 | 0.027 | 1.091–4.219 | 4.273 | 0.006 | 1.521–11.999 |
| TNM stage ^b | 2.180 | 0.009 | 1.219–3.898 | 3.937 | 0.006 | 1.494–10.371 |
| Signatures ^b | 1.560 | 0.138 | 0.866–2.810 | 2.085 | 0.091 | 0.889–4.890 |

^aAge under 50 and over 50 years old

^bAll categorical covariates were transformed into numeric codes as follows : T status (T1; 1, T2; 2, T3; 3), N stage (N0; 0, N1; 1, N2; 2, N3; 3), Grade (G1; 1, G2; 2, G3; 3), Signatures (FCIS; 1, Rest; 2, UCIS; 3) TNM stage (I; 1, II; 2, III)

Εικόνα 4. 2. 4 Στατιστική ανάλυση του παράγοντα κινδύνου για τα DFS και OS για ασθενείς με μη-μεταστατικό καρκίνο του μαστού. [103]

συμπεριλαμβανομένης της ηλικίας (κατηγοριοποιημένη ως κάτω ή πάνω από το όριο των 50 ετών) και παθολογικών παραμέτρων όπως η κατάσταση T (1,2,3), η κομβική κατάσταση (0-3) και ο βαθμός (1,2,3). Επιπλέον, εξετάστηκαν παράγοντες όπως η κατάσταση HER-2 (θετική ή αρνητική) και η κατάσταση ορμονικού υποδοχέα (οιστρογόνα ή / και προγεστερόνη), παράλληλα με τις ανοσολογικές υπογραφές (FCIS, ανάπαυση, UCIS, όπως υποδεικνύεται από αναλύσεις επιβίωσης Log-rank). Η κατάσταση T και η κατάσταση των ορμονικών υποδοχέων παρέμειναν σημαντικά συσχετισμένες τόσο με την επιβίωση χωρίς νόσο (DFS) όσο και με τη συνολική επιβίωση (OS), ενώ ο βαθμός και η κατάσταση HER-2 συσχετίστηκαν αποκλειστικά με την συνολική επιβίωση των ασθενών (OS). Συγκεκριμένα, η κατάσταση HER-2 δεν παρουσίασε συσχέτιση με την DFS, πιθανώς λόγω του χρονικού πλαισίου των διαγνώσεων των ασθενών (μεταξύ 2000 και μέσων 2006), όταν το φάρμακο τραστουζουμάμπη δεν ήταν ακόμη το πρότυπο φροντίδας στο επικουρικό περιβάλλον για καρκίνο του μαστού πρώιμου σταδίου που υπερεκφράζει το HER-2. Παρά το περιορισμένο

μέγεθος του δείγματος, οι ανοσολογικές υπογραφές συσχετίστηκαν σημαντικά τόσο με το DFS όσο και με το OS και τα δεδομένα που συλλέχθηκαν συνοψίζονται στην Εικόνα 4. 2. 4 (103).

Αποδεικνύεται λοιπόν, ότι η κοινή αξιολόγηση της πυκνότητας των CD8+ ή CD163+ ανοσοκυττάρων τόσο στο κέντρο όγκων (TC) όσο και στο διηθημένο χείλος (IM) παρέχει βελτιωμένη διαστρωμάτωση και ενισχύει την προγνωστική αξία της σταδιοποίησης TNM στον καρκίνο του μαστού (BCa). Τα ευρήματά αυτά υποδηλώνουν, επίσης, ότι η συνδυασμένη αξιολόγηση των πυκνοτήτων κυττάρων CD8+ και CD163+ σε TC και IM θα μπορούσε να ενισχύσει την ακρίβεια της πρόβλεψης της επιβίωσης χωρίς νόσο (DFS) και της συνολικής επιβίωσης (OS).

Εστιάζοντας αρχικά στον πιο διαδεδομένο πληθυσμό λεμφοκυττάρων που διηθούν τους όγκους (TIL ή Tumor Infiltrating Lymphocytes) τα κύτταρα CD8+, (δηλαδή, τα Tc= Cytotoxic Lymphocytes), παρατηρείται η βέλτιστη DFS και OS όταν οι υψηλές πυκνότητες CD8+ στο TC συνδυάστηκαν με χαμηλές συγκεντρώσεις των κυττάρων αυτών στο IM (H/L). Αντίθετα, ο αντίστροφος συνδυασμός (H/L) συσχετίστηκε με σημαντικά υψηλότερα ποσοστά υποτροπής και μειωμένη OS. Αυτή η παρατήρηση είναι ενδιαφέρουσα, καθώς η πιο ισχυρή ευνοϊκή τιμή βαθμολόγησης στον καρκίνο του παχέος εντέρου συνδυάζει υψηλές πυκνότητες CD8+ τόσο σε TC όσο και σε IM. Επιπλέον, έχει διερευνηθεί η κλινική σημασία του εντοπισμού των μακροφάγων στον πρωτοπαθή καρκίνο του μαστού, ιδιαίτερα χρησιμοποιώντας το CD163 ως δείκτη που εκφράζεται κυρίως από αντιφλεγμονώδη (M2) μακροφάγα. Έχει βρεθεί υψηλότερο αριθμό κυττάρων CD163+ από τα κύτταρα CD8+ και στις δύο περιοχές όγκου, σύμφωνα με την αυξημένη εισροή μακροφάγων που σχετίζονται με όγκους (TAMs) σε όγκους του μαστού. Παρόμοια με πρόσφατες αναφορές, τα κύτταρα CD163+ στην TC συσχετίστηκαν θετικά με φτωχά κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά, τονίζοντας τη σημασία της ανάλυσης των τοπικών πυκνοτήτων αυτών των κυττάρων ως προγνωστικού παράγοντα. Ωστόσο, μεμονωμένες αναλύσεις των πυκνοτήτων κυττάρων CD163+ σε μεμονωμένες περιοχές δεν συσχετίστηκαν έντονα με το DFS ή το OS. Παρ' όλα αυτά, οι συνδυασμένες αναλύσεις έχουν αποκαλύψει ένα ευνοϊκό κλινικό αποτέλεσμα σε ασθενείς με χαμηλή πυκνότητα κυττάρων CD163+ σε TC σε συνδυασμό με υψηλές πυκνότητες στο IM. Είναι ενδιαφέρον ότι η φτωχότερη προγνωστική επίδραση παρατηρήθηκε μεταξύ ασθενών με όγκους χωρίς διήθηση από κύτταρα CD163+, ειδικά με υψηλή πυκνότητα TC έναντι χαμηλής πυκνότητας

IM.

