



Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής  
Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας  
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών  
Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων



## Μονοκλωνικά αντισώματα και θεραπεία του καρκίνου του μαστού

GRADUATE THESIS

### Monoclonal antibodies and breast cancer treatment



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENTS

**Λορέντζου Αντωνία (ΑΜ 18678035)**

Lorentzou Antonia

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

**Ευστάθιος Μιχαλόπουλος**

Stathis Michalopoulos

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



**University of West Attica**  
**Faculty of Health and Caring Professions**  
Department of Biomedical Sciences  
Division of Medical Laboratories



## **Monoclonal antibodies and breast cancer treatment**



DISSERTATION

STUDENT NAME:

Lorentzou Antonia (CN: 18678035)

NAME OF THE SUPERVISOR

Stathis Michalopoulos

AIGALEO 2023

## Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης:

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Ευστάθιος Μιχαλόπουλος	
2 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Χρυσάνθη Βογιατζάκη	
3 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Μαρία Τσουμάνη	

## **Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας**

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Λορέντζου Αντωνία του Σταματίου, με αριθμό μητρώου 18678035 φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

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

Όνομα φοιτητή

Λορέντζου Αντωνία

Υπογραφή φοιτητή

## Περίληψη

Το αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματεύεται τους μηχανισμούς δράσης των μονοκλωνικών αντισωμάτων καθώς και τις εφαρμογές τους στο σήμερα. Επιπλέον αναλύεται η συσχέτιση των μονοκλωνικών αντισωμάτων με το καρκίνο όσο αφορά τη θεραπεία του και τέλος περιγράφεται η θεραπεία του καρκίνου του μαστού δίνοντας έμφαση στη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων. Στόχος της εργασίας αυτής είναι να μελετηθεί η θεραπεία του καρκίνου και συγκεκριμένα του καρκίνου του μαστού με τη χρήση αυτών των θεραπευτικών μορίων, που τα τελευταία χρόνια αποτελούν ένα μεγάλο στοίχημα στο τομέα της Ιατρικής, της Μοριακής Βιολογίας και της Ανοσολογίας. Τέλος γίνεται αναφορά σε μελλοντικές ή υπό κλινικά μελετώμενες θεραπευτικές προσεγγίσεις για την αποτελεσματικότερη εφαρμογή τους. Τα μονοκλωνικά αντισώματα δρουν με πολλαπλούς μηχανισμούς δράσης εμποδίζοντας την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, είτε στοχεύοντας γνωστά αντιγόνα που εντοπίζονται στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων, είτε παρεμβάλλοντας στους μηχανισμούς του ανοσοποιητικού συστήματος. Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μία ετερογενή νόσο και το πιο συχνό καρκίνο στις γυναίκες σήμερα. Ανάλογα τους υποτύπους του καρκίνου και το βαθμό διαφοροποίησης του, εφαρμόζεται και διαφορετική θεραπεία. Υπάρχουν πέντε βασικές θεραπευτικές μέθοδοι. Η χειρουργική επέμβαση, η ακτινοθεραπεία, η χημειοθεραπεία, η ορμονοθεραπεία, η στοχευμένη θεραπεία και η ανοσοθεραπεία όπου είτε ως μονοθεραπείες είτε ως συνδυαστικές θεραπείες συμβάλλουν στην αμεσότερη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Οι δύο τελευταίες μέθοδοι, τα τελευταία χρόνια παρουσιάζουν ραγδαία εξέλιξη με σπουδαία αποτελέσματα δίνοντας μία ελπίδα για την επίτευξη εξάλειψής της νόσου. Η ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων που στοχεύουν την πρωτεΐνη HER2 των καρκινικών κυττάρων αποτελεί την πιο κοινή θεραπεία με πολλαπλά εγκεκριμένα φάρμακα, για τους HER2(+) καρκίνους του μαστού. Η ανοσοθεραπεία στοχεύει στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος είτε ενισχύοντας τις ανοσολογικές αποκρίσεις είτε εμποδίζοντας παράγοντες ελέγχου κυτταρικής ανάπτυξης που δρουν μη φυσιολογικά. Ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού αποτελεί έναν υπότυπο υψηλού κινδύνου με λίγες εγκεκριμένες θεραπείες. Η ανακάλυψη νέων βιοδεικτών που εκφράζονται σε αυτόν τον υπότυπο θα φέρουν μία νέα γενιά θεραπευτικών αντισωμάτων εξειδικευμένα και ικανά να ξεπεράσουν την αντοχή στη θεραπεία. Τέλος η ανάπτυξη νέων σύνθετων μονοκλωνικών αντισωμάτων όπως τα μονοκλωνικά αντισώματα συζευγμένα με φάρμακο ή τα διειδικά θα προσφέρουν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις με καλύτερα αποτελέσματα.

**Λέξεις κλειδιά:** Μονοκλωνικά Αντισώματα, Καρκίνος, Καρκίνος Μαστού, Θεραπεία Καρκίνου Μαστού

## Abstract

The subject of this thesis deals with the action mechanisms of monoclonal antibodies as well as their applications today. In addition, the association of monoclonal antibodies with cancer is analyzed as far as its treatment is concerned and finally the treatment of breast cancer is described emphasizing the use of monoclonal antibodies. The aim of this work is to study the treatment of cancer, specifically breast cancer, using these therapeutic molecules, which in recent years have been a big bet in the field of Medicine, Molecular Biology and Immunology. Finally, reference is made to future or clinically studied therapeutic techniques for their more effective application. Monoclonal antibodies work with multiple mechanisms of action by preventing the growth of cancer cells, either by targeting known antigens located on the surface of cancer cells, or by interfering with the mechanisms of the immune system. Breast cancer is a heterogeneous disease and the most common cancer in women today. Depending on the subtypes of the cancer and its degree of differentiation, different treatment is applied. There are five main treatment methods. Surgery, radiation therapy, chemotherapy, hormone therapy, targeted therapy and immunotherapy where either as monotherapies or as combination therapies contribute to the most immediate treatment of breast cancer. The last two methods, in recent years, have shown rapid development with great results, giving hope for achieving the elimination of the disease. The development of monoclonal antibodies that target the HER2 protein in cancer cells is the most common multi-drug approved treatment for HER2(+) breast cancers. Immunotherapy aims to strengthen the immune system either by enhancing immune responses or by blocking cell growth control factors that act abnormally. Triple-negative breast cancer is a high-risk subtype with few approved therapies. The discovery of new biomarkers expressed in this subtype will lead to a new generation of therapeutic antibodies capable of overcoming treatment resistance. Finally, the development of new complex monoclonal antibodies such as drug-conjugated or bispecific monoclonal antibodies will offer new therapeutic approaches with better results.

**Key words:** Monoclonal Antibodies, Cancer, Breast Cancer, Breast Cancer Treatment



## Πίνακας περιεχομένων

Εισαγωγή .....	1
Κεφάλαιο 1 <sup>ο</sup> Ανοσοποιητικό σύστημα .....	4
1.1 Έμφυτη – Φυσική ανοσία .....	4
1.2 Προσαρμοστική ανοσία .....	11
1.2.1 Ειδική T διαμεσολαβούμενη ανοσιακή απόκριση - Κυτταρική ανοσία .....	12
1.2.2 Χυμική ανοσία και ενεργοποίηση B κυττάρων .....	14
1.3 Αντισώματα .....	15
1.3.1 Δομή και Κατηγορίες .....	15
1.3.2 Γενετικοί τόποι των γονιδίων των Igs .....	17
1.4 Βασικές Δραστικές Λειτουργίες αντισωμάτων .....	19
Κεφάλαιο 2 <sup>ο</sup> Μονοκλωνικά αντισώματα (Mabs) .....	21
2.1 Ιστορική Αναδρομή .....	21
2.2 Είδη Μονοκλωνικών Αντισωμάτων .....	21
2.3 Μέθοδοι παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων .....	23
2.3.1 Παραγωγή mAbs με την τεχνική του υβριδώματος .....	23
2.3.2 Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων με την τεχνική εμφάνισης φάγου (Phage display technology) .....	25
2.3.4 Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων με την χρήση διαγονιδιακών ποντικών .....	28
2.3.5 Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων με την τεχνική των μονοκυττάρων B .....	28
2.4 Εφαρμογή Μονοκλωνικών Αντισωμάτων στη διάγνωση .....	29
2.5 Θεραπευτική Χρήση Μονοκλωνικών αντισωμάτων .....	30
2.5.1 Θεραπεία Αυτοάνοσων Νοσημάτων με την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων .....	31
2.5.2 Θεραπεία μολυσματικών ασθενειών με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων .....	32
2.5.3 Θεραπεία Καρκίνου με την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων .....	33
Κεφάλαιο 3 <sup>ο</sup> Γυναικείος μαστός .....	46
3.1 Ανατομία Μαστού .....	46
3.2 Φυσιολογία του μαστού .....	48
Κεφάλαιο 4 <sup>ο</sup> Καρκίνος μαστού .....	49
4.1 Επιδημιολογία .....	49
4.2 Ιστολογικοί τύποι Καρκίνου μαστού .....	51
4.3 Μοριακή ταξινόμηση .....	55
4.4 Βαθμός διαφοροποίησης Καρκίνου Μαστού (Grade) .....	57
4.5 Σταδιοποίηση Καρκίνου Μαστού : Tumor, Node, Metastasis (TNM) .....	58

Κεφάλαιο 5 <sup>ο</sup> Θεραπεία καρκίνου μαστού .....	59
5.2 Χειρουργική Επέμβαση.....	60
5.3 Ακτινοθεραπεία .....	61
5.4 Χημειοθεραπεία .....	61
5.5 Ορμονοθεραπεία .....	62
5.6 Στοχευμένη θεραπεία .....	63
5.6.1 Στοχευμένη θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα (mabs).....	64
5.6.2 Στοχευμένη θεραπεία με αναστολείς Κινάσης-Τυροσίνης(TKIs) .....	75
5.6.3 Στοχευμένη θεραπεία με εξαρτώμενες από κυκλίνη κινάσες (CDK) .....	76
5.6.4 Στοχευμένη θεραπεία με αναστολείς Ραπαμυκίνης (mTOR).....	77
5.6.5 Στοχευμένη θεραπεία με αναστολείς PARP .....	79
5.7 Ανοσοθεραπεία .....	80
5.7.1 Αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου (Immune Checkpoints Inhibitors).....	81
5.7.2 Θεραπεία με χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα T-κυττάρων (CAR-T) .....	83
5.7.3 Θεραπεία με λεμφοκύτταρα διείσδυσης όγκου (TIL) .....	84
5.7.4 Κυτοκίνες .....	84
5.7.5 Εμβόλια .....	85
5.7.6 Ογκολυτικοί Ιοί .....	87
6. Συμπεράσματα.....	88
Αναφορές .....	89

## Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
HAMA	Human anti-mouse antibody	Ανθρώπινα αντισώματα έναντι ποντικού
EGFR	Epidermal growth factor receptor	Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα
HER2	Epidermal growth factor receptor 2	Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2
ADC	Antibody-drug conjugated	Αντισώματα συζευγμένα με φάρμακο
BsAbs	Bispecific antibodies	Διειδικά αντισώματα
ER	Estrogen receptor	Υποδοχέας οιστρογόνων
PR	Progesterone receptor	Υποδοχέας προγεστερόνης
TNBC	Triple negative breast cancer	Τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού
CDK	cyclin-dependent kinases	Εξαρτώμενες από κυκλίνη Κινάσες
PARP	Poly (ADP-ribose) polymerase	Πολυμεράση της (πολύ-ADP) ριβόζης
PD-1	Programmed cell death protein 1	Πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1
PD-L1	Programmed death ligand 1	Συνδέτης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1
CAR-T	Chimeric antigen receptor T cells	Χιμαιρικός αντιγονικός υποδοχέας Τ κυττάρων
NK	Natural Killer	Κύτταρα φυσικοί φονείς
PRRs	pattern recognition receptors	Υποδοχείς αναγνώρισης προτύπου
PAMPs	pathogen-associated molecular patterns	Μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με παθογόνα
LPS	Lipopolysaccharides	Λιποπολυσακχαρίτης
TLRs	Toll like Receptors	Υποδοχείς τύπου Toll
IL	Interleukin	Ιντερλευκίνη
SAA	serum amyloid A	Αμυλοειδές του ορού
IFNs	Interferons	Ιντερφερόνες
TCR	T cell receptor	Υποδοχείς Τ κυττάρων
MHC	major histocompatibility complex	Μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας
CTLs	Cytotoxic T lymphocytes	Τ κυτταροτοξικά κύτταρα
Tregs	Regulatory T Cells	Τ ρυθμιστικά κύτταρα
BCR	B cell receptor	Υποδοχέας Β κυττάρων
ADCC	Antibody-dependent cellular cytotoxicity	Εξαρτώμενη από αντίσωμα κυτταρομεσολαβητική κυτταροτοξικότητα
CDC	Complement-dependent cytotoxicity	Εξαρτώμενη από το συμπλήρωμα κυτταροτοξικότητα
ADCP	Antibody-dependent cellular phagocytosis	Εξαρτώμενη από το αντίσωμα κυτταρική φαγοκυττάρωση
Mab	monoclonal antibody	Μονοκλωνικά αντισώματα
scFv	single-chain variable fragment	Μεταβλητό τμήμα μονής αλυσίδας
TNF-a	tumor necrosis factor alpha	Παράγοντας νέκρωσης όγκων Α
TME	Tumor Microenvironment	Μικροπεριβάλλον του όγκου
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte Antigen-4	Τ κυτταροτοξικό λεμφοκυτταρικό αντιγόνο 4
OS	overall survival	Συνολική επιβίωση
DCIS	Ductal carcinoma in situ	Πορογενές καρκίνωμα in situ
LCIS	Lobular carcinoma in situ	Λοβιακό καρκίνωμα in situ
IDC	Invasive ductal carcinoma	Διηθητικό πορογενές καρκίνωμα
ILC	Invasive lobular carcinoma	Διηθητικό λοβιακό καρκίνωμα
BCT	Breast conserving therapy	Χειρουργική επέμβαση με διατήρηση του μαστού
AI	Aromatase inhibitors	Αναστολείς αρωματάσης
TKI	Tyrosine Kinase Inhibitors	Αναστολείς κινάσης τυροσίνης
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός τροφίμων και φαρμάκων
TILs	Tumor-infiltrating lymphocytes	Λεμφοκύτταρα διείσδυσης όγκου

## Εισαγωγή

Το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου περιλαμβάνει μία ποικιλία κυττάρων και μορίων ικανά να αμυνθούν και να εξοντώσουν τους ξένους εισβάλλοντες μικροοργανισμούς ή την ανάπτυξη καρκίνου. Η φυσική ανοσία που αποτελείται ως επί το πλείστον από μακροφάγα κύτταρα είναι η πρώτη που ενεργοποιείται και δρα έναντι του μικροβίου. Όταν οι μηχανισμοί της φυσικής ανοσίας δεν είναι ικανοί να ανταπεξέλθουν στη λοίμωξη τότε ξεκινά η δράση της προσαρμοστικής ανοσίας. Η προσαρμοστική ανοσία χαρακτηρίζεται από αντιγονικές αντιδράσεις των Β και Τ λεμφοκυττάρων. Τα κύτταρα αυτά μέσω ειδικών κυτταρικών υποδοχέων εντοπίζουν και συνδέονται με το ξένο αντιγόνο σε μία συγκεκριμένη περιοχή που καλείται επίτοπος. Τα αντισώματα αποτελούν προϊόντα Β λεμφοκυττάρων τα οποία είτε βρίσκονται ως υποδοχείς στην επιφάνεια των Β κυττάρων, είτε εκκρίνονται από αυτά ως ελεύθερα μόρια στη κυκλοφορία, εκτελώντας πολλαπλούς μηχανισμούς με το βασικότερο να αποτελεί την ειδική δέσμευση τους με το αντιγόνο. Τα μονοκλωνικά αντισώματα αποτελούν αντισώματα κατασκευασμένα στο εργαστήριο προερχόμενα από έναν μοναδικό κλώνο Β κυττάρων εξειδικευμένα σε ένα μόνο αντιγόνο. Το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα κατασκευάστηκε το 1975 από τους Kohler και Meister ύστερα από ανοσοποίηση ενός ποντικού και την απομόνωση των Β κυττάρων από το σπλήνα του. Με τη κατάλληλη επεξεργασία και καλλιέργεια παράγονται τελικά μονοκλωνικά αντισώματα προερχόμενα αποκλειστικά από ποντίκι. Καθώς αυτά τα συγκεκριμένα μονοκλωνικά αντισώματα προκαλούσαν πολλές παρενέργειες λόγω της δημιουργίας ανθρώπινων αντισωμάτων έναντι των αντισωμάτων του ποντικού (HAMA), δημιουργήθηκε η ανάγκη για τη παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων λιγότερο τοξικών και πιο κοντά στη δομή των ανθρώπινων αντισωμάτων. Έτσι δημιουργήθηκαν τα χιμαιρικά, τα ανθρωποποιημένα και τα πλήρως ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα μέσω της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA και διαφόρων άλλων τεχνικών. Η εφαρμογή τους σήμερα εντοπίζεται στη θεραπεία διαφόρων αυτοάνοσων νοσημάτων, λοιμώξεων και μερικών τύπων καρκίνου. Τα τελευταία χρόνια τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν αποδείξει σπουδαία αποτελεσματικότητα στη θεραπεία του καρκίνου με πολλαπλούς μηχανισμούς δράσης. Ένας από τους σημαντικότερους μηχανισμούς δράσης είναι η στόχευση υποδοχέων μεμβράνης καρκινικών κυττάρων που σηματοδοτούν την ανάπτυξη τους, όπως ο υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, (EGFR) και ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2), μόρια που επάγουν την ενεργοποίηση οδών σηματοδότησης. Επιπλέον τα μονοκλωνικά αντισώματα συμμετέχουν σε διάφορους μηχανισμούς της έμφυτης και της προσαρμοστικής ανοσίας ενισχύοντας τη δράση των ανοσιακών κυττάρων. Η ανακάλυψη νέων υποδοχέων που εντοπίζονται στα καρκινικά κύτταρα καθώς και η ανάπτυξη σύνθετων μονοκλωνικών αντισωμάτων όπως τα μονοκλωνικά αντισώματα συζευγμένα με αντίσωμα (ADC) ή τα διειδικά (BsAbs) θα μπορούσαν να προσφέρουν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις με στόχο την αμεσότερη αποτελεσματικότητα. Ο γυναικίος μαστός αποτελεί έναν αδένά όπου διάφορες ορμόνες συμμετέχουν για τη φυσιολογική του λειτουργία. Τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη παράγονται από τις ωοθήκες και αποτελούν βασικές ορμόνες για την ομαλή ανάπτυξη του μαστού. Η οποιαδήποτε διαταραχή στη παραγωγή αυτών των ορμονών αποτελεί τη κύρια αιτία για την εμφάνιση διαφόρων παθολογοανατομικών

αλλοιώσεων. Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μία πολυπαραγοντική νόσο καθώς 1 στις 10 γυναίκες θα εμφανίσουν τη νόσο αυτή κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Ο ιστολογικός διαχωρισμός του καρκίνου του μαστού βοηθά στη ταξινόμηση ανάλογα με το σημείο όπου ξεκίνησε η ανάπτυξη του όγκου, το μέγεθος της ανάπτυξης καθώς και την εξάπλωση του όγκου. Οι δύο βασικές ιστολογικές κατηγορίες αφορούν τους μη διηθητικούς (in situ) καρκίνους και τους διηθητικούς. Κάθε τύπος παρουσιάζει διαφορετική βαρύτητα της νόσου. Η μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του μαστού συμβάλλει στον άμεσο σχεδιασμό της θεραπείας καθώς καθορίζεται από τη γονιδιακή έκφραση. Η έκφραση υποδοχέων οιστρογόνων (ER), υποδοχέων προγεστερόνης (PR) και HER2 καθορίζουν τους μοριακούς υποτύπους. Ανάλογα την έκφραση των υποδοχέων καθορίζεται και η αντίστοιχη θεραπεία. Ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού (TNBC) αποτελεί έναν υπότυπο που δεν παρουσιάζει κανέναν από αυτούς τους τρεις υποδοχείς και αυτόματα το καθιστά έναν υπότυπο υψηλού κινδύνου με λίγες εγκεκριμένες θεραπείες. Μέθοδοι θεραπείας του καρκίνου του μαστού αποτελούν η χειρουργική επέμβαση, η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία, η ορμονοθεραπεία, η στοχευμένη θεραπεία και η ανοσοθεραπεία. Ανάλογα τη διάγνωση του καρκινικού τύπου, του βαθμού και την ύπαρξη μετάστασης εφαρμόζεται και η κατάλληλη μέθοδος είτε ως μονοθεραπεία είτε ως συνδυασμό. Εκτός από την χειρουργική επέμβαση, η άλλες μέθοδοι εφαρμόζονται ως νεοεπικουρική θεραπεία, δηλαδή θεραπεία πριν από τη χειρουργική επέμβαση, με στόχο το περιορισμό του καρκινικού όγκου, είτε ως επικουρική θεραπεία, δηλαδή θεραπεία μετά τη χειρουργική επέμβαση με στόχο την εξάλειψη πιθανών καρκινικών κυττάρων που έχουν απομείνει. Τα τελευταία χρόνια η στοχευμένη θεραπεία και η ανοσοθεραπεία έχουν παρουσιάσει ραγδαία εξέλιξη με αποτέλεσμα την ανάπτυξη αποτελεσματικότερων θεραπειών. Η στοχευμένη θεραπεία χρησιμεύει στην αντιμετώπιση τύπων καρκίνου που εκφράζουν σε υψηλό ποσοστό ορισμένες πρωτεΐνες στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων. Η εφαρμογή μονοκλωνικών αντισωμάτων που στοχεύουν αυτές τις πρωτεΐνες αποτελεί μία από τις σημαντικότερες θεραπευτικές στρατηγικές. Ορισμένα εγκεκριμένα μονοκλωνικά αντισώματα για τη θεραπεία των HER2(+) καρκίνου μαστού αποτελούν το trastuzumab, το pertuzumab, το trastuzumab emtansine, το trastuzumab deruxtecan καθώς και το margetuximab. Αυτά τα μονοκλωνικά αντισώματα στοχεύουν το HER2 με διαφορετικούς μηχανισμούς και σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους θεραπείας καθίστανται μία αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση με θετικά αποτελέσματα. Άλλες στοχευμένες θεραπείες που χρησιμεύουν στην αντιμετώπιση καρκίνων με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς αποτελούν οι αναστολείς κινάσης τυροσίνης (TKI), οι αναστολείς κινάσης που εξαρτώνται από κυκλίνη (CDK), καθώς και οι αναστολείς ραπαμυκίνης (mTOR). Η στοχευμένη θεραπεία που χρησιμεύει στην αντιμετώπιση καρκίνου μαστού που παρουσιάζουν μεταλλάξεις των γονιδίων BRCA1 και BRCA2 είναι η χρήση αναστολέων πολυμεράσης της (πολυ-ADP) ριβόζης (PARP). Τέλος παρά την απουσία ορμονικών υποδοχέων και HER2, ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού έχει αποδειχθεί πως παρουσιάζει θετικά αποτελέσματα στη θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία στοχεύουν ορισμένες πρωτεΐνες που εκφράζονται σε αυτόν το τύπο. Το Sacituzumab govitecan αποτελεί ένα μονοκλωνικό αντίσωμα συζευγμένο με φάρμακο που η τελική του έγκριση για τη θεραπεία του πραγματοποιήθηκε το 2022. Σήμερα πολλά μονοκλωνικά αντισώματα βρίσκονται υπό κλινικές μελέτες για τη θεραπεία αυτού του υπότυπου. Η ανοσοθεραπεία αποτελεί τα τελευταία χρόνια μία εξελισσόμενη στρατηγική θεραπείας η οποία στοχεύει

στους μηχανισμούς διαφυγής της προσαρμοστικής ανοσολογικής απόκρισης. Συγκεκριμένα, τα μονοκλωνικά αντισώματα που εφαρμόζονται ως ανοσοθεραπεία έχουν αποδείξει μία πολλά υποσχόμενη επιλογή. Υπάρχουν ορισμένες πρωτεΐνες, οι οποίες καλούνται σημεία ελέγχου ανοσοποιητικού συστήματος, που εκφράζονται στα κύτταρα του οργανισμού και συμβάλλουν στην αναγνώριση ξένων κυττάρων ώστε να επάγουν την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων με αποτέλεσμα να τα εξοντώσουν. Η πρωτεΐνη του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (PD-1) καθώς και του συνδέτη της (PD-L1) αποτελούν βασικούς στόχους για την ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων τα οποία εμποδίζουν τη σύνδεση τους με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων και κατά επέκταση τη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων. Το atezolizumab και το pembrolizumab αποτελούν δύο μονοκλωνικά αντισώματα που στοχεύουν τα σημεία ελέγχου και παρουσιάζουν κλινική αποτελεσματικότητα κυρίως σε μεταστατικούς τριπλά αρνητικούς καρκίνους του μαστού. Επιπρόσθετες ανοσοθεραπείες αποτελούν η θεραπεία με χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα Τ-κυττάρων (CAR-T), θεραπεία με λεμφοκύτταρα διείσδυσης, κυτοκίνες, εμβόλια καθώς και ογκολυτικοί ιοί. Συμπερασματικά, τα μονοκλωνικά αντισώματα στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους θεραπευτικούς παράγοντες καθώς η εξειδίκευσή τους, τους προσδίδει ευρεία αποτελεσματικότητα. Μελλοντικά αναμένεται να εγκριθούν περισσότερα θεραπευτικά μόρια με μειωμένες παρενέργειες και αυξημένη δραστηριότητα. Είναι πολύ σημαντικό να μελετηθούν εκτενώς οι μηχανισμοί αντίστασης αυτών των θεραπειών καταφέροντας στο μέλλον να παραχθούν φάρμακα που ξεπερνάνε την οποιαδήποτε αντίσταση. Η μελέτη νέων βιοδεικτών, καθώς και πρωτοποριακών σχεδιασμών σύνθετων μονοκλωνικών αντισωμάτων θα καταφέρει τη δημιουργία νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων και θα μεγαλώσει την ελπίδα για την ολοκληρωμένη θεραπεία του καρκίνου του μαστού.

## Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup> Ανοσοποιητικό σύστημα

Το ανθρώπινο σώμαβάλλεται συνεχώς από ένα τεράστιο ρεπερτόριο οργανισμών και μορίων του περιβάλλοντος (Doan, Roger, & Viseli, 2014). Το ανοσοποιητικό σύστημα αποτελείται από ένα οργανωμένο σύνολο κυττάρων και μορίων εξειδικευμένα σε αμυντικούς ρόλους με στόχο την αντιμετώπιση των οργανισμών και μορίων αυτών που είναι ικανά να προκαλέσουν μία λοίμωξη. Η λοίμωξη μπορεί να προκληθεί από διάφορα μικρόβια όπως βακτήρια, ιοί, παράσιτα και μύκητες. Παράλληλα το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ικανό να διακρίνει τα κύτταρα του ίδιου του οργανισμού από τα κύτταρα των βλαβερών οργανισμών που εισβάλλουν σε αυτόν. Υπάρχουν δύο είδη αμυντικών αντιδράσεων (Mackay & Rosen, 2007). Αυτές είναι οι **έμφυτες (φυσικές)** και οι **επίκτητες (προσαρμοστικές)** αντιδράσεις που μεταξύ τους αλληλεπιδρούν, χρησιμοποιώντας επιφανειακούς και διαλυτούς υποδοχείς για να εντοπίσουν τις πιθανές απειλές (Doan, Roger, & Viseli, 2014). Η έμφυτη ή φυσική ανοσία προστατεύει τον οργανισμό άμεσα από ξένες ουσίες ή κύτταρα που εισβάλλουν σε αυτόν. (Parkin & Bryony Cohen, 2001). Περιλαμβάνει κύτταρα που φαγοκυτταρώνουν όπως ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, μακροφάγα, κύτταρα που εκκρίνουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως βασεόφιλα, μαστοκύτταρα, ηωσινόφιλα καθώς και τα κύτταρα φυσικούς φονείς (NK κύτταρα). (Mackay & Rosen, 2007). Οι προσαρμοστικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί άμυνας χαρακτηρίζονται από αντιγονικές αντιδράσεις οι οποίες εκτελούνται από τα Β και Τ λεμφοκύτταρα. Τα Β και Τ κύτταρα ενεργοποιούνται και πολλαπλασιάζονται όταν οι **επιφανειακοί τους υποδοχείς (υποδοχείς μεμβράνης)** αναγνωρίζουν και προσδέονται σε ένα αντιγόνο. Ακόμα, ορισμένα εξειδικευμένα κύτταρα που ονομάζονται αντιγονοπαρουσιαστικά, δρουν ως βοηθητικά κύτταρα για να παρουσιάσουν το αντιγόνο στα λεμφοκύτταρα και σε συνεργασία με αυτά να καταφέρουν να το καταστρέψουν.

### 1.1 Έμφυτη – Φυσική ανοσία

Η έμφυτη ανοσία αποτελεί τη πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού και σκοπός της είναι η πρόληψη μίας λοίμωξης ή η εξάλειψη των παθογόνων που εισβάλλουν σε αυτόν. Ο χρόνος δράσης της φυσικής ανοσίας είναι σχετικά γρήγορος και αντιστοιχεί σε μερικά λεπτά έως και ώρες (Anaya, Shoenfeld, & Rojas-Villarraga, 2013). Η έμφυτη ανοσία αποτελείται από ένα σύνολο κυτταρικών και μοριακών συστατικών, που βρίσκονται στο ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου, πριν την έναρξη της λοίμωξης. Έτσι τα συστατικά αυτά δεν είναι εξειδικευμένα για ένα συγκεκριμένο παθογόνο, παρόλα αυτά, έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν μερικά κοινά γενικά μοριακά χαρακτηριστικά που αντιστοιχούν σε ορισμένες ομάδες παθογόνων (Kuby, 2013). Επιπλέον, η φυσική ή έμφυτη ανοσία παρέχει αμυντικούς μηχανισμούς οι οποίοι δεν διαθέτουν ανοσολογική μνήμη, έτσι ο τρόπος δράσης τους δεν εξαρτάται από το πόσο συχνά θα μολύνει ένα παθογόνο τον οργανισμό. Τα κύρια συστατικά της έμφυτης ανοσίας είναι οι φυσικοί και χημικοί φραγμοί (που περιλαμβάνουν το δέρμα, το επιθήλιο, διάφορες αντιμικροβιακές ουσίες που παράγονται σε αυτό), τα φαγοκύτταρα, τα δενδριτικά κύτταρα, τα κύτταρα φυσικοί φονείς καθώς και οι πρωτεΐνες του αίματος συμπεριλαμβανομένου και τα συστατικά του συστήματος του συμπληρώματος (Medhitov & Janeway, 2000).

## Φυσικοί παράγοντες

Οι φυσικοί φραγμοί είναι οι πρώτοι φραγμοί που συναντά ένα παθογόνο όταν εισέρχεται στον οργανισμό.

Το **δέρμα** αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος και θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες της πρώτης γραμμής άμυνας του οργανισμού (J.Tortora, Funke, & Case, 2017). Αποτελείται εξωτερικά από την επιδερμίδα και εσωτερικά από τη δερμίδα ή το χόριο. Η επιδερμίδα αποτελεί ένα σύνολο πολλών στιβάδων, στενά συνδεδεμένων επιθηλιακών κυττάρων που έρχεται σε επαφή με περιβαλλοντικούς παράγοντες και παθογόνους μικροοργανισμούς, ενώ η δερμίδα είναι ένα παχύτερο στρώμα αποτελούμενο από συνδετικό ιστό. (Kuby, 2013). Η ανώτερη στιβάδα της επιδερμίδας περιέχει μία προστατευτική πρωτεΐνη που καλείται κερατίνη. Η απόπτωση της προσφέρει προστασία από τα μικρόβια απομακρύνοντας τα. Παράλληλα η ξηρότητα του δέρματος συμβάλλει στην αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης καθώς η υγρασία του προκαλεί πιο συχνά δερματικές λοιμώξεις. Μέσω των εκκρίσεων του δέρματος προσφέρεται μία ακεραιότητα καθώς και η υποστήριξη αντιμικροβιακών ιδιοτήτων που έχουν ως αποτέλεσμα την αντιμετώπιση των παθογόνων καθώς και τη τόνωση της επίκτητης ανοσολογικής απάντησης.

Οι **βλεννογόνοι** αποτελούνται από μία στιβάδα επιθηλιακών κυττάρων και μία υποκείμενη στιβάδα συνδετικού ιστού. (J.Tortora, Funke, & Case, 2017). Είναι το κύριο όπλο προστασίας σε όλες τις κοιλότητες του σώματος που εκτίθενται στα παθογόνα. Οι βλεννογόνοι αυτοί εντοπίζονται στο γαστρεντερικό, στον αναπνευστικό και στον ουρογεννητικό σωλήνα καθώς και στα μάτια (Mario Riera Romo, 2016). Η **βλέννη**, ένα παχύρευστο υγρό που παράγεται από τις εσωτερικές επιθηλιακές επιφάνειες, προσφέρει προστασία ενάντια στα μικρόβια που τις προσβάλλουν και συμβάλλει στη προσκόλληση των παθογόνων στο επιθήλιο.

Ακόμα ο σίελος, η δακρυϊκή συσκευή, οι τρίχες στο βλεννογόνο της μύτης καθώς και οι κροσσοί του βλεννογόνου του κατώτερου αναπνευστικού αποτελούν φυσικούς παράγοντες που συμβάλλουν στη προστασία επιθηλιακών επιφανειών με στόχο την απομάκρυνση του παθογόνου. (Kuby, 2013).

## Χημικοί παράγοντες

Εκτός από τους φυσικούς φραγμούς η έμφυτη ανοσολογική απόκριση περιλαμβάνει μόρια με αντιμικροβιακή δράση με στόχο την αναστολή και την καταστροφή των παθογόνων. Το **σμήγμα** ένα προϊόν των σμηγματογόνων αδένων του δέρματος προσφέρει προστασία στα μαλλιά από την ερυθρότητα καθώς και ένα προστατευτικό στρώμα στην επιφάνεια του δέρματος. (J.Tortora, Funke, & Case, 2017). Η **λυσοζύμη**, μία ουσία που συναντάται στο σάλιο, στα δάκρυα, στον ιδρώτα και στις ρινικές εκκρίσεις έχει τη δυνατότητα να εμποδίσει τη μικροβιακή ανάπτυξη και κατά συνέπεια την έναρξη της λοίμωξης. (Anaya, Shoenfeld, & Rojas-Villarraga, 2013). Συγκεκριμένα διασπά τους χημικούς δεσμούς της πεπτιδογλυκάνης με αποτέλεσμα τη καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος. Η αμυλάση, η λυσοζύμη και το ουρικό οξύ είναι ουσίες που αναστέλλουν τη μικροβιακή ανάπτυξη. Ακόμα, το υδροχλωρικό οξύ και άλλες πεπτιδικές πρωτεΐνες στο



γαστρεντερικό σωλήνα όπως η παγκρεατίνη και η πεπτιδάση ασκούν εξίσου αντιμικροβιακή δράση. (Anaya, Shoenfeld, & Rojas-Villarraga, 2013).

### *Διαλυτά μόρια φυσικής ανοσίας και μεμβρανικοί υποδοχείς*

Το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα χαρακτηρίζεται από μη ειδικούς μηχανισμούς αναγνώρισης. Αυτό σημαίνει πώς έχει την ικανότητα να αναγνωρίζει δομικά συστατικά παθογόνων που είναι κοινά για όλα τα μικρόβια και παράλληλα απουσιάζουν από τα κύτταρα ξενιστές. (Anaya, Shoenfeld, & Rojas-Villarraga, 2013). Λόγω αυτού το χαρακτηριστικό η φυσική ανοσία αποτελείται από υποδοχείς που καλούνται υποδοχείς αναγνώρισης προτύπου (**pattern recognition receptors, PRRs**). Τα μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με την επιβίωση και τη λοιμογόνο δράση των παθογόνων καλούνται **PAMPs** (pathogen-associated molecular patterns). Οι PRRs πέρα από την ικανότητα να ανιχνεύουν τα PAMPs, μπορούν ακόμα να εντοπίζουν συστατικά με φλεγμονώδη δράση τα οποία έχουν απελευθερωθεί από κατεστραμμένα κύτταρα. Αυτά καλούνται μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με τη βλάβη (**DAMPs**). Τα PAMPs περιλαμβάνουν κυρίως πολυσακχαρίτες και πολυνουκλεοτίδια και εντοπίζονται σε πολλές ομάδες παθογόνων. Τα πιο χαρακτηριστικά είναι ο LPS, μία ενδοτοξίνη που βρίσκεται στις μεμβράνες των Gram αρνητικών βακτηρίων, το λιπoteichoϊκό οξύ που βρίσκεται στα Gram θετικά βακτήρια, η μαννόζη που βρίσκεται σε επιφάνειες των ζυμομυκήτων και οι β-γλυκάνες που εντοπίζονται στο κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων (Kuby, 2013).

Οι υποδοχείς τύπου Toll (**Toll-like receptors, TLRs**) αποτελούν πρωτεϊνικούς μεμβρανικούς υποδοχείς κοκκιοκυττάρων, δενδριτικών κυττάρων, μακροφάγων και μονοκυττάρων. Εντοπίζονται στις κυτταρικές μεμβράνες ή σε ενδοκυττάρους χώρους και ανιχνεύουν μια ποικιλία παθογόνων. Παράλληλα μπορούν να μεσολαβούν στην αναγνώριση των PAMPs. (Simionescu, 2021). Στον άνθρωπο συναντώνται 11 TLRs, 9 από τους οποίους έχει μελετηθεί η δράση τους. Οι υποδοχείς που εντοπίζονται στη κυτταρική μεμβράνη των αμυντικών κυττάρων συνδέονται με εξωκυττάρους προσδέτες ενώ οι υποδοχείς που βρίσκονται σε ενδοκυττάρια διαμερίσματα συνδέονται με προσδέτες που προέρχονται από το εσωτερικό των κυττάρων. Οι προσδέτες αυτοί αποτελούν βασικά δομικά συστατικά παθογόνων όπου αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς τύπου Toll. Οι TLRs δρουν με τη μορφή διμερών. Για παράδειγμα ο TLR2 με το TLR6 αλληλεπιδρούν με μια ομάδα μορίων που βρίσκονται στα μικρόβια ενώ ο TLR2 με το TLR1 αλληλεπιδρούν με ορισμένες λιποπρωτεΐνες βακτηρίων και με ορισμένες πρωτεΐνες που βρίσκονται στις επιφάνειες των παρασίτων (Kuby, 2013).

### *Κυτταροκίνες*

Οι κυτταροκίνες είναι μία άλλη ομάδα διαλυτών πρωτεϊνών που παράγονται από κύτταρα και της φυσικής και της ειδικής ανοσίας. Παίρνουν μέρος στην ανοσολογική απάντηση και αποτελούν το μέσω επικοινωνίας στις αντιδράσεις του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα επίπεδα τους σε διάφορα υγρά μπορούν να δώσουν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τη διάγνωση ή με το στάδιο μίας ασθένειας. Οι κυριότερες ομάδες των κυτταροκινών είναι οι **παράγοντες νέκρωσης όγκου (TNFs)**, οι **ιντερλευκίνες (ILs)**, και οι **ιντερφερόνες (IFNs)**.

Οι κυτταροκίνες μπορούν να χωριστούν σε δύο ομάδες ανάλογα τη προέλευση τους. Υπάρχουν αυτές που παράγονται από τα Τ-βοηθητικά κύτταρα1 (TH1) όπως η IL-2, IL-12, TFN-G και TFN-B, και αυτές που παράγονται από τα Τ-βοηθητικά κύτταρα2 (TH2) όπως η IL-4, IL-5, IL-6 και IL-13. Άλλος ένας διαχωρισμός των κυτταροκινών είναι οι προφλεγμονώδεις και οι αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες παίρνουν μέρος στις αποκρίσεις μίας φλεγμονής και βοηθούν στη διέγερση ανοσοεπαρκών κυττάρων. Δρουν ως μεσολαβητές για να ειδοποιήσουν γειτονικούς ιστούς, την ύπαρξη μόλυνσης ή τραυματισμού και εκκρίνονται από τα μακροφάγα όταν αυτά διεγερθούν από βακτηριακά προϊόντα. Οι χημειοκίνες αποτελούν μία ομάδα προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών και ο ρόλος τους είναι να καθοδηγούν τα κύτταρα από το αίμα προς τους ιστούς. Οι αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες αναστέλλουν τη φλεγμονή και καταστέλλουν τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Είναι μια ομάδα μορίων με ανοσορυθμιστική δράση και περιορίζουν τη περίσσεια φλεγμονώδη απόκριση των προ φλεγμονωδών κυτταροκινών. (Liu, Dewei Chu, George, Young, & Liu, 2021).

### *Ιντερφερόνες (Interferons, IFNs)*

Αποτελούν μία ομάδα πρωτεϊνών προερχόμενων από λεμφοκύτταρα και μακροφάγα. Παρέχουν προστασία έναντι αρκετών ιών και δρουν περισσότερο στις οξείες λοιμώξεις. Υπάρχουν 3 είδη ανθρώπινων ιντερφερονών : η ιντερφερόνη-α (IFN-α), η ιντερφερόνη-β (IFN-β) και η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ). Η βασική δράση των IFN-α και IFN-β είναι η παρεμπόδιση του ιικού πολλαπλασιασμού. Παράγονται από κύτταρα που έχουν προσβληθεί από ιό. Αλληλεπιδρούν με υποδοχείς μεμβράνης μολυσμένων κυττάρων ή με το πυρήνα και επάγουν τη παραγωγή mRNA που κωδικοποιεί αντικές πρωτεΐνες. Η ιντερφερόνη-γ παράγεται από τα λεμφοκύτταρα και συμβάλλει στη καταστροφή των βακτηρίων από ουδετερόφιλα και μακροφάγα. Εκτός από την αντική τους δράση, παρουσιάζονται και ως αντικαρκινικές ουσίες (J.Tortora, Funke, & Case, 2017).

### *Το σύστημα του συμπληρώματος*

Όταν ένα παθογόνο φέρει PAMPs, οι οποίοι αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς, τότε ενεργοποιείται το σύστημα του συμπληρώματος. Το σύστημα του συμπληρώματος αποτελείται από ένα σύνολο πρωτεϊνών του πλάσματος και συντελεί ένα ακόμα όπλο ενάντια των παθογόνων (Μπούρα, 2019). Το σύστημα ονομάστηκε έτσι καθώς "συμπληρώνει", δηλαδή υποβοηθά τα κύτταρα του ανοσοποιητικού να καταπολεμήσουν τους ξένους οργανισμούς. Οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος μπορούν να καταστρέψουν τα μικρόβια με κυτταρόλυση, φλεγμονή και φαγοκυττάρωση (J.Tortora, Funke, & Case, 2017). Πριν την έναρξη της μόλυνσης οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος είναι ανενεργές. Όταν όμως το παθογόνο εισέλθει στον οργανισμό και προκαλέσει την έναρξη της λοίμωξης τότε οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος ενεργοποιούνται αλληλοδιαδόχως σαν καταρράκτης. Με αυτό το τρόπο, μία συνεχόμενη και διαδοχική ενεργοποίηση των πρωτεϊνών αυτών ξεκινά στο εξωκυττάριο υγρό στη περιοχή της φλεγμονής. Έχουν εντοπιστεί τρία μονοπάτια ενεργοποίησης του συστήματος του συμπληρώματος. Αυτά είναι : η **κλασική οδός**, η **εναλλακτική οδός** και η **οδός της λεκτίνης** (Μπούρα, 2019).

## Φλεγμονή

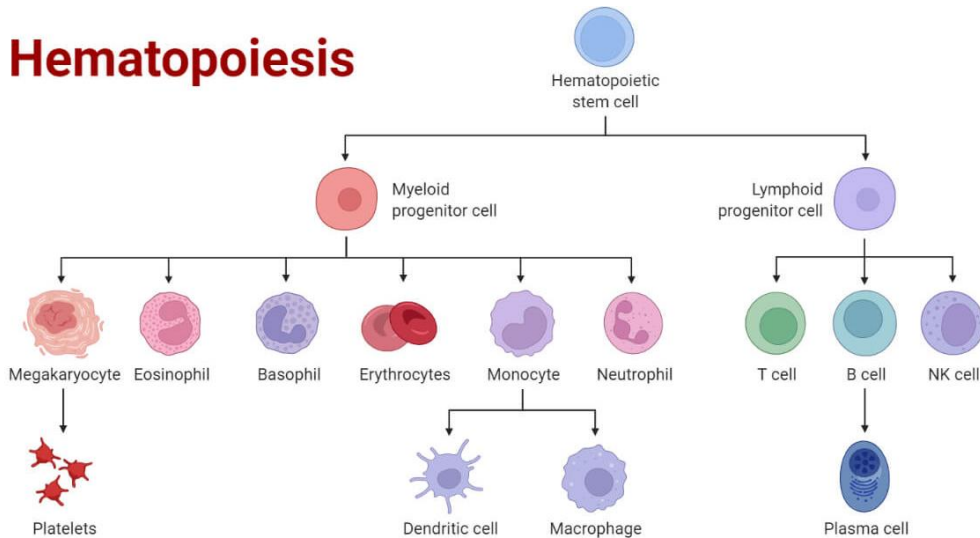
Η φλεγμονή αποτελεί βασικό μέρος της έμφυτης ανοσίας και χαρακτηρίζεται από την αύξηση της ροής του περιφερικού αίματος καθώς και της αγγειακής διαπερατότητας. Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής τα ενδοθηλιακά κύτταρα συστέλλονται ώστε να διευκολύνουν τη μετακίνηση των λευκοκυττάρων και την είσοδο των πρωτεϊνών του πλάσματος στο σημείο της μόλυνσης. Στο σημείο της βλάβης του ιστού, διάφορα επιθηλιακά ή ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν διαφορετικές ουσίες που περιλαμβάνουν ισταμίνη, λευκοτριένια και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και χημειοκίνες. Αυτές με τη σειρά τους προκαλούν χημειοταξία, δηλαδή μία κατευθυνόμενη κίνηση των κυττάρων και την εμφάνιση του μορίου κυτταρικής προσκόλλησης(CAM). Τα μόρια αυτά περιλαμβάνουν σελεκτίνες και ιντεργκρίνες και συμβάλλουν στην επικοινωνία των λευκοκυττάρων με το ενδοθήλιο και τη μετακίνηση τους στο σημείο του τραύματος. Τα πρώτα κύτταρα που μετακινούνται προς το σημείο της ιστικής βλάβης είναι τα ουδετερόφιλα, τα οποία αφθονούν και δρουν άμεσα. (Anaya, Shoenfeld, & Rojas-Villarraga, 2013).

### *Δραστικά κύτταρα της έμφυτης ανοσίας*

Το αίμα αποτελείται από ένα υγρό που ονομάζεται πλάσμα στο οποίο υπάρχουν έμμορφα στοιχεία, κύτταρα και κυτταρικά θραύσματα. Τα έμμορφα στοιχεία αποτελούνται από τα ερυθροκύτταρα, τα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια. Όλα τα κύτταρα αυτά προέρχονται από το μυελό των οστών και είναι προϊόντα αρχέγονων κυττάρων μέσω μίας διαδικασίας που καλείται αιμοποίηση. Η διαδικασία αυτή ξεκινάει από το πρώτο πολυδύναμο αρχέγονο κύτταρο το οποίο διαφοροποιείται σε δύο σειρές κυττάρων, τη μυελική και τη λεμφική σειρά (J.Tortora, Funke, & Case, 2017). Τα κύτταρα της φυσικής ανοσίας περιλαμβάνουν κύτταρα τόσο της μυελώδους όσο και της λεμφοειδούς σειράς. Ο ρόλος τους είναι να ασκούν αντιμικροβιακή και προστατευτική δράση μέσω της διαδικασίας της φαγοκυττάρωσης ή μέσω υποδοχέων, οξειδωτικών μηχανισμών και ενζύμων για τη καταστροφή των παθογόνων.

Τα κύτταρα της έμφυτης ανοσίας περιλαμβάνουν τα φαγοκύτταρα , τα επιθηλιακά κύτταρα , τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα φυσικούς φονείς, τα έμφυτα λεμφοειδή και τα αιμοπετάλια. Τα φαγοκύτταρα αποτελούνται από τα κοκκιοκύτταρα (ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα και μαστοκύτταρα), καθώς και από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τα δενδριτικά. (Gasteiger, et al., 2017).

# Hematopoiesis



**Εικόνα 1 Αιμοποίηση.** Η αιμοποίηση ξεκινά στο μυελό των οστών από ένα αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο. Από το πολυδύναμο αρχέγονο κύτταρο προκύπτει το κοινό μυελοειδές προγονικό κύτταρο και το κοινό λεμφοειδές προγονικό κύτταρο. Από το μυελοειδές προγονικό κύτταρο προκύπτουν τα ερυθροκύτταρα, τα αιμοπετάλια, τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα, τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα. Από τα μονοκύτταρα προκύπτουν τα δενδριτικά κύτταρα και τα μακροφάγα. Από το λεμφοειδές προγονικό κύτταρο προκύπτουν τα T και B λεμφοκυττάρων καθώς και τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK).

Ανακτήθηκε από <https://microbenotes.com/hematopoiesis/>, 2023.

