



**Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας  
Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών:  
«Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση»**

**Διπλωματική Εργασία:**

**«Βιοδείκτες φαρμακοδυναμικής παρακολούθησης της  
δράσης στοχευμένων αντικαρκινικών φαρμάκων»**

**Σαρίγκολη Νικολέτα**

**Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Κωνσταντίνου Αικατερίνη**

**Πάτρα, Φεβρουάριος 2025**

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του/της φοιτητή/φοιτήτριας («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



## **«Βιοδείκτες φαρμακοδυναμικής παρακολούθησης της δράσης στοχευμένων αντικαρκινικών φαρμάκων»**

Σαρίγκολη Νικολέτα

Χημικός, BSc

### **Επιτροπή Επίβλεψης Διπλωματικής Εργασίας:**

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Κωνσταντίνου Αικατερίνη

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής

Γεωργακίλας Αλέξανδρος

Συνεργαζόμενο Εκπαιδευτικό  
Προσωπικό

Καθηγητής Φυσικής - Σχολή  
Εφαρμοσμένων Μαθηματικών &  
Φυσικών Επιστημών

Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

**Πάτρα, Φεβρουάριος 2025**

*Στους γονείς μου,  
που μου έμαθαν να αγαπώ τη γνώση.*

## Ευχαριστίες

*Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, φτάνει στο τέλος του ένα σημαντικό ταξίδι γνώσης που μου προσέφερε το μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών «Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση».*

*Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, Αικατερίνη Κωνσταντίνου, για την πολύτιμη καθοδήγηση, τις χρήσιμες συμβουλές και για τη συνεχή ενθάρρυνσή της.*

*Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο «ευχαριστώ» στην οικογένεια μου για τις ευκαιρίες που μου έχει προσφέρει στον ακαδημαϊκό τομέα, και όχι μόνο, με τις δικιές της θυσίες.*

*Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Χ.Γ. για την αδιάκοπη υποστήριξή του και την πίστη του στις δυνατότητές μου σε κάθε βήμα αυτής της διαδρομής.*

## Περίληψη

Ο καρκίνος αποτελεί μια σύνθετη και πολυπαραγοντική νόσο, όπως καταδεικνύεται από το λειτουργικό και μοριακό του υπόβαθρο, επηρεάζοντας σημαντικό αριθμό ατόμων παγκοσμίως. Η επικρατούσα έως σήμερα θεραπευτική προσέγγιση, η χημειοθεραπεία, έχει αποδειχθεί αποτελεσματική σε πολλές περιπτώσεις, ωστόσο συνοδεύεται από σοβαρά μειονεκτήματα, με κυριότερο τη μη επιλεκτική καταστροφή τόσο καρκινικών όσο και φυσιολογικών κυττάρων. Στη συγκεκριμένη πρόκληση επιχειρεί να ανταποκριθεί η σύγχρονη στοχευμένη αντικαρκινική θεραπεία, η οποία, μέσω της χρήσης νανοφορέων οργανικής και ανόργανης φύσης, επιτυγχάνει ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων αποκλειστικά σε συγκεκριμένα και καλά χαρακτηρισμένα μόρια-στόχους. Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας αυτών των θεραπειών βασίζεται στη χρήση βιοδεικτών, οι οποίοι παρέχουν κρίσιμες πληροφορίες για τη διάγνωση, την πρόγνωση και την παρακολούθηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης. Μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών βιοδεικτών, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες, με έμφαση στους κυκλοφορούντες βιοδείκτες, όπως τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα, τα κυκλοφορούντα miRNAs και το κυκλοφορούν καρκινικό DNA. Παράλληλα, διερευνώνται οι κλινικές εκδηλώσεις της τοξικότητας των στοχευμένων θεραπειών σε σχέση με τη φαρμακοδυναμική, περιλαμβάνοντας φαινόμενα όπως η δυσλειτουργία του θυρεοειδούς, η καρδιοτοξικότητα, η υπέρταση και η δερματική τοξικότητα. Μέσω της ανάλυσης συγκεκριμένων παραδειγμάτων στοχευμένων αντικαρκινικών φαρμάκων, όπως η Πεμπρολιζουμάμπη, η Ιματινίμπη και η Οσιμερτινίμπη, εξετάζεται η εφαρμογή των βιοδεικτών στην παρακολούθηση αυτών των παραμέτρων. Επιπλέον, αναλύονται οι προκλήσεις που σχετίζονται με τη χρήση των φαρμακοδυναμικών βιοδεικτών, καθώς και οι προοπτικές που προκύπτουν για την ευρύτερη αξιοποίησή τους. Η ενσωμάτωσή τους σε PK/PD μοντέλα ενισχύει την κλινική τους αξία και χρησιμότητα, διευκολύνοντας την αντιμετώπιση υφιστάμενων προκλήσεων και ανοίγοντας νέες προοπτικές για την παρακολούθηση της δράσης των στοχευμένων αντικαρκινικών θεραπειών, καθώς και για την περαιτέρω εξατομίκευση της αντικαρκινικής αγωγής.

## Λέξεις – κλειδιά

Καρκίνος, Νανοφορείς, Βιοδείκτες, Φαρμακοδυναμική, ΦΔ Δείκτες

# **‘Pharmacodynamic biomarkers for monitoring the activity of targeted anticancer drugs’**

**Sarigkoli Nikoleta**

## **Abstract**

Cancer is a complex and multifactorial disease, as evidenced by its functional and molecular background, affecting a significant number of individuals worldwide. The predominant therapeutic approach to date, chemotherapy, has proven effective in many cases; however, it is associated with significant drawbacks, primarily the non-selective destruction of both cancerous and normal cells. This challenge is addressed by modern targeted anticancer therapy, which, using nanocarriers of organic and inorganic nature, enables the controlled administration of drugs exclusively to specific and well-characterized molecular targets. The evaluation of the effectiveness of these therapies relies on the use of biomarkers, which provide crucial information for diagnosis, prognosis, and monitoring of therapeutic response. Among the various categories of biomarkers, pharmacodynamic biomarkers are of particular interest, with a focus on circulating biomarkers such as circulating tumor cells, circulating miRNAs and circulating tumor DNA. Additionally, clinical manifestations of targeted therapy toxicity in relation to pharmacodynamics are examined, including conditions such as thyroid dysfunction, cardiotoxicity, hypertension, and skin toxicity. By analyzing specific examples of targeted anticancer drugs, such as Pembrolizumab, Imatinib and Osimertinib, the application of biomarkers in monitoring these parameters is explored. Furthermore, the challenges associated with the use of pharmacodynamic biomarkers, as well as the emerging prospects for their broader utilization, are analyzed. Their integration into PK/PD models enhances their clinical value and utility, facilitating the resolution of existing challenges and opening new avenues for monitoring the effects of targeted anticancer therapies, as well as advancing the further personalization of cancer treatment.

## ***Keywords***

Cancer, Nanocarriers, Biomarkers, Pharmacodynamics, PD Markers

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες .....	II
Περίληψη .....	III
Abstract.....	IV
Περιεχόμενα.....	V
Κατάλογος Εικόνων .....	VII
Κατάλογος Σχημάτων/Πινάκων .....	IX
Συντομογραφίες & Ακρωνύμια.....	X
Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή.....	1
1.1 Καρκίνος.....	1
1.1.1 Κατηγοριοποίηση Καρκίνων .....	2
1.1.2 Το λειτουργικό υπόβαθρο της ανάπτυξης και εξέλιξης του Καρκίνου ....	2
1.1.2.1 Αυτάρκεια σε σήματα ανάπτυξης .....	3
1.1.2.2 Αντίσταση σε σήματα αναστολής της ανάπτυξης.....	4
1.1.2.3 Αναστολή της Απόπτωσης.....	4
1.1.2.4 Ανεξέλεγκτος Πολλαπλασιασμός .....	6
1.1.2.5 Συνεχής Αγγειογένεση .....	7
1.1.2.6 Διεισδυτική συμπεριφορά σε άλλους ιστούς – Μετάσταση.....	8
1.1.3 Το μοριακό υπόβαθρο της ανάπτυξης και εξέλιξης του Καρκίνου .....	9
1.1.4 Χημειοθεραπεία: Θεμελιώδεις αρχές και Εξελικτική πορεία .....	12
1.2 Η Νανοϊατρική στον Καρκίνο .....	15
1.2.1 Παθητική και Ενεργή στόχευση στη Νανοϊατρική.....	16
1.2.2 Νανοδοσματοίδια ως Φορείς Φαρμάκων: Πλεονεκτήματα και Ρόλος στη σύγχρονη Ογκολογία.....	17
Κεφάλαιο 2 Σκοπός της Εργασίας .....	21
Κεφάλαιο 3 Στοιχευμένα αντικαρκινικά φάρμακα .....	23
3.1 Οχήματα μεταφοράς στοχευμένων αντικαρκινικών φαρμάκων.....	23
3.1.1 Λιποσώματα.....	23
3.1.2 Δενδριμερή.....	25
3.1.3 Πολυμερικά Μικκύλια .....	26
3.1.4 Νανοδοσματοίδια Άνθρακα .....	28
3.1.5 Κβαντικές Τελείες .....	30
3.1.6 Νανοδοσματοίδια Χρυσού .....	32
3.2 Στόχοι των Στοιχευμένων Αντικαρκινικών Φαρμάκων στα Καρκινικά Κύτταρα .....	34
3.2.1 Άμεση και Έμμεση Προσέγγιση στην ενεργητική Στόχευση στην Αντικαρκινική Θεραπεία .....	34
3.2.2 Μονοκλωνικά Αντισώματα στόχευσης του EGFR .....	34
3.2.3 Μονοκλωνικά Αντισώματα στόχευσης του VEGFR .....	37
3.2.4 Υποδοχείς Τρανσφερίνης .....	40
3.2.5 Υαλουρονικό Οξύ και CD44 υποδοχείς .....	42
3.2.6 Υποδοχείς Σίγμα .....	43



3.2.7 Υποδοχείς Φυλλικού Οξέος.....	44
Κεφάλαιο 4 Βιοδείκτες Χορήγησης και Παρακολούθησης της Δράσης Στοχευμένων	
Αντικαρκινικών Φαρμάκων .....	46
4.1 Βιοδείκτες στον Καρκίνο .....	46
4.1.1 Ορισμός Βιοδεικτών .....	46
4.1.2 Σημαντικότητα Βιοδεικτών .....	47
4.1.3 Κατηγοριοποίηση Βιοδεικτών: Ορισμοί και Παραδείγματα .....	47
4.1.4 Ποιοτικά Χαρακτηρίστηκα Βιοδεικτών .....	50
4.1.5 Επικύρωση Πρωτότυπων Βιοδεικτών.....	52
4.2 Βασικές Έννοιες Φαρμακολογίας.....	54
4.2.1 Φαρμακοδυναμική.....	54
4.2.2 Φαρμακοκινητική.....	54
4.2.3 Μαθηματικά Μοντέλα PK/PD.....	56
4.3 Βιοδείκτες Φαρμακοδυναμικής Παρακολούθησης της Δράσης Στοχευμένων	
Αντικαρκινικών Φαρμάκων.....	57
4.3.1 Αναδυόμενοι Κυκλοφορούντες Βιοδείκτες στην Ογκολογία .....	58
4.3.1.1 Κυκλοφορούντα Καρκινικά Κύτταρα, CTCs .....	59
4.3.1.2 Κυκλοφορούντα miRNAs, ct-mRNAs.....	62
4.3.1.3 Κυκλοφορούν Καρκινικό DNA, ctDNA .....	66
4.3.2 Κλινική Σημασία της Τοξικότητας ως Φαρμακοδυναμικός Δείκτης στην	
Αντικαρκινική Θεραπεία .....	
4.3.2.1 Δυσλειτουργία του Θυρεοειδούς .....	69
4.3.2.2 Καρδιοτοξικότητα .....	71
4.3.2.3 Υπέρταση.....	73
4.3.2.4 Τοξικότητα Δέρματος .....	74
4.3.3 Παραδείγματα Χρήσης Φαρμακοδυναμικών Βιοδεικτών για Στοχευμένα	
Φάρμακα.....	75
4.3.3.1 Πεμπρολιζουμάμπη .....	75
4.3.3.2 Ιμπρουτινίμπη .....	80
4.3.3.3 Οσιμερτινίμπη.....	83
Κεφάλαιο 5 Συμπεράσματα και Προοπτικές .....	87
Βιβλιογραφία .....	92

## Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1: Οι έξι μεταβολές του καρκίνου στη φυσιολογία των κυττάρων συνοψίζονται ως εξής: αυτάρκεια σε σήματα ανάπτυξης, αντίσταση σε σήματα αναστολής της ανάπτυξης, αναστολή της απόπτωσης, ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός, συνεχής αγγειογένεση, διεισδυτική συμπεριφορά σε άλλους ιστούς – μετάσταση. [1] .....	3
Εικόνα 2: Τα στάδια και οι μορφολογικές διαφορές μεταξύ νέκρωσης και απόπτωσης. Το τελευταίο στάδιο της νέκρωσης είναι η δευτεροπαθής φλεγμονή, ενώ στο αντίστοιχο στάδιο της απόπτωσης λαμβάνει χώρα η φαγοκυττάρωση των αποπτωτικών σωματιδίων. [9].....	6
Εικόνα 3: Η διαδικασία δημιουργίας νέων αιμοφόρων αγγείων μέσω αυξητικών παραγόντων και η εμπλοκή της σε παθολογικές διαδικασίες, όπως η ανάπτυξη όγκων και η μετάσταση. [11] .....	8
Εικόνα 4: Απεικόνιση της σύντηξης τμήματος του χρωμοσώματος 9 με το χρωμόσωμα 22. [14] .....	10
Εικόνα 5: Η σισπλατίνη χορηγείται μέσω ενδοφλέβιας έγχυσης. Μετά την είσοδό της στο κύτταρο, σχηματίζονται θετικά φορτισμένα υδατικά σύμπλοκα, τα οποία δεσμεύονται στο DNA. [21].....	14
Εικόνα 6: Μια σχηματική απεικόνιση της ενεργής και παθητικής στόχευσης για την αντικαρκινική θεραπεία. Η παθητική στόχευση επιτυγχάνεται μέσω του φαινομένου της ενισχυμένης διαπερατότητας και κατακράτησης, όπου οι νανοφορείς κυκλοφορούν στην κυκλοφορία του αίματος, διαφεύγουν από τα αγγεία και συσσωρεύονται στον καρκινικό ιστό μέσω του διαπερατού αγγειακού συστήματος του όγκου. Αντίστοιχα, στην ενεργή στόχευση οι νανοφορείς που έχουν τροποποιηθεί με στοχευμένα μόρια (ligands) μπορούν να συνδεθούν με υποδοχείς που εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στα καρκινικά κύτταρα, επιτυγχάνοντας την τοπική χορήγηση του φαρμάκου ή την ενδοκύτωση του. [26] .....	17
Εικόνα 7: Σύγκριση του μεγέθους διάφορων νανοφορέων με εκείνο άλλων κοινών υλικών και βιολογικών μορίων. [27] .....	18
Εικόνα 8: Η δομή του λιποσώματος. [31] .....	24
Εικόνα 9: Η δομή του δενδριμερούς [31].....	25
Εικόνα 10: Πολυμερές μικκύλιο φορτωμένο με φαρμακευτική ουσία, σχηματισμένο μέσω αυτοσυναρμολόγησης αμφίφιλων συμπολυμερών σε υδατικό περιβάλλον. [33].....	27
Εικόνα 11: Μηχανισμός κυτταρικής εισόδου των SWCNTs - φορτωμένοι με φάρμακα ή άλλα βιομόρια εισέρχονται στο κύτταρο είτε μέσω ενδοκυττάρωσης είτε μέσω κυτταρικών πόρων, απελευθερώνοντας το θεραπευτικό φορτίο τους στο κυτταρόπλασμα. [34] .....	29
Εικόνα 12: Φάσματα εκπομπής φθορισμού QDs ανάλογα με το μέγεθος των σωματιδίων. Το μήκος κύματος εκπομπής φθορισμού των QDs εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων, με τα μεγαλύτερα σωματίδια να εκπέμπουν σε μεγαλύτερα μήκη κύματος. [35].....	31
Εικόνα 13: Σχηματική αναπαράσταση της δομής πυρήνα-κελύφους μιας κβαντικής τελείας, όπου ο πυρήνας αποτελείται συνήθως από CdS και CdSe, ενώ το κέλυφος αποτελείται τυπικά από ZnS, ZnSe και CdS. [36] .....	31
Εικόνα 14: Φωτοθερμική θεραπεία με νανοσωματίδια χρυσού προκαλώντας θερμική καταστροφή των όγκων. [37].....	33
Εικόνα 15: Ενδοκυτταρική σηματοδότηση EGFR. [39] .....	36
Εικόνα 16: Μηχανισμός δράσης της μπεβασιζουμάμπης: Αναστολή της αλληλεπίδρασης VEGF-A/VEGFR-2 και παρεμπόδιση της αγγειογένεσης. [42] .....	39
Εικόνα 17: Ανταγωνισμός του A24 με το Fe-Tf για τη δέσμευση στον υποδοχέα. Α) Σε κύτταρα με χαμηλή έκφραση TfR-1, η πρόσδεση του Fe-Tf στον υποδοχέα είναι ευνοϊκότερη λόγω της	

υψηλότερης συγγένειάς του. Β) Σε κύτταρα με υψηλή έκφραση TfR-1, η διπλή φύση του A24 αυξάνει την ικανότητά του για δέσμευση, μειώνοντας τον ρυθμό διάστασης και ευνοώντας τη δέσμευσή του στον υποδοχέα. [45].....	41
Εικόνα 18: Χημική δομή του υαλουρονικού οξέος, αποτελούμενη από επαναλαμβανόμενες δισακχαριτικές μονάδες D-γλυκουρονικού οξέος και N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης. [47] .....	42
Εικόνα 19: Βασικές αρχές Φαρμακολογίας. [67].....	55
Εικόνα 20: Σχηματική αναπαράσταση της υγρής βιοψίας. Το αίμα καρκινοπαθών περιέχει CTCs, ctDNA και ct-miRNAs, παρέχοντας πληροφορίες για την εξέλιξη του όγκου, την πρόγνωση και την απόκριση στη θεραπεία. [71] .....	59
Εικόνα 21: Στάδια αξιοποίησης των CTCs μέσω υγρής βιοψίας. Μετάσταση, διαχωρισμός, ανίχνευση, ανάλυση δεδομένων και τελική εφαρμογή τους. [70] .....	61
Εικόνα 22: Βιοσύνθεση του miRNA. [74] .....	63
Εικόνα 23: Ανίχνευση μεταλλάξεων μέσω ctDNA. Απελευθέρωση ctDNA από καρκινικό ιστό μέσω απόπτωσης και νέκρωσης. Συλλογή αίματος, NGS και ανάλυση γενετικών αλλοιώσεων για εξατομικευμένη θεραπεία. [79] .....	67
Εικόνα 24: Υποθυρεοειδισμός: Αύξηση των επιπέδων TSH, μείωση των επιπέδων T3 και T4. [83].....	70
Εικόνα 25: Μηχανισμός δράσης της τραστοζουμάμπης στα καρκινικά κύτταρα (αριστερά) και στα κύτταρα του μυοκαρδίου (δεξιά). [86].....	72
Εικόνα 26: Μηχανισμός δράσης πεμπρολιζουμάμπης. [89] .....	76
Εικόνα 27: Καρκινικό κύτταρο με υψηλό φορτίο μεταλλάξεων, σχηματισμός νεοαντιγόνων, ενίσχυση ανοσολογικής αναγνώρισης και αποτελεσματικότητα ανοσοθεραπείας. [93].....	79
Εικόνα 28: Σηματοδοτική οδός BCR, ενεργοποίηση των μονοπατιών NF-κΒ, ERK και AKT, ρύθμιση επιβίωσης και απόκρισης Β-κυττάρων. [96].....	81
Εικόνα 29: Σηματοδοτικό μονοπάτι του EGFR και μηχανισμός δράσης της οσιμερτινίμπης. [99] .....	84

## Κατάλογος Σχημάτων/Πινάκων

Σχήμα 1: Σχηματική αναπαράσταση της σχέσης μεταξύ φαρμακοκινητικής και φαρμακοδυναμικής. [68] .....	56
Πίνακας 1: Κυκλοφορούντες βιοδείκτες και προκλήσεις.....	87
Πίνακας 2: Βιοδείκτες και οφέλη από PK/PD μοντέλα .....	90

## Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

ABL	Χρωμόσωμα 9	Chromosome 9
BCR	Χρωμόσωμα 22	Chromosome 22
EPR	Ενισχυμένη διαπερατότητα και κατακράτηση	Enhanced Permeability and Retention Effect
VEGFR	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
EGFR	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας	Epidermal Growth Factor Receptor
HER-2	Ανθρώπινος επιδερμικός αυξητικός παράγοντας 2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
PEG	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyethylene Glycol
ΠΟΥ	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας	World Health Organization (WHO)
FDA	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ	Food and Drug Administration
CARPA	Ψευδο-αλλεργία που σχετίζεται με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος	Complement Activation-Related Pseudo-Allergy
PAMAM	Πολυαμιδοαμίνη	Polyamidoamine
CMC	Κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση	Critical Micelle Concentration
CNTs	Νανοςωλήνες άνθρακα	Carbon Nanotubes
SWCNTs	Νανοςωλήνες ενός τοιχώματος	Single Walled Carbon Nanotubes
MWCNTs	Νανοςωλήνες με πολλαπλά τοιχώματα	Multi-Walled Carbon Nanotubes
QDs	Κβαντικές τελείες	Quantum Dots
AuNPs	Νανοςωματίδια χρυσού	Gold Nanoparticles
NIR	Εγγύς υπέρυθρο	Near-Infrared
mAbs	Μονοκλωνικά αντισώματα	Monoclonal Antibodies
EGF	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας	Epidermal Growth Factor
TGF-α	Μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας-α	Transforming Growth Factor-alpha
Akt	Πρωτεϊνική κίνηση B	Protein Kinase B

VEGF	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας	Vascular Endothelial Growth Factor
NSCLC	Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα	Non-Small Cell Lung Cancer
TF	Τρανσφερρίνη	Transferrin
TFR1	Υποδοχέας της τρανσφερρίνης	Transferrin Receptor 1
HA	Υαλουρονικό οξύ	Hyaluronic Acid
GlcA	D-γλυκουρονικό οξύ	D-Glucuronic Acid
GlcNAc	N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνη	N-Acetyl-D-Glucosamine
SRs	Υποδοχείς σίγμα	Sigma Receptors
S1Rs	Υποδοχείς σίγμα-1	Sigma-1 Receptors
S2Rs	Υποδοχείς σίγμα-2	Sigma-2 Receptors
FR	Υποδοχέας φυλλικού οξέος	Folate Receptor
DLBCL	Διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα B-κύτταρα	Diffuse Large B-Cell Lymphoma
PSA	Ειδικό προστατικό αντιγόνο	Prostate-Specific Antigen
CA 125	Καρκινικό αντιγόνο 125	Cancer Antigen 125
HPV	Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων	Human Papillomavirus
PARP	Αναστολείς της πολυ(ADP-ριβόζο) πολυμεράσης	Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors
ER	Θετικοί στον υποδοχέα οιστρογόνων καρκινικοί όγκοι	Estrogen Receptor Positive Tumors
PK/PD	Φαρμακοκινητικό – φαρμακοδυναμικό μοντέλο	Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model
PD	Φαρμακοδυναμική	Pharmacodynamics
PK	Φαρμακοκινητική	Pharmacokinetics
TI	Θεραπευτικός δείκτης	Therapeutic Index
F	Βιοδιαθεσιμότητα	Bioavailability
ctDNA	Κυκλοφορούν καρκινικό DNA	Circulating Tumor DNA

CTCs	Κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα	Circulating Tumor Cells
ct-miRNAs	Κυκλοφορούντα miRNAs	Circulating miRNAs
EpCAM	Επιθηλιακό μόριο προσκόλλησης	Epithelial Cell Adhesion Molecule
CK	Κυτταροκερατίνη	Cytokeratin
DAPI	4,6-διαμιδινό-2-φαινυλινδόλη	4,6-Diamidino-2-Phenylindole
CD45	Κοινό λευκοκυτταρικό αντιγόνο	Common Leukocyte Antigen
TKIs	Αναστολείς κινάσης τυροσίνης	Tyrosine Kinase Inhibitors
EMT	Επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετάβαση	Epithelial to Mesenchymal Transition
miRNAs	MicroRNAs	MicroRNAs
pri-miRNA	Pri-miRNA	Primary microRNA
pre-miRNA	Pre-miRNA	Precursor microRNA
SCLC	Μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα	Small Cell Lung Cancer
cfDNA	Κυκλοφορούν ελεύθερο DNA	Cell-Free DNA
qPCR	Ποσοτική PCR σε πραγματικό χρόνο	Quantitative PCR
ddPCR	Ψηφιακή PCR σταγονιδίων	Droplet Digital PCR
NGS	Αλληλούχηση επόμενης γενιάς	Next-Generation Sequencing
NRG-1	Νευρεγγελίνη-1	Neuregulin-1
IL-8	Ιντερλευκίνη-8	Interleukin-8
BTK	Τυροσινική κινάση του Bruton	Bruton's Tyrosine Kinase
PLCγ2	Φωσφολιπάση Cγ2	Phospholipase Cγ2

# Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή

## 1.1 Καρκίνος

Σε παγκόσμιο επίπεδο, ο καρκίνος αποτελεί τη δεύτερη κύρια αιτία θανάτου, με το ποσοστό των συνολικών θανάτων που αποδίδονται σε αυτήν τη νόσο να ανέρχεται στο 13%. Εκτιμάται ότι περίπου 7,6 εκατομμύρια άνθρωποι χάνουν τη ζωή τους ετησίως λόγω καρκίνου. Στο άμεσο μέλλον, η επίπτωση της νόσου αναμένεται να αυξηθεί περαιτέρω, ενώ οι θάνατοι που σχετίζονται με τον καρκίνο προβλέπεται να φτάσουν τα 13,1 εκατομμύρια έως το 2030. [2]

Τα θεμελιώδη δομικά στοιχεία ενός ζωντανού οργανισμού είναι τα κύτταρα του. Αυτά, με βασική ιδιότητά τους την ικανότητα κυτταρικής διαίρεσης και πολλαπλασιασμού, οργανώνονται σε συνεργατικά σύνολα, σχηματίζοντας ιστούς που επιτελούν εξειδικευμένες λειτουργίες. [3]

Η ανάπτυξη του καρκίνου μπορεί να θεωρηθεί ως μια μικροεξελικτική διαδικασία, η οποία εκτυλίσσεται σε διάστημα μηνών ή ετών εντός ενός πληθυσμού κυττάρων ενός οργανισμού. Επιπλέον, η καρκινογένεση συνδέεται άμεσα με τις αρχές της φυσικής επιλογής και της μετάλλαξης, που αποτελούν θεμελιώδεις μηχανισμούς της μακροπρόθεσμης εξέλιξης όλων των ζωντανών οργανισμών. [3]

Τα καρκινικά κύτταρα διακρίνονται από την ικανότητά τους να παρακάμπτουν τη φυσιολογική ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης και να διεισδύουν σε περιοχές που, υπό φυσιολογικές συνθήκες, ανήκουν σε άλλα κύτταρα. Αυτές οι δύο κληρονομικές ιδιότητες καθιστούν τον καρκίνο ιδιαίτερα επικίνδυνο και δυσχεραίνουν την αποτελεσματική αντιμετώπισή του. Έστω ένα κύτταρο το οποίο εμφανίζει ανώμαλες ιδιότητες, αλλά διατηρείται εντοπισμένο και δεν παρεκκλίνει από τον φυσιολογικό ρυθμό πολλαπλασιασμού του, η ζημία που μπορεί να προκαλέσει παραμένει περιορισμένη. Αντιθέτως, όταν ένα κύτταρο αποκτά ανεξέλεγκτο ρυθμό πολλαπλασιασμού, μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία μίας συνεχώς αυξανόμενης μάζας ανώμαλων κυττάρων. Εάν τα νεοπλασματικά αυτά κύτταρα παραμένουν συγκεντρωμένα σε μία ενιαία μάζα, ο όγκος χαρακτηρίζεται ως καλοήθης. [3]

Ωστόσο, στην περίπτωση που τα νεοπλασματικά κύτταρα αποκτούν την ικανότητα να διεισδύουν στους παρακείμενους ιστούς και να εξαπλώνονται σε απομακρυσμένες



περιοχές του οργανισμού, ο όγκος θεωρείται κακοήθης και χαρακτηρίζεται ως καρκίνος. Η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να αποκολλώνται από τον αρχικό όγκο, να εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος ή στο λεμφικό σύστημα και να σχηματίζουν δευτερογενείς όγκους αποτελεί τη διαδικασία της μετάστασης, η οποία συμβάλλει καθοριστικά στη σοβαρότητα της νόσου. [3]

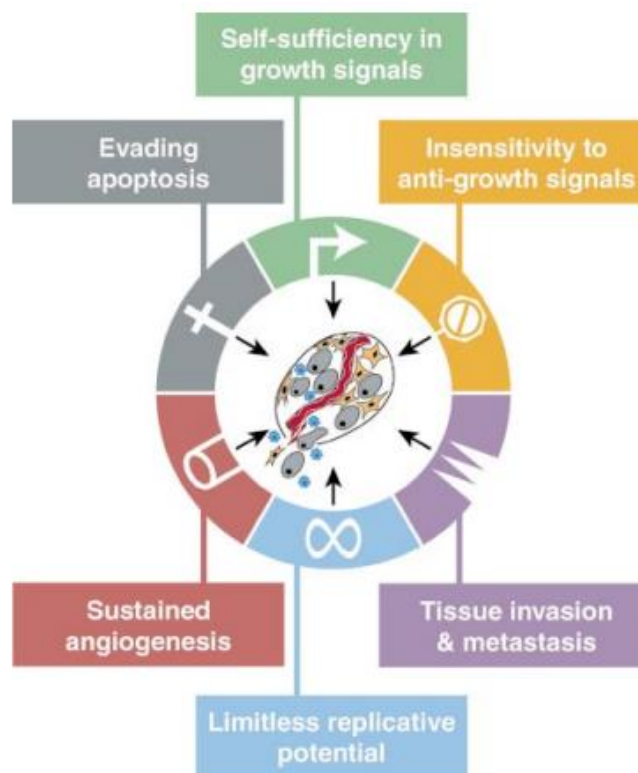
### **1.1.1 Κατηγοριοποίηση Καρκίνων**

Οι κακοήθεις όγκοι ταξινομούνται σε τέσσερις κύριες κατηγορίες, ανάλογα με τον τύπο των κυττάρων από τα οποία προέρχονται: τα καρκινώματα, τα σαρκώματα, τις λευχαιμίες και τα λεμφώματα. Τα καρκινώματα αναπτύσσονται από επιθηλιακά κύτταρα, ενώ τα σαρκώματα προέρχονται από κύτταρα του συνδετικού ιστού ή των μυών. Τέλος, οι λευχαιμίες και τα λεμφώματα προκύπτουν από κύτταρα του αιμοποιητικού και του ανοσοποιητικού συστήματος, αντίστοιχα. [4]

Κάθε μία από αυτές τις ευρείες κατηγορίες περιλαμβάνει περαιτέρω υποκατηγορίες, οι οποίες διαφοροποιούνται βάσει του συγκεκριμένου τύπου κυττάρων, του ιστού προέλευσης, καθώς και της δομής και των χαρακτηριστικών του όγκου. Σημειώνεται ότι περίπου το 90% των καρκίνων στον άνθρωπο αντιστοιχεί σε καρκινώματα. Αυτή η υψηλή συχνότητα μπορεί να αποδοθεί σε δύο πιθανές αιτίες: πρώτον, το επιθήλιο αποτελεί τον ιστό όπου λαμβάνει χώρα το μεγαλύτερο μέρος της κυτταρικής διαίρεσης στο σώμα, και δεύτερον, οι επιθηλιακοί ιστοί εκτίθενται συχνότερα σε φυσικούς και χημικούς παράγοντες που προκαλούν βλάβες στο DNA, αυξάνοντας τον κίνδυνο καρκινογένεσης. [4]

### **1.1.2 Το λειτουργικό υπόβαθρο της ανάπτυξης και εξέλιξης του Καρκίνου**

Η δημιουργία, η ανάπτυξη και η διατήρηση ενός κακοήθους όγκου εξαρτώνται από την εμφάνιση έξι θεμελιωδών αλλαγών στις βασικές ρυθμιστικές λειτουργίες της κυτταρικής φυσιολογίας. Οι μεταβολές αυτές συνοψίζονται ως εξής: αυτάρκεια σε σήματα ανάπτυξης, αντίσταση σε σήματα αναστολής της ανάπτυξης, αναστολή της απόπτωσης, ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός, συνεχής αγγειογένεση, διεισδυτική συμπεριφορά σε άλλους ιστούς – μετάσταση. (Εικόνα 1) [1]



Εικόνα 1: Οι έξι μεταβολές του καρκίνου στη φυσιολογία των κυττάρων συνοψίζονται ως εξής: αυτάρκεια σε σήματα ανάπτυξης, αντίσταση σε σήματα αναστολής της ανάπτυξης, αναστολή της απόπτωσης, ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός, συνεχής αγγειογένεση, διεισδυτική συμπεριφορά σε άλλους ιστούς – μετάσταση.[1]

#### 1.1.2.1 Αυτάρκεια σε σήματα ανάπτυξης

Τα κύτταρα, υπό φυσιολογικές συνθήκες, απαιτούν την εκδήλωση μιτογόνων αυξητικών σημάτων για να περάσουν από μια φάση ηρεμίας σε μια κατάσταση ενεργού πολλαπλασιασμού. Αυτά τα σήματα παρέχουν τις απαραίτητες εντολές στα κύτταρα κατά τις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου, εξασφαλίζοντας έτσι την ομαλή κυτταρική ανάπτυξη. Σε περίπτωση απουσίας αυτών των σημάτων, κανένας τύπος φυσιολογικών κυττάρων δεν μπορεί να ξεκινήσει τον πολλαπλασιασμό. Συνήθως, τα σήματα αυτά προέρχονται από αυξητικούς παράγοντες που προσδένονται σε υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων, οι οποίοι διαθέτουν ενδοκυττάριας περιοχές με δράση κίνησης τυροσίνης. Ωστόσο, στα καρκινικά κύτταρα, οι μηχανισμοί αυτοί διαταράσσονται. Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν ανεξάρτητη συμπεριφορά από την εξωγενή διέγερση της ανάπτυξης από το φυσιολογικό μικροπεριβάλλον των ιστών τους και είναι ικανά να παράγουν τους αυξητικούς παράγοντες που θεωρούν ότι χρειάζονται για την αυτοκρινή διέγερση. Επίσης, έχουν την ικανότητα να στέλνουν σήματα σε άλλα φυσιολογικά κύτταρα, τα οποία ανταποκρίνονται παράγοντας