Οι ακριβείς λόγοι για τους οποίους διαφορετικοί τύποι ανοσοκυττάρων κατανέμονται διαφορετικά μέσα στους όγκους είναι ακόμα ασαφείς. Ωστόσο, εικάζεται ότι αυτή η διαμερισματοποίηση επηρεάζεται από φλεγμονώδη μόρια που εκκρίνονται από όγκους και χημειοκυτοκίνες. Αυτή η διαμερισματοποίηση μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία αυτών των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως έχει αποδειχθεί για τα ενδοκαρκινικά δενδριτικά κύτταρα. Η θέση των λεμφοκυττάρων που διηθούν τον όγκο (TILs) είναι δυναμική και μπορεί να έχει προ- ή αντικαρκινικά αποτελέσματα, ανάλογα με το στάδιο της νόσου. Αυτό σχετίζεται με κλινικά αποτελέσματα σε διάφορες κακοήθειες, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού (BCa). Έχουμε αναφέρει ότι κύτταρα με αντίθετες λειτουργίες, όπως τα κύτταρα CD8+ και CD163+, σε διαφορετικές περιοχές όγκων και σε διαφορετικές πυκνότητες, έχουν σημαντικούς προγνωστικούς ρόλους. Ωστόσο, είναι άγνωστο αν η θέση τους οφείλεται σε μεταναστευτικές διεργασίες ή ανατομικά εμπόδια (104).

Η μελέτη διαπίστωσε ότι οι ασθενείς με ευνοϊκή διαφορική πυκνότητα ανοσοκυττάρων στους όγκους του μαστού τους είχαν βελτιωμένα κλινικά αποτελέσματα, ακόμη και εκείνες με κατά τα άλλα φτωχές κλινικοπαθολογικές μεταβλητές. Αυτό υποδηλώνει ότι η προσαρμοστική ανοσολογική απόκριση μπορεί ακόμα να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην καθυστέρηση της εξέλιξης του όγκου ακόμη και σε προχωρημένα στάδια της νόσου. Οι ερευνητές προτείνουν ότι αυτή η ευνοϊκή ανοσολογική κατάσταση μπορεί να επιβραδύνει τους ρυθμούς ανάπτυξης του όγκου και να αυξήσει τη συνολική επιβίωση. Προτείνουν επίσης ότι το FCIS μπορεί να συμβάλει στην τροποποίηση του στρώματος του όγκου και των καρκινικών κυττάρων προκειμένου να επηρεάσει αρνητικά την αγγειογένεση και την εξαγγείωση και με αυτόν τον τρόπο να επηρεάσει την εξέλιξη και την υποκείμενη μετάσταση του όγκου. Ωστόσο, η ευεργετική επίδραση της ενδοκαρκινικής αντικαρκινικής ανοσίας μπορεί να μην διατηρηθεί επ' αόριστόν, καθώς τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να εξελίξουν μηχανισμούς για να αποφύγουν την ανοσοεπιτήρηση. Οι ερευνητές προτείνουν ότι οι ενδοκαρκινικές ανοσολογικές διηθήσεις μπορεί όχι μόνο να αντικατοπτρίζουν την προϋπάρχουσα ανοσία αλλά και την ανοσολογική απόκριση στη θεραπεία. Ως εκ τούτου, θα είναι σημαντικό να αξιολογηθεί η αρχική ανοσολογική κατάσταση των ασθενών ανεξάρτητα από τη θεραπεία για τη λήψη τεκμηριωμένων κλινικών αποφάσεων (105).

Η σύγχρονη μελέτη δείχνει ότι η προγνωστική αξία που σχετίζεται με την ενδοκαρκινική ανοσολογική απόκριση του ξενιστή σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού (BCa) μπορεί να αντικατοπτρίζει την ποσότητα και την ποιότητα των κυκλοφορούντων κυτταροτοξικών μορίων που αναγνωρίζουν και λύουν τα καρκινικά κύτταρα στο περιφερικό αίμα, στους λεμφικούς ιστούς ή σε άλλες ανατομικές θέσεις. Ωστόσο, επί του παρόντος είναι άγνωστο εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του ανοσοποιητικού φαινοτύπου των όγκων και της ανταπόκρισης των περιφερικών ανοσοκυττάρων στην ανοσολογική διέγερση. Οι ερευνητές αναφέρουν μια μελέτη των Mortarini et al. που βρήκε μια συσχέτιση μεταξύ της συχνότητας των ρυθμιστικών T κυττάρων (Tregs) στο σημείο του όγκου και των αυξημένων κυκλοφορούντων επιπέδων του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα βήτα (TGFβ) και της μειωμένης ανταπόκρισης στη διέγερση της IL-2 από περιφερικά T κύτταρα (106). Οι ερευνητές επεσήμαναν επίσης τη δική τους μελέτη που δείχνει μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων TGFβ στον ορό και των ανοσολογικών αποκρίσεων των T κυττάρων σε ένα υβριδικό πεπτίδιο HER-2 / neu που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό ασθενών με καρκίνο του προστάτη. Με βάση αυτά τα ευρήματα, προτείνεται ότι μπορεί να υπάρχει αλληλεξάρτηση μεταξύ της κατάστασης ενεργοποίησης των όγκων και της συμπεριφοράς των κυκλοφορούντων κυττάρων και ότι αυτό μπορεί να οδηγήσει στη συστηματική αλλοίωση της ανοσολογικής λειτουργίας που σχετίζεται με τον καρκίνο. Ο προσδιορισμός μιας συσχέτισης μεταξύ της κατάστασης ενεργοποίησης του όγκου και της λειτουργίας των κυκλοφορούντων ανοσοκυττάρων θα επέτρεπε τη λειτουργική αξιολόγηση των όγκων και την πρόβλεψη της πρόγνωσης με τον έλεγχο των κυκλοφορούντων κυττάρων. Τέτοιες αναλύσεις μπορεί να είναι χρήσιμες για την αξιολόγηση του ρόλου των προσαρμοστικών ανοσολογικών αποκρίσεων στο σημείο του όγκου και στην περιφέρεια ως συνέχεια παράλληλα με την εξέλιξη του όγκου.