Τα **ουδετερόφιλα** παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη καταστροφή των μικροβιακών παθογόνων αλλά και στη αποκατάσταση της ιστικής βλάβης. Φέρουν πολλούς υποδοχείς τύπου Toll στην επιφάνεια τους καθώς και υποδοχείς αναγνώρισης προτύπου PRR (Kuby, 2013). Έχουν την δυνατότητα να παράγουν δραστικά μόρια οξυγόνου, ασκώντας κυτταροτοξική δράση στα βακτηριακά παθογόνα. Επίσης συμβάλλουν στην επιδιόρθωση των ιστών ύστερα από βλάβη μέσω παραγωγής ειδικών ενζύμων. Η φαγοκυτταρική τους ιδιότητα τους επιτρέπει να συσσωρεύονται σε μεγάλες ποσότητες στο σημείο της μόλυνσης και να δεσμεύουν μικρόβια και αντιγόνα στο εσωτερικό τους καταστρέφοντας τα. (Charlin & David, 2010). Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα μέσω μορίων προσκόλλησης, όπως οι ιντεργκρίνες προσκολλώνται στο ενδοθήλιο όπου συμβαίνει η ιστική βλάβη ή μόλυνση. Έτσι μέσω της φαγοκυττάρωσης και των μικροβιοκτόνων ουσιών που εκκρίνουν τα κοκκία τους μπορούν να ελαττώσουν την ανάπτυξη των παθογόνων. (Μπούρα, 2019).

Τα **ηωσινόφιλα** καταστρέφουν μικροβιακά παθογόνα, κυρίως παράσιτα και παίρνουν μέρος σε αλλεργικές διεργασίες. Μέσω της αποκοκκίωσης τους, απελευθερώνουν ισταμίνη, κατιονικές πρωτεΐνες, σουλφατάσες και χημειοτακτικούς παράγοντες όπως λευκοτριένια και προσταγλανδίνες. Η αποκοκκίωση τους προκαλείται από την IgE ανοσοσφαιρίνη ή άλλους χημειοτακτικούς παράγοντες όπως η ιντερλευκίνη 5(IL-5) (Anaya, Shoenfeld, & Rojas-Villarraga, 2013).

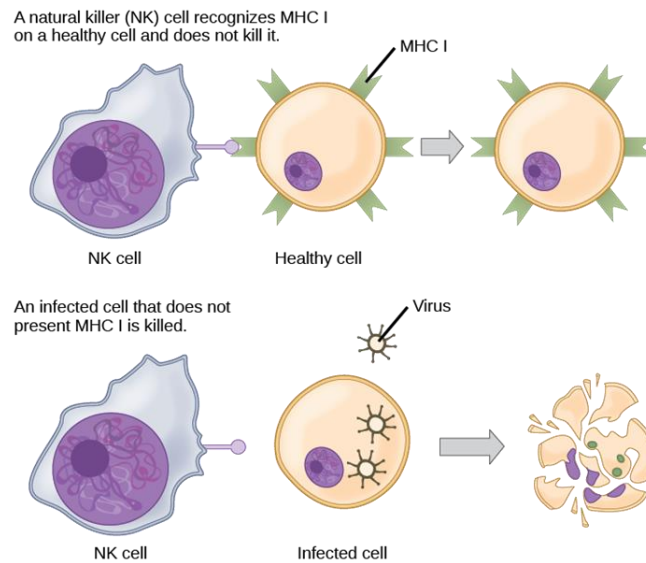
Τα **βασεόφιλα** και τα **μαστοκύτταρα** δεν παρουσιάζουν φαγοκυτταρικές ιδιότητες. Τα μαστοκύτταρα συναντώνται στους ιστούς κυρίως στο βλεννογόνο, και τα κοκκία τους περιέχουν ηπαρίνη, σεροτονίνη και ισταμίνη. Επίσης έχουν την ικανότητα να απελευθερώνουν κυτοκίνες σε μια φλεγμονή. Παρουσιάζουν αντιαλλεργικές δράσεις και εμπλέκονται σε ιογενείς διεργασίες. Εκφράζουν διάφορους υποδοχείς όπως το TLR-1, -2, -4 και -6, τους υποδοχείς συμπληρώματος, τους υποδοχείς μαννόζης στη κυτταρική τους μεμβράνη και απελευθερώνουν TFN-α, IL-8 καθώς και άλλους φλεγμονώδεις μεσολαβητές

Τα **μονοκύτταρα/μακροφάγα** αποτελούν σημαντικούς παράγοντες τόσο της έμφυτης όσο και της προσαρμοστικής ανοσίας. Τα μονοκύτταρα κυκλοφορούν στο περιφερικό αίμα ως ανενεργά φαγοκύτταρα και μεταναστεύουν σε όλους τους ιστούς, μετασχηματίζονται σε ώριμα μακροφάγα. Χαρακτηριστικά μακροφάγα ιστών είναι τα ιστιοκύτταρα συνδετικού ιστού και του δέρματος, τα κυψελιδικά μακροφάγα του πνεύμονα, τα κύτταρα Kupfer του ήπατος, τα μεσαγγειακά κύτταρα του νεφρού και τα μικρογλοιακά κύτταρα του εγκεφάλου. Τα μακροφάγα παρουσιάζουν αρκετές λειτουργίες. Δρουν ως φαγοκύτταρα με σκοπό να περιορίσουν τη μικροβιακή διασπορά ή εσωτερικεύουν παθογόνα μέσα στα φαγοσώματα σκοτώνοντας τα αποτελεσματικά μέσω πολλών αντιμικροβιακών παραγόντων όπως ενεργές ρίζες οξυγόνου και αζώτου. Παρουσιάζουν αντιγόνα και ενεργοποιούν λεμφοκύτταρα της ειδικής ανοσίας, απελευθερώνουν χημειοκίνες για τη συσσώρευση των κυττάρων στη θέση της φλεγμονής, συμβάλλουν στην αναδιοργάνωση των ιστών μετά τη φλεγμονή και παράγουν κυτταροτοξικούς παράγοντες (Μπούρα, 2019).

Τα **δενδριτικά κύτταρα** (dendritic cells) ενεργούν συνδέοντας τη φυσική με την επίκτητη ανοσία. Αποτελούν αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα καθώς παρουσιάζουν αντιγόνα στα ειδικά λεμφοκύτταρα με σκοπό την έναρξη της ειδικής ανοσολογικής απόκρισης. Εντοπίζονται στις επιφάνειες του δέρματος και των βλεννογόνων, συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των T κυττάρων για τη παροχή κυτταρικής ανοσίας έναντι παθογόνων και παράγουν κυρίως IFN-α στη φυσική ανοσία έναντι των ιών. (Anaya, Shoenfeld, & Rojas-Villarraga, 2013).

Τα **κύτταρα φυσικοί φονείς** (Natural Killer cells, NK) βρίσκονται στο αίμα, στο σπλήνα, στους λεμφαδένες και στον ερυθρό μυελό των οστών και παίρνουν μέρος σε ανοσολογικές αποκρίσεις ενάντια καρκινικών ή μολυσμένων με ιούς κυττάρων. Χαρακτηρίζονται από ένα σύνολο διάφορων υποδοχέων στην επιφάνεια τους, όπως κυτταρικοί υποδοχείς (TCR) που αλληλεπιδρούν με μόρια CD1(μόρια που μοιάζουν με τα μόρια MHC), υποδοχείς ενεργοποίησης και ανασταλτικούς υποδοχείς στην επιφάνεια τους (Μπούρα, 2019). Οι υποδοχείς ενεργοποίησης αναγνωρίζουν πρωτεΐνες που παράγονται μετά από κυτταρικό «stress» λόγω λοίμωξης, ή υψηλής θερμοκρασίας. Ο υποδοχέας **CD16**, ένας από τους κύριους υποδοχείς της μεμβράνης των NK κυττάρων, συνδέεται με τη περιοχή Fc του αντισώματος και με αυτόν το τρόπο συμβάλλει στη καταστροφή των κυττάρων-στόχων. Τα περισσότερα υγιή κύτταρα παρουσιάζουν στην επιφάνεια τους υποδοχείς MHC I. Οι ανασταλτικοί υποδοχείς των NK κυττάρων αναγνωρίζουν το συγγενές MHC I και με αυτόν τον τρόπο αποτρέπεται η καταστροφή των φυσιολογικών κυττάρων από τα NK κύτταρα (Mackay & Rosen, 2007). Όταν τα NK κύτταρα συνδεθούν με κύτταρα-στόχους τότε απελευθερώνονται διάφορες τοξικές ουσίες από τα κοκκία τους. Μέσω της περφορίνης προκαλούν κυτταρόλυση στο κύτταρο-στόχο, δηλαδή εισροή εξωκυττάρου υγρού και λύση κυττάρου ή μέσω ορισμένων πρωτεολυτικών ενζύμων προκαλούν την απόπτωση(αυτοκαταστροφή) του κυττάρου- στόχου. Επί πρόσθετα τα NK κύτταρα παράγουν ιντερφερόνη-γ και TFN-α οι οποίες

δρουν σε άλλα ανοσοποιητικά κύτταρα όπως τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα για την ενίσχυση της ανοσολογικής απόκρισης (Μπούρα, 2019).



**Εικόνα 2 Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK) αναγνωρίζουν τον υποδοχέα του μορίου MHC I σε υγιή κύτταρα. Εάν το μόριο MHC I απουσιάζει, για παράδειγμα σε ένα κύτταρο που έχει μολυνθεί από ιό, τότε το κύτταρο αυτό λύεται. Ανακτήθηκε από <https://opentextbc.ca/biology/chapter/23-2-adaptive-immune-response/>, 10/2022**

## 1.2 Προσαρμοστική ανοσία

Η προσαρμοστική ή επίκτητη ανοσολογική απόκριση ενεργοποιείται μέσα σε μέρες ή και εβδομάδες, δηλαδή έπεται της φυσικής ανοσίας. Η δράση της ξεκινά όταν η έμφυτη ανοσοαπόκριση είναι ανεπαρκής και η λοίμωξη δεν μπορεί να αντιμετωπιστεί. Βασικό χαρακτηριστικό της προσαρμοστικής ανοσίας είναι η ειδικότητα που παρουσιάζουν τα κύτταρα της, τα οποία αποτελούνται από B και T λεμφοκύτταρα. Η αναγνώριση των αντιγόνων από τα T και B κύτταρα βασίζεται στην ύπαρξη μικρών συστατικών που ονομάζονται επίτοποι ή αλλιώς αντιγονικοί καθοριστικοί παράγοντες και όχι στην ύπαρξη ολόκληρου του αντιγόνου (Gair, Molnar, & Jane, 2015). Η ειδική ανοσία χωρίζεται σε δύο μέρη, στη **χυμική ανοσία**, η οποία ρυθμίζεται από ενεργοποιημένα B κύτταρα και αντισώματα και από τη **κυτταρική ανοσία** στην οποία παίρνουν μέρος τα T κύτταρα. Τα διεγερμένα B και T κύτταρα, δρουν με διαφορετικούς μηχανισμούς όμως με κοινό στόχο, την εξόντωση του παθογόνου που έχει εισβάλλει στον οργανισμό. Στη χυμική ανοσία τα B κύτταρα ενεργοποιούνται και εκκρίνουν πρωτεΐνες που καλούνται **ανοσοσφαιρίνες**. Οι ανοσοσφαιρίνες αυτές ή αλλιώς **αντισώματα** κυκλοφορούν στο αίμα και αλληλεπιδρούν ειδικά με το αντιγόνο που προκάλεσε την έκκριση τους. Με αυτό το τρόπο τα αντισώματα δεν επιτρέπουν στο αντιγόνο να συνδεθεί με υποδοχείς κυττάρων του οργανισμού για να τα καταστρέψουν. Στη κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση τα ενεργοποιημένα T κύτταρα αλληλεπιδρούν απευθείας με το αντιγόνο το οποίο παρουσιάζουν τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα του ξενιστή. (Albert B, 2002). Το κοινό χαρακτηριστικό των T και B κυττάρων εκτός από την ύπαρξη υποδοχέων συμπληρωματικών με αντιγόνο είναι ότι κάθε κύτταρο εκφράζει έναν μόνο τύπο

υποδοχέα αντιγόνου. Ένα ακόμα χαρακτηριστικό της επίκτητης ανοσίας είναι η **ανοσολογική μνήμη**, η οποία προσδίδει στον οργανισμό την ικανότητα της γρήγορης και αποτελεσματικής αντιμετώπισης κάποιας επαναλοίμωξης από τον ίδιο παθογόνο. Η διαδικασία αυτή εκτελείται από ένα υποσύνολο αρχέγονων πληθυσμών που διαφοροποιείται σε Β και Τ κύτταρα μνήμης. Τα κύτταρα αυτά παραμένουν αδρανή και δεν συμβάλλουν στην άμυνα του ξενιστή σε μία νέα εισβολή ξένου οργανισμού (πρωτογενής ανοσιακή απόκριση) αλλά σε περιπτώσεις εκ νέου έκθεσης στο ίδιο παθογόνο (δευτερογενής ανοσοαπόκριση), μετατρέπονται σε τελεστικά κύτταρα και το εξουδετερώνουν. (Gair, Molnar, & Jane, 2015). Η δυνατότητα ενός μεγάλου συνόλου λεμφοκυττάρων να εξειδικεύονται και να αναγνωρίζουν ένα υπέρογκο ρεπερτόριο αντιγόνων προσδίδει στην επίκτητη ανοσία το γνώρισμα της ποικιλομορφίας. «**Ποικιλομορφία** είναι το αποτέλεσμα της μεταβλητότητας στις δομές των θέσεων δέσμευσης του αντιγόνου στους υποδοχείς λεμφοκυττάρων» (Μπούρα, 2019). Η **αναγνώριση εαυτού/μη εαυτού** αποτελεί άλλη μία ιδιότητα της προσαρμοστικής ανοσολογικής απάντησης. Η ιδιότητα αυτή αφορά την ικανότητα του οργανισμού να αναγνωρίζει και να αντιμετωπίζει τα ξένα αντιγόνα και να μην αντιδρά στα αντιγόνα που υπάρχουν στον ίδιο τον οργανισμό, δηλαδή στα αυτοαντιγόνα. Αυτό επιτυγχάνεται από την απομάκρυνση λεμφοκυττάρων που παρουσιάζουν στην επιφάνεια τους υποδοχείς για ορισμένα αυτοαντιγόνα. (Kuby, 2013).

### 1.2.1 Ειδική Τ διαμεσολαβούμενη ανοσιακή απόκριση - Κυτταρική ανοσία

Στη κυτταρική ανοσία πραγματοποιούνται τρεις φάσεις. Στη πρώτη φάση γίνεται η ανίχνευση του αντιγόνου. Στη δεύτερη φάση τα λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται και διαφοροποιούνται είτε σε δραστικά κύτταρα είτε σε κύτταρα μνήμης. Στη τρίτη φάση τα δραστικά κύτταρα εκτελούν εξειδικευμένες λειτουργίες με στόχο την εξουδετέρωση του αντιγόνου (Μπούρα, 2019). Όπως προαναφέρθηκε, στη κυτταρική ανοσία παίρνουν μέρος τα Τ λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά προέρχονται από βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών όπου στη συνέχεια ωριμάζουν στο θύμο αδένα, και μεταναστεύουν στη κυκλοφορία του αίματος περνώντας και από τα όργανα του λεμφικού συστήματος. Τα Τ κύτταρα που δεν έχουν αλληλεπιδράσει με κάποιο αντιγόνο καλούνται πρόδρομα κύτταρα. Για να μπορέσει ένα πρόδρομο Τ κύτταρο να μετατραπεί σε δραστικό, θα πρέπει να έρθει σε επαφή με αντιγόνο, όπου αυτό θα προκαλέσει το πολλαπλασιασμό του κυττάρου και τη διαφοροποίησή του (Jeneway CA, 2001). Η αναγνώριση των αντιγόνων από τα Τ κύτταρα γίνεται από τους **αντιγονικούς υποδοχείς** της επιφάνειας τους που ονομάζονται **TCRs (T cell Receptors)**. Οι υποδοχείς αυτοί μοιάζουν αρκετά με τα μόρια των ανοσοσφαιρινών. Συντελούνται είτε από ένα ζεύγος αλυσίδων α και β είτε από ένα ζεύγος γ και δ. Οι αβTCR υποδοχείς υπάρχουν στα περισσότερα Τ κύτταρα ενώ οι γδTCR εντοπίζονται σε μικρότερο πληθυσμό. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τους υποδοχείς των Τ κυττάρων αναδιατάσσονται με αποτέλεσμα κάθε κύτταρο να καθορίζεται ειδικά για ένα αντιγόνο. Η ενεργοποίηση των Τ κυττάρων γίνεται με τη σύνδεση των TCR στα αντιγονικά πεπτίδια τα οποία αλληλεπιδρούν με **μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC)**. Τα Τ κύτταρα που εκφράζουν στην επιφάνεια τους μόρια **CD4** αναγνωρίζουν αντιγόνα μέσω μορίων MHC τάξης II. Τα κύτταρα αυτά στη συνέχεια διαφοροποιούνται σε **βοηθητικά Τ κύτταρα (TH)**. Από την άλλη Τ κύτταρα που εκφράζουν στην επιφάνεια τους μόρια **CD8** αναγνωρίζουν αντιγόνα μέσω μορίων MHC τάξης I. Τα κύτταρα αυτά στη συνέχεια διαφοροποιούνται σε **Τ κυτταροτοξικά κύτταρα (CTLs)**. Τα μόρια MHC εκφράζονται στις επιφάνειες των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. Τα **αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα** εντοπίζονται στο δέρμα και στους βλεννογόνους δηλαδή στο μέρος όπου είναι πιο πιθανό να εντοπίσουν κάποιο παθογόνο, και στη συνέχεια, αφού συνδεθούν με

το αντιγόνο, μεταφέρονται στους περιφερειακούς λεμφαδένες αλληλεπιδρώντας με τα Τ κύτταρα. Όταν τα Τ κύτταρα αναγνωρίσουν το σύμπλεγμα αντιγόνου/MHC σε ένα αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο, τότε ο υποδοχέας TCR ενώνεται με το αντιγόνο και δημιουργείται ένα τριμοριακό σύμπλεγμα. Το σύμπλεγμα αυτό σταθεροποιείται από ιντεργκρίνες και λειτουργεί ως **πρωταρχικός σηματοδότης** για την έναρξη της ειδικής ανοσοαπόκρισης (Bonilla & Hans, 2010).

### *Τ Βοηθητικά κύτταρα (TH)*

Η μεγαλύτερη ομάδα Τ κυττάρων στο σώμα είναι τα Τ βοηθητικά κύτταρα (TH). Τα Τ βοηθητικά κύτταρα παίρνουν μέρος έμμεσα στον εντοπισμό κάποιου παθογόνου βοηθώντας άλλα κύτταρα να το εξοντώσουν. Χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα **βοηθητικά κύτταρα 1, TH1** και τα **βοηθητικά κύτταρα 2, TH2**. Τα TH1 εκκρίνουν κυτοκίνες επάγοντας έτσι τη δράση των μακροφάγων καθώς και άλλων Τ κυττάρων, ενώ τα TH2 επάγουν την ενεργοποίηση των Β κυττάρων με αποτέλεσμα τη έκκριση αντισωμάτων. Η ύπαρξη ανοσολογικής απόκρισης TH1 ή TH2 εξαρτάται από τη φύση του εισβάλλοντος παθογόνου. Η απόκριση από τα TH1 κύτταρα συνδέεται με τη δράση των μακροφάγων στη φυσική ανοσολογική απόκριση. Συγκεκριμένα ορισμένα ενδοκυτταρικά βακτήρια φαγοκυτταρώνονται και πολλαπλασιάζονται μέσα στα φαγοκύτταρα και η δράση των TH1 κυττάρων είναι να διεγείρουν τις φαγοκυτταρικές ικανότητες των μακροφάγων αυτών ώστε να εξοντώσουν αποτελεσματικότερα τον αποικισμό των βακτηρίων. Από την άλλη τα TH2 κύτταρα δρουν ενάντια σε εξωκυττάρια παθογόνα (Gair, Molnar, & Jane, 2015). Ένας ακόμα διαχωρισμός των TH κυττάρων έχει να κάνει με το είδος των κυτταροκινών που εκκρίνει κάθε κατηγορία. Τα TH1 κύτταρα παράγουν IFN- $\gamma$  και IL-2 σε αντίθεση με τα TH2 κύτταρα που εκκρίνουν IL-4, IL-5, IL-10 και IL-13 (Bonilla & Hans, 2010).

### *Τ κυτταροτοξικά κύτταρα (CTLs)*

Άλλη μια σημαντική κατηγορία Τ κυττάρων είναι τα κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CTLs). Επιτίθενται και καταστρέφουν κυρίως κύτταρα μολυσμένα από ιούς. Τα δραστικά CTLs προέρχονται τα παρθένα CTLs. Ένα παρθένο CTL για να μετατραπεί σε ένα ώριμο CTL, θα πρέπει να αλληλεπιδράσει με ένα αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο όπως ένα δενδριτικό. Το κύτταρο αυτό παράλληλα συνδέεται με ένα TH1 το οποίο αναγνωρίζει ένα επεξεργασμένο αντιγόνο μέσω των μορίων MHC τάξης II. Η ενεργοποίηση των παρθένων CTLs προϋποθέτει επίσης την αλληλεπίδραση των CD40 του δενδριτικού κυττάρου με το CD40L των TH1 κυττάρων. Η συνδιέγερση αυτή προκαλεί την έκφραση υποδοχέων IL-2 από τα CTLs προάγοντας την ενεργοποίησή τους σε δραστικά κύτταρα (Kuby, 2013). Η βασική διαδικασία κυτταροτοξικής δράσης των CTLs περιλαμβάνει τη σύζευξη του CTL με το κύτταρο-στόχο, την επίθεση στη μεμβράνη, την απομάκρυνση του CTL και τέλος την αποσύνθεση του κυττάρου-στόχου. Υπάρχουν δύο τρόποι κυτταροτοξικής δράσης των CTLs. Ο πρώτος τρόπος αφορά το μονοπάτι της περφορίνης. Το κυτταροτοξικό κύτταρο Τ αφού αναγνωρίσει το αντιγόνο μέσω μορίων MHC τάξης I που βρίσκεται στο κύτταρο-στόχο, δημιουργεί ένα μεμβρανικό σύμπλεγμα μεταξύ αυτού και του κυττάρου-στόχου. Η σύνδεση των δύο μεμβρανών έχει ως αποτέλεσμα τη μεταφορά του περιεχομένου των τοξικών κοκκίων του CTL στο εσωτερικό του κυττάρου-στόχου. Στα κυτταροτοξικά κοκκία περιέχονται κυτταροτοξικά μόρια όπως η περφορίνη. Ακόμα τα CTLs εκκρίνουν TFN- $\beta$  που συμβάλει στην απόπτωση του κυττάρου στόχου. Η μεταφορά των μορίων αυτών πραγματοποιείται μέσω πολλών πόρων περφορίνης. Ο δεύτερος τρόπος δράσης αφορά το μονοπάτι FasL/Fas διαμεσολαβούμενης κυτταροτοξικότητας και σχετίζεται με την εξάλειψη των ανεπιθύμητων Τ κυττάρων.



Στο μονοπάτι αυτό μία πρωτεΐνη μεμβράνης του CTL, που καλείται CD95 συνδέτης ή αλλιώς FasL, ενώνεται με τον υποδοχέα θανάτου του κυττάρου στόχου που ονομάζεται CD95(Fas). Η σύνδεση αυτή δημιουργεί ένα τριμερές σύμπλεγμα που σηματοδοτεί το κυτταρικό θάνατο (Μπούρα, 2019).

### *T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (Tregs)*

Μία άλλη κατηγορία T κυττάρων είναι τα ρυθμιστικά T λεμφοκύτταρα (Tregs). Ο ρόλος των κυττάρων αυτών είναι να ρυθμίζουν τη δραστικότητα της ανοσιακής απάντησης καθώς και να επαναφέρουν τον οργανισμό σε μία ομαλότητα. Ακόμα αποτελούν σημαντικό κομμάτι της πρόληψης των αυτοάνοσων ασθενειών και δρουν έναντι των αυτοαντιγόνων. Παίρνουν μέρος στη διατήρηση της ανοσολογικής ομοιόστασης εξαλείφοντας τα αυτοαντιδραστικά T κύτταρα. Χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση της αλυσίδας του υποδοχέα της IL-2 στην επιφάνεια τους, από την έκφραση μορίων CD25 καθώς και από την παρουσία ενός μεταγραφικού παράγοντα FOXP3 που παράγεται από το γονίδιο FOXP3. Η ενεργοποίηση των Tregs εξαρτάται από την ειδικότητα τους στο αντιγόνο με συνέπεια οι κατασταλτικές λειτουργίες τους να εξαρτώνται από αυτό. (Grover, Goel, & Greene, 2021)

## 1.2.2 Χυμική ανοσία και ενεργοποίηση B κυττάρων

Η χυμική ανοσία αποτελεί έναν μηχανισμό της προσαρμοστικής ανοσίας και χαρακτηρίζεται από τη παραγωγή αντισωμάτων από τα B λεμφοκύτταρα τα οποία παράγονται και αναπτύσσονται στο μυελό των οστών. Τα αντισώματα εμφανίζονται πρώτη φορά στη κυτταρική επιφάνεια των B κυττάρων ως υποδοχείς και κάθε B κύτταρο που αναπτύσσεται, παρουσιάζει έναν **μοναδικό υποδοχέα BCR (B cell receptor)**. Η μοναδικότητα αυτή επιτυγχάνεται μέσω διαφόρων αναδιατάξεων ορισμένων γονιδίων προσδίδοντας στα κύτταρα B τη δυνατότητα αναγνώρισης ενός μεγάλου ρεπερτορίου αντιγόνων. Τα B κύτταρα ενεργοποιούνται όταν τα αντισώματα τους που δρουν ως υποδοχείς συνδεθούν με το αντίστοιχο αντιγόνο και έτσι ξεκινά η διαφοροποίηση τους (Feldweg, 2022). Παράλληλα μπορούν να αλληλεπιδράσουν με το αντιγόνο και με μη ειδικό τρόπο. Έχουν τη δυνατότητα να δράσουν σαν αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα λαμβάνοντας το αντιγόνο και εμφανίζοντας το σε μορφή αντιγονικών κλασμάτων στην επιφάνεια τους. Σε αντίθεση με τα T κύτταρα, τα B κύτταρα δεν χρειάζονται αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα ούτε μόρια MHC για να αντιδράσουν οι ειδικοί αντιγονικοί υποδοχείς τους με το αντιγόνο. Η γενική δομή των υποδοχέων είναι πανομοιότυπη. Η μόνη δομική τους διαφοροποίηση έγκειται στη περιοχή στην οποία δεσμεύουν το αντιγόνο. Η δομική αυτή διαφοροποίηση μεταξύ των θέσεων πρόσδεσης αντιγόνου επιτρέπει στα διαφορετικά κύτταρα B να αναγνωρίζουν διαφορετικά αντιγόνα. Η σύνδεση των υποδοχέων B κυττάρων με τον επίτοπο του αντιγόνου γίνεται με συμπληρωματικό τρόπο και πυροδοτεί την ενεργοποίηση παραγωγής αντισωμάτων από τα B κύτταρα (M, Jr, & al., 2001). Ορισμένα ενεργοποιημένα κύτταρα B, αρχίζουν να διαιρούνται και να διαφοροποιούνται σε δραστικά κύτταρα που καλούνται **πλασματοκύτταρα** και ορισμένα άλλα

σε **B κύτταρα μνήμης**. Τα ώριμα πλασματοκύτταρα εκκρίνουν εκατομμύρια αντισώματα στη κυκλοφορία του αίματος και στο λεμφικό σύστημα και ο χρόνος ζωής τους διαρκεί μερικές μέρες. Τα κύτταρα μνήμης ζουν για περισσότερο καιρό και παρουσιάζουν στη μεμβράνη τους τις ίδιες ανοσοσφαιρίνες με το κύτταρο από το οποίο προήλθαν. Τα κύτταρα αυτά είναι έτοιμα να ανταποκριθούν σε μια επανέκθεση στο ίδιο αντιγόνο και να το καταπολεμήσουν (Kuby, 2013).

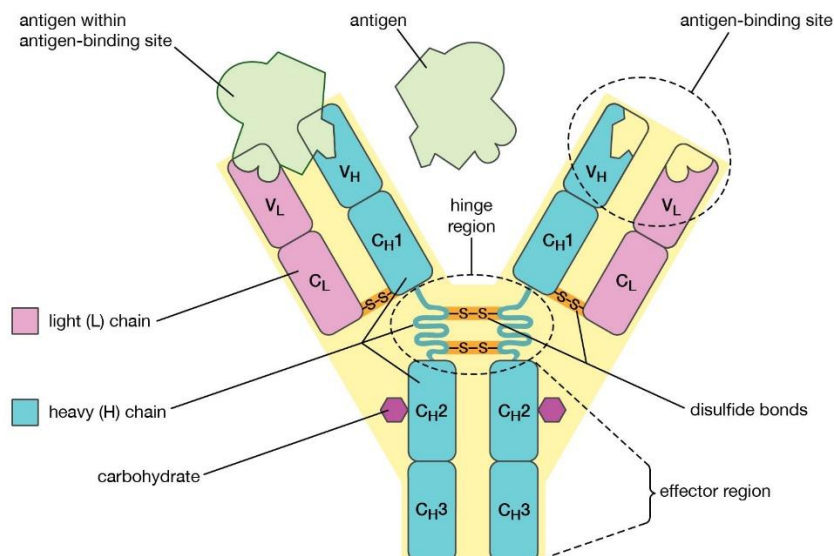
## 1.3 Αντισώματα

### 1.3.1 Δομή και Κατηγορίες

Τα αντισώματα είναι γλυκοπρωτεΐνες που εντοπίζονται στο πλάσμα και στα υγρά των ιστών όλων των θηλαστικών. Μπορούν να πάρουν τη μορφή είτε μεμβρανοσυνδεδεμένων υποδοχέων στην επιφάνεια των B κυττάρων είτε τη μορφή διαλυτών μορίων εκκρινόμενων από τα πλασματοκύτταρα (David Male, 2018). Η βασική δομή των αντισωμάτων καθορίζεται από δύο ζεύγη πολυπεπτιδικών αλυσίδων που σχηματίζουν ένα εύκαμπτο σχήμα Y. Το ένα ζεύγος αποτελείται από δύο πανομοιότυπες βαριές αλυσίδες και το άλλο από δύο πανομοιότυπες ελαφριές αλυσίδες οι οποίες συγκρατούνται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Το κάτω άκρο του μορίου αποτελείται από τις δύο βαριές αλυσίδες οι οποίες σχηματίζουν μία περιοχή που ονομάζεται **σταθερή περιοχή Fc** και είναι απαραίτητη για τη λειτουργία του αντισώματος κατά τη διάρκεια της ανοσολογικής απόκρισης. Η περιοχή Fc διαθέτει μία θέση δέσμευσης για υποδοχείς Fc στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων ή για τη δέσμευση ενός δευτερογενούς αντισώματος. Τα δύο πάνω άκρα του μορίου αποτελούνται το καθένα από το υπόλοιπο τμήμα της βαριάς αλυσίδας και από μία ελαφριά αλυσίδα σχηματίζοντας δύο μεταβλητές περιοχές που αντιστοιχούν στα τμήματα Fab. Τα τμήματα Fab του μορίου χαρακτηρίζονται από εξειδίκευση και συμπληρωματικότητα προς τον αντιγονικό επίτοπο των ξένων πρωτεϊνικών μορίων. Έτσι κάθε αντίσωμα έχει δύο πανομοιότυπες θέσεις πρόσδεσης αντιγόνου, μία στο τέλος κάθε βραχίονα και οι θέσεις αυτές διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των αντισωμάτων (Parkin & Bryony Cohen, 2001). Στις περισσότερες ανοσοσφαιρίνες, μεταξύ των Fab και Fc περιοχών υπάρχει ένα ευλύγιστο τμήμα που ονομάζεται **περιοχή άρθρωσης(hinge region)**, και βοηθά τα τμήματα Fab να μετακινούνται ανεξάρτητα το ένα με το άλλο. (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2018).

Κάθε βαριά αλυσίδα αποτελείται από δύο περιοχές, τη **σταθερή (constant region,C)** με τρία ή τέσσερα τμήματα και τη **μεταβλητή (variable region,V)**. Η κάθε περιοχή αναδιπλώνεται δημιουργώντας μία τρισδιάστατη μορφή. Η μορφή αυτή χαρακτηρίζεται από δύο δομές β-πτυχωτού φύλλου που συγκρατούνται μαζί μέσω δισουλφιδικής γέφυρας. Οι διαδοχικές αλυσίδες κάθε β-πτυχωτού φύλλου συνδέονται με μικρές προεξέχουσες θηλιές. Οι θηλιές αυτές δημιουργούν τρεις **υπερμεταβλητές περιοχές (CDRs)** που σχετίζονται με την αναγνώριση του αντιγόνου. Κάθε μεταβλητή περιοχή της βαριάς ή της ελαφριάς αλυσίδας περιέχει τρεις υπερμεταβλητές περιοχές (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2018). Τα αντισώματα με τον ίδιο ισότυπο, δηλαδή με τον ίδιο τύπο βαριάς αλυσίδας έχουν πανομοιότυπη σταθερή περιοχή. Η μεταβλητή περιοχή της βαριάς αλυσίδας εξαρτάται από τη προέλευση του αντισώματος. Αντισώματα που προέρχονται από το ίδιο κύτταρο B ή από τον ίδιο κλώνο B κυττάρων αποτελούνται από την ίδια μεταβλητή περιοχή.

Οι ελαφριές αλυσίδες παρουσιάζουν δύο μορφές, τη **κάπα (κ)** και τη **λάμδα (λ)**, οι οποίες διαφέρουν ελάχιστα όσο αφορά την αλληλουχία των πεπτιδίων τους. Και οι δύο τύποι ελαφριών αλυσίδων μπορούν να συνδυαστούν με οποιονδήποτε τύπο βαριάς αλυσίδας αλλά σε κάθε μόριο ανοσοσφαιρίνης υπάρχει μόνο ένας τύπος ελαφριάς αλυσίδας. Το μήκος τους κυμαίνεται περίπου από 211 έως 217 αμινοξέα. Όπως και η βαριά έτσι και η ελαφριά αλυσίδα αποτελείται από τη σταθερή περιοχή (CL) και από τη μεταβλητή περιοχή (VL) (Chiu, Goulet, Terlyakov, & Gilliland, 2019).



**Εικόνα 3** Δομική απεικόνιση ενός μορίου αντισώματος. Οι γαλάζιες περιοχές αντιστοιχούν στις βαριές αλυσίδες ενώ οι μωβ στις ελαφριές. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί ενώνουν τις βαριές αλυσίδες μεταξύ τους καθώς και τις ελαφριές αντίστοιχα. Κάθε αλυσίδα αποτελείται από μία μεταβλητή(V) περιοχή και μια σταθερή(C) περιοχή. Το αντιγόνο συνδέεται με τη περιοχή Fab του αντισώματος που αντιστοιχεί στις μεταβλητές περιοχές των αλυσίδων(VH και VL).

ανακτήθηκε από <https://www.britannica.com/science/antibody> 12/2022

Η **τάξη** ή ο **ισότυπος** ενός αντισώματος σχετίζεται με το τύπο της βαριάς αλυσίδας που αποτελείται. Υπάρχουν πέντε τύποι βαριών αλυσίδων : α, δ, ε, γ και μ και εντοπίζονται στα αντισώματα IgA, IgD, IgE, IgG και IgM αντίστοιχα. Οι ισότυποι αυτοί διαφέρουν μεταξύ τους στο μέγεθος, στο ηλεκτρικό φορτίο, στη σύνθεση των αμινοξέων και στο περιεχόμενο σε υδατάνθρακες (Roitt, 2004).

**Ανοσοσφαιρίνη IgG.** Χαρακτηρίζεται ως η πιο άφθονη κατηγορία στον ορό (80% των ανοσοσφαιρινών) και έχει το μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής. Αποτελείται από 2 βαριές γ αλυσίδες και δύο ελαφριές κ ή λ. Οι δομικές και αντιγονικές διαφορές στη σταθερή περιοχή της βαριάς αλυσίδας καθορίζουν τέσσερις υποτάξεις IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). Οι υποτάξεις αυτές παρουσιάζουν διαφορετικές λειτουργικές δραστηριότητες. Οι IgG1, IgG3 και IgG4 παρουσιάζουν μεγάλη ευκολία στη διαπλακουντιακή μεταφορά προσφέροντας προστασία στο έμβρυο. Η IgG3 παίρνει δραστικά μέρος στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος ενώ η IgG4 δεν το ενεργοποιεί καθόλου. Τέλος, οι IgG1 και IgG3 παρουσιάζουν υψηλή συγγένεια δέσμευσης με τον Fc υποδοχέα των φαγοκυττάρων και για αυτόν το λόγο επάγουν τον οψωνισμό.

**Ανοσοσφαιρίνη IgM.** Αποτελεί το 5-10% των ανοσοσφαιρινών στον ορό. Παρουσιάζεται σε μονομερή μορφή στην επιφάνεια των Β κυττάρων ενώ όταν εκκρίνεται από τα πλασματοκύτταρα εμφανίζεται ως πολυμερής, συνήθως πενταμερής. Στη πολυμερή μορφή, οι IgM μονάδες συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η πενταμερής IgM περιέχει μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, την αλυσίδα J, η οποία διευκολύνει την έκκριση της ανοσοσφαιρίνης στις επιφάνειες των βλεννογόνων. Η IgM αποτελεί τη πρώτη ανοσοσφαιρίνη που εκφράζεται κατά την ανάπτυξη των Β κυττάρων. Σχετίζεται με τη πρωτογενή ανοσολογική απόκριση καθώς και με τη διάγνωση της οξείας έκθεσης σε ένα παθογόνο. Παράλληλα συμβάλει στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος.

**Ανοσοσφαιρίνη IgA.** Αποτελεί το 15-20% των ανοσοσφαιρινών στον ορό. Η βασική της μορφή στον ορό είναι μονομερής, παρόλα αυτά στο βλεννογόνο, που εμφανίζεται σε εκκριτική μορφή, εμφανίζεται ως διμερές και ονομάζεται εκκριτική IgA. Όπως στο πολυμερές της ανοσοσφαιρίνης IgM έτσι και στο πολυμερές IgA περιλαμβάνεται μία αλυσίδα J, και μία πολυπεπτιδική αλυσίδα που καλείται εκκριτικό συστατικό. Η IgA αποτελεί τη κύρια ανοσοσφαιρίνη των εκκρίσεων όπως το γάλα, το σάλιο, τα δάκρυα και τη βλέννη. Προσφέρει προστασία στους βλεννογόνους από τοξίνες, ιούς και βακτήρια καθώς λειτουργεί ως πύλη εισόδου και είτε τα εξουδετερώνει άμεσα, είτε δεσμεύεται στην επιφάνεια των βλεννογόνων.

**Ανοσοσφαιρίνη IgE.** Υπάρχει στη χαμηλότερη συγκέντρωση στον ορό και σχετίζεται σε αντιδράσεις υπερευαισθησίας όπως σε αλλεργικές καταστάσεις. Εντοπίζεται στις μεμβράνες των βασεόφιλων, ηωσινοφίλων και μαστοκυττάρων και επάγει τη διαδικασία της αποκοκκίωσης, δηλαδή την απελευθέρωση του περιεχομένου των κυττάρων αυτών που δρουν σε μια αλλεργική αντίδραση.

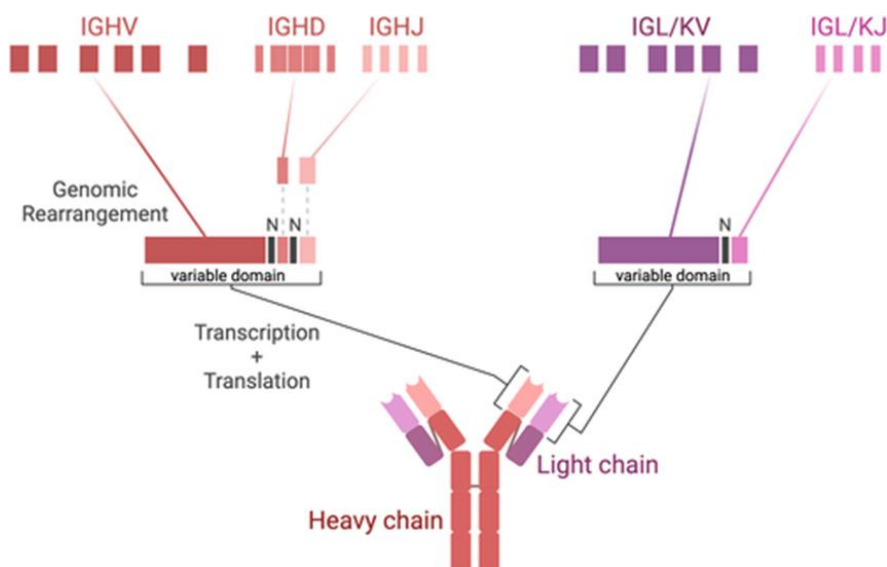
**Ανοσοσφαιρίνη IgD.** Αποτελεί το 0,2% όλων των ανοσοσφαιρινών στον ορό. Μαζί με την IgM αποτελούν τις κύριες μεμβρανικές ανοσοσφαιρίνες που εκφράζονται στα Β ώριμα κύτταρα. Μέχρι σήμερα δεν έχει γίνει γνωστή η δράση τους. (Schroeder & Lisa Cavacini, 2010) (Kuby, 2013).

### 1.3.2 Γενετικοί τύποι των γονιδίων των Igs

Η ανοσολογική απάντηση των αντισωμάτων είναι ικανή να αναγνωρίζει εκατοντάδες δομές αλλά και να στοχεύσει μία συγκεκριμένη πρόκληση. Η δημιουργία αυτής της ποικιλίας των αντισωμάτων και των διαφόρων υποτάξεων των ανοσοσφαιρινών προκύπτουν μέσω τυχαίων

γενετικών γεγονότων που συνοδεύουν την ανάπτυξη δηλαδή τη διαφοροποίηση των B κυττάρων. Οι αναδιατάξεις των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών πραγματοποιούνται στα αρχικά στάδια της διαφοροποίησης των πρόδρομων B κυττάρων και πριν έρθουν σε επαφή με κάποιο αντιγόνο. Τα χρωμοσώματα 2, 22 και 14 του ανθρώπου περιέχουν τα γονίδια που κωδικοποιούν τις κ, λ και Η(βαριές) αλυσίδες (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2016). Η τεράστια ποικιλομορφία των ανοσοσφαιρινών βασίζεται στο μεγάλο αριθμό των κληρονομούμενων γονιδιακών τμημάτων **V**, **J** και **D** που κωδικοποιούν τις βαριές και ελαφριές αλυσίδες (Alberts, et al., 2018). Συγκεκριμένα μεταξύ των γονιδίων V και C βρίσκονται αρκετά τμήματα νουκλεοτιδίων που ονομάζονται συνδεδετικά (**joining-J**) γονιδιακά τμήματα και αρκετά γονιδιακά τμήματα ποικιλομορφίας (**diversity-D**). Η συνδυαστική ποικιλομορφία, δηλαδή ο ανασυνδυασμός αυτών των τμημάτων συμβάλλει στη δημιουργία πολλών διαφορετικών συνδυασμών. Κάθε μεταβλητή περιοχή V της ελαφριάς αλυσίδας προκύπτει από δύο γονιδιακά τμήματα. Το τμήμα του **γονιδίου V (V gene segment)** που είναι το μακρύτερο και ένα μικρό συνδεδετικό τμήμα του **γονιδίου J (joining ή J gene segment)**. Από τη άλλη, κάθε μεταβλητή περιοχή V της βαριάς αλυσίδας συντελείται με έναν παρόμοιο συνδυασμό γονιδιακών τμημάτων με τη διαφορά ότι στη σύνθεση αυτή συμμετέχει και ένα επιπλέον τμήμα ποικιλομορφίας το τμήμα του **D γονιδίου (diversity ή D gene segment)** (Alberts, et al., 2018). Στον άνθρωπο, υπάρχουν περίπου 50 παρόμοια γονίδια V, 23 αλληλουχίες γονιδίου D και 6 γονίδια J βαριάς αλυσίδας (Andrew M Collins, 2022). Για να ξεκινήσει η διαφοροποίηση ενός προγονικού λεμφοκυττάρου B θα πρέπει να γίνει ο τυχαίος ανασυνδυασμός των 3 γονιδιακών τμημάτων της βαριάς αλυσίδας. Το ανώριμο B κύτταρο θα έχει στη συνέχεια ένα ανασυνδυασμένο γονίδιο V-D-J στο γενετικό τόπο της βαριάς αλυσίδας. Το γονίδιο αυτό στη συνέχεια μεταγράφεται, και το RNA που προκύπτει συρράπτεται με τη περιοχή C, που κωδικοποιεί τη βαριά αλυσίδα μ (για την IgM ανοσοσφαιρίνη). Η βαριά αλυσίδα μ αποτελεί τη πρώτη αλυσίδα ανοσοσφαιρίνης που συντίθεται κατά τη διάρκεια τη ωρίμανσης του B κυττάρου. Με τον ίδιο τρόπο παράγονται και οι ελαφριές αλυσίδες. Η δημιουργία της μεταβλητής περιοχής μιας ελαφριάς αλυσίδας κ ή λ προκύπτει από το τυχαίο ανασυνδυασμό ενός από τα 100 μεταβλητά (Vκ ή Vλ) γονιδιακά τμήματα με ένα από τα 4 έως 5 J συνδεδετικά τμήματα με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός ζεύγους VJ. Με αυτόν το τρόπο μπορούν να προκύψουν εκατοντάδες διαφορετικές μονάδες VJ. Το υπόλοιπο DNA που παρεμβάλλεται, στη συνέχεια απομακρύνεται και αποδομείται (Doan, Melvold, Viselli, & Walthenbaugh, 2014). Τα B κύτταρα μεταγράφουν ένα τμήμα του DNA σε ένα αντίγραφο RNA που περιλαμβάνει επιπρόσθετα τμήματα J και ιντρόνια. Σε επίπεδο RNA πραγματοποιείται και η συνένωση των σταθερών με των μεταβλητών περιοχών. Στο μετάγραφο αυτό κατά την ωρίμανση αποκόπτονται τα ιντρόνια και συρράπτονται τα εξώνια με αποτέλεσμα το μετάγραφο αυτό να μεταφραστεί σε κ ή λ αλυσίδες (Roitt, 2004).

Ο ανασυνδυασμός V(D)J πραγματοποιείται με τη βοήθεια ενός ενζυμικού συμπλόκου που καλείται ρεκομπινάση V(D)J η οποία εντοπίζει τις κατάλληλες αλληλουχίες ανασυνδυασμού στο DNA που βρίσκονται εκατέρωθεν των V, D και J γονιδιακών τμημάτων όλων των αντιγονικών υποδοχέων (Alberts, et al., 2018). Ως συνέπεια του εντοπισμού των αλληλουχιών η ρεκομπινάση φέρνει κοντά δύο ανοσοσφαιρίνες και δημιουργεί κατάτμηση του DNA σε συγκεκριμένες περιοχές. Τα θραύσματα που προκύπτουν επανασυνδέονται στη συνέχεια από λιγάσες δημιουργώντας ένα πλήρες ανασυνδυασμένο V-J ή V-D-J εξώνιο χωρίς τα παρεμβαλλόμενα τμήματα (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2018).



**Εικόνα 4 Βασική σχηματική απεικόνιση του γενετικού τύπου των γονιδίων Ig.** Ο γενετικός τύπος της βαριάς αλυσίδας αποτελείται από συστάδες γονιδίων βαριάς αλυσίδας V, D και J και ο γενετικός τύπος της ελαφριάς αλυσίδας από V και J. Κατά τον αρχικό σχηματισμό των αρχικών ανοσοσφαιρινών, τμήματα γονιδίου V, D και J ανασυνδυάζονται σε ένα πρόδρομο B κύτταρο. Διαφορετικοί αριθμοί νουκλεοτιδίων αφαιρούνται από τα άκρα τα γονιδίων και προστίθενται τυχαία νουκλεοτιδία στις συνδέσεις D-J και V-D. Οι αναδιατάξεις της ελαφριάς αλυσίδας V-J πραγματοποιούνται στη συνέχεια με παρόμοιο τρόπο. Η ένδειξη "N" αντιστοιχεί στις τυχαίες προσθήκες νουκλεοτιδίων. Οι μεταβλητές περιοχές των μορίων ανοσοσφαιρινών που προκύπτουν από τις αναδιατάξεις του γονιδίου V(D)J εκφράζονται σε συνδυασμό με τα προϊόντα γονιδίων της σταθερής περιοχής. Τελικά δύο πανομοιότυπες βαριές αλυσίδες και δύο ίδιες ελαφριές αλυσίδες συνδέονται μέσω δισουλφιδικών δεσμών για να σχηματίσουν ένα λειτουργικό αντίσωμα.

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1111/imcb.12567>, 2022

## 1.4 Βασικές δραστικές λειτουργίες αντισωμάτων

Εκτός από την ικανότητα να αναγνωρίζουν και να δεσμεύουν αντιγόνα, τα αντισώματα παίρνουν μέρος σε ορισμένες δραστικές λειτουργίες της ανοσιακής απόκρισης μέσω της σταθερής τους περιοχής Fc.