αυξητικούς παράγοντες. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων ενισχύεται είτε μέσω του αυξημένου αριθμού των υποδοχέων που εκφράζονται στα καρκινικά κύτταρα είτε μέσω δομικών μεταβολών των υποδοχέων. [1]

#### **1.1.2.2 Αντίσταση σε σήματα αναστολής της ανάπτυξης**

Αντίστοιχα με τα σήματα προαγωγής του πολλαπλασιασμού, εντός ενός φυσιολογικού ιστού, μεταδίδονται σήματα αναστολής της ανάπτυξης των κυττάρων. Αυτά τα ανασταλτικά σήματα λαμβάνονται από διαμεμβρανικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων και μπορούν να εμποδίσουν τον πολλαπλασιασμό μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών: είτε μεταβαίνοντας σε κατάσταση ηρεμίας, από την οποία τα κύτταρα μπορούν να επανέλθουν όταν αυτό επιτραπεί από αντίστοιχα σήματα, είτε εγκαταλείποντας μόνιμα τη φάση του πολλαπλασιασμού και οδηγούμενα σε επόμενες διεργασίες που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση. [1]

Για να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν, τα καρκινικά κύτταρα είναι σε θέση να παρακάμπτουν τους μηχανισμούς που αναστέλλουν την ανάπτυξή τους. Πολλοί από αυτούς τους μηχανισμούς εξαρτώνται από τη δράση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, με τα δύο πιο κρίσιμα γονίδια να είναι το RB και το P53. Αυτά τα γονίδια επηρεάζουν την απόφαση του κυττάρου σχετικά με το αν πρέπει να πολλαπλασιαστεί, να μπει σε φάση ηρεμίας ή να ακολουθήσει πορεία προς απόπτωση. [1]

#### **1.1.2.3 Αναστολή της Απόπτωσης**

Η τάση των καρκινικών κυττάρων για ανεξέλεγκτη αύξηση δεν εξαρτάται μόνο από τον ρυθμό πολλαπλασιασμού τους, αλλά και από τον ρυθμό του κυτταρικού θανάτου. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, υπάρχουν δύο μορφές θανάτου: η νέκρωση και ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος μέσω του μηχανισμού της απόπτωσης. (Εικόνα 2) [5]

Σε περίπτωση μη αναμενόμενης κυτταρικής ή χημικής βλάβης, το ίδιο το κύτταρο επιλέγει τη νέκρωση. Κατά τη διαδικασία της νέκρωσης, ο κυτταρικός όγκος αυξάνεται σημαντικά, με αποτέλεσμα το νεκρωτικό κύτταρο να εκρήγνυται και τελικά το DNA του να αποσυντίθεται, ενώ απελευθερώνονται λυσοσωμικά ένζυμα. Ταυτόχρονα, απελευθερώνονται σήματα που διεγείρουν τη φλεγμονώδη απόκριση του οργανισμού,

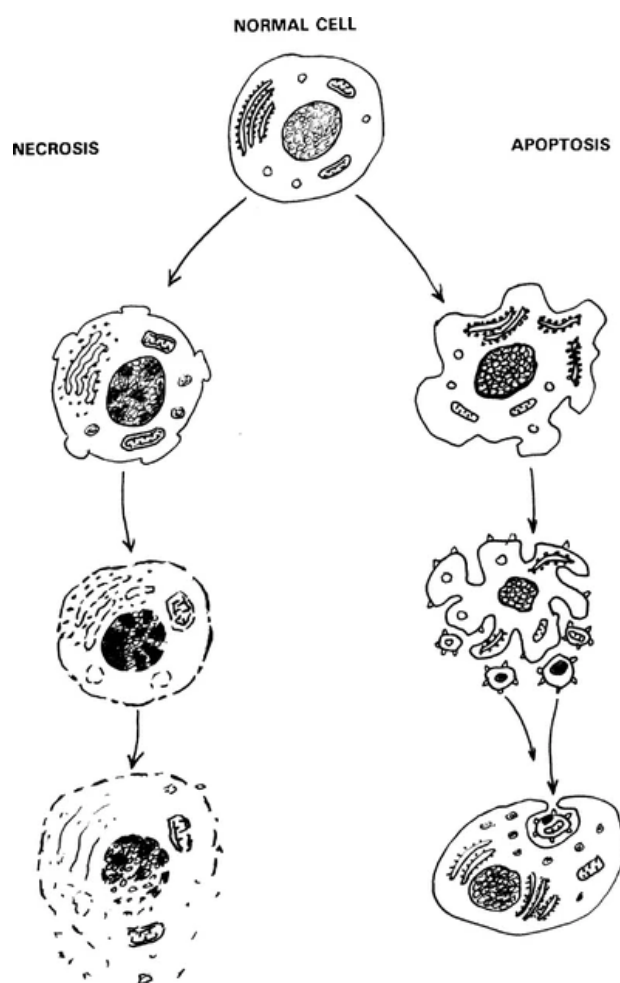
λόγω της απελευθέρωσης κυτταρικών υποστρωμάτων που ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα. Η φλεγμονώδης αντίδραση σηματοδοτεί την παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων και παραγόντων που απελευθερώνονται από αυτά. Οι φλεγμονώδεις παράγοντες ενδέχεται να διεγείρουν την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, να οδηγήσουν στην παραγωγή αυξητικών παραγόντων που ενισχύουν την ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων (αγγειογένεση), τα οποία τροφοδοτούν τους καρκινικούς όγκους, και τέλος η ίδια η φλεγμονώδης αντίδραση επηρεάζει την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να διεισδύουν σε γειτονικούς ιστούς, διευκολύνοντας έτσι τη μετάσταση. [5]

Η αντίσταση στην απόπτωση και η μείωση της αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες στην καρκινογένεση, καθώς ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος λειτουργεί ως ένας βασικός μηχανισμός αποφυγής της δημιουργίας κακοήθειας. [6]

Αρχικά, έχουν μελετηθεί οι πρωτεΐνες που παίζουν κεντρικό ρόλο στη διαδικασία της απόπτωσης, οι οποίες ταξινομούνται ως προ- και αντι-αποπτωτικές, καθώς προάγουν ή αναστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο, αντίστοιχα, και ανήκουν στην οικογένεια BCL-2. Η διαταραχή της ισορροπίας αυτών των δύο τύπων πρωτεϊνών προκαλεί σημαντική απορρύθμιση της απόπτωσης στα κύτταρα. Αυτή η απορρύθμιση συνήθως προκύπτει από αυξημένη ή μειωμένη έκφραση των σχετικών γονιδίων και των αντίστοιχων ρυθμιστικών πρωτεϊνών. [6]

Μια σειρά από ρυθμιστικούς και εκτελεστικούς παράγοντες ενεργοποιούν τις κασπάσες. Οι κασπάσες που εμπλέκονται στη διαδικασία της απόπτωσης μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες: εκείνες που συμβάλλουν στην έναρξη της αποπτωτικής οδού (κασπάση -2, -8, -9, -10) και εκείνες που έχουν την ικανότητα αποδόμησης των συστατικών και των οργανιδίων του κυττάρου (κασπάση -3, -6, -7). Ο ρόλος τους και η ομαλή τους λειτουργία καθορίζουν τόσο την έναρξη όσο και την πορεία του κυτταρικού θανάτου. Ως εκ τούτου, τα μειωμένα επίπεδα κασπασών ή η ανώμαλη δράση τους οδηγούν συχνά στη διαταραχή της απόπτωσης και αυξάνουν την πιθανότητα καρκινογένεσης. [6] Σύμφωνα με μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2010, η απορρύθμιση της λειτουργίας της κασπάσης -9 συσχετίστηκε με τον καρκίνο του παχέος εντέρου σταδίου II, καθώς βρέθηκε σε πολλές περιπτώσεις των ασθενών, και μάλιστα οδήγησε σε κακή κλινική έκβαση. [7]

Τέλος, θεμελιώδεις παράγοντες στην εξωγενή οδό της απόπτωσης είναι οι υποδοχείς θανάτου, οι οποίοι εντοπίζονται στην επιφάνεια των κυττάρων και συνδέονται με τον αποπτωτικό μηχανισμό μέσω περιοχών θανάτου. Ο ρόλος αυτών των υποδοχέων είναι να μεταβιβάζουν τα αποπτωτικά σήματα, προκειμένου να ενεργοποιηθούν τα σηματοδοτικά μονοπάτια του κυτταρικού θανάτου, με τη συνεπαγόμενη ενεργοποίηση των κασπασών. Η εξασθένιση αυτής της σηματοδοτικής οδού έχει συσχετιστεί με τη μείωση της απόπτωσης και, συνεπώς, με την καρκινογένεση, και σχετίζεται με την απορυθμισμένη δράση των υποδοχέων, στους οποίους παρατηρούνται μειωμένα επίπεδα αποπτωτικών σημάτων. [8]



Εικόνα 2: Τα στάδια και οι μορφολογικές διαφορές μεταξύ νέκρωσης και απόπτωσης. Το τελευταίο στάδιο της νέκρωσης είναι η δευτεροπαθής φλεγμονή, ενώ στο αντίστοιχο στάδιο της απόπτωσης λαμβάνει χώρα η φαγοκυττάρωση των αποπτωτικών σωματιδίων. [9]

#### 1.1.2.4 Ανεξέλεγκτος Πολλαπλασιασμός

Σύμφωνα με την έρευνα του Hayflick (1997), τα φυσιολογικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από ένα καθορισμένο δυναμικό αναπαραγωγής, κατά το οποίο, μόλις

τα κύτταρα ολοκληρώσουν έναν συγκεκριμένο αριθμό κύκλων διαίρεσης, σταματούν να πολλαπλασιάζονται και εισέρχονται στη φάση της γήρανσης. Μετά τη φάση της γήρανσης ακολουθεί ο μηχανισμός της κρίσης, ο οποίος συνδέεται με την απόπτωση. Ωστόσο, στους περισσότερους τύπους καρκινικών κυττάρων έχει παρατηρηθεί η ικανότητα να υπερβαίνουν αυτόν τον καθορισμένο αριθμό αναπαραγωγικών κύκλων και να συμπεριφέρονται ως «αθάνατα». Συνεπώς, αυτό το απεριόριστο δυναμικό αναπαραγωγής αποτελεί έναν φαινότυπο που υιοθετούν τα καρκινικά κύτταρα κατά την εξέλιξη του κακοήθους όγκου. [1]

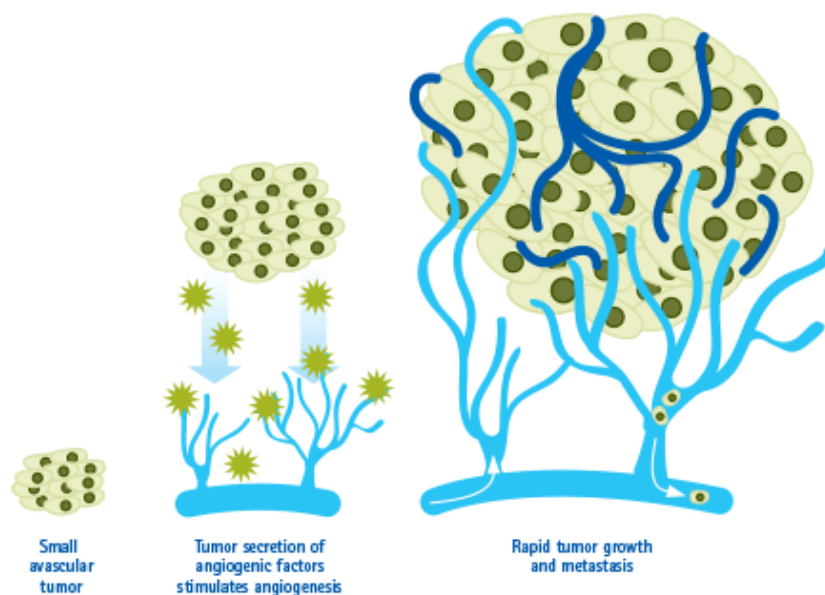
Η απόκτηση του απεριόριστου δυναμικού αναπαραγωγής στα καρκινικά κύτταρα συνδέεται με τη δράση της τελομεράσης. Κατά τη διάρκεια της κυτταρικής αναπαραγωγής, η DNA πολυμεράση δεν μπορεί να αντιγράψει πλήρως τα 3' άκρα του χρωμοσωμικού DNA. Ωστόσο, η ακεραιότητα των χρωμοσωμάτων διασφαλίζεται μέσω των τελομερών, τα οποία βρίσκονται στα άκρα των χρωμοσωμάτων και αποτελούνται από επαναλήψεις μίας αλληλουχίας έξι βάσεων, 5'-TTAGGG-3', στα θηλαστικά. Καθώς προχωρά η κυτταρική διαίρεση, τα τελομερή μειώνονται, με αποτέλεσμα τη σταδιακή συντόμευσή τους. Αυτή η συντόμευση των τελομερών είναι φυσιολογική και συνδέεται με την γήρανση των κυττάρων. [1]

Η σταδιακή μείωση των τελομερών περιορίζει την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των κυττάρων, καθώς η διάβρωση των τελομερών σηματοδοτεί το τέλος της αντιγραφής και οδηγεί σε κρίση και κυτταρικό θάνατο. Η τελομεράση, το ένζυμο που προσθέτει επαναλήψεις DNA στα τελομερή, περιορίζει τη δράση της στα φυσιολογικά κύτταρα. Αντίθετα, στα καρκινικά κύτταρα, η δράση της τελομεράσης ενισχύεται, με αποτέλεσμα να διατηρείται το μήκος των τελομερών και να διαταράσσεται ο φυσιολογικός κύκλος ζωής των κυττάρων, επιτρέποντάς τους να συνεχίσουν την αναπαραγωγή τους. Η διατήρηση των τελομερών παρατηρείται σε όλους σχεδόν τους τύπους κακοήθων κυττάρων. [1], [10]

#### **1.1.2.5 Συνεχής Αγγειογένεση**

Η αγγειογένεση ορίζεται ως η ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων και φυσιολογικά συναντάται κατά την εμβρυογένεση και στην περίπτωση επούλωσης κάποιου τραύματος. Παθολογικά, η αγγειογένεση παρατηρείται κατά την ανάπτυξη συμπαγών όγκων, καθώς τα καρκινικά κύτταρα χρειάζονται θρεπτικά συστατικά και οξυγόνο, τα

οποία παρέχονται μέσω του αγγειακού συστήματος, καθώς και αυξητικούς παράγοντες. (Εικόνα 3) Η διαδικασία της αγγειογένεσης ρυθμίζεται αυστηρά από παράγοντες που δρουν ως φυσικοί αναστολείς της. Οι αναστολείς αυτοί επιβραδύνουν τη δράση των παραγόντων που προάγουν την αγγειογένεση, όπως ο VEGF-A, όταν κρίνεται απαραίτητο. Όταν η ισορροπία μεταξύ των παραγόντων αναστολής και επαγωγής διαταράσσεται, αυτό έχει κρίσιμη σημασία τόσο για την ανάπτυξη του όγκου όσο και για τη μετάσταση. [1], [5]



Εικόνα 3: Η διαδικασία δημιουργίας νέων αιμοφόρων αγγείων μέσω αυξητικών παραγόντων και η εμπλοκή της σε παθολογικές διαδικασίες, όπως η ανάπτυξη όγκων και η μετάσταση. [11]

#### **1.1.2.6 Διεισδυτική συμπεριφορά σε άλλους ιστούς – Μετάσταση**

Καθώς αναπτύσσεται η πλειονότητα των καρκινικών όγκων και αυξάνεται ο βαθμός κακοήθειας, η πρωτογενής κακοήθης μάζα αρχίζει να παράγει κύτταρα ικανά να εισβάλλουν σε παρακείμενους ιστούς. Αυτή η ικανότητα αποδίδεται σε αλλαγές στη μορφολογία των καρκινικών κυττάρων, οι οποίες επηρεάζουν την ικανότητά τους να προσκολλώνται τόσο σε άλλα κύτταρα όσο και στην εξωκυττάρια μήτρα. Η απομάκρυνση των καρκινικών κυττάρων από τον πρωτογενή όγκο, η διήθηση παρακείμενων ιστών και η επιτυχής εγκατάστασή τους σε νέους ιστούς δημιουργεί τις συνθήκες για τη μετάσταση, η οποία συχνά οδηγεί στον θάνατο του ατόμου από καρκίνο. [1]

Σε κύτταρα με ιδιότητες διήθησης και μετάστασης, μια κοινή αλλαγή είναι η μείωση στην έκφραση της E-καντερίνης και της ομάδας κατενινών, που φυσιολογικά αποτελούν το σύστημα προσκόλλησης μεταξύ επιθηλιακών κυττάρων. Η μείωση αυτής της έκφρασης διαταράσσει τη συγκόλληση των επιθηλιακών κυττάρων, οδηγώντας σε αυξημένο δυναμικό δημιουργίας όγκων και στην ικανότητα διασποράς τους σε άλλους ιστούς. Τα επίπεδα έκφρασης της E-καντερίνης, λοιπόν, συνδέονται άμεσα με την ικανότητα διήθησης και μετάστασης των καρκινικών κυττάρων. Ειδικότερα, η εισαγωγή E-καντερίνης σε διηθητικά κύτταρα μείωσε τη διηθητική ικανότητά τους, επιβεβαιώνοντας τον κρίσιμο ρόλο της E-καντερίνης στην μετάσταση του καρκίνου και αναδεικνύοντας τη δυνατότητά της για αντι-διηθητική δράση. Αυτό ανοίγει νέες προοπτικές για τη μελέτη και τον έλεγχο των μεταστάσεων μέσω της ρύθμισης της E-καντερίνης. [12]

### **1.1.3 Το μοριακό υπόβαθρο της ανάπτυξης και εξέλιξης του Καρκίνου**

Η ασθένεια του καρκίνου στον άνθρωπο έχει κατά βάση μοριακό υπόβαθρο και έως ότου σήμερα έχουν εντοπιστεί και μελετηθεί πολλά από τα γονίδια που εμπλέκονται στη διαδικασία της καρκινογένεσης. Δύο βασικές κατηγορίες γονιδίων, οι οποίες υφίστανται φυσικές και επίκτητες γενετικές παραλλαγές και συμβάλλουν στην ανάπτυξη των νεοπλασιών, είναι τα πρωτο-ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. [5]

Σε κάθε φυσιολογικό κύτταρο, κάποιες από τις βασικές βιολογικές διεργασίες επιτελούνται από τα πρωτο-ογκογονίδια, γονίδια τα οποία λειτουργούν δηλαδή ως ρυθμιστικοί παράγοντες στον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την επιβίωση των κυττάρων. Συχνά, συναντώνται ως αυξητικοί παράγοντες, μεταγραφικοί παράγοντες του πυρήνα και μετατροπείς σημάτων των κυττάρων. Ωστόσο, μεταλλαγές στα γονίδια αυτά, μετατρέπουν τα πρωτο-ογκογονίδια σε ογκογονίδια, τα οποία είναι χαρακτηριστικά στη διαδικασία της καρκινογένεσης. Υπάρχουν τρεις κύριες κατηγορίες μεταλλαγών που μπορεί να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση των πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια, οι οποίες αναλύονται παρακάτω. [5]

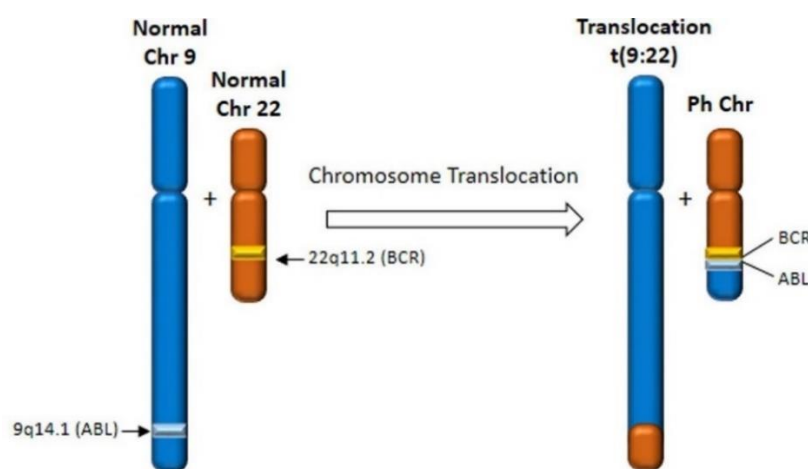
Αρχικά, στις κατηγορίες μεταλλαγών που ενδέχεται να οδηγήσουν στη μετατροπή των πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια συγκαταλέγονται οι σημειακές μεταλλάξεις, στις οποίες παρατηρείται αλλαγή σε ένα αμινοξύ σε κρίσιμο σημείο της αλληλουχίας του



DNA. Αυτή η αλλαγή μπορεί να είναι αντικατάσταση, προσθήκη ή αφαίρεση του αμινοξέος, γεγονός το οποίο οδηγεί σε τροποποιήσεις στη δομή ή τη λειτουργία της πρωτεΐνης που κωδικοποιείται από το πρωτο-ογκογονίδιο. Παραδείγματα τέτοιων γονιδίων περιλαμβάνουν τα γονίδια RAS, MYC και ERBB2, των οποίων οι μεταλλάξεις έχουν εντοπιστεί και συσχετίζεται άμεσα με διάφορους τύπους καρκινογένεσης. [5]

Στη συνέχεια, ενδέχεται να πραγματοποιηθούν χρωμοσωμικές αναδιατάξεις, με τις πιο συχνά παρατηρούμενες να περιλαμβάνουν τις εξής: χρωμοσωμικές μετατοπίσεις, οι οποίες ορίζονται ως αλλαγή θέσης τμημάτων DNA μεταξύ διαφορετικών χρωμοσωμάτων, χρωμοσωμικοί διπλασιασμοί, οι οποίοι αναφέρονται στην επανάληψη τμημάτων χρωμοσωμάτων, και χρωμοσωμικά ελλείμματα, τα οποία περιλαμβάνουν την απώλεια τμημάτων χρωμοσωμάτων. Οι παραπάνω περιπτώσεις δύνανται να φέρουν ένα πρωτο-ογκογονίδιο κοντά σε ρυθμιστικά στοιχεία ή γονίδια που προάγουν την κυτταρική ανάπτυξη και διαίρεση, με αποτέλεσμα την αυξημένη δραστηριότητα του γονιδίου και την υπερέκφραση των πρωτεϊνών του. [5]

Συγκεκριμένα, ένα κλασικό παράδειγμα χρωμοσωμικής μετατόπισης είναι η μετατόπιση του γονιδίου BCR-ABL. Ένα τμήμα του χρωμοσώματος 9, ABL, μεταφέρεται και ενσωματώνεται στο χρωμόσωμα 22, BCR, δημιουργώντας έτσι ένα νέο γονίδιο, το BCR-ABL, το οποίο παράγει ένα ανώμαλο γονιδιακό προϊόν. Αυτό με την σειρά του, οδηγεί στην παραγωγή μιας πρωτεΐνης με αυξημένη δράση κινάσης τυροσίνης, η οποία επηρεάζει τις ρυθμίσεις της κυτταρικής ανάπτυξης και προάγει την ανεξέλεγκτη κυτταρική διαίρεση. Το γονίδιο BCR-ABL έχει βρεθεί να σχετίζεται άμεσα με την ανάπτυξη της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας. (Εικόνα 4) [13]



Εικόνα 4: Απεικόνιση της σύντηξης τμήματος του χρωμοσώματος 9 με το χρωμόσωμα 22. [14]

Τέλος, μπορεί να εντοπιστεί γονιδιακή ενίσχυση, η οποία έχει ως επακόλουθο την αύξηση του αριθμού των αντιγράφων ενός γονιδίου, με αποτέλεσμα την αντίστοιχη υπερέκφραση του προϊόντος του γονιδίου. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα γονιδιακής ενίσχυσης είναι η ενίσχυση του γονιδίου HER2/neu στον καρκίνο του μαστού. Η υπερέκφραση του προϊόντος του γονιδίου, δηλαδή η υπερέκφραση της πρωτεΐνης HER2, έχει συσχετιστεί με περιστατικά επιθετικών μορφών καρκίνου. [15]

Εκτός από την ενεργοποίηση των πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια, άμεσα σχετιζόμενα με την ανάπτυξη του καρκίνου είναι και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Τα γονίδια αυτά, στο φυσιολογικό κύτταρο, συμβάλλουν στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA και είναι υπεύθυνα για την αναστολή διάφορων σηματοδοτικών μονοπατιών και της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, καθώς και για την επαγωγή της απόπτωσης. Επομένως, παρεμποδίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των κυττάρων και προάγουν τον κυτταρικό θάνατο, όταν αυτό κρίνεται απαραίτητο, με βάση τις εκάστοτε ανάγκες. Η ομαλή τους λειτουργία συμβάλλει στην πρόληψη της ανάπτυξης καρκινικών όγκων. Ωστόσο, μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά ενδέχεται να προκαλέσουν την απενεργοποίηση ή δυσλειτουργία τους, με αποτέλεσμα να αδυνατούν να ρυθμίζουν ορθά τις διεργασίες του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση των σφαλμάτων στο DNA και την αποκατάσταση της απόπτωσης. [5]

Το πρώτο ογκοκατασταλτικό γονίδιο, το οποίο εντοπίστηκε, ταυτοποιήθηκε και έπειτα μελετήθηκε, είναι το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος, RB. Οι μελέτες του γονιδίου αυτού συνέβαλλαν στην καθιέρωση των γνώσεων που υπάρχουν σήμερα σχετικά με τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, όπως τα γονίδια P53, CDH1, NF1, NF2, BRCA1, BRCA2. Μεταλλάξεις στο γονίδιο του RB μπορούν να οδηγήσουν σε δημιουργία ρετινοβλαστώματος στην παιδική ηλικία. Συγκεκριμένα, όταν υπάρξει μετάλλαξη στο γονίδιο RB1, προκαλείται έως και 10.000 φορές μεγαλύτερος κίνδυνος να αναπτυχθεί ρετινοβλάστωμα συγκριτικά με τον γενικό πληθυσμό. [16]

Η μη κληρονομήσιμη μορφή του ρετινοβλαστώματος, είναι πιο σπάνια συγκριτικά με την κληρονομήσιμη, καθώς σε αυτή την περίπτωση είναι απαραίτητο και στα δύο φυσιολογικά αλληλόμορφα RB να προκύψει σωματική μετάλλαξη στο ίδιο κύτταρο. Η πιθανότητα να συμβεί αυτό ταυτόχρονα είναι χαμηλή. Αντίθετα, στη κληρονομήσιμη μορφή του, το άτομο έχει κληρονομήσει ένα ήδη μεταλλαγμένο αλληλόμορφο RB, ενώ το άλλο αλληλόμορφο, το οποίο είναι μέχρι στιγμής φυσιολογικό, υφίσταται μία

αυθόρμητη και ανεξάρτητη σωματική μετάλλαξη. Οι πιθανότητες να συμβεί αυτό το ενδεχόμενο είναι μεγαλύτερες. [16]

Οι παραπάνω περιπτώσεις βοήθησαν στην παρατήρηση και έπειτα καθιέρωση τριών βασικών ιδιοτήτων που συναντώνται στα κλασικά ογκοκατασταλτικά γονίδια. Αρχικά, σε κυτταρικό επίπεδο, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι υπολειπόμενα και είναι απαραίτητο να απενεργοποιηθούν και τα δύο αλληλόμορφα για την περίπτωση της ανάπτυξης καρκινικού όγκου. Η κληρονομικότητα ενός μεταλλαγμένου αλληλόμορφου αποδεικνύει προδιάθεση ανάπτυξης καρκινικού όγκου, καθώς απαιτεί μόνο ένα επιπλέον γεγονός αδρανοποίησης του δεύτερου αλληλόμορφου. Επιπλέον, βρέθηκε πως σε σποραδικούς καρκίνους τις περισσότερες φορές είναι αδρανοποιημένο το ίδιο ογκοκατασταλτικό γονίδιο. [16]

#### **1.1.4 Χημειοθεραπεία: Θεμελιώδεις αρχές και Εξελικτική πορεία**

Η χημειοθεραπεία ορίζεται ως η ελεγχόμενη και συστηματική χορήγηση χημικών ουσιών, είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλα φαρμακευτικά σκευάσματα. Η ιδέα της χημειοθεραπείας προέκυψε από την ανακάλυψη ότι το αέριο μουστάρδας μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση του καρκίνου. Συγκεκριμένα, κατά τη διάρκεια του Β' Παγκοσμίου Πολέμου, η έκθεση στρατιωτών στο αέριο μουστάρδας (σουλφίδιο του αζώτου) είχε ως αποτέλεσμα τον εκτεταμένο θάνατό τους. Τα ευρήματα της νεκροτομής τους ανέδειξαν σημαντική λεμφική υποπλασία – δηλαδή μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων – καθώς και μυελοκαταστολή, η οποία αναφέρεται στη μείωση της παραγωγής των κυττάρων του αίματος. [17]

Η παρατήρηση αυτή οδήγησε τους Goodman, Gilman και συνεργάτες στη διερεύνηση της χρήσης του αερίου μουστάρδας ως θεραπευτικού παράγοντα κατά του καρκίνου. Το 1942, οι ερευνητές, σε συνεργασία με έναν ιατρό χειρουργικής, χορήγησαν αζωτούχο μουστάρδα σε ασθενή με λέμφωμα non-Hodgkin. Ο τοξικός αυτός παράγοντας συνέβαλε στην υποχώρηση του λεμφώματος του ασθενούς, ωστόσο, η ύφεση ήταν προσωρινή, καθώς μετά από μερικές εβδομάδες ο όγκος επανεμφανίστηκε και συνέχισε να αναπτύσσεται. Παρά τη σύντομη διάρκεια του θεραπευτικού αποτελέσματος, η προσέγγιση αυτή αποτέλεσε μία από τις πρώτες εφαρμογές χημικής ουσίας για την καταπολέμηση του καρκίνου στον άνθρωπο. Συνεπώς, θεωρείται

θεμελιώδης για τη διαμόρφωση της σύγχρονης χημειοθεραπείας, καθώς έθεσε τις βάσεις για την περαιτέρω έρευνα και ανάπτυξη αντικαρκινικών χημικών ουσιών. [17]

Με την πάροδο του χρόνου, η χημειοθεραπεία καθιερώθηκε ως μία από τις πλέον διαδεδομένες μορφές αντικαρκινικής θεραπείας με κύριο στόχο την αναστολή του ταχέως πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, επιβραδύνοντας έτσι την ανάπτυξή τους ή οδηγώντας στην καταστροφή τους. Σε πολλές περιπτώσεις, η χημειοθεραπεία μπορεί να προηγηθεί μίας χειρουργικής αφαίρεσης του όγκου, καθώς συμβάλλει στη μείωση του μεγέθους του, διευκολύνοντας την επέμβαση και περιορίζοντας την έκταση της παρέμβασης στους παρακείμενους υγιείς ιστούς. Επιπλέον, σε ασθενείς με κακή πρόγνωση μπορεί να προταθεί με στόχο την ανακούφιση των συμπτωμάτων και τη βελτίωση της ποιότητας ζωής. [17], [18]

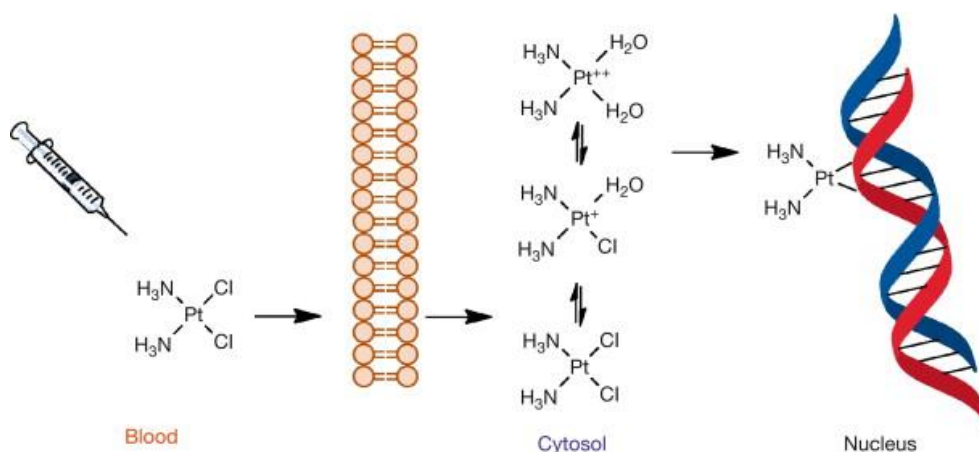
Ωστόσο, τα φάρμακα της χημειοθεραπείας δεν διαθέτουν στοχευμένη δράση, με αποτέλεσμα, παράλληλα με την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων, να επηρεάζονται και τα υγιή κύτταρα του οργανισμού. [18]

Τα υγιή κύτταρα που πλήττονται περισσότερο είναι εκείνα που εντοπίζονται στον βλεννογόνο της γαστρεντερικής οδού, στον μυελό των οστών και στους θύλακες των τριχών, καθώς χαρακτηρίζονται από υψηλό ρυθμό διαίρεσης. Το γεγονός αυτό εξηγεί την εμφάνιση ορισμένων από τις κύριες ανεπιθύμητες ενέργειες της χημειοθεραπείας, οι οποίες σχετίζονται με τη λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος, την υγεία των οστών και την πτώση των τριχών της κεφαλής και άλλων σημείων του σώματος. [18]

Η εφαρμογή της χημειοθεραπείας ακολουθεί συστηματική προσέγγιση, περιλαμβάνοντας τη χορήγηση επαναλαμβανόμενων δόσεων σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα. Τα διαστήματα αυτά ορίζονται από τα βιολογικά χαρακτηριστικά της νόσου, την ανταπόκριση του ασθενούς στη θεραπεία και τις ανεπιθύμητες ενέργειες που ενδέχεται να προκύψουν. Εξελίζεις στον τομέα της χημειοθεραπείας, καθιέρωσαν επιπλέον τη χημειοθεραπεία συνδυασμού, η οποία αφορά τη χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων που συνεργούν, δηλαδή τη χρήση παραπάνω του ενός φαρμάκου, και την έγκριση σημαντικών για την ιατρική κοινότητα φαρμάκων, όπως η σισπλατίνη και η πακλιταξέλη. [19]

Σήμερα, οι διαθέσιμοι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες ποικίλλουν και ταξινομούνται στις εξής κατηγορίες: αλκυλιούντες παράγοντες, αντιμεταβολίτες και αναστολείς, αντικαρκινικά αντιβιοτικά, καθώς και ορμόνες και ορμονικοί παράγοντες. [20]