Αυτό υπογραμμίζει την ανάγκη να διερευνηθεί εάν υπάρχει αλληλεξάρτηση μεταξύ της κατάστασης ενεργοποίησης των όγκων και της συμπεριφοράς των κυκλοφορούντων κυττάρων και να συγκριθεί εάν αυτό οδηγεί στη συστηματική αλλοίωση της ανοσολογικής λειτουργίας που σχετίζεται με την κατάσταση που φέρει καρκίνο. Ο εντοπισμός μιας τέτοιας συσχέτισης θα μπορούσε να επιτρέψει μια λειτουργική αξιολόγηση των όγκων, η οποία με τη σειρά της θα μπορούσε να προβλέψει την πρόγνωση ελέγχοντας τα κυκλοφορούντα κύτταρα. Αυτές οι αναλύσεις θα μπορούσαν να είναι πολύτιμες για την αξιολόγηση του ρόλου των προσαρμοστικών ανοσολογικών

αποκρίσεων στο σημείο του όγκου και στην περιφέρεια ως συνέχεια παράλληλα με την εξέλιξη του όγκου. Η μελέτη που αναφέρθηκε προηγουμένως δείχνει επίσης ότι η συχνότητα των ασθενών που εμφανίζουν τα FCIS μειώθηκε μεταξύ ομάδων με φτωχές κλινικοπαθολογικές μεταβλητές, υποδηλώνοντας μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ ευνοϊκής πυκνότητας κυττάρων CD8+ και CD163+ και σταδίου TNM. Είναι εύλογο να προταθεί ότι η εξέλιξη της νόσου συνδέεται με επιδείνωση αυτής της αντικαρκινικής ανοσολογικής απόκρισης, οδηγώντας σε σταδιακή αύξηση της ανοσολογικής διαφυγής. Ακόμη και σε μεταγενέστερα στάδια, η ισχύς της ανοσολογικής απόκρισης θα μπορούσε να είναι μια κρίσιμη παράμετρος για τον αποτελεσματικό έλεγχο της εξέλιξης του όγκου.

Επιπροσθέτως, οι διακριτές πυκνότητες και η χωρική κατανομή των κυττάρων CD8+ και CD163+, όπως περιγράφονται από το FCIS, μπορούν να εντοπίσουν ασθενείς με αυξημένη επιβίωση χωρίς νόσο (DFS) ή εκτεταμένη συνολική επιβίωση (OS), παρά το γεγονός ότι βρίσκονται σε όψιμα στάδια όγκου σύμφωνα με την ταξινόμηση TNM. Αυτό σημαίνει ότι το FCIS, όπως ορίζεται, αντιπροσωπεύει έναν νέο υποψήφιο δείκτη πέρα από τη σταδιοποίηση TNM για την ενίσχυση της πρόβλεψης των κλινικών αποτελεσμάτων.

Συμπερασματικά, οι διαφορετικές πυκνότητες του ίδιου υποπληθυσμού ανοσοκυττάρων που διεισδύουν στον πρωτοπαθή όγκο στον πυρήνα του όγκου (TC) και που διηθούν το χείλος του όγκου (IM) μπορεί να έχουν αντίθετες προγνωστικές επιπτώσεις στον καρκίνο του μαστού (BCa). Το FCIS που ορίζεται σε αυτή τη μελέτη προβλέπει ευνοϊκά κλινικά αποτελέσματα (τόσο DFS όσο και OS) σε ετερογενείς ομάδες ασθενών με νόσο προχωρημένου σταδίου, μεγάλους όγκους, διηθήσεις σε λεμφαδένες και όγκους υψηλού ιστολογικού βαθμού. Συμπληρώνει τις καθιερωμένες ισχυρές πρότυπες προγνωστικές παραμέτρους στο BCa. Έτσι, συσχετίζοντας ταξινομήσεις με βάση το TNM με συνδυασμένες ενδοκαρκινικές ανοσολογικές υπογραφές, όπως αποδεικνύεται με το FCIS, παρέχονται προκαταρκτικά στοιχεία για τον καθορισμό νέων υποομάδων ασθενών με ξεχωριστή πρόγνωση.

Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της έρευνας δείχνουν ότι η κατανομή των διαφορετικών τύπων ανοσοποιητικών κυττάρων εντός των όγκων δεν είναι τυχαία. Τα κύτταρα με αντίθετες λειτουργίες, όπως τα CD8+ και CD163+ κύτταρα, τείνουν να συγκεντρώνονται σε διαφορετικές περιοχές του όγκου και σε διαφορετικές πυκνότητες. Αυτή η κατανομή μπορεί να επηρεάσει τη

λειτουργία των κυττάρων αυτών, καθώς και την πορεία της νόσου.

Η έρευνα έδειξε επίσης ότι η κατανομή των ανοσοποιητικών κυττάρων εντός των όγκων είναι συσχετισμένη με τα κλινικά αποτελέσματα της νόσου. Οι ασθενείς με ευνοϊκή ανοσολογική υπογραφή έχουν βελτιωμένη επιβίωση, ακόμη και αν έχουν άλλες δυσμενείς κλινοπαθολογικές παραμέτρους. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Η περαιτέρω διερεύνηση της ανοσολογικής υπογραφής του όγκου μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων που θα στοχεύουν στην ενίσχυση της ανοσολογικής απάντησης και τη βελτίωση της επιβίωσης των ασθενών.

Η έρευνα που εξετάζει τη σχέση μεταξύ της ανοσολογικής υπογραφής του όγκου και της ανοσολογικής λειτουργίας των κυκλοφορούντων κυττάρων βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο. Ωστόσο, τα διαθέσιμα δεδομένα υποδηλώνουν ότι υπάρχει μια συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών παραμέτρων. Η περαιτέρω διερεύνηση αυτής της συσχέτισης μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων μεθόδων για την αξιολόγηση της ανοσολογικής απάντησης των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού.

Συμπερασματικά, η παρούσα εργασία παρέχει νέα στοιχεία για την κατανομή των κυττάρων του ανοσοποιητικού εντός των όγκων, τη σχέση μεταξύ της κατανομής αυτής και των κλινικών αποτελεσμάτων, καθώς και τη δυνατότητα χρήσης της ανοσολογικής υπογραφής του όγκου για την πρόγνωση της νόσου. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Η περαιτέρω διερεύνηση της ανοσολογικής κατάστασης του όγκου μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων που θα στοχεύουν στην ενίσχυση της ανοσολογικής απάντησης και τη βελτίωση της επιβίωσης των ασθενών.