Ο **οψωνισμός**, η επαγωγή της φαγοκυττάρωσης των αντιγόνων από τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα είναι μία από τις διαδικασίες που λαμβάνουν μέρος τα αντισώματα. Συγκεκριμένα πραγματοποιείται η δέσμευση της σταθερής περιοχής του αντισώματος στον Fc υποδοχέα της επιφάνειας ενός μακροφάγου. Το αντίσωμα αυτό ταυτόχρονα, είναι συζευγμένο με τον επίτοπο ενός αντιγόνου στη μεταβλητή περιοχή Fab. Έτσι δημιουργείται μία οδός μεταγωγής σήματος

που οδηγεί στην ενδοκυττάρωση του συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος. Μέσα στον ενδοκυττάρω χώρο του μακροφάγου το αντιγόνο αποδομείται και καταστρέφεται μέσω διαφόρων εξειδικευμένων διαδικασιών.

Άλλη μία διαδικασία που συμμετέχουν τα αντισώματα(IgM και IgG) είναι η **ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος**. Κατά τη διαδικασία αυτή το πρωτεϊνικό θραύσμα C3b έχει την ικανότητα να δεσμεύει σύμπλοκα αντιγόνου-αντισώματος. Ερυθροκύτταρα και μακροφάγα διαθέτουν ειδικούς υποδοχείς που δεσμεύουν το θραύσμα C3b με αποτέλεσμα να μεταφέρουν το σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος στο σπλήνα και στο ήπαρ. Εκεί κατάλληλα μακροφάγα απομακρύνουν το ανοσοσύμπλεγμα χωρίς να καταστρέψουν το ερυθροκύτταρο

Επί πρόσθετα, τα αντισώματα δρουν ως επιπρόσθετοι υποδοχείς στη διαδικασία της **εξαρτώμενης από το αντίσωμα κυτταρομεσολαβητική κυτταροτοξικότητα(ADCC)**. Στη διαδικασία αυτή τα αντισώματα πέρα από τη δέσμευση τους με το αντιγόνο, συνδέονται μέσω της σταθερής περιοχής Fc κυτταρικούς τύπους και ιδιαίτερα με τα NK κύτταρα. Με το τρόπο αυτό, τα αντισώματα κατευθύνουν τις κυτταροτοξικές ικανότητες του δραστικού κυττάρου ενάντια στο κύτταρο στόχο. (Kuby, 2013).

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup> Μονοκλωνικά αντισώματα (Mabs)

Αποτελούν ένα τύπο πρωτεϊνικών μορίων που παράγονται στο εργαστήριο από έναν κλώνο Β λεμφοκυττάρων. Συνδέονται με συγκεκριμένους στόχους στο σώμα, όπως αντιγόνα στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων (Μπούρα, 2019).

### 2.1 Ιστορική Αναδρομή

Το 1975 δημιουργήθηκε το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα από τους Köhler και Milstein με τη τεχνική του υβριδώματος σύμφωνα με την οποία έγινε σύντηξη ενός πλασματοκύτταρου ανοσοποιημένου ποντικού που παράγει αντισώματα με ένα κύτταρο μυελώματος. Το υβρίδωμα αυτό είχε τη δυνατότητα πολλαπλασιασμού επ' αορίστου (μια ιδιότητα που έχουν τα μυελωματικά κύτταρα) καθώς και να παράγει αντισώματα *in vitro*. Η ανακάλυψη της τεχνικής του υβριδώματος αποτέλεσε μια καινοτομία που άλλαξε ραγδαία το τομέα της ανοσολογίας και το 1984 τους απονεμήθηκε και βραβείο Νόμπελ. Με τη τεχνική αυτή τα πρώτα μονοκλωνικά αντισώματα που παράγονταν προέρχονταν αποκλειστικά από ποντίκια. Έτσι το 1985 εγκρίθηκε το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) το οποίο ήταν το Orthoclone OKT3 (**muromonab-CD3**), ένα αντίσωμα για τη πρόληψη της απόρριψης μοσχεύματος νεφρού. Η βελτίωση της τεχνικής του υβριδώματος και οι γρήγορες εξελίξεις στη γενετική αλληλουχία επέτρεψαν τη δημιουργία χημικών, ανθρωποποιημένων και πλήρως ανθρώπινων αντισωμάτων κατάλληλα για τη θεραπεία ανθρώπων. Συγκεκριμένα, στα τέλη της δεκαετίας του 1990, εγκρίθηκε το πρώτο χημικό αντίσωμα για τη θεραπεία του λεμφώματος Β κυττάρων και στη συνέχεια το δεύτερο, το οποίο εγκρίθηκε το 1994, ονομαζόμενο **abciximab**, με δράση την αναστολή της συσσώρευσης αιμοπεταλίων σε καρδιαγγειακά νοσήματα. Με την έγκριση αυτή ακολούθησε μία ραγδαία αύξηση ποσοστού εγκρίσεων μονοκλωνικών αντισωμάτων τόσο ανθρωποποιημένων όσο και πλήρως ανθρώπινων τα οποία κυκλοφορούσαν στη αγορά για την θεραπεία διαφόρων ασθενειών. Το 2006 κυκλοφόρησε το πρώτο ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας (Bayer, 2019) (Kaunitz & D., 2018). Από το 2008, σαράντα οκτώ νέα μονοκλωνικά αντισώματα εγκρίθηκαν από τον FDA. Το 2011 εγκρίθηκε το πρώτο ανοσοτροποποιητικό mab ένα αντι-CTL4, το ipilimumab για μεταστατικό μελάνωμα καθώς και το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα συζευγμένο με φάρμακο (ADC). Από τον Οκτώβριο του 2017, 61 mabs και 11 πρωτεΐνες σύντηξης Fc κυκλοφόρησαν στην αγορά. Μέχρι το 2018 περισσότερο από 80 mabs εγκρίθηκαν για κλινικές εφαρμογές με πολλά άλλα να βρίσκονται υπό προ-κλινική και κλινική ανάπτυξη (Santos, Quintilio, Manieri, Tsuruta, & Moro, 2018).

### 2.2 Είδη Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

Παρόλο τη πρωτοπορία της τεχνικής του υβριδώματος, τα μονοκλωνικά αντισώματα που προέρχονται από ποντικό παρουσιάζουν περιορισμένη θεραπευτική αποτελεσματικότητα. Έχει αποδειχθεί ότι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία mAbs ποντικού ανέπτυξαν μία απόκριση αντισωμάτων αντι-ποντικού (Human anti-mouse antibody, HAMA) οποία επιταχύνει την ελαχιστοποίηση της δράσης του mAb και οδηγεί σε ανεπιθύμητες αλλεργικές αντιδράσεις κατά την επαναλαμβανόμενη χορήγηση. Αυτό δημιούργησε την ανάγκη για την ανάπτυξη τεχνικών μηχανικής αντισωμάτων με σκοπό τη δημιουργία χημικών ή ανθρωποποιημένων αντισωμάτων. Τα



αντισώματα αυτά δημιουργούνται με τη χρήση μεταβλητών περιοχών του ποντικιού σε συνδυασμό με ανθρώπινες σταθερές περιοχές με στόχο να διατηρηθεί η ειδικότητα και να μειωθεί η απόκριση HAMA. (Hashem, et al., 2020)

#### *Μονοκλωνικά αντισώματα ποντικιού*

Αποτελούν τα πρώτα μονοκλωνικά αντισώματα που αναπτύχθηκαν και προκύπτουν από τη κλασική τεχνική του υβριδώματος. Έχουν σύντομο χρόνο ημιζωής όταν χορηγούνται στους ανθρώπους λόγω αδυναμίας δέσμευσης στον ανθρώπινο FcRn, έναν μεμβρανικό υποδοχέα που εντοπίζεται στα ενδοθηλιακά και επιθηλιακά κύτταρα. Προκαλούν τη δημιουργία αντισωμάτων έναντι των φαρμάκων αυτών με αποτέλεσμα πολλές αλλεργικές αντιδράσεις. (Mahmuda, et al., 2017).

#### *Χιμαιρικά μονοκλωνικά αντισώματα*

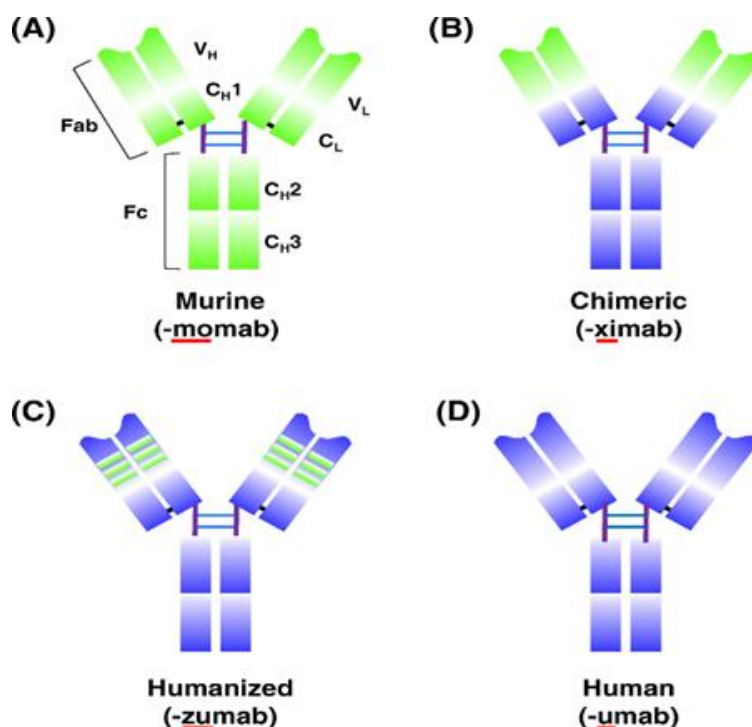
Τα χιμαιρικά μονοκλωνικά αντισώματα αποτελούν υβριδικά μόρια ανθρώπου-ποντικιού τα οποία προέρχονται από γενετικά τροποποιημένα ποντίκια. Αποτελούνται από τη μεταβλητή περιοχή του αντισώματος (θέση πρόσδεσης του αντιγόνου) που προέρχεται από το ποντίκι, και από τη σταθερή περιοχή που προέρχεται από τον άνθρωπο. Τα mAbs αυτά αποτελούνται περίπου από 65% ανθρώπινης προέλευσης και 35% από ποντίκι. Η χρήση χιμαιρικών αντισωμάτων ως φάρμακά προκαλούν λιγότερες ανεπιθύμητες αντιδράσεις σε σχέση με τα αντισώματα ποντικιού. (Βοργιάς, 2020)

#### *Ανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα*

Με στόχο την ελαχιστοποίηση του συστατικού του ποντικιού στα μονοκλωνικά αντισώματα ξεκίνησε η ανακάλυψη της δημιουργίας των ανθρωποποιημένων αντισωμάτων. Τα μονοκλωνικά αυτά αντισώματα αποτελούνται από ένα πολύ μικρό τμήμα που προέρχεται από ποντίκι το οποίο αντιστοιχεί στις θέσεις δέσμευσης του αντιγόνου, ενώ το υπόλοιπο μόριο που αντιστοιχεί περίπου στο 90%, αποτελεί ανθρώπινη πηγή. Χρησιμοποιούνται ευρέως στη διάγνωση και στη θεραπεία διαφόρων ασθενειών. (Βοργιάς, 2020). Στα ανθρωποποιημένα αντισώματα οι υπερμεταβλητές περιοχές CDR μεταμοσχεύονται στη περιοχή της ανθρώπινης μεταβλητής περιοχής. Η διαδικασία δημιουργίας αυτών των μορίων είναι επίπονη και παρουσιάζει περιορισμούς (Mahmuda, et al., 2017).

#### *Πλήρως ανθρώπινα αντισώματα*

Παρόλο που τα ανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα αποτελούνται σχεδόν αποκλειστικά από ανθρώπινη προέλευση τα τμήματα της μη ανθρώπινης προέλευσης μπορούν να προκαλέσουν ανεπιθύμητες ανοσολογικές αντιδράσεις. Έτσι ο επόμενος στόχος ήταν η δημιουργία πλήρως ανθρώπινων αντισωμάτων. Με τη κατάλληλη γενετική τροποποίηση τα ποντίκια μπορούν να αποκτήσουν ανθρώπινα γονίδια αντισωμάτων. (Mahmuda, et al., 2017)



**Εικόνα 5 Τα είδη των μονοκλωνικών αντισωμάτων και η κατάληξη της ονομασίας τους.**  
 Η πράσινες χρωματισμένες περιοχές αντιστοιχούν στις περιοχές που προέρχονται από ποντίκι ενώ οι μπλε χρωματισμένες περιοχές αντιστοιχούν στις περιοχές ανθρώπινης προέλευσης. Η προέλευση των μονοκλωνικών αντισωμάτων γίνεται γνωστή μέσω των τελευταίων γραμμάτων των ονομάτων τους. α) προέλευση ποντικού ( -momab) , β) χιμαιρικά (-ximab) , γ) ανθρωποποιημένα (-zumab) , δ) πλήρως ανθρώπινα (-umab).

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0592-z>, 12/2022

## 2.3 Μέθοδοι παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων

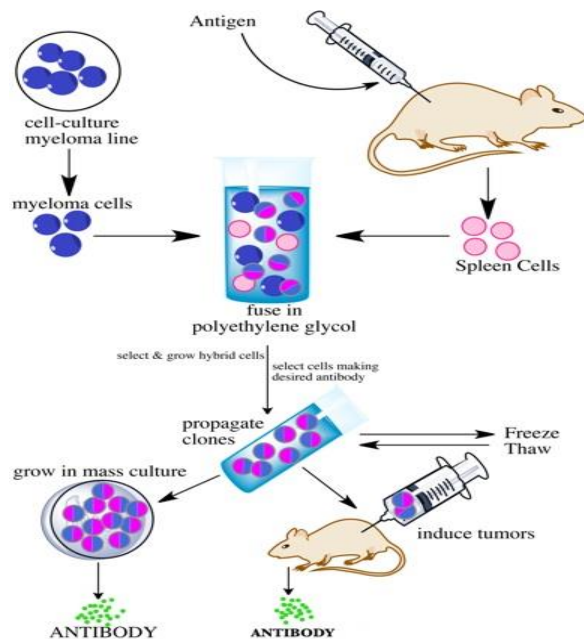
### 2.3.1 Παραγωγή mAbs με τη τεχνική του υβριδώματος

Όπως προαναφέρθηκε η τεχνική του υβριδώματος ανακαλύφθηκε το 1975 από τους Köhler και Milstein. Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει την ανοσοποίηση ενός ποντικίου με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο. Στη συνέχεια γίνεται λήψη των Β λεμφοκυττάρων του ποντικίου από το σπλήνα. Τα Β λεμφοκύτταρα συντήκονται με μια κυτταρική σειρά μυελώματος που στερείται το γονίδιο υποξανθίνης-γουανίνης-φωσφοριβοσυλτρανφεράσης (HGPRT). Τα κύτταρα αυτά καλλιεργούνται in vitro σε εκλεκτικό υλικό μέσο **HAT (υποξανθίνη-αμινοπτερίνη-θυμιδίνη)**. Μόνο τα υβριδικά κύτταρα παρουσιάζουν αντίσταση στο μέσο αυτό και μπορούν να πολλαπλασιαστούν. (Liu & K.H, The history of monoclonal antibody development - Progress, remaining challenges and future innovations, 2014).

Η φωσφοριβοζυλο-τρανσφεράση της υποξανθίνης είναι ένα ένζυμο που παίρνει μέρος στο εναλλακτικό μονοπάτι σύνθεσης πουρινών. Τις περισσότερες φορές η απουσία αυτού του ενζύμου δεν δημιουργεί κάποιο εμπόδιο για το κύτταρο καθώς υπάρχει και το κύριο μονοπάτι σύνθεσης. Όμως όταν τα μυελωματικά κύτταρα εκτεθούν σε αμινοπτερίνη τότε το κύριο μονοπάτι

αδυνατεί να λειτουργήσει με αποτέλεσμα να πρέπει να δράσει το εναλλακτικό μονοπάτι. Έτσι τα μυελωματικά κύτταρα που παρουσιάζουν έλλειψη αυτού του ενζύμου δεν μπορούν να επιβιώσουν στο μέσο καλλιέργειας HAT. Στο θρεπτικό υλικό μετά τη σύντηξη υπάρχουν τρία είδη κυττάρων : τα Β λεμφοκύτταρα ποντικού, τα μυελωματικά κύτταρα καθώς και τα υβριδικά. Τα Β-λεμφοκύτταρα λόγω ανικανότητας πολλαπλασιασμού *in vitro*, σε λίγες μέρες πεθαίνουν καθώς και τα μυελωματικά λόγω ανεπάρκειας του ενζύμου. Αυτό καθιστά ζωντανά μόνο τα συνηγμένα κύτταρα καθώς έχουν κληρονομήσει την ιδιότητα της αθανασίας από τα μυελωματικά κύτταρα και την ικανότητα σύνθεσης του ενζύμου από τα Β κύτταρα. Έτσι τα κύτταρα αυτά είναι εκείνα που θα παράγουν και τα επιθυμητά αντισώματα. (Γούναρη, 2013).

Η καλλιέργεια των υβριδωμάτων περιέχει πολυκλωνικά αντισώματα, δηλαδή αντισώματα που προέρχονται από πολλούς διαφορετικούς κλώνους Β κυττάρων και ο κάθε κλώνος εκκρίνει ένα ξεχωριστό ειδικό αντίσωμα. Για να διαχωριστούν οι κλώνοι και να ξεχωρίσει ο κλώνος που παράγει το επιθυμητό αντίσωμα, πρέπει να αραιωθούν σε διαφορετικά φρεάτια καλλιέργειας. Στο μέσο καλλιέργειας μπορεί να γίνει έλεγχος της ειδικής δραστηριότητας του αντισώματος και τα επιθυμητά Β κύτταρα να αναπτυχθούν από τα θετικά φρεάτια. Αφού γίνει η επιλογή των επιθυμητών Β-λεμφοκυττάρων, ακολουθεί επανακλωνοποίηση και επανεξέταση για τη δραστηριότητα τους. Τέλος τα θετικά υβριδώματα και τα μονοκλωνικά αντισώματα που εκκρίνονται αποθηκεύονται σε υγρό άζωτο. (Liu & K.H, The history of monoclonal antibody development - Progress, remaining challenges and future innovations, 2014).



**Εικόνα 6 Αναπαράσταση βημάτων παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων με την τεχνική υβριδώματος.** Αρχικά πραγματοποιείται η ανοσοποίηση του ζώου με αντιγόνο. Λαμβάνονται τα σπληνικά κύτταρα του ποντικιού τα οποία συντήκονται με μυελωματικά κύτταρα. Τα υβριδώματα καλλιεργούνται σε μέσο καλλιέργειας HAT, και λαμβάνονται μόνο τα υβριδώματα. Ακολουθεί επιλογή του επιθυμητού κλώνου ο οποίος στη συνέχεια κλωνοποιείται περαιτέρω με αποτέλεσμα τη παραγωγή του επιθυμητού μονοκλωνικού αντισώματος.

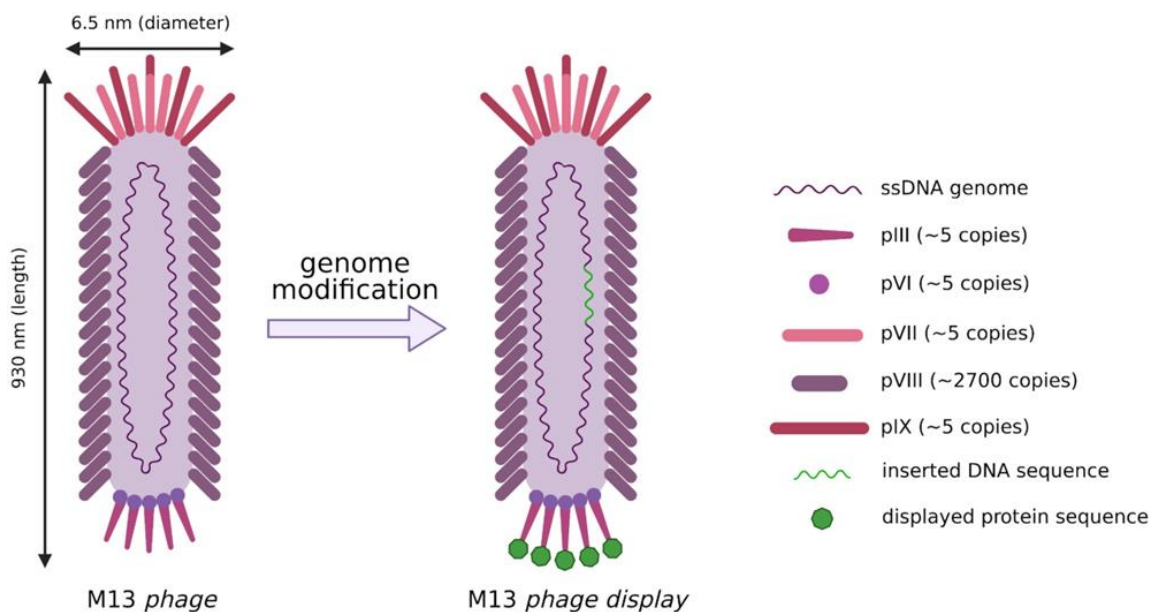
Ανακτήθηκε από <https://med.unr.edu/ddl/technology/monoclonal-antibodies>, 2022

### 2.3.2 Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων με τη τεχνική έκθεσης φάγου (Phage display technology)

Η ανάπτυξη βιβλιοθηκών έκθεσης φάγων αντισωμάτων αντιπροσωπεύει μία εναλλακτική τεχνική στη παραδοσιακή τεχνολογία υβριδώματος και περιλαμβάνει την απομόνωση πλήρως ανθρώπινων αντισωμάτων από ένα ρεπερτόριο γονιδίων Ig που εμφανίζονται στην επιφάνεια βακτηριοφάγων. Ο πρώτος που περιέγραψε τη τεχνολογία εμφάνισης φάγων ήταν ο George P. Smith το 1985, ανακαλύπτοντας τη δυνατότητα ενός φάγου να παρουσιάζει στην επιφάνεια του πεπτίδια, ύστερα από την εισαγωγή ενός τμήματος DNA στο γονίδιο πρωτεΐνης περιβλήματος του. Η ανάπτυξη μικρότερων μορφών ανασυνδιασμένων αντισωμάτων όπως η μεταβλητή περιοχή Fv βαριάς(VH) ή ελαφριάς αλυσίδας (VL), ή η μεταβλητή περιοχή μονής αλυσίδας (scFv) ή η περιοχή δέσμευσης θραυσμάτων αντιγόνου (Fab) οδήγησαν στην ανάπτυξη της τεχνολογίας εμφάνισης φάγων αντισωμάτων. Οι μορφές αυτές εκφράζονται ευκολότερα στην επιφάνεια ενός βακτηρίου σε σχέση με ένα πλήρες αντίσωμα καθώς το αντίσωμα αυτό αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες ενωμένες με δισουλφιδικούς δεσμούς. Από την άλλη, η δημιουργία ανασυνδιασμένων τμημάτων scFv περιλαμβάνει το συνδυασμό τμημάτων VH και VL που ενώνονται με έναν συνδέτη γλυκίνης-σερίνης σε μία ακολουθία DNA. (Alfaleh, et al., 2020).

Ο Μ13 αποτελεί έναν από τους νηματοειδείς βακτηριοφάγους του *Escherichia coli* (*E.coli*) και το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο φάγο για τη τεχνική έκθεσης φάγου αντισωμάτων. Ο Μ13 είναι ένα εύκαμπτο κυλινδρικό σωματίδιο ιού και το γονιδίωμα του αποτελείται από εννέα γονίδια που κωδικοποιούν πέντε πρωτεΐνες περιβλήματος (pIII, pVIII, pVI, pVII και pIX). Τα περισσότερα συστήματα εμφάνισης φάγων βασίζονται σε πρωτεΐνες σύντηξης pIII-αντισώματος, λόγω της ικανότητας του pIII να εμφανίζει μεγάλες πρωτεΐνες χωρίς να χάνει τη λειτουργικότητα του (Tsutsumi, Nagano, & Yasuo, 2021).

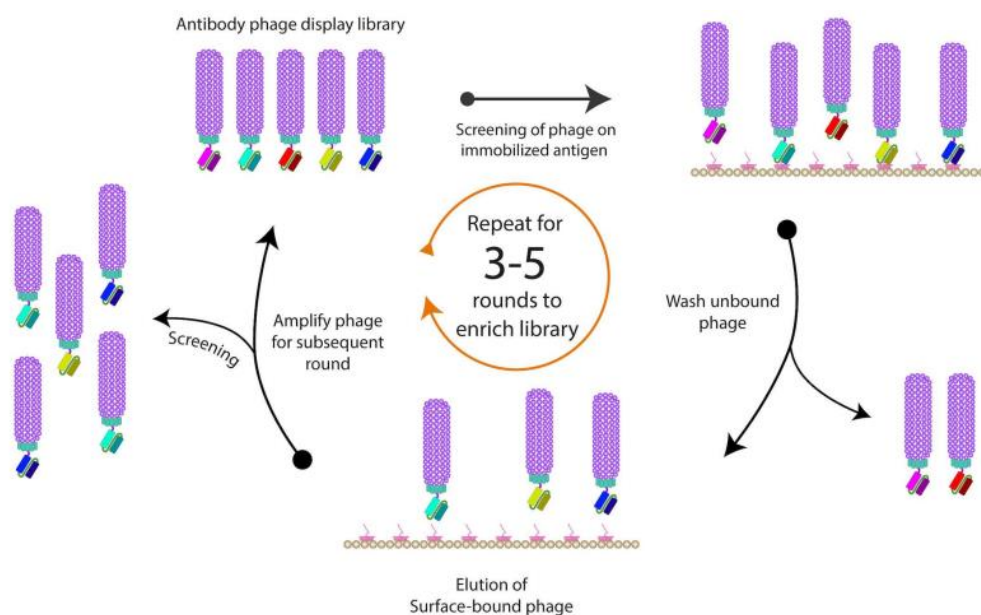
Το πρώτο βήμα της τεχνικής περιλαμβάνει την απομόνωση των Β λεμφοκυττάρων από έναν υγιή μη ανοσοποιημένο δότη. Από τα κύτταρα αυτά απομονώνεται το ολικό RNA και στη συνέχεια συντίθεται cDNA με τη χρήση του ενζύμου αντίστροφης μεταγραφάσης. Στη συνέχεια με την μέθοδο PCR και τη χρήση κατάλληλων εκκινητών ενισχύονται γονίδια που κωδικοποιούν μεταβλητές περιοχές βαριών και ελαφριών αλυσίδων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας cDNA βιβλιοθήκης που περιέχει ένα ρεπερτόριο γονιδιακών τμημάτων VH και VL. Για τη δημιουργία μίας συνδυαστικής βιβλιοθήκης scFv στην επιφάνεια ενός φάγου Μ13 απαιτείται ο συνδυασμός πληθυσμών τομέων VH και VL οι οποίοι συνδέονται με το συνδέτη γλυκίνης σερίνης σε μία ενιαία αλληλουχία DNA. Οι αλληλουχίες αυτές μπορούν να εισαχθούν στο γονίδιο pIII βακτηριοφάγου και να κλωνοποιηθούν σε ένα πλασμίδιο (Liu & K.H, The history of monoclonal antibody development - Progress, remaining challenges and future innovations, 2014).



**Εικόνα 9** Απεικόνιση της δομής βακτηριοφάγου Μ13 και η αρχή της τεχνολογίας εμφάνισης φάγου. Ο Μ13 νηματοειδής βακτηριοφάγος έχει ένα μονοκλωνικό γονιδίωμα DNA και αποτελείται από πέντε πρωτεΐνες. Η τεχνική εμφάνισης φάγου βασίζεται στην εισαγωγή μίας ξένης αλληλουχίας DNA σε ένα από τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες καψιδίου με αποτέλεσμα ο φάγος να παρουσιάζει στην επιφάνεια του το ετερογενές πεπτίδιο ή πρωτεΐνη.

Ανακτήθηκε από <https://academic.oup.com/femsre/article/46/2/fuab052/6407522> 10/2022

Επόμενο βήμα είναι η διαδικασία επιλογής (bio-ranning). Στη διαδικασία αυτή συγκεκριμένα αντιγόνα ακινητοποιημένα σε στερεές επιφάνειες όπως μεμβράνες νιτροκυτταρίνης, πλάκες πολυστυρενίου ή μαγνητικά σφαιρίδια επωάζονται με τη βιβλιοθήκη αντισωμάτων φάγου. Αφού η βιβλιοθήκη φάγων εκτεθεί στα ακινητοποιημένα αντιγόνα, ορισμένα τμήματα scFv παρουσιάζουν ειδικότητα στα αντιγόνα αυτά ενώ παράλληλα οι φάγοι που τα τμήματα τους δεν έχουν δεσμευτεί με κάποιο αντιγόνο ξεπλένονται. Ακολουθούν και άλλες πλύσεις ώστε να απομακρυνθούν όλοι οι φάγοι που δεν έχουν δεσμευτεί με αντιγόνο. Συνήθως η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται τρεις με πέντε φορές ώστε να υπάρξει η βέλτιστη επιλογή κλώνων από τη βιβλιοθήκη (Frenzel, Schirrmann, & Hust, 2016).



**Εικόνα 10 Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας επιλογής (bio-ranning).** Η βιβλιοθήκη φάγων αντισωμάτων επωάζεται μαζί με ακινητοποιημένα αντιγόνα σε ένα στερεό υπόστρωμα. Οι φάγοι που δεν είναι προσκολλημένοι στα αντιγόνα απομακρύνονται με πλύσεις. Οι φάγοι που συνδέονται με τα ακινητοποιημένα αντιγόνα εκλύονται και επαναλαμβάνουν τη διαδικασία bio-ranning ώστε να ενισχυθούν εκ νέου. Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01986>, 2023

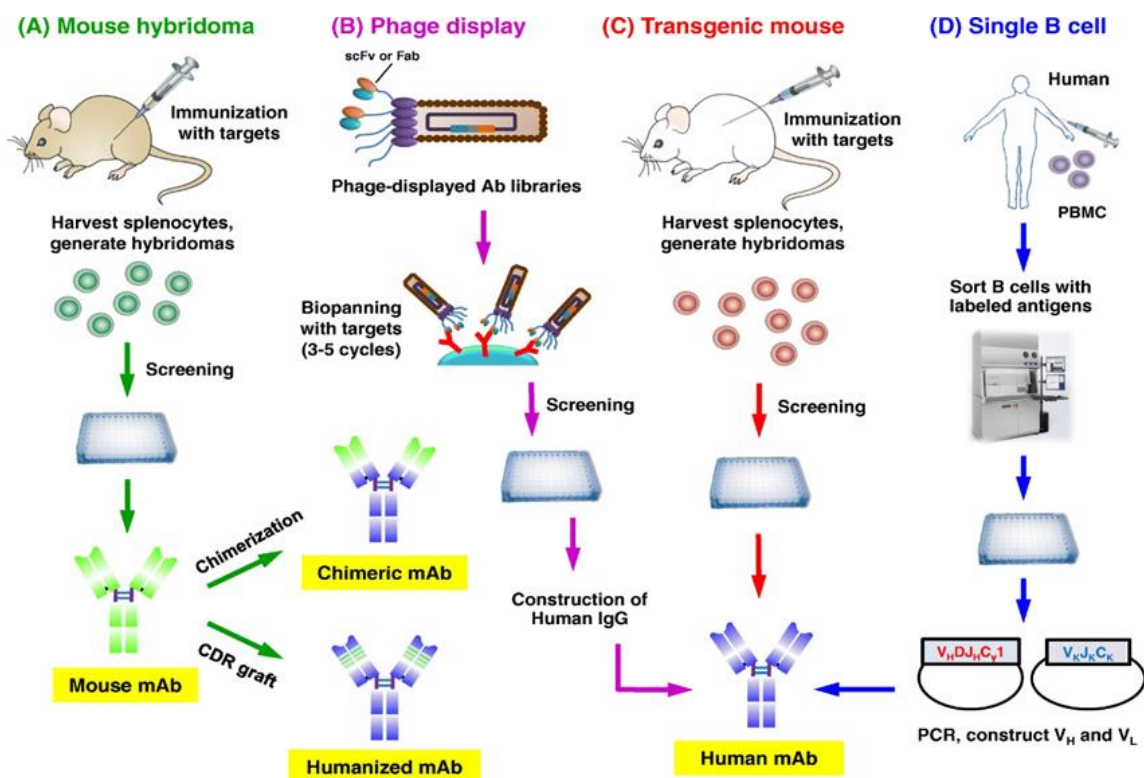
Στη συνέχεια οι επιλεγμένοι φάγοι μολύνουν βακτήρια, συνήθως *Escherichia coli*, με αποτέλεσμα το πολλαπλασιασμό τους και τη παραγωγή μονάδων scFv. Το βακτήριο μπορεί να εκκρίνει το φάγο που εμφανίζει στην επιφάνεια του τα θραύσματα scFv τα οποία μπορούν να επιλεγούν και να επαναχρησιμοποιηθούν για τον επανανοφθαλμισμό του βακτηρίου με το βακτηριοφάγο (Jaroszewicz, Ortowska, Pierzynowska, Gaffke, & Wegrzyn, 2021).

### 2.3.4 Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων με τη χρήση διαγονιδιακών ποντικών

Αποτελεί μία τεχνολογία που ξεκίνησε τη δεκαετία του 90, με στόχο την παραγωγή πλήρως ανθρώπινων αντισωμάτων και τα βήματα είναι παρόμοια με αυτά της τεχνικής του υβριδώματος. Στη τεχνική αυτή το ποντίκι υπόκειται σε γενετική τροποποίηση, εισάγοντας σε αυτό γονίδια ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης. Έτσι το γονιδίωμα του ποντικιού αντικαθιστά το ενδογενές περιεχόμενό του, θέτοντας το ανοσοποιητικό του σύστημα ικανό να παράγει πλήρως ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα όταν αυτό ανοσοποιηθεί (Santos, Quintilio, Manieri, Tsuruta, & Moro, 2018).

### 2.3.5 Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων με τη τεχνική ανθρωπινων Β κυττάρων

Η τεχνική αυτή βασίζεται στην ανάκτηση μεμονωμένων Β κυττάρων για τον εντοπισμό ειδικών για τα αντιγόνα μονοκλωνικών αντισωμάτων. Στον άνθρωπο, τα πιο συνηθισμένα για χρήση υποσύνολα Β-λεμφοκύτταρα είναι τα Β κύτταρα μνήμης ή τα κύτταρα που εκκρίνουν αντισώματα και είναι άμεσα διαθέσιμα στα μονοπύρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος (PBMC) υγιών δοτών ή ασθενών. Το πλεονέκτημα αυτής της τεχνικής είναι η υψηλή εξειδίκευση σε αντιγόνα και η χαμηλή αντιγονικότητα κατά τη χορήγηση (Pedrioli & Oxenius, 2021).



**Εικόνα 7** Απεικόνιση των τρόπων παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων. α) Τεχνική του υβριδώματος με την οποία παράγονται *maabs* ποντικού. β) τεχνική εμφάνισης φάγου γ) παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων με τη χρήση διαγονιδιακού ποντικιού δ) Τεχνική απομόνωσης ανθρώπινων B κυττάρων από μολυσμένους ή εμβολιασμένους δότες. Στις τρεις τελευταίες τεχνικές το τελικό προϊόν είναι τα πλήρως ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα. Στη τεχνική του υβριδώματος με τεχνικές ανάπτυξης τεχνολογίας ανασυνδυασμένου DNA μπορούν να προκύψουν χιμαιρικά καθώς και ανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα.

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0592-z>, 12/2022

## 2.4 Εφαρμογή Μονοκλωνικών Αντισωμάτων στη διάγνωση

Η εφαρμογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων σε διαγνωστικές μεθόδους αποτελεί τη πιο προηγμένη ανακάλυψη και περιλαμβάνει τεχνικές ανίχνευσης ξένων ουσιών που προκαλούν μόλυνση, ορισμένων δομικών συστατικών των ουσιών αυτών όπως τα αντιγόνα ή ακόμα και σε ορολογικές αξιολογήσεις για την ανίχνευση αντισωμάτων που δημιουργούνται ενάντια ενός συγκεκριμένου αντιγόνου. Το πλεονέκτημα τους σε σχέση με τα πολυκλωνικά αντισώματα είναι η υψηλή εξειδίκευση και συγγένεια που παρουσιάζουν με αποτέλεσμα να αποτελούν τα καταλληλότερα βιολογικά αντιδραστήρια για ανοσοδιαγνωστικούς προσδιορισμούς. Οι τεχνικές αυτές εφαρμόζονται συνήθως σε βιολογικά υγρά όπως το αίμα και τα ούρα και βασίζονται στη θεμελιώδη αρχή σύνδεσης αντισώματος-αντιγόνου. Για την οπτικοποίηση αυτής της δέσμησης τα αντισώματα μπορούν να επισημανθούν με φθορίζοντα μόρια, με ένζυμα ή με ραδιοϊσότοπα. Ορισμένες από τις τεχνικές αυτές ανίχνευσής είναι : η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA(Enzyme



Linked Immuno Sorbent Assay), η μέθοδος ανοσοαποτύπωσης (Western blot, η κυτταρομετρία ροής, η ανοσοϊστοχημεία (IHC), και η μικροσκοπία φθορισμού. Παράλληλα, με την ανακάλυψη των μονοκλωνικών αντισωμάτων έγινε εφικτή η διάγνωση πολλών σημαντικών ασθενειών που οφείλονται σε παράσιτα, μύκητες, βακτήρια και ιούς. Επί πρόσθετα η χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων έπαιξε σημαντικό ρόλο στην απομόνωση και ταυτοποίηση καρκινικών αντιγόνων που παρουσιάζονται ως νεοπλασματικοί δείκτες στη κλινική πράξη (Demlie, Balcha, & Fesseha, 2020), (Gao, Huang, & Lv, 2018).

## 2.5 Θεραπευτική Χρήση Μονοκλωνικών αντισωμάτων

Τα μονοκλωνικά αντισώματα ως φάρμακα αποτελούν την πιο γρήγορη εξελικτικά κατηγορία φαρμάκων και η αγορά τους υπολογίζεται ότι θα αναπτυχθεί ακόμα περισσότερο τα επόμενα χρόνια λόγω της μεγάλης κλίμακας αντισωμάτων που δημιουργούνται. Η θεραπευτικές τους ιδιότητες βρίσκουν εφαρμογή σε διάφορους τομείς όπως στη θεραπεία του καρκίνου, ορισμένων αυτοάνοσων διαταραχών καθώς και μολυσματικών ασθενειών. Ύστερα από τη πρώτη προσπάθεια θεραπείας με ορό ανοσοποιημένων ζώων στα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα, η αμέσως επόμενη αξιολογη προσπάθεια εφαρμογής μονοκλωνικών αντισωμάτων στη θεραπεία ήταν μετά την ανάπτυξη τεχνολογίας του υβριδώματος. Η τεχνολογία αυτή είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία και την έγκριση το 1986 του πρώτου θεραπευτικού μονοκλωνικού αντισώματος, το **muromonab**, ένα φάρμακο έναντι του CD3 υποδοχέα T λεμφοκυττάρων για τον έλεγχο απόρριψης μεταμόσχευσης. Το φάρμακο αυτό αποσύρθηκε για λόγους ασφάλειας και αποτελεσματικότητας, καθώς δημιούργησε ανεπιθύμητες αντιδράσεις λόγω της ύπαρξης ανθρώπινων αντισωμάτων κατά των αντισωμάτων ποντικού. Με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA έγινε δυνατή η δημιουργία χιμαιρικών αντισωμάτων με αποτέλεσμα την αύξηση της αποτελεσματικότητας και τη μείωση της ανοσογονικότητας στη θεραπεία. Το πρώτο θεραπευτικό μονοκλωνικό αντίσωμα με ογκολογική ένδειξη ήταν το χιμαιρικό αντίσωμα **anti-CD20 rituximab**, το οποίο εγκρίθηκε το 1997 για μη-Hodgkin λεμφώματα. Η ανακάλυψη της δημιουργίας ανθρωποποιημένων αντισωμάτων οδήγησε στη διατήρηση της συγγένειας και της ισχύος του αντισώματος και κατέστησε δυνατή τη κλινική τους χρήση σε πολύπλοκες ασθένειες όπως αυτοάνοσα νοσήματα και όγκοι που χρειάζονται αρκετό χρόνο θεραπεία και πολλαπλές δόσεις. Αξιοσημείωτη ήταν και η ανακάλυψη του πρώτου ανθρώπινου θεραπευτικού αντισώματος, του **anti-TNFα adalimumab** που το 2002, πήρε την έγκριση από τον FDA για τη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Γενικά η εφαρμογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων σε κλινικές πράξεις προϋποθέτουν ορισμένες βασικές βιοφυσικές ιδιότητες όπως η σταθερότητα, η αντιγονοδεμυτική δραστηριότητα καθώς και η ανοσογονικότητα. Ανοσογονικότητα καλούμε το βαθμό που το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή μπορεί να αναγνωρίσει τα αντισώματα και να αντιδράσει σε αυτά θεραπευτικούς παράγοντες. Έτσι αντισώματα που η προέλευση τους είναι περισσότερο ανθρώπινη, καθίστανται καταλληλότερα για θεραπεία λόγω της υψηλής τους ανοχής και της χαμηλότερης ανοσογονικότητας σε κλινικό περιβάλλον. Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες έχουν κυκλοφορήσει περίπου 80 μονοκλωνικά αντισώματα στη αγορά και το 2018, 12 νέα εγκρίθηκαν από τον FDA. (Maria Sofia Casteli, 2019) (Santos, Quintilio, Manieri, Tsuruta, & Moro, 2018)

## 2.5.1 Θεραπεία Αυτοάνοσων Νοσημάτων με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων

Τα αυτοάνοσα νοσήματα σχετίζονται με τη δυσλειτουργία της προσαρμοστικής ανοσίας. Συγκεκριμένα πρόκειται για την ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να εντοπίζει συστατικά του ίδιου του οργανισμού(αυτοαντιγόνα) είτε μέσω αντισωμάτων είτε μέσω αυτοδραστικών λεμφοκυττάρων. Στα αυτοάνοσα νοσήματα, αυτοδραστικά CD4+ T λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται στους περιφερικούς λεμφαδένες. Εκεί πραγματοποιείται μία ανοσολογική σύναψη μεταξύ των T κυττάρων και διαφόρων αντιγονοπαρουσιαστικών (APC) και B κυττάρων. Έτσι τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα πολλαπλασιάζονται, και μεταναστεύουν στο παρέγχυμα του οργάνου-στόχου. Εκεί, επαναενεργοποιούνται μέσω αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων και αναγνωρίζουν συγγενή προσδέματα. Τα T κύτταρα εν συνεχεία διαφοροποιούνται σε υποσύνολα κυττάρων όπως Th1, Th2, Th17 και Treg και παράγουν διαλυτούς μεσολαβητές όπως κυτοκίνες και προφλεγμονώδη μόρια που ευθύνονται για τη κυτταρική βλάβη και την εξέλιξη της νόσου. Συγκεκριμένα τα Th1 και Th17 παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες που σχετίζονται με τη κυτταρική μεσολάβηση ανοσίας καθώς και ελέγχουν την εμφάνιση του αντιγόνου. Τα Th2 κύτταρα σχετίζονται με τις χυμικές αντιδράσεις των B κυττάρων και τα Treg εμποδίζουν τη δράση των Th1 και Th2. Σε αυτοάνοσες καταστάσεις παίρνουν μέρος και τα CD8+ T κύτταρα τα οποία ενεργοποιούνται μέσω των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων στους λεμφαδένες και από εκεί εισέρχονται στο όργανο στόχο καταστρέφοντας τα παρεγχυματικά κύτταρα είτε με λύση είτε με παραγωγή κυτοκίνης. Η συμμετοχή των B κυττάρων στα αυτοάνοσα νοσήματα παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο καθώς παρέχουν αντισώματα που αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα δρώντας ως αντιγονοπαρουσιαστικά για τα T κύτταρα.

Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί δράσεις των μονοκλωνικών αντισωμάτων στη θεραπεία αυτοάνοσων ασθενειών.

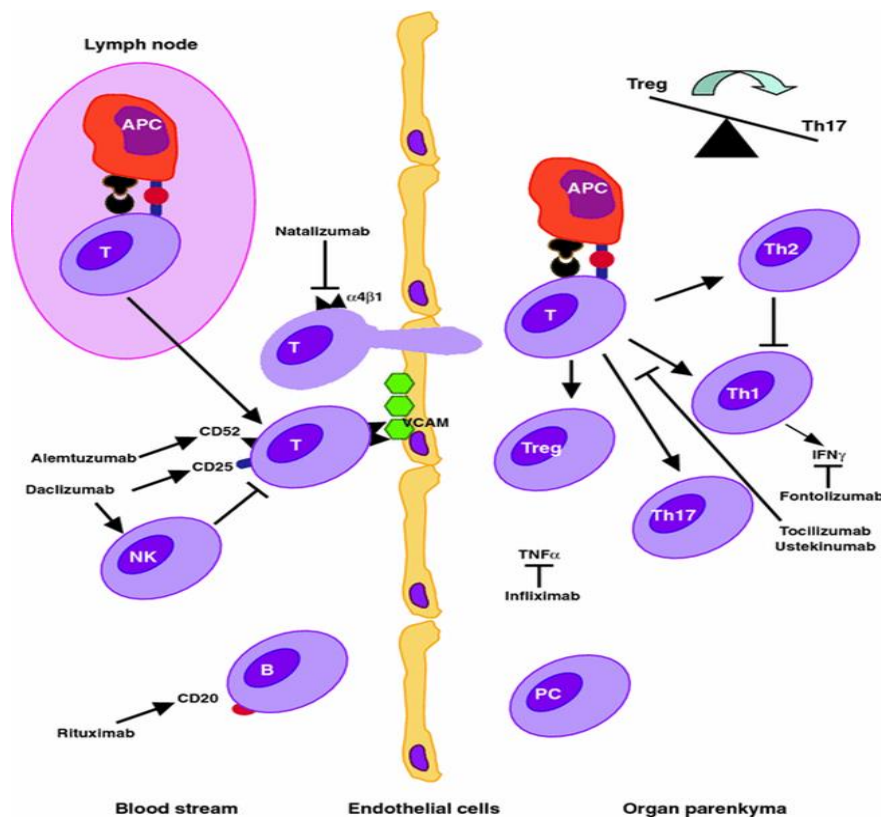
α) Αναστέλλουν τη λειτουργία των T κυττάρων εμποδίζοντας τη παραγωγή κυτοκινών ή προκαλούν την απόπτωση των T κυττάρων. Στόχοι τους αποτελούν αντιγόνα επιφάνειας T κυττάρων, ιδιαίτερα CD3, CD25 και CD52

β) Εμποδίζουν την έναρξη της ανοσολογικής απόκρισης. Αυτό επιτυγχάνεται με την αλληλεπίδραση τους με μόρια που ενισχύουν τη σύνδεση μεταξύ των αντιγονοπαρουσιαστικών και T κυττάρων. Τα μονοκλωνικά αντισώματα στο μηχανισμό αυτό δρουν πριν προλάβουν τα T κύτταρα να μεταναστεύσουν στο όργανο-στόχο

γ) Εμποδίζουν τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στο όργανο-στόχο αλληλεπιδρώντας με τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης

δ) Αποκλείουν τη διαφοροποίηση ή ενεργοποίηση των T κυττάρων στοχεύοντας σε κυτοκίνες και μόρια που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση και ενεργοποίηση.

ε) Αποκλείουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Ο μηχανισμός αυτός είναι ο πιο συχνός και αφορά μονοκλωνικά αντισώματα που στρέφονται κυρίως ενάντια του TNFα. (Bruno, Battaglia, & Nicoletti, 2010)



**Εικόνα 8** Απεικόνιση των στόχων-μορίων των μονοκλωνικών αντισωμάτων σε αυτοάνοσες καταστάσεις. Διαφορετικά μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να δράσουν σε διαφορετικά σημεία του οργανισμού. Υπάρχουν κάποια που η δράση τους εντοπίζεται όσο ακόμα τα T κύτταρα βρίσκονται στη κυκλοφορία του αίματος, εμποδίζοντας τα να μεταναστεύσουν. Άλλα μονοκλωνικά δρουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα εμποδίζοντας τα T κύτταρα να διαφοροποιηθούν και άλλα δρουν στο παρεγχυματικό όργανο εμποδίζοντας τα T κύτταρα να παράγουν κυτοκίνες ή δρουν απευθείας στις κυτοκίνες αυτές.

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1007/s10072-010-0382-6> 12/2022

## 2.5.2 Θεραπεία μολυσματικών ασθενειών με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων

Η θεραπεία μολυσματικών ασθενειών με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων σε σχέση με υπόλοιπες θεραπείες αποτελεί αργή ανάπτυξη και δεν έχει επιτευχθεί κάποια εμπορική επιτυχία. Αυτό οφείλεται στο γεγονός πως οι ενδημικές ασθένειες απαιτούν την ανάπτυξη ενεργού εμβολίου, καθώς και στο γεγονός πως μία αποτελεσματική θεραπεία χρειάζεται το συνδυασμό πολλών αντισωμάτων που συνεπάγεται με υψηλό κόστος δαπανών. Μέχρι σήμερα, έξι μονοκλωνικά αντισώματα έχουν εγκριθεί από τον FDA για ενδείξεις όπως η πρόληψη της λοίμωξης

από τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV), τη θεραπεία λοιμώξεων από άνθρακα, τη πρόληψη της υποτροπής της λοίμωξης *Clostridioides difficile* και τη πρόληψη της λοίμωξης από τον ιό έμπολα. Η εξάπλωση του COVID-19 οδήγησε στην ανάγκη ανάπτυξης μονοκλωνικών αντισωμάτων για τη θεραπεία του αναπνευστικού αυτού συνδρόμου με αποτέλεσμα τη μερική χρήση τους σε περιπτώσεις έκτακτης ανάγκης. Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα για να καθίσταται βιώσιμο θα πρέπει να είναι αποτελεσματικό, βοηθώντας την απομάκρυνση της λοίμωξης, τη μείωση του μολυσματικού φορτίου καθώς και τη μείωση του χρόνου επούλωσης ή τη πρόληψη της λοίμωξης. Η στόχευση σε συγκεκριμένους μικροβιακούς επίτοπους που επάγουν τη παθογένεση μπορεί να αυξήσει την ισχύ της ειδικής βιολογικής δραστηριότητας ανά δόση. Τα θεραπευτικά για μολυσματικές ασθένειες μονοκλωνικά αντισώματα μέσω της δέσμευσης τους με ένα μόνο μικροβιακό επίτοπο μπορούν να δράσουν με πολλούς βιολογικούς τρόπους.