Στους αλκυλιούντες παράγοντες περιλαμβάνονται η κυκλοφωσφαμίδη, η μεχλωραιθαμίνη και η σισπλατίνη, οι οποίες ασκούν την αντικαρκινική τους δράση μέσω σχηματισμού σταυροδέσμων στο DNA των καρκινικών κυττάρων. (Εικόνα 5) Η διαδικασία αυτή εμποδίζει τον αναδιπλασιασμό, τη διόρθωση και τη μεταγραφή του γενετικού υλικού, οδηγώντας σε κυτταρική απόπτωση. [19], [20]



Εικόνα 5: Η σισπλατίνη χορηγείται μέσω ενδοφλέβιας έγχυσης. Μετά την είσοδό της στο κύτταρο, σχηματίζονται θετικά φορτισμένα υδατικά σύμπλοκα, τα οποία δεσμεύονται στο DNA. [21]

Οι αντιμεταβολίτες και αναστολείς, όπως η μεθοτρεξάτη και η 5-φλουοροουρακίλη, λειτουργούν ως ψευδο-υποστρώματα, αναστέλλοντας βασικές βιοσυνθετικές οδούς που σχετίζονται με τη σύνθεση του DNA και του RNA, διαταράσσοντας έτσι την κυτταρική διαίρεση των καρκινικών κυττάρων. [20]

Στα αντικαρκινικά αντιβιοτικά συγκαταλέγεται η αδριαμυκίνη, η οποία προσδένεται στο DNA και αναστέλλει τη δράση ενζύμων, όπως οι τοποϊσομεράσες I και II. Η αναστολή αυτή διαταράσσει τη φυσιολογική δομή και λειτουργία του DNA, οδηγώντας σε κυτταρικές βλάβες που επηρεάζουν την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. [22]

Τέλος, στην κατηγορία των ορμονών και των ορμονικών παραγόντων εντάσσονται η ταμοξιφένη και η δεξαμεθαζόνη. Η ταμοξιφένη αποτελεί εκλεκτικό τροποποιητή του υποδοχέα των οιστρογόνων και δρα αναστέλλοντας τη δράση των οιστρογόνων σε οιστρογονοεξαρτώμενους καρκίνους του μαστού. Η δεξαμεθαζόνη, ένα συνθετικό κορτικοστεροειδές, παρουσιάζει ισχυρές αντιφλεγμονώδεις και ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες, συμβάλλοντας στη διαχείριση ορισμένων επιπλοκών που σχετίζονται με τη θεραπεία του καρκίνου. [23], [24]

## 1.2 Η Νανοϊατρική στον Καρκίνο

Από τα τέλη της δεκαετίας του 1990 έως σήμερα, η αναπόφευκτη καταστροφή των υγιών κυττάρων στους ασθενείς μετά τη χορήγηση χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, σε συνδυασμό με τις τοξικές παρενέργειες, οδήγησε τους ερευνητές στην αναζήτηση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων, όπως η στοχευμένη αντικαρκινική θεραπεία. Σημαντικό ρόλο σε αυτή την κατεύθυνση διαδραμάτισε η εστίαση της βιοϊατρικής στη μελέτη και βαθύτερη κατανόηση των δικτύων και μονοπατιών κυτταρικής σηματοδότησης, τα οποία ρυθμίζουν κρίσιμες διεργασίες, όπως η ανάπτυξη, η διαίρεση και η διαφοροποίηση των κυττάρων. Έτσι, ο σχεδιασμός στοχευμένων φαρμάκων, τα οποία δρουν σε συγκεκριμένα σηματοδοτικά μονοπάτια και επηρεάζουν άμεσα τις υποκείμενες βιολογικές διεργασίες των κυττάρων, σηματοδότησε την έναρξη μιας νέας εποχής στην κλινική ιατρική, στοχεύοντας σε θεραπείες πιο εξατομικευμένες, ακριβείς και με μειωμένες παρενέργειες. [17]

Η βασική ιδέα πίσω από την έρευνα και τον σχεδιασμό των στοχευμένων φαρμάκων είναι η ταυτοποίηση και η αναστολή των μονοπατιών σηματοδότησης και των πρωτεϊνών που είναι κρίσιμες για την ανάπτυξη των κακοηθειών. Οι μοριακοί στόχοι των φαρμάκων περιλαμβάνουν υποδοχείς, αυξητικούς παράγοντες, κινάσες, καθώς και μόρια που σχετίζονται με διαδικασίες της απόπτωσης και της αγγειογένεσης. [17]

Στα φυσιολογικά κύτταρα, αυτοί οι μηχανισμοί και παράγοντες λειτουργούν και εκφράζονται, αντίστοιχα, ομαλά, ανάλογα με τις ανάγκες του κυττάρου. Ωστόσο, στην περίπτωση των καρκινικών κυττάρων, συχνά παρατηρείται διαταραχή στους μηχανισμούς και υπερέκφραση ή ανώμαλη δραστηριότητα αυτών των μορίων. Επομένως, η στοχευμένη θεραπεία έχει ως στόχο την ακριβή και επιλεκτική παρέμβαση σε βιολογικά μόρια ή βιοχημικές διεργασίες, που διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη και την εξέλιξη του καρκίνου, με γνώμονα την ελαχιστοποίηση της επίδρασης στα φυσιολογικά κύτταρα και τον περιορισμό ανεπιθύμητων παρενεργειών. [17], [18]

### 1.2.1 Παθητική και Ενεργή στόχευση στη Νανοϊατρική

Η εκλεκτική διανομή του θεραπευτικού συστήματος από το νανο-σύστημα στον ιστό-στόχο επιτυγχάνεται μέσω δύο βασικών μηχανισμών: της παθητικής στόχευσης (passive targeting) και της ενεργητικής στόχευσης (active targeting). (Εικόνα 6) [2]

Συγκεκριμένα, η παθητική κατανομή του θεραπευτικού παράγοντα στον καρκινικό όγκο βασίζεται στο φαινόμενο της ενισχυμένης διαπερατότητας και κατακράτησης (Enhanced Permeability and Retention Effect, EPR). [2]

Χαρακτηριστικό που εμφανίζουν οι καρκινικοί όγκοι στην παθοφυσιολογία τους, όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενο κεφάλαιο, είναι η ενίσχυση της διαδικασίας της αγγειογένεσης, καθώς τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα καρκινικά κύτταρα εμφανίζουν πιο έντονες ανάγκες τόσο για οξυγόνο όσο και για θρεπτικά συστατικά. Μέσω της νεοαγγειογένεσης, δηλαδή της ανάπτυξης νέων αιμοφόρων αγγείων, εξασφαλίζεται η παροχή των απαραίτητων συστατικών για την επιβίωση και ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. [1]

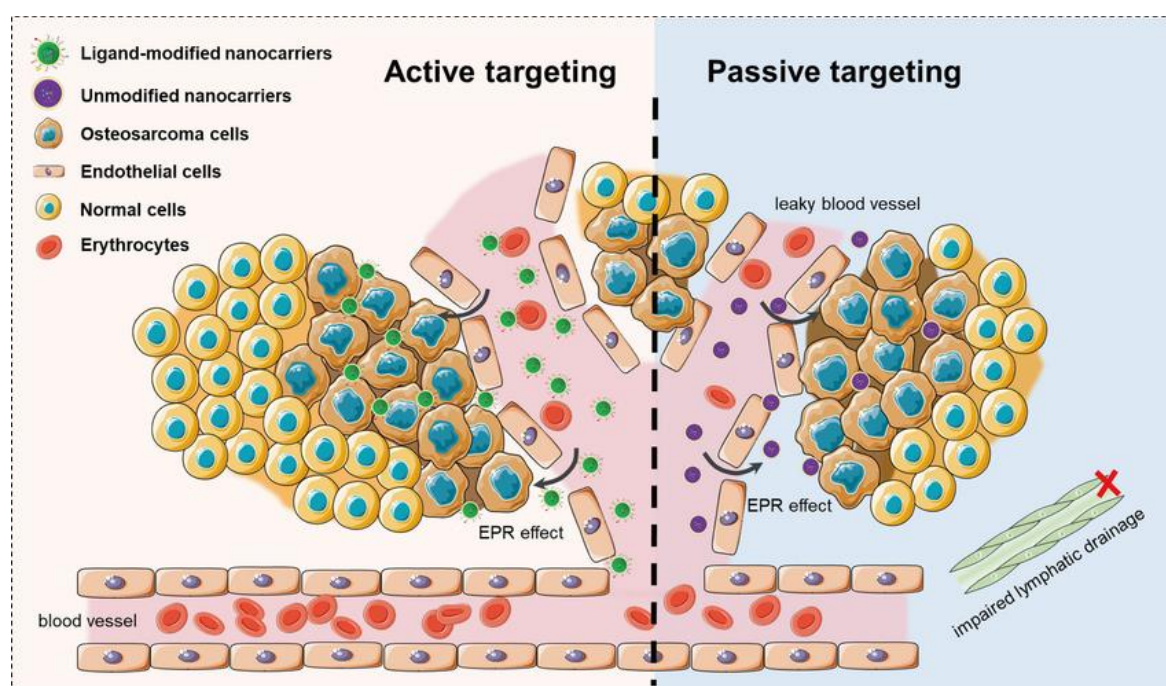
Ωστόσο, τα νεοσχηματισμένα αιμοφόρα αγγεία παρουσιάζουν ανώμαλη αρχιτεκτονική δομή, με κύριο χαρακτηριστικό τη μεγάλη διαπερατότητά τους. Η ιδιαίτερη αυτή μορφολογία είναι αξιοποιήσιμη, καθώς απαντάται αποκλειστικά σε καρκινικούς ιστούς και όχι σε φυσιολογικούς. Επιπλέον, η αυξημένη διαπερατότητα και η αποδιοργάνωση των αγγείων συμβάλλουν στην εκλεκτική και στοχευμένη διανομή του θεραπευτικού παράγοντα απευθείας στον καρκινικό όγκο. [2] Ένα ακόμη χαρακτηριστικό των αιμοφόρων αγγείων του όγκου είναι η μειωμένη λεμφική παροχέτευση, η οποία ενισχύει το φαινόμενο EPR, καθώς τα μόρια και οι νανοφορείς που διεισδύουν στον όγκο μέσω των διαπερατών αγγείων δεν μπορούν να απομακρυνθούν εύκολα μέσω του λεμφικού συστήματος. Το αποτέλεσμα είναι η παρατεταμένη συγκράτηση και συσσώρευσή τους εντός της κακοήθους μάζας, γεγονός που αυξάνει τη διάρκεια δράσης του θεραπευτικού παράγοντα. [2], [18]

Στην ενεργή διάθεση του θεραπευτικού μορίου στον καρκινικό όγκο, αξιοποιούνται μοριακοί στόχοι που εκφράζονται ή υπερεκφράζονται αποκλειστικά στα καρκινικά κύτταρα. Συγκεκριμένα, το σύστημα χορήγησης του φαρμάκου φέρει ένα ειδικό μόριο σύνδεσης (ligand), το οποίο διαθέτει υψηλή συγγένεια με τον αντίστοιχο μοριακό στόχο στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων. Μέσω αυτού του μηχανισμού,



επιτυγχάνεται η στοχευμένη πρόσληψη και ενδοκυττάρωση του θεραπευτικού φορέα εντός του καρκινικού κυττάρου. [2], [18]

Σημαντικοί μοριακοί στόχοι που έχουν μελετηθεί εκτενώς στην ενεργή στόχευση περιλαμβάνουν τους υποδοχείς του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, VEGFR, του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, EGFR, και του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2, HER-2. [25]



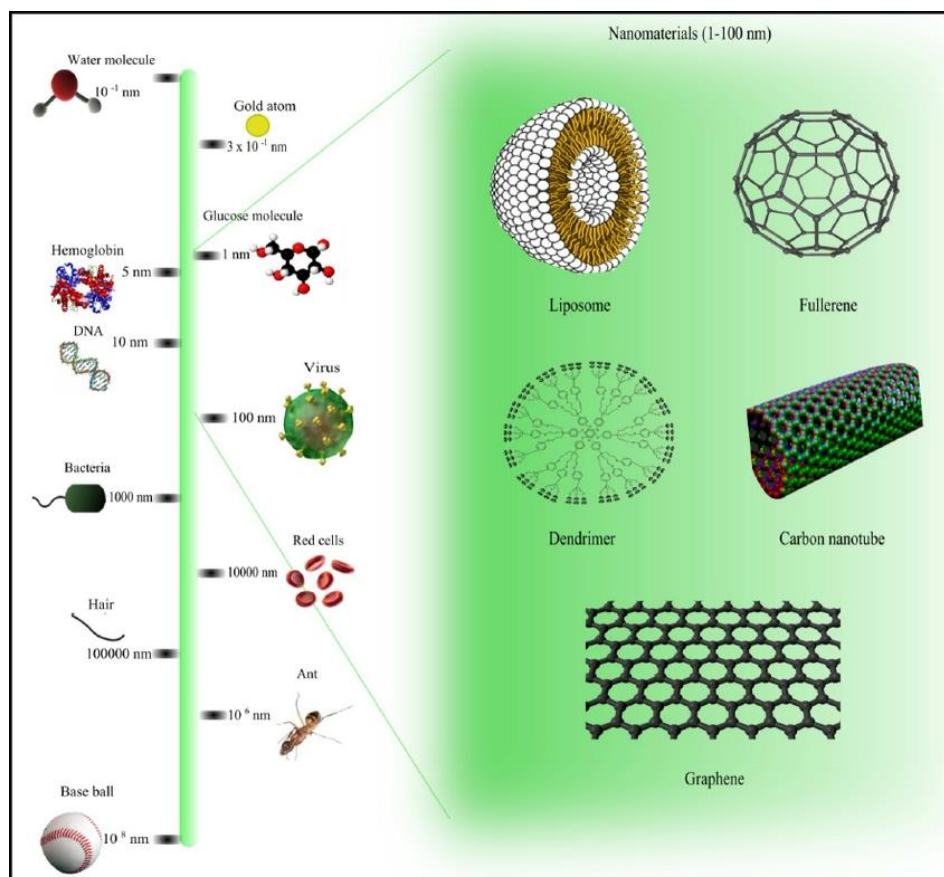
Εικόνα 6: Μια σχηματική απεικόνιση της ενεργής και παθητικής στόχευσης για την αντικαρκινική θεραπεία. Η παθητική στόχευση επιτυγχάνεται μέσω του φαινομένου της ενισχυμένης διαπερατότητας και κατακράτησης, όπου οι νανοφορείς κυκλοφορούν στην κυκλοφορία του αίματος, διαφεύγουν από τα αγγεία και συσσωρεύονται στον καρκινικό ιστό μέσω του διαπερατού αγγειακού συστήματος του όγκου. Αντίστοιχα, στην ενεργή στόχευση οι νανοφορείς που έχουν τροποποιηθεί με στοχευμένα μόρια (ligands) μπορούν να συνδεθούν με υποδοχείς που εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στα καρκινικά κύτταρα, επιτυγχάνοντας την τοπική χορήγηση του φαρμάκου ή την ενδοκύτωση του. [26]

### 1.2.2 Νανოსωματίδια ως Φορείς Φαρμάκων: Πλεονεκτήματα και Ρόλος στη σύγχρονη Ογκολογία

Για την αποτελεσματική εφαρμογή της παθητικής και ενεργής στόχευσης στην αντικαρκινική θεραπεία, η σύγχρονη έρευνα έχει επικεντρωθεί στην ανάπτυξη προηγμένων νανοσυστημάτων μεταφοράς φαρμάκων, γνωστών ως νανοφορέων. Αυτά τα κολλοειδή συστήματα νανοκλίμακας αξιοποιούν τις ιδιαίτερες φυσικοχημικές ιδιότητες των καρκινικών όγκων, επιτρέποντας τη στοχευμένη και ελεγχόμενη



απελευθέρωση των θεραπευτικών παραγόντων. (Εικόνα 7) Ο στόχος είναι η αύξηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας, καθώς και η μείωση της τοξικότητας στα υγιή κύτταρα, ξεπερνώντας περιορισμούς όπως η χαμηλή διαλυτότητα και η ανεξέλεγκτη κατανομή των δραστικών ουσιών. [18]



Εικόνα 7: Σύγκριση του μεγέθους διάφορων νανοφορέων με εκείνο άλλων κοινών υλικών και βιολογικών μορίων. [27]

Τα τελευταία χρόνια, η ανάπτυξη νανοφορέων από ανόργανα ή οργανικά υλικά έχει καταστεί βασικός άξονας έρευνας στη φαρμακευτική και τη νανοϊατρική. Κάθε τύπος νανοφορέα διαθέτει μοναδικά χαρακτηριστικά που τον καθιστούν κατάλληλο για συγκεκριμένες θεραπευτικές εφαρμογές, προσφέροντας νέες δυνατότητες στη στοχευμένη χορήγηση αντικαρκινικών φαρμάκων. [2]

Τα νανοσωματίδια, λοιπόν, ως φορείς φαρμακευτικών ουσιών, διαθέτουν μια σειρά από κοινά πλεονεκτήματα που δικαιολογούν τη διευρυμένη χρήση και τη συνεχή ερευνητική προσπάθεια για την περαιτέρω βελτιστοποίησή τους.

Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα των νανοφορέων έγκειται στο μέγεθός τους, συνήθως μεταξύ 1 και 100 nm, το οποίο επιδρά σημαντικά στην απόδοση τους στις

αντικαρκινικές θεραπείες. Το μέγεθος των νανοσωματιδίων ρυθμίζεται με τέτοιον τρόπο, ώστε να είναι επαρκώς μικρό για να διεισδύουν στον όγκο, λόγω της διαπερατότητας των αγγείων, ενώ παράλληλα να είναι αρκετά μεγάλο, ώστε να αποφύγουν την πρόωρη απομάκρυνση τους από τα φυσιολογικά αιμοφόρα αγγεία, μειώνοντας τη συσσώρευσή τους σε άλλα μέρη του σώματος. [28]

Σε αντίθεση με τις συμβατικές θεραπείες, στις οποίες συχνά παρατηρείται διάχυση των φαρμακευτικών ουσιών σε όλο τον οργανισμό, οι νανοφορείς στοχεύουν με μεγάλη ακρίβεια τα επιθυμητά κύτταρα και τους ιστούς στο σώμα. Έτσι, επιτρέπουν τη συσσώρευση των δραστικών ουσιών στο εσωτερικό των καρκινικών κυττάρων, περιορίζοντας τη βλάβη στους υγιείς ιστούς. Αυτό επιτυγχάνεται είτε μέσω παθητικής στόχευσης, όπου τα νανοσωματίδια εκμεταλλεύονται το φαινόμενο EPR, είτε μέσω ενεργούς στόχευσης, όπου η δυνατότητα λειτουργικής τροποποίησης της επιφάνειάς τους επιτρέπει τη σύνδεση των προστιθέμενων ειδικών μορίων με τους υπερεκφρασμένους υποδοχείς στα καρκινικά κύτταρα. [2], [25]

Εκτός από στοχευμένη, η χορήγηση των φαρμάκων μέσω νανοσωματιδίων είναι ελεγχόμενη και παρατεταμένη. Η ρύθμιση της απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας σε προκαθορισμένο ρυθμό είναι κρίσιμης σημασίας και εξασφαλίζει τη διατήρηση σταθερών επιπέδων στο αίμα. [29]

Ένα επιπλέον θεμελιώδες χαρακτηριστικό των νανοφορέων είναι η υψηλή αναλογία επιφάνειας προς όγκο. Η ιδιότητα αυτή προσδίδει την ικανότητα είτε ταυτόχρονης πρόσδεσης πολλαπλών φαρμακευτικών μορίων, επιτρέποντας την αποτελεσματική μεταφορά περισσότερων του ενός φαρμακευτικών ουσιών, είτε της δέσμευσης μεγαλύτερου φορτίου θεραπευτικών παραγόντων. Το πλεονέκτημα αυτής της δυνατότητας έγκειται τόσο στην αντιμετώπιση πολλαπλών στόχων όσο και στη δημιουργία συνεργιστικής δράσης μεταξύ των φαρμακευτικών ουσιών, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη θεραπευτική αποτελεσματικότητα και βελτιωμένη πρόγνωση για τον ασθενή. [18]

Ο συνδυασμός των παραπάνω ιδιοτήτων, του μεγέθους της νανοκλίμακας και της υψηλότερης αναλογίας επιφάνειας προς όγκο στα νανοσωματίδια, συμβάλλει καθοριστικά στην αντιμετώπιση προκλήσεων, όπως η χαμηλή διαλυτότητα των φαρμάκων, η οποία συχνά οδηγεί σε ανεπαρκή βιοδιαθεσιμότητα. Η μικρότερη διάσταση των νανοσωματιδίων αυξάνει την επιφάνεια που είναι διαθέσιμη για διάλυση

και με αυτό τον τρόπο το φάρμακο αλληλεπιδρά με τα βιολογικά υγρά, διαλύεται πιο αποτελεσματικά και απορροφάται, τελικά, καλύτερα από τον οργανισμό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της διαθεσιμότητας του φαρμάκου στα σημεία δράσης του και την αύξηση της θεραπευτικής του αποτελεσματικότητας και σταθερότητας. [29]

Η χρήση νανοφορέων συμβάλλει σημαντικά στην προστασία των φαρμακευτικών ουσιών από πρόωρη αποικοδόμηση και αποβολή, βελτιώνοντας έτσι τη σταθερότητα και τη θεραπευτική τους αποτελεσματικότητα. Πολλά φάρμακα είναι ευάλωτα σε αποδόμηση μέσω ενζύμων ή ταχεία απομάκρυνση από το ανοσοποιητικό σύστημα, γεγονός που περιορίζει τη βιοδιαθεσιμότητά τους και μειώνει τη διάρκεια δράσης τους στον οργανισμό. Η ενθυλάκωσή τους σε νανοσωματίδια παρέχει προστασία έναντι αυτών των μηχανισμών, εξασφαλίζοντας ότι η δραστική ουσία παραμένει σταθερή και βιολογικά ενεργή μέχρι να φτάσει στον επιθυμητό στόχο. Η προσέγγιση αυτή είναι ιδιαίτερα ωφέλιμη για την αποτελεσματική χορήγηση υδρόφοβων αντικαρκινικών φαρμάκων, τα οποία εμφανίζουν περιορισμένη διαλυτότητα στο υδάτινο περιβάλλον του οργανισμού. [29]

Επιπλέον, η τροποποίηση της επιφάνειας των νανοσωματιδίων, μέσω της προσθήκης υδρόφιλων πολυμερών, όπως η πολυαιθυλενογλυκόλη, PEG, συμβάλλει στη μείωση της αναγνώρισης και απομάκρυνσης τους από τα μακροφάγα. Ως αποτέλεσμα, παρατείνεται ο χρόνος ημιζωής του φαρμάκου στην κυκλοφορία του αίματος, επιτυγχάνοντας μεγαλύτερη διάρκεια δράσης και αυξημένη αποτελεσματικότητα. Αυτή η προσέγγιση βελτιώνει τη φαρμακοκινητική του φαρμάκου, εξασφαλίζοντας σταθερότερα επίπεδα δραστικής ουσίας στο αίμα και μειώνοντας την ανάγκη για συχνή χορήγηση. [18]

Συμπερασματικά, η χρήση νανοσωματιδίων στη χορήγηση φαρμάκων επιφέρει σημαντικές τροποποιήσεις στη φαρμακοκινητική τους, καθώς επηρεάζει κρίσιμες παραμέτρους όπως η διαλυτότητα, η βιοδιαθεσιμότητα, ο χρόνος ημιζωής και η κατανομή της δραστικής ουσίας στον οργανισμό. Ωστόσο, η φαρμακοδυναμική του φαρμάκου, δηλαδή ο τρόπος με τον οποίο αλληλεπιδρά με τον βιολογικό του στόχο για να επιφέρει το θεραπευτικό αποτέλεσμα, παραμένει σταθερή. Η θεραπευτική αποτελεσματικότητα του φαρμάκου βελτιώνεται, καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του στον επιθυμητό ιστό ή κύτταρο και περιορίζεται η τοξική έκθεση των υγιών ιστών, χωρίς να μεταβάλλεται ο εγγενής και δυναμικός μηχανισμός δράσης του.

## Κεφάλαιο 2 Σκοπός της Εργασίας

Ο καρκίνος παραμένει μία από τις κυριότερες αιτίες θνησιμότητας παγκοσμίως, με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, ΠΟΥ, να εκτιμά ότι η νόσος ευθύνεται για περίπου 10 εκατομμύρια θανάτους ετησίως. Παρά τις σημαντικές εξελίξεις στη διάγνωση και θεραπεία, η πρόκληση της αποτελεσματικής και εξατομικευμένης αντιμετώπισης εξακολουθεί να είναι κρίσιμη. Οι παραδοσιακές θεραπευτικές προσεγγίσεις, όπως η χημειοθεραπεία, ενώ προσφέρουν αποτελεσματικότητα σε αρκετές περιπτώσεις, εντούτοις χαρακτηρίζονται από σημαντικές παρενέργειες, καθώς στοχεύουν τόσο τα καρκινικά όσο και τα υγιή κύτταρα, με αποτέλεσμα την τοξικότητα και περιορισμούς στη δοσολογία.

Στο πλαίσιο αυτό, η σύγχρονη έρευνα έχει στραφεί προς νέες, πιο εξειδικευμένες θεραπευτικές στρατηγικές, με κύρια έμφαση στη χρήση στοχευμένων αντικαρκινικών φαρμάκων. Τα φάρμακα αυτά, σε συνδυασμό με ειδικά σχεδιασμένους νανοφορείς, επιτρέπουν την κατευθυνόμενη μεταφορά του δραστικού συστατικού αποκλειστικά στα καρκινικά κύτταρα, βελτιώνοντας την αποτελεσματικότητα της θεραπείας και μειώνοντας τις ανεπιθύμητες ενέργειες. Η νανοϊατρική, ως επιστημονικός κλάδος που συνδυάζει τη νανοτεχνολογία με τη βιοϊατρική, έχει ανοίξει νέους δρόμους στη διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου, ενισχύοντας την ακρίβεια και την ασφάλεια των θεραπευτικών παρεμβάσεων.

Η δυναμική παρακολούθηση της δράσης αυτών των στοχευμένων θεραπειών είναι ζωτικής σημασίας για την εξατομικευμένη ιατρική, καθώς επιτρέπει την αξιολόγηση της θεραπευτικής απόκρισης και της βιολογικής επίδρασης των φαρμάκων σε πραγματικό χρόνο. Η ταυτοποίηση και επικύρωση αξιόπιστων φαρμακοδυναμικών βιοδεικτών αποτελεί κεντρικό στόχο της σύγχρονης έρευνας, καθώς συμβάλλει στην ενίσχυση της εξατομικευμένης προσέγγισης, στη βελτιστοποίηση των θεραπευτικών πρωτοκόλλων και στην ακριβή παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η συστηματική ανασκόπηση των βιοδεικτών φαρμακοδυναμικής παρακολούθησης στοχευμένων αντικαρκινικών φαρμάκων, με έμφαση στα πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα. Μέσα από την αξιολόγηση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, επιδιώκεται η διερεύνηση τόσο των βιοδεικτών που ήδη

εφαρμόζονται στην κλινική πράξη όσο και εκείνων που βρίσκονται σε στάδιο ανάπτυξης, αναδεικνύοντας τις δυνατότητές τους στην περαιτέρω βελτίωση της θεραπευτικής προσέγγισης. Παράλληλα, εξετάζονται οι προοπτικές ενσωμάτωσής τους στη σύγχρονη κλινική πράξη, καθώς και οι προκλήσεις που σχετίζονται με την ανάπτυξη, την επικύρωση και την αξιοποίησή τους, προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφαλής και αποτελεσματική εφαρμογή τους σε παγκόσμιο επίπεδο.

## Κεφάλαιο 3 Στοχευμένα αντικαρκινικά φάρμακα

### 3.1 Οχήματα μεταφοράς στοχευμένων αντικαρκινικών φαρμάκων

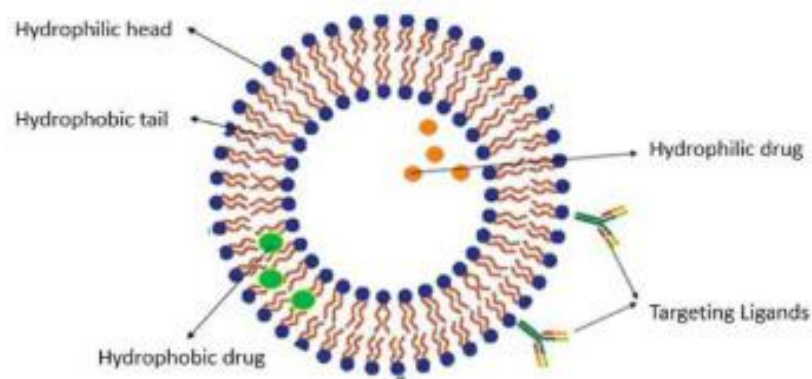
Στον τομέα της βιοϊατρικής έρευνας, η διάγνωση και η θεραπεία σοβαρών παθήσεων, όπως ο καρκίνος, αξιοποιούν καινοτόμες προσεγγίσεις, με μία από τις πλέον διαδεδομένες να είναι η χρήση νανοσωματιδίων ως «οχήματα» μεταφοράς φαρμακευτικών ουσιών. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα νανοσωματίδια που επιτελούν αυτόν τον ρόλο και έχουν διακριθεί για τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και τις εφαρμογές τους.

#### 3.1.1 Λιποσώματα

Στην κατηγορία των νανοσωματιδίων με βάση τα λιπίδια (Lipid-based NPs) ανήκουν τα λιποσώματα. Πρόκειται για αυτοσυναρμολογούμενα σφαιρικά κυστίδια, τα οποία αποτελούνται κυρίως από φωσφολιπίδια και περιβάλλουν ένα υδάτινο εσωτερικό περιεχόμενο. Η δομή τους μπορεί να περιλαμβάνει είτε μία διπλοστιβάδα λιπιδίων είτε πολλαπλές στιβάδες, οι οποίες σχηματίζουν ομόκεντρους δακτυλίους. Κάθε λιπιδική στιβάδα περικλείει μία υδατική περιοχή, δημιουργώντας μία εναλλασσόμενη δομή στιβάδας-υδατικού περιεχομένου. Το μέγεθος των λιποσωμάτων κυμαίνεται από 30 nm έως 1000 nm, ενώ η διπλοστιβάδα τους έχει πάχος περίπου 4-5 nm. [18]

Η μελέτη των λιποσωμάτων ξεκίνησε στα μέσα της δεκαετίας του 1960, με την πρώτη δημοσίευση της δομής τους το 1964. Έκτοτε, έχουν αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας ως φορείς φαρμάκων, πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και απεικονιστικών παραγόντων. Η χορήγησή τους μπορεί να πραγματοποιηθεί από του στόματος ή μέσω πνευμονικής, παρεντερικής, οφθαλμικής και ρινικής οδού. [30]

Η δομή των λιποσωμάτων, λόγω της αμφίφιλης φύσης τους, επιτρέπει τόσο την ενθυλάκωση υδρόφιλων αντικαρκινικών φαρμάκων στο εσωτερικό υδατικό περιβάλλον τους όσο και τη δέσμευση υδρόφοβων κυτταροτοξικών παραγόντων πάνω στη λιπιδική τους μεμβράνη. [31] Επιπλέον, τα λιποσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φορείς ενεργής στόχευσης μέσω της πρόσδεσης μονοκλωνικών αντισωμάτων ή τμημάτων αντισωμάτων στην επιφάνειά τους. (Εικόνα 8) [18]



Εικόνα 8: Η δομή του λιποσώματος. [31]

Είναι βιοαποικοδομήσιμα, καθώς η αποδόμηση και απομάκρυνση τους πραγματοποιείται εύκολα από τον οργανισμό, και εμφανίζουν βιοσυμβατό και σχεδόν βιολογικά αδρανές προφίλ, περιορίζοντας έτσι την πρόκληση τοξικών ή αλλεργικών αντιδράσεων στον ασθενή. [31]

Επιπλέον, διακρίνονται για τον αποτελεσματικό τους μηχανισμό κυτταρικής εσωτερίκευσης, κατά τον οποίο η λιπιδική μεμβράνη των λιποσωμάτων συγχωνεύεται με την κυτταρική μεμβράνη, ώστε να λάβει χώρα η είσοδος των μεταφερόμενων παραγόντων στο εσωτερικό των κυττάρων. Η επιφάνεια τους προσφέρει δυνατότητα τροποποιήσεων, με αποτέλεσμα τα τροποποιημένα λιποσώματα να εμφανίζουν εξαιρετικό φαρμακοκινητικό προφίλ και είναι ικανά να μεταφέρουν ποικιλία μορίων, όπως μόρια DNA, siRNA, πρωτεϊνών. Οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες μπορούν να τροποποιηθούν εύκολα, επηρεάζοντας το μέγεθος και το επιφανειακό φορτίο τους, όταν αυτό κρίνεται απαραίτητο. [18], [31]

Μέχρι στιγμής, έχουν εγκριθεί θεραπείες κατά του καρκίνου με τη χρήση λιποσωμάτων από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (Food and Drug Administration, FDA). Κάποιες από τις εγκεκριμένες και εμπορικά διαθέσιμες θεραπείες είναι οι Doxil®, Depocyt® και Marqibo®. Περαιτέρω κλινικές δομικές πραγματοποιούνται και σε άλλες λιποσωμικές συνθέσεις, με στόχο την αξιολόγηση της αντικαρκινικής τους δράσης και αποτελεσματικότητας. [31]

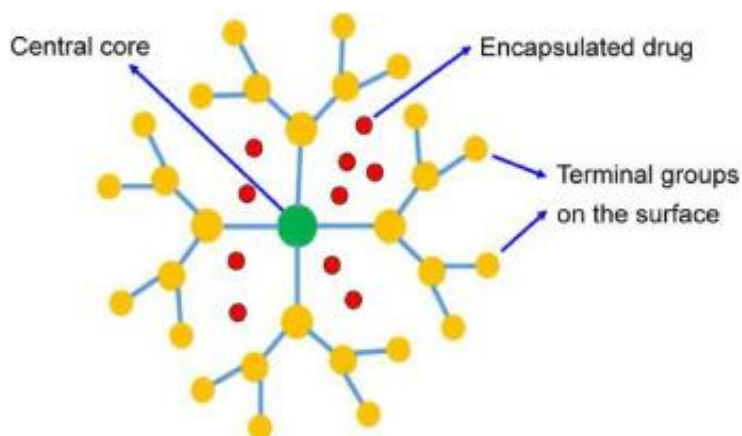
Ωστόσο, η χρήση των λιποσωμάτων συνοδεύεται από ορισμένους περιορισμούς. Συγκεκριμένα, εμφανίζουν χαμηλή διαλυτότητα στο αίμα και μικρό χρόνο ημιζωής σε αυτό, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει τη φαρμακοκινητική τους συμπεριφορά. Η διαλυτότητα και η σταθερότητα τους στο αίμα, καθώς κι ο χρόνος κυκλοφορίας τους