Βιβλιογραφία

1. Ben-Dror J, Shalamov M, Sonnenblick A. The History of Early Breast Cancer Treatment. *Genes* 2022, Vol 13, Page 960 [Internet]. 2022 May 27 [cited 2023 Mar 16];13 (6): 960. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/13/6/960/htm>
2. Smolarz B, Zadrożna Nowak A, Romanowicz H. Breast Cancer—Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature). *Cancers* 2022, Vol 14, Page 2569 [Internet]. 2022 May 23 [cited 2023 Mar 16];14 (10): 2569. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/10/2569/htm>
3. Zuo Q, Park NH, Lee JK, Erdogan ZM. Liver Metastatic Breast Cancer: Epidemiology, Dietary Interventions, and Related Metabolism. *Nutrients* 2022, Vol 14, Page 2376 [Internet]. 2022 Jun 8 [cited 2023 Mar 16];14 (12): 2376. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/12/2376/htm>
4. Park M, Kim D, Ko S, Kim A, Mo K, Yoon H. Breast Cancer Metastasis: Mechanisms and Therapeutic Implications. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol23, Page 6806 [Internet]. 2022 Jun 18 [cited 2023 Mar 16];23 (12): 6806. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/12/6806/htm>
5. Kashyap D, Pal D, Sharma R, Garg VK, Goel N, Koundal D, et al. Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. *Biomed Res Int.* 2022;2022.
6. Arneth B. Tumor Microenvironment. *Medicina (B Aires)* [Internet]. 2019 Dec 30 [cited 2023 Mar 17];56 (1): 15. Available from: <https://www.mdpi.com/1648-9144/56/1/15>
7. Tiwari A, Trivedi R, Lin SY. Tumor microenvironment: barrier or opportunity towards effective cancer therapy. *J Biomed Sci* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2023 Mar 17];29 (1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36253762/>
8. Hekmatnia Y, Movahednia N, Hajhamidiasl N, Hekmat E, Hekmat A, Khademi S. A review of the neurological complications of breast cancer. *J Family Med Prim Care* [Internet]. 2022 [cited 2023 Mar 18];11 (8): 4205. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36352946/>
9. Hong R, Xu B. Breast cancer: an up-to-date review and future perspectives. *Cancer Commun (Lond)* [Internet]. 2022 Oct 1 [cited 2023 Mar 18];42 (10): 913–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36074908/>
10. Kim SY, Cho N. Breast Magnetic Resonance Imaging for Patients With Newly Diagnosed Breast Cancer: A Review. *J Breast Cancer* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2023 Mar 18];25 (4): 263–77. Available from: <https://doi.org/10.4048/jbc.2022.25.e35>
11. Fisusi FA, Akala EO. Drug Combinations in Breast Cancer Therapy. *Pharm Nanotechnol.* 2019;7 (1): 3–23.

12. Watkins EJ. Overview of breast cancer. JAAPA. 2019 Oct;32 (10): 13–7.
13. Khan YS, Sajjad H. Anatomy, Thorax, Mammary Gland. StatPearls [Internet]. 2023 [cited 2023 Mar 27]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31613446/>
14. Pandya S, Moore RG. Breast development and anatomy. Clin Obstet Gynecol [Inter-net]. 2011 Mar [cited 2023 Apr 2];54 (1): 91–5. Available from: <https://pub-med.ncbi.nlm.nih.gov/21278507/>
15. Rivard AB, Galarza-Paez L, Peterson DC. Anatomy, Thorax, Breast. StatPearls [Inter-net]. 2022 Jul 25 [cited 2023 Mar 25]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519575/>
16. ΠΑΠΑΜΙΧΑΛΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΡΒΑΡΑ ΓΕΝΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ | ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ [Internet]. [cited 2023 May 30]. Available from: <https://www.papamihalopou-lou.com/breast-diseases>
17. Macias H, Hinck L. Mammary gland development. Wiley Interdiscip Rev Dev Biol [Internet]. 2012 Jul [cited 2023 Mar 27];1 (4): 533–57. Available from: <https://pub-med.ncbi.nlm.nih.gov/22844349/>
18. Javed A, Lteif A. Development of the human breast. Semin Plast Surg [Internet]. 2013 [cited 2023 Mar 27];27 (1): 5–12. Available from: <https://pub-med.ncbi.nlm.nih.gov/24872732/>
19. Guray M, Sahin AA. Benign Breast Diseases: Classification, Diagnosis, and Manage-ment. Oncologist [Internet]. 2006 May 1 [cited 2023 Apr 25];11 (5): 435–49. Availa-ble from: <https://academic.oup.com/oncolo/article/11/5/435/6397103>
20. Vandeven HA, Pensler JM. Gynecomastia. StatPearls [Internet]. 2022 Aug 8 [cited 2023 Apr 25]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430812/>
21. Ajmal M, Khan M, Fossen K Van. Breast Fibroadenoma. Radiopaedia. org [Internet]. 2022 Oct 6 [cited 2023 Apr 25]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535345/>
22. Kowalski A, Okoye E. Breast Cyst. 2022 Sep 5 [cited 2023 Apr 25]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562196/>
23. Hicken NF, Taylor R V. Acute Mastitis. The American Journal of Surgery [Internet]. 2023 Jan 3 [cited 2023 Apr 26];48 (3): 553–60. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557782/>