Όσον αφορά τις βακτηριακές λοιμώξεις τα μονοκλωνικά αντισώματα στοχεύουν σε παράγοντες που σχετίζονται με τη λοιμογόνο δύναμη. Στοχεύοντας αυτούς τους παράγοντες τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να εμποδίσουν τις βακτηριακές εξωτοξίνες και τους λιποπολυσακχαρίτες (LPS) της βακτηριακής μεμβράνης να προκαλέσουν βλάβη στο ξενιστή. Η διαδικασία αυτή γίνεται αποτελεσματικότερη όταν διακόπτονται τα συμπτώματα.

Η θεραπεία μυκητιακών λοιμώξεων καθίσταται πολλά υποσχόμενη καθώς ορισμένοι επίτοποι είναι κοινοί για διάφορα είδη μυκήτων. Για παράδειγμα η χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος IgG2 ειδικό για λαμιναρίνη καθορίστηκε ικανό για την επαγωγή των μυκητιακών φαγοκυττάρωσης από μονοκύτταρα καθώς και για τη πρόληψη της μόλυνσης από *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans* και *Aspergillus spp.*

Η στόχευση ιικών παραγόντων δεν είναι αρκετά ικανή για την αποτελεσματική θεραπεία ιογενών λοιμώξεων παρ' όλα αυτά η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων που στοχεύουν σε πρωτεΐνες του ξενιστή μπορούν να αναστείλουν την είσοδο μίας ποικιλίας υποτύπων ιών. Παράλληλα μπορούν να εμποδίσουν ικές γλυκοπρωτεΐνες ιών με περίβλημα ή χωρίς να δεσμευτούν με τα κύτταρα του ξενιστή.

Καθώς οι διάφοροι μολυσματικοί παράγοντες αποτελούν ξένες ουσίες για το ανοσοποιητικό σύστημα η ανάγκη για την ύπαρξη ειδικότητας δεν είναι μεγάλη. Αυτό καθιστά τη χρήση πολυκλωνικών αντισωμάτων αμεσότερη για τη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών σε σχέση με τα μονοκλωνικά αντισώματα (Berry & Gaudet, 2011) (Pantaleo, Correia, Fenwick, Joo, & Perez, 2022).

### 2.5.3 Θεραπεία Καρκίνου με την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων

Σήμερα η θεραπεία διάφορων ειδών καρκίνου με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων αποτελεί μία από τις σημαντικότερες θεραπείες, με παράλληλη εφαρμογή χειρουργικών επεμβάσεων, ακτινοβολιών και χημειοθεραπειών. Η μελέτες για την εφαρμογή των mAbs στη θεραπεία καρκίνου ξεκίνησαν ύστερα από την ανακάλυψη της τεχνικής του υβριδώματος το 1975. Με την εξέλιξη της Βιοτεχνολογίας και της Μοριακής Βιολογίας με στόχο τη δημιουργία πλήρως ανθρωπινων αντισωμάτων, τα mAbs έχουν αυξήσει τη διαθεσιμότητα και τη χρησιμότητα τους και

μέχρι και σήμερα πολλά βρίσκονται υπό κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία του καρκίνου. Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι ικανά να προσφέρουν μία ποικιλία μηχανισμών δράσης με στόχο τη καταστροφή των καρκινικών κυττάρων και τη μείωση της τοξικότητας. Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν τη παρεμπόδιση των καταρρακτών επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων, την αναστολή ανάπτυξης του όγκου παρεμβαίνοντας στην αγγειογένεση του όγκου, την αποφυγή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και την αποφυγή σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού. Τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν τη δυνατότητα είτε να αλληλεπιδράσουν απευθείας με τα καρκινικά κύτταρα στοχεύοντας υποδοχείς μεμβράνης, είτε να εμπλακούν στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή και να ενισχύσουν την αντικαρκινική ανοσοαπόκριση του. Μπορούν να δράσουν με τέσσερις διαφορετικούς μηχανισμούς. (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020)

### *Μηχανισμοί δράσης*

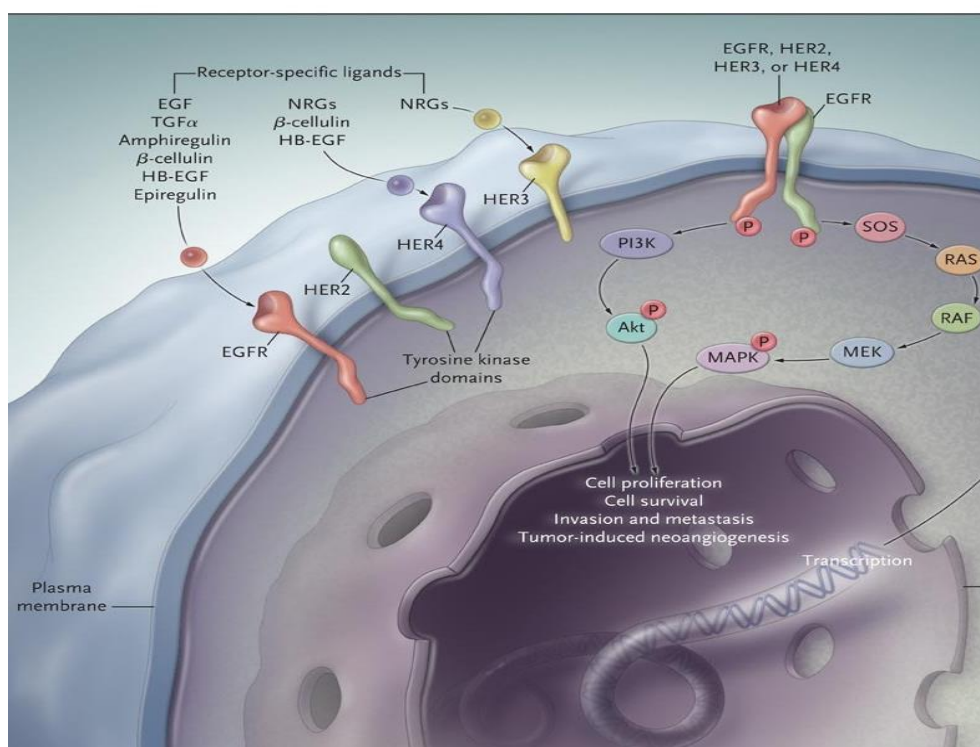
#### *α) Διαταραχή σηματοδότησης υποδοχέων αυξητικού παράγοντα*

Οι υποδοχείς κινάσης τυροσίνης αποτελούνται από ομάδες μεμβρανικών υποδοχέων και αποτελούν ρυθμιστές της κυτταρικής σηματοδότησης. Μία από τις σημαντικότερες οικογένειες των υποδοχέων αυτών είναι η οικογένεια των υποδοχέων αυξητικού παράγοντα EGFR. Αποτελείται από τον EGFR/HER1, το HER2, το HER3 και το HER4 και μέσω διαφόρων οδών σηματοδότησης εμπλέκονται συχνά στη καθοδήγηση του πολλαπλασιασμού, στη διαφοροποίηση και στην επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Η ανάπτυξη καρκινικών όγκων σε διάφορους τύπους καρκίνου φαίνεται να σχετίζεται με τους υποδοχείς αυτούς (Amaia Eleonora Maennling, 2019). Όλοι οι υποδοχείς αποτελούνται από μία εξωκυττάρια δομή που περιέχει θέση δέσμησης με προσδέτη, μία μονή διαμεμβρανική έλικα και μία ενδοκυττάρια δομή με ενεργότητα κινάσης τυροσίνης. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων επάγεται με τη σύνδεση του προσδέτη στην εξωκυττάρια περιοχή τους με εξαίρεση το HER2 που δεν απαιτείται προσδέτης για την ενεργοποίησή του. Έπειτα από τη σύνδεση των υποδοχέων με το προσδέτη, πραγματοποιείται ο σχηματισμός διμερών μεταξύ δύο υποδοχέων, είτε ίδιων (ομοδιμερισμός) είτε διαφορετικών (ετεροδιμερισμός). Τα διμερή με την σειρά τους ενεργοποιούν πρωτεΐνες που διεγείρουν καταρράκτες σηματοδότησης όπως της οδού KRAS-RAF-MEK-ERK, που ελέγχει τη γονιδιακή μεταγραφή και την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, της 3-κινάσης φωσφοϊνσιτίδης (PI3K) και της οδού αντι-αποπτωτικής κινάσης AKT που ρυθμίζουν τη κυτταρική επιβίωση καθώς και της οδού σηματοδότησης STAT που συμμετέχει στην απόπτωση των κυττάρων. Οι οδοί αυτοί επάγουν το πολλαπλασιασμό κυττάρων, την αγγειογένεση, και τη μετανάστευση διευκολύνοντας τη μετάσταση των όγκων. Ο EGFR και ο HER2 αποτελούν τους πιο καλά μελετημένους υποδοχείς και για αυτό το λόγο έχει ερευνηθεί αρκετά και ο τρόπος δράσης τους (Demlie, Balcha, & Fesseha, 2020).

#### *Υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR)*

Ο υποδοχέας αυτός αποτελεί μία πρωτεϊνική κινάση τυροσίνης. Η σηματοδότηση μέσω του υποδοχέα EGFR ενεργοποιείται όταν ο υποδοχέας δεσμεύεται με έναν προσδέτη (κυρίως με τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα, EGF). Αφού συνδεθεί με το προσδέτη του, ο EGFR σχηματίζει ομοδιμερή ή ετεροδιμερή με αποτέλεσμα τη φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης που εντοπίζονται στην ενδοκυττάρια δομή του, οδηγώντας σε κυτταρικό πολλαπλασιασμό, μετανάστευση και εισβολή κυρίως μέσω της ενεργοποίησης των οδών MAPK και AKT (Wang, Wee, &

Zhixiang, 2017). Η αυξημένη έκφραση του EGFR σχετίζεται με την ανάπτυξη καρκίνου και κυρίως επιθετικής μορφής. Επάγει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την επιβίωση, τη μετάσταση και τη διήθηση και εντοπίζεται σε διάφορους καρκίνους όπως του παχέος εντέρου, της κεφαλής του τραχήλου, του μαστού, των ωοθηκών, των πνευμόνων και των κακοήθων γλοιωμάτων. Η στόχευση αυτού του υποδοχέα αποτελεί μία αρκετά αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση. Μονοκλωνικά αντισώματα που στοχεύουν αυτόν τον υποδοχέα εμποδίζουν τη σύνδεση του με το προσδέτη του μπλοκάροντας την ενεργοποίηση μονοπατιών σηματοδότησης. Το **cetuximab** αποτελεί ένα αντι-EGFR μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο εμποδίζει την αλληλεπίδραση του υποδοχέα με το συνδέτη καθώς και το διμερισμό του με αποτέλεσμα τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Ένα δεύτερο αντι-EGFR mab αποτελεί το **panitumumab** το οποίο δεσμεύεται εξίσου στον υποδοχέα EGFR εμποδίζοντας τον να δεσμευτεί με το συνδέτη (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020).

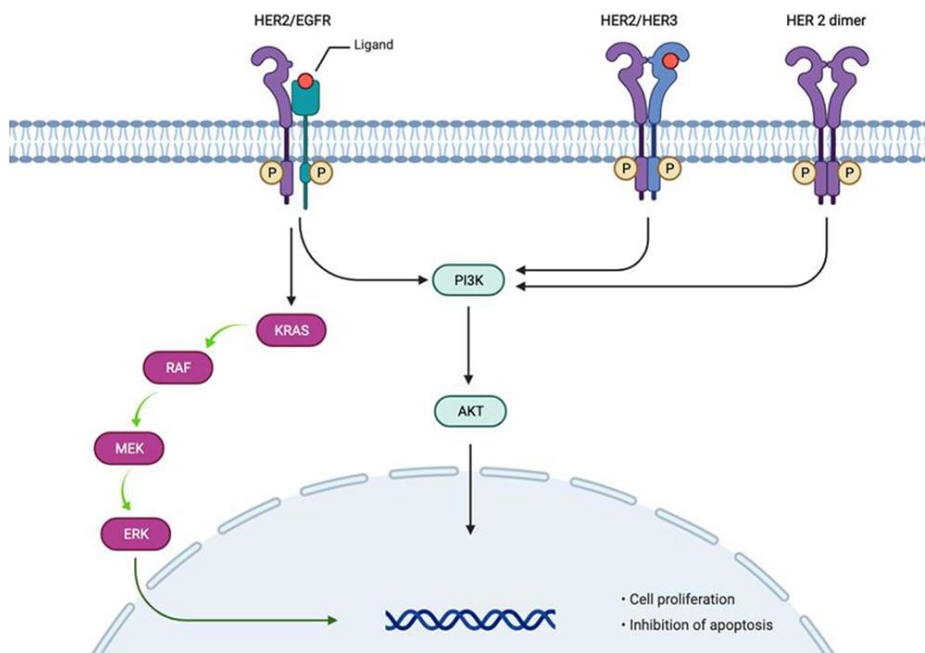


**Εικόνα 9** Οδοί μεταγωγής σήματος που ελέγχονται από την ενεργοποίηση του EGFR. Ξεκινάει με τη δέσμευση του EGFR με τον προσδέτη του. Στη συνέχεια δημιουργούνται ενεργά διμερή. Οι οδοί που ενεργοποιούνται είναι το μονοπάτι RAS/RAF/MEK/MAPK και PI3K-Akt. Ανακτήθηκε από : <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmra0707704> 2023.

### Υποδοχέας του ανθρῶπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER2)

Ο HER2, γνωστός ως ErbB2 ή HER2/neu ανήκει στην οικογένεια HER και αποτελεί έναν υποδοχέα κινάσης-τυροσίνης. Περιέχει μία ενδοκυτταρική περιοχή κινάσης τυροσίνης και μία περιοχή δέσμευσης εξωκυτταρικού συνδέτη. Ο υποδοχέας αυτός είναι ο μόνος που δεν ενεργοποιείται μέσω σύνδεσης με προσδέτη και σχηματίζει ετεροδιμερή με άλλους υποδοχείς HER. Παίζει σημαντικό ρόλο στη κυτταρική ανάπτυξη, επιβίωση και διαφοροποίηση των κυττάρων. Ο ετεροδιμερισμός με HER2 επάγει την πιο ισχυρή οδό μεταγωγής σήματος σε σχέση με άλλους

ετεροδιμερισμούς. Παράλληλα έχει τη δυνατότητα να ομοδιμερίζεται χωρίς την ύπαρξη προσδέτη με αποτέλεσμα να είναι συνεχώς ενεργός. Αφού ενεργοποιηθεί και σχηματίσει ετεροδιμερή, πραγματοποιείται η φωσφορυλίωση των κατάλοιπων τυροσίνης της ενδοκυτταρικής δομής του υποδοχέα με αποτέλεσμα τη μεταγωγή σημάτων. Τα κύρια μονοπάτια σηματοδότησης που διαμεσολαβούν μέσω HER2 περιλαμβάνουν την οδό ενεργοποιημένης από μιτογόνο πρωτεΐνη κινάσης (MAPK), και την οδό 3-κινάση φωσφοϊνοσιτίδη (PI3K) (Tai, Mahato, & Cheng, 2010). Το HER2 υπερεκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε περιπτώσεις καρκίνου μαστού, ωθηκών και στομάχου. Συνδέεται με πιο επιθετικές μορφές και με κακή πρόγνωση και αποτελεί έναν ελκυστικό στόχο για τη θεραπεία του καρκίνου. Η στόχευση αυτού του υποδοχέα με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων θα εμπόδιζε το σχηματισμό ετεροδιμερών ή ομοδιμερών με αποτέλεσμα τη παρεμπόδιση μεταγωγής σήματος και έναρξης της κυτταρικής ανάπτυξης. Η **τραστουζουμάμπη(trastuzumab)** αποτελεί το πρώτο αντι-HER2 μονοκλωνικό αντίσωμα με στόχο την παρεμπόδιση του ετεροδιμερισμού του υποδοχέα και συντελεί βασικό παράγοντα τη θεραπείας του καρκίνου του μαστού με ενισχυμένο HER2. Σήμερα έχουν εγκριθεί πολλαπλά mabs που στοχεύουν το HER2 προσδίδοντας υψηλή αποτελεσματικότητα στη θεραπεία καρκίνου. (Shuptrine, Surana, & Weiner, 2012).



**Εικόνα 10 Μονοπάτι σηματοδότησης HER2.** Ο υποδοχέας HER2 παραμένει συνεχώς ενεργός καθώς δεν χρειάζεται να συνδεθεί με κάποιον προσδέτη. Η σύνδεση του με άλλους υποδοχείς ή η σύνδεση με έναν ίδιο υποδοχέα επάγει τη μεταγωγή σημάτων και τη ενεργοποίηση οδών σηματοδότησης. Ανακτήθηκε από <https://app.biorender.com/biorender-templates>, 2023

### β) Ενεργοποίηση εξαρτώμενης από το συμπλήρωμα κυτταροτοξικότητας(CDC)

Το CDC αποτελεί έναν σημαντικό μηχανισμό δράσης έναντι του καρκίνου. Το σύστημα του συμπληρώματος ενεργοποιείται ύστερα από τη σύνδεση αντισωμάτων σε ένα κύτταρο στόχο. Ένας καταρράκτης ενεργοποιήσεων έχει ως αποτέλεσμα την έκκριση αναφυλατοζίνων και οψωνινών λύοντας τα κύτταρα και επάγοντας φαγοκυττάρωση. Το **rituximab** είναι ένα αντι-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα που παίζει πολύ ισχυρό ρόλο στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Συγκεκριμένα το rituximab στοχεύει τη πρωτεΐνη CD20 που βρίσκεται στην επιφάνεια της

μεμβράνης των B κυττάρων και χρησιμοποιείται για λεμφοπλασματοκυτταρικές διαταραχές. Η σύνδεση του FcγR υποδοχέα των ανοσοποιητικών κυττάρων με τη περιοχή Fc του rituximab επάγει την απελευθέρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών και την ενεργοποίηση της φαγοκυττάρωσης οψωνοποιημένων κυττάρων στόχων (Mahmuda, et al., 2017).

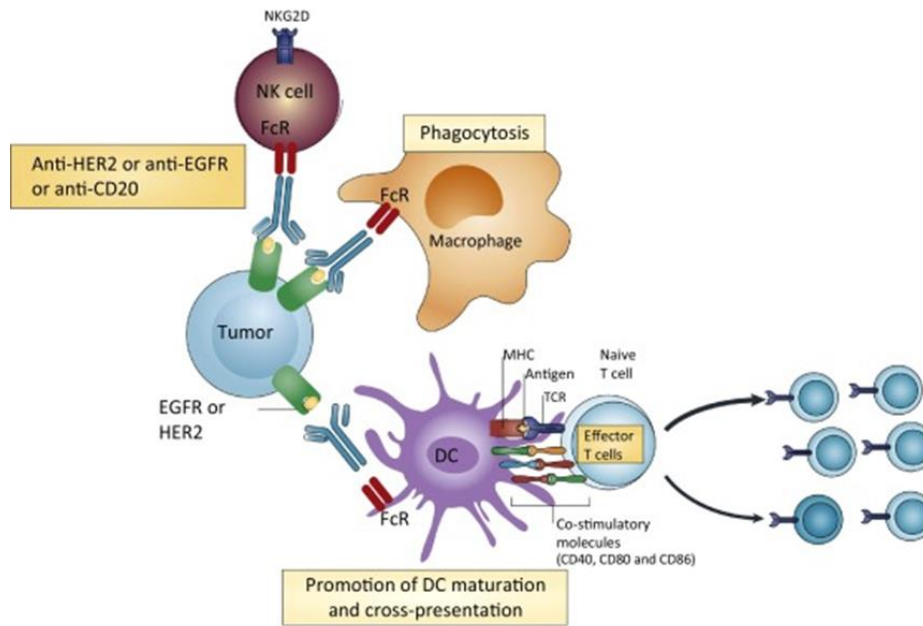
#### *γ) Εξαρτώμενη από αντισώματα κυτταρομεσολαβούμενη κυτταροτοξικότητα (ADCC)*

Αποτελεί έναν μηχανισμό στον οποίο διάφορα τελεστικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος όπως κύτταρα φυσικοί φονείς, μακροφάγα, ουδετερόφιλα ή ηωσινόφιλα καταστρέφουν ένα κύτταρο στόχο το οποίο έχει δεσμευτεί με ένα ειδικό αντίσωμα. Τα κύτταρα φυσικοί φονείς αποτελούν τη κύρια ομάδα τελεστικών κυττάρων και απελευθερώνουν κυτταροτοξικούς παράγοντες με αποτέλεσμα τη θανάτωση του κυττάρου-στόχου. Στην επιφάνεια των τελεστικών κυττάρων βρίσκονται διάφοροι υποδοχείς μεμβράνης FcRs που αναγνωρίζουν τα αντισώματα αποικοδομώντας τελικά το κύτταρο στόχο. Κάθε κατηγορία αντισωμάτων συνδέεται και με τον αντίστοιχο υποδοχέα. Οι FcγRs υποδοχείς που αλληλεπιδρούν με IgG αντισώματα σχετίζονται περισσότερο με ADCC και αποτελούνται από τους ενεργοποιητικούς υποδοχείς FcγRI(CD64), FcγRIIA(CD32A), FcγRIIIA(CD16A) και από τον ανασταλτικό FcγRIIB(CD32B) (Shuptrine, Surana, & Weiner, 2012).

#### *δ) Επαγωγή προσαρμοστικής Ανοσίας*

Τα μονοκλωνικά αντισώματα μέσω CDC, ADCC και ADCP μπορούν να επάγουν προσαρμοστική ανοσία έναντι καρκινικών κυττάρων και αυτή η δυνατότητα τα καθιστά αρκετά ωφέλιμα στη θεραπεία του καρκίνου προσδίδοντας μία παρατεταμένη αντικαρκινική ανοσολογική απόκριση στο ξενιστή. Η δράση των mabs πέρα από τους μηχανισμούς που στοχεύουν άμεσα στη καταστροφή των καρκινικών κυττάρων παρέχει και μηχανισμούς που ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα με αποτέλεσμα να ελέγχεται η ανάπτυξη του όγκου. Μπορούν να ενισχύουν τη δυνατότητα των δενδριτικών κυττάρων να προσλαμβάνουν αντιγόνα όγκου γεγονός που συμβάλλει στην άμεση ενεργοποίηση και επέκταση των CD4+ και CD8+ T κυττάρων ειδικών για τον όγκο. Τα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του HER2 και του EGFR διευκολύνουν τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης καθώς ενισχύουν την έκφραση των αντιγόνων όγκου στα δενδριτικά κύτταρα μέσω της σύνδεσης τους στους υποδοχείς FcRs. Ο οψωνισμός μέσω των υποδοχέων αυτών επάγει την αυξημένη έκφραση συνδιεργετικών μορίων όπως CD40, CD80, CD86 στην επιφάνεια δενδριτικών κυττάρων με αποτέλεσμα την ενίσχυση της σηματοδότησης των υποδοχέων των T κυττάρων και τελικά την άμεση ενεργοποίησή τους. (Meng Michelle Xu, 2016)





**Εικόνα 11** Απεικόνιση των διαφόρων ανοσολογικών αποκρίσεων που πραγματοποιούνται με τη χρήση στοχευμένων θεραπευτικών μονοκλωνικών αντισωμάτων. Συγκεκριμένα περιγράφεται η δράση των αντι- HER2 και αντι-EGFR μονοκλωνικών αντισωμάτων ενεργοποιώντας το έμφυτο και το προσαρμοστικό ανοσολογικό σύστημα. Τα κύτταρα φυσικοί φονείς μέσω των υποδοχέων τους FcR, αναγνωρίζουν και συνδέονται με τα αντισώματα που έχουν ήδη δεσμεύσει το EGFR ή το HER2 που εντοπίζονται στην επιφάνεια του καρκινικού κυττάρου. Τα NK κύτταρα απελευθερώνοντας κυτταροτοξικούς παράγοντες θανατώνουν τα καρκινικά κύτταρα άμεσα. Τα μακροφάγα μέσω των αντίστοιχων υποδοχέων τους αλληλεπιδρούν με τα μονοκλωνικά αντισώματα που έχουν συνδεθεί με τους υποδοχείς EGFR και HER2 επάγοντας τη διαδικασία της ενδοκυττάρωσης. Τέλος τα δενδριτικά κύτταρα τα οποία συνδέονται με τα μονοκλωνικά αντισώματα παρουσιάζουν στην επιφάνεια τους με τη βοήθεια συνδιεργετικών μορίων CD και των μορίων MHC τα καρκινικά αντιγόνα. Τα καρκινικά αντιγόνα αναγνωρίζονται μέσω των TCR υποδοχέων των τελεστικών T κυττάρων επάγοντας τη κυτταροτοξική τους δράση.

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1016/j.it.2015.12.007> 12/2022

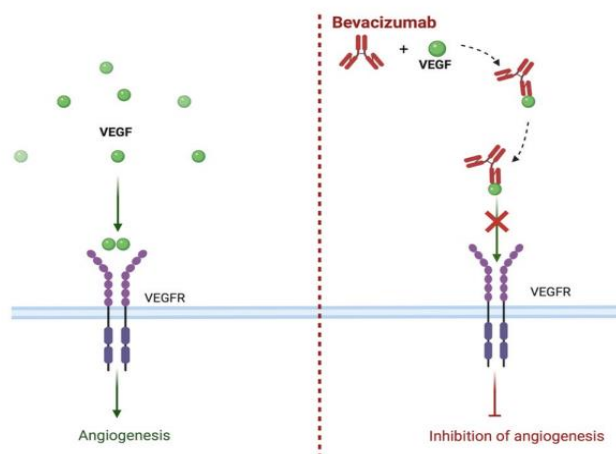
### μονοκλωνικά αντισώματα που στοχεύουν στο μικροπεριβάλλον του όγκου (TME)

Ένας όγκος δεν σχετίζεται μόνο από τις συστάδες μετασχηματισμένων κυττάρων. Στη δημιουργία ενός όγκου παίζει ρόλο το ανώμαλο μικροπεριβάλλον στο οποίο θα αναπτυχθούν τα επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα. Το μικροπεριβάλλον του όγκου αποτελείται από παράγοντες που αναστέλλουν τις αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις, προάγοντας την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων και την προ-ογκογόνο αγγειογένεση. Στο μικροπεριβάλλον αυτό συναντώνται μία αλλοιωμένη εξωκυττάρια μήτρα(σύμπλεγμα πρωτεϊνών και μακρομορίων όπως κολλαγόνο και υαλουρονικό οξύ), πολλά μετασχηματισμένα κύτταρα, λιποκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα,

αιμοφόρα αγγεία καθώς και κύτταρα του ανοσοποιητικού (Henriques, Mendes, & Martins, 2021). Πέρα από την άμεση στόχευση των καρκινικών κυττάρων έχει αναπτυχθεί μία προσέγγιση θεραπείας του καρκίνου με χρήση mabs η οποία στοχεύει το μικροπεριβάλλον του όγκου με αποτέλεσμα την ενίσχυση της κλινικής αποτελεσματικότητας. Η στόχευση αυτών των κρίσιμων προ-ογκογόνων διεργασιών εντός του μικροπεριβάλλοντος του όγκου έχει αποδειχτεί επιτυχής (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020). Σύμφωνα με τον FDA τα μονοκλωνικά αντισώματα που δρουν ενάντια στο μικροπεριβάλλον του όγκου αποτελούν τα mabs κατά της αγγειογένεσης, τα ανοσοτροποποιητικά mabs, τα mabs που στοχεύουν και αποκλείουν σήματα ανάπτυξης και αυτά που στοχεύουν στην οδό καρκινικών βλαστοκυττάρων (Aghanejad, Bonab, Sepehri, Haghighi, & Tarighatnia, 2022).

### *mabs κατά της αγγειογένεσης*

Η αγγειογένεση αποτελεί μία διαδικασία που περιλαμβάνει το σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων από ήδη υπάρχοντα αιμοφόρα αγγεία. Είναι ένας κρίσιμος παράγοντας που επηρεάζει άμεσα την ανάπτυξη του όγκου και τη μετάσταση, καθώς χωρίς την ύπαρξη αγγείωσης η ανάπτυξη του όγκου είναι ανέφικτη (Cetinkaya & Ancı, 2022). Ειδικά σχεδιασμένα mabs μπορούν να έχουν τη δυνατότητα να περιορίσουν τη παροχή του αίματος και την παρουσία θρεπτικών συστατικών στο μικροπεριβάλλον του όγκου αναστέλλοντας την εξέλιξη του. Ο κύριος μοριακός εκκινητής της αγγειογένεσης και κατά επέκταση ο πιο κοινός στόχος είναι ο **ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας A(VEGF-A)**, ο οποίος αφθονεί στο μικροπεριβάλλον πολλών συμπαγών όγκων. Ο παράγοντας αυτός συνδέεται με τον υποδοχέα του, (VEGFR) που εντοπίζεται στο γειτονικό αγγειακό ενδοθήλιο του όγκου για να προκαλέσει αγγειογένεση (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020). Το **bevacizumab** είναι ένα ανθρωποποιημένο mab το οποίο εμποδίζει τη δέσμευση του VEGF με τον υποδοχέα του αγγειακού ενδοθηλίου, δεσμεύοντας και εξουδετερώνοντας το συνδότη του VEGF (Shuptrine, Surana, & Weiner, 2012). Άλλος ένας προαγγειογόνος παράγοντας είναι ο αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από αιμοπετάλια (PDGF) με τον υποδοχέα του PDGFR και αποτελεί έναν σημαντικό θεραπευτικό στόχο (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020).



**Εικόνα 12 Μηχανισμός δράσης bevacizumab.** Στην αριστερή εικόνα παρουσιάζεται ο τρόπος ενεργοποίησης της αγγειογένεσης με τη σύνδεση του VEGF-A στον VEGFR. Δεξιά απεικονίζεται η δράση του bevacizumab, το οποίο εμποδίζει τη σύνδεση του VEGF-A στο συνδέτη του αναστέλλοντας την αγγειογένεση.

Ανακτήθηκε από: <https://doi.org/10.1007/s12032-022-01749-1>, 2022

### Ανοσοτροποποιητικά mabs

Τα ανοσοτροποποιητικά mabs στοχεύουν έμμεσα τους όγκους ενεργοποιώντας τους πιθανούς μηχανισμούς άμυνας του ανοσοποιητικού. Τα mabs αυτά αλληλεπιδρούν άμεσα με ένα διαλυτό ή κυτταρικό συστατικό του ανοσοποιητικού συστήματος για να προκαλέσουν ανοσολογικές αποκρίσεις έναντι των καρκινικών κυττάρων. Παρουσιάζουν μία πιο αποτελεσματική θεραπεία καθώς διεγείρουν την αντικαρκινική ανοσία προσδίδοντας και ανοσολογική μνήμη. Συμβάλλουν στη καταστροφή συμπαγών όγκων σε καρκίνο με όψιμο στάδιο και προσφέρουν προστασία από την υποτροπή. Τα ανοσοτροποποιητικά mabs έχουν τη δυνατότητα να μετατοπίσουν την ισορροπία της ανοσολογικής ομοιόστασης προς τη καταστροφή του όγκου μέσω της πρόκλησης πολλαπλών συστατικών της αντικαρκινικής ανοσοαπόκρισης. (Aghanejad, Bonab, Serehri, Haghighi, & Tarighatnia, 2022).

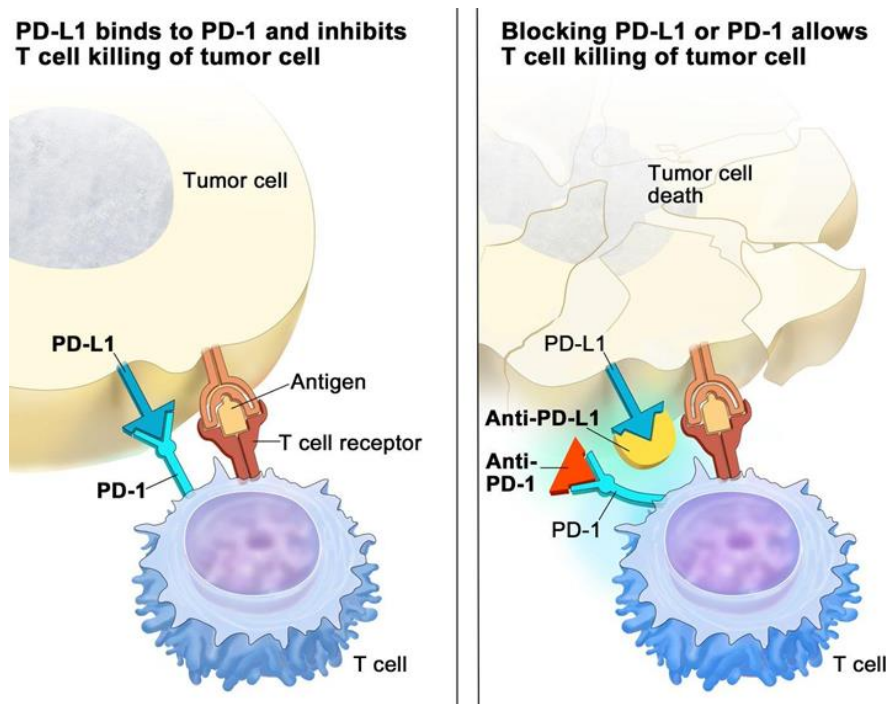
### Mabs που στοχεύουν στον αποκλεισμό σημείων ελέγχου

Μία άλλη προσέγγιση στη θεραπεία του καρκίνου με τη χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων είναι ο αποκλεισμός των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού. Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος ελέγχονται και οργανώνονται από μία ομάδα συνδιεργητικών και συνασταλτικών σημάτων με στόχο τη αποτελεσματική ανοσοαπόκριση. Η ομάδα αυτή αποτελείται από ανοσοκατασταλτικούς υποδοχείς και μονοπάτια τα οποία συμβάλλουν στην ισορροπία της αυτοανοχής και στη ρύθμιση των ανοσολογικών αποκρίσεων με αποτέλεσμα τη παρεμπόδιση των πολλαπλών βλαβών των ιστών. Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται στην περίπτωση αυτή καλούνται αναστολείς ανοσολογικού σημείου ελέγχου και επεμβαίνουν στην αντικαρκινική ανοσοαπόκριση (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020). Ένας από τους κύριους αναστολείς του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου στοχεύει το **T κυτταροτοξικό λεμφοκυτταρικό αντιγόνο**

#### **4 (CTLA-4) και ο δεύτερος στοχεύει στη πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1) και το συνδέτη της (PD-L1)**

Το CTLA-4 αποτελεί προϊόν έκφρασης των T ρυθμιστικών κυττάρων, τα οποία εισβάλλουν σε καρκινικούς όγκους και αναστέλλουν τη δράση των T κυττάρων προκαλώντας ανοσοκαταστολή. Το αντιγόνο αυτό αλληλεπιδρά με τα CD80 και CD86 τα οποία βρίσκονται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Αναστέλλοντας τη δράση του CTLA-4, τα T ρυθμιστικά κύτταρα αδυνατούν να εμποδίσουν την αντικαρκινική ανοσοαπόκριση με αποτέλεσμα την αυξημένη λειτουργικότητα των T κυτταροτοξικών κυττάρων, των CD4+ κυττάρων καθώς και των αντιγονοπαρουσιαστικών. (Shuptrine, Surana, & Weiner, 2012). Το Ipilimumab, ήταν το πρώτο αντίσωμα που εγκρίθηκε από τον FDA το 2011 για τη θεραπεία του μεταστατικού μελανώματος και αποτελεί ένα ανταγωνιστικό αντίσωμα το οποίο στοχεύει στο CTLA-4. Το Ipilimumab ενώνεται με το CTLA-4 εμποδίζοντας το να αλληλεπιδράσει με το B7 στο αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των κυτταροτοξικών T κυττάρων που θα σκοτώσουν τα καρκινικά κύτταρα. (Santos, Quintilio, Manieri, Tsuruta, & Moro, 2018).

Η PD-1 πρωτεΐνη εντοπίζεται στα CD8+ και CD4+ T κύτταρα, στα ρυθμιστικά T κύτταρα, καθώς και στα ενεργοποιημένα B κύτταρα. Βασικός ρόλος της πρωτεΐνης αυτής είναι να ρυθμίζει τη λειτουργία των τελεστικών T κυττάρων καθώς σχετίζεται με τη προγραμματισμένη οδό θανάτου των κυττάρων αυτών (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020). Η πρωτεΐνη αυτή αλληλεπιδρά με το συνδέτη πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (PD-L1) που εντοπίζεται στην επιφάνεια δενδριτικών κυττάρων ή μακροφάγων, σηματοδοτώντας το περιορισμό της δραστηριότητας των T τελεστικών κυττάρων. Όταν τα καρκινικά κύτταρα εκφράζουν PDL-1, αλληλεπιδρούν με τα κύτταρα που εκφράζουν PD-1 και η σύνδεση αυτή αποτρέπει στα T κύτταρα να τα καταστρέψει. Το nivolumab αποτελεί ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει τη PD-1 με αποτέλεσμα να την αποτρέψει να συνδεθεί με το συνδέτη της, μπλοκάροντας την οδό που εμποδίζει τη δραστηριότητα των T κυττάρων έναντι των καρκινικών κυττάρων. (Santos, Quintilio, Manieri, Tsuruta, & Moro, 2018).



**Εικόνα 13 Μηχανισμός δράσης αναστολέων ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου.** Στην αριστερή εικόνα η πρωτεΐνη PD-1 που εντοπίζεται στα T κύτταρα αλληλεπιδρά με το συνδέτη της PDL-1 που εκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα. Η σύνδεση αυτή εμποδίζει τα T κύτταρα να σκοτώσουν τα καρκινικά κύτταρα. Στη δεξιά εικόνα περιγράφεται ο αποκλεισμός της σύνδεσης PD-1 με PDL-1 μέσω τη χρήση αναστολέων ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου με αποτέλεσμα να επιτρέπουν στα T κύτταρα να εφαρμόσουν τη κυτταροτοξική τους δράση με στόχο την εξόντωση καρκινικών κυττάρων.

Ανακτήθηκε από: National Cancer Institute <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy/checkpoint-inhibitors> 2022.

*mabs για τη ρύθμιση κατασταλτικών κυττάρων του ανοσοποιητικού*

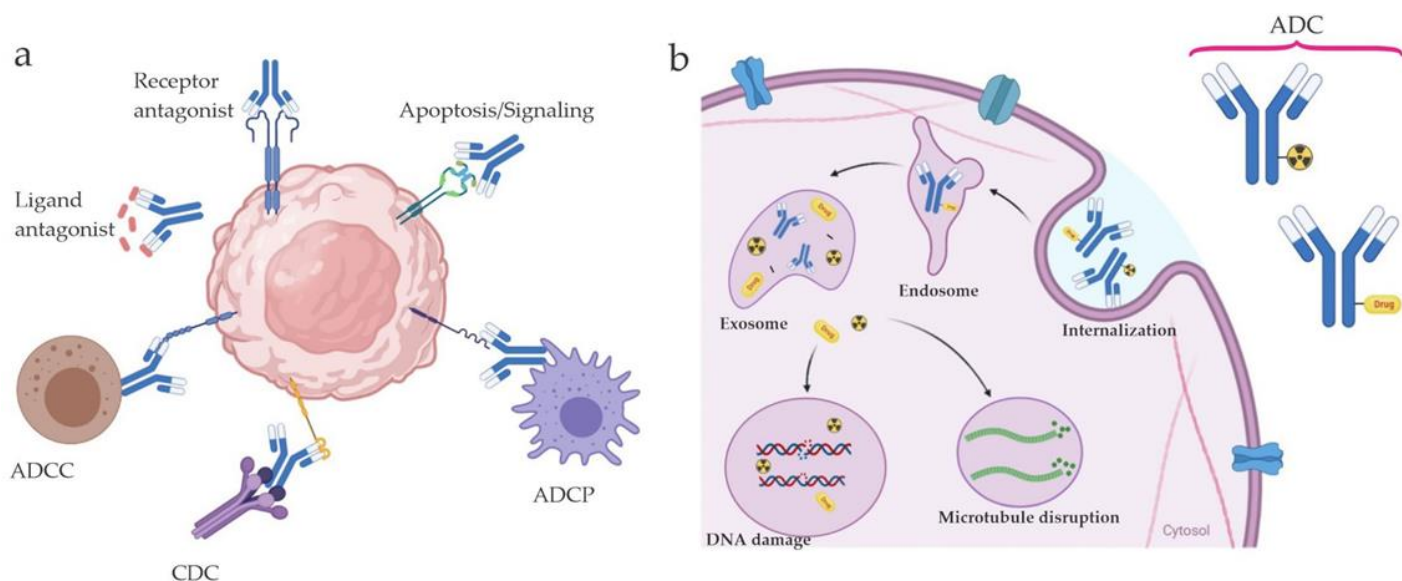
Τα τελεστικά κύτταρα συμβάλλουν σε έναν μεγάλο βαθμό στο ανοσοκατασταλτικό περιβάλλον όγκου. Τα CD4+, CD25+, FOXP3+ T κύτταρα αποτελούν τα ρυθμιστικά T κύτταρα τα οποία μεταδίδουν ανασταλτικά σήματα στα κύτταρα του ανοσοποιητικού. Η δράση τους υπέρ του όγκου αποδεικνύεται από την ύπαρξη υψηλής συγκέντρωσης τους σε αυτόν. Ο μετασχηματικός αυξητικός παράγοντας B (TGF-B), εκκρίνεται από ορισμένα καρκινικά κύτταρα, αναστέλλοντας τη λειτουργία των τελεστικών κυττάρων στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Το Fresolimumab αποτελεί ένα αντι-TGF-B μονοκλωνικό αντίσωμα (Shuptrine, Surana, & Weiner, 2012).

## Κατηγορίες θεραπευτικών μονοκλωνικών αντισωμάτων

### α) Μονοκλωνικά αντισώματα συζευγμένα με δραστικά μόρια (Antibody-Drug Conjugates, ADC)

Μία από τις ταχύτερες αναπτυσσόμενες θεραπευτικές τεχνικές χρησιμοποίησης των μονοκλωνικών αντισωμάτων είναι η σύζευξη τους με διάφορα ωφέλιμα κυτταροτοξικά φορτία. Τα ADC αποτελούν πολύπλοκα μόρια που συνδυάζουν ένα αντίσωμα με ένα φυσιολογικά ενεργό κυτταροτοξικό (αντικαρκινικό) ωφέλιμο φορτίο ή φάρμακο αυξάνοντας την αντικαρκινική τους δράση. Τα ωφέλιμα αυτά μόρια, είναι συνδεδεμένα με τις περιοχές της βαριάς ή της ελαφριάς αλυσίδας των μονοκλωνικών αντισωμάτων και εφαρμόζουν την αντικαρκινική τους δράση αφού το αντίσωμα εντοπίσει το καρκινικό-στόχο και εισέλθει στο καρκινικό κύτταρο. Τα δραστικά αυτά μόρια μπορεί να περιλαμβάνουν κυτταροτοξικά φάρμακα, ανοσοτοξίνες καθώς και ραδιο-νουκλειτιδικούς παράγοντες. Το πλεονέκτημα των ADC είναι ότι μπορούν να συνδυάσουν την δράση των θεραπευτικών αντισωμάτων με τη προσφορά της θεραπείας με χημειοθεραπεία. Το Brentuximab vedotin αποτελεί το πρώτο συζευγμένο μονοκλωνικό αντίσωμα που εγκρίθηκε το 2011 από τον FDA. Το μονοκλωνικό αυτό αντίσωμα έχει ως στόχο το CD30 που εκφράζεται από τα κύτταρα λεμφώματος (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020).

Ένα συζυγές αντίσωμα-φάρμακο αποτελείται από τρία μέρη. Το ειδικό για το καρκινικό αντιγόνο αντίσωμα, η κυτταροτοξική ουσία και ο χημικός συνδέτης που ενώνει το αντίσωμα με το φάρμακο. Ο συνδέτης αποτελεί ένα βασικό συστατικό στη δομή ενός ADC. Υπάρχουν δύο τύποι, ο διασπάσιμος συνδέτης και ο μη διασπάσιμος συνδέτης. Οι διασπάσιμοι συνδέτες απελευθερώνουν το ωφέλιμο φορτίο με υδρόλυση ή πρωτεόλυση ενώ οι μη διασπάσιμοι συνδέτες βασίζονται στην αποικοδόμηση του αντισώματος για την απελευθέρωση του κυτταροτοξικού φορτίου (Sharela, Humberto, Santiago, & Escriva-de-Romani, 2022). Αφού το αντίσωμα συνδεθεί με το αντιγόνο που βρίσκεται στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων, το ADC μέσω της ενδοκυττάρωσης εισέρχεται στα καρκινικά κύτταρα μέσω ειδικών υποδοχέων. Εκεί το εξειδικευμένο κυτταροτοξικό φορτίο απελευθερώνεται στο εσωτερικό του κυττάρου με στόχο να το καταστρέψει. Οι πιο συνηθισμένοι στόχοι των ADC αφορούν αντιγόνα αιματολογικών καρκίνων, όπως τα CD33, CD30, CD22 και CD79b (Shim & Hyunbo, 2020). Για τη κατασκευή ενός ADC απαιτείται όχι μόνο η προσεκτική επιλογή του αντιγόνου που εκφράζεται σε έναν όγκο αλλά και τη μελέτη του καταλληλότερου συνδυασμού μεταξύ αντισώματος συνδέτη και μορίου (Quinteros, et al., 2017). Σε αντίθεση με ένα μη συνδεδεμένο μονοκλωνικό αντίσωμα, το ADC, παραμένει στην επιφάνεια του καρκινικού κυττάρου ώστε να προάγει της λειτουργίες του ανοσοποιητικού τελεστή και στοχεύει αντιγόνα που εκφράζονται σε μικρότερη πυκνότητα στα καρκινικά κύτταρα λόγω της εγγενούς τους εσωτερίκευσης. (Aghanejad, Bonab, Sepehri, Haghighi, & Tarighatnia, 2022).



**Εικόνα 14 α) Μηχανισμοί δράσης μονοκλωνικών αντισωμάτων μέσω υποδοχέων.** Τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να επάγουν μία αντικαρκινική ανοσολογική απάντηση μέσω ADCC, CDC και ADCP. Παράλληλα μπορούν να δεσμεύονται με συνδέτες εμποδίζοντας ορισμένους υποδοχείς να συνδεθούν και να σηματοδοτήσουν καρκινική ανάπτυξη **β) εσωτερίκευση ADC μέσω υποδοχέα και στη συνέχεια λυσοσωμική αποικοδόμηση του.** Το ADC αφού δεσμευτεί με το αντιγόνο στόχο, εισέρχεται στο κύτταρο με ενδοκυττάρωση, όπου εκεί υφίσταται ενζυμική διάσπαση. Πραγματοποιείται απελευθέρωση κυτταροτοξικών παραγόντων καταστρέφοντας τα καρκινικά κύτταρα.

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.057> 12/2022

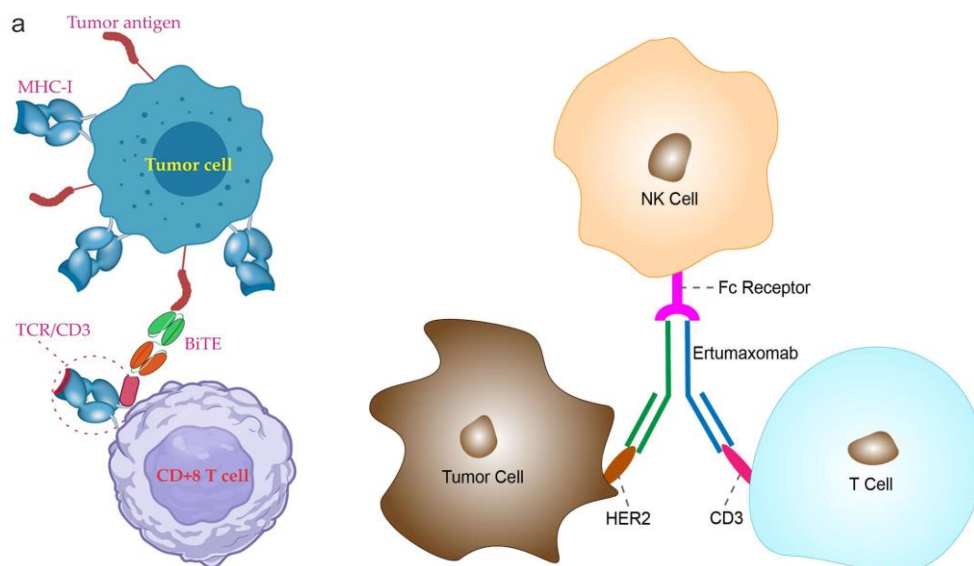
### β) Διειδικά μονοκλωνικά αντισώματα (BsAb)

Μία άλλη προσέγγιση για τη θεραπεία κατά του όγκου με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων είναι η ανάπτυξη διειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων. Τα διειδικά αντισώματα παρουσιάζουν δύο διακριτές περιοχές Fab με αποτέλεσμα να μπορούν να δεσμεύουν δύο διακριτούς επιτόπους, μία ιδιότητα που τους προσδίδει υψηλότερη ειδικότητα δέσμευσης σε αντίθεση με τα μονοειδικά mAbs (Shurtrine, Surana, & Weiner, 2012). Σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα είτε με την αλληλεπίδραση τους με ανοσοκύτταρα όπως μακροφάγα και κύτταρα NK, είτε με τη στρατολόγηση ανοσοαπόκρισης μέσω κυτταροτοξικών T κυττάρων. Η μία θέση δέσμευσης αντιγόνου, στοχεύει έναν δείκτη τελεστικού κυττάρου, όπως το CD3 στα T κύτταρα ή το CD16a στα κύτταρα NK και η άλλη θέση δέσμευσης στοχεύει τα αντιγόνα των καρκινικών κυττάρων όπως CD19, CD20, CD33, CD123, HER2, EGFR, μόριο προσκόλλησης επιθηλιακών κυττάρων (EPCAM) κ.α. Επιπλέον τα διειδικά mAbs μπορούν να στοχεύσουν δύο διαφορετικά αντιγόνα ή ακόμα και το ίδιο αντιγόνο σε διαφορετικούς επιτόπους. Όταν τα T κυτταροτοξικά κύτταρα πλησιάσουν με τα κύτταρα όγκου μέσω της δέσμευσης BsAb, ενεργοποιούνται τα T κύτταρα και επάγεται η καταστροφή των καρκινικών κυττάρων (Sedykh, Prinz, Buneva, & Nevinsky, 2018). Σημαντικό πλεονέκτημα των BsAbs είναι η μείωση της αντίστασης των καρκινικών κυττάρων καθώς και η βελτίωση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας.