σε αυτό, μπορούν να βελτιωθούν μέσω τροποποίησης της επιφάνειάς τους με προσθήκη PEG. [18], [31]

Τέλος, η ενδοφλέβια ένεση λιποσωμικών φαρμάκων έχει συσχετιστεί με την πρόκληση «ψευδο-αλλεργίας που σχετίζεται με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος» (Complement Activation-Related Pseudo-Allergy, CARPA), μίας φαρμακογενούς οξείας ανοσοτοξικότητας που εκδηλώνεται με αντιδράσεις υπερευαισθησίας. [18]

### 3.1.2 Δενδριμερή

Στην κατηγορία των πολυμερικών νανοφορέων ανήκουν τα δενδριμερή. Πρόκειται για σφαιρικά πολυδιακλαδισμένα μακρομόρια, τα οποία μπορούν να συντεθούν από φυσικά ή συνθετικά υλικά. Η μοναδική τους δομή αποτελείται από έναν κεντρικό πυρήνα, μια σειρά επαναλαμβανόμενων διακλαδώσεων που εκτείνονται από τον πυρήνα και μία εξωτερική διακλαδισμένη στιβάδα. (Εικόνα 9) [31]



Εικόνα 9: Η δομή του δενδριμερούς. [31]

Τα δενδριμερή ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά το 1978 και το πρώτο δενδριμερές, το οποίο συντέθηκε στο εργαστήριο, ήταν η πολυαμιδοαμίνη, γνωστή και ως PAMAM, με αμμωνία για πυρήνα του. [31]

Χαρακτηρίζονται από ομοιομορφία στις ιδιότητες τους. Διαθέτουν, δηλαδή, καλά καθορισμένο σχήμα και μονοδιάσπαρτο μέγεθος και προσφέρουν δυνατότητα τροποποιήσεων και ακριβούς ρύθμισης των χαρακτηριστικών τους, προσφέροντας μεγάλη ευελιξία στην εφαρμογή τους. Η ομοιομορφία τους διαδραματίζει σημαντικό



ρόλο στην ικανότητα τους να διαπερνούν την μεμβράνη των καρκινικών κυττάρων και να εναποθέτουν στο σημείο που πρέπει τον φαρμακευτικό παράγοντα. [18]

Η δυνατότητα ελέγχου της σύνθεσης τους δίνει τη δυνατότητα ρύθμισης της φαρμακοκινητικής και βιοσυμβατότητας, ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες. Επιπλέον, τα δενδριμερή έχουν καλή υδατοδιαλυτότητα και υψηλή ικανότητα φόρτωσης φαρμακευτικών ή/και μη παραγόντων, καθώς προσφέρουν τη δυνατότητα ταυτόχρονης πρόσδεσης πολλαπλών μορίων. Στην επιφάνεια τους γίνεται ομοιοπολική σύζευξη των λειτουργικών ομάδων, με στόχο είτε την αλλαγή της λειτουργικότητας τους είτε την πρόσδεση σε αυτές των φαρμάκων, ενώ στο εσωτερικό τους μπορεί να ενθυλακώνεται μη ομοιοπολικά ο θεραπευτικός παράγοντας. [18] Το φορτίο που μεταφέρουν τα δενδριμερή, εκτός από φάρμακα, μπορεί να είναι μόρια DNA, siRNA και αντισώματα. Συχνά, προσδένονται στην επιφάνεια των δενδριμερών ειδικά ligands, τα οποία αναγνωρίζονται από υποδοχείς που υπερεκφράζονται στα καρκινικά κύτταρα. [32]

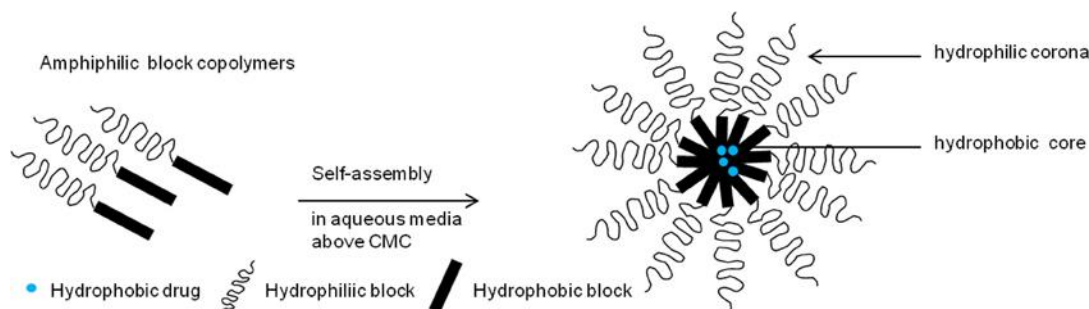
Για να μπορέσουν οι επιστήμονες να αξιοποιήσουν όλα αυτά τα χρήσιμα χαρακτηριστικά των δενδριμερών, διεξάγονται ήδη έρευνες ώστε να βρεθούν νέες και πιο οικονομικές στρατηγικές παραγωγής δενδριμερών σε εμπορική κλίμακα, καθώς οι μέχρι τώρα γνωστές τεχνικές σύνθεσης είναι πολύπλοκες και απαιτούν αυξημένο κόστος παραγωγής. [31]

Σε έρευνα τους κατά του καρκίνου, οι Yao και Ma, επέλεξαν ως φορείς των φαρμακευτικών ουσιών τα δενδριμερή. Αξιοποιώντας τη δυνατότητα ρύθμισης του μεγέθους τους, κατέληξαν στη σύνθεση ενός συμπλόκου βιοτινυλιωμένου δενδριμερούς PAMAM με το αντικαρκινικό φάρμακο πακλιταξέλη και απέδειξαν την αύξηση της πρόσληψής του από τα καρκινικά κύτταρα-στόχους με ακολουθούμενη τη μείωση της κυτταροτοξικότητας του. [32]

### **3.1.3 Πολυμερικά Μικκύλια**

Τα μικκύλια αποτελούν αυτοσυναρμολογούμενες νανοδομές, σχηματιζόμενες από αμφίφιλα συμπολυμερή ή λιπιδικά μόρια και διαθέτουν έναν λιπόφιλο πυρήνα και ένα υδρόφιλο κέλυφος. Η δομή τους είναι τέτοια, ώστε ο λιπόφιλος πυρήνας να μπορεί να ενθυλακώνει τα δυσδιάλυτα κυτταροτοξικά φάρμακα, ενώ η υδρόφιλη εξωτερική στιβάδα να μπορεί να αλληλεπιδρά με τα υδατοδιαλυτά φάρμακα. [33]

Τα μικκύλια σχηματίζονται όταν αμφίφιλα μόρια προστεθούν σε υδατικό διάλυμα και η συγκέντρωσή τους υπερβεί ένα κρίσιμο όριο, γνωστό ως κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση (Critical Micelle Concentration, CMC). Όταν η συγκέντρωση των αμφίφιλων μορίων βρίσκεται κάτω από το συγκεκριμένο όριο, αυτά παραμένουν ως μεμονωμένα μονομερή διαλυμένα στο διάλυμα. Ωστόσο, μόλις η συγκέντρωσή τους ξεπεράσει την CMC, τα μόρια αυτοοργανώνονται σε σφαιρικές δομές, σχηματίζοντας μικκύλια. (Εικόνα 10) [31]



*Εικόνα 10: Πολυμερές μικκύλιο φορτωμένο με φαρμακευτική ουσία, σχηματισμένο μέσω αυτοσυναρμολόγησης αμφίφιλων συμπολυμερών σε υδατικό περιβάλλον. [33]*

Το υδρόφιλο κέλυφος προσδίδει σταθερότητα για την κυκλοφορία του μικκυλίου στο αίμα, εξασφαλίζοντας μεγαλύτερη διάρκεια κυκλοφορίας και αποτρέποντας την πρόωρη αποικοδόμηση του. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η φαρμακευτική ουσία να μεταφέρεται πιο αποτελεσματικά στον επιθυμητό βιολογικό στόχο. Η σταθερότητα τους στο αίμα είναι και ο λόγος που τα καθιστά ως κατάλληλους φορείς για ενδοφλέβια χορήγηση φαρμάκων. [18]

Το μέγεθος των πολυμερών μικκυλίων, το οποίο κυμαίνεται μεταξύ 20 και 80 nm, συμβάλλει επίσης στην παρατεταμένη κυκλοφορία τους στο αίμα. Η μικρή τους διάσταση, σε συνδυασμό με τη σταθερότητά τους, επιτρέπει την ενισχυμένη διαπερατότητα μέσω των αιμοφόρων αγγείων, διευκολύνοντας τη στοχευμένη μεταφορά των φαρμακευτικών ουσιών στους καρκινικούς όγκους. Παράλληλα, η ικανότητά τους να κατανέμουν ομοιόμορφα το ενθυλακωμένο κυτταροτοξικό φάρμακο σε ολόκληρο τον καρκινικό όγκο συμβάλλει στη βελτίωση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας, ελαχιστοποιώντας τον κίνδυνο τοξικότητας στους υγιείς ιστούς. Αυτή η στοχευμένη προσέγγιση επιτρέπει τη μέγιστη αξιοποίηση της αντικαρκινικής θεραπείας, περιορίζοντας παράλληλα τις ανεπιθύμητες ενέργειες. [18], [33]

Όταν η αυτοσυναρμολογούμενη δομή του νανοσωματιδίου σχηματίζεται από δύο ή περισσότερους τύπους πολυμερών ή επιφανειοδραστικών μορίων, το μικκύλιο χαρακτηρίζεται ως μικτό. Ο σχεδιασμός τέτοιων φορέων αποσκοπεί στην ενίσχυση των ιδιοτήτων τους, με κύρια πλεονεκτήματα αυτών να είναι η υψηλότερη ικανότητα φόρτωσης και η ελεγχόμενη αποδέσμευση των φαρμάκων, η αυξημένη σταθερότητα και η συνολικά βελτιωμένη στοχευμένη λειτουργία τους. Όπως και στα συμβατικά μικκύλια, έτσι και στα μικτά, η διαμόρφωση αποτελείται από έναν υδρόφοβο πυρήνα και μία υδρόφιλη περιοχή στην επιφάνεια. [33]

### **3.1.4 Νανοςωματίδια Άνθρακα**

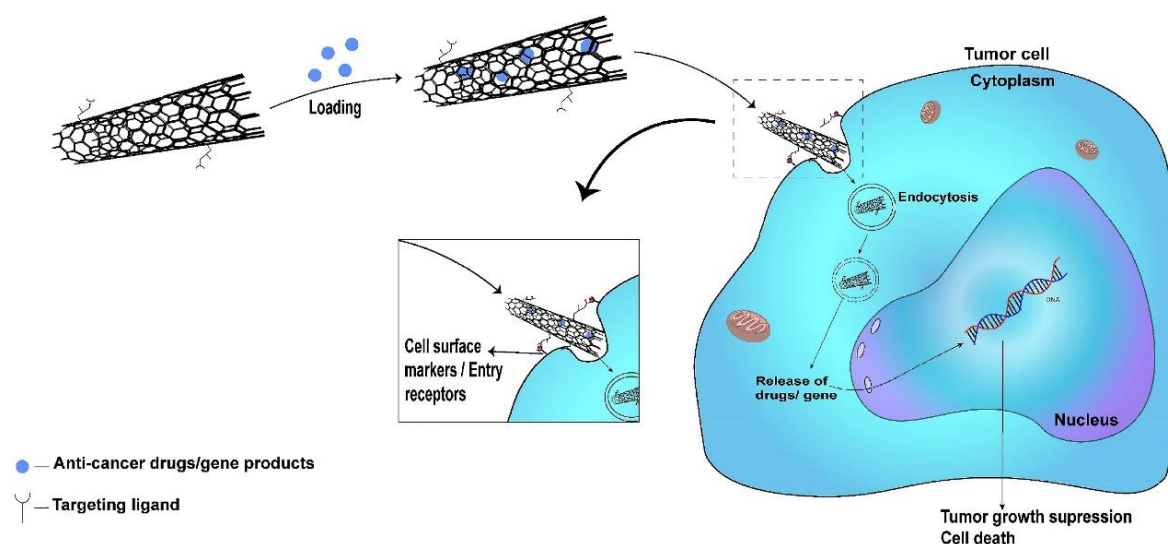
Το 1991, αναπτύχθηκαν για πρώτη φορά από τον Ijima νανοφορείς από άνθρακα. Πρόκειται για τους νανოსωλήνες άνθρακα, CNTs, οι οποίοι είναι κυλινδρικές δομές από φύλλα γραφίτη σε νανοκλίμακα και διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες: τους νανοςωλήνες ενός τοιχώματος (Single Walled Carbon Nanotubes, SWCNTs) και τους νανοςωλήνες με πολλαπλά τοιχώματα (Multi-Walled Carbon Nanotubes, MWCNTs). Ανάλογα με την εκάστοτε εφαρμογή, οι διάμετροι και τα μήκη τους μπορούν να τροποποιηθούν, και είναι ιδιαίτερα σύνηθες τα άκρα τους να καλύπτονται από δομές φουλερενίου. [31]

Διαθέτουν εξαιρετικές ιδιότητες σχετικά με τη θερμική αγωγιμότητα και την ελαστικότητα τους, οι οποίες αξιοποιούνται ιδιαίτερα στη βιοϊατρική. Συγκεκριμένα, η θερμική τους αγωγιμότητα είναι τέτοια, ώστε να είναι ανθεκτικά σε θερμοκρασίες μεταξύ 750 °C και 2800 °C σε κενό και ατμοσφαιρική πίεση, ενώ η ελαστικότητα τους τους προσδίδει την ικανότητα κάμψης και συστροφής χωρίς να παρουσιάζουν μηχανικές βλάβες υπό την επίδραση αξονικών θλιπτικών δυνάμεων. [31]

Ωστόσο, πολλές φορές η υδρόφοβη φύση των νανοςωλήνων απαιτεί την τροποποίηση τους με πολυαιθυλενογλυκόλη ή θειικό δωδεκυλικό νάτριο, ώστε να αυξηθεί η διαλυτότητα τους, ενώ η τάση τους προς συσσωμάτωση απαιτεί την αντίστοιχη τροποποίηση τους με ειδικά ligands στην επιφάνεια τους. [31]

Η υψηλή αναλογία διαστάσεων των νανοςωλήνων, δηλαδή το χαρακτηριστικό τους ότι το μήκος τους είναι μεγαλύτερο από το πλάτος τους, τους επιτρέπει να διαπερνούν αποτελεσματικά τις κυτταρικές μεμβράνες. Έτσι, κατά την παθητική διάχυσή τους διεισδύουν στο εσωτερικό των κυττάρων μέσω απλής διάχυσης με ελάχιστη δαπάνη

ενέργειας. Ένας άλλος τρόπος να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη είναι μέσω ενδοκυττάρωσης με εσωτερίκευση των νανοσωλήνων σε κυστίδια και με μετέπειτα συγχώνευσή τους με λυσοσώματα. Το όξινο περιβάλλον των λυσοσωμάτων οδηγεί στην απελευθέρωση του θεραπευτικού παράγοντα που μεταφέρουν τα νανοσωματίδια, είτε λόγω αλλαγής διαμόρφωσης του νανοσωλήνα είτε λόγω πυροδότησης της διάσπασης του φαρμάκου από τους φορείς. Αφότου ολοκληρωθεί η ενδοκυτταρική απελευθέρωση του φαρμάκου ή του εκάστοτε βιομορίου, οι νανοσωλήνες βιοαποικοδομούνται ή αποβάλλονται μέσω εξωκυττάρωσης με την βοήθεια κυτταρικών οργανιδίων. Έτσι, μειώνεται και ο κίνδυνος τοξικότητας, προερχόμενος από τους CNTs. (Εικόνα 11) [34]



Εικόνα 11: Μηχανισμός κυτταρικής εισόδου των SWCNTs - φορτωμένοι με φάρμακα ή άλλα βιομόρια εισέρχονται στο κύτταρο είτε μέσω ενδοκυττάρωσης είτε μέσω κυτταρικών πόρων, απελευθερώνοντας το θεραπευτικό φορτίο τους στο κυτταρόπλασμα. [34]

Μία ακόμη κατηγορία νανοσωματιδίων με βάση τον άνθρακα, που έχει τραβήξει το ενδιαφέρον των ερευνητών τα τελευταία χρόνια, είναι τα νανοφύλλα από οξείδια του γραφενίου. Σε μελέτη των Xu και συνεργατών, τα εν λόγω νανοσωματίδια συνδέθηκαν με τον αντικαρκινικό παράγοντα πακλιταξέλη μέσω αμινοποιημένων αλυσίδων πολυαιθυλενογλυκόλης και χορηγήθηκαν σε πειραματικό μοντέλο ποντικών με μελάνωμα. Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας έδειξαν ότι τα φύλλα από οξείδια του γραφενίου παρουσίασαν αυξημένο χρόνο παραμονής στην κυκλοφορία του αίματος συγκριτικά με τη χορήγηση του φαρμάκου χωρίς νανοφορέα. Ταυτόχρονα, η στόχευση

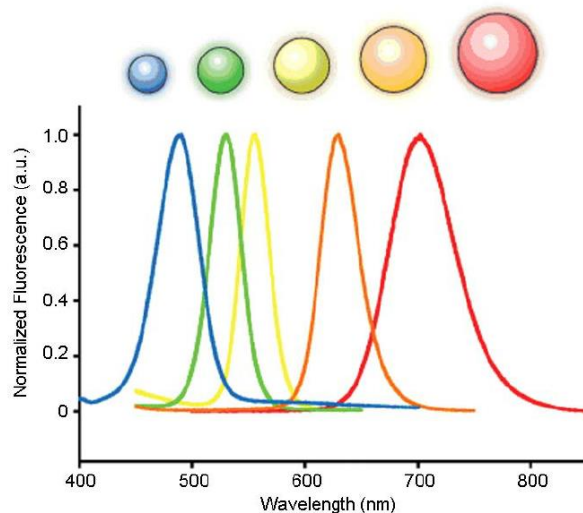
του καρκινικού όγκου πραγματοποιήθηκε μέσω μηχανισμών με εξαιρετική απόδοση, εξαιρετικών μηχανισμών, καθιστώντας τα νανοσωματίδια αυτά ως αποτελεσματικούς φορείς φαρμάκων και υποψηφίους για περαιτέρω μελέτη της δράσης τους. [31]

Εκτός από τις δύο παραπάνω κατηγορίες νανοσωματιδίων άνθρακα, υπάρχουν και οι εξής υπό μελέτη ομάδες: οι νανοϊνες και τα φουλερένια. Στο σύνολο τους, τα νανοσωματίδια άνθρακα παρουσιάζουν ιδιαίτερες μηχανικές, μαγνητικές, θερμικές, οπτικές και ηλεκτρικές ιδιότητες. [18]

### 3.1.5 Κβαντικές Τελείες

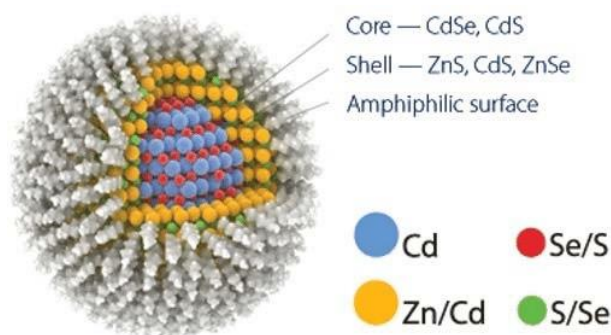
Οι κβαντικές τελείες, QDs, ορίζονται ως κolloειδείς νανοκρύσταλλοι ημιαγωγών με διαστάσεις της τάξης των μερικών νανομέτρων, 2 – 10 nm. Χρησιμοποιούνται ως φθορίζοντες ανιχνευτές, καθώς παρουσιάζουν εξαιρετικές ηλεκτρονικές ιδιότητες, όπως η εκπομπή φωτός με ένταση που μπορεί να ρυθμιστεί και η ικανότητα εκπομπής φωτός σε διαφορετικά μήκη κύματος όταν διεγείρονται. Ο φθορισμός που παρατηρείται οφείλεται στην εκπομπή ενός φωτονίου, η ενέργεια του οποίου είναι ίση με το ενεργειακό χάσμα μεταξύ της ζώνης σθένους και της ζώνης αγωγιμότητας. Συγκεκριμένα, όταν λάβει χώρα η απορρόφηση ενός φωτονίου υψηλής ενέργειας, διεγείρεται ένα ηλεκτρόνιο από τη ζώνη σθένους προς τη ζώνη αγωγιμότητας με τελικό σχηματισμό ενός ζεύγους ηλεκτρονίου – οπής. Κατά την αποδιέγερση, το ηλεκτρόνιο επιστρέφει στη ζώνη σθένους επανασυνδεόμενο με την οπή, με αποτέλεσμα την εκπομπή φωτονίου, το οποίο παρατηρείται με την εμφάνιση φθορισμού. [31]

Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των κβαντικών τελειών μπορούν εύκολα να τροποποιηθούν, ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες και το πεδίο εφαρμογής τους, μεταβάλλοντας το μέγεθος και το σχήμα τους. Επομένως το χρώμα του φωτός εκπομπής μπορεί να οριστεί από το κατάλληλο μέγεθος. Κβαντικές τελείες μεγαλύτερου μεγέθους απορροφούν φωτόνια χαμηλότερης ενέργειας, εκπέμποντας σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, δηλαδή προς το υπέρυθρο τμήμα του φάσματος. Το αντίθετο συμβαίνει για τις κβαντικές τελείες μικρότερου μεγέθους, εκπέμποντας φως προς το υπεριώδες τμήμα του φάσματος. (Εικόνα 12) [35]



Εικόνα 12: Φάσματα εκπομπής φθορισμού QDs ανάλογα με το μέγεθος των σωματιδίων. Το μήκος κύματος εκπομπής φθορισμού των QDs εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων, με τα μεγαλύτερα σωματίδια να εκπέμπουν σε μεγαλύτερα μήκη κύματος. [35]

Οι κβαντικές τελείες διαμορφώνονται ως εξής: αποτελούνται από έναν ημιαγώγιμο πυρήνα (CdSe, CdTe, PbSe), ο οποίος καλύπτεται από ένα κέλυφος, συνήθως σχηματιζόμενο από θειούχο ψευδάργυρο (ZnS), με κύριο ρόλο την προστασία του πυρήνα και την ενίσχυση των οπτικών ιδιοτήτων της κβαντικής τελείας. Τρίτο στοιχείο της δομής μίας κβαντικής τελείας είναι ο εξωτερικός φλοιός της, ο οποίος αποτελείται από αμφίφιλα πολυμερή. Τα πολυμερή αυτά προσδίδουν στην κβαντική τελεία ιδιότητες τόσο βιοσυμβατότητας όσο και σταθερότητας σε βιολογικά υγρά σε συνδυασμό με την κατάλληλη διαλυτότητα. Επίσης, τα αμφίφιλα πολυμερή στην εξωτερική επιφάνεια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη δράση των κβαντικών τελειών, καθώς λειτουργούν ως βάση επιφανειακής πρόσδεσης ειδικών μορίων στόχευσης. (Εικόνα 13) [31], [36]



Εικόνα 13: Σχηματική αναπαράσταση της δομής πυρήνα-κελύφους μιας κβαντικής τελείας, όπου ο πυρήνας αποτελείται συνήθως από CdS και CdSe, ενώ το κέλυφος αποτελείται τυπικά από ZnS, ZnSe και CdS. [36]



Η χρήση τους δεν περιορίζεται μόνο στη δράση τους ως φορείς φαρμακευτικών ουσιών, αλλά συναντώνται εξίσου και στην απεικόνιση όγκων για διαγνωστικούς σκοπούς, εφόσον οπτικοποιείται η στόχευση των εκάστοτε βιομορίων με την εκπομπή φωτός. Επιπλέον, λειτουργούν ως φωτοευαίσθητοποιητές, όπου η επιλογή φωτός συγκεκριμένου μήκους κύματος και ο συνδυασμός του με οξυγόνο οδηγεί στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου. Τα μόρια αυτά προκαλούν οξειδωτική βλάβη στα καρκινικά κύτταρα, οδηγώντας στην επιλεκτική απόπτωση τους. Η δράση τους αυτή εντάσσεται στην κατηγορία της φωτοδυναμικής θεραπείας. [18]

Παρά τις ιδιαίτερες ιδιότητες και τα πλεονεκτήματα τους, η *in vivo* εφαρμογή των κβαντικών τελειών στον τομέα της βιοϊατρικής περιορίζεται λόγω του κινδύνου τοξικότητας που συνδέεται με τη χρήση υλικών όπως το κάδμιο και το σελήνιο. Τα QDs αυτά μπορούν να εισέλθουν στο αναπνευστικό σύστημα και μέσω εναπόθεσης τους στους βρόγχους να προκαλέσουν σοβαρά προβλήματα. Πέραν της πιθανής τοξικότητας στον ανθρώπινο οργανισμό, υπάρχουν ενδείξεις για την εναπόθεση και μακροπρόθεσμη συσσώρευση των μετάλλων αυτών και στο περιβάλλον. Επομένως, τα επίπεδα τοξικότητας των νανοσωματιδίων αυτών χρήζει περαιτέρω διερεύνησης, ώστε η χρήση των QDs να είναι ασφαλής σε όλα τα πεδία εφαρμογής τους, ιδιαίτερα στους τομείς της βιοϊατρικής και φαρμακευτικής. [31]

### **3.1.6 Νανοςωματίδια Χρυσού**

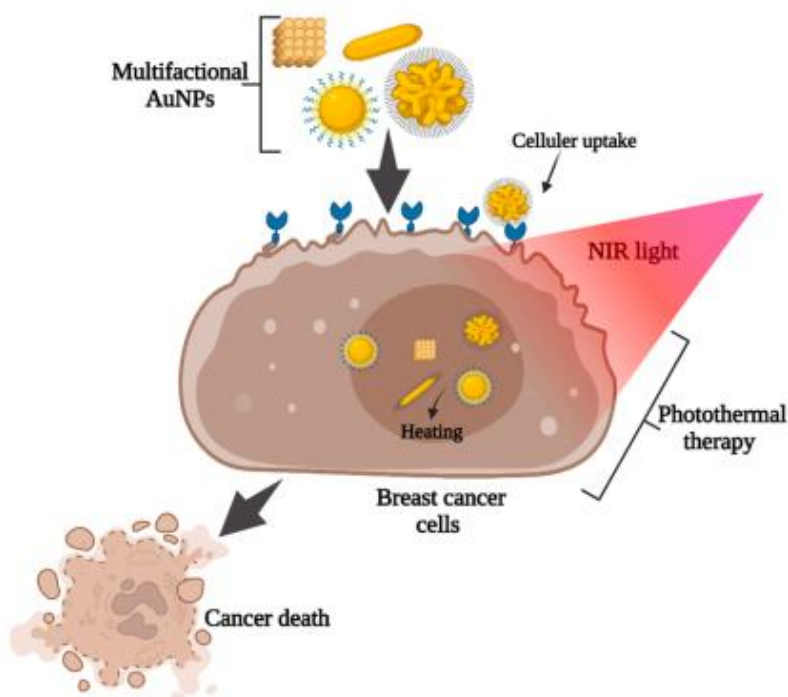
Ο χρυσός, ως πολύτιμο μέταλλο, εντοπίζεται στους πρώτους κιόλας κινεζικούς, αραβικούς και ινδικούς πολιτισμούς ως σημαντικό εργαλείο για την αντιμετώπιση και θεραπεία ασθενειών. Έκτοτε, η χρήση του χρυσού στον τομέα της ιατρικής έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτενούς έρευνας, με τις πιο πρόσφατες μελέτες να έχουν επίκεντρο τα νανοςωματίδια χρυσού, AuNPs. [31]

Τα νανοςωματίδια χρυσού δρουν ως φορείς χορήγησης φαρμακευτικών παραγόντων για τη στοχευμένη τους δράση κατά των καρκινικών κυττάρων, ως παράγοντες στη φωτοθερμική θεραπεία καρκινικών όγκων και ως βιοαισθητήρες στον τομέα της διάγνωσης για διάφορες ασθένειες. [18], [31]

Στις εφαρμογές αυτές αξιοποιούνται τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των AuNPs, τα οποία περιλαμβάνουν τη βιοσυμβατότητα, τη χημική αδράνεια και τις οπτικές και ηλεκτρονικές ιδιότητες τους, οι οποίες μπορούν να τροποποιηθούν και να

ρυθμίζονται με βάση το πεδίο εφαρμογής κάθε φορά. Τα μικρότερα σωματίδια διαθέτουν λιγότερα γειτονικά άτομα στην επιφάνειά τους, οδηγώντας σε λιγότερους γειτονικούς δεσμούς λόγω εξασθενημένων ελκτικών δυνάμεων. Έτσι, χρειάζονται χαμηλότερες θερμοκρασίες προκειμένου να λιώσουν, επομένως το σημείο τήξης των AuNPs μειώνεται όσο μειώνεται το μέγεθος των σωματιδίων. [31]

Η δυνατότητα ρύθμισης των θερμικών ιδιοτήτων στα AuNPs αποτελεί πολύτιμο εργαλείο και αξιοποιείται κυρίως στη φωτοθεραπεία μέσω της επαγόμενης υπερθερμίας. Τα νανοσωματίδια χρυσού απορροφούν εύκολα στο εγγύς υπέρυθρο, NIR, 700-1000 nm, σε αντίθεση με τους βιολογικούς ιστούς, οι οποίοι δεν απορροφούν σημαντικά στο εύρος αυτό. Έτσι, η ακτινοβολία διαπερνά τους ιστούς με ελάχιστη απορρόφηση και μπορεί να διεισδύσει βαθύτερα σε σημεία των ιστών, όπως στους καρκινικούς όγκους. Με την εφαρμογή ακτινοβολίας λέιζερ, λοιπόν, πραγματοποιείται επιλεκτική απορρόφηση φωτός από τα νανοσωματίδια που έχουν εισαχθεί, η οποία μετατρέπεται σε θερμότητα, και ως αποτέλεσμα η θερμοκρασία γύρω από την περιοχή του καρκινικού όγκου-στόχου αυξάνεται. Η πρόκληση της υπερθερμίας πυροδοτεί τον κυτταρικό θάνατο στα καρκινικά κύτταρα, ενώ ταυτόχρονα δεν επηρεάζει τους γύρω υγιείς ιστούς. (Εικόνα 14) [31], [37]



Εικόνα 14: Φωτοθερμική θεραπεία με νανοσωματίδια χρυσού προκαλώντας θερμική καταστροφή των όγκων. [37]



## **3.2 Στόχοι των Στοχευμένων Αντικαρκινικών Φαρμάκων στα Καρκινικά Κύτταρα**

### **3.2.1 Άμεση και Έμμεση Προσέγγιση στην ενεργητική Στόχευση στην Αντικαρκινική Θεραπεία**

Κατά την ενεργητική στόχευση, η προσέγγιση του στόχου στα καρκινικά κύτταρα μπορεί να επιτευχθεί με δύο τρόπους: την άμεση και την έμμεση προσέγγιση, καθεμία εκ των οποίων λειτουργεί με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης. [25]

Η άμεση προσέγγιση αφορά τη στόχευση αντιγόνων ή πρωτεϊνών του καρκινικού όγκου μέσω της χρήσης μονοκλωνικών αντισωμάτων ή μικρών φαρμακευτικών μορίων. Από τη μία πλευρά, η δράση των μονοκλωνικών αντισωμάτων βασίζεται στην επιλεκτική σύνδεση τους με τα αντισώματα, τα οποία εκφράζονται στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων. Το σχηματιζόμενο αυτό σύμπλοκο είτε αναστέλλει βασικά μονοπάτια σηματοδότησης είτε προωθεί αντιδράσεις ανοσολογικού τύπου, οι οποίες οδηγούν στη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων. Από την άλλη πλευρά, τα μικρά φαρμακευτικά μόρια που χρησιμοποιούνται κατά την άμεση προσέγγιση επηρεάζουν τη δράση ενζύμων ή γενικότερα άλλων πρωτεϊνών, που διαδραματίζουν αντίστοιχα κρίσιμο ρόλο σε βασικές για την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων οδούς σηματοδότησης. [18], [25]

Αντίθετα, η έμμεση προσέγγιση αφορά τη στόχευση παραγόντων του μικροπεριβάλλοντος του καρκινικού όγκου, οι οποίοι εμπλέκονται σε διαδικασίες σχετικές με την ανάπτυξη του. Ένα παράδειγμα μίας τέτοιας διεργασίας είναι η αγγειογένεση, η οποία, όπως έχει επεξηγηθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, ορίζεται ως η αυξημένη δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων με στόχο την παροχή των απαραίτητων για τον καρκινικό όγκο θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου. Επομένως, η έμμεση προσέγγιση στην περίπτωση αυτή θα στοχεύσει τα επιθηλιακά κύτταρα των αιμοφόρων αγγείων του καρκινικού όγκου-στόχου, με τελικό σκοπό την αναστολή της αιμάτωσης και, κατά συνέπεια, την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του. [18], [25]

### **3.2.2 Μονοκλωνικά Αντισώματα στόχευσης του EGFR**

Ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, EGFR, υπερεκφράζεται σε διάφορους τύπους καρκίνου και είναι ο πρώτος μοριακός στόχος για τον οποίο

σχεδιάστηκαν και αναπτύχθηκαν μονοκλωνικά αντισώματα, mAbs, με στόχο τη θεραπεία του καρκίνου. [38]

Συγκεκριμένα, ο EGFR είναι ένας υποδοχέας αυξητικού παράγοντα που εντοπίζεται στην κυτταρική μεμβράνη και διαθέτει δράση κινάσης τυροσίνης, διαδραματίζοντας κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση των μονοπατιών μεταγωγής σημάτων τόσο στα φυσιολογικά όσο και στα καρκινικά κύτταρα. Ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων EGFR, στην οποία περιλαμβάνονται επίσης τα μέλη ERBB2/HER2/NEU, ERBB3/HER3 και ERBB4/HER4, και έχει μελετηθεί εκτενώς λόγω της σημασίας του στη μεταγωγή σήματος και την ογκογένεση. Η υπερέκφραση του EGFR παρατηρείται σε διάφορους τύπους καρκίνου, με κυριότερους τον καρκίνο του πνεύμονα, του παχέος εντέρου, της κεφαλής και του τραχήλου, καθώς και τον καρκίνο του μαστού. [38]