24. Limaiem F, Kashyap S. Phyllodes Tumor Of The Breast. StatPearls [Internet]. 2023Jan 1 [cited 2023 Apr 26]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541138/>
25. Kalisher L, Rickert RR. Intraductal Papilloma. Breast Diseases of the Breast [Inter-net]. 2022 Sep 26 [cited 2023 Apr 27];6 (3): 7–12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519539/>
26. Łukasiewicz S, Czezelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast Can-cer—Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies—An Updated Review. Cancers (Basel) [Internet]. 2021 Sep 1[cited 2023 Jun 11];13 (17). Available from: </pmc/articles/PMC8428369/>
27. Watkins EJ. Overview of breast cancer. J Am Acad Physician Assist [Internet]. 2019Oct 1 [cited 2023 Jun 11];32 (10): 13–7. Available from: https://journals.lww.com/jaapa/Fulltext/2019/10000/Overview_of_breast_cancer.3.aspx
28. Breast Cancer Molecular Subtypes [Internet]. [cited 2023 Jun 17]. Available from: <https://www.cancercenter.com/cancer-types/breast-cancer/types/breast-cancer-molecular-types>
29. Zubair M, Wang S, Ali N. Advanced Approaches to Breast Cancer Classification andDiagnosis. Front Pharmacol [Internet]. 2020 Feb 26 [cited 2023 Jun 18];11. Availa- ble from: </pmc/articles/PMC7952319/>
30. https://www.rnceus.com/Breast_in_situ/intro22.html
31. Ortega, M. A. , Fraile-Martinez, O. , García-Montero, C. , Borja-Vergel, S. , Torres-Car-ranza, D. , Pekarek, L. , Arribas, C. B. , De León-Luis, J. A. , Sánchez-Rojo, C. , Alvarez- Mon, M. A. , García-Honduvilla, N. , Buján, J. , Coca, S. , Alvarez-Mon, M. , Saez, M. A. ,& Guijarro, L. G. (2022). Patients with invasive lobular carcinoma show a significantincrease in irs-4 expression compared to infiltrative ductal carcinoma—A histo- pathological study. *Medicina*, 58 (6), 722. <https://doi.org/10.3390/medicina58060722>
32. Shen, Dejun; Ping, Zheng; Almeida, JonasS; Siegal, GeneP; Schnitt, StuartJ (2014). Mining genome sequencing data to identify the genomic features linked to breastcancer histopathology. *Journal of Pathology Informatics*, 5 (1), 3–. doi: 10.4103/2153-3539.126147
33. Beňačka R, Szabóová D, Guľašová Z, Hertelyová Z, Radoňák J. Classic and New Markers in Diagnostics and Classification of Breast Cancer. Cancers (Basel) [Inter-net]. 2022 Nov 1 [cited 2023 Jun 18];14 (21). Available from: </pmc/arti- cles/PMC9654192/>
34. Smolarz B, Zadrożna Nowak A, Romanowicz H. Breast Cancer—Epidemiology, Clas-sification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature). Cancers (Basel) [In- ternet]. 2022 May 1 [cited 2023 Jun 18];14 (10). Available from: </pmc/arti- cles/PMC9139759/>

35. Teichgraeber DC, Guirguis MS, Whitman GJ. Breast cancer staging: Updates in the AJCC cancer staging manual, 8th edition, and current challenges for radiologists, from the AJR special series on cancer staging. *American Journal of Roentgenology* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2023 Jun 20];217 (2): 278–90. Available from: <https://www.ajronline.org/doi/10.2214/AJR.20.25223>
36. TNM and Staging of Breast Cancer Simplified | Epomedicine [Internet]. [cited 2023 Jun 26]. Available from: <https://epomedicine.com/medical-students/tnm-staging-breast-cancer-simplified/>
37. Tirada N, Aujero M, Khorjekar G, Richards S, Chopra J, Dromi S, et al. Breast cancer tissue markers, genomic profiling, and other prognostic factors: A primer for radiologists. *Radiographics* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2023 Jun 20];38 (7): 1902–20. Available from: <https://pubs.rsna.org/doi/10.1148/rg.2018180047>
38. Galon J, Bruni D. Tumor Immunology and Tumor Evolution: Intertwined Histories. *Immunity* [Internet]. 2020 Jan 14 [cited 2023 Jun 30];52 (1): 55–81. Available from: <http://www.cell.com/article/S1074761319305370/fulltext>
39. Zacharski LR, Sukhatme VP. Coley's toxin revisited: immunotherapy or plasminogen activator therapy of cancer? *J Thromb Haemost* [Internet]. 2005 Mar [cited 2023 Jul 3];3 (3): 424–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15748226/>
40. Karlsson M, Lindberg K, Karlén P, Öst Å, Thörn M, Winqvist O, et al. Evidence for Immunosurveillance in Intestinal Premalignant Lesions. *Scand J Immunol* [Internet]. 2010 May 1 [cited 2023 Jul 1];71 (5): 362–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3083.2010.02377.x>
41. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet* [Internet]. 2001 Jun 2 [cited 2023 Jul 7];357 (9270): 1777–89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11403834/>
42. Voisin MB, Nourshargh S. Neutrophil trafficking to lymphoid tissues: physiological and pathological implications. *J Pathol* [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2023 Jul 8];247 (5): 662–71. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/path.5227>
43. Williams M, Mildner A, Yona S. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity* [Internet]. 2018 Oct 16 [cited 2023 Jul 8];49 (4): 595–613. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30332628/>
44. Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity* [Internet]. 2016 Mar 15 [cited 2023 Jul 8];44 (3): 450–62. Available from: <http://www.cell.com/article/S107476131630053X/fulltext>
45. Franks SE, Wolfson B, Hodge JW. Natural Born Killers: NK Cells in Cancer Therapy. *Cancers* 2020, Vol 12, Page 2131 [Internet]. 2020 Jul 31 [cited 2023 Jul 8];12 (8): 2131. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/8/2131/htm>

46. Zhou J, Lv J, Carlson C, Liu H, Wang H, Xu T, et al. Trained immunity contributes to the prevention of Mycobacterium tuberculosis infection, a novel role of autophagy. <https://doi.org/10.1080/2222175120211899771> [Internet]. 2021 [cited 2023 Jul 8];10 (1): 578–88. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/22221751.2021.1899771>
47. Wik JA, Skålhegg BS. T Cell Metabolism in Infection. *Front Immunol*. 2022 Mar i. 14;13: 840610.
48. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* [Internet]. 2000 [cited 2023 Jul 8];117 (4): 1162–72. Available from: <https://pub-med.ncbi.nlm.nih.gov/10767254/>
49. Torang, A. , Gupta, P. , & Klinke, D. J. (2019). An elastic-net logistic regression approach to generate classifiers and gene signatures for types of immune cells and Thelper cell subsets. *BMC Bioinformatics*, 20 (1), 433. <https://doi.org/10.1186/s12859-019-2994-z>
50. Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Mastoraki A, Garmpis N, et al. Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. *Anti-cancer Res* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2023 Jul 9];40 (11): 6009–15. Available from: <https://ar.iiarjournals.org/content/40/11/6009>
51. Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Mastoraki A, Garmpis N, et al. Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. *Anti-cancer Res* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2023 Jul 9];40 (11): 6009–15. Available from: <https://ar.iiarjournals.org/content/40/11/6009>
52. Pitt JM, Marabelle A, Eggermont A, Soria JC, Kroemer G, Zitvogel L. Targeting the tumor microenvironment: removing obstruction to anticancer immune responses and immunotherapy. *Annals of Oncology* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2023 Jun 30];27 (8): 1482–92. Available from: <http://www.annalsofncology.org/article/S0923753419347209/fulltext>
53. Haider, T. , Kanwar, I. L. , Pandey, V. , Jain, P. , & Soni, V. (2022). Tumor microenvironment-mediated targeted drug delivery to breast cancer cells. Στο *Targeted Nano-medicine for Breast Cancer Therapy* (σσ. 305–334). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824476-0.00015-2>
54. Anderson, N. M. , & Simon, M. C. (2020). The tumor microenvironment. *Current Biology*, 30 (16), R921–R925. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.081>
55. <https://facellitate.com/the-importance-of-the-tumor-microenvironment-in-cancer-research/>
- i. Anderson, N. M. , & Simon, M. C. (2020). The tumor microenvironment. *Current Biology*, 30 (16), R921–R925. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.081>