Υπάρχουν διειδικά αντισώματα που στερούνται τη λειτουργική σταθερή περιοχή Fc, και περιλαμβάνουν τα διειδικά αντισώματα δεσμευτών T κυττάρων (BiTEs), τα επαναστόχευσης διπλής συγγένειας (DART), τα διειδικά διαδοχικά (TandAb) τα ImmTAC και τα διειδικά τριλειτουργικά (triomabs). Από την άλλη υπάρχουν και διειδικά αντισώματα που έχουν περιοχή Fc, διατηρώντας την ικανότητα να μεσολαβούν σε εξαρτώμενες από Fc λειτουργίες όπως CDC και ADCC. (Aghanejad, Bonab, Sepehri, Haghighi, & Tarighatnia, 2022)

Τα BiTEs έχουν τη δυνατότητα να στοχεύουν άμεσα τα καρκινικά κύτταρα και ταυτόχρονα να στρατολογούν κυτταροτοξικά T κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Το 2017 εγκρίθηκε από τον FDA το CD19-CD3 BiTE blinatumomab το οποίο συνέβαλε σημαντικά στο κλινικό όφελος σε ασθενείς με λεμφοβλαστική λευχαιμία. (Weiner, Zahavi, & Louis, 2020).

Τα διειδικά τριλειτουργικά mabs (TsAbs) έχουν τη δυνατότητα να αλληλεπιδρούν με τρία διαφορετικά αντιγόνα. Τα TsAbs διαμορφώνονται με τη χρήση γονιδίων μεταβλητής περιοχής ορισμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων. Αποτελούνται από δύο θέσεις δέσμευσης καρκινικών αντιγόνων και από ένα τμήμα μεταβλητής περιοχής, Fv μονής αλυσίδας που επάγει την ενεργοποίηση και παραγωγή κυτοκινών από τα NK κύτταρα έναντι των αντιγόνων στόχων (K.Chhillar, AkankshaBehlaZahoor, A.WanibNagendra, & NathDascVirinder, 2023). Το Ertumaxomab αποτελεί ένα παράδειγμα τριειδικού mab το οποίο στοχεύει ταυτόχρονα το HER2 και το CD3(εκφράζεται στα T κύτταρα) και παράλληλα τους υποδοχείς Fcγ με στόχο την ενεργοποίηση κυτταρικής και χυμικής ανοσίας για τη καταστροφή HER2 θετικών καρκινικών κυττάρων (Sedykh, Prinz, Buneva, & Nevinsky, 2018).



**Εικόνα 15 α) Μηχανισμός δράσης διειδικού αντισώματος.** Το BiTE αλληλεπιδρά άμεσα με το αντιγόνο του καρκινικού κυττάρου από τη μία και από την άλλη, ενεργοποιεί τις λειτουργίες των T κυττάρων μέσω της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου MHC-πεπτιδίων που προέρχονται από αντιγόνα όγκου με έναν κατασκευασμένο τομέα TCR/anti-CD3. β) Μηχανισμός δράσης Ertumaxomab

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.057> 12/2023



## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup> Γυναικείος μαστός

### 3.1 Ανατομία Μαστού

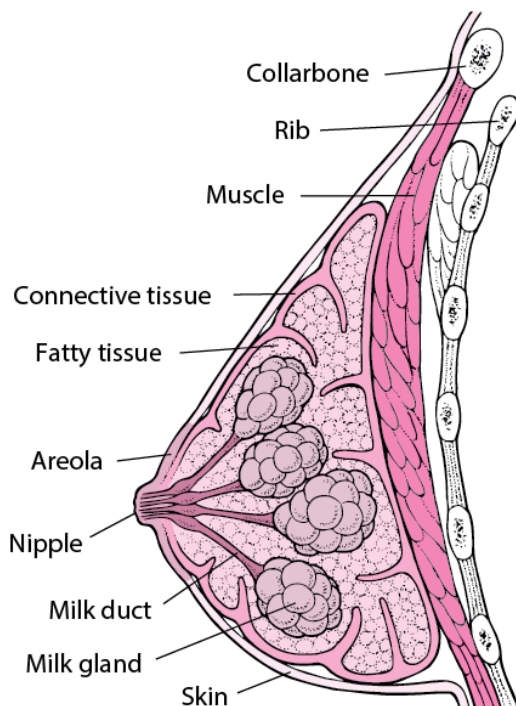
Ο μαστός της γυναίκας βρίσκεται σε μία μοναδική θέση στο ανθρώπινο σώμα καθώς αποτελεί έναν αδένα ο οποίος παραμένει αδρανής μέχρι τη περίοδο της γαλουχίας. Στην εφηβεία ο μαστός επηρεάζεται από διάφορες ορμονικές διαταραχές και αυτό πιθανόν να προκαλεί την πλειονότητα των παθολογοανατομικών αλλοιώσεων (Herrington, 2019). Εντοπίζεται στο πρόσθιο θωρακικό τοίχωμα και η βάση του εκτείνεται από τη 2<sup>η</sup> έως και τη 6<sup>η</sup> πλευρά (Pandya, Sonali, Moore, & G.MD, 2011), με το στέρνο στη μέση και τη μέση μασχαλιαία γραμμή στα πλάγια. Ο γυναικείος μαστός(ή **μαστικός αδένας**) αναπτύσσεται ως μία συμπαγή κατάδυση της επιδερμίδας (Tres, L, Kierzenbaum, & L, 2013) και αποτελεί έναν εξωκρινή τροποποιημένο ιδρωτοποιό αδένα του υποδόριου ιστού. Ο βασικός όγκος του ιστού του μαστού ανευρίσκεται συνήθως στο άνω έξω τεταρτημόριο του και αυτό είναι το μέρος το οποίο εμπλέκεται συχνότερα στο καρκίνο του μαστού και στις περισσότερες καλοήθεις βλάβες (Ellis & Mahadevan, 2013). Η **θηλή** βρίσκεται στο επίπεδο του 4<sup>ου</sup> μεσοπλεύριου διαστήματος και περιβάλλεται από τη **θηλαία άλω**, ένα τροποποιημένο δέρμα με άπειρους σμηγματογόνους αδένες, και αδένες του Montgomery (Michael & Eric, 2008). Ο συνδετικός ή ο ινώδης ιστός μέσα στο στήθος αναφέρεται ως «σύνδεσμοι του Cooper», οι οποίοι αποτελούν ένα δίκτυο πολλαπλών διάσπαρτων διαφραγμάτων σε σχήμα κώνου και εντοπίζονται στη βαθιά περιτονία (Steele, McGhee, & R., 2020).

Ο μαστικός αδένας προσφύεται χαλαρά με συνδετικό ιστό με τη θωρακική, τη μασχαλιαία και τη κοιλιακή περιτονία(λεπτό στρώμα συνδετικού ιστού) (Gilroy, MacPherson, Ross, Voll, & Wesker, 2009) και αποτελείται από το δέρμα, τον υποδόριο ιστό, το παρέγχυμα (πόροι και λοβοί) και το λιπώδη ιστό που παρεμβάλλεται σε ένα σύνθετο δίκτυο συνδέσμων, νεύρων, αρτηριών, φλεβών και λεμφαγγείων (Robert A Jesinger, 2014).

Το δέρμα αποτελεί το εξωτερικό περίβλημα του μαστού και περιλαμβάνει τη θηλή και το γενικό κάλυμμα του δέρματος. Το δερμικό στρώμα του μαστού(κάτω από το επιδερμικό) σχηματίζει ένα διασυνδεδεμένο πλέγμα κολλαγόνου(κυρίως τύπου I και II) και ινών ελαστικής που ελέγχουν τη μηχανική συμπεριφορά του δέρματος. Το δέρμα της υπομαστικής πτυχής, η κάτω περιμετρος του μαστού, αποτελείται από μία δομή που καλείται «ζώνη προσκόλλησης» και η δομή αυτή δημιουργεί το χαρακτηριστικό καμπυλωτό σχήμα της βάσης του μαστού. Η δομή αυτή προσκολλάται σταθερά στην υποκείμενη μυϊκή περιτονία μέσω πολλών κοντών ινωδών συνδέσεων παρέχοντας μία δίοδο για τις αρτηρίες και τα νεύρα για να περάσουν προς το παρέγχυμα του μαστού και τη θηλή (Steele, McGhee, & R., 2020).

Το παρέγχυμα του μαστού αποτελείται από ινοαδενικό ιστό με πόρους, λοβούς και υποστηρικτικό ινώδη ιστό. Συγκεκριμένα ο μαστός αποτελείται από 10 έως 20 **λοβούς** οι οποίοι διακλαδίζονται σε λοβίδια (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). Τα λοβίδια αποτελούνται από αδενοκυψέλες και μεσολόβιο στρώμα (Herrington, 2019). Κάθε λοβός παροχετεύεται από έναν **γαλακτοφόρο πόρο** ο οποίος εκτείνεται εντός του ινολιπώδους ιστού και εκβάλλει σε έναν

**γαλακτοφόρο κόλπο.** Κάθε πόρος εκβάλλει ξεχωριστά στη κορυφή της θηλής. Ο χώρος μεταξύ των λοβών γεμίζει από λιπώδη ιστό (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017).



**Εικόνα 16 Ανατομική περιγραφή του εσωτερικού του ιστού του μαστού.** Από τη δεξιά μεριά βρίσκονται οι πλευρές(rib), και πάνω εντοπίζεται η κλείδα(collarbone). Αμέσως μετά τις πλευρές εντοπίζεται ο μείζον και ελάσσον θωρακικός μυς. Ο μαζικός αδένας αποτελείται από λοβούς που περιβάλλονται από λιπώδη ιστό (fatty tissue) και συνδετικό ιστό(connective tissue). Το γάλα που εκκρίνεται από τους αδένες ρέει μέσω των γαλακτοφόρων πόρων(milk duct) στη θηλή(nipple). Η θηλή εξωτερικά περιβάλλεται από τη θηλαία άλω(areola).

Ανακτήθηκε από [https://www.cdc.gov/cancer/breast/basic\\_info/what-is-breast-cancer.htm](https://www.cdc.gov/cancer/breast/basic_info/what-is-breast-cancer.htm) 2023

### Αγγειακή Ανατομία

Ο μαστός αιματώνεται μέσω τριών βασικών αρτηριακών οδών: α) Μέσω των κλάδων της έσω θωρακικής (μαστικής)αρτηρίας. Τροφοδοτούν το έσω και κεντρικό τμήμα του μαστού. Παρέχει το 60% του αίματος στο μαστό. β) Μέσω των κλάδων της πλάγιας θωρακικής αρτηρίας. Τροφοδοτούν το άνω έξω τεταρτημόριο του μαστού και αποτελεί το 30% της συνολικής παροχής αίματος του μαστού και γ) Μέσω των κλάδων των οπίσθιων μεσοπλευρίων αρτηριών (Pandya, Sonali, Moore, & G.MD, 2011). Η φλεβική ανατομία του μαστού ακολουθεί τη πορεία των αρτηριών με φορά προς στη μασχάλη. Οι κλάδοι της έσω θωρακικής φλέβας αποτελούν το μεγαλύτερο φλεβικό πλέγμα που παρέχει παροχέτευση στο μαζικό αδέν. Οι διάτρητοι κλάδοι των οπίσθιων μεσοπλευρίων φλεβών και οι κλάδοι της μασχαλιαίας φλέβας αποτελούν την υπόλοιπη φλεβική παροχέτευση στο μαζικό αδέν (Pandya & Sonali, 2011). Οι επιφανειακές φλέβες που παροχετεύονται κεντρικά, συγκλίνουν σε ένα κυκλικό δίκτυο φλεβών που ονομάζεται αρεολικό

φλεβικό πλέγμα(circulus venosus of Haller). Από το φλεβικό αυτό πλέγμα το αίμα περνά στις έσω θωρακικές φλέβες στη μέση και στις πλάγιες θωρακικές φλέβες πλευρικά (Robert A. Jesinger, 2014).

### *Λεμφική παροχή*

Τόσο τα επιφανειακά όσο και τα βαθύτερα αιμοφόρα αγγεία του μαστού συνοδεύονται από κανάλια του λεμφικού συστήματος. Το πλούσιο λεμφικό σύστημα του μαστού οφείλεται στα τοιχώματα των μαστικών πόρων και από το συνδετικό ιστό που ανευρίσκεται ανάμεσα στα λόβια (Robert A Jesinger, 2014). Το 70% της λεμφικής παροχής προέρχεται από τους μασχालιαίους λεμφαδένες, και το υπόλοιπο παροχετεύεται από το θωρακικό πλέγμα. Οι μασχालιαίοι λεμφαδένες ποικίλουν σε αριθμό (από 20 έως και 30) και κατατάσσονται σε 6 ομάδες όπου η ονομασία της κάθε μίας, καθορίζεται ανάλογα με τη σχέση που έχουν με τον ελάχιστο θωρακικό μυ. Στην εσωτερική πλευρά του μαστού βρίσκονται λεμφικά αγγεία τα οποία συνοδεύονται με κλάδους της έσω θωρακικής αρτηρίας. Τα επιφανειακά λεμφικά αγγεία επικοινωνούν με τον απέναντι μαστό και το πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα (Pandya, Sonali, Moore, & G.MD, 2011).

### *Αισθητηριακή νεύρωση*

Ο μαστός και το προσθιοπλάγιο θωρακικό τοίχωμα νευρώνεται από τους πλευρικούς και πρόσθιους δερματικούς κλάδους του δεύτερου έως του έκτου μεσοπλεύριου νεύρου. Από το άνω τμήμα του μαστού περνάνε κλάδοι του υπερκλείδιου νεύρου που προέρχονται από το αυχενικό πλέγμα. Η περιοχή της θηλής νευρώνεται από τους πλάγιους και πρόσθιους δερματικούς κλάδους του δεύτερου έως του πέμπτου μεσοπλεύριου νεύρου (Pandya & Sonali, 2011).

## 3.2 Φυσιολογία του μαστού

Πριν τη περίοδο της εφηβείας ο γυναικείος με τον ανδρικό μαστό δεν διαφέρουν λειτουργικά και δομικά καθώς και οι δύο αποτελούνται από υποτυπώδεις πόρους στοιχισμένοι περιφερικά με κατεύθυνση προς τη θηλή. Κατά τη έναρξη της εφηβείας ο γυναικείος μαστός υπόκεινται σε μια σειρά μορφολογικών και λειτουργικών αλλαγών λόγω διαφόρων φυσιολογικών ορμονικών επιδράσεων. Η γαλουχία αποτελεί μία από τις βασικότερες λειτουργίες του μαστού, και ορίζεται ως η σύνθεση, έκκριση και εξώθηση γάλακτος (Ellis & Mahadevan, 2013). Η ανάπτυξη και η λειτουργία του γυναικείου μαστού συνδέεται άμεσα με το πρόσθιο λοβό της υπόφυσης καθώς και με τις ωοθήκες. Η ωοθηλακιοτρόπος ορμόνη (FSH) και η ωχρινοτρόπος ορμόνη(LH) είναι δύο ορμόνες που εκκρίνονται από την υπόφυση και διεγείρουν τη λειτουργία των ωοθηκών. Οι ωοθήκες με τη σειρά τους εκκρίνουν οιστρογόνα και προγεστερόνη (McCool, Condry, & BA, 1999), επάγοντας το πολλαπλασιασμό και τη διακλάδωση των πόρων καθώς και την ωρίμανση και ανάδειξη των θηλών (Ellis & Mahadevan, 2013). Στη παραγωγή των οιστρογόνων, εκτός από τις ωοθήκες συμμετέχει η περιφερική και ενδομαστική αρωματοποίηση των ανδρογόνων(τεστοστερόνη και C19 στεροειδή) (Γεώργιος, 2017). Παράλληλα τα οιστρογόνα επάγουν στο μαστικό αδένα την έκφραση των υποδοχέων HER2 και διαφόρων ορμονικών μορίων όπως της προγεστερόνης, της προλακτίνης και ορισμένων αυξητικών παραγόντων (Γεώργιος, 2017). Λίγο πριν τη έμμηνου ρύση οι μαστοί φτάνουν στο μέγιστο μέγεθος λόγω της αυξημένης παραγωγής μη

αδενικού ιστού και αδενικού επιθηλίου καθώς και της έκκρισης υγρών (McCool, Condry, & BA, 1999). Εσωτερικά του ιστού του μαστού βρίσκονται διάφοροι παρακρινείς παράγοντες, διεγερτικοί ή ανασταλτικοί που επηρεάζουν τη κυτταρική διαίρεση και διαφοροποίηση. Οι ρυθμιστικοί αυτοί παράγοντες περιλαμβάνουν αυξητικούς παράγοντες όπως τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα καθώς και το μετασηματικό αυξητικό παράγοντα β (Ellis & Mahadevan, 2013). Κατά τη διάρκεια της εφηβείας η οιστραδιόλη και η αυξητική ορμόνη παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μαστού. Η οιστραδιόλη αποτελεί το κύριο πολλαπλασιαστικό παράγοντα των επιθηλιακών κυττάρων των αδενοκυψελών και των εκφορητικών πόρων του μαστού και σε φυσιολογικές συνθήκες αλλά και κατά την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού (Γεώργιος, 2017).

## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup> Καρκίνος μαστού

### 4.1 Επιδημιολογία

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί το δεύτερο πιο συχνό καρκίνο στο κόσμο και το πιο συχνό μεταξύ των γυναικών, όντας μία από τις κυριότερες αιτίες θανάτου (Salehiniya, Momenimovahed, & Hamid, 2019). Παρατηρείται κυρίως σε γυναίκες (99%) και σπανιότατα σε άνδρες(1%) (Coughlin & S., 2019). Το 2018 το 25% των καρκίνων των γυναικών αντιστοιχούσε σε περιστατικά του καρκίνου του μαστού με εκτιμώμενο αριθμό πασχόντων γυναικών 2.088.849. Έχει εκτιμηθεί πως μία στις οκτώ γυναίκες θα προσβληθεί με καρκίνο μαστού κατά τη διάρκεια της ζωής της και συνήθως μετά την ηλικία των 40 ετών. (Houghton & Hankinson, 2021). Συγκεκριμένα για την Ελλάδα περίπου 2000 γυναίκες τον χρόνο θα διαγνωστούν με καρκίνο του μαστού, καθώς 1 στις 10 Ελληνίδες προσβάλλεται από τη νόσο κατά τη διάρκεια της ζωής της (Αναγνωστοπούλου, 2009). Το 2020 καταγράφηκαν 2,26 εκατομμύρια περιπτώσεις και αυτό το γεγονός καθιστά άμεσα τη νόσο αυτή μία από τις πιο σημαντικές προκλήσεις για την υγεία (Gathani, Wilkinson, & Toral, 2021). Φαίνεται πως η ετήσια επίπτωση της νόσου αυξάνεται σε αντίθεση με τη θνησιμότητα που μειώνεται σταθερά. Το ποσοστό επιβίωσης αυξάνεται έως και 90% για όλα τα στάδια του καρκίνου του μαστού. (Donati, Marialaura, Giovannide, & Benedetta, 2021). Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μία πολυπαραγοντική νόσο και διάφοροι παράγοντες συμβάλλουν στην εμφάνιση του όπως διακυμάνσεις στην εκπαίδευση, στην οικονομική κατάσταση, σε περιβαλλοντικές και διατροφικές συνθήκες καθώς και σε άλλους παράγοντες τρόπου ζωής (Kashyap, et al., 2022). Η επίπτωση, η θνησιμότητα και τα ποσοστά επιβίωσης ποικίλουν ανάλογα τη γεωγραφική περιοχή καθώς ο πληθυσμός, ο τρόπος ζωής, οι γενετικοί παράγοντες και το περιβάλλον διαφέρουν. Έρευνες έχουν δείξει πως στις περιοχές που η μαστογραφία και ο προληπτικός έλεγχος ρουτίνας εφαρμόζονταν συχνά, το ποσοστό θνησιμότητας βρέθηκε αρκετά μειωμένο(Ευρώπη και Βόρεια Αμερική) (Coughlin & S., 2019). Έως το 2050 το ποσοστό επίπτωσης του καρκίνου του μαστού υπολογίζεται ότι θα φτάσει τα 3,2 εκατομμύρια (Salehiniya, Momenimovahed, & Hamid, 2019), καθώς και σύμφωνα με την Αμερικανική Αντικαρκινική Εταιρεία, η παγκόσμια επιβάρυνση από καρκίνο θα είναι 28,4 εκατομμύρια περιπτώσεις έως το 2040 (47% αύξηση σε σχέση με τα περιστατικά του 2020) (Kashyap, et al., 2022).

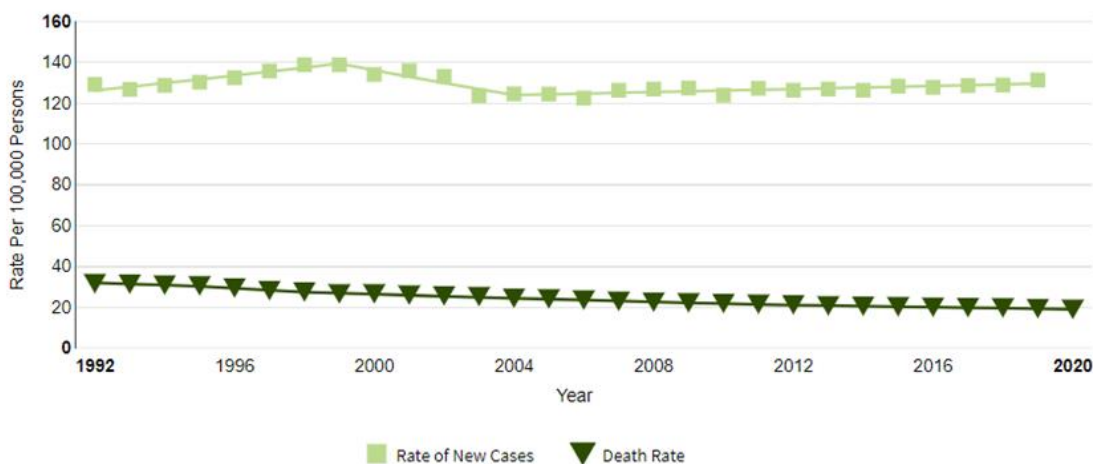
## At a Glance

Estimated New Cases in 2022	287,850
% of All New Cancer Cases	15.0%
Estimated Deaths in 2022	43,250
% of All Cancer Deaths	7.1%

5-Year Relative Survival
<b>90.6%</b>
2012–2018

**Πίνακας 1 Καταγραφή περιπτώσεων καρκίνου του μαστού το 2022, και εκτιμώμενος αριθμός θανάτων.** Το 2022 καταγράφηκα 287,850(15% όλων των καρκίνων) περιστατικά καρκίνου μαστού με αριθμό θανάτων 43,250(7.1% όλων των θανάτων από καρκίνο). Από το 2012 έως το 2018 το ποσοστό σχετικής επιβίωσης ήταν 90.6%. Η σχετική επιβίωση σχετίζεται με την εκτίμηση του ποσοστού των ασθενών που αναμένεται να επιβιώσουν από τις επιπτώσεις του καρκίνου.

Ανακτήθηκε από <https://www.cancer.gov/01/2023>



**Εικόνα 17 Γραφική αναπαράσταση του ποσοστού των νέων περιπτώσεων και θανάτων ανά 100.000 από το 1992 έως το 2020.** Παρατηρείται πως με τη πάροδο των χρόνων τα ποσοστά θνησιμότητας μειώνονται αρκετά ενώ το ποσοστό περιστατικών παραμένει σχετικά σταθερό με μία τάση αύξησης.

Ανακτήθηκε από <https://www.cancer.gov/01/2023>

## 4.2 Ιστολογικοί τύποι Καρκίνου μαστού

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί ένα σύνολο διαφορετικών ασθενειών με διαφορετικούς παράγοντες κινδύνου, κλινικές εκδηλώσεις, παθολογικά χαρακτηριστικά, ανταπόκριση στη θεραπεία και αποτελέσματα (Reis-Filho & S, 2010). Για την αποτελεσματικότερη διάγνωση του καρκίνου του μαστού ο ιστολογικός διαχωρισμός μεταξύ των διαφόρων τύπων καρκίνου φαίνεται να είναι ο πιο χρήσιμος σε σχέση με το μοριακό και γενετικό υπόβαθρο (Cserni & Gabor, 2020). Η ιστολογική ταξινόμηση των καρκίνων του μαστού βασίζεται στο παθολογικό πρότυπο ανάπτυξης και συγκεκριμένα σε ένα ευρύ φάσμα κριτηρίων όπως ο τύπος των καρκινικών κυττάρων, η εξωκυτταρική έκκριση καθώς και τα δομικά χαρακτηριστικά (Tsang & Tse, Molecular Classification of breast Cancer, 2020). Η ονομασία του κάθε διαφορετικού τύπου προέρχεται από το σημείο από το οποίο ξεκινά να αναπτύσσεται ο όγκος στο μαστό, το μέγεθος της ανάπτυξης ή εξάπλωσης του όγκου καθώς και από ορισμένα χαρακτηριστικά που επηρεάζουν τη συμπεριφορά του καρκίνου (DePolo & Jamie, 2022). Η πιο κοινή κακοήθης βλάβη του μαστού είναι τα καρκινώματα, και ακολουθούν με τη σειρά τα σαρκώματα (Makki & Jaafar, 2015). Οι ιστολογικοί τύποι του καρκίνου του μαστού χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες : 1) Στους μη διηθητικούς καρκίνους (*in situ*) και 2) στους διηθητικούς καρκίνους (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017).

### 1 ) Μη διηθητικοί (*in situ*) τύποι καρκίνου του μαστού

Στα καρκινώματα *in situ*, οι κυτταρολογικές αλλοιώσεις παραμένουν στα επιθηλιακά κύτταρα και δεν παρατηρείται κάποια διήθηση στη βασική μεμβράνη. Τα καρκινικά κύτταρα των μη διηθητικών τύπων καρκίνου παραμένουν στη θέση του μαστού στην οποία ξεκίνησε η ανάπτυξη τους χωρίς να εξαπλώνονται στους ιστούς του γειτονικού περιβάλλοντος (Liu & Daniel, 2022). Ο όρος «*in situ*» σχετίζεται με τη φράση «στη θέση», δηλαδή τη παραμονή των καρκινικών κυττάρων στην αρχική τους θέση ανάπτυξης. Τα *in situ* καρκινώματα αποτελούν καρκινώματα πρώιμου σταδίου και δεν παρουσιάζουν μεταστατικό δυναμικό. Στους τύπους αυτούς, οι φυσιολογικές δομές του μαστού (λοβοί και πόροι) είναι γεμάτες με καρκινικά κύτταρα (Cserni & Gabor, 2020). Γύρω από το νεοπλασματικό πολλαπλασιασμό υπάρχει ένας φυσικός φραγμός από στρώματα μυοεπιθηλιακών κυττάρων. Παρόλο που τα άτυπα κύτταρα δεν έχουν μετακινηθεί σε ιστούς έξω από τους λοβούς ή τους πόρους, έχουν τη δυνατότητα να εξελιχθούν στη πορεία σε διηθητικό καρκίνο μαστού (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). Υπάρχουν δύο τύποι μη διηθητικών καρκίνων. α) το πορογενές καρκίνωμα *in situ* (DCIS) και β) το λοβιακό καρκίνωμα *in situ* (LCIS).

#### α) Πορογενές καρκίνωμα *in situ* (Ductal carcinoma *in situ*, **DCIS**)

Αποτελεί το 20% των διαγνωσθέντων καρκίνων του μαστού. Το DCIS ξεκινά ως μία ψηλαφητή μάζα που αναπτύσσεται σε έναν γαλακτοφόρο πόρο, ο οποίος μεταφέρει γάλα από τους λοβούς ή τους αδένες στη θηλή (Liu & Daniel, 2022). Τα καρκινικά κύτταρα που εντοπίζονται στους γαλακτοφόρους πόρους του μαστού δεν εξαπλώνονται πέρα από το στρώμα του ιστού από όπου ξεκίνησαν να αναπτύσσονται (Board, 2021). Στη μαστογραφία το πορογενές καρκίνωμα *in situ* παρουσιάζει τραχιά μικροασβέστωση μέσα στα κεντρικά νεκρωτικά συντρίμια ή μία λεπτή

ομαδοποιημένη ασβέστωση μέσα στις αυλικές εκκρίσεις (Herrington, 2019). Δεν αποτελεί μία πάθηση απειλητική για τη ζωή παρόλα αυτά, εάν δεν αφαιρεθεί η μάζα, υπάρχει πιθανότητα να αυξήσει το κίνδυνο εμφάνισης διηθητικού καρκίνου ακόμα και να το προκαλέσει (DePolo & Jamie, 2022). Ο κίνδυνος δημιουργίας διηθητικού καρκίνου διαφέρει ανάλογα το βαθμό και του τύπου του DCIS. Οι περισσότεροι ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία έχουν θετικά αποτελέσματα (Liu & Daniel, 2022).

### β) Λοβιακό καρκίνωμα *in situ* ( *Lobular carcinoma in situ*, **LCIS**)

Αποτελεί μία καλοήγη πάθηση του μαστού (DePolo & Jamie, 2022), και εξελίσσεται στους λοβούς του μαστού χωρίς να επεκτείνεται εξωτερικά από αυτούς (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). Συγκεκριμένα, ανώμαλα κύτταρα εντοπίζονται στους λοβούς του μαστού χωρίς να εξαπλώνονται σε ιστούς του περιβάλλοντος του μαστού. Η πάθηση αυτή θεραπεύεται αρκετά εύκολα και σπάνια μετατρέπεται σε διηθητικό καρκίνο (National breast cancer foundation, 2020). Ορισμένοι επιστήμονες θεωρούν αυτό το μη διηθητικό τύπο καρκίνου ως κάποια αλλαγή στο στήθος και όχι καρκίνο. Αυτό εξηγείται από το γεγονός πως στο μαστό υπάρχουν εκατοντάδες μικροσκοπικές συστάδες λοβών για τη παραγωγή μητρικού γάλακτος και ορισμένα κύτταρα που αναπτύσσονται μέσα σε αυτούς τους λοβούς μερικές φορές μοιάζουν με καρκινικά (Liu & Daniel, 2022).

### Νόσος του Paget

Αποτελεί μία σπάνια μορφή πρώιμου, μη διηθητικού καρκίνου η οποία περιορίζεται μόνο στα κύτταρα του δέρματος της θηλής. Ορισμένες φορές μπορεί να συσχετιστεί και με διηθητικού τύπου καρκίνο (Board, 2021). Στη νόσο αυτή υπάρχουν ορατές αλλαγές στη θηλή όπως κόκκινα κνησμώδη εξανθήματα που ξεκινάνε από τη θηλή και στη συνέχεια μπορεί να εξαπλωθούν και στο υπόλοιπο δέρμα (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). Τα κύτταρα τα οποία εντοπίζονται στο καρκίνο αυτό ονομάζονται κύτταρα Paget. Η νόσος Paget προκαλείται από τη επέκταση του πορώδους καρκινώματος *in situ* κατά μήκος των κύριων πόρων μέχρι και τη θηλή. Εκεί νεοπλασματικά κύτταρα εισέρχονται στη βαθύτερη στοιβάδα της επιδερμίδας και κατανέμονται στη θηλή και στη θηλαία άλω. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία φλεγμονωδών αλλοιώσεων στο χόριο του δέρματος και την εμφάνιση νόσου (Herrington, 2019).

### 2) Διηθητικοί τύποι καρκίνου του μαστού

Οι τύποι καρκίνου που καλούνται διηθητικοί, ορίζονται οι καρκίνοι που παρουσιάζουν κακοήγη μη φυσιολογικό πολλαπλασιασμό νεοπλασματικών κυττάρων στον ιστό του μαστού, ο οποίος έχει διεισδύσει μέσω του τοιχώματος του πόρου στο στρώμα (Makki & Jaafar, 2015). Στους διηθητικούς καρκίνους του μαστού τα μη φυσιολογικά κύτταρα μετακινούνται μέσα από τους λοβούς ή τους γαλακτοφόρους πόρους σε γειτονικούς ιστούς του μαστού. Η μετακίνηση αυτή πραγματοποιείται μέσω της κυκλοφορίας του αίματος και των λεμφαδένων. Όταν ο διηθητικός καρκίνος εκτείνεται και σε διαφορετικά όργανα του σώματος τότε καλείται μεταστατικός. Αποτελεί το πιο συχνό καρκίνωμα στις γυναίκες και οι περιοχές αυξημένης απειλής είναι οι ευημερούστες πληθυσμοί της Αυστραλίας και της Ευρώπης (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). Το 50% των διηθητικών καρκινωμάτων εντοπίζονται στο άνω έξω τεταρτημόριο του μαστού, εκεί που βρίσκεται η πλειονότητα του παρεγχυματικού ιστού (Herrington, 2019). Οι δύο πιο

συνηθισμένοι διηθητικοί καρκίνοι του μαστού είναι α) το πορογενές διηθητικό καρκίνωμα και β) το λοβιακό διηθητικό καρκίνωμα

#### *α) Πορογενές διηθητικό καρκίνωμα (Invasive ductal carcinoma, IDC)*

Είναι ο πιο συνηθισμένος τύπος καρκίνου μαστού και αποτελεί το 80% όλων των περιπτώσεων. Το πορογενές διηθητικό καρκίνωμα ξεκινά από έναν γαλακτοφόρο πόρο και εκτείνεται και σε άλλα μέρη του μαστού (Liu & Daniel, 2022). Συγκεκριμένα, τα ανώμαλα καρκινικά κύτταρα που σχηματίζονται στους γαλακτοφόρους πόρους εξαπλώνονται στον ιστό του μαστού καθώς επίσης και σε άλλα μέρη του σώματος. Το πορογενές διηθητικό καρκίνωμα έχει αποδειχθεί ότι είναι ο τύπος καρκίνου μαστού που προσβάλλει συχνότερα τους άνδρες (National breast cancer foundation, 2020).

#### *β) Λοβιακό διηθητικό καρκίνωμα ( Invasive lobular carcinoma, ILC)*

Αντιστοιχεί στο 10-15% όλων των διηθητικών καρκινωμάτων (Herrington, 2019) και χαρακτηρίζεται από ανώμαλα κύτταρα που ξεκινάνε από στους λοβούς του μαστού και στη συνέχεια εξαπλώνονται στο περιβάλλοντα φυσιολογικό ιστό (National breast cancer foundation, 2020). Παρουσιάζει διηθήσεις του υποστρώματος, σχηματίζοντας έναν στίχο καρκινικών κυττάρων όμοιων μεταξύ τους (Γεώργιος, 2017). Οι όγκοι του τύπου αυτού παρουσιάζουν μία σκιρρώδη μακροσκοπική εμφάνιση. Μικροσκοπικά το καρκίνωμα αυτό αποτελείται από ομαλά επιθηλιακά κύτταρα μικρού έως μεσαίου μεγέθους, και με σπάνια εμφάνιση μιτώσεων (Herrington, 2019).

Εκτός από το πορογενές και το λοβιακό διηθητικό καρκίνωμα υπάρχουν και άλλοι τύπου διηθητικών καρκινωμάτων οι οποίοι εμφανίζονται πιο σπάνια αλλά είναι εξίσου σημαντικοί. Μερικοί από αυτούς είναι :

#### *Σωληνώδες καρκίνωμα*

Αντιστοιχεί στο 2% των διηθητικών καρκινωμάτων και παρουσιάζει καρκινωμάτωση κύτταρα τα οποία σχηματίζουν μία σωληνοειδή διάταξη με μία επένδυση ομαλών επιθηλιακών κυττάρων (Herrington, 2019). Το καρκίνωμα αυτό έχει διάμετρο λιγότερο από 10 mm με ανώμαλο αστεροειδές σχήμα (Γεώργιος, 2017).

#### *Μυελοειδές καρκίνωμα*

Παρατηρείται συχνά στους φορείς του μεταλλαγμένου γονιδίου BRCA1 και επηρεάζει συνήθως ασθενείς μεταξύ 30 και 40 ετών. Ο τύπος αυτός αποτελείται από έναν μαλθακό καλά περιγεγραμμένο όγκο διαμέτρου 10 έως 40 mm. Βασικά χαρακτηριστικά αυτού του καρκινώματος είναι το μεγάλο μέγεθος των επιθηλιακών κυττάρων με ασαφή κυτταρικά όρια, και η εμφάνιση διήθησης της λεμφοπλασματοκυτταρικής μεμβράνης στο στρώμα και στη περιφέρεια (Herrington, 2019).



### *Βλεννώδεις (Κολλοειδές) καρκίνωμα*

Σπάνιος τύπου διηθητικού καρκινώματος αντιπροσωπεύοντας μόνο το 2% των συνολικών καρκινωμάτων του μαστού. Ο όγκος αυτού του καρκινώματος περιλαμβάνει μικρές συστάδες ομοιόμορφων επιθηλιακών καρκινικών κυττάρων με ήπια πυρηνική ατυπία που επιπλέον σε άφθονη βλέννη (Makki & Jaafar, 2015).

### *Θηλώδεις καρκίνωμα*

Αποτελεί έναν ακόμα διηθητικό τύπο καρκίνου, ο οποίος επηρεάζει κυρίως τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η πλειονότητα των καρκινωμάτων αυτών αποτελούν ενδοπορικές βλάβες και τα θηλώματα που σχηματίζονται από κακοήθη κύτταρα έχουν ήπια έως μέτρια πυρηνική ατυπία με λεπτό ινοαγγειακό πυρήνα (Makki & Jaafar, 2015).

### *Φλεγμονώδεις Καρκίνωμα*

Αποτελεί έναν επιθετικό τύπο ο οποίος παρουσιάζει σχεδόν πλήρη διήθηση των καρκινικών κυττάρων στο δέρμα και στα λεμφαγγεία του μαστού. Καθώς τα λεμφαγγεία του δέρματος έχουν διηθηθεί, ο μαστός εμφανίζεται σαν φλοιός πορτοκαλιού (Γεώργιος, 2017). Αποτελεί τη μορφή διογκωμένων μαστών λόγω των καρκινικών κυττάρων που φράζουν τα λεμφικά αγγεία ή τους πόρους στο δέρμα πάνω στο στήθος. Αποτελεί έναν σπάνιο τύπο ο οποίος εξελίσσεται ταχύτατα. Δεν εμφανίζει διακριτούς όγκους ή εξόγκωμα και γίνεται αντιληπτός από το μπλοκάρισμα των λεμφαγγείων από τα καρκινικά κύτταρα (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017).

### *Μεταπλαστικό καρκίνωμα*

Το καρκίνωμα αυτό αντιπροσωπεύει περίπου το 1% όλων των περιπτώσεων και επηρεάζει κυρίως τις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση. Οι όγκοι εμφανίζουν επιθετική συμπεριφορά με συχνή προσβολή των λεμφαδένων. Οι κακώς διαφοροποιούμενοι ετερογενείς όγκοι περιέχουν κύτταρα του καρκινώματος του πόρου αναμειγμένα με άλλα ιστολογικά στοιχεία. (Nascimento & Otoni, 2020).

### **Μετάσταση**

Όταν αναφέρεται πως ο καρκίνος είναι μεταστατικός σημαίνει πως ο όγκος έχει εξαπλωθεί και σε άλλα μέρη του σώματος. Για να ξεκινήσει η διαδικασία της μετάστασης τα καρκινικά κύτταρα θα πρέπει να προσβάλλουν γειτονικά κύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους μπορούν να αναπαράγουν περισσότερα μη φυσιολογικά κύτταρα. Στη συνέχεια τα καρκινικά κύτταρα διεισδύουν στο κυκλοφορικό ή στο λεμφικό σύστημα και μετακινούνται μέσω από τα τοιχώματα των λεμφικών και αιμοφόρων αγγείων. Μόλις φτάσουν σε γειτονικό ιστό ξεκινάνε να διαιρούνται με αποτέλεσμα τη δημιουργία μικρών όγκων(μικρομετάσταση) Τα καρκινικά κύτταρα μέσω του λεμφικού συστήματος και της κυκλοφορίας του αίματος μεταφέρονται και σε άλλα μέρη του σώματος. (National breast cancer foundation, 2020).

## 4.3 Μοριακή ταξινόμηση

Επειδή ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μία βιολογικά και φαινοτυπικά ετερογενή νόσο με μία ποικιλία κλινικών και θεραπευτικών παραμέτρων, μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην ανάλυση μοριακών προτύπων με στόχο την ομαδοποίηση των καρκινικών όγκων. Η ομαδοποίηση αυτή συμβάλλει στη γρηγορότερη πρόγνωση της νόσου, καθώς και στο συστηματικότερο σχεδιασμό θεραπείας (Nascimento & Otoni, 2020). Οι Perou et al καταφέρανε να ταξινομήσουν τους καρκίνους του μαστού σε υποομάδες με βάση τη γονιδιακή τους έκφραση, διευκολύνοντας έτσι τη πρόβλεψη της συμπεριφοράς του καρκίνου καθώς και την εύρεση καταλληλότερων θεραπευτικών στρατηγικών. Η ανακάλυψη αυτή έγινε αποδεκτή από την επιστημονική κοινότητα και αυτή η ομαδοποίηση των διαφορετικών γονιδιακών εκφράσεων ενημερώθηκε αργότερα ως μοριακή ταξινόμηση (Makki & Jaafar, 2015).

Τα γονίδια που σχετίζονται με το διαχωρισμό των μοριακών υποτύπων σχετίζονται με την έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων (**ER**), των υποδοχέων προγεστερόνης (**PR**), του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (**HER2**), καθώς και του ρυθμιστή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (**Ki-67**) (Nascimento & Otoni, 2020). Οι υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης αποτελούν πυρηνικούς υποδοχείς στεροειδών φύλου που διεγείρουν την ανάπτυξη του φυσιολογικού και νεοπλασματικού επιθηλίου του μαστού (Tsang & Tse, Molecular classification of Breast Cancer, 2020).

Ο υποδοχέας οιστρογόνων (ER) αποτελεί έναν σημαντικό διαγνωστικό παράγοντα και εκφράζεται σε υψηλό βαθμό στο 70-75% των διηθητικών καρκινωμάτων. Το 50% των ER(+) θετικών καρκίνων του μαστού, είναι θετικοί και στον υποδοχέα προγεστερόνης (PR). Σπάνια ένας ER(+) θετικός ασθενής θα είναι PR(-) αρνητικός. Τα αυξημένα επίπεδα PR εμφανίζουν θετικά αποτελέσματα όσο αφορά τη συνολική επιβίωση, το χρόνο μέχρι την υποτροπή ή την εξέλιξη της θεραπείας, ενώ αντιθέτως τα χαμηλά επίπεδα συσχετίζονται με την επιθετική μορφή της νόσου, με κακή πρόγνωση και υποτροπή.

Το 15-25% των καρκίνων του μαστού υπερεκφράζουν το HER2, ο οποίος βοηθά στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας.

Ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 αποτελεί ένα δείκτη ζωτικής σημασίας καθώς παρέχει πληροφορίες για τις πολλαπλασιαστικές δραστηριότητες με αποτέλεσμα το προσδιορισμό της επιθετικότητας του καρκίνου, της ανταπόκρισης της θεραπείας ή της εμφάνισης υποτροπής (Orrantia-Borunda, Anchondo-Nuñez, Acuña-Aguilar, Gómez-Valles, & Ramírez-Valdespino, 2022).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, και με βάση την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ορμονικών υποδοχέων, ο καρκίνος του μαστού, χωρίζεται σε 4 υποτύπους :

### 1) Υπότυπος Luminal A

Χαρακτηρίζεται από τη παρουσία ER και/ή PR υποδοχέων και από την απουσία HER2. Στον υπότυπο αυτό εμφανίζεται επίσης χαμηλή έκφραση του Ki-67 (Orrantia-Borunda, Anchondo-Nuñez, Acuña-Aguilar, Gómez-Valles, & Ramírez-Valdespino, 2022). Ευθύνεται για το 50% των διηθητικών καρκίνων, σχετίζεται με ιδιαίτερα ευνοϊκή πρόγνωση και δεν παρατηρείται συχνή μετακίνηση του όγκου στους γειτονικούς λεμφαδένες. Οι όγκοι αναπτύσσονται αργά και η συχνότητα

υποτροπής είναι μικρή. Οι ασθενείς με αυτόν το υπότυπο επωφελούνται περισσότερο από ορμονοθεραπείες σε σχέση με χημειοθεραπείες (Nascimento & Otoni, 2020). Η μετάσταση είναι πιο συχνή στο επίπεδο των οστών (Orrantia-Borunda, Anchondo-Nuñez, Acuña-Aguilar, Gómez-Valles, & Ramírez-Valdespino, 2022).

### 2) Υπότυπος Luminal B

Αποτελεί το 20-30% των διηθητικών καρκίνων και ανοσοφαινοτυπικά χωρίζεται σε δύο ομάδες: το luminal B HER2(-), ο οποίος χαρακτηρίζεται από HER2-, ER+ , PR- και υψηλή έκφραση του ki-67 και το luminal B HER(+), ο οποίος χαρακτηρίζεται από HER2+, ER+ και οποιοδήποτε επίπεδο PR και Ki-67 (Nascimento & Otoni, 2020). Η αυξημένη τιμή Ki-67 επάγει την αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης όγκων. Οι όγκοι του υπότυπου αυτού εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση, μέτρια με χαμηλή έκφραση υποδοχέων οιστρογόνων και αυξημένη έκφραση γονιδίων πολλαπλασιασμού και κυτταρικού κύκλου. Οι ασθενείς αυτοί επωφελούνται σε μεγαλύτερο βαθμό από τη ορμονοθεραπεία παρά από τη χημειοθεραπεία (Orrantia-Borunda, Anchondo-Nuñez, Acuña-Aguilar, Gómez-Valles, & Ramírez-Valdespino, 2022).

### 3) Υπότυπος HER 2

Αποτελεί το 15% όλων των διηθητικών καρκίνων και κύριο χαρακτηριστικό είναι η υψηλή έκφραση HER2, με απουσία ER και PR. Οι όγκοι αναπτύσσονται πιο γρήγορα σε σχέση με τους υπότυπους luminal A και B, και είναι αρκετά πιο επιθετικοί (Orrantia-Borunda, Anchondo-Nuñez, Acuña-Aguilar, Gómez-Valles, & Ramírez-Valdespino, 2022). Παρόλα αυτά ανταποκρίνονται σε μεγάλο βαθμό στη στοχευμένη θεραπεία κατά του HER2, με πολύ καλά αποτελέσματα (Tsang & Tse, Molecular classification of Breast Cancer, 2020). Συνήθως ο υπότυπος αυτός σχετίζεται με μεταλλάξεις του γονιδίου TP53, και παρουσιάζει υψηλή πιθανότητα μετάστασης στους γειτονικούς λεμφαδένες (Makki & Jaafar, 2015). Οι όγκοι εμφανίζουν υψηλό ιστολογικό βαθμό, η πρόγνωση είναι χειρότερη και ο χρόνος επιβίωσης μικρός (Nascimento & Otoni, 2020).

### 4) Τριπλά αρνητικός υπότυπος (Triple Negative Subtype, TN)

Ο υπότυπος αυτός χαρακτηρίζεται από την έλλειψη έκφρασης όλων των ορμονικών υποδοχέων (ER,PR) και της ογκοπρωτεΐνης HER2. Η αυξημένη τιμή του Ki-67 συμβάλλει στην ανάπτυξη πολλαπλασιαστικών όγκων (Nascimento & Otoni, 2020). Εντοπίζεται πιο συχνά σε γυναίκες κάτω των 40 ετών και σε γυναίκες Αφροαμερικάνες. Χαρακτηρίζεται από την επιθετικότητα του, τη πρώιμη υποτροπή του καθώς και από τη μεγάλη τάση εμφάνισης σε προχωρημένα στάδια (Orrantia-Borunda, Anchondo-Nuñez, Acuña-Aguilar, Gómez-Valles, & Ramírez-Valdespino, 2022). Οι περισσότεροι όγκοι του υπότυπου αυτού ανήκουν στον ιστολογικό τύπο του πορώδες διηθητικού καρκινώματος και είναι πιο διαδεδομένοι σε ασθενείς που φέρουν το μεταλλαγμένο γονίδιο BRCA1 (Nascimento & Otoni, 2020). Δεδομένου ότι τα κύτταρα του όγκου δεν διαθέτουν τους απαραίτητους υποδοχείς, οι κοινές θεραπείες όπως η ορμονοθεραπεία και τα φάρμακα που στοχεύουν τα οιστρογόνα, τη προγεστερόνη και το HER2 δεν είναι αποτελεσματικές. Επομένως υπάρχει ανάγκη για την εύρεση νέων βιοδεικτών που εκφράζονται σε αυτούς τους υπότυπους με στόχο τη δημιουργία νέων στοχευμένων θεραπειών (National breast cancer foundation, 2020).