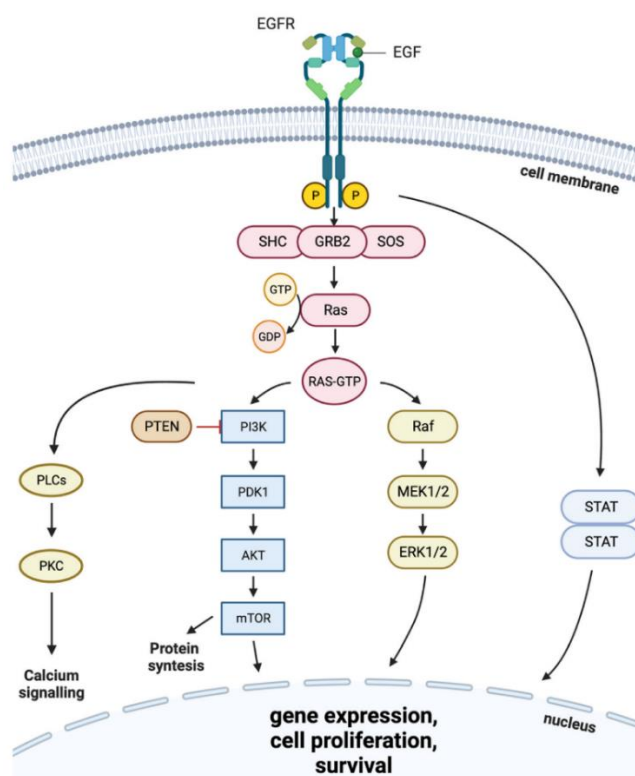
Ο βασικός μηχανισμός ενεργοποίησης των υποδοχέων κινάσης τυροσίνης απαιτεί την ταυτόχρονη πρόσδεση αυξητικών παραγόντων ή συνδετικών μορίων στα εξωκυττάρια τμήματα δύο υποδοχέων, οδηγώντας στον σχηματισμό ενεργοποιημένων διμερών. Η διαμόρφωση του EGFR μεταβάλλεται, επιτρέποντας στα ενδοκυτταρικά του τμήματα κινάσης να καταλύουν τη φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης εντός της ενδοκυτταρικής καρβοξυτελικής τερματικής περιοχής του υποδοχέα. Η φωσφορυλίωση αυτή ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση, ενώ κάθε φωσφορυλιωμένο κατάλοιπο τυροσίνης λειτουργεί ως θέση πρόσδεσης για διαφορετικές ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες, οι οποίες με τη σειρά τους μεταδίδουν το σήμα στο εσωτερικό του κυττάρου, ενεργοποιώντας πολλαπλά μονοπάτια μεταγωγής σήματος. [38], [39]

Έτσι, η φωσφορυλίωση επιπλέον καταλοίπων τυροσίνης δημιουργεί θέσεις πρόσδεσης για πρωτεΐνες προσαρμοστές ή ένζυμα, τα οποία διαθέτουν περιοχές αναγνώρισης των φωσφορυλιωμένων καταλοίπων. Η σύνδεση αυτών των μορίων πυροδοτεί την ενεργοποίηση μονοπατιών μεταγωγής σημάτων, τα οποία ρυθμίζουν θεμελιώδεις κυτταρικές διεργασίες, όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων. Μετά την ενεργοποίησή τους, οι υποδοχείς EGFR είτε αποικοδομούνται είτε ανακυκλώνονται, επιστρέφοντας στην κυτταρική μεμβράνη για περαιτέρω χρήση. [38]

Τα σχηματιζόμενα διμερή μπορεί να είναι είτε ομοδιμερή, όταν αποτελούνται από δύο υποδοχείς EGFR, είτε ετεροδιμερή, όταν ο EGFR σχηματίζει σύμπλοκο με έναν άλλον υποδοχέα της ίδιας οικογένειας. Ο τύπος του διμερούς καθορίζει τα μονοπάτια ενεργοποίησης και απόκρισης που θα πυροδοτηθούν. Τα μόρια που λειτουργούν ως

συνδέτες ενεργοποίησης περιλαμβάνουν τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGF), τον μετασχηματιστικό αυξητικό παράγοντα – άλφα (TGF- $\alpha$ ), την αμφιρεγουλίνη και τη νευρεγουλίνη. [38]

Το πολύπλοκο δίκτυο σηματοδότησης που ενεργοποιείται μέσω του EGFR περιλαμβάνει διάφορα μονοπάτια με κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση κυτταρικών διεργασιών. Συγκεκριμένα, το μονοπάτι της πρωτεϊνικής κινάσης RAS και της ενεργοποιούμενης από μιτογόνα πρωτεϊνικής κινάσης MAPK συμβάλλουν στην ενεργοποίηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, ενώ παράλληλα το μονοπάτι μεταγωγής σήματος PI3K, κινάση της φωσφατιδυλινοσιτόλης-3, και της πρωτεϊνικής κινάσης B, Akt, ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και την επιβίωση των κυττάρων. (Εικόνα 15) [38]



Εικόνα 15: Ενδοκυτταρική σηματοδότηση EGFR. [39]

Τα μονοκλωνικά αντισώματα δρουν στοχευμένα έναντι αντιγόνων, τα οποία είτε εμφανίζονται μοναδικά σε έναν συγκεκριμένο καρκινικό τύπο είτε υπερεκφράζονται και άρα εντοπίζονται σε υψηλότερα επίπεδα στα καρκινικά κύτταρα συγκριτικά με τα φυσιολογικά. Τα στοχευμένα αντισώματα δρουν με τον εξής κύριο μηχανισμό: τα

mAbs προσδένονται στους υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων, είτε εμποδίζοντας την πρόσδεση των αντίστοιχων συνδετών στους υποδοχείς, είτε διαταράσσοντας την ενεργοποίησή τους. Έτσι, αναστέλλουν τη σηματοδότηση των υποδοχέων των αυξητικών παραγόντων στα καρκινικά κύτταρα, προκαλώντας τον θάνατό τους. [40]

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο EGFR υπερεκφράζεται σε πολλούς και διαφορετικούς καρκινικούς τύπους και καθορίζει τη σηματοδότηση ποικίλων μονοπατιών ανάπτυξης των κυττάρων. Η κετουξιμάμπη (cetuximab), λοιπόν, είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, προσδένεται σε αυτόν και εμποδίζει τη δέσμευση του συνδέτη, του μοριακού παράγοντα EGF, καθώς και τον επακόλουθο διμερισμό του. Έτσι, προκαλείται διαταραχή στα σηματοδοτικά μονοπάτια που σχετίζονται με την κυτταρική διαίρεση και την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, οδηγώντας στην απόπτωση αυτών. [40]

Αντίθετα από τον EGFR, ο υποδοχέας HER2 δεν απαιτεί την άμεση σύνδεση κάποιου μοριακού παράγοντα για να ενεργοποιηθεί. Λειτουργεί μέσω ετεροδιμερισμού, σχηματίζοντας σύμπλοκα με άλλους υποδοχείς της ίδιας οικογένειας, όπως ο EGFR, ο HER3 ή ο HER4. Η δημιουργία των διμερών οδηγεί στην ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών, ρυθμίζοντας την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Ο HER2, όταν υπερεκφράζεται, προκαλεί την υπεράριθμη εκκίνηση αυτών των μονοπατιών οδηγώντας σε ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, αλλά και στην επιθετικότητα ορισμένων καρκινικών όγκων. Η υπερέκφραση του HER2 εντοπίζεται κυρίως στον καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών. [40]

Η στοχευμένη παρέμβαση με μονοκλωνικά αντισώματα, όπως η τραστουζουμάμπη (trastuzumab), στον υποδοχέα HER2 είναι ζωτικής σημασίας, καθώς αναστέλλει τον ετεροδιμερισμό των υποδοχέων και, συνεπώς, την πορεία της σηματοδότησης. Η τραστουζουμάμπη αποτελεί το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα που έχει εγκριθεί από τον FDA με δράση κατά του υποδοχέα HER2 και χορηγείται κυρίως σε ασθενείς με HER2-θετικό καρκίνο του μαστού. [18], [40]

### **3.2.3 Μονοκλωνικά Αντισώματα στόχευσης του VEGFR**

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας, VEGF, είναι ένας πρωτεϊνικός παράγοντας, ο οποίος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της αγγειογένεσης. Παράλληλα, βέβαια, προωθεί και άλλες κρίσιμες διεργασίες, όπως η

λεμφική ανάπτυξη, ο πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων και η μετανάστευσή τους, καθώς και η απελευθέρωση μονοξειδίου του αζώτου, η οποία προκαλεί αγγειοδιαστολή. [25], [41]

Στην οικογένεια των αγγειακών ενδοθηλιακών αυξητικών παραγόντων VEGF ανήκουν οι VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D και ο πλακουντιακός αυξητικός παράγοντας PlGF. Πρόκειται για διμερείς γλυκοπρωτεΐνες με μοριακό βάρος περίπου 40 kDa. [41]

Η δομή τους αποτελείται από κατάλοιπα κυστεΐνης, τα οποία σχηματίζουν δισουλφιδικούς δεσμούς. Μέσω αυτών των δεσμών, πραγματοποιείται και η σύνδεση διαφορετικών μορίων VEGF. Οι πέντε βασικές κατηγορίες της οικογένειας VEGF περιλαμβάνουν η καθεμία με τη σειρά της διαφορετικές παραλλαγές ωρίμανσης. Για παράδειγμα, ο VEGF-A αποτελεί την πιο καλά χαρακτηρισμένη και μελετημένη ισομορφή και εντοπίζεται σε διάφορες μορφές, όπως VEGF-A121, VEGF-A145, VEGF-A165, VEGF-A189 και VEGF-A206. Διαφορετικές ισομορφές του VEGF-A παρουσιάζουν διαφορετική συγγένεια ως προς τους συνυποδοχείς, τις νευροπιλίνες και τις θεϊκές πρωτεογλυκάνες ηπαρίνης, τροποποιώντας κάθε φορά τη σηματοδότηση, ανάλογα με τη δέσμευση που λαμβάνει χώρα – ή την απουσία αυτής – και τις ανάγκες του κυττάρου. Η διαφοροποιημένη συγγένεια των ισομορφών εξηγεί τον πολυδιάστατο ρόλο του VEGF στο σύνολό του. [41]

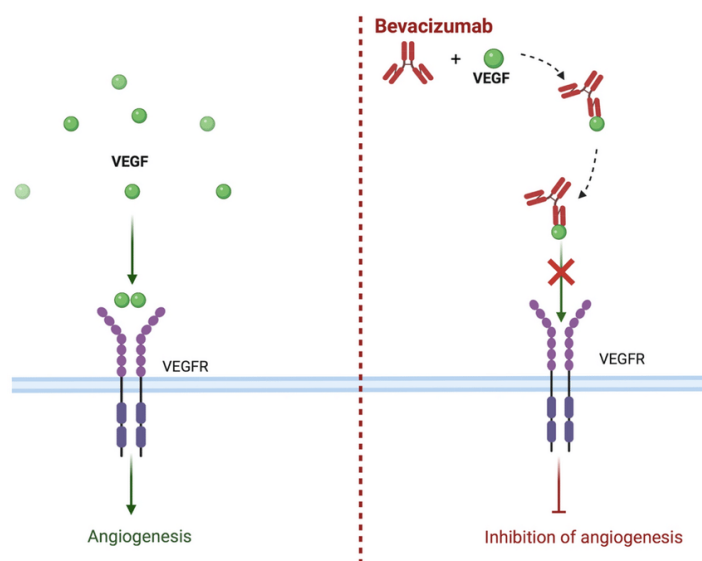
Οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται για τη ρύθμιση των διεργασιών είναι τρεις: VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR/Flk-1) και VEGFR-3 (Flt-4) και είναι υποδοχείς με δράση κινάσης τυροσίνης. Σε συγκεκριμένα σημεία της εξωκυττάριας περιοχής τους πραγματοποιείται η πρόσδεση του μορίου-συνδέτη, η οποία θα οδηγήσει σε διμερισμό του υποδοχέα, δημιουργία ομοδιμερών ή ετεροδιμερών, και σε μεταφοσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης, υποδεικνύοντας την εκκίνηση ενδοκυττάριας σηματοδοτικών μονοπατιών. [41]

Το σύστημα σηματοδότησης VEGF/VEGFR εμπλέκεται σε πολλαπλές πτυχές της καρκινογένεσης. Συγκεκριμένα, οι υποδοχείς VEGFR έχουν βρεθεί να υπερεκφράζονται σε διάφορους καρκινικούς τύπους, όπως στον καρκίνο του μαστού, του πνεύμονα και του στομάχου. Η αυξημένη τους έκφραση αποτελεί συχνά ένδειξη κακής πρόγνωσης, όπως έχει παρατηρηθεί στον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, NSCLC. [41]

Σε μοντέλα ποντικών με ξеноμοσχεύματα καρκινώματος του πνεύμονα, η αναστολή του VEGF-A οδηγεί σε μειωμένη ανάπτυξη του νεοπλασματικού όγκου, περιορισμό της αγγειογένεσης και της μετάστασης, καθώς και σε επαγωγή της απόπτωσης. Ταυτόχρονα, στον καρκίνο του μαστού, η υπερέκφραση VEGF-A προωθεί τόσο την ανάπτυξη όσο και την μετάσταση των καρκινικών κυττάρων του μαστού, *in vitro* και *in vivo*. Αντίστοιχα, σε ζωικά μοντέλα η αναστολή του VEGF-A οδηγεί σε περιορισμό της ανάπτυξης του πρωτογενούς όγκου στον μαστό και παράλληλα εμποδίζει τις μεταστάσεις στον πνεύμονα. Στον καρκίνο του στομάχου, υπερέκφραση των VEGF-A και VEGF-C σχετίζεται με δυσμενή πρόγνωση και αυξημένη πιθανότητα μετάστασης, με την αναστολή των παραπάνω παραγόντων να οδηγεί σε μείωση του μεγέθους του όγκου, *in vitro* και *in vivo*. [41]

Με βάση τα παραπάνω ευρήματα, η εμπλοκή του VEGF στην καρκινογένεση και την εξέλιξή της είναι φανερή, καθιστώντας τον έναν υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο για διάφορους καρκινικούς τύπους. Σύγχρονες μελέτες περιλαμβάνουν τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων και αξιοποιούν τη στοχευμένη δράση τους έναντι του VEGF, με στόχο την αναστολή της αγγειογένεσης.

Η μπεβασιζουμάμπη (bevacizumab) αποτελεί mAb, το οποίο στοχεύει ειδικά τον VEGF-A και συνδέεται με αυτόν σε ειδική περιοχή, η οποία ταυτόχρονα αποτελεί το σημείο αλληλεπίδρασης με τον VEGFR-2. Με αυτό τον τρόπο, εμποδίζει τον σχηματισμό του συμπλόκου VEGF-A με VEGFR-2, με αποτέλεσμα τη διατάραξη του σηματοδοτικού μονοπατιού που προάγει την αγγειογένεση. (Εικόνα 16) [41]



Εικόνα 16: Μηχανισμός δράσης της μπεβασιζουμάμπης: Αναστολή της αλληλεπίδρασης VEGF-A/VEGFR-2 και παρεμπόδιση της αγγειογένεσης. [42]

Η έγκριση για χρήση της στη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου του παχέος εντέρου έλαβε χώρα το 2004 από τον FDA σε συνδυασμό με την παροχή χημειοθεραπείας. Είκοσι χρόνια μετά, η μπεβασιζουμάμπη συνίσταται ευρέως ως θεραπευτική ουσία κατά διάφορων τύπων καρκίνου, όπως κατά του μεταστατικού μη πλακώδους NSCLC, του μεταστατικού νεφροκυτταρικού καρκινώματος, του καρκίνου του μαστού και του επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών. [18], [41]

### **3.2.4 Υποδοχείς Τρανσφερρίνης**

Ο σίδηρος αποτελεί ένα πολύτιμο για τον οργανισμό στοιχείο, το οποίο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε ποικίλες βιολογικές διεργασίες. Εμπλέκεται στην κυτταρική διαίρεση και τον μεταβολισμό και συναντάται στις ομάδες αίμης των κυτοχρωμάτων, ενώ ταυτόχρονα αποτελεί το βασικό στοιχείο της αίμης στο μόριο της αιμοσφαιρίνης και μυοσφαιρίνης. Έτσι, συμβάλλει τόσο στην παραγωγή DNA και άλλων βιομορίων, όπως κολλαγόνου, στεροειδών ορμονών, όσο και στη σωστή λειτουργία του μηχανισμού μεταφοράς οξυγόνου στους ιστούς. [43]

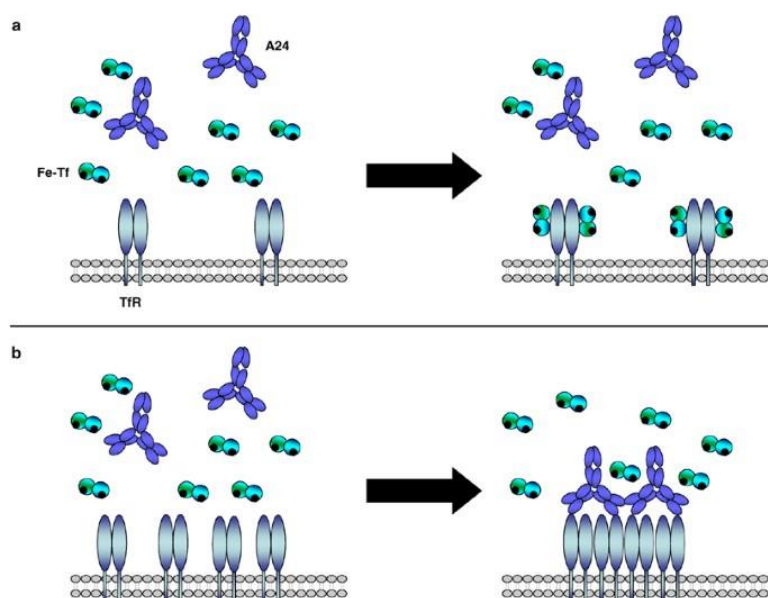
Η απορρύθμιση των λειτουργικών μηχανισμών του σιδήρου στον οργανισμό μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, αυξάνοντας την πιθανότητα εκδήλωσης μεταβολικών και νευροεκφυλιστικών διαταραχών και διάφορων μορφών καρκίνου. Η συσχέτιση των διαταραχών του μεταβολισμού του σιδήρου με την καρκινογένεση βασίζεται στον στοιχειώδη ρόλο του σιδήρου στις βασικές κυτταρικές διεργασίες και στην αυξημένη για σίδηρο ανάγκη των καρκινικών κυττάρων, και έτσι έχει οδηγήσει τους ερευνητές να αναπτύξουν θεραπευτικές προσεγγίσεις με επίκεντρο τον ενδοκυτταρικό σίδηρο. [25], [43]

Η τρανσφερρίνη, TF, αποτελεί την κύρια πρωτεΐνη μεταφοράς του οξυγόνου στην κυκλοφορία του αίματος και διαθέτει δύο ειδικές θέσεις δέσμευσης του σιδήρου, Fe (III). Το σύμπλοκο αυτό προσδένεται στον υποδοχέα της τρανσφερρίνης, TFR1, και μέσω ενδοκυττάρωσης πραγματοποιείται η πρόσληψη του σιδήρου. Οι υποδοχείς αυτοί είναι γλυκοπρωτεΐνες και εντοπίζονται στη μεμβράνη των κυττάρων. Στους καρκινικούς όγκους, ο αυξημένος ρυθμός πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων αυξάνει με τη σειρά του τη ζήτηση των κυττάρων αυτών για σίδηρο, λόγω της αυξημένης ανάγκης σχηματισμού αίμης. Η εκτενής μελέτη του μηχανισμού αυτού υπέδειξε την υπερέκφραση του TFR1 σε διάφορους καρκινικούς τύπους. [43]

Σε νεοπλασματικούς όγκους του ήπατος, του μαστού, του πνεύμονα και του παχέος εντέρου ο TFR1 έχει εντοπιστεί να υπερεκφράζεται, επηρεάζοντας κύριες διεργασίες, όπως τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Ως αποτέλεσμα, ο TFR1 έχει αποτελέσει αντικείμενο έντονου επιστημονικού ενδιαφέροντος και πλέον έναν από τους βασικούς στόχους των νέων και εξελιγμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων στη στοχευμένη αντικαρκινική θεραπεία. [43]

Το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα που σχεδιάστηκε για να στοχεύσει τον TFR1 είναι το αντίσωμα B3/25, το οποίο ανταγωνίζεται για τη σύνδεση του σε αυτόν. Μία πιο σύγχρονη θεραπευτική προσέγγιση, περιλαμβάνει το μονοκλωνικό αντίσωμα A24, το οποίο είναι ανταγωνιστικό όσον αφορά τον υποδοχέα TFR1 με την τρανσφερρίνη και η δέσμευση του A24 στον υποδοχέα εμποδίζει την πρόσληψη του σιδήρου από το κύτταρο, οδηγώντας σε ενδοκυτταρική στέρηση σιδήρου. (Εικόνα 17) [44]

Επιπλέον, το mAb A24 συμβάλλει στην ενδοκυττάρωση του υποδοχέα σε λυσοσωμικά διαμερίσματα, όπου λαμβάνει χώρα και η αποικοδόμησή του. Σε κλινικά περιστατικά λευχαιμίας, το mAb A24 έχει βρεθεί να στοχεύει αποτελεσματικά τον υποδοχέα TFR, οδηγώντας σε εξάντληση του ενδοκυτταρικού σιδήρου σε T-κύτταρα λευχαιμίας ενηλίκων ασθενών, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. [44], [45]

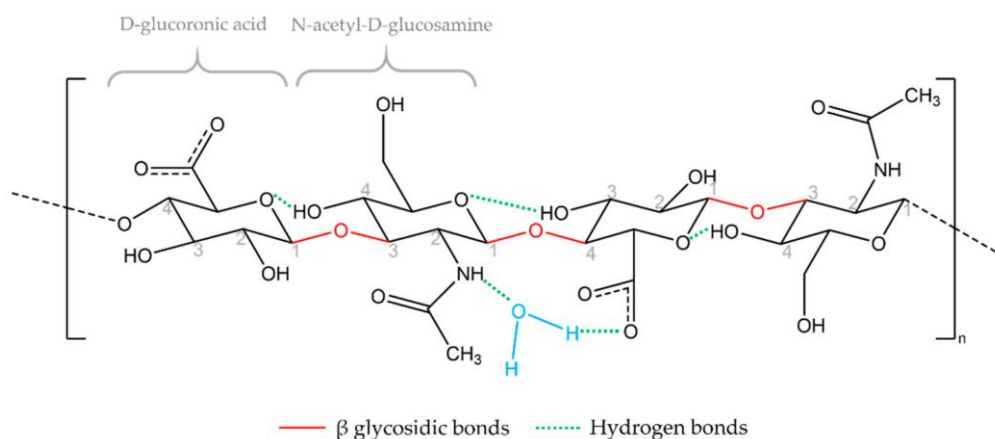


Εικόνα 17: Ανταγωνισμός του A24 με το Fe-Tf για τη δέσμευση στον υποδοχέα. Α) Σε κύτταρα με χαμηλή έκφραση TFR-1, η πρόσδεση του Fe-Tf στον υποδοχέα είναι ευνοϊκότερη λόγω της υψηλότερης συγγένειάς του. Β) Σε κύτταρα με υψηλή έκφραση TFR-1, η διπλή φύση του A24 αυξάνει την ικανότητά του για δέσμευση, μειώνοντας τον ρυθμό διάστασης και ευνοώντας τη δέσμευσή του στον υποδοχέα. [45]



### 3.2.5 Υαλουρονικό οξύ και CD44 υποδοχείς

Το υαλουρονικό οξύ, HA, ανήκει στην κατηγορία των υδατανθράκων και, πιο συγκεκριμένα, αποτελεί έναν γραμμικό βλεννοπολυσακχαρίτη, αποτελούμενο από μια σειρά επαναλαμβανόμενων δισακχαριτικών μονάδων, του D-γλυκουρονικού οξέος, GlcA, και της N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης, GlcNAc. Οι επαναλαμβανόμενες αυτές μονάδες συνδέονται μέσω εναλλασσόμενων  $\beta$ -1,4 και  $\beta$ -1,3 γλυκοζιτικών δεσμών, μεταξύ τους. (Εικόνα 18) [46]



Εικόνα 18: Χημική δομή του υαλουρονικού οξέος, αποτελούμενη από επαναλαμβανόμενες δισακχαριτικές μονάδες D-γλυκουρονικού οξέος και N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης. [47]

Το HA απαντάται σε όλους τους ζώντες οργανισμούς, είτε ως συστατικό βιολογικών υγρών είτε ως θεμελιώδες στοιχείο των ιστών, με κυριότερη παρουσία στην εξωκυττάρια μήτρα, ιδιαίτερα στο υαλοειδές σώμα και το αρθρικό υγρό των σπονδυλωτών. Ο ρόλος που διαδραματίζει είναι δομικός, καθώς, μέσω της αλληλεπίδρασης του με πρωτεογλυκάνες και συνδετικές πρωτεΐνες, οργανώνει και διασφαλίζει τη διατήρηση της δομικής σταθερότητας στις εξωκυττάρια και περικυτταρικές μήτρες. Παράλληλα, αποτελεί ένα κρίσιμο μόριο στη μεταγωγή σήματος, ενεργοποιώντας σηματοδοτικά μονοπάτια που ρυθμίζουν διάφορες κυτταρικές λειτουργίες, επηρεάζοντας τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων, μέσω της αλληλεπίδρασής του με εξειδικευμένους υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας. [46], [47]

Το υαλουρονικό οξύ προσλαμβάνεται από τα κύτταρα, όταν δεσμευτεί στους υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας, CD44, μέσω ενδοκυττάρωσης. Στη συνέχεια, μεταφέρεται

στα λυσοσώματα, όπου πραγματοποιείται η ενζυμική αποικοδόμησή του από το ένζυμο, υαλουρονιδάση-1. [25]

Οι υποδοχείς CD44 είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την πρόσληψη του HA στο εσωτερικό του κυττάρου. Σε φυσιολογικούς ιστούς, η έκφραση των υποδοχέων είναι σχετικά χαμηλή στους διάφορους κυτταρικούς τύπους. Αντίθετα, σε πολλούς νεοπλασματικούς όγκους, όπως στην περίπτωση του καρκίνου του στομάχου, του επιθηλίου, των ωοθηκών, του παχέος εντέρου και της οξείας λευχαιμίας, οι υποδοχείς CD44 υπερεκφράζονται, εμφανίζοντας έντονη δέσμευση και μετέπειτα ενδοκυτταρική πρόσληψη υαλουρονικού οξέος. Επιπλέον, σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού, έρευνες υπέδειξαν τη συσχέτιση μεταξύ αυξημένης έκφρασης του CD44 και αυξημένης πιθανότητας μετάστασης, κακής πρόγνωσης και μειωμένων ποσοστών επιβίωσης. [25], [46]

Έρευνα που ανέλυσε 583 περιστατικά ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος υπέδειξε τη συσχέτιση της υπερέκφρασης του CD44 με πιο δυσμενή συνολική πρόγνωση, προχωρημένα στάδια της νόσου και αυξημένη διήθηση των λεμφαδένων. [48]

Η ευρεία εμπλοκή του CD44 σε θεμελιώδεις κυτταρικές λειτουργίες, καθώς και η συσχέτισή του με την καρκινογένεση και την επιδείνωση της πρόγνωσης των ασθενών, το καθιστούν κατάλληλο στόχο για την ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι του CD44. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η ανάπτυξη του mAb H4C4 έναντι του CD44, το οποίο έχει αποδειχθεί να μειώνει την ανάπτυξη του όγκου, τη μετάσταση και την υποτροπή έπειτα από ακτινοθεραπεία, σε μοντέλο ξеноμοσχεύματος ανθρώπινου παγκρεατικού όγκου. [48]

### 3.2.6 Υποδοχείς Σίγμα

Οι υποδοχείς σίγμα, SRs, χαρακτηρίστηκαν για πρώτη φορά το 1967 από τον Martin και τους συνεργάτες του ως μία κατηγορία υποδοχέων οπιοειδών, με την ονομασία τους «σίγμα» να προέρχεται από το αρχικό γράμμα, S, του πρότυπου συνδέτη τους, SKF-10047. Ανάλογα με το μοριακό βάρος και την κατανομή τους στους ιστούς, οι υποδοχείς σίγμα χωρίζονται στους δύο υποτύπους τους, τους υποδοχείς σίγμα-1, S1Rs, και σίγμα-2, S2Rs. Εκφράζονται ευρέως σε διάφορους ιστούς του σώματος, με τον S1R να εντοπίζεται κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα και στα περιφερικά όργανα, αναλαμβάνοντας ρόλο τόσο στη νευρολογική όσο και συστηματική λειτουργία.

Παράλληλα, ο S2R συσχετίζεται με την κυτταρική βιολογία του καρκίνου και τη δυναμική ανάπτυξη του νεοπλασματικού όγκου. [49]

Τα δύο αυτά είδη υποδοχέων έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών για περαιτέρω κατανόηση της ρυθμιστικής τους λειτουργίας και της συμμετοχής τους στα σηματοδοτικά μονοπάτια, καθώς και για τη μελέτη των δυνατοτήτων τους ως φαρμακολογικοί στόχοι. Συγκεκριμένα, η αλληλεπίδραση του S1R με διαύλους ιόντων και μόρια σηματοδότησης υποδεικνύει την επιρροή του στις αντίστοιχες διεργασίες, όπως είναι η ασβεστίου - εξαρτώμενη σηματοδότηση και η φωσφορυλίωση πρωτεϊνών. Παράλληλα, ο ρόλος του S2R στη ρύθμιση της απόπτωσης και του πολλαπλασιασμού στα καρκινικά κύτταρα, σε συνδυασμό με την υπερέκφραση του σε αυτά, προσφέρουν έναν νέο στόχο για ανάπτυξη θεραπευτικών προσεγγίσεων. [49]

Σε ποικίλες καρκινικές κυτταρικές σειρές έχει εντοπιστεί η υπερέκφραση των SRs, όπως σε κύτταρα στον καρκίνο του εγκεφάλου, του παχέος εντέρου, του νεφρού και του προστάτη. Αντίστοιχα, οι συνδέτες των υποδοχέων έχουν παρατηρηθεί να διαθέτουν την ικανότητα καταστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε νεοπλασματικούς όγκους του μαστού, του παχέος εντέρου και σε μελανώματα. Εκτός από την παρουσία αυξημένων επιπέδων έκφρασης των σίγμα υποδοχέων, μελέτες έχουν αναφέρει τη συσχέτιση του σίγμα 1 υποδοχέα με την αύξηση της επιθετικότητας του όγκου, παρουσιάζοντας ενισχυμένη τάση για περαιτέρω εισβολή, αγγειογένεση και, τελικά, χαμηλή συνολική επιβίωση για τον ασθενή. [25], [49]

### **3.2.7 Υποδοχείς Φυλλικού Οξέος**

Ο υποδοχέας φυλλικού οξέος, FR, είναι μια γλυκοπρωτεΐνη, η οποία στον άνθρωπο εμφανίζει υψηλή συγγένεια για το φυλλικό οξύ και για το κυκλοφορούν φυλλικό οξύ. Στα υγιή ανθρώπινα κύτταρα οι υποδοχείς αυτοί εκφράζονται σε μικρό βαθμό, σε αντίθεση με τα κύτταρα νεοπλασματος, όπου παρατηρείται η υπερέκφραση τους. [25]

Έχουν αναγνωριστεί δύο ισομορφές υποδοχέων φυλλικού οξέος, οι FR τύπου α και β. Ο ρόλος του FRα είναι η μεταφορά μέσω ενδοκυττάρωσης και η επιτυχής πρόσληψη του φυλλικού οξέος από τα κύτταρα, καθώς το φυλλικό οξύ είναι στοιχειώδες συστατικό στη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων. Στα καρκινικά κύτταρα, παρουσιάζονται αυξημένες ανάγκες σε φυλλικό οξύ, καθώς η αναπαραγωγή των κυττάρων λειτουργεί σε υπερβολικά γοργούς ρυθμούς. Οι υποδοχείς αυτοί έχουν

εντοπιστεί να συνδέονται με διάφορους καρκινικούς τύπος, όπως τα μη βλεννώδη αδеноκαρκινώματα της μήτρας, του τραχήλου της μήτρας και των ωοθηκών, το καρκίνωμα των όρχεων, καθώς και οι όγκοι του εγκεφάλου, οι καρκίνοι του μαστού, του πνεύμονα, του παχέος εντέρου και των νεφρών. [25], [50]

Η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων κατά του FRα αποτελεί μία νέα θεραπευτική προσέγγιση. Η ειδική στόχευση του FRα από τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορεί να επάγει την απόπτωση ή την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω της δράσης των T-κυττάρων. Επιπλέον, τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να συνδυαστούν με άλλα θεραπευτικά μόρια, όπως ραδιονουκλίδια και κυτοκίνες, και να μεταφερθούν σαν σύνολο επιτυχώς στους καρκινικούς στόχους. Οι πρώτες προσπάθειες αφορούσαν τα αντισώματα Mon18 και Mon19, με τη στόχευση τους να λαμβάνει χώρα σε καρκινικά κύτταρα των ωοθηκών. Τα αποτελέσματα υπέδειξαν την ανάγκη για βελτίωση της προσέγγισης και η πρόκληση αυτή παραμένει μέχρι και σήμερα. [50]

## **Κεφάλαιο 4 Βιοδείκτες Χορήγησης και Παρακολούθησης της Δράσης Στοχευμένων Αντικαρκινικών Φαρμάκων**

### **4.1 Βιοδείκτες στον Καρκίνο**

#### **4.1.1 Ορισμός Βιοδεικτών**

Οι βιοδείκτες, με βάση το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου, ορίζονται ως βιολογικά μόρια, τα οποία εντοπίζονται σε βιολογικά δείγματα, όπως στο αίμα, σε σωματικά υγρά ή σε ιστούς, και η μελέτη τους παρέχει πληροφορίες σχετικά με την παρουσία, τη φύση και την εξέλιξη μίας νόσου ή γενικότερα μίας παθολογικής κατάστασης. Επιπλέον, μπορούν να λειτουργήσουν ως ενδείξεις για το αν μία βιολογική διαδικασία ή κατάσταση στον οργανισμό ενός ατόμου είναι φυσιολογική ή παθολογική. [51]

Ο καρκινικός δείκτης ορίζεται ως κάθε βιολογική ουσία που είτε ανιχνεύεται στα καρκινικά κύτταρα είτε παράγεται από αυτά και εκκρίνεται στα βιολογικά υγρά του οργανισμού, αλλά αφορά και ουσίες που παράγονται από τον υγιή οργανισμό ως απόκριση στην παρουσία του κακοήθους όγκου. Η ανίχνευση ή η αύξηση της συγκέντρωσής τους πέρα από τα φυσιολογικά όρια μπορεί να συσχετιστεί με την παρουσία, την ανάπτυξη, τη διάγνωση ή την πρόγνωση ενός κακοήθους όγκου. Πολλοί ερευνητές ταυτίζουν την έννοια του «καρκινικού δείκτη» με την έννοια του «βιοδείκτη». [52]

Ως τελικό σημείο (endpoint) ορίζεται, σύμφωνα με τον FDA, ένα μετρήσιμο αποτέλεσμα, το οποίο αξιολογεί την επίδραση μιας θεραπευτικής προσέγγισης στους ασθενείς στο πλαίσιο μίας κλινικής μελέτης. Ένας βιοδείκτης ή ένας συνδυασμός βιοδεικτών μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατο τελικό σημείο (surrogate end point), με σκοπό την ταχύτερη αντικατάσταση του κλινικού τελικού σημείου, με την εμπλοκή λιγότερων ασθενών και με μεγαλύτερη ευαισθησία στην αξιολόγηση της επίδρασης της θεραπείας. [53]

Για την επικύρωση του υποκατάστατου τελικού σημείου απαιτείται ύπαρξη ακριβούς μηχανιστικής εξήγησης, το οποίο πρακτικά σημαίνει ότι ο βιοδείκτης ή το υποκατάστατο τελικό σημείο σχετίζεται άμεσα με τον μηχανισμό είτε της ασθένειας είτε της θεραπείας, συνεχής συσχέτισή του με το τελικό κλινικό αποτέλεσμα και

επαναληψιμότητα, ώστε να μπορεί προβλέψει το πραγματικό κλινικό όφελος για τους ασθενείς. Έτσι, τα υποκατάστατα τελικού σημείου συμβάλλουν στην ταχύτερη έγκριση ιατρικών προϊόντων και θεραπευτικών προσεγγίσεων. [53]

#### **4.1.2 Σημαντικότητα Βιοδεικτών**

Οι βιοδείκτες αποτελούν χρήσιμα εργαλεία στον σύγχρονο τομέα της κλινικής ιατρικής και η χρήση τους εκτείνεται σε διάφορες εφαρμογές, κυρίως σχετικά με τη διάγνωση και την πρόγνωση της νόσου, την ανταπόκριση στη θεραπεία και την εξατομικευμένη ιατρική. Συμβάλλουν στην έγκαιρη ανίχνευση μίας παθολογικής κατάστασης, άρα και στη δυνατότητα παρέμβασης και ανάπτυξης εξατομικευμένων σχεδίων θεραπείας με δυνατότητα πρόβλεψης και αποφυγής των φαρμακευτικών παρενεργειών, καθώς και στην παρακολούθηση εξέλιξης της νόσου και στη συνεχή προσαρμογή της θεραπείας στα διάφορα στάδια της συνολικής θεραπευτικής διαδικασίας. Χρησιμοποιούνται, επίσης, για την επιβεβαίωση της διάγνωσης της νόσου μέσω διάκρισης της από καλοήθεις παθήσεις με κοινά χαρακτηριστικά. [51]

Επιπλέον, οι βιοδείκτες συνεισφέρουν στον τομέα της έρευνας και ανάπτυξης φαρμάκων και διευκολύνουν τη διεξαγωγή κλινικών δοκιμών, εντοπίζοντας τις κατάλληλες ομάδες ασθενών και επιταχύνοντας τη διαδικασία έγκρισης τους. Η θεμελιώδης σχέση ανάμεσα σε έναν βιοδείκτη και στο κλινικό του αποτέλεσμα είναι ζωτικής σημασίας και μπορεί να αξιοποιηθεί σε όλους τους παραπάνω τομείς της κλινικής ιατρικής. [51]

#### **4.1.3 Κατηγοριοποίηση Βιοδεικτών: Ορισμοί και Παραδείγματα**

Οι βιοδείκτες διακρίνονται σε επτά κατηγορίες, ανάλογα με τις εφαρμογές τους στην κλινική πράξη.