56. Gonzalez, H. , Hagerling, C. , & Werb, Z. (2018). Roles of the immune system in cancer: From tumor initiation to metastatic progression. *Genes & Development*, 32 (19–20), 1267–1284. <https://doi.org/10.1101/gad.314617.118>
57. Reticcker-Flynn, N. E. , & Engleman, E. G. (2020). Cancer systems immunology. *eLife*,9, e53839. <https://doi.org/10.7554/eLife.53839>
58. 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*, 39 (1), 89. <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01586-y>
59. Wang, D. -P. , Shen, J. , Qin, C. -Y. , Li, Y. -M. , Gao, L. -J. , Zheng, J. , Feng, Y. -L. , Yan, Z. , Zhou, X. , & Cao, J. -M. (2022). Platinum nanoparticles promote breast cancer cell metastasis by disrupting endothelial barrier and inducing intravasation and extravasation. *Nano Research*, 15 (8), 7366–7377. <https://doi.org/10.1007/s12274-022-4404-5>
60. Chen, B. , Sang, Y. , Song, X. , Zhang, D. , Wang, L. , Zhao, W. , Liang, Y. , Zhang, N. , & Yang, Q. (2021). Exosomal miR-500a-5p derived from cancer-associated fibroblasts promotes breast cancer cell proliferation and metastasis through targeting USP28. *Theranostics*, 11 (8), 3932–3947. <https://doi.org/10.7150/thno.53412>
61. Kothari, C. , Diorio, C. , & Durocher, F. (2020). The importance of breast adipose tissue in breast cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (16), 5760. <https://doi.org/10.3390/ijms21165760>
62. Isfoss, B. L. , Holmqvist, B. , Sand, E. , Forsell, J. , Jernström, H. , & Olsson, H. (2018). Stellate cells and mesenchymal stem cells in benign mammary stroma are associated with risk factors for breast cancer – an observational study. *BMC Cancer*, 18 (1), 230. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4151-x>
63. Miller, K. , Wang, M. , Gralow, J. , Dickler, M. , Cobleigh, M. , Perez, E. A. , Shenkier, T. , Cella, D. , & Davidson, N. E. (2007). Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 357 (26), 2666–2676. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa072113>
64. Place, A. E. , Jin Huh, S. , & Polyak, K. (2011). The microenvironment in breast cancer progression: Biology and implications for treatment. *Breast Cancer Research*, 13 (6),227. <https://doi.org/10.1186/bcr2912>
65. Madhusudan, S. , Foster, M. , Muthuramalingam, S. R. , Braybrooke, J. P. , Wilner, S. , Kaur, K. , Han, C. , Hoare, S. , Balkwill, F. , Talbot, D. C. , Ganesan, T. S. , & Harris, A. L. (2004). A phase ii study of etanercept (Enbrel), a tumor necrosis factor α inhibitor in patients with metastatic breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 10 (19), 6528– 6534. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0730>
66. DeNardo, D. G. , Brennan, D. J. , Rexhepaj, E. , Ruffell, B. , Shiao, S. L. , Madden, S. F. , Gallagher,

- W. M. , Wadhvani, N. , Keil, S. D. , Junaid, S. A. , Rugo, H. S. , Hwang, E. S. ,
- i. Jirström, K. , West, B. L. , & Coussens, L. M. (2011). Leukocyte complexity predicts
 - ii. breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy. *Cancer Discovery*, 1 (1), 54–67. <https://doi.org/10.1158/2159-8274.CD-10-0028>
67. Delaloge, S. , Wolp-Diniz, R. , Byrski, T. , Blum, J. L. , Gonçalves, A. , Campone, M. , Lardelli, P. , Kahatt, C. , Nieto, A. , Cullell-Young, M. , & Lubinski, J. (2014). Activity of trabectedin in germline BRCA1/2-mutated metastatic breast cancer: Results of an international first-in-class phase II study. *Annals of Oncology*, 25 (6), 1152–1158. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu134>
68. Rolny, C. , Mazzone, M. , Tugues, S. , Laoui, D. , Johansson, I. , Coulon, C. , Squadrito, M. L. , Segura, I. , Li, X. , Knevels, E. , Costa, S. , Vinckier, S. , Dresselaer, T. , Åkerud, P. , De Mol, M. , Salomäki, H. , Phillipson, M. , Wyns, S. , Larsson, E. , ... Carmeliet, P. (2011). Hrg inhibits tumor growth and metastasis by inducing macrophage polarization and vessel normalization through downregulation of plgf. *Cancer Cell*, 19 (1), 31–44. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.11.009>
69. Hannesdóttir, L. , Tymoszyk, P. , Parajuli, N. , Wasmer, M. , Philipp, S. , Daschil, N. , Datta, S. , Koller, J. , Tripp, C. H. , Stoitzner, P. , Müller-Holzner, E. , Wieggers, G. J. , Sexl, V. , Villunger, A. , & Doppler, W. (2013). Lapatinib and doxorubicin enhance the Stat1-dependent antitumor immune response. *European Journal of Immunology*, 43 (10), 2718–2729. <https://doi.org/10.1002/eji.201242505>
70. Solinas, G. , Germano, G. , Mantovani, A. , & Allavena, P. (2009). Tumor-associated macrophages (Tam) as major players of the cancer-related inflammation. *Journal of Leukocyte Biology*, 86 (5), 1065–1073. <https://doi.org/10.1189/jlb.0609385>
71. Soysal, S. D. , Tzankov, A. , & Muenst, S. E. (2015). Role of the tumor microenvironment in breast cancer. *Pathobiology*, 82 (3–4), 142–152. <https://doi.org/10.1159/000430499>
72. Dubrovskaya, A. , Cojoc, M. , Peitzsch, Trautmann, F. , Polishchuk, & Telegeev. (2013). Emerging targets in cancer management: Role of the CXCL12/CXCR4 axis. *OncoTargets and Therapy*, 1347. <https://doi.org/10.2147/OTT.S36109>
73. Smith, M. C. P. , Luker, K. E. , Garbow, J. R. , Prior, J. L. , Jackson, E. , Piwnicka-Worms, D. , & Luker, G. D. (2004). Cxcr4 regulates growth of both primary and metastatic breast cancer. *Cancer Research*, 64 (23), 8604–8612. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1844>
74. Ramsey, D. M. , & McAlpine, S. R. (2013). Halting metastasis through CXCR4 inhibition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23 (1), 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.10.138>
75. Brahmer, J. R. , Drake, C. G. , Wollner, I. , Powderly, J. D. , Picus, J. , Sharfman, W. H. , Stankevich, E. , Pons, A. , Salay, T. M. , McMiller, T. L. , Gilson, M. M. , Wang, C. , Selby, M. , Taube, J. M. , Anders, R. , Chen, L. , Korman, A. J. , Pardoll, D. M. , Lowy, I. , & Topalian, S. L. (2010). Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid

- tumors: Safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *Journal of Clinical Oncology*, 28 (19), 3167–3175. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.26.7609>
76. Gibson, J. (2015). Anti-PD-L1 for metastatic triple-negative breast cancer. *The Lancet Oncology*, 16 (6), e264. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70208-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70208-1)
77. Langley, R. R. , & Fidler, I. J. (2011). The seed and soil hypothesis revisited—The role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs. *International Journal of Cancer*, 128 (11), 2527–2535. <https://doi.org/10.1002/ijc.26031>
78. Sihto, H. , Lundin, J. , Lundin, M. , Lehtimäki, T. , Ristimäki, A. , Holli, K. , Sailas, L. , Kataja, V. , Turpeenniemi-Hujanen, T. , Isola, J. , Heikkilä, P. , & Joensuu, H. (2011). Breast cancer biological subtypes and protein expression predict for the preferential distant metastasis sites: A nationwide cohort study. *Breast Cancer Research*, 13 (5), R87. <https://doi.org/10.1186/bcr2944>
79. Kim, S. -J. , Kim, J. -S. , Park, E. S. , Lee, J. -S. , Lin, Q. , Langley, R. R. , Maya, M. , He, J. , Kim, S. -W. , Weihua, Z. , Balasubramanian, K. , Fan, D. , Mills, G. B. , Hung, M. -C. , & Fidler, I. J. (2011). Astrocytes upregulate survival genes in tumor cells and induce protection from chemotherapy. *Neoplasia*, 13 (3), 286–298. <https://doi.org/10.1593/neo.11112>
80. Wang, L. , Cossette, S. M. , Rarick, K. R. , Gershan, J. , Dwinell, M. B. , Harder, D. R. , & Ramchandran, R. (2013). Astrocytes directly influence tumor cell invasion and metastasis in vivo. *PLoS ONE*, 8 (12), e80933. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080933>
81. Sobottka, B. , Pestalozzi, B. , Fink, D. , Moch, H. , & Varga, Z. (2016). Similar lymphocytic infiltration pattern in primary breast cancer and their corresponding distant metastases. *Oncotarget*, 5 (6), e1153208. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1153208>
82. Ogiya, R. , Niikura, N. , Kumaki, N. , Bianchini, G. , Kitano, S. , Iwamoto, T. , Hayashi, N. , Yokoyama, K. , Oshitanai, R. , Terao, M. , Morioka, T. , Tsuda, B. , Okamura, T. , Saito, Y. , Suzuki, Y. , & Tokuda, Y. (2016). Comparison of tumor-infiltrating lymphocytes between primary and metastatic tumors in breast cancer patients. *Cancer Science*, 107 (12), 1730–1735. <https://doi.org/10.1111/cas.13101>
83. Cimino-Mathews, A. , Ye, X. , Meeker, A. , Argani, P. , & Emens, L. A. (2013). Metastatic triple-negative breast cancers at first relapse have fewer tumor-infiltrating lymphocytes than their matched primary breast tumors: A pilot study. *Human Pathology*, 44 (10), 2055–2063. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2013.03.010>
84. Emon, B. , Bauer, J. , Jain, Y. , Jung, B. , & Saif, T. (2018). Biophysics of tumor microenvironment and cancer metastasis—A mini review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 16, 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.07.003>

85. Stylianopoulos, T. , & Jain, R. K. (2015). Design considerations for nanotherapeutics in oncology. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11 (8), 1893–1907. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.07.015>
86. Stylianopoulos, T. , & Jain, R. K. (2013). Combining two strategies to improve perfusion and drug delivery in solid tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110 (46), 18632–18637. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318415110>
87. Zhang, B. , Shi, W. , Jiang, T. , Wang, L. , Mei, H. , Lu, H. , Hu, Y. , & Pang, Z. (2016). Optimization of the tumor microenvironment and nanomedicine properties simultaneously to improve tumor therapy. *Oncotarget*, 7 (38), 62607–62618. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11546>
88. Sakurai, Y. , Hada, T. , Yamamoto, S. , Kato, A. , Mizumura, W. , & Harashima, H. (2016). Remodeling of the extracellular matrix by endothelial cell-targeting siRNA improves the epr-based delivery of 100 nm particles. *Molecular Therapy*, 24 (12), 2090–2099. <https://doi.org/10.1038/mt.2016.178>
89. Tolaney, S. M. , Boucher, Y. , Duda, D. G. , Martin, J. D. , Seano, G. , Ancukiewicz, M. , Barry, W. T. , Goel, S. , Lahdenranta, J. , Isakoff, S. J. , Yeh, E. D. , Jain, S. R. , Golshan, M. , Brock, J. , Snuderl, M. , Winer, E. P. , Krop, I. E. , & Jain, R. K. (2015). Role of vascular density and normalization in response to neoadjuvant bevacizumab and chemotherapy in breast cancer patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (46), 14325–14330. <https://doi.org/10.1073/pnas.1518808112>
90. Stylianopoulos, T. (2017). The solid mechanics of cancer and strategies for improved therapy. *Journal of Biomechanical Engineering*, 139 (2), 021004. <https://doi.org/10.1115/1.4034991>
91. Tsai, M. , Lu, Z. , Wientjes, M. G. , & Au, J. L. -S. (2013). Paclitaxel-loaded polymeric microparticles: Quantitative relationships between in vitro drug release rate and in vivo pharmacodynamics. *Journal of Controlled Release*, 172 (3), 737–744. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.09.011>
92. Olive, K. P. , Jacobetz, M. A. , Davidson, C. J. , Gopinathan, A. , McIntyre, D. , Honess, D. , Madhu, B. , Goldgraben, M. A. , Caldwell, M. E. , Allard, D. , Frese, K. K. , DeNicola, G. , Feig, C. , Combs, C. , Winter, S. P. , Ireland-Zecchini, H. , Reichelt, S. , Howat, W. J. , Chang, A. , ... Tuveson, D. A. (2009). Inhibition of hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*, 324 (5933), 1457–1461. <https://doi.org/10.1126/science.1171362>
93. Monteran, L. , & Erez, N. (2019). The dark side of fibroblasts: Cancer-associated fibroblasts as mediators of immunosuppression in the tumor microenvironment. *Frontiers in Immunology*, 10, 1835. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01835>