## 4.4 Βαθμός διαφοροποίησης Καρκίνου Μαστού (Grade)

Ο βαθμός του καρκίνου του μαστού έχει αποδειχθεί πως αφορά τα γενετικά και μεταγραφικά χαρακτηριστικά. Είναι μία αξιολόγηση του βαθμού διαφοροποίησης και πολλαπλασιαστικής δραστηριότητας ενός όγκου και αντικατοπτρίζει την επιθετικότητα του (Reis-Filho & S, 2010).

**Βαθμός I:** Οι όγκοι αυτού του βαθμού περιορίζονται στο εσωτερικό του γαλακτοφόρου πόρου και δεν είναι διηθητικοί. Το πορώδες καρκίνωμα in situ (DCIS) ανήκει σε αυτό το βαθμό.

**Βαθμός II :** Οι όγκοι αυτού του βαθμού είναι σχετικά μικροί και είτε δεν έχουν εξαπλωθεί στους λεμφαδένες είτε ένα μικρό μέρος έχει εξαπλωθεί στο φρουρό λεμφαδένα.

**Βαθμός III :** Οι όγκοι αυτοί είναι μεγαλύτεροι από τους όγκους τους σταδίου I και/ή έχουν εξαπλωθεί σε λίγους κοντινούς λεμφαδένες

**Βαθμός IV :** Οι όγκοι είναι μεγαλύτεροι ή αρχίζουν να αναπτύσσονται σε κοντινούς ιστούς ή έχουν εξαπλωθεί σε λίγους κοντινούς λεμφαδένες

**Βαθμός V :** Οι όγκοι αυτού του βαθμού έχουν εξαπλωθεί πέρα από το μαστό και στους κοντινούς λεμφαδένες αλλά και σε άλλα μέρη του σώματος (μετάσταση) (American Cancer society, 2019).

Molecular Subtypes	Luminal A	Luminal B		HER2+	TN
		(HER2-)	(HER2+)		
Biomarkers	ER+ PR+ HER2- Ki67low	ER+ PR- HER2- Ki67high	ER+ PR-/+ HER2+ Ki67low/high	ER- PR- HER2+ Ki67high	ER- PR- HER2- Ki67high
Frequency of Cases (%)	40–50	20–30		15–20	10–20
Histological Grade	Well Differentiated (Grade I)	Moderately Differentiated (Grade II)		Little Differentiated (Grade III)	Little Differentiated (Grade III)
Prognosis	Good	Intermediate		Poor	Poor
Response to Therapies	Endocrine	Endocrine Chemotherapy	Endocrine Chemotherapy Target Therapy	Target Therapy Chemotherapy	Chemotherapy PARP Inhibitors

**Πίνακας 2 Ταξινόμηση μοριακών υποτύπων καρκίνου μαστού.** Στο πίνακα αυτό, γίνεται διαχωρισμός του καρκίνου μαστού σύμφωνα με τους υποδοχείς οιστρογόνων και της έκφρασης της πρωτεΐνης HER2. Για το κάθε υπότυπο δίνονται πληροφορίες σχετικά με τη συχνότητα την οποία εμφανίζονται, το βαθμό τον οποίο παρουσιάζουν, τη πρόγνωση καθώς και την ανταπόκριση τους σε θεραπείες. *Brazilian Society of Mastology 2023*

## 5 Σταδιοποίηση Καρκίνου Μαστού: Tumor, Node, Metastasis (TNM)

Το πιο κοινό εργαλείο για να περιγραφεί σωστά το στάδιο οποιουδήποτε καρκίνου είναι το σύστημα TNM. Αφού ληφθούν τα αποτελέσματα της μαστογραφίας, του υπερηχογραφήματος και της μαγνητικής τομογραφίας, μπορεί να γίνει η κατάλληλη περιγραφή του πρωτοπαθή όγκου καθώς και να εντοπιστούν οι βιοδείκτες του. Εν συνεχεία, εξετάζεται εάν ο όγκος έχει εξαπλωθεί στους λεμφαδένες και τέλος εάν παρουσιάζεται κάποια μετάλλαξη σε άλλα μέρη του σώματος. Ο συνδυασμός αυτών των αποτελεσμάτων καθορίζουν το στάδιο του καρκίνου για κάθε άτομο (Board, 2021).

Οι παράγοντες που συμβάλλουν στην ονοματολογία της σταδιοποίησης είναι :

- Το μέγεθος του όγκου (Tumor - T)
- Η ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων (Node - N)
- Η ύπαρξη ή όχι μακρινών μεταστάσεων (Metastasis - M)

*Για το μέγεθος του όγκου χρησιμοποιούνται οι εξής συμβολισμοί :*

TX : Ο πρωτοπαθής όγκος δεν μπορεί να αξιολογηθεί

T0: Δεν εντοπίζεται πρωτοπαθής όγκος

Tis: Καρκίνωμα in situ (DCIS, LCIS και νόσος Paget)

T1: Όγκος μεγίστης διαμέτρου μέχρι και 20mm

T2: Όγκος μεγίστης διαμέτρου > 2cm και < ή = 5cm

T3: Όγκος μεγίστης διαμέτρου > 5cm

T4: Όγκος οποιουδήποτε μεγέθους με μετάσταση ή στο θωρακικό τοίχωμα ή στο δέρμα

*Για την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων χρησιμοποιούνται οι εξής συμβολισμοί :*

NX: Οι λεμφαδένες της περιοχής δεν μπορούν να εκτιμηθούν

NO: Δεν υπάρχει μετάσταση στους λεμφαδένες

N1: Μετάσταση σε έναν ή περισσότερους λεμφαδένες σύστοιχης μασχάλης

N2: Μετάσταση σε έναν ή περισσότερους λεμφαδένες της σύστοιχης μασχάλης, οι οποίοι συνδέονται μεταξύ τους

N3: Μετάσταση στους έσω μαστικούς λεμφαδένες

*Για την ύπαρξη ή όχι μακρινών μεταστάσεων χρησιμοποιούνται οι εξής συμβολισμοί :*

M0: Δεν υπάρχουν μεταστάσεις σε μακρινά μέρη του σώματος

M1: Εντοπίζονται μεταστάσεις σε μακρινά μέρη του σώματος συμπεριλαμβανομένου και τη μετάσταση στους σύστοιχους υπερκλείδιους λεμφαδένες (Γεώργιος, 2017)

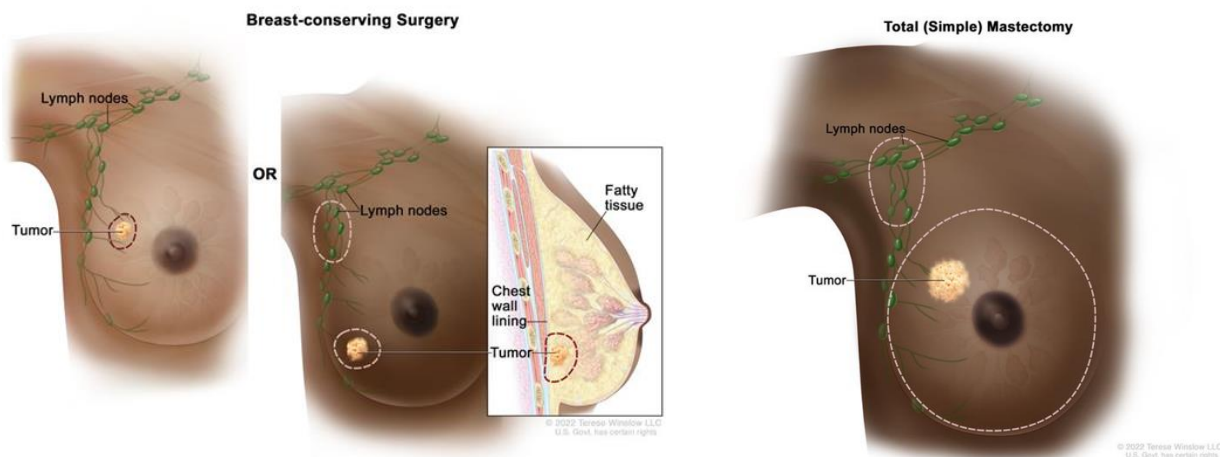
## Κεφάλαιο 5<sup>ο</sup> Θεραπεία καρκίνου μαστού

Ο καρκίνος του μαστού θεωρείται μία ετερογενής νόσος, με το ποσοστό θνησιμότητας της τα τελευταία χρόνια να έχει μειωθεί σημαντικά, τονίζοντας έτσι τη σημασία της ανακάλυψης νέων θεραπειών. Αποτελείται από διάφορους διακριτούς υποτύπους με διαφορετική συμπεριφορά και κατά επέκταση διαφορετική απόκριση στη θεραπεία. Ανοσοϊστοχημικοί βιοδείκτες όπως οι ορμονικοί υποδοχείς (ER,PR) και ο ανθρώπινος υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER2) καθορίζουν αυτούς τους μοριακούς υποτύπους, οι οποίοι επάγουν διάφορες θεραπευτικές στρατηγικές (Henriques & Diana, 2021). Εκτός από τους μοριακούς υποτύπους, ο βαθμός και το στάδιο του καρκίνου του μαστού, είναι δύο σημαντικοί παράγοντες που καθορίζουν ποια θεραπεία είναι η καταλληλότερη καθώς δημιουργούν και την ανάγκη ανάπτυξης όλο και πιο στοχευμένων θεραπειών (Kristie H. Lau, 2022). Σήμερα πέντε θεραπευτικές μέθοδοι έχουν μελετηθεί και καθίστανται αποτελεσματικές για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Η χειρουργική επέμβαση, η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία, η ορμονοθεραπεία, καθώς και η στοχευμένη θεραπεία και η ανοσοθεραπεία. Είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό εφαρμόζονται με το πιο σωστά μελετημένο τρόπο ώστε να αποδώσουν το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα. Η θεραπεία του καρκίνου του μαστού αποτελεί μία πολύπλοκη διαδικασία και συνεχώς εξελίσσεται με την βοήθεια πολλαπλών κλινικών δοκιμών σε αναδυόμενες θεραπείες. Οι κλινικές δοκιμές αποτελούν ερευνητικές μελέτες οι οποίες αποσκοπούν στη βελτίωση των τρεχουσών θεραπειών. Η ενδοκρινική θεραπεία για τους θετικούς σε ορμονικούς υποδοχείς καρκίνου μαστού καθώς και η θεραπεία anti-HER2 για τους HER2 θετικούς όγκους, αποτελούν δύο από τις βασικότερες στοχευμένες θεραπείες έχοντας αποδείξει την αποτελεσματικότητά τους τα τελευταία χρόνια. Η μη ανταπόκριση των θεραπειών αυτών σε ορισμένους ασθενείς δημιουργεί την ανάγκη για την εξέλιξη αυτών των συμβατικών θεραπειών και την ανάπτυξη πιο εξειδικευμένων φαρμάκων. Η εφαρμογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού αποτελεί μία από τις βασικότερες θεραπευτικές μεθόδους. Είναι γνωστό πως η στόχευση συγκεκριμένων καρκινικών αντιγόνων επιφέρει μεγάλη επιτυχία και αποτελεσματικότητα. Σήμερα πολλά θεραπευτικά αντισώματα βρίσκονται υπό κλινικές δοκιμές και εξετάζονται για το τρόπο της βέλτιστης απόδοσης τους (Tong, Wu, Cho, & To, 2018). Ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού (TNBC) θεωρείται μία από τις κυριότερες προκλήσεις στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού καθώς οι συμβατικές στοχευμένες θεραπείες δεν μπορούν να φανούν ευεργετικές και για αυτό το λόγο αποτελεί τον υπότυπο με τη χειρότερη πρόγνωση. Ωστόσο ειδικά σχεδιασμένα μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία στοχεύουν σε ορισμένα μόρια που ελέγχουν το ανοσοποιητικό σύστημα, έχουν προσφέρει σημαντικές βελτιώσεις στη εξέλιξη της νόσου. Επιπλέον η ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων που θα στοχεύουν σε νέους βιοδείκτες που εκφράζονται σε TNBC καρκινικούς όγκους αποτελεί μία τεράστια προοπτική για την εύρεση αποτελεσματικών θεραπειών στους καρκίνους αυτούς. Ένας ακόμα προβληματισμός στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού είναι η ταχεία απόκτηση αντοχής σε στοχευμένες θεραπείες με αποτέλεσμα το περιορισμό της αποτελεσματικότητας. Στις περιπτώσεις αυτές ο συνδυασμός πολλών αποκλεισμών οδών μπορεί να φέρει το επιθυμητό αποτέλεσμα. Σήμερα πολλαπλές κλινικές δοκιμές βρίσκονται σε εφαρμογή με στόχο τον εντοπισμό νέων μορίων-στόχων στο καρκίνο του μαστού και στη δημιουργία αποτελεσματικότερων θεραπειών με μικρότερη αντίσταση (Gilles & Masoud, 2017). Με την ανάπτυξη τεχνολογιών προσδιορισμού αλληλουχίας υψηλής απόδοσης, θα υπάρξει η δυνατότητα σχεδιασμού βιοδεικτών με βάση το γονιδίωμα με στόχο τη δημιουργία εξατομικευμένων θεραπειών καταλληλότερη για κάθε ασθενή (Ahmad, Gupta, Kumar, Varshney, & Raghava, 2014). Η θεραπεία του καρκίνου του μαστού χωρίζεται σε νεοεπικουρική

και σε επικουρική θεραπεία. Η νεοεπικουρική θεραπεία εφαρμόζεται πριν από τη πραγματοποίηση της χειρουργικής επέμβασης και αυτή η μέθοδος αποσκοπεί στη προσπάθεια να αποδυναμωθεί ή να μικρύνει ο καρκινικός όγκος. Η επικουρική θεραπεία αφορά την εφαρμογή της ακτινοθεραπείας, χημειοθεραπείας, και ανοσοθεραπείας μετά από τη χειρουργική επέμβαση και αυτό έχει ως στόχο την αποφυγή υποτροπής ή μετάστασης (Tracy-Ann Moo, Rachel Sanford, Chau Dang, & Monica Morrow, 2019).

## 5.2 Χειρουργική Επέμβαση

Η πλειονότητα των γυναικών με πρώιμο στάδιο καρκίνου του μαστού είναι υποψήφιες να πραγματοποιήσουν κάποια χειρουργική επέμβαση. Πριν τη χειρουργική επέμβαση είναι σημαντικό να έχει προσδιοριστεί ο τύπος του καρκίνου, ο βαθμός του καθώς και η ύπαρξη μετάστασης. Βασικός στόχος της χειρουργικής επέμβασης είναι να αφαιρεθεί εξολοκλήρου ο καρκινικός όγκος. Η χειρουργική θεραπεία περιλαμβάνει τη χειρουργική επέμβαση με διατήρηση του μαστού (**Breast conserving therapy, BCT**) ή αλλιώς μερική μαστεκτομή, ή αλλιώς ογκεκτομή και την **ολική μαστεκτομή**. Η μερική μαστεκτομή αποτελεί την αφαίρεση του όγκου μαζί με ένα μέρος φυσιολογικού ιστού γύρω από αυτόν αλλά όχι όλου του μαστού. Εάν ο καρκίνος βρίσκεται κοντά στο θωρακικό τοίχωμα αφαιρείται επίσης και ένα μέρος της επένδυσης του. Επίσης ορισμένοι λεμφαδένες κάτω από το βραχίονα είναι πιθανόν να αφαιρεθούν. Στην ολική μαστεκτομή πραγματοποιείται αφαίρεση ολόκληρου του στήθους καθώς και ορισμένων λεμφαδένων κάτω από το βραχίονα (“Breast Cancer Treatment (Adult) (PDQ®)—Patient Version, 2022). Η τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή αποτελεί μία παραλλαγή της ολικής μαστεκτομής και περιλαμβάνει την αφαίρεση ολόκληρου του μαστού καθώς και την αφαίρεση του μασχαλιαίου λεμφαδένα (Carol DeSantis, Rebecca Siegel, & Ahmedin Jemal, 2017-2018).



**Εικόνα 18** Απεικόνιση της χειρουργικής επέμβασης με διατήρηση του μαστού (αριστερά) και της ολικής μαστεκτομής (δεξιά).

Ανακτήθηκε από “Breast Cancer Treatment (Adult) (PDQ®)—Patient Version was originally published by the National Cancer Institute.” 01/2023

## 5.3 Ακτινοθεραπεία

Η θεραπεία αυτή χρησιμοποιεί **ακτίνες Χ** υψηλής ενέργειας ή άλλα σωματίδια με σκοπό τη καταστροφή των καρκινικών κυττάρων ή τη παρεμπόδιση ανάπτυξής τους (Breastcancer.org, 2023) Χρησιμοποιείται συνήθως μετά από μία χειρουργική επέμβαση σε περίπτωση που κάποια καρκινικά κύτταρα έχουν παραμείνει στο στήθος, στο θωρακικό τοίχωμα ή στη περιοχή της μασχάλης (Carol DeSantis, Rebecca Siegel, & Ahmedin Jemal, 2017-2018). Υπάρχουν δύο είδη ακτινοβολίας. Η **ακτινοβολία εξωτερικής δέσμης** και η **εσωτερική ακτινοβολία** ή αλλιώς βραχυθεραπεία. Στην εξωτερική ακτινοβολία εντοπίζονται δύο πεδία από αντίθετες κατευθύνσεις, τα οποία αντικρίζουν το ένα το άλλο. Δηλαδή από εκεί που ξεκινά το ένα πεδίο ακτινοβολίας κατευθύνεται το άλλο και αντίστροφα. Η επιταχυνόμενη μερική ακτινοβολία μαστού είναι μία προσέγγιση εξωτερικής ακτινοβολίας όπου παρέχεται στον ασθενή μεγαλύτερη δόση ακτινοβολίας σε λιγότερο χρόνο και μόνο στο τμήμα του μαστού που εντοπίζεται όγκος (Douglas W. Arthur, Kathryn A. Winter, Henry M. Kuerer, & al, 2019). Η βραχυθεραπεία αποτελεί μία τεχνική που συνήθως εφαρμόζεται σε ασθενείς με καρκίνο μαστού πρώιμου σταδίου. Στη θεραπεία αυτή χρησιμοποιείται μία ραδιενεργή ουσία η οποία τοποθετείται μέσα στη κοιλότητα από την οποία εισέρχεται (Carol DeSantis, Rebecca Siegel, & Ahmedin Jemal, 2017-2018) Παράλληλα σε περίπτωση μετάστασης του καρκίνου του μαστού, η εσωτερική ακτινοβολία με στρόντιο χρησιμοποιείται για την ανακούφιση του πόνου (“Breast Cancer Treatment (Adult) (PDQ®)–Patient Version, 2022)

## 5.4 Χημειοθεραπεία

Η χημειοθεραπεία περιλαμβάνει πολλές ομάδες κυτταροτοξικών φαρμάκων, οι οποίες εμποδίζουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του μαστού καταστρέφοντας τα ή σταματώντας τη διαίρεση τους. Η χημειοθεραπεία αποτελεί μία συστηματική θεραπεία, καθώς λαμβάνεται από το στόμα ή εγχέεται σε φλέβα ή μυ, ώστε να φτάσουν στα καρκινικά κύτταρα που βρίσκονται σε όλο το σώμα (“Breast Cancer Treatment (Adult) (PDQ®)–Patient Version, 2022). Τα κυτταροτοξικά φάρμακα της χημειοθεραπείας χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τις **ανθρακυκλίνες** και τις **ταξάνες**. Η δράση των ανθρακυκλίνων είναι να καταστρέφουν τα γονίδια των καρκινικών κυττάρων παρεμβαίνοντας στο κυτταρικό πολλαπλασιασμό τους και ορισμένες από αυτές είναι η αδριαμυκίνη και η επιρουβικίνη. Η αδριαμυκίνη θεωρείται ένας από τους πιο κυτταροτοξικούς παράγοντες στο μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Οι ταξάνες εμποδίζουν τη διαίρεση των καρκινικών κυττάρων και περιλαμβάνουν το Taxol (paclitaxel), το Abraxane, και το Taxotere. Συγκεκριμένα συνδέονται με μικροσωληνίσκους εμποδίζοντας την αποικοδόμηση τους με αποτέλεσμα τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και τελικά την απόπτωση (Burguin, Diorio, & Durocher, 2021). Υπάρχουν περιπτώσεις που η αποτελεσματικότερη χημειοθεραπεία είναι ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων φαρμάκων. Η χημειοθεραπεία επηρεάζει τα ταχέως διαιρούμενα κύτταρα όπως τα καρκινικά. Παρόλα αυτά όμως υπάρχουν ορισμένες ομάδες υγιών κυττάρων του σώματος τα οποία διαιρούνται και αυτά εξίσου γρήγορα με αποτέλεσμα να επηρεάζονται από τη κυτταροτοξικότητα των φαρμάκων. Αυτά τα κύτταρα εντοπίζονται στους θύλακες των τριχών, στα νύχια, στο στόμα, στο πεπτικό σωλήνα και στο μυελό των οστών με αποτέλεσμα τη βλάβη αυτών των κυττάρων και τη πρόκληση διαφόρων παρενεργειών όπως απώλεια μαλλιών, αλλαγές στα νύχια, στοματικές πληγές, ναυτία και εμετό (DePolo, BREASTCANCER.ORG, 2023).



## 5.5 Ορμονοθεραπεία

Η ορμονική θεραπεία ανήκει στη κατηγορία των συστηματικών θεραπειών. Η παρουσία στον ιστό του όγκου τουλάχιστον ενός από τους δύο υποδοχείς είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την εφαρμογή αυτής της θεραπείας και στόχος της είναι η μείωση των επιπέδων των οιστρογόνων ή η παρεμπόδιση της δράσης τους στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του μαστού. Η ορμονική θεραπεία διαφέρει μεταξύ των γυναικών πριν και των γυναικών μετά την εμμηνόπαυση (Carol DeSantis, Rebecca Siegel, & Ahmedin Jemal, 2017-2018). Οι μηχανισμοί δράσης της ορμονοθεραπείας είναι :

α) Παρεμπόδιση παραγωγής οιστρογόνων (αγωνιστής ορμόνης απελευθέρωσης της ωχρινοτρόπου ορμόνης, αναστολείς αρωματάσης)

β) Αποκλεισμός δράσης οιστρογόνων στα καρκινικά κύτταρα (εκλεκτικοί ρυθμιστές οιστρογόνων, SERMs όπως η ταμοξιφαίνη, αναστολείς δράσης ER όπως το fulvestrant) (Drăgănescu & Carmocan, 2017).

Οι **αναστολείς της αρωματάσης (Aromatase Inhibitors, AI)** αναστέλλουν το ένζυμο αρωματάση το οποίο μετατρέπει τα ανδρογόνα σε μικρές ποσότητες οιστρογόνων στο σώμα. Χορηγούνται συνήθως στις μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες καθώς τότε οι ωθήκες δεν παράγουν οιστρογόνα. Οι παρενέργειες που μπορεί να προκύψουν είναι καρδιακά προβλήματα και οστεοπόρωση.

Οι **εκλεκτικοί ρυθμιστές υποδοχέων οιστρογόνων (SERMs)** αποτελούν αγωνιστές οιστρογόνων μπλοκάροντας τις επιδράσεις τους στα καρκινικά κύτταρα (Jenni Sheng, 2023). Κλινικές δοκιμές ακόμα μελετάνε τη δράση των αναστολέων αυτών για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου του μαστού. Η ταμοξιφαίνη είναι ο πιο χρησιμοποιούμενος τύπος SERM και η ανταπόκριση των ασθενών σε αυτή εξαρτάται από το ποσοστό υποδοχέων (PR και ER) που υπάρχουν στα καρκινικά κύτταρα του μαστού. Η ταμοξιφαίνη αποτελεί ένα αντι-οιστρογόνο που δεσμεύεται στον υποδοχέα ER. Η δέσμευση αυτή προκαλεί αλλαγή στη διαμόρφωση του συνδέτη με αποτέλεσμα τη παρεμπόδιση στρατολόγησης συμπαραγόντων και τη μεταγραφή γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, για το κυτταρικό πολλαπλασιασμό καθώς και για τη μετανάστευση κυττάρων (Burguin, Diorio, & Durocher, 2021). Οι παρενέργειες που μπορεί να προκύψουν από τη ταμοξιφαίνη είναι νεόπλασμα ενδομητρίου, σάρκωμα μήτρας και θρομβοεμβολικό κίνδυνο. (Drăgănescu & Carmocan, 2017). Έρευνες έχουν δείξει πως η επικουρική ορμονοθεραπεία (θεραπεία που συμπληρώνει τη χειρουργική επέμβαση) με ταμοξιφαίνη για τουλάχιστον 5 χρόνια μειώνει το ποσοστό υποτροπής κατά 40-50% για τη πρώτη δεκαετία καθώς και τη θνησιμότητα.

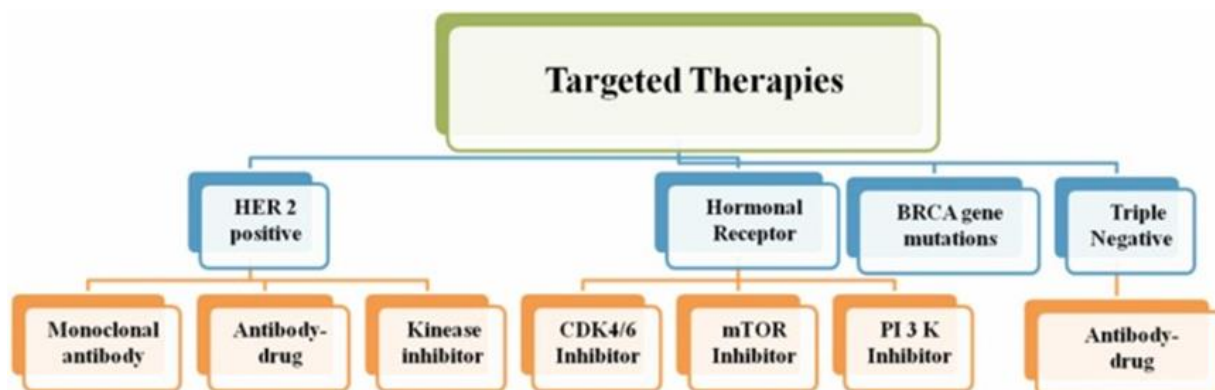
Οι **αγωνιστές ορμονών απελευθέρωσης ωχρινοτρόπου ορμόνης (LHRH)** μπλοκάρουν την έκκριση οιστρογόνων και προγεστερόνης από τις ωθήκες και προκαλούν δυνητικά αναστρέψιμη χημική καταστολή των ωθηκών. Χορηγούνται σε ορισμένες προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες (T. Delozier, 2010).

## 5.6 Στοχευμένη Θεραπεία

Οι περισσότερες έρευνες στο τομέα της ογκολογίας τα τελευταία χρόνια επικεντρώνονται στην ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών. Οι στοχευμένες θεραπείες χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ασθενών των οποίων τα καρκινικά κύτταρα του μαστού υπερεκφράζουν ορισμένες χαρακτηριστικές πρωτεΐνες στην επιφάνεια τους επιτρέποντας ένα μη φυσιολογικό μοτίβο ανάπτυξης. Αποτελούν ένα τύπο θεραπείας που χρησιμοποιούν ουσίες για τον εντοπισμό και την επίθεση καρκινικών κυττάρων που επάγουν τη καρκινική ανάπτυξη (Cetinkaya & Avcı, 2022). Αυτός ο τύπος θεραπείας προκαλεί λιγότερες βλάβες στα φυσιολογικά κύτταρα σε σχέση με τους άλλους τύπους θεραπειών. Η στοχευμένη θεραπεία αποτελεί τρέχον πρότυπο για τη θεραπεία καρκίνων θετικών στο HER2(+) και στους ορμονικούς υποδοχείς. Η ανάπτυξη συγκεκριμένων στοχευμένων θεραπειών για τη θεραπεία του τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού απαιτεί τον εντοπισμό βιοδεικτών, μία διαδικασία που ακόμα βρίσκεται υπό μελέτη. Σήμερα αρκετές αναδυόμενες θεραπείες βρίσκονται υπό κλινικές δοκιμές με περιορισμένα αποτελέσματα. Όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία, έτσι και οι τρέχουσες στοχευμένες θεραπείες προκαλούν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες με αποτέλεσμα την ανάπτυξη αντοχής. (Burguin, Diorio, & Durocher, 2021).

Ορισμένοι τύποι στοχευμένης θεραπείας περιλαμβάνουν :

- Μονοκλωνικά αντισώματα
- Αναστολείς Κινάσης – Τυροσίνης (TKI)
- Αναστολείς Κινάσης που εξαρτώνται από κυκλίνη (CDK)
- Αναστολείς ραπαμυκίνης , mTOR
- Αναστολείς PARP



**Πίνακας 3 Στοχευμένες θεραπείες για το καρκίνο του μαστού.** Ανάλογα το στόχο χρησιμοποιούνται και οι κατάλληλες θεραπευτικές στρατηγικές. Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2023.103915> 2023

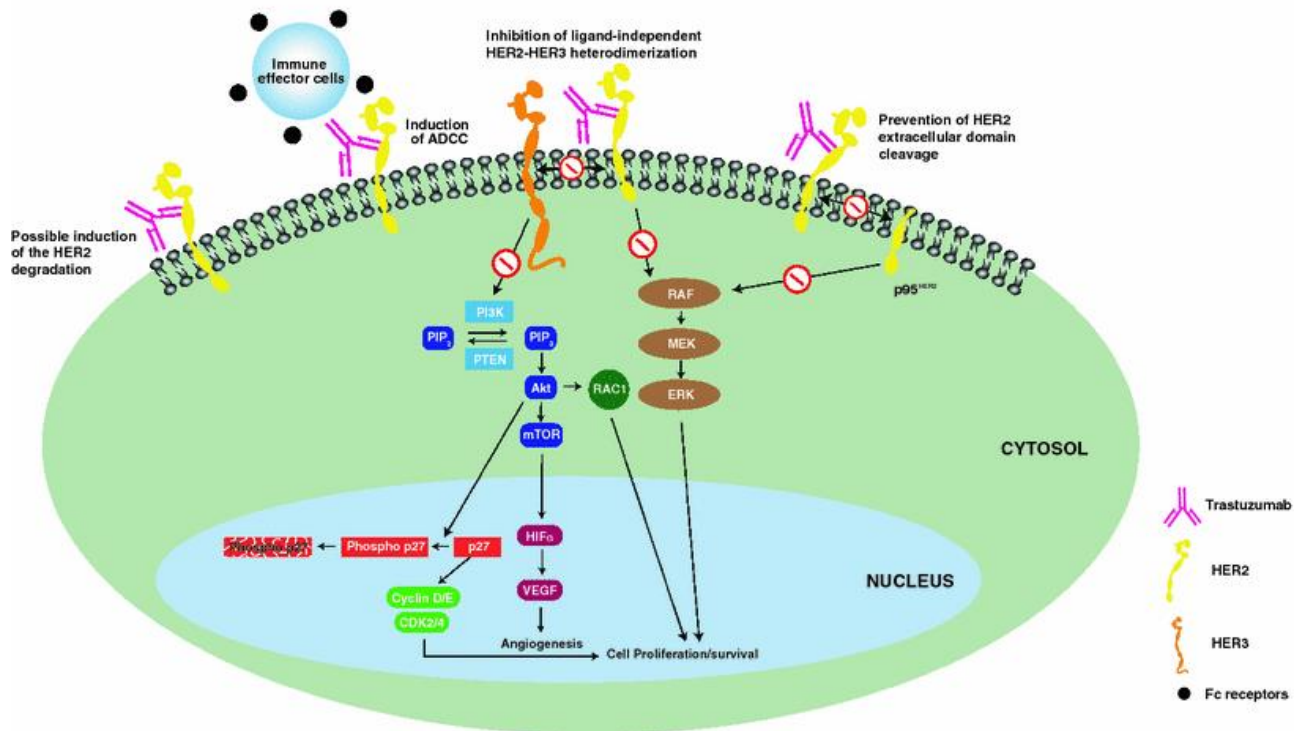
### 5.6.1 Στοχευμένη θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα (mabs)

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο υποδοχέας ErbB κινάσης τυροσίνης 2 (HER2) αποτελεί ένα πρωτο-ογκογονίδιο το οποίο υπερεκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα του μαστού (Pages, Masoud, & Gilles, 2017). Ο HER2 είναι ο μόνος που δεν έχει θέση δέσμησης συνδέτη, όμως η διαμόρφωση του είναι σαν EGFR επομένως βρίσκεται πάντα διμεριζόμενο και τελικά ενεργό. Μόλις ο HER2 ενεργοποιηθεί, μεσολαβεί σε σημαντικές λειτουργίες σηματοδότησης τόσο σε φυσιολογικούς όσο και σε κακοήθεις ιστούς του μαστού. Οι μεταβολικές αυτές οδοί είναι η οδός πρωτεϊνικής κινάσης που ενεργοποιείται από μιτογόνο (RAS/RAF/MEK/ERK) και η οδός 3-κινάσης φωσφατιδυλινοσιτόλης (PI3K/AKT/ mTOR). Αυτά τα μονοπάτια είναι απαραίτητα για την επιβίωση την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των κυττάρων (Maximiano, Magalhães, Guerreiro, & Morgado, 2016).

Η **τραστουζουμάμπη (Herceptin)**, αποτελεί ένα ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα HER2 και συγκεκριμένα για τον υποτομέα IV. Χορηγείται σε μεταστατικό HER2+ καρκίνο μαστού ως νεοεπικουρική ή ως επικουρική θεραπεία (Burguin, Diorio, & Durocher, 2021). Εκτός από την άμεση αντικαρκινική της δράση, η τραστουζουμάμπη επάγει την ανοσολογική απόκριση ενάντια των καρκινικών κυττάρων μέσω των NK και μακροφάγων (Cetinkaya & Avcı, 2022).

#### *Μηχανισμός δράσης Τραστουζουμάμπης*

Είναι γνωστό πως η τραστουζουμάμπη συνδέεται με υψηλή συγγένεια με την εξωκυτταρική περιοχή HER2, παρόλα αυτά ο μηχανισμός δράσης της δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός. Έρευνες έχουν αποδείξει πως η τραστουζουμάμπη δρα με τρεις διαφορετικούς τρόπους. Πρώτον, αναστέλλει τον ανεξάρτητο από το συνδέτη ετεροδιμερισμό HER2-HER3 (το πιο ογκογόνο ζεύγος στην οικογένεια HER), που πραγματοποιείται σε συνθήκες υπερέκφρασης HER2, δεύτερον προλαμβάνει τη πρωτεολυτική διάσπαση της εξωκυτταρικής περιοχής HER2 και του σχηματισμού του ενεργού θραύσματος p95HER2 και τρίτον επάγει την εξαρτώμενη από το αντίσωμα κυτταρομεσολαβούμενη κυτταροτοξικότητα (ADCC) προς HER2(+) όγκους μέσω αλληλεπίδρασης με υποδοχείς Fc σε ανοσοενεργά κύτταρα. Αποτέλεσμα αυτών των μηχανισμών είναι η ενεργοποίηση προς τα κάτω ρύθμιση των οδών σηματοδότησης, η οποία περιλαμβάνει τη 3-κινάση φωσφατιδυλινοσιτόλης (PI3K)/ πρωτεϊνοκινάση (Akt) και την ενεργοποιημένη από μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση (MAPK). Εν συνεχεία πραγματοποιείται σταθεροποίηση του αναστολέα εξαρτώμενης από κυκλίνη κινάσης (CDK), μείωση της έκκρισης αγγειογενετικών παραγόντων και μείωση της απόκρισης βλάβης του DNA (Abramson & Artega, 2011).



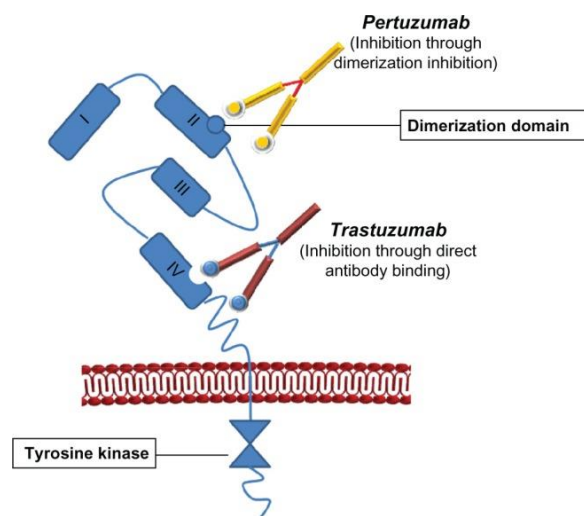
**Εικόνα 19 Μηχανισμός δράσης Τραστοζουμάμπης.** Η τραστοζουμάμπη μπορεί να συνδεθεί με τον υποδοχέα HER2 και μαζί με τη βοήθεια ανοσοκυττάρων να επάγουν την εξαρτώμενη από αντίσωμα κυτταρική κυτταροτοξικότητα (ADCC). Επιπλέον, αναστέλλει τον ανεξάρτητο από συνδέτη ετεροδιμερισμό HER2-HER3 με αποτέλεσμα τη παρεμπόδιση ενεργοποίησης διαφόρων οδών σηματοδότησης και τέλος στοχεύει στην αποφυγή της διάσπασης της εξωκυττάριας περιοχής HER2 Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.1007/s40259-016-0162-9> 2023

Ένα άλλο μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει την εξωκυτταρική περιοχή HER2 είναι η **περτουζουμάμπη** ( Pertuzumab ή αλλιώς Perjeta). Η περτουζουμάμπη αποτελεί ένα πλήρως ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα και εγκρίθηκε από τον FDA το 2017 για χρήση σε συνδυασμό με τραστοζουμάμπη και χημειοθεραπεία ως επικουρική θεραπεία σε ασθενείς με HER2(+) πρώιμο καρκίνο του μαστού με υψηλό κίνδυνο υποτροπής. Συνδέεται με διαφορετικό επίτοπο της περιοχής διμερισμού HER2, τον υποτομέα II. Η σύνδεση της περτουζουμάμπης με τον υποδοχέα HER2 εμποδίζει τον ετεροδιμερισμό του HER2 με άλλα μέλη της οικογένειας HER (Burguin, Diorio, & Durocher, 2021).

#### Μηχανισμός δράσης περτουζουμάμπης

Σε αντίθεση με τη τραστοζουμάμπη η περτουζουμάμπη αναστέλλει τη συσχέτιση του HER2 με τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR ή HER1), το HER3 και HER4 με αποτέλεσμα τη παρεμπόδιση σχηματισμού ετεροδιμερών HER. Έχει αποδειχθεί πως η περτουζουμάμπη, in vitro, μπορεί να αναστείλει την επαγόμενη από την

ερεγκουλίνη (HRGH) ενεργοποίηση της οδού επιβίωσης των κυττάρων της φωσφατιδυλινοσιτόλης 3-κινάσης (PI3K) (Hubalek, Brantner, & Marth, 2012). Τέλος, όπως η τραστοουζουμάμπη έτσι και η περτουζουμάμπη επάγει την ενεργοποίηση της οδού ADCC. Αυτός ο μηχανισμός δράσης έχει ως αποτέλεσμα τη θανάτωση των κυττάρων που υπερεκφράζουν το HER2 μέσω κυττάρων NK, μακροφάγων και ουδετερόφιλων, προκαλώντας μία προσαρμοστική ανοσολογική απάντηση βασισμένη στη παρουσίαση HER2 από μόρια MHC-I για την ενεργοποίηση της αντικαρκινικής δραστηριότητας των κυτταροτοξικών κυττάρων (Beatriz Henriques, Immunotherapy in Breast Cancer : When, How, and What Challenges?, 2021).



**Εικόνα 20 Δέσμευση της τραστοουζουμάμπης και της περτουζουμάμπης στον υποδοχέα HER2.** Και τα δύο μονοκλωνικά αντισώματα στρέφονται κατά της εξωκυτταρικής περιοχής του HER2. Η διαφορά τους έγκειται στις περιοχές δέσμευσης των επιτόπων της ελαφριάς και της βαριάς αλυσίδας. Συγκεκριμένα η περτουζουμάμπη ενώνεται με την υποτομέα II του HER2, ενώ ο επίτοπος για τη τραστοουζουμάμπη εντοπίζεται στον υποτομέα IV. Η περτουζουμάμπη αναστέλλει την ανάπτυξη του όγκου εμποδίζοντας το σχηματισμό συμπλόκων συνδέτη-υποδοχέα HER2, με αποτέλεσμα την αναστολή δημιουργίας ετεροδιμερών (HER2-HER3, HER2-HER4 κτλ.) Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.2147/BCTT.S23560> 2022

Πολλαπλές κλινικές δοκιμές έχουν δείξει πως η τραστοουζουμάμπη σε συνδυασμό με τη περτουζουμάμπη και χημειοθεραπεία βελτίωσε τη συνολική επιβίωση (OS) σε μεταστατικούς ασθενείς σε σύγκριση με την τραστοουζουμάμπη και τη χημειοθεραπεία μόνο. Τα οφέλη της περτουζουμάμπης έχουν επίσης αποδειχθεί στο αρχικό στάδιο HER2(+) καθώς έχει τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί σε νεοεπικουρική ή επικουρική θεραπεία σε συνδυασμό με τραστοουζουμάμπη και χημειοθεραπεία. Έρευνες έδειξαν περτουζουμάμπη και η τραστοουζουμάμπη μείωσαν τη κυτταρική επιβίωση κατά 60% όταν χορηγούνταν σε συνδυασμό (Sharela, Humberto, Santiago, & Escrivá-de-Romani, 2022). Στη δοκιμή φάσης 3 σε

μία κλινική δοκιμή, ο συνδυασμός τραστοζουμάμπης, περτουζουμάμπης και ντοσεταξέλης οδήγησε σε σημαντική βελτίωση της μέσης επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (Perez, et al., 2021).

### *Μηχανισμοί αντοχής*

Παρά της σημαντικές θετικές επιπτώσεις της τραστοζουμάμπης και της περτουζουμάμπης στη θεραπεία των HER2(+) καρκίνων μαστού, μόνο ένα μικρό ποσοστό ασθενών επωφελούνται από τα αντι-HER2 αντισώματα. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από την αντίσταση που αφορά δομικές τροποποιήσεις του HER2, οι οποίες μπλοκάρουν τη δέσμευση αντισωμάτων. Επίσης η υπερέκφραση άλλων κινασών τυροσίνης μπορεί να παρακάμψει τις οδούς σηματοδότησης που προέρχονται από το HER2. (Pages, Masoud, & Gilles, 2017).

Μελέτες έδειξαν πως η υπερέκφραση του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα I που μοιάζει με ινσουλίνη (IGF-1R), αποτελεί μία οδό που προκαλεί αντίσταση στη τραστοζουμάμπη και τη περτουζουμάμπη. Κατά τη διέγερση του συνδέτη, ο IGF-1R παράγει σηματοδότηση μέσω μονοπατιών πρωτεϊνικής κινάσης, διεγείροντας τη κυτταρική ανάπτυξη, το πολλαπλασιασμό και την αναστολή της απόπτωσης. (Gagliato, Denis Leonardo Fontes Jardim, & Hortobagyi, 2016). Η υπερέκφραση του c-Met (υποδοχέας ηπατικού αυξητικού παράγοντα), συμμετέχει στη σηματοδότηση HER2 με αποτέλεσμα να προσδώσει αντίσταση στα αντισώματα αντι-HER2.

Μία άλλη υπόθεση για την αντίσταση των αντισωμάτων κατά του HER2 είναι οι ενδοκυτταρικές αλλοιώσεις στα κατάντη μονοπάτια σηματοδότησης του HER2. Το HER2 ενεργοποιεί τη σηματοδότηση PI3K/Akt και το PTEN (ομόλογο φωσφατάσης και τενσίνης). Έτσι όγκοι με απώλεια λειτουργίας PTEN και ενεργοποίηση PI3K εξαιτίας μεταλλάξεων δεν ανταποκρίνονται τόσο θετικά στα θεραπευτικά αποτελέσματα της τραστοζουμάμπης (Pages, Masoud, & Gilles, 2017).

Τέλος, το **p95HER2**, αποτελεί μια αμινοτελική-κολοβωμένη μορφή του υποδοχέα HER2, η οποία υφίσταται πρωτεολυτική διάσπαση δημιουργώντας ένα κομμένο ιδιοσυστατικά ενεργό θραύσμα. Τα θραύσματα αυτά έχουν δραστηριότητα κινάσης, δεν παρουσιάζουν εξωκυτταρική περιοχή ούτε θέσης δέσμευσης τραστοζουμάμπης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση σηματοδότησης παρά τη δράση της τραστοζουμάμπης (Gagliato, Denis Leonardo Fontes Jardim, & Hortobagyi, 2016).

Η **τραστοζουμάμπη εμτανσίνη(Trastuzumab Emtansine, T-DM1)**, αποτελεί ένα σύζευγμα αντισώματος-φαρμάκου(ADC) το οποίο στοχεύει στο HER2 και αποτελείται από το ανθρωποποιημένο αντι-HER2 IgG1, τη τραστοζουμάμπη, ομοιοπολικά συνδεδεμένη με ένα ανασταλτικό φάρμακο μικροσωληνίσκων DM-1, ένα παράγωγο μεϊτανσίνης. Τα δύο αυτά μέρη ενώνονται μεταξύ τους με έναν σταθερό συνδετήρα. Το T-DM1 εγκρίθηκε από τον FDA το 2013 ως θεραπεία δεύτερης γραμμής για ασθενείς με ιστορικό θεραπείας με τραστοζουμάμπη και ταξάνη (Sharela, Humberto, Santiago, & Escriva-de-Romani, 2022). Κλινικές μελέτες έχουν δείξει πως το T-DM1 βελτιώνει την επιβίωση χωρίς εξέλιξη σε

ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο του μαστού, ανθεκτικοί σε άλλες θεραπείες στοχευμένες στο HER2 με ευνοϊκό προφίλ ασφάλειας (Rodondo & Garcia, 2019). Οι πιο κοινές ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με τη θεραπεία T-DM1 είναι η αναιμία, η θρομβοπενία και η κόπωση (Cetinkaya & Ancı, 2022)

#### *Μηχανισμός δράσης τραστουζουμάμπης εμτανσίνης*

Ο μηχανισμός δράσης του T-DM1 αποτελεί την αναστολή σηματοδότησης HER2 που προκαλείται από τραστουζουμάμπη και των μεταβολιτών του DM1, το οποίο είναι ένας κυτταροτοξικός παράγοντας μικροσωληνίσκου που προκαλεί τελικά κυτταρική απόπτωση. Η βιοχημική αλληλεπίδραση μεταξύ του αντισώματος (τραστουζουμάμπη) και της πρωτεΐνης στόχου (HER2) στέλνει σήμα στο καρκινικό κύτταρο, το οποίο απορροφά ή εσωτερικεύει το αντίσωμα μαζί με το κυτταροτοξικό παράγοντα που είναι συνδεδεμένος σε αυτό. Το DM1 καταστρέφει το καρκινικό όγκο μετά την απορρόφηση του ADC από το καρκινικό κύτταρο (K.Chhillar, AkankshaBehlaZahoor, A.WanibNagendra, & NathDascVirinder, 2023).