##### **1. Διαγνωστικοί βιοδείκτες (Diagnostic biomarkers)**

Οι διαγνωστικοί βιοδείκτες χρησιμοποιούνται είτε για τον εντοπισμό μίας νόσου ή ενός υποτύπου της νόσου ή μίας υπό διερεύνηση κατάστασης ενδιαφέροντος είτε για την επιβεβαίωση της παρουσίας των παραπάνω. [53]

Στην κλινική πράξη, η έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση ασθενειών αποτελεί υψίστης σημασίας. Οι διαγνωστικοί βιοδείκτες, λοιπόν, δίνουν τη δυνατότητα ανίχνευσης μίας

νόσου και χαρακτηρισμού της, παρέχοντας τις απαραίτητες πληροφορίες για την ορθή διάκριση μεταξύ υποτύπων και για την κατηγοριοποίηση των ασθενών. [53]

Ως διαγνωστικός βιοδείκτης μπορεί να χρησιμοποιηθεί το προφίλ γονιδιακής έκφρασης, ώστε να πραγματοποιηθεί διαχωρισμός και κατηγοριοποίηση σε υποομάδες των ασθενών με διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β-κύτταρα, DLBCL, με κριτήριο τις διακριτές υπογραφές της κυτταρικής προέλευσης του όγκου. Οι διαφορετικοί τύποι κυττάρων φέρουν διαφορετικά μοριακά χαρακτηριστικά και είναι πιθανόν να ανταποκρίνονται με διαφορετικό τρόπο στην εκάστοτε θεραπεία. [54]

## 2. Βιοδείκτες Παρακολούθησης (Monitoring biomarkers)

Οι βιοδείκτες παρακολούθησης είναι οι βιοδείκτες, οι οποίοι μετρούνται σε επανάληψη, ώστε να αξιολογηθεί η κατάσταση της νόσου ή της υπό διερεύνηση κατάστασης ενδιαφέροντος και να ποσοτικοποιηθεί η έκθεση ή η επίδραση ενός ιατρικού ή περιβαλλοντικού παράγοντα. [53]

Ως βιοδείκτης παρακολούθησης μπορεί να χρησιμοποιηθεί το ειδικό προστατικό αντιγόνο, PSA. Η ανά τακτά χρονικά διαστήματα μέτρηση των επιπέδων PSA συμβάλλει στην αξιολόγηση της ευεργετικής ή δυσμενούς εξέλιξης της νόσου και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. [55]

## 3. Βιοδείκτες Ασφάλειας (Safety biomarkers)

Οι βιοδείκτες ασφάλειας μετρούνται πριν ή μετά την έκθεση σε ιατρικό ή περιβαλλοντικό παράγοντα, ώστε να διερευνηθεί η πιθανότητα, παρουσία ή/και έκταση της τοξικότητας, ως μη επιθυμητή ενέργεια. [53]

Ως βιοδείκτης ασφάλειας μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο αριθμός των ουδετερόφιλων σε ασθενείς που υπόκεινται σε κυτταροτοξική χημειοθεραπεία. Η παρακολούθηση του αριθμού των ουδετερόφιλων μπορεί να αποτελέσει ένδειξη αύξησης του κινδύνου εμφάνισης λοιμώξεων και άλλων επιπλοκών, καθώς τα ουδετερόφιλα διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην καταπολέμηση λοιμώξεων και συχνά καταστέλλονται κατά τη διάρκεια εφαρμογής χημειοθεραπείας. Επομένως, βοηθά τους κλινικούς ιατρούς να λάβουν αποφάσεις σχετικά με την αλλαγή της δόσης του χημειοθεραπευτικού παράγοντα, την ανάγκη διακοπής της θεραπείας ή χορήγησης αυξητικών παραγόντων με στόχο την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενούς. [56], [57]

#### 4. Βιοδείκτες Ευαισθησίας/Κινδύνου (Susceptibility/Risk biomarkers)

Στους βιοδείκτες ευαισθησίας/κινδύνου ανήκουν οι βιοδείκτες που υποδηλώνουν το ενδεχόμενο εμφάνισης μίας νόσου ή υπό διερεύνηση κατάσταση ενδιαφέροντος σε άτομο, το οποίο δεν παρουσιάζει επί του παρόντος νόσο ή ιατρική κατάσταση με κλινικά εμφανή συμπτώματα. [53]

Η μόλυνση από ορισμένους υποτύπους του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων, HPV, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης ευαισθησίας/κινδύνου με στόχο τον εντοπισμό ατόμων με προδιάθεση ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Συγκεκριμένα, στελέχη του HPV υψηλού κινδύνου, όπως τα στελέχη HPV 16 και 18, έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση και ανάπτυξη προκαρκινικών αλλοιώσεων, χαρακτηριστικές για τον διηθητικό καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Ο εντοπισμός των αλλοιώσεων λειτουργεί ως προειδοποίηση και επιτρέπει την έγκαιρη προληπτική παρέμβαση και παρακολούθηση. [58]

#### 5. Προγνωστικοί βιοδείκτες (Prognostic biomarkers)

Προγνωστικοί βιοδείκτες είναι οι βιοδείκτες, οι οποίοι προσδιορίζουν την πιθανότητα να λάβει χώρα ένα κλινικό συμβάν, να υπάρξει υποτροπή ή εξέλιξη της ασθένειας σε άτομα νοσούντα της υπό μελέτης ασθένειας ή ιατρικής κατάστασης. [53]

Μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA 1 και BRCA 2 μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί βιοδείκτες σε γυναίκες ασθενείς με καρκίνο του μαστού για την αξιολόγηση της πιθανότητας ανάπτυξης δεύτερου πρωτοπαθούς καρκίνου του μαστού, συμβάλλοντας στον εξατομικευμένο σχεδιασμό στρατηγικών ελέγχου και δράσης μείωσης του κινδύνου. [59]

#### 6. Βιοδείκτες Προδιάθεσης (Predictive biomarkers)

Οι βιοδείκτες προδιάθεσης είναι οι βιοδείκτες που εντοπίζουν τα άτομα τα οποία θα παρουσιάσουν είτε ευνοϊκή είτε δυσμενή επίδραση ύστερα από έκθεση σε ιατρικό ή περιβαλλοντικό παράγοντα. [53]

Ως βιοδείκτης προδιάθεσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί η μελέτη των μεταλλάξεων στα γονίδια BRCA1 και BRCA 2 σε γυναίκες ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών. Με βάση τις μεταλλάξεις αυτές μπορεί να πραγματοποιηθεί εντοπισμός των ασθενών που είναι πιθανόν να επωφεληθούν από τη θεραπεία με αναστολείς της πολυ(ADP-ριβόζο) πολυμεράσης, PARP, και αντίστοιχα να αποφευχθεί η έκθεση σε αναστολείς PARP



ασθενών που δεν φέρουν τις συγκεκριμένες γενετικές μεταλλάξεις και άρα θα ήταν απίθανο να ανταποκριθούν στη συγκεκριμένη θεραπευτική προσέγγιση. [60]

#### 7. Φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες (Pharmacodynamic biomarkers)

Οι φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες υποδεικνύουν την εμφάνιση μίας βιολογικής απόκρισης, ενδεχομένως ευεργετικής ή επιβλαβούς, σε άτομο έπειτα από έκθεση σε ιατρικό ή περιβαλλοντικό παράγοντα. Μπορεί να συμβάλει στην εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την αποτελεσματικότητα ή την έκβαση της νόσου. Συχνά χρησιμοποιείται για την επιλογή της δόσης και ως μέτρο της απόκρισης σε ιατρικό παράγοντα ή ενδεχόμενης εμφάνισης βλάβης. [53]

Τα επίπεδα της φθοριο-18-οιστραδιόλης, απεικονιζόμενα με τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φαρμακοδυναμικός βιοδείκτης, για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης των θετικών στον υποδοχέα οιστρογόνων, ER, καρκινικών όγκων στην ενδοκρινική θεραπεία σε ασθενείς με υποτροπιάζοντα ή μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Η φθοριο-18-οιστραδιόλη δρα ως ανάλογο οιστρογόνου και όντας ραδιοσημασμένο μπορεί να παρακολουθηθεί η πρόσληψη του από τα ER<sup>+</sup> καρκινικά κύτταρα. Υψηλά επίπεδα πρόσληψης φανερώνουν την ενεργή σηματοδότηση ER, δηλαδή την ενεργότητα των υποδοχέων των οιστρογόνων ER και την προώθηση της νόσου από αυτούς. Παρατήρηση των αλλαγών στα επίπεδα αυτά μπορεί να συμβάλει στην παροχή πληροφοριών σχετικά με την ανταπόκριση στην εκάστοτε θεραπεία και να οδηγήσει στη συνέχιση, την προσαρμογή ή την αλλαγή της θεραπευτικής προσέγγισης. [61]

#### 4.1.4 Ποιοτικά Χαρακτηριστικά Βιοδεικτών

Ένας βιοδείκτης, προκειμένου να ενταχθεί με αξιοπιστία στα διαγνωστικά και θεραπευτικά πρωτόκολλα της κλινικής ιατρικής, πρέπει να πληροί ορισμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά.

Πρωτίστως, είναι απαραίτητη η ύπαρξη υψηλής ειδικότητας μεταξύ του καρκινικού βιοδείκτη και του συγκεκριμένου υπό μελέτη κακοήθους όγκου. Δηλαδή, ο καρκινικός βιοδείκτης οφείλει να εκφράζεται ειδικά από το όργανο ή τον ιστό προέλευσης του καρκίνου. Ως αποτέλεσμα, διασφαλίζεται η ορθή διάκριση μεταξύ των διαφορετικών τύπων καρκίνου (χαμηλό ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων) και αποφεύγεται η πιθανότητα λανθασμένης διάγνωσης. Επίσης, η υψηλή ευαισθησία του βιοδείκτη,

διασφαλίζει την επιτυχή διάγνωση της νόσου σε όλους τους ασθενείς που φέρουν τη νόσο, οδηγώντας σε χαμηλό ποσοστό ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. [62]

Εξίσου σημαντικό κριτήριο είναι η έκφραση του βιοδείκτη σε πρώιμο στάδιο, κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των προ-κακοηθών ιστών, προκειμένου να επιτευχθεί η έγκαιρη και ακριβής διάγνωση του νεοπλασματικού όγκου, προτού γίνει κλινικά ανιχνεύσιμος μέσω της εκδήλωσης συμπτωμάτων. [62]

Ο καρκινικός βιοδείκτης πρέπει να είναι ανιχνεύσιμος σε όλους τους ασθενείς με τον συγκεκριμένο τύπο καρκίνου. Δεν αρκεί η παρουσία του σε μεγάλο ποσοστό ασθενών, αλλά πρέπει να είναι αξιόπιστα ανιχνεύσιμος και να εμφανίζεται σε μετρήσιμα επίπεδα στους ασθενείς με τον συγκεκριμένο τύπο καρκίνου και στα διάφορα στάδια της κακοήθειας. [63]

Είναι σημαντικό και ταυτόχρονα εξαιρετικά ωφέλιμο για τη συνολική διαγνωστική ή θεραπευτική διαδικασία ο βιοδείκτης να εντοπίζεται με ευκολία σε σωματικά υγρά, όπως το αίμα, το σάλιο, τα ούρα, ή να απαιτείται η ελάχιστη δυνατή παρέμβαση σε ιστούς, για την επιτυχή συλλογή του και τη δυνατότητα τακτικής παρακολούθησης του μέσω απλής και οικονομικής επικυρωμένης μεθόδου μέτρησης με επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα. Η γρήγορη και ασφαλής μέθοδος συλλογής μειώνει τον κίνδυνο και την ταλαιπωρία για τους ασθενείς και προσφέρει τη δυνατότητα χρήσης του και στον έλεγχο μεγάλης κλίμακας ασυμπτωματικών πληθυσμών. [63]

Ένας καρκινικός βιοδείκτης οφείλει να έχει μικρό χρόνο ημιζωής, ώστε να απομακρύνεται γρήγορα από τον οργανισμό έπειτα από μείωση του φορτίου του όγκου και τα επίπεδα του στον οργανισμό να είναι ενδεικτικά για την τρέχουσα κατάσταση της νόσου, καθώς και για τις αλλαγές του όγκου σε πραγματικό χρόνο. [62], [63]

Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό είναι η ποσοτική συσχέτιση της συγκέντρωσης του καρκινικού βιοδείκτη με την παρουσία, τη βιολογική συμπεριφορά και την εξέλιξη του όγκου. Αυτή η ποσοτική σχέση διασφαλίζει ότι οι μεταβολές στα επίπεδα του βιοδείκτη αντικατοπτρίζουν με ακρίβεια τις αλλαγές στο μέγεθος και το φορτίο ή την επιθετικότητα της κακοήθειας. Αυτό πρακτικά αξιοποιείται στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας, του ρυθμού ανάπτυξης της κακοήθειας και της πιθανότητας υποτροπής ή μετάστασης, επιτρέποντας τη συνεχή παρακολούθηση και προσαρμογή της θεραπευτικής στρατηγικής. Η δοκιμασία, μέσω της οποίας πραγματοποιείται η ανίχνευση του βιοδείκτη, πρέπει να είναι τυποποιημένη και

επιστημονικά επικυρωμένη με αναπαραγωγιμότητα, ώστε να διασφαλίζεται η αντικειμενική και ποσοτική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. [63]

Αν και είναι δύσκολο ένας καρκινικός βιοδείκτης να πληροί ταυτόχρονα όλα τα παραπάνω ιδανικά ποιοτικά χαρακτηριστικά, η προσπάθεια της επιστημονικής έρευνας για βελτιστοποίηση των χαρακτηριστικών των υφιστάμενων βιοδεικτών είναι συνεχής. Όσο βαθύτερη είναι η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών του καρκίνου και πιο συστηματική η μελέτη των καρκινικών βιοδεικτών, τόσο πιο αποτελεσματική θα είναι η ανάπτυξη εξειδικευμένων και αξιόπιστων εργαλείων που θα συμβάλλουν στην έγκαιρη διάγνωση, στη στοχευμένη θεραπευτική προσέγγιση και στη συνεχή παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου. Είναι κρίσιμο οι καρκινικοί βιοδείκτες να συνδυάζουν την επιστημονική ακρίβεια, την πρακτική εφαρμοσιμότητα και την οικονομική αποδοτικότητα, ώστε να ανταποκρίνονται στις σύγχρονες απαιτήσεις της κλινικής ιατρικής και να συμβάλλουν ουσιαστικά στη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. [62], [63]

#### **4.1.5 Επικύρωση Πρωτότυπων Βιοδεικτών**

Η επικύρωση ενός βιοδείκτη αποτελεί ένα κρίσιμο και ταυτόχρονα σύνθετο στάδιο στη διαδικασία ανάπτυξης του. Κατά τη διάρκεια ανάπτυξης φαρμάκων, αποκτώνται συνεχώς νέα δεδομένα και πληροφορίες, τα οποία επηρεάζουν μία βασική υπό μελέτη μεταβλητή, τη σχέση μεταξύ αλλαγών του βιοδείκτη και των κλινικών παραμέτρων. Η επικύρωση ενός βιοδείκτη περιλαμβάνει τον προσεκτικό σχεδιασμό μελετών, την ανάλυση δεδομένων και τη στατιστική αξιολόγηση. Πηγές των δεδομένων, που υποστηρίζουν την επικύρωση, είναι οι προ-κλινικές μελέτες που λαμβάνουν χώρα σε ζώα, οι οποίες παρέχουν πρώιμα στοιχεία για τη δυνητική χρησιμότητα του βιοδείκτη, οι κλινικές μελέτες φάσης I και II, οι οποίες πραγματοποιούνται τόσο σε υγιή άτομα όσο και σε ασθενείς και είναι ενδεικτικές για την ευαισθησία και την ειδικότητα του, καθώς και οι μελέτες αποτελεσματικότητας και ασφάλειας, που εφαρμόζονται μεταγενέστερα σε ασθενείς της στοχευμένης νόσου, αξιολογώντας την ευθυγράμμιση του βιοδείκτη με τα κλινικά αποτελέσματα. [64]

Η ολοκλήρωση της επικύρωσης ενός βιοδείκτη αποτελεί βασική προϋπόθεση για την αξιοποίηση του στον τομέα της κλινικής ιατρικής και διασφαλίζει την αξιοπιστία της χρήσης του στη διάγνωση, την πρόγνωση, την παρακολούθηση και τη θεραπευτική

διαχείριση της νόσου. Τα κριτήρια για την επικύρωση ενός βιοδείκτη, σύμφωνα με τα οποία διασφαλίζεται η αξιοπιστία και η απόδοση του, αναλύονται παρακάτω [64]

1. Ευαισθησία: Η ευαισθησία αντικατοπτρίζει την ικανότητα του βιοδείκτη να ανιχνεύει αξιοσημείωτες αλλαγές στα κλινικά τελικά σημεία με ακρίβεια. Επίσης, αξιολογεί τη σχέση μεταξύ του μεγέθους των μεταβολών του βιοδείκτη και των κλινικών αποτελεσμάτων.
2. Ειδικότητα: Η ειδικότητα αντανακλά την ικανότητα του βιοδείκτη να διαχωρίζει τα άτομα, σε ανταποκρινόμενα και μη, έπειτα από παρέμβαση στις κλινικές παραμέτρους. Όσο υψηλότερη είναι η εξειδίκευση που παρουσιάζει ο βιοδείκτης τόσο μεγαλύτερη έκταση των παρατηρούμενων αλλαγών μπορεί να ερμηνεύσει στο κλινικό τελικό σημείο.
3. Βιοαναλυτική αξιολόγηση του εργαστηρίου ή μέτρηση δοκιμής του βιοδείκτη: Λαμβάνουν χώρα όσον αφορά την ακρίβεια, την αναπαραγωγικότητα, το εύρος χρήσης και τη μεταβλητότητα.
4. Πιθανότητα εμφάνισης ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων: Εμφανίζεται όταν παρατηρείται μια επιθυμητή αλλαγή στον βιοδείκτη, η οποία όμως δε συνοδεύεται από αντίστοιχη θετική μεταβολή στο κλινικό τελικό σημείο ή σχετίζεται με αρνητική μεταβολή σε αυτό.
5. Πιθανότητα εμφάνισης ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων: Προκύπτει όταν δεν παρατηρείται καμία μεταβολή ή καταγράφεται μια μικρή αλλαγή στον βιοδείκτη, η οποία αποτυγχάνει να υποδείξει μια σημαντική και θετική εξέλιξη στο κλινικό τελικό σημείο.
6. Η εφαρμογή ενός φαρμακοκινητικού – φαρμακοδυναμικού μοντέλου, PK/PD model: Το μοντέλο αυτό θα πρέπει να έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να προβλέψει μελλοντικά κλινικά αποτελέσματα ή να ορίσει τις απαραίτητες προσαρμογές της δόσης σύμφωνα με τη μέτρηση του βιοδείκτη. Μέσω του μοντέλου αυτού, προκύπτει η συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών του βιοδείκτη και των αλλαγών που παρατηρούνται έπειτα από την έκθεση στο εκάστοτε φάρμακο, η οποία μετράται είτε ως συγκέντρωση στο πλάσμα είτε ως χορηγούμενη δόση.

## 4.2 Βασικές Έννοιες Φαρμακολογίας

### 4.2.1 Φαρμακοδυναμική

Ο όρος φαρμακοδυναμική, PD, αναφέρεται στη μελέτη των βιοχημικών, φυσιολογικών και μοριακών επιδράσεων του φαρμάκου στον οργανισμό, εξετάζοντας τον μηχανισμό δράσης του φαρμάκου, τη σχέση της συγκέντρωσης του φαρμάκου με τη φαρμακολογική απόκριση, τη δυναμική δέσμευσης σε υποδοχείς και τις χημικές αλληλεπιδράσεις. Η φαρμακοδυναμική ενός φαρμακευτικού παράγοντα μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία διαταραχής ή ασθένειας, τη διαδικασία γήρανσης και από την ταυτόχρονη λήψη άλλων φαρμάκων. Η ύπαρξη διαταραχής ή η γήρανση μεταβάλλουν τη δέσμευση του υποδοχέα ή/και μειώνουν την ευαισθησία του. Αντίστοιχα, οι φαρμακοδυναμικές αλληλεπιδράσεις φαρμάκου-φαρμάκου μπορεί να τροποποιήσουν τη σύνδεση στους υποδοχείς, λόγω δημιουργίας ανταγωνισμού για τις θέσεις πρόσδεσης. [65], [66]

Επιπλέον, η φαρμακοδυναμική εξετάζει τις θεραπευτικές και τοξικές επιδράσεις του φαρμάκου στον οργανισμό, εισάγοντας την έννοια του θεραπευτικού δείκτη (*Therapeutic Index, TI*). Ο *TI* ορίζεται ως:

$$TI = \frac{TD50}{ED50} \quad (1)$$

Ορίζεται, δηλαδή, ως το κλάσμα της δόσης που θα προκαλέσει τοξικές επιδράσεις στο 50% του υπό μελέτη πληθυσμού ως προς τη δόση που θα προκαλέσει θεραπευτική δράση στο αντίστοιχο 50%.

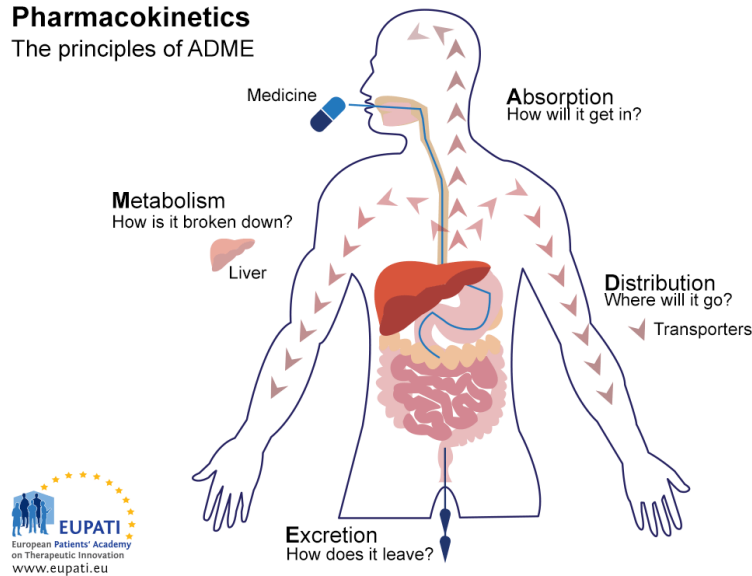
Για κάθε φαρμακευτικό παράγοντα, ο θεραπευτικός δείκτης είναι μοναδικός και υποδεικνύει το θεραπευτικό εύρος του φαρμάκου. [65], [66]

### 4.2.2 Φαρμακοκινητική

Ο όρος φαρμακοκινητική, PK, περιλαμβάνει τη μελέτη της χρονικής εξέλιξης των ποσοτικών και ποιοτικών μεταβολών του φαρμάκου στον οργανισμό. Η φαρμακοκινητική μελετά τις τέσσερις βασικές κατηγορίες στη πορεία του φαρμάκου στον οργανισμό: 1) Απορρόφηση (Absorption), 2) Κατανομή (Distribution), 3) Μεταβολισμός (Metabolism), 4) Απέκκριση (Excretion): (Εικόνα 19) [66]

## Pharmacokinetics

The principles of ADME



Εικόνα 19: Βασικές αρχές Φαρμακολογίας. [67]

1. Απορρόφηση: αποτελεί το πρώτο στάδιο της φαρμακοκινητικής και αφορά την είσοδο του φαρμάκου στον οργανισμό και την πορεία του από το σημείο χορήγησης στην κυκλοφορία του σώματος.
2. Κατανομή: στο στάδιο αυτό το φάρμακο διασκορπίζεται στους ιστούς και λαμβάνει χώρα η αλληλεπίδραση του φαρμάκου με τον υποδοχέα.
3. Μεταβολισμός: το τρίτο στάδιο, όπου λαμβάνει χώρα χημική τροποποίηση του φαρμάκου, κυρίως με στόχο την απόκτηση κατάλληλης μορφής, ώστε να διευκολυνθεί η αποβολή του από τον οργανισμό.
4. Απέκκριση: το τελευταίο στάδιο της πορείας του φαρμάκου στον οργανισμό και σηματοδοτεί την απομάκρυνση του φαρμάκου ή/και των μεταβολιτών του από το σώμα. Το κύριο όργανο απέκκρισης είναι οι νεφροί, οι οποίοι επιτρέπουν είτε την επαναρρόφηση των ουσιών στην κυκλοφορία του αίματος είτε την αποβολή τους μέσω των ούρων. Δύο ακόμη πιθανές οδοί απέκκρισης είναι το ήπαρ, το οποίο οδηγεί υποπροϊόντα στην χολή, και οι πνεύμονες, οι οποίοι αποβάλλουν κυρίως πτητικά φάρμακα μέσω της εκπνοής.

Τέλος, μία σημαντική έννοια στον τομέα της φαρμακοκινητικής είναι η βιοδιαθεσιμότητα,  $F$ , η οποία ορίζεται ως το ποσοστό του χορηγούμενου φαρμάκου που φτάνει αναλλοίωτο στην κυκλοφορία του αίματος [66]:

$$F = \frac{AUC(oral)}{AUC(IV)} \times \frac{Dose(IV)}{Dose(oral)} \times 100 \quad (2)$$

Όπου:

AUC (oral): Η περιοχή κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου για τη δόση που χορηγήθηκε από το στόμα.

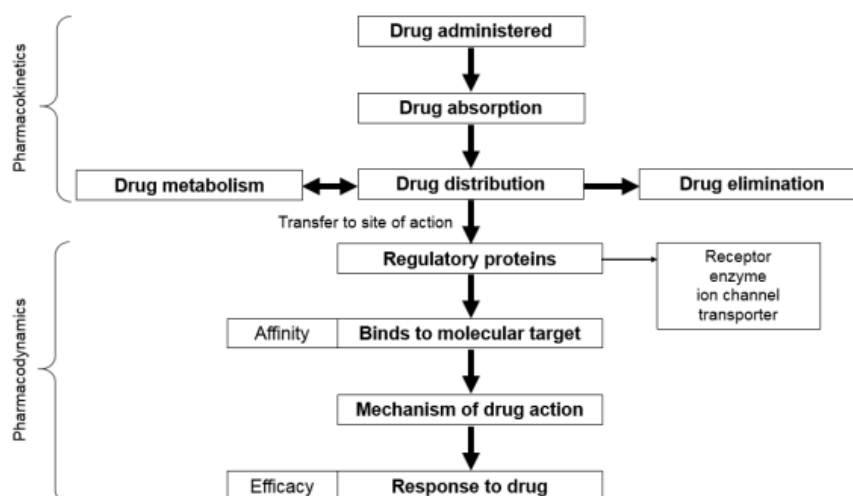
AUC (IV): Η περιοχή κάτω από την καμπύλη για τη δόση που χορηγήθηκε ενδοφλεβίως (που είναι 100% διαθέσιμη).

Dose (oral): Η δόση που χορηγήθηκε από το στόμα.

Dose (IV): Η δόση που χορηγήθηκε ενδοφλεβίως.

#### 4.2.3 Μαθηματικά Μοντέλα PK/PD

Τα μαθηματικά μοντέλα PK/PD περιγράφουν τη συσχέτιση μεταξύ της απορρόφησης, κατανομής, μεταβολισμού και απέκκρισης (φαρμακοκινητική) ενός φαρμάκου και της επίδρασης που αυτό έχει στον οργανισμό (φαρμακοδυναμική). Τα μοντέλα αυτά επιτρέπουν τη σύνδεση του σχήματος δοσολογίας ενός φαρμακευτικού παράγοντα για έναν οργανισμό με τη συγκέντρωσή του στο πέρασμα του χρόνου και την κατανομή του στον τόπο δράσης-στόχο, όπου, μέσω της αλληλεπίδρασης του με τους κατάλληλους υποδοχείς, προκύπτει ένα φαρμακολογικό αποτέλεσμα – θεραπευτικό, τοξικό ή αμελητέο. Συνεπώς, τα PK/PD μοντέλα ολοκληρώνουν τον φαρμακολογικό κύκλο ενός φαρμάκου, συμβάλλοντας στη βελτιστοποίηση της χορηγούμενης δόσης και, κατά επέκταση, στη συνολική βελτίωση της θεραπευτικής προσέγγισης. [68]



Σχήμα 1: Σχηματική αναπαράσταση της σχέσης μεταξύ φαρμακοκινητικής και φαρμακοδυναμικής. [68]

### 4.3 Βιοδείκτες Φαρμακοδυναμικής Παρακολούθησης της Δράσης Στοχευμένων Αντικαρκινικών Φαρμάκων

Οι φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες, PD βιοδείκτες, συνιστούν μοριακούς δείκτες που αποτυπώνουν την επίδραση ενός φαρμακευτικού παράγοντα στον θεραπευτικό του στόχο εντός του οργανισμού. Οι εν λόγω βιοδείκτες διερευνούν τη συσχέτιση μεταξύ της φαρμακολογικής δράσης του φαρμάκου, της αλληλεπίδρασής του με τον στόχο και της επακόλουθης βιολογικής απόκρισης του όγκου, όπως αυτή εκδηλώνεται μέσω των μεταβολών στη βιολογική δραστηριότητα που προκαλείται από την παρέμβαση του φαρμάκου. [69]

Η ανάλυση και ποσοτικοποίηση των PD βιοδεικτών διαδραματίζει θεμελιώδη ρόλο στην έρευνα και ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών ουσιών, παρέχοντας κρίσιμα δεδομένα που διευκολύνουν τη λήψη τεκμηριωμένων αποφάσεων για τη βελτιστοποίηση των θεραπευτικών σχημάτων. Η ενσωμάτωση τελικών σημείων φαρμακοδυναμικής ενισχύει την επιστημονική τεκμηρίωση και την αξιολόγηση υποθέσεων σε όλα τα στάδια ανάπτυξης φαρμάκων. Από την προκλινική επιλογή υποψήφιων μορίων σε *in vivo* μοντέλα, έως και τις κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους, οι PD βιοδείκτες συνεισφέρουν καθοριστικά στη στοχευμένη και στρατηγική ανάπτυξη καινοτόμων θεραπευτικών προσεγγίσεων. [69]

Τόσο η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των συμβατικών και καινοτόμων αντικαρκινικών θεραπειών όσο και η παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου απαιτούν συχνά διαδικασίες όπως η φυσική εξέταση του ασθενούς, η συλλογή δειγμάτων ιστού, η χρήση απεικονιστικών τεχνικών και η ανίχνευση ορολογικών δεικτών, δηλαδή βιοδεικτών που ανιχνεύονται στο αίμα του ασθενούς. [70]

Σε πολλές περιπτώσεις κακοηθειών, η λήψη βιοψιών ενέχει κινδύνους λόγω της επεμβατικότητας της διαδικασίας. Ακόμη και αν ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος επιπλοκών, η δειγματοληψία αυτή παραμένει δαπανηρή και μπορεί να προκαλεί δυσφορία στους ασθενείς. Από την άλλη πλευρά, αν και οι απεικονιστικές τεχνικές αποτελούν ευρέως χρησιμοποιούμενα εργαλεία, δεν είναι πάντα επαρκείς για την ακριβή αξιολόγηση της θεραπευτικής απόκρισης. [70]



Σε ορισμένους τύπους καρκίνου, η εμφάνιση ψευδοπροόδου μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένες εκτιμήσεις της πορείας της νόσου και, κατ' επέκταση, σε εσφαλμένες θεραπευτικές επιλογές. Ψευδοπρόδος είναι το φαινόμενο που προκαλείται από την ανοσολογική διήθηση στον όγκο. Σε αυτή την περίπτωση, η αύξηση του μεγέθους του όγκου στις απεικονιστικές εξετάσεις δεν αντανakλά πραγματική εξέλιξη ή υποτροπή της νόσου, αντιθέτως οφείλεται σε φλεγμονώδη αντίδραση και διήθηση από ενεργοποιημένα T-κύτταρα, που αποτελεί ένδειξη ανοσολογικής απόκρισης στη θεραπεία.