94. Neophytou, C. M. , Panagi, M. , Stylianopoulos, T. , & Papageorgis, P. (2021). The role of tumor microenvironment in cancer metastasis: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Cancers*, 13 (9), 2053. <https://doi.org/10.3390/cancers13092053>
- i. Sofopoulos, M. , Fortis, S. P. , Vaxevanis, C. K. , Sotiriadou, N. N. , Arnogiannaki, N. , Ardavanis, A. , Vlachodimitropoulos, D. , Perez, S. A. , & Baxevanis, C. N. (2019). The prognostic significance of peritumoral tertiary lymphoid structures in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 68 (11), 1733–1745. <https://doi.org/10.1007/s00262-019-02407-8>
95. Sofopoulos, M. , Fortis, S. P. , Vaxevanis, C. K. , Sotiriadou, N. N. , Arnogiannaki, N. , Ardavanis, A. , Vlachodimitropoulos, D. , Perez, S. A. , & Baxevanis, C. N. (2019). The prognostic significance of peritumoral tertiary lymphoid structures in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 68 (11), 1733–1745. <https://doi.org/10.1007/s00262-019-02407-8>
- i. Colbeck, E. J. , Ager, A. , Gallimore, A. , & Jones, G. W. (2017). Tertiary lymphoid structures in cancer: Drivers of antitumor immunity, immunosuppression, or bystander sentinels in disease? *Frontiers in Immunology*, 8, 1830. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01830>
96. Rodriguez, A. B. , Peske, J. D. , Woods, A. N. , Leick, K. M. , Mauldin, I. S. , Meneveau, M. O. , Young, S. J. , Lindsay, R. S. , Melszen, M. M. , Cyranowski, S. , Parriott, G. , Conaway, M. R. , Fu, Y. -X. , Slingluff, C. L. , & Engelhard, V. H. (2021). Immune mechanisms orchestrate tertiary lymphoid structures in tumors via cancer-associated fibroblasts. *Cell Reports*, 36 (3), 109422. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109422>
97. Nerviani, A. , & Pitzalis, C. (2018). Role of chemokines in ectopic lymphoid structures formation in autoimmunity and cancer. *Journal of Leukocyte Biology*, 104 (2), 333–341. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MR0218-062R>
- i. Koti, M. , Xu, A. S. , Ren, K. Y. M. , Visram, K. , Ren, R. , Berman, D. M. , & Siemens, D. R. (2017). Tertiary lymphoid structures associate with tumour stage in urothelial bladder cancer. *Bladder Cancer*, 3 (4), 259–267. <https://doi.org/10.3233/BLC-170120>
- ii. Fortis, S. P. , Sofopoulos, M. , Goulielmaki, M. , Arnogiannaki, N. , Ardavanis, A. , Perez, S. A. , Gritzapis, A. D. , & Baxevanis, C. N. (2022). Association between intratumoral cd8+ t cells with foxp3+ and cd163+ cells: A potential immune intrinsic negative feedback mechanism for acquired immune resistance. *Cancers*, 14 (24), 6208. <https://doi.org/10.3390/cancers14246208>

98. Sharma, P. , Hu-Lieskovan, S. , Wargo, J. A. , & Ribas, A. (2017). Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy. *Cell*, 168 (4), 707–723. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.017>
99. Galon, J. , Costes, A. , Sanchez-Cabo, F. , Kirilovsky, A. , Mlecnik, B. , Lagorce-Pagès, C. , Tosolini, M. , Camus, M. , Berger, A. , Wind, P. , Zinzindohoué, F. , Bruneval, P. , Cugnenc, P. - H. , Trajanoski, Z. , Fridman, W. -H. , & Pagès, F. (2006). Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*, 313 (5795), 1960–1964. <https://doi.org/10.1126/science.1129139>
100. Pagès, F. , Kirilovsky, A. , Mlecnik, B. , Asslaber, M. , Tosolini, M. , Bindea, G. , Lagorce, C. , Wind, P. , Marliot, F. , Bruneval, P. , Zatloukal, K. , Trajanoski, Z. , Berger, A. , Fridman, W. -H. , & Galon, J. (2009). In situ cytotoxic and memory t cells predict outcome in patients with early-stage colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 27 (35), 5944–5951. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.19.6147>
101. Fortis, S. P. , Sofopoulos, M. , Sotiriadou, N. N. , Haritos, C. , Vaxevanis, C. K. , Anastasopoulou, E. A. , Janssen, N. , Arnogiannaki, N. , Ardavanis, A. , Pawelec, G. , Perez, S. A. , & Baxevanis, C. N. (2017). Differential intratumoral distributions of CD8 and CD163 immune cells as prognostic biomarkers in breast cancer. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 5 (1), 39. <https://doi.org/10.1186/s40425-017-0240-7>
102. Salgado, R. , Denkert, C. , Demaria, S. , Sirtaine, N. , Klauschen, F. , Pruneri, G. , Wienert, S. , Van Den Eynden, G. , Baehner, F. L. , Penault-Llorca, F. , Perez, E. A. , Thompson, E. A. , Symmans, W. F. , Richardson, A. L. , Brock, J. , Criscitiello, C. , Bailey, H. , Ignatiadis, M. , Floris, G. , ... Loi, S. (2015). The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of Oncology*, 26 (2), 259–271. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu450>
103. Schumacher, T. N. , & Schreiber, R. D. (2015). Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science*, 348 (6230), 69–74. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4971>
104. Mortarini, R. , Vegetti, C. , Molla, A. , Arienti, F. , Ravagnani, F. , Maurichi, A. , Patuzzo, R. , Santinami, M. , & Anichini, A. (2009). Impaired stat phosphorylation in t cells from melanoma patients in response to il-2: Association with clinical stage. *Clinical Cancer Research*, 15 (12),

4085–4094.