Η **τραστουζουμάμπη ντερουξετεκάνη (trastuzumab-deruxtecan, T-DXd)** αποτελεί άλλο ένα σύζευγμα αντισώματος-φαρμάκου (ADC), το οποίο στοχεύει το HER2 και εγκρίθηκε από τον FDA το 2019 για τη θεραπεία ανεγχείρητου ή μεταστατικού HER2 θετικού καρκίνου μαστού. Αυτό το ADC, αποτελείται από ένα ανθρωποποιημένο IgG1 mab, τη τραστουζουμάμπη η οποία είναι ομοιοπολικά συζευγμένη με ένα ωφέλιμο φορτίο αναστολέα τοποϊσομεράσης I (DXd) που είναι υπεύθυνο για την αναστολή της αντιγραφής του DNA, τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και τη πρόκληση απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων (Beatriz Henriques, Immunotherapy in Breast Cancer : When, How, and What Challenges?, 2021). Μελέτες έχουν αποδείξει πως η τραστουζουμάμπη ντερουξετεκάνη μπορεί να προσφέρει δραστηριότητα ακόμα και σε ασθενείς με χαμηλή έκφραση HER2. Λόγω υψηλής διαπερατότητας του ωφέλιμου φορτίου έχει παρατηρηθεί πως η τραστουζουμάμπη ντερουξετεκάνη δείχνει μία επίδραση θανάτωσης παρευρισκόμενων με αντικαρκινική δράση τόσο σε HER2 θετικούς όσο και σε HER2 αρνητικούς όγκους μόνο όταν ήταν γειτονικοί. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με αυτή τη θεραπεία είναι η μείωση των ουδετερόφιλων, αναιμία και ναυτία. (Nagayama, Vidula, & Bardia, 2020)

#### *Μηχανισμός δράσης τραστουζουμάμπης ντερουξετεκάνης*

Το αντίσωμα συνδέεται με τους υποδοχείς HER2 στη κυτταρική επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων. Το σύμπλεγμα αντισώματος-φαρμάκου εσωτερικεύεται από το κύτταρο και τα λυσοσωμικά ένζυμα διασπούν το συνδέτη που ενώνει το σύμπλεγμα. Αφού εισέλθει το σύμπλεγμα στο καρκινικό κύτταρο, το DXd απελευθερώνεται, προκαλώντας βλάβη στο DNA και απόπτωση. Επιπλέον το αντίσωμα έχει τη δυνατότητα σύνδεσης με το FcγRIIIA και το συμπλήρωμα C1q καθώς και να αναστέλλει τη σηματοδότηση ενδοκυτταρικών μεταβολικών οδών (Sharela, Humberto, Santiago, & Escriva-de-Romani, 2022). Σε αντίθεση με τη τραστουζουμάμπη εμτανσίνη, η τραστουζουμάμπη ντερουξετεκάνη περιέχει απελευθερωμένο φορτίο το οποίο διαπερνά εύκολα τη κυτταρική μεμβράνη με αποτέλεσμα να ασκεί μια δυναμικά ισχυρή κυτταροτοξική επίδραση σε γειτονικά καρκινικά κύτταρα ανεξάρτητα από την έκφραση του όγκου (Cetinkaya & Ancı, 2022)

Η **μαργετουξιμάμπη (margetuximab)** αποτελεί ένα χημειοθεραπευτικό αντι-HER2 μονοκλωνικό αντισώμα, το οποίο δεσμεύεται στον ίδιο επίτοπο HER2 που δεσμεύεται και η τραστοουζουμάμπη και εγκρίθηκε από τον FDA το 2020 για τη θεραπεία ασθενών με μεταστατικό HER2(+) καρκίνο μαστού σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία. Έρευνες έδειξαν πως η μαργετουξιμάμπη εμφάνιζε καλύτερα κλινικά αποτελέσματα σε σύγκριση με τη τραστοουζουμάμπη ενισχύοντας πιο πολύ την ενεργοποίηση της έμφυτης και προσαρμοστικής αντι-HER2 απόκρισης (Cetinkaya & Ancic, 2022). Σε κλινικές δοκιμές, θανατηφόρες ανεπιθύμητες ενέργειες αναφέρθηκαν στο 1,1% των ασθενών, με ιογενή πνευμονία. Άλλες σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες αποτελούν οι καρδιακές δυσλειτουργίες (Alasmari & M., 2022).

#### *Μηχανισμός δράσης μαργετουξιμάμπης*

Η μαργετουξιμάμπη δρα στην ίδια περιοχή του υποδοχέα HER2 με τη τραστοουζουμάμπη με αποτέλεσμα να προκαλεί τον ίδιο αποκλεισμό σηματοδότησης όσο αφορά την ειδικότητα και τη συγγένεια. Από την άλλη, η μαργετουξιμάμπη παρουσιάζει μία τροποποιημένη περιοχή Fc με στόχο την αύξηση της ανοσολογικής ενεργοποίησης προκειμένου να ενισχυθεί η εξαρτώμενη από το αντισώμα κυτταρική κυτταροτοξικότητα που ευνοεί καλύτερη αναγνώριση του όγκου από τα NK κύτταρα (Czerniecki, Costa, & J., 2020). Τα NK κύτταρα και τα μακροφάγα παρουσιάζουν στην επιφάνεια τους το διεγερτικό υποδοχέα FcγRIIIA(CD16A) ο οποίος επάγει ADCC. Ο υποδοχέας αυτός κωδικοποιείται από δύο αλληλόμορφα : μία V-παραλλαγή(βαλίνη) με υψηλότερη συγγένεια, και μία παραλλαγή F(φαινυλαλανίνη), με χαμηλότερη συγγένεια. Ασθενείς με γονότυπο VV φαίνεται να εμφανίζουν μεγαλύτερο κλινικό όφελος στα θεραπευτικά αντισώματα. Το 85% των ατόμων είναι φορείς της παραλλαγής F. Για το λόγο αυτό η τροποποιήσεις στο τμήμα Fc της μαργετουξιμάμπης αποδίδουν την αυξημένη συγγένεια για τον ενεργοποιητικό υποδοχέα FcγR και τη μείωση της συγγένειας για τον ανασταλτικό υποδοχέα FcγR (Sharela, Humberto, Santiago, & Escriva-de-Romani, 2022). Αυτές οι τροποποιημένες ικανότητες δέσμευσης της μαργετουξιμάμπης ιδιαίτερα σε κύτταρα με χαμηλότερα επίπεδα HER2, σε κύτταρα ανθεκτικά στη τραστοουζουμάμπη και σε ασθενείς που αποτελούν φορείς FcγRIIIA-V158F, έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένη ADCC και ενισχυμένες αντικαρκινικές επιδράσεις (Alasmari & M., 2022).

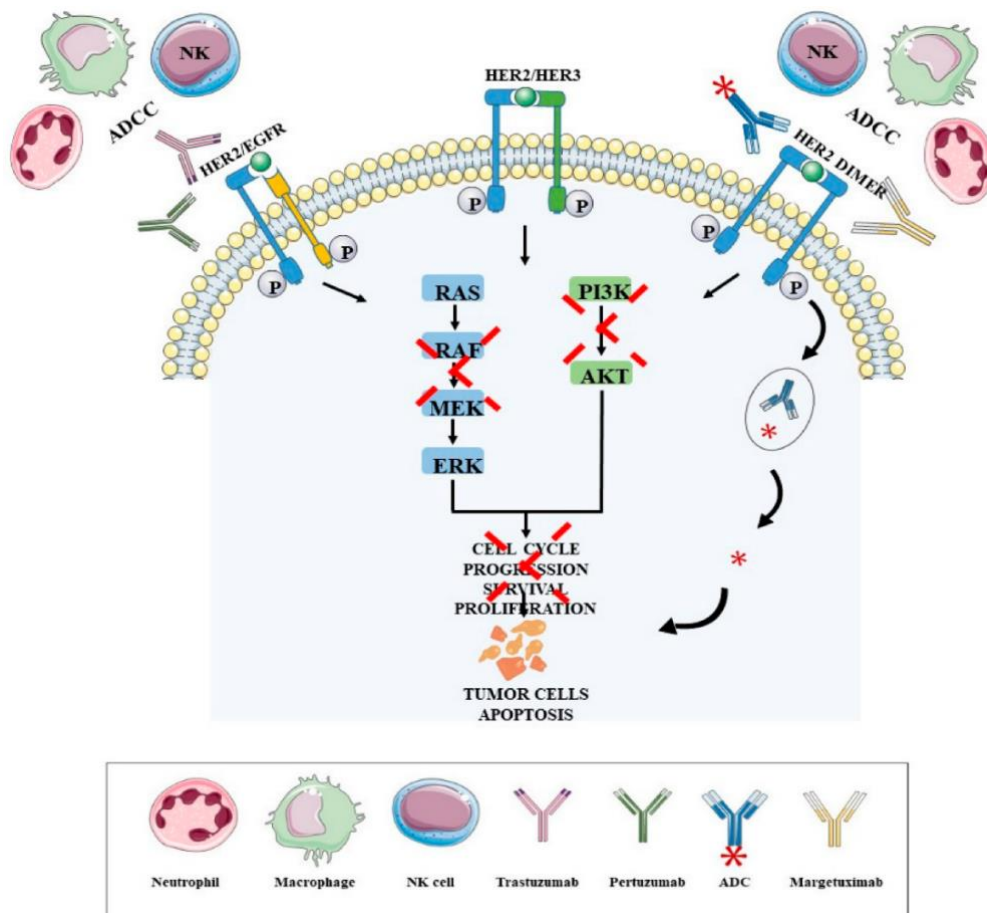
Η **τραστοουζουμάμπη ντουοκαρμαζίνη (Trastuzumab Duocarmazine, SYD985)**, αποτελεί ένα ακόμα ADC μη εγκεκριμένο από τον FDA. Αποτελείται από τραστοουζουμάμπη συνδεδεμένη μέσω ενός διασπάσιμου συνδέτη με φάρμακο που ονομάζεται βαλίνη-κιτρουλίνη-δεκο-ντουοκαρμυκίνη-υδροξυβενζαμίδη-αζαϊνδόλη. Όταν το μονοκλωνικό αυτό αντισώμα συνδεθεί στο HER2 τότε πραγματοποιείται πρωτεολυτική διάσπαση του συνδέτη στο μικροπεριβάλλον του όγκου με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του φαρμάκου. Η ενεργή τοξίνη της ντουοκαρμυκίνης αλκυλιώνει το DNA με αποτέλεσμα τη καταστροφή διαιρούμενων και μη διαιρούμενων κυττάρων (Burguin, Diorio, & Durocher, 2021). Σύμφωνα με την αναφερόμενη δραστηριότητα του φαρμάκου αυτού, το SYD985 προσφέρει μία νέα θεραπευτική επιλογή για ασθενείς με HER2 θετικό καρκίνο του μαστού. Δυστυχώς παρ' όλη την υψηλή αποτελεσματικότητά του, το SYD985 αποφέρει πολλές τοξικές



επιπτώσεις στον ασθενή και αυτό απαιτεί περαιτέρω ανάπτυξη στρατηγικής για το μετριασμό αυτών των παρενεργειών (Sharela, Humberto, Santiago, & Escriva-de-Romani, 2022).

Το **Zenocutuzumab (MCLA 128)** αποτελεί ένα διειδικό αντίσωμα που στοχεύει το HER2 και HER3, με ενισχυμένο ADCC. Αρχικά προσκολλάται στο HER2 και στη συνέχεια στο HER3 με αποτέλεσμα να εμποδίζει τη δέσμευση και τη σηματοδότηση της ερεγκουλίνης, έναν παράγοντα που επάγει την ανάπτυξη του όγκου. Η διπλή αυτή στόχευση καθιστά δυνατή τη παράκαμψη του μηχανισμού αντίστασης. Μέχρι στιγμής βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές.

Το **Zanitatumab (ZW25)** αποτελεί ένα διειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει ταυτόχρονα δύο επιτόπους του HER2, τις εξωτερικές περιοχές 2 και 4. Το ZW25, σε σχέση με τη τραστοζουμάμπη χαρακτηρίζεται από αυξημένη συγγένεια με το καρκινικό κύτταρο, ισχυρότερη κυτταροτοξική δράση καθώς αναστέλλει την εξαρτώμενη από το συνδέτη και την ανεξάρτητη ανάπτυξη του όγκου, επάγοντας την εσωτερίκευση του υποδοχέα HER2 και αναστέλλοντας την ενεργοποίησή του. Πολλές δοκιμές για αυτό το φάρμακο βρίσκονται σε εξέλιξη (Mezni, et al., 2020).



**Εικόνα 22 Τρόποι δράσης μονοκλωνικών αντισωμάτων ως θεραπεία με ασθενείς HER2(+).** Η τραστοουζουμάμπη, η περτουζουμάμπη και η μαργετουξιμάμπη στοχεύουν τη πρωτεΐνη HER2 εμποδίζοντας το διμερισμό της με τους άλλους υποδοχείς. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή ενεργοποίησης της πρωτεΐνης HER2, εμποδίζοντας την έναρξη δράσης των οδών P13K και MAPK. Με το τρόπο αυτό η κυτταρική ανάπτυξη και ο πολλαπλασιασμός καταστέλλεται, οδηγώντας τα καρκινικά κύτταρα σε απόπτωση. Τα mAbs αυτά πέρα από τη δυνατότητα παρεμπόδισης ενεργοποίησης οδών σηματοδότησης, μπορούν να ενισχύσουν τόσο την έμφυτη όσο και τη προσαρμοστική ανοσολογική απάντηση. Η επαγωγή ADCC προκαλεί το θάνατο των καρκινικών κυττάρων που εκφράζουν τη πρωτεΐνη HER2 μέσω της δράσης των NK κυττάρων, των μακροφάγων και των ουδετερόφιλων που μέσω μορίων MHC-I ενεργοποιούν την αντικαρκινική δράση των κυτταροτοξικών κυττάρων. Τέλος παρατηρείται η δράση ενός ADC, όπου μετά την είσοδο στο καρκινικό κύτταρο το ωφέλιμο φορτίο (φάρμακο) ασκεί κυτταροτοξική δράση.

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111687> 01/2023

**Η σασιτουζουμάμπη γοβιτεκάνη (Sacituzumab govitecan)** αποτελεί ένα σύζευγμα αντισώματος-φαρμάκου το οποίο χορηγείται για τη θεραπεία του μεταστατικού τριπλά αρνητικού καρκίνου μαστού (TNBC). Το Φεβρουάριο του 2016 αποδείχθηκε η κλινική δραστηριότητα του, παρόλα αυτά η τελική του έγκριση από τον FDA λόγω χημικών και παρασκευαστικών προβλημάτων, πραγματοποιήθηκε το 2022 (Lau, Tan, & Shi, 2022). Αυτό το ADC αποτελείται από ένα ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντισώματα IgG1, το hRS7 το οποίο στοχεύει το αντιγόνο 2 της επιφάνειας του αντιτροφοβλαστικού κυττάρου (Trop-2), συζευγμένο με το SN-38, έναν ενεργό μεταβολίτη ιρινοτεκάνης, ο οποίος συνδέεται αναστρέψιμα με το σύμπλεγμα διάσπασης της τοποϊσομεράσης I στο DNA. (Beatriz Henriques, Immunotherapy in Breast Cancer : When, How, and What Challenges?, 2021).

#### *Μηχανισμός δράσης*

Το Trop-2 αποτελεί έναν διαμεμβρανικό μετατροπέα σήματος ασβεστίου που υπερεκφράζεται σε πολλαπλούς τύπους όγκων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Συγκεκριμένα το Trop-2 υπερεκφράζεται στο 90% περίπου των όγκων TNBC. Μετά τη χορήγηση του ADC, το μονοκλωνικό αντίσωμα συνδέεται με το Trop-2 που εκφράζεται στην επιφάνεια του καρκινικού όγκου επιτρέποντας τη στοχευμένη δράση του SN-28 στα κύτταρα όγκου. Το SN-38 είναι διαπερατό από τη μεμβράνη με αποτέλεσμα να προκαλεί αντικαρκινική δράση και στα γειτονικά καρκινικά κύτταρα πριν από την ενσωμάτωση του ADC μέσω υδρόλυσης του συνδέτη ή μέσω ενδοκυτταρικής απελευθέρωσης (Bardia, et al., 2021). Αφού εισέλθει το ADC στο καρκινικό κύτταρο, τα λυσοσώματα αποικοδομούν το mab, και το SN-38 προκαλεί αναστολή τοποϊσομεράσης I με αποτέλεσμα την επιβράδυνση της αντιγραφής του DNA με μηχανισμό αναστολής της διεπιφάνειας. Η δράση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και κατά επέκταση την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον το σύζευγμα αυτό αποδείχθηκε ότι έχει τη δυνατότητα να επάγει ADCC με αποτέλεσμα την εξόντωση καρκινικών κυττάρων που εκφράζουν Trop-2 (Nagayama, Vidula, & Bardia, 2020).

**Η μπεβασιζουμάμπη (Bevacizumab)** αποτελεί ένα ανθρώπινο ανασυνδιασμένο μονοκλωνικό αντίσωμα που εμποδίζει τη δέσμευση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα A(VEGF-A) στους υποδοχείς VEGF αναστέλλοντας την αγγειογένεση. Εμποδίζει δηλαδή την ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων τα οποία παρέχουν οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά στα καρκινικά κύτταρα. (Pages, Masoud, & Gilles, 2017). Εγκρίθηκε από τον FDA το 2008 για τη θεραπεία του HER2 αρνητικού καρκίνου του μαστού σε συνδυασμό με πακλιταξέλη σε μεταστατικές καταστάσεις. Αποσύρθηκε το 2011 λόγω χαμηλής αποτελεσματικότητας σε ασθενείς με TNBC (Cetinkaya & Avcı, 2022).

Το **Glembatumumab vedotin** αποτελεί ένα μονοκλωνικό αντίσωμα συζευγμένο με κυτταροτοξικό φάρμακο το οποίο στοχεύει τη γλυκοπρωτεΐνη NMB (GPNMB+) η οποία υπερεκφράζεται στο 40% του TNBC. Η γλυκοπρωτεΐνη αυτή είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που σχετίζεται με την εισβολή του όγκου και τη μετάσταση. Το φάρμακο αποτελεί έναν αντι-μιτωτικό παράγοντα(MMAE). Σε δοκιμή φάσης II, παρατηρήθηκε πως το

Gembatumumab vedotin σε ασθενείς με gpNMB+ προχωρημένου TNBC έδειξε σημαντικά βελτιωμένο PFS (επιβίωση χωρίς εξέλιξη) και OS (συνολική επιβίωση) (Tong, Wu, Cho, & To, 2018).

Το **CD47** αποτελεί μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που εκφράζεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια και συνδέεται με τη ρυθμιστική πρωτεΐνη άλφα-σήματος (SIRPα) που εντοπίζεται στα μυελοειδή κύτταρα. Η ένωση αυτή των δύο πρωτεϊνών ενεργοποιεί ένα μονοπάτι σηματοδότησης το οποίο αναστέλλει τη φαγοκυττάρωση των κυττάρων στόχων από τα μακροφάγα. Διάφορες μελέτες έδειξαν πως το CD47 εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα σε διάφορους τύπους καρκίνου συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού. Ένα σχεδιασμένο μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο θα στόχευε το CD47 θα εμπόδιζε τη σύνδεση CD47-SIRPα προάγοντας με αυτόν το τρόπο τη φαγοκυττάρωση των καρκινικών κυττάρων. Κλινικές δοκιμές παρουσίασαν την αποτελεσματικότητα του μονοκλωνικού αντισώματος αντι-CD47 ενισχύοντας σημαντικά τη λειτουργία της φαγοκυττάρωσης, τη παρουσίαση αντιγόνων και τη θανάτωση με τη μεσολάβηση NK κυττάρων (Chen, Wang, Chen, Hou, & Jiang, 2022).

Φάρμακο	Κατηγορία	Δραστική ουσία	Στόχευση	Μηχανισμός δράσης
<b>Trastuzumab</b>	mab		HER2 (υποτομέας IV)	X HER2/HER3, X PI3K/Akt/MAPK Επαγωγή ADCC
<b>Pertuzumab</b>	mab		HER2 (υποτομέας II)	X HER2/EGFR,HER3,HER4 X επαγόμενη από ερεγκουλίνη ενεργοποίηση PI3K Επαγωγή ADCC
<b>Trastuzumab Emfansine (T-DM1)</b>	ADC	DM-1	HER2	Δράση trastuzumab DM-1-> κυτταρική απόπτωση
<b>Trastuzumab-deruxtecan(T-DXd)</b>	ADC	DXd	HER2	DXd-> αναστολή αντιγραφής DNA, διακοπή κυτταρικού κύκλου, απόπτωση
<b>Margetuximab</b>	mab		HER2	Δράση όπως trastuzumab Ενίσχυση έμφυτης και προσαρμοστικής ανοσίας λόγω τροποποιημένης περιοχής Fc
<b>Trastuzumab Duocarmazine</b>	ADC	ντουοκαρμυκίνη	HER2	Ντουοκαρμυκίνη-> αλκυλιώνει το DNA, καταστροφή καρκινικών κυττάρων
<b>Zenocutuzumab</b>	BsAb		HER2,HER3	X HER2/HER3
<b>ZW25 (Zanitatumab)</b>	BsAb		HER2( II και IV)	X εξαρτώμενη και ανεξάρτητη από συνδέτη σηματοδότηση Εσωτερίκευση υποδοχέα HER2
<b>Sacituzumab govitecan</b>	ADC	SN-38	(Trop-2)	Για TNBC SN-38-> αναστολή τοποϊσομεράσης I -> διακοπή κυτταρικού κύκλου Επαγωγή ADCC
<b>Bevacizumab</b>	mab		(VEGF-A)	Για HER2(-) X VEGF-A/VEGFR -> αναστολή αγγειογένεσης
<b>Glembatumumab</b>	ADC	MMAE	Γλυκοπρωτεΐνη NMN-NMB	

**Πίνακας 4** Στοιχευμένη θεραπεία με τη χρήση Μονοκλωνικών αντισωμάτων

## 5.6.2 Στοχευμένη Θεραπεία με αναστολείς Κινάσης-Τυροσίνης(TKIs)

Η οικογένεια των υποδοχέων του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) αποτελείται από τέσσερις ομάδες υποδοχέων κινάσης τυροσίνης συμπεριλαμβανομένων των ErbB1(HER1), ErbB2(HER2), ErbB3(HER3) και ErbB4(HER4). Η ανώμαλη ενεργοποίηση αυτών των κινάσων οδηγεί στην αποφυγή απόπτωσης, υπερβολικής κυτταρικής ανάπτυξης και αγγειογένεσης στον επιθηλιακό καρκίνο. Εκτός από το HER2, και οι υπόλοιποι υποδοχείς HER συμμετέχουν στη σηματοδότηση και το πολλαπλασιασμό των κυττάρων μέσω ετεροδιμερισμού. Αυτό, δημιούργησε την ανάγκη για τον αποκλεισμό και άλλων υποδοχέων HER για βελτιωμένα αντι-πολλαπλασιαστικά αποτελέσματα. Οι αναστολείς κινάσης τυροσίνης μπλοκάρουν τις μη φυσιολογικές οδούς μεταγωγής σήματος που είναι απαραίτητες για το πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη κυττάρων. Οι περισσότεροι από τους αναστολείς κινάσης τυροσίνης αναστέλλουν πολλαπλές οδούς στις αλυσίδες σηματοδότησης (Vasile, et al., 2021). Οι TKIs αποτελούν μικρά μόρια που διαχέονται σε όλη τη κυτταρική μεμβράνη και συνδέονται με το τομέα της κυτταροπλασματικής καταλυτικής κινάσης των πρωτεϊνών της οικογένειας HER. Δεσμεύουν και μπλοκάρουν τις περιοχές δέσμησης ATP του υποδοχέα HER2 με στόχο να εμποδίσουν τη φωσφορυλίωση και κατά επέκταση την κατάντη σηματοδότηση που επάγει την ανάπτυξη καρκινικών όγκων (Du & Curigliano, 2021). Η θεραπεία αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με άλλα αντικαρκινικά φάρμακα ως επικουρική θεραπεία.

Η **Λαπατινίμπη (Lapatinib)** αποτελεί το πρώτο TKI για τη θεραπεία HER2 θετικού καρκίνου μαστού και αναστέλλει τα HER2 και EGFR1. Εγκρίθηκε από τον FDA το 2007 για τη θεραπεία ασθενών με μεταστατικό HER2(+) καρκίνο μαστού που προηγουμένως είχαν λάβει θεραπεία όπως ανθρακυκλίνη, ταξάνη και τραστουζουμάμπη. Συνήθως συνδυάζεται με χημικοθεραπευτικά φάρμακα και άλλους παράγοντες που στοχεύουν το HER2, όπως η τραστουζουμάμπη. Συχνές παρενέργειες αποτελούν η διάρροια, το εξάνθημα, η ναυτία, η κόπωση, οι κράμπες στη κοιλιά καθώς και η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση. Συγκεκριμένα συνδέεται αναστρέψιμα με τη κυτταροπλασματική θέση δέσμησης του ATP της κινάσης τυροσίνης των HER1 και HER2. Έτσι εμποδίζει τη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του υποδοχέα με αποτέλεσμα την αναστολή της κατάντη οδών σηματοδότησης (Cetinkaya & Avcı, 2022)

Η **τουκατινίμπη (Tucatinib)** αποτελεί έναν από του στόματος αναστολέα κινάσης τυροσίνης, ο οποίος αναστέλλει τη φωσφορυλίωση του HER2, εμποδίζοντας τη μεταγωγή σήματος για την ενεργοποίηση των οδών MAPK και PI3K. Εγκρίθηκε από τον FDA το 2020 σε συνδυασμό με τραστουζουμάμπη για ασθενείς με προχωρημένο ή μεταστατικό HER2 θετικό καρκίνο μαστού. Δρα κυρίως στο HER2 με μειωμένες επιδράσεις αποκλεισμού του EGFR και με μειωμένη τοξικότητα (Vasile, και συν., 2021). Οι πιο συχνές παρενέργειες είναι η διάρροια, η ναυτία, η κόπωση και ο έμετος (Cetinkaya & Avcı, 2022).

Η **νερατινίμπη (neratinib)** αποτελεί έναν μη αναστρέψιμο αναστολέα κινάσης τυροσίνης ο οποίος στοχεύει το HER2, HER3 και HER4. Εγκρίθηκε από τον FDA το 2017 ως επικουρική θεραπεία για ασθενείς με HER2 θετικό καρκίνο μαστού πρώιμου σταδίου σε συνδυασμό

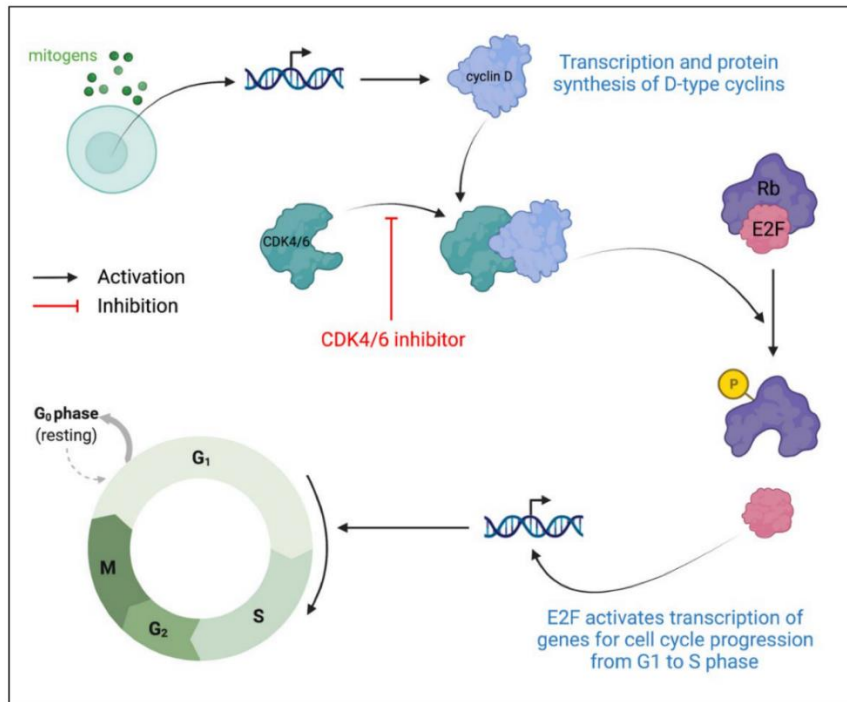
με τρασουζουμάμπη. Χρησιμοποιείται επίσης για τη θεραπεία προχωρημένου ή μεταστατικού καρκίνου (Desh Deepak Singh, 2022).

### 5.6.3 Στοχευμένη θεραπεία με εξαρτώμενες από κυκλίνη κινάσες (CDK)

Οι CDK αποτελούν πρωτεϊνικές κινάσες που συμμετέχουν στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Συγκεκριμένα ρυθμίζουν τη πορεία του κυτταρικού κύκλου από τη φάση G1 στη φάση S. Η ύπαρξη κατάλληλων αυξητικών παραγόντων και μιτογόνων επάγουν την αύξηση επιπέδων των κυκλινών D με αποτέλεσμα τη δημιουργία συμπλόκων CDK4 και CDK6 με τη κυκλίνη D. Τα σύμπλοκα αυτά στη συνέχεια φωσφορυλιώνουν τις πρωτεΐνες της οικογένειας του ρετινοβλαστώματος (Rb), με αποτέλεσμα την απελευθέρωση παραγόντων μεταγραφής E2F από τις ανασταλτικές πρωτεΐνες Rb. Η απελευθέρωση των παραγόντων αυτών προκαλεί τη μεταγραφή γονιδίων που απαιτούνται για τη συνέχεια του κυτταρικού κύκλου από τη φάση G1 στη φάση S (Abdelmalak, Singh, Anwer, Ivanchenko, & Randhawa, 2022). Έχει παρατηρηθεί πως στους θετικούς σε ορμονικούς υποδοχείς καρκίνους μαστού εντοπίζεται υπερέκφραση της κυκλίνης D. Για το λόγο αυτό, η ικανότητα στόχευσης της κυκλίνης D, και η εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου από τη φάση G1 στη φάση S αποτέλεσαν ιδανικό θεραπευτικό στόχο για HR θετικούς καρκίνους του μαστού (Lau, Tan, & Shi, 2022).

Οι αναστολείς CDK4/6 στοχεύουν ειδικά τα CDK4 και CDK6, εμποδίζοντας το σχηματισμό συμπλόκου CDK4/6- κυκλίνης D. Η αποτροπή αυτού του σχηματισμού, αναστέλλει τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης Rb με αποτέλεσμα να μην απελευθερωθεί ο μεταγραφικός παράγοντας E2F και τελικά να προκληθεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 (Cetinkaya & Avcı, 2022).

Επί του παρόντος, τρεις αναστολείς CDK4/6 είναι εγκεκριμένοι από τον FDA για τη θεραπεία καρκίνου του μαστού σε συνδυασμό με ορμονοθεραπεία. Οι αναστολείς αυτοί είναι ειδικοί για τη θεραπεία μεταστατικών καρκίνων μαστού θετικών για ορμονικούς υποδοχείς, αρνητικούς σε HER2 και περιλαμβάνουν τη παλμποσικλίμπη (Palbociclib), τη ριμποσικλίμπη (ribociclib) και την αμπαμεσικλίμπη (Abemaciclib) (Sheikh & Satti, 2021).



**Εικόνα 21** Ο ρόλος των *CDK4* και *CDK6* στην εξέλιξη της κυτταρικής ανάπτυξης και ο μηχανισμός δράσης του αναστολέα *CDK4/6*. Με τη παρουσία μιτογόνων και αυξητικών παραγόντων επάγεται η μεταγραφή και η πρωτεϊνική σύνθεση των κυκλινών *D*. Μετά τη δημιουργία συμπλόκων κινασών *CDK4/6*-κυκλίνης *D*, πραγματοποιείται φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης *Rb* και απελευθέρωση του *E2F* ο οποίος με τη σειρά του ενεργοποιεί την μεταγραφή των γονιδίων για την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου από τη *G1* στην *S* φάση. Η δράση των αναστολέων κινασών *CDK4/6* εμποδίζουν τη δημιουργία συμπλόκου και κατά επέκταση τη συνέχιση του κυτταρικού κύκλου.

Ανακτήθηκε από : <https://doi.org/10.3390/ijms23042288>, 18 February 2022.

#### 5.6.4 Στοχευμένη θεραπεία με αναστολείς Ραπαμυκίνης (mTOR)

Όταν το μονοπάτι της κινάσης *PI3K/PTEN/Akt/mTOR* ενεργοποιείται μέσω μεταλλάξεων και κατά επέκταση οδηγείται σε ανώμαλη σηματοδότηση, πραγματοποιείται μη φυσιολογικός πολλαπλασιασμός. Οι μεταλλάξεις αυτές εντοπίζονται σε διάφορους τύπους καρκίνου όπως και στο καρκίνο του μαστού και συνήθως παρουσιάζουν αντίσταση στην ορμονοθεραπεία. Η καταστολή της δραστηριότητας αυτού του καταρράκτη μπορεί να επιτευχθεί με την αναστολή της κινάσης *mTOR*, ένα βασικό συστατικό αυτού το μονοπατιού που ρυθμίζει τη κυτταρική ανάπτυξη και το πολλαπλασιασμό (Steelman, και συν., 2016).

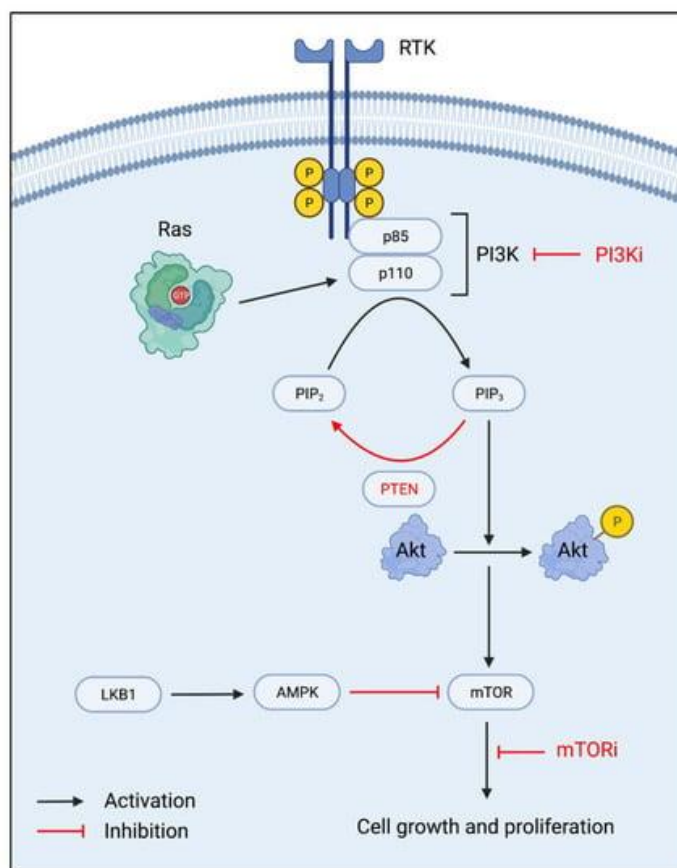


### *Η οδός PI3K/Akt/ mTOR (PAM)*

Το PI3K αποτελείται από δύο υπομονάδες, μία ρυθμιστική p85 και μία καταλυτική p110. Όταν ο υποδοχέα κινάσης τυροσίνης (RTK) διεγερθεί, τα φωσφορυλιωμένα υπολείμματα τυροσίνης μετατρέπονται σε θέση σύνδεσης για την υπομονάδα p85. Η υπομονάδα p110 ενεργοποιείται από τη πρωτεΐνη Ras, με αποτέλεσμα τη φωσφορυλίωση της PIP2 σε PIP3. Η Akt, μία κινάση σερίνης/θρεονίνης, φωσφορυλιώνεται με αποτέλεσμα τη κατάντη ενεργοποίηση των συμπλεγμάτων mTORC1 και mTORC2. Η ενεργοποίηση του mTOR επάγει την αυξημένη αναβολική ανάπτυξη των κυττάρων (Vinayak & Robert, 2013).

Οι αναστολείς mTOR αποτελούν μία ειδική κατηγορία φαρμάκων λόγω των άμεσων επιδράσεων τους στο κυτταρικό κύκλο. Το Everolimus αποτελεί έναν αναστολέα mTOR ο οποίος δρα σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο θετικό για ορμονικούς υποδοχείς (HR), αρνητικό για HER2 και συνήθως αφορά τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Εγκρίθηκε από τον FDA το 2012 (Burguin, Diorio, & Durocher, 2021). Ο αναστολέας αυτός συνδέεται με τον υποδοχέα πρωτεΐνης 12 που δεσμεύει το FK506 και το σύμπλεγμα αυτό συνεργάζεται με το mTOR με σκοπό να αναστείλει την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και κατά επέκταση τη κυτταρική ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό. Κλινικές μελέτες έδειξαν πως ο συνδυασμός Everolimus-tamoxifen (SERM) σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση, απέδιδε υψηλή αποτελεσματικότητα (Vasile, et al., 2021).

Εκτός από τους αναστολείς mTOR, οι αναστολείς των PI3K και Akt βρίσκονται υπό κλινικές μελέτες, καθώς η αναστολή της σηματοδότησης επηρεάζει εξίσου τη ρύθμιση mTOR του κυτταρικού κύκλου. Επιπλέον οι φυσικοί αναστολείς της οδού PAM προκαλούν μεγάλη πρόκληση για την ανάπτυξη θεραπειών καρκίνου. Το PTEN αποτελεί έναν ογκοκατασταλτικό παράγοντα, καθώς αποφωσφορυλιώνει το PIP3 σε PIP2 αναστέλλοντας την ενεργοποίηση του PI3K. Σε επιθετικούς τύπους καρκίνους η δράση του PTEN μειώνεται ή απουσιάζει εντελώς με αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη κυττάρων. Υπάρχουν μελέτες που εξετάζουν την ενεργοποίηση της έκφρασης του καταστολέα όγκου PTEN με ένα εξειδικευμένο σύστημα για μία πιθανή θεραπεία στους τριπλά αρνητικούς καρκίνους του μαστού. (Lau, Tan, & Shi, 2022).



Εικόνα 22 Σχηματική απεικόνιση της οδού PI3K/Akt/mTOR (PAM) και σημεία δράσης αναστολέων mTOR, PI3K και PTEN.

Ανακτήθηκε από <https://doi.org/10.3390/ijms23042288> 01/2023

### 5.6.5 Στοχευμένη θεραπεία με αναστολείς PARP

Αποτελεί μία HER2-αρνητική στοχευμένη θεραπεία και είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική σε καρκίνους μαστού που παρουσιάζουν μετάλλαξη στα γονίδια BRCA. Σε διάφορους καρκίνους εντοπίζονται σφάλματα αντιγραφής και ελλείψεις στα μονοπάτια επιδιόρθωσης του DNA όπως το σπάσιμο μονής έλικας (SSB), βλάβη παραμόρφωσης έλικας και θραύσματα διπλής έλικας (DSB). Η γονιδιωματική ακεραιότητα ενάντια στη βλάβη του DNA ρυθμίζεται μέσω διαφόρων μηχανισμών απόκρισης μείζονος βλάβης (DRR). Για παράδειγμα ο ομόλογος ανασυνδυασμός (HR) και η μη ομόλογη τελική ένωση αποτελούν οδοί επισκευής για τα θραύσματα διπλής έλικας. Από την άλλη η βλάβη SSB, η παραμόρφωση της έλικας και τα σφάλματα αντιγραφής διορθώνονται με επισκευή εκτομής βάσης, επιδιόρθωση εκτομής νουκλεοτιδίου και επιδιόρθωση ασυμφωνίας αντίστοιχα (Barchiesi, et al., 2021). Τα PARP1 και PARP2 αποτελούν ένζυμα που εμπλέκονται αρκετά στις οδούς DRR και συγκεκριμένα στην οδό αποκατάστασης εκτομής βάσης που επικεντρώνεται στη διάσπαση της

μονής έλικας. Συγκεκριμένα το PARP1 ανιχνεύει τη βλάβη του DNA και καταλύει τη λεγόμενη PARylation μία διαδικασία στη οποία πραγματοποιείται προσθήκη μίας αλυσίδας πολύ-ADP(DP-ριβόζης) στις πρωτεΐνες στόχους ώστε να δράσουν οι κατάλληλοι επιδιορθωτικοί παράγοντες στο σημείο θραύσης (Nadine, Garber, & E., 2015). Τα καρκινικά κύτταρα που παρουσιάζουν μετάλλαξη στα γονίδια BRCA1 και BRCA2 έχουν ελαττωμένη δυνατότητα επιδιόρθωσης του DNA DSB. Και τα δύο αυτά ένζυμα είναι βασικά συστατικά στην οδό επιδιόρθωσης ομόλογου ανασυνδυασμού(HRR). Συγκεκριμένα το BRCA1 επάγει την οργάνωση των επισκευαστικών πρωτεϊνών στο σημείο επισκευής του DNA, ενώ το BRCA2 στρατολογεί τη ρεκομπινάση RAD51. Η έλλειψη ενός από τις δύο πρωτεΐνες έχει ως αποτέλεσμα την μη αποτελεσματική ενεργοποίηση ομόλογου ανασυνδυασμού (Cetinkaya & Avcı, 2022).

Τα καρκινικά κύτταρα με μεταλλάξεις γονιδίου HRR γίνονται στόχοι από θεραπείες με αναστολείς PARP μέσω ενός μηχανισμού που είναι γνωστός ως συνθετική θνησιμότητα. Οι αναστολείς PARP συνδέονται με τα ένζυμα PARP αναστέλλοντας την δράση τους. Έτσι εμποδίζουν τις διχάλες αντιγραφής, οδηγώντας στη κατάρρευση τους και στη δημιουργία θραύσης διπλού κλώνου (Barchiesi, et al., 2021).

Η **ολαπαρίμπη (Olaparib)** αποτελεί το πρώτο εγκεκριμένο από τον FDA αναστολέα PARP. Κλινικές μελέτες έδειξαν πως το Olaparib παρουσίασε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και ανεκτικότητα σε ασθενείς με μεταλλαγμένο BRCA και HER2 αρνητικό καρκίνο μαστού σε σχέση με τη τυπική χημειοθεραπεία. Ο δεύτερος εγκεκριμένος αναστολέας PARP είναι η **ταλαζοπαρίμπη(talazoparib)**, με ισχυρή καταλυτική αναστολή και δυνατότητα παγίδευσης PARP. Άλλοι αναστολείς PARP που βρίσκονται επί του παρόντος σε κλινική ανάπτυξη είναι: το veliparib και το rucaparib (Burguin, Diorio, & Durocher, 2021).

## 5.7 Ανοσοθεραπεία

Παρόλο που η πλειοψηφία των γυναικών με καρκίνο του μαστού διαγιγνώσκεται αρκετά νωρίς και εφαρμόζετε έγκαιρα χειρουργική επέμβαση, χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία ή συνδυασμό αυτών, ένα ποσοστό 30% των γυναικών που η νόσος βρίσκεται αρχικά σε πρώιμο στάδιο θα αναπτύξει τελικά μεταστατική νόσο. Ένα από τα χαρακτηριστικά των προχωρημένων όγκων είναι η ικανότητα τους να αποφεύγουν τις προσαρμοστικές ανοσολογικές αποκρίσεις. Καθώς οι μηχανισμοί διαφυγής είναι διαφορετικοί, έχουν πραγματοποιηθεί πολλαπλές μελέτες για την ανάπτυξη νέων στρατηγικών για την ενεργοποίηση θανάτου καρκινικού κυττάρου, διεγείροντας την ικανότητα του οργανισμού να αναγνωρίσει και να καταστρέψει τα καρκινικά κύτταρα. Οι μελέτες αυτές οδήγησαν στην ανάπτυξη διαφορετικών τρόπων αντικαρκινικής ανοσοθεραπείας όπως ανοσοθεραπεία στόχευσης όγκου, ογκολυτικοί ιοί, αντικαρκινικά εμβόλια και ανοσοθεραπεία κυττάρων (Emens & Horikins, 2018). Οι ανοσοθεραπείες αυτές έχουν σχεδιαστεί για να στοχεύουν κύτταρα όγκου και να ενισχύουν το ανοσολογικό σύστημα σε διαφορετικά επίπεδα. Η ανάπτυξη

ανοσοθεραπειών για το καρκίνο του μαστού αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη επιλογή για την επίτευξη μίας αποτελεσματικής θεραπείας σε αντίθεση με τις συμβατικές θεραπείες καταδεικνύοντας επιτυχίες όχι μόνο στους πρωτοπαθείς όγκους αλλά και στη πρόληψη μεταστάσεων και υποτροπών (Redondo & García-Aranda, 2019).

### 5.7.1 Αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου (Immune Checkpoints Inhibitors)

Για να ξεκινήσει μία ανοσολογική απόκριση, το ανοσοποιητικό σύστημα θα πρέπει να είναι ικανό να διακρίνει τα κύτταρα που αποτελούν μέρος του από τα ξένα κύτταρα. Τα κύτταρα του σώματος παρουσιάζουν στην επιφάνεια τους ή στο εσωτερικό τους, πρωτεΐνες που βοηθούν το ανοσοποιητικό σύστημα να αναγνωρίσει τα μη ξένα κύτταρα. Οι πρωτεΐνες αυτές ονομάζονται **σημεία ελέγχου ανοσοποιητικού συστήματος**. Τα Τ κύτταρα μπορούν και εντοπίζουν πρωτεΐνες στην επιφάνεια κυττάρων ώστε να τα αναγνωρίζουν. Εάν οι επιφανειακές πρωτεΐνες υποδηλώνουν ότι το κύτταρο είναι καρκινικό, το Τ κύτταρο ξεκινά επίθεση. Οι αναστολείς σημείου ελέγχου στοχεύουν αυτές τις πρωτεΐνες του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου και βοηθούν το ανοσοποιητικό σύστημα να αναγνωρίσει και να επιτεθεί στα καρκινικά κύτταρα (Luo, et al., 2022).

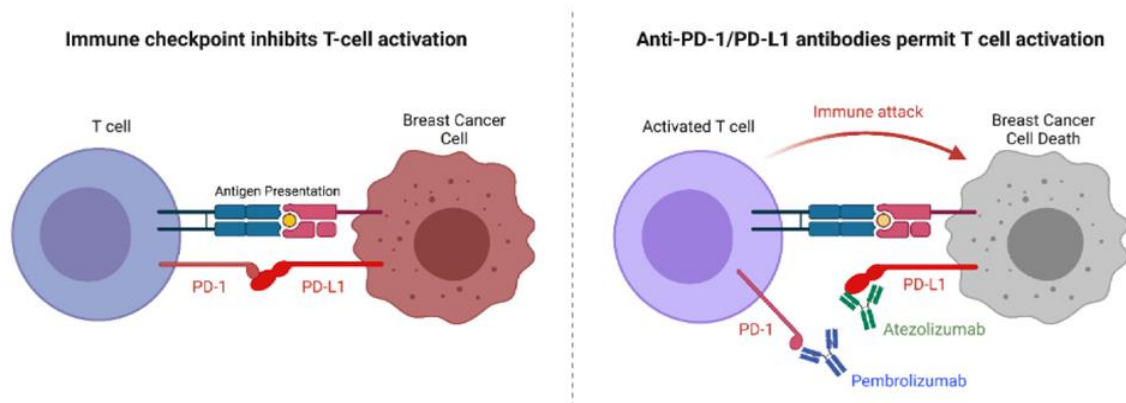
Η πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (**PD-1**) αποτελεί έναν τύπο πρωτεΐνης σημείου ελέγχου που εντοπίζεται σε πολλούς διαφορετικούς τύπους ανοσοκυττάρων (IC) όπως Τ κύτταρα, Β κύτταρα και αντιγονοπαρουσιαστικά. Η πρωτεΐνη αυτή ρυθμίζει κυρίως τα ενεργοποιημένα Τ κύτταρα στη τελευταία φάση της ανοσολογικής απόκρισης. Η PD-1 όταν συνδέεται με το συνδέτη της, PD-L1, επάγεται η αναστολή της δράσης των Τ κυττάρων ώστε να σκοτώσουν το κύτταρο. Συγκεκριμένα πραγματοποιείται αποφωσφορυλίωση των συστατικών σήματος του υποδοχέα Τ-κυττάρων με αποτέλεσμα τη παρεμπόδιση έναρξης οδών σηματοδότησης.

Ορισμένα καρκινικά κύτταρα υπερεκφράζουν το συνδέτη PD-L1, με αποτέλεσμα να μην επιτρέπουν στα Τ κύτταρα να τα εξοντώσουν. Με τη χρήση αναστολέων σημείου ελέγχου αποτρέπεται η σύνδεση PD-1 με PD-L1 δίνοντας την ικανότητα στα Τ κύτταρα να επιτεθούν στα καρκινικά κύτταρα (Saya L. Jacob, Laura A. Huppert, & and Hope S. Rugo, 2023). Έτσι ο σχεδιασμός μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των PD-1 και PD-L1 αποτελεί σημαντικό εργαλείο για την απελευθέρωση της ανασταλτικής ρύθμισης της ενεργοποίησης των Τ κυττάρων από τα καρκινικά κύτταρα (Luo, et al., 2022). Μελέτες έδειξαν υψηλότερη έκφραση PD-L1 σε δείγματα TNBC έναντι μη TNBC (Tan, Chan, Kamis, & Dent, 2018).

Το **pembrolizumab** αποτελεί ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα IgG4 που στοχεύει τη πρωτεΐνη του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1(PD-1) ιδανικό για τη θεραπεία σε ασθενείς με προχωρημένο τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού. Το μονοκλωνικό αυτό αντίσωμα προσδένεται με τον PD-1 εμποδίζοντας την ένωση του με το συνδέτη καθώς και την αναστολή απενεργοποίησης και καταστολής των ανοσοκυττάρων (Henriques, Mendes, & Martins, 2021). Τον Ιούλιο του 2022 εγκρίθηκε από τον FDA το pembrolizumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία καθώς έδειξε σημαντικό όφελος σε ασθενείς με

μεταστατικό TNBC ανεξάρτητα από τη κατάσταση PD-L1 ως νεοεπικουρική και στη συνέχεια ως επικουρική θεραπεία (Saya L. Jacob, Laura A. Huppert, & and Hope S. Rugo, 2023).

Το **atezolizumab** αποτελεί ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα IgG1 που στοχεύει το συνδέτη της πρωτεΐνης του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, PD-L1. Όταν προσδεθεί στο PD-L1, εμποδίζει τη σύνδεση του με το PD-1 ενεργοποιώντας τα T κύτταρα να δράσουν (Tomoharu Sugie, 2018). Εγκρίθηκε το 2019 από τον FDA για τη θεραπεία ανεγχείρητου τοπικά προχωρημένου ή μεταστατικού TNBC όγκου που εκφράζει PD-L1 σε συνδυασμό με nab-paxitaxel (Kwarisz & Dorota, 2020). Το atezolizumab μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στους πνεύμονες, καθώς και ηπατικά προβλήματα. Οι κύριες παρενέργειες περιλαμβάνουν διάρροια, αίμα ή βλέννα στα κόπρανα και έντονο πόνο στο στομάχι (Breastcancer.org, 2023).