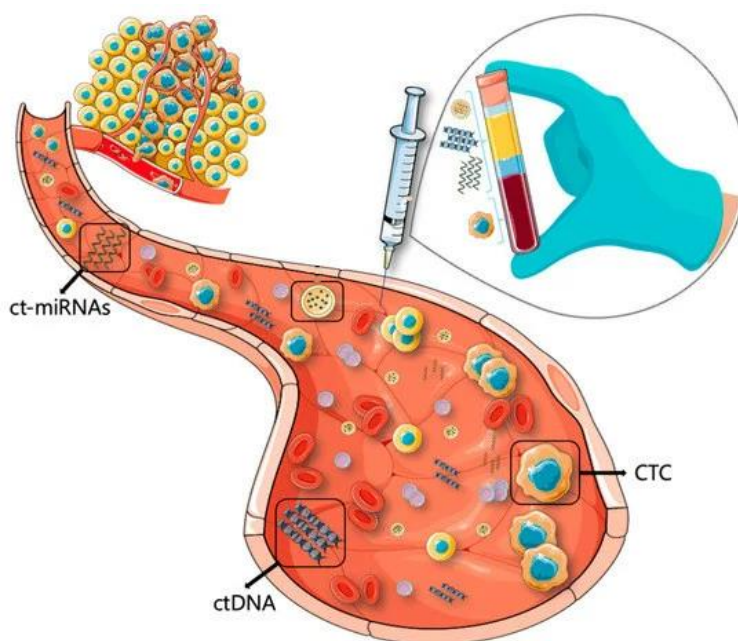
Η υγρή βιοψία αποτελεί μια καινοτόμο και μη επεμβατική διαγνωστική μέθοδο για τον καρκίνο, η οποία έχει αναδειχθεί ως εξαιρετικά πολύτιμο εργαλείο στην κλινική πρακτική τα τελευταία χρόνια. Ο όρος εισήχθη από τους Pantel και Alix-Panabières πριν από περίπου μία δεκαετία, περιγράφοντας βιοδείκτες που ανιχνεύονται σε βιολογικά υγρά και σχετίζονται με κακοήθεις νεοπλασίες. Η συγκεκριμένη μέθοδος προσφέρει πολλαπλά πλεονεκτήματα, καθώς επιτρέπει τη συνεχή παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου, την πρόβλεψη ανθεκτικότητας στη θεραπεία, την έγκαιρη ανίχνευση κακοήθειας, καθώς και τη βελτιστοποίηση των εξατομικευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων. [70], [71]

Σε σύγκριση με τις παραδοσιακές βιοψίες, η υγρή βιοψία παρέχει τη δυνατότητα συλλογής γενετικού και κυτταρικού υλικού από βιολογικά υγρά, όπως το αίμα, τα ούρα και το σάλιο, μέσω μιας διαδικασίας που είναι λιγότερο επεμβατική, οικονομικά αποδοτικότερη και με μειωμένο κίνδυνο για τον ασθενή. Η δυνατότητα επαναλαμβανόμενης δειγματοληψίας καθιστά τη μέθοδο ιδιαίτερα χρήσιμη για την παρακολούθηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης και της δυναμικής μεταβολής των μοριακών χαρακτηριστικών του όγκου, χωρίς την ανάγκη επαναλαμβανόμενων χειρουργικών παρεμβάσεων στον ασθενή. [70]

#### **4.3.1 Αναδυόμενοι Κυκλοφορούντες Βιοδείκτες στην Ογκολογία**

Ειδικότερα, μέσω της μεθόδου της υγρής βιοψίας, είναι δυνατή η ανίχνευση κάποιων πολλά υποσχόμενων μοριακών δεικτών, όπως το κυκλοφορούν καρκινικό DNA, ctDNA, τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα, CTCs, και τα κυκλοφορούντα microRNAs, ct-miRNAs, τα οποία σχετίζονται με την ανάπτυξη και την εξέλιξη του όγκου. (Εικόνα 20) [71]

Η αξιολόγηση αυτών των δεικτών συμβάλλει σημαντικά τόσο στη διάγνωση όσο και στην πρόβλεψη της πιθανότητας μετάστασης ή υποτροπής της νόσου, παρέχοντας πολύτιμα δεδομένα για τη βελτίωση της διαχείρισης των ασθενών και για την προώθηση της εξατομικευμένης ιατρικής. [71]



Εικόνα 20: Σχηματική αναπαράσταση της υγρής βιοψίας. Το αίμα καρκινοπαθών περιέχει CTCs, ctDNA και ct-miRNAs, παρέχοντας πληροφορίες για την εξέλιξη του όγκου, την πρόγνωση και την απόκριση στη θεραπεία. [71]

#### 4.3.1.1 Κυκλοφορούντα Καρκινικά Κύτταρα, CTCs

Κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα, CTCs, ορίζονται τα καρκινικά κύτταρα που έχουν αποσπαστεί από πρωτογενείς ή μεταστατικούς όγκους και έχουν εισέλθει στην κυκλοφορία του περιφερικού αίματος. Τα CTCs θεωρούνται κρίσιμοι παράγοντες στη διαδικασία της μετάστασης, καθώς διαθέτουν τη δυνατότητα να διαφύγουν από τον πρωτοπαθή όγκο, να επιβιώσουν στην κυκλοφορία και να εγκατασταθούν σε απομακρυσμένους ιστούς, σχηματίζοντας δευτερογενείς όγκους. [72]

Τα τελευταία χρόνια, πολυάριθμες μελέτες έχουν αναδείξει τη συσχέτιση των επιπέδων των CTCs με την εξέλιξη της νόσου, επιβεβαιώνοντας τον καθοριστικό τους ρόλο στη μεταστατική διαδικασία. Επιπλέον, τα CTCs αναγνωρίζονται πλέον ως σημαντικός βιοδείκτης, με δυναμικές εφαρμογές στη διάγνωση, την πρόγνωση και τη δυναμική παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία. [70]

Ανακαλύφθηκαν το 1869 από τον Thomas Ashworth, ωστόσο η κλινική τους σημασία αναγνωρίστηκε μόλις τις τελευταίες δεκαετίες, χάρη στη βελτιστοποίηση των τεχνικών ανίχνευσης και απομόνωσής τους. Παράλληλα, το αυξανόμενο επιστημονικό ενδιαφέρον για τη χρήση τους ως βιοδείκτες έχει ενισχύσει τη μελέτη τους. Τα CTCs μπορούν να ανιχνευθούν στο περιφερικό αίμα των ασθενών, προσφέροντας μια μη επεμβατική προσέγγιση για τη μελέτη της καρκινικής εξέλιξης και της ανταπόκρισης στη θεραπεία. [70]

Η παρουσία αυτών των κυττάρων στην κυκλοφορία του αίματος βρίσκεται σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις (1-10 κύτταρα ανά χιλιοστόλιτρο αίματος). Ωστόσο, σε σύγκριση με τις παραδοσιακές βιοψίες ιστών, προσφέρουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την ενδογενή και ενδοκαρκινική ετερογένεια του όγκου, καθώς επιτρέπουν την ανίχνευση γενετικών αλλοιώσεων, τρανσκριπτικών και επιγενετικών ρυθμίσεων. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, δεδομένου ότι οι συμβατικές βιοψίες, λόγω της περιορισμένης ποσότητας ιστού που λαμβάνεται, ενδέχεται να μην είναι αντιπροσωπευτικές για το σύνολο του όγκου. [71]

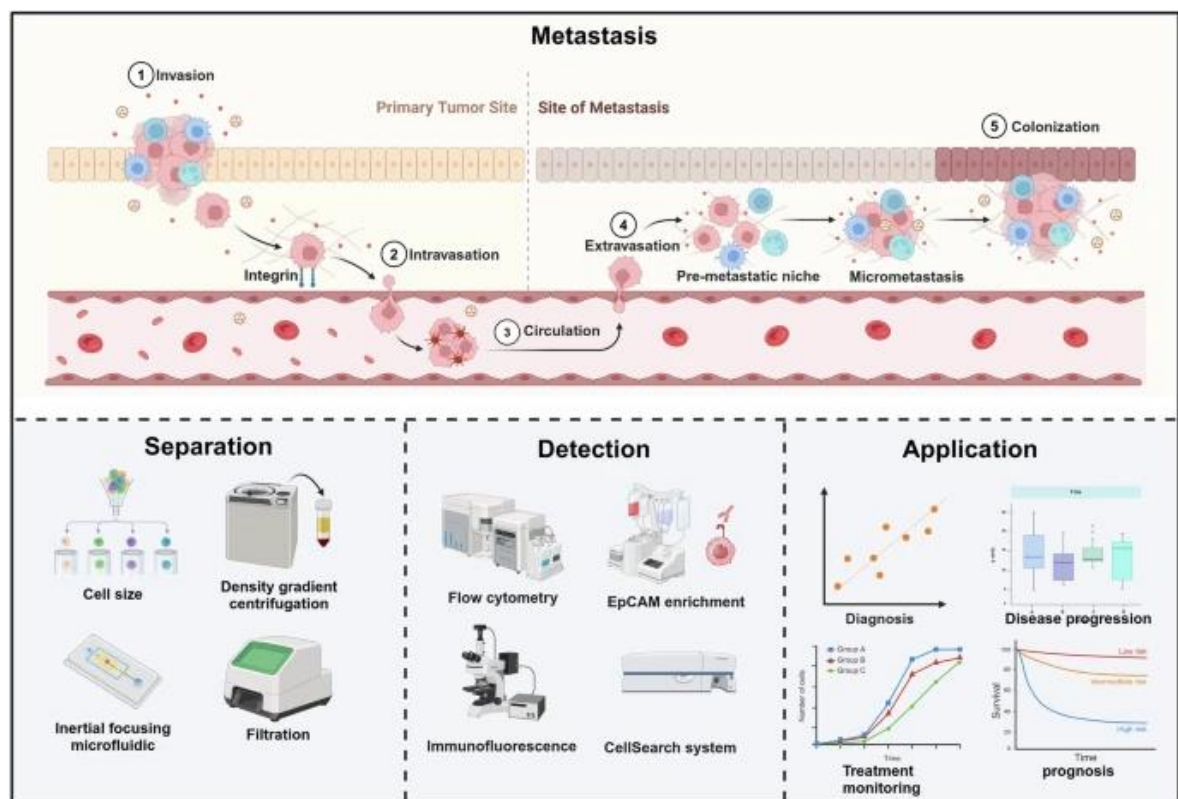
Μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στη μελέτη των CTCs είναι η αποτελεσματική απομόνωσή τους. Οι τεχνικές απομόνωσης διακρίνονται σε δύο κύριες κατηγορίες, ανάλογα με το αν βασίζονται στις βιολογικές ή φυσικές ιδιότητες των κυττάρων. Στην πρώτη κατηγορία εντάσσεται η ανοσομαγνητική απομόνωση, με κυριότερη μέθοδο τη CellSearch®, η οποία, επί του παρόντος, είναι η μοναδική τεχνική που έχει λάβει έγκριση από τον FDA. [73]

Η συγκεκριμένη τεχνική απομόνωσης χρησιμοποιεί μαγνητικά νανοσωματίδια επικαλυμμένα με αντισώματα έναντι του επιθηλιακού μορίου προσκόλλησης, EpCAM, για τον εμπλουτισμό του δείγματος με CTCs. Εφόσον πραγματοποιηθεί η απομόνωση τους, η ανίχνευσή τους ολοκληρώνεται μέσω ανοσοθοροσμού για τον έλεγχο έκφρασης της κυτταροκερατίνης, CK, της 4,6-διαμιδινό-2-φαινυλινδόλης, DAPI και του κοινού λευκοκυτταρικού αντιγόνου, CD45. Τελικά, ως CTCs θα χαρακτηριστούν τα CK- και DAPI- θετικά, CD45- αρνητικά κύτταρα με διάμετρο μεγαλύτερη των 4  $\mu\text{m}$ . [73]

Ωστόσο, η μέθοδος CellSearch® βασίζεται στην έκφραση του EpCAM για την απομόνωση των CTCs, ανιχνεύοντας αποκλειστικά εκείνα τα καρκινικά κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο μόριο. Ωστόσο, δεν εκφράζουν όλα τα CTCs το EpCAM.

Κατά τη διάρκεια της επιθηλιακής προς μεσεγχυματικής μετάβασης (Epithelial-mesenchymal transition, EMT), μιας διαδικασίας που παρατηρείται συχνά σε μεταστατικά καρκινικά κύτταρα, τα CTCs ενδέχεται να παρουσιάσουν μειωμένη ή και πλήρη απώλεια της έκφρασης του EpCAM. Δεδομένου ότι η CellSearch® στηρίζεται αποκλειστικά στην παρουσία αυτού του μορίου για την ανίχνευση και απομόνωση των κυττάρων, είναι πιθανό να μην εντοπίζει εκείνα τα CTCs που έχουν υποστεί EMT, οδηγώντας έτσι σε υποεκτίμηση του πραγματικού αριθμού των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων στο αίμα. [73]

Παρόλο που οι υφιστάμενες τεχνολογίες απομόνωσης και ανάλυσης των CTCs παρουσιάζουν ορισμένους περιορισμούς, έχουν συμβάλει ουσιαστικά στην κατανόηση της βιολογίας αυτών των κυττάρων και στην αξιολόγηση της κλινικής τους σημασίας. Επιπλέον, τα έως τώρα δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα αναμένεται να αποκτήσουν ολοένα και πιο σημαντικό ρόλο στο μέλλον, τόσο στη διάγνωση όσο και στη δυναμική παρακολούθηση της πορείας της νόσου και στην πρόγνωση του καρκίνου. (Εικόνα 21)



Εικόνα 21: Στάδια αξιοποίησης των CTCs μέσω υγρής βιοψίας. Μετάσταση, διαχωρισμός, ανίχνευση, ανάλυση δεδομένων και τελική εφαρμογή τους. [70]

Η μοριακή ανάλυση των μεταλλάξεων στα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα μπορεί να αποκαλύψει κρίσιμες πληροφορίες σχετικά με την ανταπόκριση στη θεραπεία, καθώς και την ανάπτυξη μηχανισμών αντοχής σε συγκεκριμένους υποπληθυσμούς των CTCs. Ο αριθμός τους, δηλαδή, μπορεί να λειτουργήσει ως προγνωστικός δείκτης της πορείας της νόσου και της κλινικής απόκρισης. Ενδεικτικά, μελέτες έχουν δείξει ότι σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού, του προστάτη και του παχέος εντέρου, η συγκέντρωση των CTCs συσχετίζεται με την κλινική έκβαση. [72]

Συγκεκριμένα, σε μελέτη που διεξήχθη σε ασθενείς με μεταστατικό μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα διαπιστώθηκε ότι η πλειονότητα των ασθενών που εμφάνισαν επιδείνωση της νόσου παρά τη χορήγηση αναστολέων κινάσης τυροσίνης, TKIs, έφεραν CTCs με τη μετάλλαξη EGFR T790M, η οποία αποτελεί καθιερωμένο μοριακό μηχανισμό επίκτητης αντοχής στη θεραπεία. [72]

Κατά συνέπεια, η ανίχνευση της μετάλλαξης αυτής στα CTCs μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την έγκαιρη αναγνώριση της ανθεκτικότητας στους TKIs πρώτης γενιάς, επιτρέποντας την έγκαιρη τροποποίηση της θεραπευτικής στρατηγικής. [72]

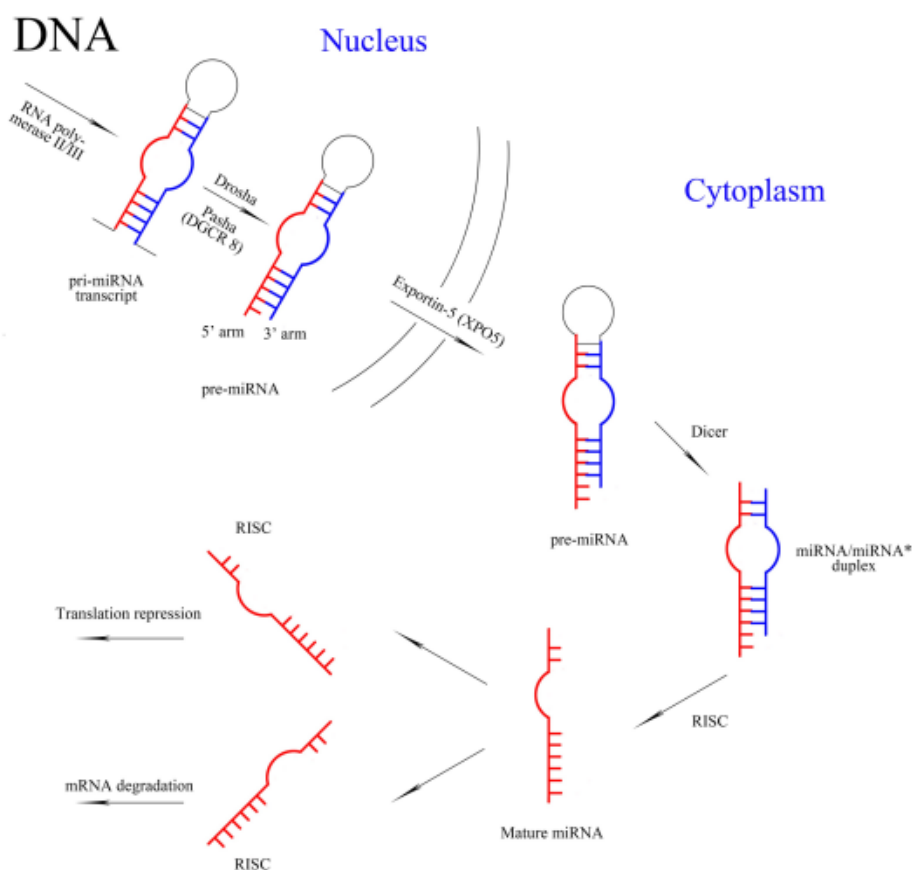
#### **4.3.1.2 Κυκλοφορούντα miRNAs, ct-miRNAs**

Τα microRNAs, miRNAs, είναι μικρά, μη κωδικά μόρια RNA μήκους 18 με 25 νουκλεοτιδίων, τα οποία λειτουργούν ως αρνητικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης μέσω της καταστολής της μετάφρασης ή της αποδόμησης του mRNA. [74]

Η βιογένεση των ώριμων miRNAs αποτελείται από μια ακολουθία βιολογικών διεργασιών. Αρχικά, πραγματοποιείται η σύνθεση ενός πρωτογενούς μεταγραμμένου miRNA, pri-miRNA, στον πυρήνα από την RNA πολυμεράση II/III και στη συνέχεια το μόριο αυτό υφίσταται αποκοπή από τις πρωτεΐνες Drosha/Pasha (DGCR8), μετατρέποντάς το σε ένα προ-miRNA (pre-miRNA). [74]

Ακολουθεί η εξαγωγή του pre-miRNA από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα μέσω της Exportin-5 (XPO5) και η φόρτωση του στην Dicer, η οποία αποκόπτει τον βρόγχο του μορίου, με αποτέλεσμα την παραγωγή μίας δίκλωνης δομής. Η δομή αυτή αποτελείται από το miRNA και το αντισυμπληρωματικό miRNA (anti-sense miRNA). Συνήθως, το αντισυμπληρωματικό miRNA αποικοδομείται, ενώ η μακρά ώριμη αλυσίδα του miRNA ενσωματώνεται στο σύμπλοκο καταστολής της μετάφρασης που επάγεται από miRNA.

Τελικά, αυτή η διαδικασία οδηγεί σε σιγή των γονιδίων είτε μέσω αποικοδόμησης του mRNA είτε μέσω καταστολής της μετάφρασης, ανάλογα με τον βαθμό συμπληρωματικότητας μεταξύ του miRNA και του στόχου του στο mRNA. (Εικόνα 22) [74]



Εικόνα 22: Βιοσύνθεση του miRNA. [74]

Στον άνθρωπο, ποσοστό υψηλότερο του 60% των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες εκτιμάται ότι φέρει περιοχές πρόσδεσης για miRNA εντός της 3'-μη μεταφραζόμενης περιοχής (3'-UTR). Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης επιτυγχάνεται μέσω μετα-μεταγραφικών μηχανισμών, καθώς είναι δυνατόν ένα μεμονωμένο miRNA να αλληλεπιδρά με δεκάδες ή ακόμη και εκατοντάδες mRNA-στόχους. Εξάλλου, ο κρίσιμος ρόλος των miRNAs σε βασικές διεργασίες των κυττάρων, όπως ο συντονισμός και η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, της απόπτωσης, του πολλαπλασιασμού και της κυτταρικής διαφοροποίησης, έχει τεκμηριωθεί από πλήθος ερευνών. [74]

Η απορρύθμιση των miRNAs έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται στην παθογένεση διαφόρων ασθενειών, όπως σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου και σε καρδιαγγειακές παθήσεις, καθιστώντας συγκεκριμένα miRNA ως υποψήφιους θεραπευτικούς στόχους. [72], [74]

Τα miRNAs που μπορούν να ανιχνευθούν σε βιολογικά υγρά του ανθρώπινου σώματος, όπως στο αίμα, το σάλιο, τα ούρα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, ορίζονται ως κυκλοφορούντα miRNAs. Η δυνατότητα, λοιπόν, ανίχνευσης τους στα παραπάνω βιολογικά υγρά, η σταθερότητα τους σε αυτά, καθώς και η ανθεκτικότητάς τους στην ενδογενή δραστηριότητα της RNάσης, έχουν αναδείξει τα κυκλοφορούντα miRNAs ως υποσχόμενους μη επεμβατικούς βιοδείκτες στη διάγνωση και στη φαρμακοδυναμική παρακολούθηση της θεραπευτικής προσέγγισης σε ασθενείς με καρκίνο. Επιπλέον, η ειδικότητα ορισμένων miRNAs για συγκεκριμένους τύπους καρκίνου έχει ενισχύσει τη χρήση τους ως εργαλεία για την κατηγοριοποίηση των τύπων καρκίνου. [72]

Στις πρώιμες μελέτες των Lawrie και συνεργατών του, οι οποίοι μελέτησαν την ανίχνευση των miRNAs στον ορό ασθενών με διάχυτο λέμφωμα μεγάλων Β-κυττάρων, DLBCL, διαπιστώθηκε ότι η αυξημένη έκφραση του miR-21 στον ορό συσχετιζόταν με καλύτερο χρόνο επιβίωσης χωρίς υποτροπή. Ωστόσο, δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί η αιτία της συσχέτισης μεταξύ των υψηλών επιπέδων του miR-21 και της θετικής πρόγνωσης. Μία πιθανή εξήγηση είναι ότι σε ορισμένους τύπους καρκίνου, όπως και στην περίπτωση του DLBCL, το miR-21 έχει αντιπολλαπλασιαστική δράση, αναστέλλοντας δηλαδή την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, ενώ σε άλλους τύπους καρκίνου μπορεί να δρα με αντίθετο τρόπο, προάγοντας τόσο τον πολλαπλασιασμό όσο και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Επίσης, μελετάται ο ρόλος του miR-21 στη ρύθμιση της δραστηριότητας ογκογονιδίων και αντι-αποπτωτικών μορίων που επηρεάζουν την εξέλιξη του DLBCL. Κάποιοι πιθανοί στόχοι του μπορεί να είναι τα γονίδια PLAG1, E2F3, JAG1, SKI και STAT3, τα οποία παίζουν κρίσιμο ρόλο στην παθογένεση του συγκεκριμένου τύπου καρκίνου. Επομένως, η ανίχνευση υψηλών επιπέδων miR-21 σε ασθενείς με DLBCL ενδέχεται να αποτελεί προγνωστικό δείκτη καλύτερης κλινικής έκβασης. Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου να επιβεβαιωθεί η αξιοπιστία του ως βιοδείκτη και η εφαρμογή του στην κλινική πράξη. [75]

Σε άλλη μελέτη των Ali και συνεργατών του, η οποία επικεντρώθηκε στον καρκίνο του παγκρέατος, η υψηλή έκφραση του miR-21 στο πλάσμα των ασθενών συσχετίστηκε με κακή πρόγνωση, μειωμένη επιβίωση και εμφάνιση ανθεκτικότητας στα φάρμακα in

vitro, υποδεικνύοντας την πιθανή χρησιμότητά του ως προγνωστικό δείκτη για την εκτίμηση της επιθετικότητας του όγκου. [72], [76]

Επιπλέον, τα ct-miRNAs αναδύονται ως πολλά υποσχόμενοι βιοδείκτες για την παρακολούθηση της εξέλιξης του καρκίνου και την εκτίμηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Η μελέτη του Greystoke, επικεντρώθηκε στην ανάπτυξη ενός πάνελ 10 miRNAs, το οποίο εφαρμόστηκε αρχικά σε πειραματικά μοντέλα ποντικών και στη συνέχεια σε δείγματα από ασθενείς, αποδεικνύοντας τη χρησιμότητά του στην εκτίμηση του φορτίου του όγκου και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. [72]

Αρχικά, στο πλάσμα ποντικών με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, SCLC, εντοπίστηκε το miR-95, το οποίο βρέθηκε να παρακολουθεί αποτελεσματικά την ανάπτυξη του όγκου με ευαισθησία, προτού αυτός γίνει ανιχνεύσιμος μέσω απεικονιστικών μεθόδων. Με βάση την ανακάλυψη αυτή, επιλέχθηκε και σχεδιάστηκε το πάνελ των 10 miRNAs, το οποίο περιλάμβανε τα εξής: miR-95, miR-141, miR-195, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-210, miR-335, miR-375, miR-429. Έπειτα, μελετήθηκε σε ασθενείς με SCLC, NSCLC, καρκίνο του παχέος εντέρου και καρκίνο του παγκρέατος, καθώς και σε υγιείς εθελοντές. [72], [77]

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τα επίπεδα των παραπάνω miRNAs ήταν αυξημένα στους ασθενείς με καρκίνο συγκριτικά με τους υγιείς εθελοντές, φανερώνοντας την πιθανή χρήση τους ως μη επεμβατικούς διαγνωστικούς βιοδείκτες. Επίσης, τα επίπεδα των miRNAs παρατηρήθηκαν περισσότερο υψηλά στους ασθενείς με μεγαλύτερο φορτίο όγκου, συμβάλλοντας έτσι στην εκτίμηση σχετικά με την εξέλιξη της νόσου. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι μετά τη θεραπεία, τα επίπεδά τους μειώθηκαν, με τη μείωση να είναι πιο έντονη σε ασθενείς που εμφάνισαν καλή ανταπόκριση στη θεραπεία. [72], [77]

Συνολικά, τα ct-miRNAs αναδεικνύονται ως πολλά υποσχόμενοι βιοδείκτες για τη διάγνωση, την πρόγνωση, την παρακολούθηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης και την εκτίμηση του φορτίου του όγκου σε διάφορους τύπους καρκίνου. Η κλινική τους αξία και χρησιμότητα βασίζεται στη συσχέτιση συγκεκριμένων miRNAs με την επιθετικότητα του εκάστοτε υπό μελέτη όγκου και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Ωστόσο, δε μπορεί να παραλειφθεί η απαίτηση για περαιτέρω κλινικές μελέτες με στόχο την επικύρωση της διαγνωστικής και προγνωστικής τους αξίας και την ενσωμάτωσή τους στην κλινική πράξη ως δυναμικούς βιοδείκτες.



#### **4.3.1.3 Κυκλοφορούν Καρκινικό DNA, ctDNA**

Το κυκλοφορούν καρκινικό DNA, ctDNA, αποτελεί ένα υποσύνολο του κυκλοφορούντος ελεύθερου DNA (cell-free DNA, cfDNA), μπορεί να απομονωθεί από την κυκλοφορία του αίματος και προέρχεται άμεσα από τα καρκινικά κύτταρα. Το cfDNA ανιχνεύεται στο πλάσμα και προέρχεται κυρίως από φυσιολογικά λευκοκύτταρα και στρωματικά κύτταρα, ως αποτέλεσμα φυσιολογικών διεργασιών, όπως η απόπτωση και η νέκρωση. [70]

Το 1977, οι Leon και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα του cfDNA στο πλάσμα ήταν σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο συγκριτικά με υγιή άτομα. Η παρατήρηση αυτή υπέδειξε ότι ένα τμήμα του cfDNA προέρχεται από καρκινικά κύτταρα, γεγονός που οδήγησε στην αναγνώριση του ctDNA ως σημαντικού βιοδείκτη για την παρακολούθηση της εξέλιξης του καρκίνου. [70]

Αν και το ctDNA αντιπροσωπεύει μόνο ένα μικρό ποσοστό του συνολικού cfDNA (τυπικά κυμαίνεται από 0,1% έως 1,0%), περιέχει πολύτιμες γενετικές και επιγενετικές πληροφορίες, οι οποίες αντικατοπτρίζουν το μοριακό προφίλ του όγκου. Ως εκ τούτου, η ανάλυση του ctDNA αναδεικνύεται σε μια μη επεμβατική προσέγγιση με σημαντικές εφαρμογές στη διάγνωση, την πρόγνωση και την παρακολούθηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης σε ασθενείς με καρκίνο. [70], [72]

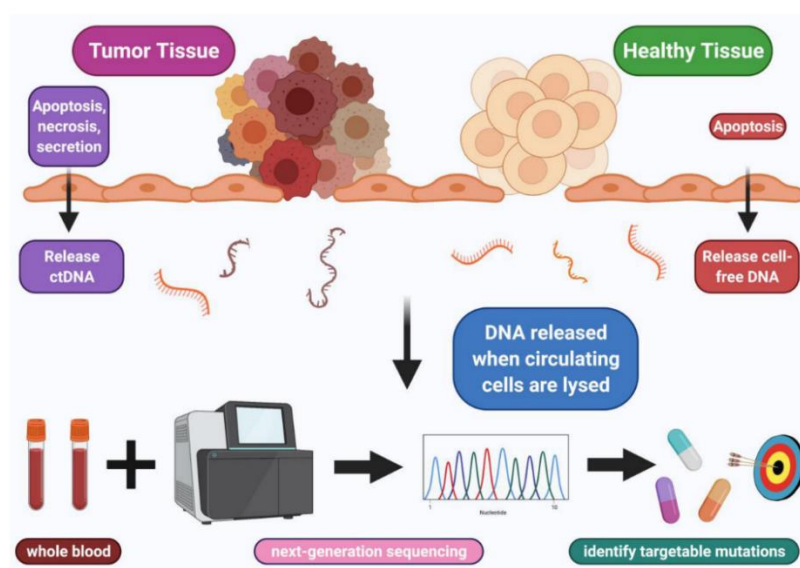
Πέρα από τη δυνατότητα λήψης του ctDNA από το αίμα, μπορεί να ανιχνευθεί και σε ασκίτη, πλευριτικό υγρό, ούρα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Εντοπίζεται σε θραύσματα μεγέθους 20-50 βάσεων, το οποίο είναι μικρότερο από το μέγεθος του cfDNA. Αυτή η ιδιαιτερότητα συμβάλλει στη μείωση της επίδρασης της ενδογενετικής και ενδοογκικής ετερογένειας, καθώς το ctDNA προέρχεται άμεσα από τα καρκινικά κύτταρα και εμπεριέχει λιγότερη επιμόλυνση από φυσιολογικό DNA, διευκολύνοντας την ακριβέστερη μοριακή ανάλυση του όγκου. Ουσιαστικά, τόσο η άμεση προέλευση του ctDNA από τον όγκο όσο και ο μικρός χρόνος ημιζωής που διαθέτει είναι δύο βασικοί παράγοντες λόγω των οποίων μπορεί να αντικατοπτριστεί δυναμικά η εξέλιξη της νόσου σε πραγματικά χρόνο. [70]

Οι μέθοδοι ανάλυσης του ctDNA περιλαμβάνουν μια σειρά προηγμένων μοριακών τεχνικών που επιτρέπουν την ευαίσθητη και ειδική ανίχνευση γενετικών και επιγενετικών αλλοιώσεων στον καρκίνο. [70]

Αρχικά, η χρήση της ποσοτικής PCR σε πραγματικό χρόνο, qPCR, επιτρέπει την ποσοτική ανάλυση σημειακών μεταλλάξεων του ctDNA σε στοχευμένα γονίδια. Ωστόσο, η μέθοδος περιορίζεται στην ταυτοποίηση είτε άγνωστων είτε σπάνιων μεταλλάξεων. [78]

Εκτός από τη qPCR, γίνεται χρήση και της ψηφιακής PCR σταγονιδίων, ddPCR, η οποία βασίζεται στη διαίρεση του δείγματος σε χιλιάδες έως εκατομμύρια σταγονίδια. Το κάθε σταγονίδιο περιέχει μία αλυσίδα DNA, μεταλλαγμένη ή μη, και με αυτό τον τρόπο επιτρέπει τον ακριβή προσδιορισμό του DNA που περιέχει η κάθε σταγόνα. Έτσι, η ddPCR επιτρέπει τον ακριβή υπολογισμό της ποσότητας του μεταλλαγμένου DNA σε σχέση με το συνολικό DNA. Η ddPCR έχει εφαρμοστεί σε αρκετές αξιοσημείωτες δημοσιεύσεις σχετικά με την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση μεταλλάξεων σε ctDNA, παρέχοντας υψηλότερη ευαισθησία και ακρίβεια συγκριτικά με τη συμβατική qPCR. [78]