*Εικόνα 23 Μηχανισμός δράσης αναστολέων ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου των pembrolizumab και atezolizumab. Στο αριστερό σχήμα απεικονίζεται η σύνδεση της πρωτεΐνης PD-1 με το συνδέτη της PD-L1 εμποδίζοντας τα T κύτταρα να ασκήσουν κυτταροτοξική δράση. Στο δεξί σχήμα παρουσιάζεται ο μηχανισμός δράσης των δύο αναστολέων ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου. Το pembrolizumab στοχεύει τη PD-1 ενώ το atezolizumab στοχεύει το συνδέτη. Και οι δύο αυτοί μηχανισμοί επάγουν την ενεργοποίηση των T κυττάρων με αποτέλεσμα τη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων. Ανακτήθηκε από : <https://doi.org/10.3390/ijms23042288>, 2022*

Η **κυτταροτοξική πρωτεΐνη 4 που σχετίζεται με τα T λεμφοκύτταρα (CTLA-4)** εντοπίζεται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων T κυττάρων και ο ρόλος της είναι να αναστέλλει την ενεργοποίηση των T κυττάρων μέσω του ανταγωνισμού με το CD28 για τους συνδέτες CD80 και CD86 που εκφράζονται σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Η αυξημένη έκφραση του CTLA-4 στα καρκινικά κύτταρα του μαστού επιτρέπει στον όγκο να καταστείλει την ωρίμανση και τη λειτουργία του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου με αποτέλεσμα τη μειωμένη ανοσολογική απόκριση των T κυττάρων. Το tremelimumab και το ipilimumab αποτελούν δύο μονοκλωνικά αντισώματα IgG2 και IgG1 αντίστοιχα που στοχεύουν τη πρωτεΐνη CTLA-4 και βρίσκονται υπό κλινικές

μελέτες για τη χρήση τους στη θεραπεία καρκίνου μαστού (Emens & Hopkins, 2018). Τα δύο αυτά anti-CTLA-4 μονοκλωνικά αντισώματα μπλοκάρουν την αλληλεπίδραση CTLA-4 με το CD80/CD86 ενεργοποιώντας τα T κύτταρα να εφαρμόσουν ανοσολογική απόκριση (Beatriz Henriques, Immunotherapy in Breast Cancer : When, How, and What Challenges?, 2021).

### 5.7.2 Θεραπεία με χιμαιρικό αντιγονικό υποδοχέα T-κυττάρων(CAR-T)

Τα T κύτταρα αποτελούν βασικά συστατικά της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσίας. Η χρήση χιμαιρικού αντιγονικού υποδοχέα-T κυττάρων (CAR-T), αποτελεί έναν τύπο ανοσοθεραπείας όπου τα T κύτταρα του ασθενούς απομονώνονται από το περιφερικό αίμα και τροποποιούνται περαιτέρω *ex vivo* με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν συνθετικούς υποδοχείς που αναγνωρίζουν αντιγόνα που σχετίζονται με διάφορους όγκους. Στη συνέχεια, τα κατασκευασμένα T κύτταρα εγχέονται πίσω στο σώμα ώστε να είναι πλέον ειδικά για τον όγκο και ικανά να καταστρέψουν τα καρκινικά κύτταρα. Τα T κύτταρα CAR κατασκευάζονται με τέτοιο τρόπο ώστε να αναγνωρίζουν μόνο τα αντιγόνα που βρίσκονται στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων μέσω της ειδικής θέσης δέσμευσης αντιγόνου που έχει συντηχθεί σε αυτά. Μία μεγάλη πρόκληση αποτελεί η θεραπεία με CAR-T στο καρκίνο του μαστού, καθώς ακόμα εκκρεμεί να βελτιωθεί η διήθηση των CAR-T στους όγκους. Αυτό μπορεί να κατορθωθεί με τη χρήση ισχυρής διέγερσης των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων που παράγουν χημειοτακτικές κυτοκίνες σε συνδυασμό με τη χορήγηση CAR-T (Yara, et al., 2022).

Σήμερα, υπάρχουν πολλά αντιγόνα-στόχοι που μελετώνται στο καρκίνο του μαστού. Μερικά από αυτά αποτελούν το HER2, το CEA, τη μεσοθηλίνη κ.α. (Tan, Chan, Kamis, & Dent, 2018). Τα κατασκευάσματα HER2-CAR αποσπούν τη μεγαλύτερη προσοχή με στόχο την επίτευξη ισχυρών υποχωρήσεων όγκων. Το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) είναι ένας γνωστός καρκινικός δείκτης του καρκίνου του μαστού και αποτελεί κακό προγνωστικό παράγοντα. Σε δοκιμή φάσης I εξετάζεται η ασφάλεια και η βέλτιστη δοσολογία των αντι-CEA T κυττάρων για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου του μαστού. Η μεσοθηλίνη (MSLN) αποτελεί μία πρωτεΐνη που εντοπίζεται στη κυτταρική επιφάνεια των μεσοθηλιακών κυττάρων. Η υπερέκφραση του MSLN έχει παρατηρηθεί σε πολλούς συμπαγείς όγκους του καρκίνου του μαστού, και συγκεκριμένα σε πιο επιθετικούς και προχωρημένους τύπους. Η αυξημένη έκφραση του MSLN επάγει την ενεργοποίηση ενδοκυτταρικών οδών σηματοδότησης με αποτέλεσμα την ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου. Η δημιουργία κυττάρων CAR-T που στοχεύουν το MSLN σε καρκίνους του μαστού δίνουν μεγαλύτερη βάση στους TNBC. Κλινικές δοκιμές έδειξαν πως αυτή θεραπεία ανέστειλε την ανάπτυξη του όγκου και τη μετάσταση λόγω της ισχυρής κυτταροτοξικότητας των MSLN-CAR-T κυττάρων (Yang, Liu, Lu, & Wei, 2022).

Εκτός από αυτά τα αντιγόνα, το c-Met μία πρωτεϊνική κινάση τυροσίνη που εκφράζεται ανώμαλα στο καρκίνο του μαστού αποτελεί έναν ακόμα στόχο για τη θεραπεία των T CAR κυττάρων (Fuentes-Antrás, Guevara-Hoyer, Baliu-Piqué, García-Sáenz, & Pérez-Segura, 2020). Επιπλέον η βλεννίνη 1 (MUC1) αποτελεί μία ετεροδιμερή πρωτεΐνη που εκφράζεται στο 90% των τριπλά αρνητικών όγκων μαστού. Έχει αποδειχθεί σε κλινικές μελέτες πως τα κύτταρα CAR-T ειδικά για τους όγκους που εκφράζουν MUC1 παρουσιάζουν ισχυρή αντικαρκινική κυτταροτοξικότητα (Yara, et al., 2022).

Οι συμπαγείς όγκοι του μαστού παρουσιάζουν αρκετά εμπόδια ικανά να εμποδίσουν τις δραστηριότητες των κυττάρων CAR-T, όπως η ετερογένεια του όγκου, το μικροπεριβάλλον του όγκου, η μη ικανοποιητική μετακίνηση και διήθηση καθώς και η τοξικότητα. Τα τελευταία χρόνια πολλαπλές προσπάθειες έχουν πραγματοποιηθεί για την εύρεση μοναδικών αντιγόνων που εκφράζονται σε κύτταρα συμπαγών όγκων. Πολλά είναι τα αντιγόνα που παρουσιάζουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε προκλινικές μελέτες (Yang, Liu, Lu, & Wei, 2022).

### 5.7.3 Θεραπεία με λεμφοκύτταρα διείσδυσης όγκου (TIL)

Τα διηθητικά λεμφοκύτταρα όγκου αποτελούν μονοπύρηνια ανοσοκύτταρα που εντοπίζονται εσωτερικά και γύρω από τα καρκινικά κύτταρα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός αυτών το κυττάρων αποτελεί δείκτη ανοσογονικότητας όγκου καθώς και δείκτη συσχέτισης επιθετικότητας όπως υψηλός βαθμός, απουσία έκφρασης ορμονών καθώς και υψηλή έκφραση Ki-76 (Tan, Chan, Kamis, & Dent, 2018). Τα διηθητικά λεμφοκύτταρα περιλαμβάνουν ένα σύνολο φυσικών Τ κυττάρων που μπορούν να στοχεύουν αντιγόνα. Έχει παρατηρηθεί πως τα αυξημένα στρωματικά TILs σχετίζονται με μία καλύτερη πρόγνωση στο TNBC. Για να υπάρξει καλύτερη αναγνώριση του όγκου και μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα θανάτωσης, η θεραπεία με TIL έχει μελετηθεί επιλέγοντας TIL που στοχεύουν αντιγόνα όγκου. Έτσι η μεταφορά αυτόλογων TIL που δρουν ενάντια πολλαπλών αντιγόνων όγκου με περιορισμένο MHC μπορεί να αποτελεί μία ασφαλή επιλογή για ασθενείς με προχωρημένο TNBC (Fuentes-Antrás, Guevara-Hoyer, Baliu-Piqué, García-Sáenz, & Pérez-Segura, 2020).

### 5.7.4 Κυτοκίνες

Αποτελούν μη ειδικά φάρμακα ανοσοθεραπείας καθώς δεν δρουν ενάντια σε έναν συγκεκριμένο στόχο αλλά δυναμώνουν το ανοσοποιητικό σύστημα με έναν πιο γενικευμένο τρόπο με αποτέλεσμα μία καλύτερη ανοσολογική απόκριση στο καρκίνο. Η κυτοκίνες είναι πρωτεΐνες που προέρχονται από ορισμένα κύτταρα του ανοσοποιητικού και βοηθούν στον έλεγχο ανάπτυξης άλλων κυττάρων του ανοσοποιητικού. Η δράση των κυτοκινών θεωρείται βοηθητική όταν χορηγούνται ταυτόχρονα με χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία. Οι ιντερλευκίνες και οι ιντερφερόνες είναι δύο κυτοκίνες που μελετώνται για τη θεραπεία του καρκίνου καθώς υποβοηθούν τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος να αναπτυχθούν πιο γρήγορα. Μία τεχνητή έκδοση της IL-2, Proleukin έχει εγκριθεί από τον FDA για τη θεραπεία μεταστατικού καρκίνου νεφρού και δέρματος. Μέχρι σήμερα καμία κυτοκίνη δεν έχει εγκριθεί από τον FDA για τη θεραπεία καρκίνου μαστού (Breastcancer.org, 2023).

### 5.7.5 Εμβόλια

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί το τρίτο πιο μελετημένο όγκο για την ανάπτυξη εμβολίων. Τα εμβόλια κατά του καρκίνου αναπτύσσονται με βάση την ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να ξεχωρίζει τα αυτό-αντιγόνα που εκφράζονται φυσιολογικά στην επιφάνεια των υγιών κυττάρων από τα αντιγόνα που εκφράζονται ανώμαλα στα καρκινικά κύτταρα (Corti, Giachetti, Eggermont, Delalogue, & Curigliano, Therapeutic vaccines for breast cancer, 2022). Τα εμβόλια για το καρκίνο του μαστού χωρίζονται σε διαφορετικούς τύπους με βάση τις πλατφόρμες και τα σκευάσματα. Κοινός στόχος είναι να γίνει αναγνωρίσιμο το στοχευμένο αντιγόνο από το ανοσοποιητικό σύστημα. Σήμερα η πιο κοινή ιδέα εμβολιασμού είναι η χρήση πεπτιδίων που προέρχονται από αντιγόνα όγκου. Μία ακόμη προσέγγιση αποτελεί ο εμβολιασμός πρωτεϊνών και υδατανθράκων που σχετίζονται με το αντιγόνο όγκου. Το εμβόλιο με τα καρκινικά κύτταρα αποτελεί μία κλασική μέθοδος ενώ τα εμβόλια με βάση το DNA και τα εμβόλια που είναι βασισμένα στα δενδριτικά κύτταρα αντιπροσωπεύουν νέες μεθόδους σε αυτόν το τομέα. Κανένα εμβόλιο μέχρι σήμερα δεν έχει εγκριθεί από τον FDA, καθώς η αποτελεσματικότητά τους αφορά μόνο ασθενείς με ήπια νόσο και όχι με μεταστατική (Tan, Chan, Kamis, & Dent, 2018).

Τα **πεπτιδικά εμβόλια** αφορούν την εισαγωγή συγκεκριμένων αντιγόνων όγκου που δεν εντοπίζονται στο φυσιολογικό ιστό. Με αυτό το τρόπο διεγείρεται το ανοσοποιητικό σύστημα, αναγνωρίζει και στοχεύει αυτά τα συγκεκριμένα αντιγόνα στα καρκινικά κύτταρα (Lau, Tan, & Shi, 2022). Ένας από τους πιο κοινούς μηχανισμούς είναι η παροχή περιορισμένων πεπτιδικών επιτόπων MHC I που επάγουν την ενεργοποίηση ανοσοαποκρίσεων έναντι του συγκεκριμένου αντιγόνου όγκου. Το πεπτίδιο το οποίο θα εγχυθεί στον ασθενή θα επεξεργαστεί και θα παρουσιαστεί από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα σε ανοσοτελεστικά κύτταρα που τελικά θα αναζητήσουν και θα σκοτώσουν τα κύτταρα που εκφράζουν το κοινό αντιγόνο. Το πεπτιδικό εμβόλιο E75(Neliperimut-S) αποτελεί ένα από το πιο μελετημένα εμβόλια για τον καρκίνο του μαστού κατά του HER2. Τα συστατικά αυτού του εμβολίου περιλαμβάνουν HLA-A2/A3, MHC τάξης I, εξωκυτταρικό πεπτίδιο E75 προερχόμενο από HER2 και ένα ανοσοενισχυτικό GM-CSF (Yu, 2022). Σε δοκιμή φάσης II, το E75 αποδείχθηκε πως με την πάροδο του χρόνου μειώνεται η ανοσία του. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός πως η αντικαρκινική ανοσία δεν μπορεί να παραμείνει αποτελεσματική για πολλά χρόνια εξαιτίας της ανοσολογικής ανοχής που αναπτύσσεται σε συγκεκριμένα αντιγόνα όγκου και εξαιτίας του ανοσοκατασταλτικού μικροπεριβάλλοντος. Για να κατορθωθεί λοιπόν να αναπτυχθούν εμβόλια πλήρως αποτελεσματικά θα πρέπει να μελετηθεί εκτενώς η βέλτιστη δόση, το πρόγραμμα ανοσοποίησης, οι οδοί χορήγησης και οι επιλογές ανοσολογικών ενισχυτών (Chiara Corti, 2022).

Τα **εμβόλια που βασίζονται σε πρωτεΐνες** περιέχουν ολόκληρο ή ένα μικρότερο θραύσμα πρωτεΐνης αντιγόνου όγκου με μεγαλύτερη αλληλουχία αμινοξέων από τα πεπτίδια. Τα εμβόλια αυτά επιτρέπουν τη πρόσληψη, την επεξεργασία και τη παρουσίαση πολλαπλών επιτόπων πεπτιδίων MHC τάξης I και II (Yu, Zhu, & Ke-Da, 2022).

Τα αντιγόνα υδατανθράκων αποτελούν ακόμα μία προσέγγιση ανάπτυξης εμβολίου, τα **εμβόλια υδατανθρακικού αντιγόνου**. Τα αντιγόνα αυτά εκφράζονται ανώμαλα σε καρκινικά κύτταρα και εντοπίζονται εύκολα από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Ο Sialy-Tn(Stn), είναι ένας δισακχαρίτης που σχετίζεται με το MUC-1 και εκφράζεται στη κυτταρική επιφάνεια διαφόρων καρκινικών κυττάρων συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Η ανοσοποίηση με



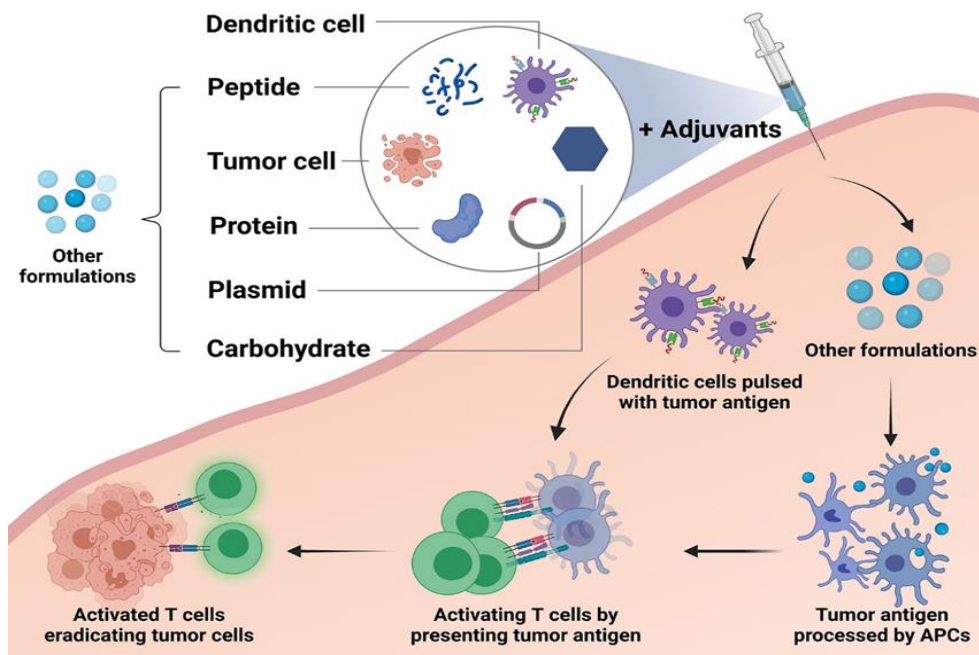
STη έδειξε σε μελέτες υποχώρηση όγκου και παρατεταμένη επιβίωση (Corti, Giachetti, Eggermont, Delalogue, & Curigliano, 2022).

Τα **εμβόλια καρκινικών κυττάρων** αποτελούν από τις πρώτες κλινικές μελέτες εμβολίου για τη θεραπεία καρκίνου μαστού. Η έγχυση ολόκληρων καρκινικών κυττάρων ή προϊόντων λύσης καρκινικών όγκων ενισχύουν αρκετά την ανοσολογική απάντηση. Τα εμβόλια αυτά στηρίζονται στη μεγάλη ποικιλία άγνωστων αντιγόνων που προέρχονται από ενδογενή ή αλλογενή καρκινικά κύτταρα με αποτέλεσμα την ενίσχυση παρουσίας αντιγόνου. Το μειονέκτημα αυτών των εμβολίων είναι πως ορισμένα ενδογενή κυτταρικά αντιγόνα μπορούν να προκαλέσουν αυτοάνοση αντίδραση.

Τα **εμβόλια με βάση το DNA** χρησιμοποιούν αλληλουχίες DNA που κωδικοποιούν αντιγόνα όγκου και όχι το ίδιο το αντιγόνο που θα προκαλούσε ανοσολογική απάντηση. Οι αλληλουχίες αυτές είναι ανασυνδυασμένες συνήθως σε φορέα πλασμιδίου, ιού ή κυττάρων ζυμομύκητα. Οι αλληλουχίες στη συνέχεια θα ενσωματωθούν στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και θα μεταφραστούν στα αντιγόνα όγκου, τα οποία θα υποβληθούν σε επεξεργασία με αποτέλεσμα τη διέγερση ειδικών για τα αντιγόνα ανοσολογικών αποκρίσεων. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει χαμηλή ανοσογονικότητα καθώς η πρόσληψη πλασμιδίου και η έκφραση αντιγόνων δεν πραγματοποιείται με πλήρη αποτελεσματικότητα (Yara, et al., 2022).

Τα **εμβόλια δενδριτικών κυττάρων** χρησιμοποιούν ex vivo παραγωγή δενδριτικών κυττάρων συνδεδεμένα με αντιγόνα όγκου. Τα δενδριτικά κύτταρα είναι ικανά να ευαισθητοποιήσουν τα CD8+ και CD4+ T κύτταρα δημιουργώντας T κύτταρα μνήμης και συμβάλλοντας στη κυτταροτοξικότητα κατά των όγκων. Στη μέθοδο αυτή τα δενδριτικά κύτταρα αναπτύσσονται ex vivo ενάντια καρκινικών κυττάρων. Τα τροποποιημένα αυτά δενδριτικά κύτταρα εγχέονται στον ασθενή και ξεκινάνε να ακούν τη λειτουργικότητα τους, δηλαδή να επάγουν μία ισχυρή ανοσολογική απάντηση ενεργοποιώντας τα B και T κύτταρα (Fuentes-Antrás, Guevara-Hoyer, Baliu-Piqué, García-Sáenz, & Pérez-Segura, 2020).

Υπάρχουν ορισμένα εμβόλια που φάνηκαν ικανά να προκαλέσουν ανιχνεύσιμες ανοσολογικές αποκρίσεις, και να δείξουν καλή ανοχή. Παρόλα αυτά κανένα δεν παρουσίασε σημαντικά κλινικά οφέλη



**Εικόνα 24** Τύποι εμβολίων κατά του καρκίνου του μαστού και μηχανισμοί δράσης τους. Στα εμβόλια των δενδριτικών κυττάρων πραγματοποιείται δημιουργία δενδριτικών κυττάρων συνδεδεμένα με αντιγόνα όγκου ή επιμολυνθέντα για να εκφράσουν αντιγόνα όγκου. Τα τροποποιημένα δενδριτικά κύτταρα αφού εισέλθουν στον οργανισμό επεξεργάζονται τα αντιγόνα και τα παρουσιάζουν στα T κύτταρα ώστε να ενεργοποιηθούν και να επάγουν ανοσολογική απόκριση. Στα υπόλοιπα είδη εμβολίων τα πεπτίδια, οι πρωτεΐνες, το πλασμίδιο, οι υδατάνθρακες και τα κύτταρα όγκου διεγείρουν τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα του οργανισμού και αυτά στη συνέχεια ενεργοποιούν τα T κύτταρα.

Ανακτήθηκε από : <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.828386> , 2022

### 5.7.6 Ογκολυτικοί Ιοί

Οι **ογκολυτικοί ιοί** είναι εγγενείς ή γενετικά τροποποιημένοι ιοί που προσβάλλουν και αναπαράγονται μέσα στα καρκινικά κύτταρα με αποτέλεσμα τη λύση των κυττάρων. Οι ογκολυτικοί ιοί μπορούν να εκφράζουν ανοσοκυτοκίνες με στόχο να ενισχύσουν τις ανοσολογικές αποκρίσεις και να επάγουν τη καλύτερη διήθηση των ανοσοκυττάρων. Όταν τα καρκινικά κύτταρα καταστρέφονται με ογκόλυση, τότε απελευθερώνουν μολυσματικά μόρια του ιού με σκοπό να καταστρέψουν και τα υπόλοιπα καρκινικά κύτταρα. Οι ογκολυτικοί ιοί μπορούν να δράσουν με διαφορετικούς μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν την ογκόλυση, την αγγειακή κατάρρευση, την αντικαρκινική ανοσία και την έκφραση θεραπευτικών διαγονιδίων. Η αποτελεσματικότητα των ογκολυτικών ιών έχει αποδειχθεί σε διάφορες μελέτες για τη θεραπεία καρκίνου μαστού (Falato, et al., 2022). Το talimogene laherparevec (T-VEC) αποτελεί έναν γενετικά τροποποιημένο ιό απλού έρπητα τύπου 1 (HSV-1) ο οποίος πολλαπλασιάζεται σε κύτταρα όγκου. Μελέτες έδειξαν πως η προσθήκη T-VEC στη τυπική χημειοθεραπεία αποφέρει πολλά υποσχόμενη αποτελεσματικότητα (Yara, et al., 2022). Επομένως οι ογκολυτικοί ιοί ως κατηγορία

θεραπευτικών παραγόντων, έχουν τη δυνατότητα να αναπαράγονται επιλεκτικά, να εκφράζουν άλλες θεραπευτικές πρωτεΐνες τοπικά ώστε να ενισχύσουν την αντικαρκινική τους αποτελεσματικότητα καθώς και να ρυθμίζουν το μικροπεριβάλλον του όγκου. Μπορούν να προκαλέσουν τόσο την έμφυτη όσο και τη προσαρμοστική ανοσία στοχεύοντας τον όγκο τοπικά αλλά δρώντας και συστηματικά για να εξαφανίσουν το πρωτοπαθή όγκο αλλά και τις μικρομεταστάσεις (Zhu, et al., 2022).

## 6. Συμπεράσματα

Τα θεραπευτικά μονοκλωνικά αντισώματα έχουν αναδειχθεί ως μια από τις ταχύτερα αναπτυσσόμενες κατηγορίες φαρμάκων μέχρι σήμερα. Η αγορά φαίνεται να αναπτύσσεται τα επόμενα χρόνια λόγω μίας μεγάλης ποικιλίας που βρίσκεται προς το παρόν υπό κλινικές μελέτες. Η υψηλή ειδικότητα τους, η χαμηλή τοξικότητα και η ανοσοτροποποιητική τους δραστηριότητα ανοίγουν το δρόμο για νέα μόρια βιοτεχνολογίας όπως πρωτεΐνες σύντηξης Fc, διειδικά mAbs καθώς και ADC. Η βελτιστοποίηση της δομής τους θα δώσει την ευκαιρία για την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας, τη βελτιστοποίηση των φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων καθώς και την ελαχιστοποίηση των παρενεργειών. Επιπλέον χρήσιμη φαίνεται να είναι η μελέτη των φαρμακολογικών ιδιοτήτων των θεραπευτικών mAb ώστε να μεγιστοποιηθεί το θεραπευτικό όφελος καθώς και η ασφάλεια των φαρμάκων αυτών. Μέχρι σήμερα οι στοχευμένες θεραπείες δεν μπορούν να αντικαταστήσουν ολοκληρωτικά τις παραδοσιακές θεραπείες αλλά μπορούν να εφαρμοστούν σε συνδυασμό με αυτές προσδίδοντας ένα ενισχυμένο θεραπευτικό αποτέλεσμα χωρίς να αυξήσουν την ένταση των παρενεργειών αλλά προσθέτοντας μερικές φορές καινούριες. Η ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών που βασίζονται σε μονοκλωνικά αντισώματα για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού παρουσιάζει μεγάλες προοπτικές εφόσον οι βασικές μοριακές οδοί για την ανάπτυξη και την επιβίωση του όγκου γίνονται ολοένα και πιο κατανοητές. Επιπλέον νέες μέθοδοι όπως μεταλλάξεις στο σημείο Fc του αντισώματος δίνουν την ευκαιρία για αύξηση της δυνατότητας θανάτωσης καρκινικών κυττάρων ενισχύοντας τα θεραπευτικά οφέλη του ADC ή του CDC. Η ανακάλυψη νέων βιοδεικτών θα ενισχύσει την αποτελεσματικότητα και την ειδικότητα των θεραπειών. Παράλληλα η δημιουργία νέων συζευγμάτων αντισώματος-φαρμάκων, συζευγμάτων αντισώματος-ραδιοουκλειδίων, και διειδικών αντισωμάτων θα προσφέρει μία αποτελεσματικότερη και πιο στοχευμένη θεραπεία για το καρκίνο του μαστού. Συγκεκριμένα η θεραπεία με τα ADC βρίσκεται υπό ανάπτυξη και μελέτες, στοχεύοντας διαφορετικούς δείκτες που εκφράζονται σε HER2+ και TNBC καρκίνους μαστού. Οι υπότυποι του καρκίνου του μαστού, και ιδιαίτερα ο TNBC, αποτελούν μία σημαντική πρόκληση. Μελέτες θα πρέπει να εστιάσουν στην ανακάλυψη νέων στόχων καθώς και στους μηχανισμούς αντίστασης στις στοχευμένες θεραπείες. Η δράση διαφορετικών μορίων χρησιμεύει για τη στόχευση διαφορετικών επιπέδων οδών σηματοδότησης εμποδίζοντας τις οδούς διαφυγής των καρκινικών κυττάρων. Το μοριακό προφίλ ειδικά για τις μεταστατικές υποτροπές θα πρέπει να αποσαφηνιστεί για τη βελτίωση της επιβίωσης. Στην ανοσοθεραπεία, οι αναστολείς σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού έχουν αποδείξει σπουδαία αποτελέσματα σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία στη θεραπεία του πρώιμου ή του μεταστατικού TNBC καρκίνου μαστού. Όμως διάφορα προβλήματα όπως η διάρκεια της θεραπείας, ή η επιλογή κατάλληλου στόχου καθιστούν αυτή τη θεραπευτική προσέγγιση ένα κομμάτι που χρήζει μεγαλύτερη μελέτη. Τέλος η στόχευση νέων σημείων ελέγχου στην ανοσοθεραπεία θα μπορούσε να φέρει μία νέα γενιά μονοκλωνικών αντισωμάτων περισσότερο δραστικά και αποτελεσματικά.

## Αναφορές

- “Breast Cancer Treatment (Adult) (PDQ®)–Patient Version. (2022). Ανάκτηση από National Cancer Institute
- A Mahmuda, B. N. (2017). Monoclonal antibodies in immunodiagnostic assays : a review of recent applications. *Socoto Journal of Veterinary Sciences* .
- Abul K. Abbas, A. H. (2018). ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ, 5η Αγγλική- 2η Ελληνική Έκδοση. Στο *ΒΑΣΙΚΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ*.
- Aditya Bardia, M. S. (2021, April 22). Sacituzumab Govitecan in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer .
- Aiko Nagayama, N. V. (2020). Novel antibody-drug conjugates for triple negative breast cancer.
- Alasmari, M. M. (2022). A review of Margetuximab- Based in Patients with HER2-Positive Metastatic Breast cancer .
- Albert B, J. A. (2002). Adaptive Immune system. Στο *Molecular Biology of the cell - 4th edition*.
- Alessandro Pedrioli, A. O. (2021). Single B cell technologies for monoclonal antibody discovery.
- Aliyu Mahmuda, F. B.-Z. (2017, March). Monoclonal antibodies: A review of therapeutic. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*.
- Amaia Eleonora Maennling, M. K. (2019). Molecular Targeting Therapy against EGFR Family in Breast Cancer: Progress and Future Potentials.
- American Cancer society. (2019, September 18). Ανάκτηση 2023, από <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/treatment/treatment-of-breast-cancer-by-stage.html>
- Anaya JM, S. Y.-V. (2013). *Autoimmunity: From Bench to Bedside*.
- Andre Frenzel, T. S. (2016). Phage display-derived human antibodies in clinical development and therapy.
- Andrew M Collins, C. T. (2022). Immunoglobulin genes, reproductive isolation and vertebrate speciation. *onlinelibrary.wiley*.
- Anna Burguin, C. D. (2021). Breast Cancer Treatment : Updates and New Challenges .
- Anne M. Gilroy, B. R. (2009). *Βασική Περιγραφική Ανατομική IV*.
- Ayuob Aghanejad, S. F. (2022, May 15). A review on targeting tumor microenvironment : The main paradigm shift in the mab-based immunotherapy of solid tumors. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Bayer, V. (2019). An Overview of Monoclonal Antibodies. Στο *Seminars in Oncology Nursing*.
- Beatriz Henriques, F. M. (2021, November 14). Immunotherapy in Breast Cancer : When, How, and What Challenges?

- Beatriz Henriques, F. M. (2021). Immunotherapy in Breast cancer: When, How and What Challenges?
- Board, C. E. (2021). *Cancer.Net*. Ανάκτηση από <https://www.cancer.net/cancer-types/breast-cancer/stages>
- BREASTCANCER.ORG. (2023). Ανάκτηση από <https://www.breastcancer.org/risk/risk-factors/low-vitamin-d-levels>
- BREASTCANCER.ORG. (2023 ). Ανάκτηση από <https://www.breastcancer.org/risk/risk-factors>
- Britta Weigelt, F. C.-F. (2010). Histological types of breast cancer : How special are they? *Molecular oncology*.
- Bruce Alberts, A. J. (2018 ). *ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ* (6η ΑΜΕΡΙΚΑΝΙΚΗ ΕΚΔΟΣΗ- 1η ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΚΔΟΣΗ εκδ.).
- Can Chen, R. W. (2022). Targeting CD47 as a Novel Immunotherapy for Breast Cancer.
- Carol DeSantis, M., Rebecca Siegel, M., & Ahmedin Jemal, D. P. (2017-2018). Breast cancer, facts and figures 2017-2018. *Breast Cancer society*.
- Casey Shuptrine, R. S. (2012). Monoclonal Antibodies for the treatment of cancer.
- Cathy, O. (2017). *Weapons of Math Destruction: How Big Data Increases Inequality and Threatens Democracy*. Chicago: Crown Random House.
- Chao Liu, D. C.-Z. (2021). Cytokines: From Clinical Significance to Quantification.
- Chaplin, D. D. (2010). Overview of the Immune Response.
- Chenyi Luo, P. W. (2022). Progress and Prospect of Immunotherapy for Triple-Negative Breast Cancer.
- Chiara Corti, P. P. (2022). Therapeutic vaccines for breast cancer : Has the time finally come?
- Chiara Corti, P. P. (2022). Therapeutic vaccines for breast cancer: Has the time finally come? *European Journal of Cancer*.
- Christy W. Tong, M. W. (2018, June 14). Recent Advances in the Treatment of Breast Cancer .
- Coughlin, S. S. (2019, August 28). Epidemiology Of Breast Cancer in Women . *Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance* .
- Cserni, G. (2020, March 1). Histological type and typing of breast carcinomas and the WHO classification changes over time. *PATHOLOGICA, JOURNAL OF ITALIAN SOCIETY OF ANATOMIC PATHOLOGY AND DIAGNOSTIC CYTOPATHOLOGY*.
- Czerniecki, R. L. (2020). Clinical development of immunotherapies for HER2+ breast cancer: a review of HER2-directed monoclonal antibodies and beyond.
- Daniel Liu, M. (2022). *Cancer Treatment Centers of America*. Ανάκτηση από <https://www.cancercenter.com/cancer-types/breast-cancer/types#Q1>
- Daniela A. Quinteros, J. M. (2017, March 31). Therapeutic use of monoclonal antibodies : general aspects and challenges for drug delivery. *Nanostructures for Drug Delivery*.

- David Male, J. B. (2018). Αντισώματα. Στο *ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ 5Η ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΚΔΟΣΗ*.
- Debora de Melo Gagliato, 1. D. (2016). Mechanisms of resistance and sensitivity to anti-HER2 therapies in HER2+ breast cancer.
- DePolo, J. (2022). *BREASTCANCER.ORG*. Ανάκτηση από <https://www.breastcancer.org/types>
- DePolo, J. (2023). *BREASTCANCER.ORG*. Ανάκτηση από <https://www.breastcancer.org/treatment/chemotherapy>
- Desh Deepak Singh, H.-J. L. (2022). Clinical updates on tyrosine kinase inhibitors in HER2-positive breast cancer.
- Dharambir Kashyap, 1. P. (2022). Global Increase in Breast Cancer Incidence : Risk Factors and Preventive Measures. *Multimodal Photoacoustic Technology in Biomedical Applications*.
- Donati, L. M. (2021, July). Epidemiology of breast cancer, a paradigm of the "common soil" hypothesis. *Seminars in Cancer Biology* .
- Douglas W. Arthur, M., Kathryn A. Winter, M., Henry M. Kuerer, M. P., & al, e. (2019, November 21). Effectiveness of Breast-Conserving Surgery and 3-Dimensional Conformal Partial Breast Reirradiation for Recurrence of Breast Cancer in the Ipsilateral Breast. *Jama Oncology*.
- Dr Jacqueline Parkin, ,. P. (2001, june 2). An overview of the immune system. *Immunology*.
- editors, B. (2022). ANTIBODY. *Encyclopedia Britannica*.
- Erasmio Orrantia-Borunda, P. A.-N.-A.-V.-V. (2022). Subtypes of Breast Cancer. *NCBI*.
- Essia Mezni, C. V. (2020). New Therapeutics in HER2-Positive Advanced Breast Cancer: Towards a Change in Clinical Practices?
- Fanny Le Du, V. D. (2021). The role of tyrosine kinase inhibitors in the treatment of HER2+ metastatic breast cancer.
- Feldweg, A. M. (2022). The adaptive humoral immune response. *Medimedia*.
- Francisco A. Bonilla Md, P. ,. (2010). Adaptive Immunity, Chapter 3 . Στο *Journal of Allergy and Clinical Immunology* (σσ. 33-40).
- Gair, C. M. (2015). *Concepts of Biology - 1st Canadian Edition*.
- Gathani, L. W. (2021, December 14). Understanding breast cancer as a global health concern.
- Georg Gasteiger, A. D. (2017). Cellular Innate Immunity: An Old Game. *Journal of Innate Immunity*
- Gerard J.Tortora, B. R. (2017). *ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ*. BROKEN HILL PUBLISHERS LTD.
- Giacomo Barchiesi, M. R. (2021). Emerging Role of PARP Inhibitors in Metastatic Triple Negative Breast Cancer. Current Scenario and Future Perspectives.
- Gilles, V. M. (2017). Targeted therapies in breast cancer : New challenges to fight against resistance. *World Journal of clinical Oncology*.

- Giuseppe Pantaleo, B. C. (2022, June 22). Antibodies to combat viral infections : development strategies and progress. *Nature Reviews Drug Discovery* .
- Guanglun, M. M., Yang, H., & Yan, W. (2017, October). Building resilience of students with disabilities in China: The role of inclusive education teachers. *Teacher and Teaching Education*, σσ. 125-134.
- Harold Ellis, V. M. (2013, January). Anatomy and physiology of the breast . *Basic Science*.
- Harry w Schroeder, J. M. (2010). Structure and Function of Immunoglobins. *J Allergy Clin Immunol*.
- Hashem, M. A. (2020, August 28). Phage Display Derived Monoclonal Antibodies : From Bench to Bedside. *Sec Vaccines and Molecular Therapeutics*.
- Herrington, C. S. (2019). *MUIR'S ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ*.
- Houghton, S. C., & Hankinson, S. E. (2021). Cancer Progress and Priorities: Breast Cancer .
- Ian Mackay, M. a. (2007). The immune system First of two parts. *Advances in Immunology*.
- Janeway CA Jr, T. P. (2001). The Complement system and innate immunity. Στο *Immunobiology: The immune system in Health and Disease. 5th edition*.
- Janeway CA, T. P. (2001). Chapter 8 T cell-Mediated Immunity . Στο *Immunobiology : The Immune system in Health and Disease. 5th edition*.
- Jenni Sheng, M. (2023). *BREASTCANCER.ORG*. Ανάκτηση από <https://www.breastcancer.org/treatment/hormonal-therapy>
- Jesus Fuentes-Antras, e. (2020). Adoptive Cell Therapy in breast cancer: A current perspective of next-generation medicine.
- Jody D. Berry, R. G. (2011). Antibodies in infectious diseases : polyclonals, monoclonals and niche biotechnology. Στο *New Biotechnology* .
- Jose Perez, L. G. (2021, April 01). Trastuzumab deruxtecan in HER2-positive metastatic breast cancer and beyond.
- K.Chhillar, A. A. (2023, January 23). Monoclonal antibodies in breast cancer: a critical appraisal. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*.
- Kaunitz, J. D. (2018). The Development of Monoclonal Antibodies.
- Krejna Sharela, V. D.-d.-R. (2022, December 22). Systemic Therapy for HER2-Positive Metastatic Breast Cancer: Current and Future Trends.
- Kristie H. Lau, A. M. (2022, February 18). New and Emerging Targeted Therapies for Advanced Breast Cancer.
- Kuby. (2013). *Ανοσολογία 2η Ελληνική έκδοση*.
- Kwapisz, D. (2020). Pembrolizumab and atezolizumab in triple-negative breast cancer.
- Leisha A. Emens, J. H. (2018). Breast cancer Immunotherapy : Facts and Hopes.
- Linda S. Steelman, A. M. (2016). The therapeutic potential of mTOR inhibitors in breast cancer.

- Liu, J. K. (2014). The history of monoclonal antibody development - Progress, remaining challenges and future innovations.
- M. Saeed Sheikh, a. S. (2021). The emerging CDK4/6 inhibitor for breast cancer treatment.
- Mădălina Drăgănescu, C. C. (2017). Hormone Therapy in Breast Cancer. *Chirurgia, official journal of the Romanian Society of surgery*.
- Makki, J. (2015). Diversity of breast carcinoma : Histological Subtypes and Clinical Relevance . *Clin Med Insights Pathol*.
- Maria Sofia Casteli, P. M. (2019). The Pharmacology and therapeutic applications of monoclonal antibodies .
- Mariana Lopes dos Santos, W. Q. (2018). Advances and challenges in therapeutic monoclonal antibodies drug development.
- Mario Riera Romo, D. P.-M. (2016). Innate immunity in vertebrates : an overview.
- Mark L. Chiu, D. R. (2019, Dec 3). Antibody Structure and Function : The Basis for Engineering Therapeutics. *antibodies* .
- Martins, B. H. (2021, November 14). Immunotherapy in Breast Cancer : When, How and what Challenges?
- Mary Abdelmalak, R. S. (2022). The Renaissance of CDK Inhibitors in Breast Cancer Therapy: An Update on Clinical Trials and Therapy Resistance.
- Maximino Redondo, M. G.-A. (2019). Immunotherapy: A Challenge of Breast Cancer Treatment.
- Maximino Rodondo, M. G. (2019, November 20). immunotherapy : a challenge of breast cancer treatment.
- Meng Michelle Xu, Y. P.-X. (2016, February). The role of adaptive immunity in the efficacy of Targeted Cancer Therapies . *Trends in Immunology*.
- Michael Hubalek, C. B. (2012). Role of pertuzumab in the treatment of HER2-positive breast cancer. *Breast Cancer (Dove Med Press)*.
- Miguel Cejalvo, C. F. (2022). Oncolytic viruses : A new immunotherapeutic approach for breast cancer treatment?
- Mohamed A. Alfaleh, H. O. (2020, August 22). Phage Display Derives Monoclonal Antibodies : From Bench to Bedside. *Sec. Vaccines and Molecular Therapeutics*.
- Morrissey, J. (2018, August 2). *The New York Times*. Ανάκτηση από How to Write a Good College Application Essay: <https://www.nytimes.com/2018/08/02/education/learning/writing-college-application-essay.html?rref=collection%2Fsectioncollection%2Feducation&action=click&contentCollection=education&region=rank&module=package&version=highlights&contentPlacement=2&pgtype=s>
- Muhammad Akram, M. I. (2017, Oktober 2). Awareness and current Knowledge of breast cancer. *Biological Research* .



- Muhammad Naeem, M. H. (2019). Risk Factors, genetic mutations and prevention of breast cancer. *International Journal of Biosciences*.
- Murray, R. P. (2016). *ΙΑΤΡΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ*.
- Nadine tung, J. E. (2015). PARP inhibition in breast cancer: progress made and future hopes.
- NATIONAL BREAST CANCER FOUNDATION, INC . (2020). Ανάκτηση από <https://www.nationalbreastcancer.org/about-breast-cancer/>
- Pages, V. M. (2017). Targeted therapies in breast cancer : Nwe challenges to fight against resistance. *World journal of clinical oncology*.
- PANDYA, S. M. (2011, March). Breast Development and Anatomy. *Clinical Obstetrics and Gynecology* .
- Pandya, S. M. (2011, March). Breast Dvelopment and Anatomy. *Clinical Obstetrics and Gynecology*.
- Paylas Grover, P. N. (2021). Regulatory T cells : Regulation of identity and Function. *Frontier Immunology*.
- Perez, L. (2019). Acute phase protein response to viral infection and vaccination. Στο *Archives of Biochemistry and Biophysics*.
- Renan Gomes do Nascimento, K. M. (2020). Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? .
- Robert A Jesinger, M. M. (2014). Breast Anatomy for the Interventionalist . *Techniques in Vascular and Interventional Radiology*.
- Robert A. Jesinger, M. M. (2014). Breast Anatomy for the Interventionalist. *Techniques in Vascular and Interventional Radiology*.
- Robert.L Nussbaum, R. M. (2007). *GENETICS IN MEDICINE Thompson & Thompson*.
- Roitt, B. M. (2004). Αντισώματα. Στο *ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ ΕΚΤΗ ΕΚΔΟΣΗ* .
- Ruslan Medhitov, C. J. (2000). Innate Immunity. *The New England Journal Of Medicine*.
- Sahil Ahmad, S. G. (2014, March 27). Herceptin Resistance Database for understanding Mechanism of Resistance in Breast Cancer Patients.
- Salehiniya, Z. M. (2019). Epidimiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world .
- Saya L. Jacob, M., Laura A. Huppert, M., & and Hope S. Rugo, M. (2023). Role of Immunotherapy in Breast Cancer.
- Schunke Michael, S. E. (2008). *Βασική Περιγραφική Ανατομική Ι*.
- Sergey E Sedykh, V. V. (2018). Bispecific antibodies: design, therapy, perspectives.
- Shaveta Vinayak, M. M. (2013). mTOR Inhibitors in the Treatment of Breast Cancer.
- Shim, H. (2020, January 20). Bispecific Antibodies and Antibody-Drug Conjugates for Cancer Therpay : Technological Considerations .

- Simionescu, L. G. (2021). Soluble Factors and Receptors Involved in Skin Innate Immunity—What Do We Know So Far? *Biomedicines*.
- Sofia Maximiano, P. M. (2016, February 18). Trastuzumab in the Treatment of Breast Cancer.
- Steele, D. E. (2020, February 06). Breast Biomechanics : What do we really know? . *American physiological society* .
- T.Delozier. (2010). Hormonothérapie du cancer du sein Hormonal treatment in breast cancer. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*.
- Thao Doan, R. M. (2014). Δημιουργία της ανοσολογικής ποικιλομορφίας . Στο *Ανοσολογία*.
- Thao Doan, R. M. (2014). Η αναγκαιότητα της αναγνώρισης του εαυτού. Στο *ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ ΔΕΥΤΕΡΗ ΕΚΔΟΣΗ*.
- Tigabu Demlie, E. B. (2020, September 24). Monoclonal Antibody and its Diagnostic Application - Review .
- Tira J. Tan, J. J. (2018). What is the role of immunotherapy in breast cancer?
- Tomoharu Sugie, M. P. (2018). Immunotherapy for metastatic breast cancer. *CHINISE CLINICAL ONCOLOGY*.
- Tracy-Ann Moo, M. R. (2019). Overview of Breast Cancer Therapy.
- TRES, A. L.-L. (2013). *Ιστολογία με στοιχεία κυτταρικής Βιολογίας . Εισαγωγή στην Ιστοπαθολογία .*
- Tsang, J. Y., & Tse, G. M. (2020). Molecular classification of Breast Cancer. *Advances in Anatomic Pathology* .
- Tsang, J. Y., & Tse, G. M. (2020). Molecular Classification of breast Cancer . *Advances in Anatomic Pathology* .
- Tsutsumi, K. N. (2021). Phage Display Technology as a Powerful Platform for Antibody.
- Valeria Bruno, G. B. (2010). The advent of monoclonal antibodies in the treatment of chronic autoimmune diseases. *Neurological Sciences* .
- Vandana Abramson, C. L. (2011, March 01). New Strategies in HER-2 Overexpressing Breast Cancer : Many Combinations of targeted Drugs Available.
- Vasile, G. I. (2021). Tyrosine kinase inhibitors in breast cancer (Review). *Experimental and therapeutic medicine*.
- Walport M, J. C. (2001). Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition.
- Wang, P. W. (2017). Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways.
- Wanyi Tai, R. M. (2010). The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery.
- Weiner, D. Z. (2020, September 9). Monoclonal Antibodies in Cancer Therapy . *Antibodies (Basel)*.
- Weronika Jaroszewicz, j. M.-O. (2021). Phage display and other peptide display technologies . *FEMS Mikrobiology Reviews*.
- William F McCool PhD(CNM), M. S.-C. (1999). Breast health care : A review. *Journal of Nurse-Midwifery* .

- Yara Abdou, A. G. (2022). Immunotherapy in triple negative breast cancer : beyond checkpoint inhibitors .
- Yiling Gao, X. H. (2018). A brief review of monoclonal antibody technology and its representative applications in immunoassays.
- Yi-Sheng Sun<sup>1</sup>, Z. Z.-N.-J.-Y.-P.-P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer .
- Yu, S.-Y. Z.-D. (2022). Breast Cancer Vaccines: Disappointing or Promising?
- Yu-Huan Yang, 1. J.-W.-F. (2022). CAR-T cell Therapy for Breast Cancer : From Basic Research to clinical Application.
- Zhi Zhu, A. J. (2022). Improving cancer immunotherapy by rationally combining oncolytic virus with modulators targeting key signaling pathways.
- Αναγνωστοπούλου, Φ. Α. (2009). Ειδική ογκολογία τα κυριότερα κακοήθη νεοπλάσματα. Στο *Ιστολογία με Στοιχεία Ογκολογίας, Βασικές Γνώσεις* (σ. 188).
- Bursa Demir Cetinkaya, C. B. (2022, July 14). Molecular perspective on targeted therapy in breast cancer : a review of current status. *Medical Oncology*.
- Βοργιάς, Κ. Ε. (2020). *ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ*.
- Γούναρη, Μ. (2013). Παραγωγή και μελέτη μονοκλωνικών αντισωμάτων απο ασθενείς με Χρόνια Λευκοκυτταρική Λευχαιμία.
- ΙΑΤΡΑΚΗΣ, Γ. Μ. (2017). *ΒΙΒΛΙΟ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ. ΔΕΣΜΟΣ*.
- Kristie H. Lau, A. M. (2022, February 18). New and Emerging Targeted Therapies for Advanced Breast Cancer .
- Μπούρα, Π. (2019). *Ανοσολογία Βασικές αρχές και Κλινική προσέγγιση*. UNIVERSITY STUDIO PRESS.