Τέλος, η ανίχνευση του ctDNA μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω αλληλούχησης επόμενης γενιάς (Next-Generation Sequencing, NGS). (Εικόνα 23) Η NGS επιτρέπει την παράλληλη ανάλυση πολλών εκατομμυρίων σύντομων αλληλουχιών DNA, ακολουθούμενη είτε από ευθυγράμμιση αλληλουχιών με ένα γονιδίωμα αναφοράς είτε από συναρμολόγηση de novo αλληλουχιών. Προσφέρει την ταυτοποίηση μεταλλάξεων, γονιδιακών αναδιατάξεων και επιγενετικών τροποποιήσεων, παρέχοντας μία ολοκληρωμένη εικόνα του μοριακού προφίλ του όγκου. [78]



Εικόνα 23: Ανίχνευση μεταλλάξεων μέσω ctDNA. Απελευθέρωση ctDNA από καρκινικό ιστό μέσω απόπτωσης και νέκρωσης. Συλλογή αίματος, NGS και ανάλυση γενετικών αλλοιώσεων για εξατομικευμένη θεραπεία. [79]

Σε μελέτη των Diaz και συνεργατών του, αναφέρθηκαν αυξημένα επίπεδα μεταλλαγμένου KRAS ctDNA στο πλάσμα ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου. Στους ασθενείς αυτούς εφαρμόζοταν θεραπεία με αντι-EGFR φάρμακα, τα οποία δηλαδή στοχεύουν τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα. Ωστόσο, αυτό που αξίζει να αναφερθεί είναι ότι οι ασθενείς είχαν αρχικά διαγνωστεί με όγκο KRAS wild-type, δηλαδή με καρκινικό όγκο που δε έφερε μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας, η ανίχνευση υψηλών επιπέδων ctDNA με μεταλλαγμένο KRAS αποτελεί ένδειξη εξέλιξης της νόσου και πιθανής απόκτησης ανθεκτικότητας στη θεραπεία, υποδεικνύοντας την ανάγκη για παρακολούθηση της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία. [80]

Οι Dawson και συνεργάτες, σε μελέτη τους σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού, επίσης, ανέδειξαν την κλινική σημασία του ctDNA. Τα ευρήματα της έρευνάς τους έδειξαν ότι το ctDNA στο πλάσμα των ασθενών παρουσίασε τόσο μεγαλύτερη ευαισθησία όσο και καλύτερη συσχέτιση με τις αλλαγές στο φορτίο του όγκου, συγκριτικά με άλλους βιοδείκτες. Επίσης, προσέφερε πρώιμες ενδείξεις σχετικά με την ανταπόκριση στη θεραπεία. Επομένως, η δυνατότητα του ctDNA να ανιχνεύει με μεγαλύτερη ακρίβεια και ταχύτητα τις αλλαγές στο μέγεθος του όγκου, και, κατά επέκταση, την εξάπλωση της νόσου κατά τη διάρκεια της θεραπείας, σε σύγκριση με άλλους βιοδείκτες που ανιχνεύονται στο αίμα, το καθιστά ως ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο στη φαρμακοδυναμική παρακολούθηση των εκάστοτε θεραπειών. [81]

Επί του παρόντος, η ανάλυση του ctDNA έχει εγκριθεί από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων, EMA, και τον FDA ως εναλλακτική μέθοδος για την επιλογή ασθενών με EGFR-μεταλλαγμένο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα για στοχευμένη θεραπεία, σε περιπτώσεις όπου δεν είναι διαθέσιμο δείγμα ιστού όγκου. [72]

#### **4.3.2 Κλινική Σημασία της Τοξικότητας ως Φαρμακοδυναμικός Δείκτης στην Αντικαρκινική Θεραπεία**

Τόσο οι συμβατικές θεραπευτικές προσεγγίσεις όσο και οι πιο σύγχρονοι στοχευμένοι φαρμακευτικοί παράγοντες ενδέχεται να προκαλέσουν στους ασθενείς σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως δυσλειτουργία του θυρεοειδούς, υπέρταση, καρδιοτοξικότητα και τοξικότητα του δέρματος. Η ανίχνευση και χρήση κατάλληλων βιοδεικτών παίζουν καθοριστικό ρόλο στην πρόληψη και τη μείωση των τοξικών

παρενεργειών που συχνά συνοδεύουν τα αντικαρκινικά φάρμακα. Ιδιαίτερα στην περίπτωση χορήγησης συνδυαστικών θεραπευτικών σχημάτων, οι παρενέργειες μπορεί να αλληλεπικαλύπτονται μεταξύ των φαρμάκων, καθιστώντας τη διαχείριση της τοξικότητας πιο περίπλοκη. [72]

Η ιδέα της χρήσης ενός ενιαίου βιοδείκτη για την παρακολούθηση μιας συγκεκριμένης τοξικότητας θα μπορούσε να απλοποιήσει σημαντικά τη διαδικασία κλινικής παρακολούθησης και τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων, σε σύγκριση με την ανάγκη ανίχνευσης διαφορετικών βιοδεικτών για κάθε φαρμακευτικό παράγοντα. Επιπλέον, η παρακολούθηση των μεταβολών των ανεπιθύμητων ενεργειών, κατά τη διάρκεια της θεραπείας, παρέχει πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την ανταπόκριση του ασθενούς στην εκάστοτε θεραπεία όσο και για την ανάγκη για προσαρμογή της δόσης ή τροποποίηση του θεραπευτικού σχήματος. Συνεπώς, η ίδια η τοξικότητα μπορεί, σε ορισμένες περιπτώσεις, να λειτουργήσει ως φαρμακοδυναμικός βιοδείκτης, συμβάλλοντας στην παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. [72]

#### **4.3.2.1 Δυσλειτουργία του Θυρεοειδούς**

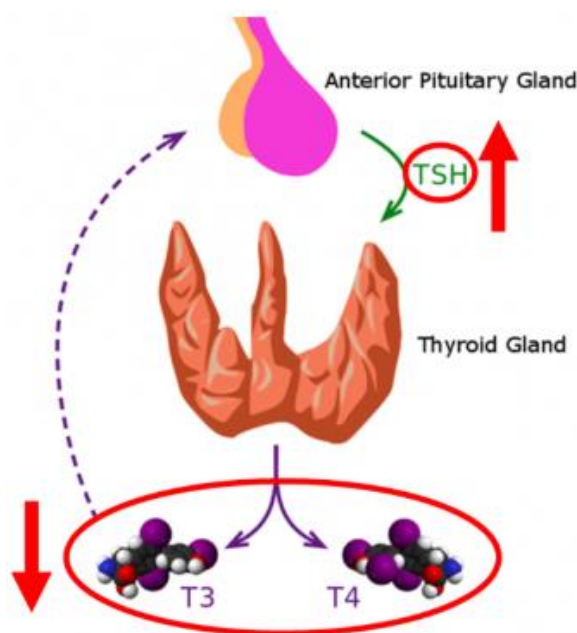
Η δυσλειτουργία του θυρεοειδούς, με κύρια εκδήλωση τον υποθυρεοειδισμό, αποτελεί μια σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια, η οποία προκαλείται από την επίδραση χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, ιδιαίτερα των στοχευμένων θεραπειών και των ανοσοθεραπειών, και συχνά παραβλέπεται. Συγκεκριμένα, σε ασθενείς που λαμβάνουν σουνιτινίμπη, η εμφάνιση υποθυρεοειδισμού καταγράφεται σε ποσοστά που κυμαίνονται από 32% έως 85%. Επιπλέον, αρνητικές επιδράσεις στη λειτουργία του θυρεοειδούς έχουν επίσης συσχετιστεί με τη χορήγηση TKIs, όπως η ιματινίμπη, η δασατινίμπη, η νιλοτινίμπη και η σοραφενίμπη. [72]

Παρότι ο ακριβής μηχανισμός μέσω του οποίου προκαλούνται αυτές οι θυρεοειδικές δυσλειτουργίες δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί, έχουν προταθεί διάφορες υποθέσεις. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η υποχώρηση των τριχοειδών αγγείων, η παραγωγή αυτοαντισωμάτων έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης, η αναστολή των VEGFRs και των προϊόντων του πρωτο-ογκογονιδίου RET, καθώς και η μειωμένη πρόσληψη ιωδίου. [72]

Οι θυρεοειδικές ορμόνες, τριωδοθυρονίνη, T3, και θυροξίνη, T4, διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού και της ενεργειακής ομοιόστασης. Τα επίπεδά τους μπορούν να επηρεάσουν τόσο τη φαρμακοκινητική όσο και τη φαρμακοδυναμική των αντικαρκινικών φαρμάκων, επηρεάζοντας την ανοχή των ασθενών καθώς και την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. [72], [82]

Οι διακυμάνσεις στα επίπεδα των T3 και T4 μπορεί να οδηγήσουν σε συμπτώματα που προσομοιάζουν με ανεπιθύμητες ενέργειες της χημειοθεραπείας, όπως κόπωση, αδυναμία, διαταραχές μνήμης και καταθλιπτική διάθεση. Αντίθετα, αυξημένα επίπεδα αυτών των ορμονών έχουν συσχετιστεί με υπέρταση, ταχυκαρδία και απώλεια βάρους, γεγονός που υπογραμμίζει την ανάγκη τακτικής παρακολούθησης αυτών των δεικτών κατά τη διάρκεια της θεραπείας. [72]

Η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη, TSH, αποτελεί τον κύριο δείκτη της θυρεοειδικής λειτουργίας και παρουσιάζει λογαριθμική σχέση με τα επίπεδα της ελεύθερης θυροξίνης, fT4. Η συστηματική παρακολούθηση της TSH συνιστά βασική στρατηγική για την έγκαιρη διάγνωση θυρεοειδικής δυσλειτουργίας. Στην κλινική πρακτική, η μέτρηση της TSH πραγματοποιείται κατά την έναρξη της θεραπείας, σε μηνιαία βάση για τους πρώτους έξι μήνες και στη συνέχεια κάθε 2-3 μήνες, εκτός εάν υπάρχουν ενδείξεις κεντρικής ή δευτερογενούς δυσλειτουργίας, οπότε απαιτείται λεπτομερέστερη αξιολόγηση. (Εικόνα 24) [82]



Εικόνα 24: Υποθυρεοειδισμός: Αύξηση των επιπέδων TSH, μείωση των επιπέδων T3 και T4. [83]

Ωστόσο, δεν υπάρχουν σαφώς καθορισμένες κατευθυντήριες γραμμές σχετικά με το πότε πρέπει να ξεκινήσει η θεραπεία με λεβοθυροξίνη σε καρκινοπαθείς. Η λεβοθυροξίνη αποτελεί ένα συνθετικό ανάλογο της T4 και χρησιμοποιείται ως θεραπεία υποκατάστασης του θυρεοειδούς σε περιπτώσεις κλινικά σημαντικού υποθυρεοειδισμού. [82]

Ορισμένες συστάσεις προτείνουν τη χορήγησή της, όταν τα επίπεδα της TSH υπερβαίνουν τα 10 mIU/L και τα επίπεδα T4 είναι χαμηλά. Επιπλέον, οι TKIs μπορεί να αυξήσουν τη ζήτηση για λεβοθυροξίνη σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε θυρεοειδεκτομή, γεγονός που απαιτεί προσεκτική ρύθμιση της θεραπείας. [72]

Η θυρεοειδική δυσλειτουργία μπορεί να έχει φαρμακοδυναμική σημασία πέραν της τοξικότητας. Μελέτες υποδεικνύουν μια πιθανή σχέση μεταξύ του υποθυρεοειδισμού επαγόμενου από τη θεραπεία και βελτιωμένων κλινικών εκβάσεων στις αντικαρκινικές θεραπείες. Συγκεκριμένα, σε ασθενείς με NSCLC που έλαβαν θεραπεία με αναστολείς του PD-1, η ανάπτυξη θυρεοειδικής δυσλειτουργίας συσχετίστηκε με σημαντικά μεγαλύτερη επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου, καθώς και αυξημένη συνολική επιβίωση. [84]

Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η θυρεοειδική δυσλειτουργία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως φαρμακοδυναμικός δείκτης, συμβάλλοντας στην αξιολόγηση της θεραπευτικής απόκρισης και ενισχύοντας την κατανόηση της σχέσης μεταξύ ανεπιθύμητων ενεργειών και αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

#### **4.3.2.2 Καρδιοτοξικότητα**

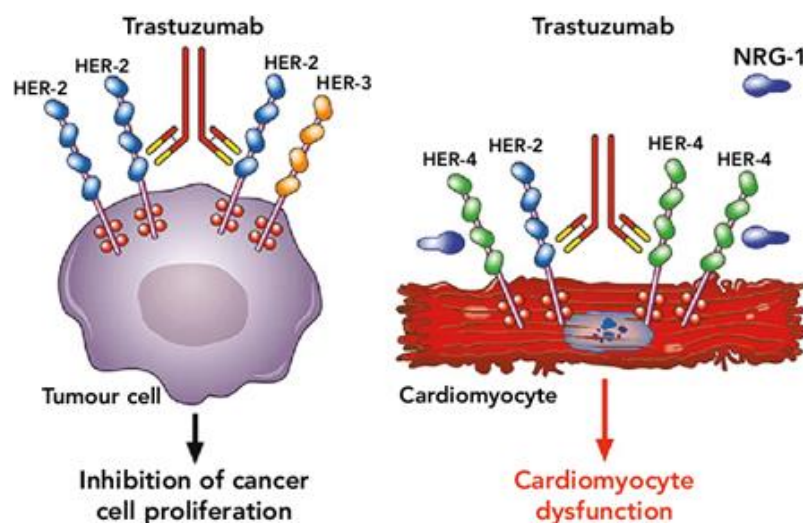
Ο ανθρώπινος υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2, HER2, είναι μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη υποδοχέας με μοριακό βάρος 185 kDa, η οποία κωδικοποιείται από το πρωτο-ογκογονίδιο ErbB2. Η υπερέκφραση του HER2 προάγει τη διαδικασία της καρκινογένεσης σε διάφορους τύπους καρκίνου, όπως ο καρκίνος του μαστού και του παχέος εντέρου. [85]

Συγκεκριμένα, η τραστοζουμάμπη, ένα ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του HER2, αποτελεί ιδιαίτερα αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή τόσο για τον πρωτοπαθή όσο και για τον μεταστατικό καρκίνο του μαστού, συμβάλλοντας στη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης των ασθενών. Αξίζει να σημειωθεί ότι η τραστοζουμάμπη ήταν το πρώτο θεραπευτικό αντίσωμα που εγκρίθηκε από τον FDA



για στοχευμένη θεραπεία στον καρκίνο. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία πρώτης γραμμής σε συνδυασμό με πακλιταξέλη, καθώς και ως μονοθεραπεία σε ασθενείς που έχουν ήδη λάβει προηγούμενα χημειοθεραπευτικά σχήματα. [85]

Η τραστοζουμάμπη παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση HER-2/HER-3 και τη μεταγωγή του σήματος, αναστέλλοντας έτσι την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. Ωστόσο, στα καρδιομυοκύτταρα, η αναστολή του καρδιακού HER-2 από την τραστοζουμάμπη διαταράσσει τη σηματοδότηση που εξαρτάται από τη νευρεγγελίνη-1, NRG-1. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η NRG-1 προάγει τον σχηματισμό ετεροδιμερών HER-2/HER-4, ενεργοποιώντας προστατευτικά μονοπάτια σε απόκριση στο κυτταρικό στρες. Η αναστολή αυτής της σηματοδοτικής οδού οδηγεί σε λειτουργικές και δομικές αλλοιώσεις των καρδιομυοκυττάρων, η οποία εκδηλώνεται κυρίως ως μείωση του κλάσματος εξώθησης της αριστερής κοιλίας. Παρόλο που αυτή η τοξικότητα θεωρείται αναστρέψιμη, η έγκαιρη διάγνωση είναι απαραίτητη για την αποφυγή μακροχρόνιων επιπτώσεων. (Εικόνα 25) [72], [86]



Εικόνα 25: Μηχανισμός δράσης της τραστοζουμάμπης στα καρκινικά κύτταρα (αριστερά) και στα κύτταρα του μυοκαρδίου (δεξιά). [86]

Ο καρδιακός βιοδείκτης NT-proBNP χρησιμοποιείται στην κλινική ιατρική για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της καρδιακής ανεπάρκειας, καθώς αντανακλά την πίεση και τη διάταση των καρδιακών κοιλιών. Πρόσφατες μελέτες αναδεικνύουν τον NT-proBNP ως φαρμακοδυναμικό δείκτη της καρδιοτοξικότητας, η οποία προκαλείται από στοχευμένους θεραπευτικούς παράγοντες, όπως η τραστοζουμάμπη. [72]

Ειδικότερα, η αύξηση των επιπέδων του NT-proBNP έχει βρεθεί πως προηγείται της εκδήλωσης της μείωσης του κλάσματος εξώθησης της αριστερής κοιλίας. Ως αποτέλεσμα, οδηγεί στην έγκαιρη αναγνώριση της καρδιακής δυσλειτουργίας και μπορεί να συμβάλει στη λήψη αποφάσεων σχετικά με την τροποποίηση του θεραπευτικού σχήματος ή τη χορήγηση φαρμάκων καρδιοπροστασίας. [72]

Συνεπώς, η φαρμακοδυναμική παρακολούθηση της θεραπείας με τραστοζουμάμπη μέσω του βιοδείκτη NT-proBNP επιτρέπει τη συστηματική αξιολόγηση της καρδιακής λειτουργίας τόσο κατά τη διάρκεια της θεραπείας όσο και μετά τη λήξη της. Η ανίχνευσή του πραγματοποιείται μέσω δειγματοληψίας αίματος, καθιστώντας τη μέτρησή του μια ελάχιστα επεμβατική και κλινικά χρήσιμη διαδικασία. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, συμβάλλει στον έγκαιρο εντοπισμό μεταβολών στη λειτουργία της αριστερής κοιλίας πριν από την κλινική εμφάνιση της καρδιακής ανεπάρκειας και στην προσαρμογή της θεραπείας σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο.

#### **4.3.2.3 Υπέρταση**

Η υπέρταση αποτελεί μία από τις συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες των αντικαρκινικών θεραπειών, ιδιαίτερα εκείνων που στοχεύουν την αγγειογένεση, όπως οι αναστολείς του VEGF. Αναστολείς, όπως η βεβασιζουμάμπη (bevacizumab), η σουνιτινίμπη (sunitinib) και η σοραφενίμπη (sorafenib), σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου προκαλείται αυτή η ανεπιθύμητη ενέργεια συνδέεται άμεσα με τον μηχανισμό δράσης των φαρμάκων. Η αναστολή του VEGF διαταράσσει τη λειτουργία του ενδοθηλίου και μειώνει τη σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου, οδηγώντας σε σύσπαση των αγγείων και αύξηση της αγγειακής αντίστασης. [72]

Δεδομένα από κλινικές μελέτες υποδηλώνουν ότι η υπέρταση μπορεί να λειτουργήσει ως φαρμακοδυναμικός βιοδείκτης, συμβάλλοντας στην πρόβλεψη της θεραπευτικής απόκρισης και στη βελτιστοποίηση της θεραπευτικής στρατηγικής. Συγκεκριμένα, μελέτες έχουν καταδείξει ότι η αύξηση της αρτηριακής πίεσης κατά τη διάρκεια της θεραπείας με αναστολείς VEGF συσχετίζεται με βελτιωμένη συνολική επιβίωση και επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου. [72]

Ιδιαίτερα σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνωμα των νεφρών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με σουνιτινίμπη, η εμφάνιση υπέρτασης συσχετίστηκε με βελτιωμένα κλινικά



αποτελέσματα, χωρίς ταυτόχρονα κλινικά σημαντική αύξηση των ανεπιθύμητων ενεργειών που σχετίζονται με την υπέρταση. Η συσχέτιση αυτή θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για την ταυτοποίηση των ασθενών με μεγαλύτερη πιθανότητα ανταπόκρισης στη θεραπεία με αναστολείς VEGF. [87]

Συνεπώς, τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η υπέρταση δεν αποτελεί απλώς ανεπιθύμητη ενέργεια, αλλά ενδέχεται να λειτουργεί και ως φαρμακοδυναμικός δείκτης αποτελεσματικότητας, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες για την εξατομίκευση της θεραπείας και τη βελτίωση των κλινικών αποτελεσμάτων.

#### **4.3.2.4 Τοξικότητα δέρματος**

Η δερματική τοξικότητα αποτελεί μία από τις πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες των στοχευμένων θεραπειών, ιδιαίτερα των αναστολέων του EGFR και των ανοσοθεραπειών. Συγκεκριμένα, η αναστολή του EGFR μέσω φαρμάκων, όπως η ερλοτινίμη (erlotinib) και η γεφινιτίμη (gefitinib), έχει συσχετιστεί με υψηλή συχνότητα εμφάνισης δερματικού εξανθήματος, το οποίο παρατηρείται σε ποσοστό 66% - 75% των ασθενών. Ο EGFR διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της επιβίωσης και της διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων του δέρματος, ενώ η αναστολή του οδηγεί σε αυξημένη φλεγμονώδη απόκριση. Η αντίδραση αυτή περιλαμβάνει την αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , και η ιντερλευκίνη-1, οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν βλάβες στα κερατινοκύτταρα, οδηγώντας σε εκτεταμένες δερματικές αντιδράσεις. [72]

Μελέτες υποδεικνύουν ότι η εμφάνιση εξανθήματος οποιουδήποτε βαθμού, που προκαλείται από αναστολείς του EGFR, μπορεί να προβλέψει καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία και βελτιωμένη συνολική επιβίωση από τη θεραπεία με ερλοτινίμη σε ασθενείς NSCLC, όταν αυτή χορηγείται ως θεραπεία δεύτερης ή τρίτης γραμμής. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ανάπτυξη του δερματικού εξανθήματος δε φαίνεται να σχετίζεται αποκλειστικά με αυξημένη ένταση της χορηγούμενης δόσης. [88]

Το γεγονός ότι η εμφάνιση μιας ανεπιθύμητης τοξικότητας, όπως το δερματικό εξάνθημα, ενδέχεται να αποτελεί δυναμικό προβλεπτικό δείκτη θεραπευτικού οφέλους και ενεργοποίησης της αντικαρκινικής δράσης των φαρμάκων είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικό τόσο για τους ασθενείς όσο και για τους κλινικούς ιατρούς. [88]

### 4.3.3 Παραδείγματα Χρήσης Φαρμακοδυναμικών Βιοδεικτών για Στοχευμένα Φάρμακα

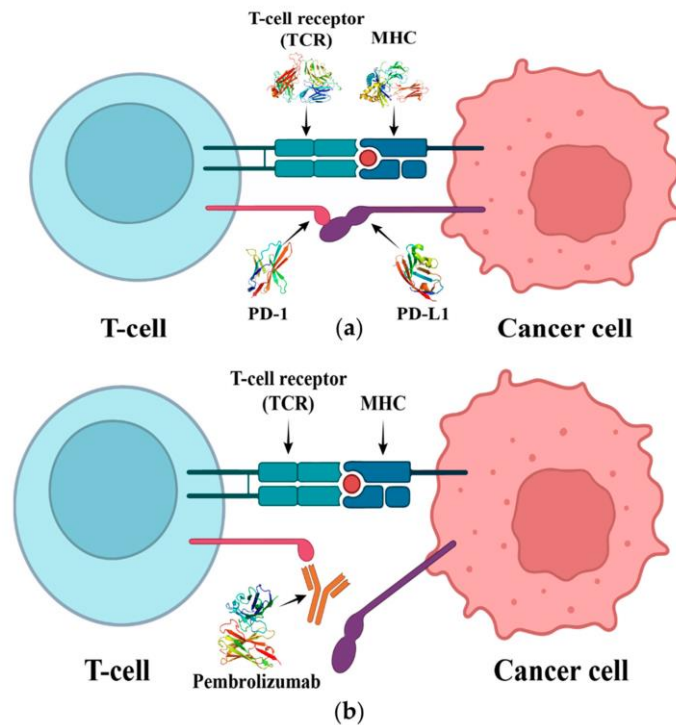
Το παρακάτω κεφάλαιο επικεντρώνεται σε αντιπροσωπευτικά αντικαρκινικά φάρμακα που αναδεικνύουν τη σημασία της φαρμακοδυναμικής παρακολούθησης σε διαφορετικά θεραπευτικά πεδία της ογκολογίας.

Συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν η Πεμπρολιζουμάμπη, ως ανοσοθεραπευτικός παράγοντας για τη μελέτη της αντικαρκινικής ανοσοαπόκρισης, η Ιμπρουτινίμπη, ως στοχευμένος αναστολέας με εφαρμογή στις αιματολογικές κακοήθειες, και η Οσιμερτινίμπη, ως αναστολέας κινάσης τυροσίνης για τη θεραπεία συμπαγών όγκων. Η ανάλυση αυτών των παραγόντων επιτρέπει την αξιολόγηση της κλινικής αξίας των φαρμακοδυναμικών βιοδεικτών, τόσο ως εργαλεία εξατομίκευσης της θεραπείας όσο και ως μέθοδοι παρακολούθησης της απόκρισης και έγκαιρης ανίχνευσης μηχανισμών ανθεκτικότητας.

#### 4.3.3.1 Πεμπρολιζουμάμπη

Η πεμπρολιζουμάμπη είναι ένας αναστολέας του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος, που στοχεύει τον υποδοχέα της προγραμματισμένης κυτταρικής θνησιμότητας-1, PD-1, έναν αρνητικό ρυθμιστή της δραστηριότητας των CD8+ T-κυττάρων. Ο PD-1, όταν συνδέεται με τους συνδέτες του, PD-L1 ή PD-L2, που εκφράζονται στα καρκινικά κύτταρα, καταστέλλει την ανοσολογική απόκριση, επιτρέποντας στα καρκινικά κύτταρα να διαφεύγουν της ανίχνευσης και καταστροφής. Η πεμπρολιζουμάμπη, ως μονοκλωνικό αντίσωμα, συνδέεται με τον PD-1 με υψηλή συγγένεια, εμποδίζοντας την αλληλεπίδρασή του με τους συνδέτες του και αποκαθιστώντας τη δραστηριότητα των CD8+ T-κυττάρων. Επομένως, η φαρμακοδυναμική δράση του μονοκλωνικού αυτού αντισώματος βασίζεται στην ενεργοποίηση των CD8+ T-κυττάρων, ενισχύοντας την ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να επιτίθεται στα καρκινικά κύτταρα. (Εικόνα 26) [89]

Η πεμπρολιζουμάμπη έχει εγκριθεί στην Ευρώπη για τη θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του μεταστατικού μελανώματος, του τοπικά προχωρημένου/μεταστατικού μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC), του καρκίνου του ουροθηλίου και του ανθεκτικού λεμφώματος Hodgkin. [72]



Εικόνα 26: Μηχανισμός δράσης πεμπρολιζουμάμπης. [89]

Η παρακολούθηση της κλινικής ανταπόκρισης και η αξιολόγηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας της πεμπρολιζουμάμπης προϋποθέτει την κατανόηση των βιοδεικτών που σχετίζονται με τη δράση της. Η μελέτη των δυναμικών μεταβολών αυτών των βιοδεικτών κατά τη διάρκεια της θεραπείας είναι ζωτικής σημασίας για την έγκαιρη εκτίμηση της απόκρισης των ασθενών, την πρόβλεψη της μακροπρόθεσμης αποτελεσματικότητας της ανοσοθεραπείας και την ενδεχόμενη προσαρμογή του θεραπευτικού σχήματος.

Ένας από τους κύριους βιοδείκτες που έχει μελετηθεί είναι η έκφραση του PD-L1 στους καρκινικούς ιστούς. Η παρουσία του PD-L1 μπορεί να επηρεάσει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας, ωστόσο τα αποτελέσματα από διάφορες μελέτες είναι αντικρουόμενα. Σε ορισμένες περιπτώσεις, υψηλή έκφραση του PD-L1 έχει συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα ανταπόκρισης στη θεραπεία, ενώ σε άλλες μελέτες δεν έχει αποδειχθεί σαφής συσχέτιση. [72]

Μορφές της πρωτεΐνης PD-L1 που δεν είναι δεσμευμένες στην επιφάνεια των κυττάρων, αλλά ανιχνεύονται στην κυκλοφορία του αίματος, αναφέρονται ως κυκλοφορούν διαλυτό PD-L1, sPD-L1. Τα αυξημένα επίπεδα sPD-L1 πριν την έναρξη της θεραπείας έχουν συσχετιστεί με δυσμενή πρόγνωση και αυξημένη πιθανότητα

προοδευτικής νόσου σε ασθενείς με μελάνωμα, γεγονός που υποδηλώνει αυξημένη παραγωγή PD-L1 από τα καρκινικά κύτταρα και πιθανώς υψηλότερη ανθεκτικότητα του όγκου στην ανοσοθεραπεία. [72], [90]

Μετά την έναρξη της θεραπείας με πεμπρολιζουμάμπη, μια βραχυπρόθεσμη αύξηση των επιπέδων sPD-L1 έχει συσχετιστεί με δυσμενή πρόγνωση και μικρότερη συνολική επιβίωση. Αυτό μπορεί να ερμηνευθεί ως αμυντικός μηχανισμός του όγκου έναντι της ανοσοθεραπείας, μέσω αυξημένης έκκρισης PD-L1 για την καταστολή της ανοσολογικής απόκρισης. [72], [90]

Αντιθέτως, μια μακροπρόθεσμη αύξηση των επιπέδων sPD-L1, παρατηρούμενη πέντε μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας, έχει συσχετιστεί με θετική ανταπόκριση στη θεραπεία. Η σταδιακή αυτή αύξηση αποδίδεται στην ενισχυμένη δραστηριότητα των CD8+ T-κυττάρων, τα οποία μέσω της ανοσολογικής αντίδρασης κατά των καρκινικών κυττάρων οδηγούν στη δευτερογενή αύξηση του sPD-L1 ως μέρος της συνολικής ανοσολογικής διεργασίας. [72], [90]

Συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση των T-κυττάρων, η οποία συνοδεύεται με την αυξημένη παραγωγή κυτοκινών, συμβάλλει στην αύξηση της έκφρασης του PD-L1, τόσο σε κυτταρική όσο και σε διαλυτή μορφή. Η ανοσολογική αυτή επίθεση οδηγεί στη λύση των καρκινικών κυττάρων, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση PD-L1 στην κυκλοφορία, το οποίο ανιχνεύεται ως sPD-L1. Η παρατεταμένη αύξηση του sPD-L1 μετά από μήνες θεραπείας μπορεί να αποτελεί ένδειξη ενεργούς ανοσολογικής απόκρισης και διήθησης του όγκου από T-κύτταρα, μια κατάσταση που συχνά συνδέεται με ευνοϊκή κλινική έκβαση. [72], [90]

Με βάση τα ανωτέρω δεδομένα, το sPD-L1 μπορεί να λειτουργήσει ως δυναμικός βιοδείκτης με πολλαπλές εφαρμογές, όπως η πρόβλεψη της ανταπόκρισης των ασθενών στη πεμπρολιζουμάμπη πριν την έναρξη της θεραπείας και η παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας και της εξέλιξης της νόσου. Τέλος, συμβάλλει στη διαφοροποίηση μεταξύ πραγματικής προόδου και ψευδοπροόδου της νόσου. Η ψευδοπρόοδος, όπως έχει επεξηγηθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, δεν αντανakλά πραγματική υποτροπή της νόσου, καθώς προκαλείται από την ανοσολογική διήθηση στον όγκο και, συνεπώς, αποτελεί ένδειξη ανοσολογικής απόκρισης στη θεραπεία.

Διαδοχικές βιοψίες από ασθενείς με μελάνωμα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με πεμπρολιζουμάμπη κατέδειξαν ότι οι ασθενείς με θετική ανταπόκριση στη θεραπεία

παρουσίαζαν υψηλότερη πυκνότητα PD-1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T-κυττάρων σε στενή εγγύτητα με PD-L1<sup>+</sup> καρκινικά κύτταρα στο διηθητικό όριο του όγκου πριν από την έναρξη της θεραπείας. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της θεραπείας, στους ασθενείς αυτούς παρατηρήθηκε αυξημένος πολλαπλασιασμός των CD8<sup>+</sup> T-κυττάρων, εντονότερη διήθηση στον όγκο και ενισχυμένη κυτταροτοξική δράση έναντι των καρκινικών κυττάρων. [72]

Μελέτη των Huang και συνεργατών του, ανέδειξε ότι η αναλογία των ενεργοποιημένων CD8<sup>+</sup> T-κυττάρων που κυκλοφορούν στο αίμα σε σχέση με το φορτίο του όγκου πριν από την έναρξη της θεραπείας αποτελεί πιο αξιόπιστο δείκτη πρόβλεψης της κλινικής ανταπόκρισης συγκριτικά με τον απόλυτο αριθμό των κυττάρων. Υψηλότερη αναλογία ενεργοποιημένων CD8<sup>+</sup> T-κυττάρων έχει συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα θετικής κλινικής απόκρισης, γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι ένα ισχυρά ενεργοποιημένο ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να αντιμετωπίσει τον καρκίνο με αυξημένη αποτελεσματικότητα. [91]

Ένας ακόμη σημαντικός φαρμακοδυναμικός βιοδείκτης για την παρακολούθηση της θεραπείας με πεμπρολιζουμάμπη είναι το ctDNA.

Ειδικότερα, η μέτρηση των επιπέδων του ctDNA τόσο πριν από την έναρξη της θεραπείας όσο και κατά τη διάρκεια της, ιδιαιτέρως στην 8η εβδομάδα, έχει συσχετιστεί με την κλινική έκβαση των ασθενών. Συγκεκριμένα, η απουσία ή η σημαντική μείωση των επιπέδων του ctDNA μετά από 8 εβδομάδες θεραπείας με πεμπρολιζουμάμπη έχει συνδεθεί με ευνοϊκή πρόγνωση και με επιβίωση χωρίς πρόοδο της νόσου, PFS, ή αυξημένη συνολική επιβίωση σε ασθενείς με NSCLC, μελάνωμα και καρκίνο του παχέος εντέρου με μικροδορυφορική αστάθεια. Η επιβίωση χωρίς πρόοδο της νόσου (Progression-Free Survival, PFS) ορίζεται ως το χρονικό διάστημα κατά το οποίο ο ασθενής δεν εμφανίζει εξέλιξη της νόσου υπό θεραπεία. Δεν αποτελεί ένδειξη ίασης, ωστόσο αντικατοπτρίζει την ικανότητα της θεραπείας να ελέγξει την ανάπτυξη του καρκίνου και να επιβραδύνει την εξέλιξή του. [72]

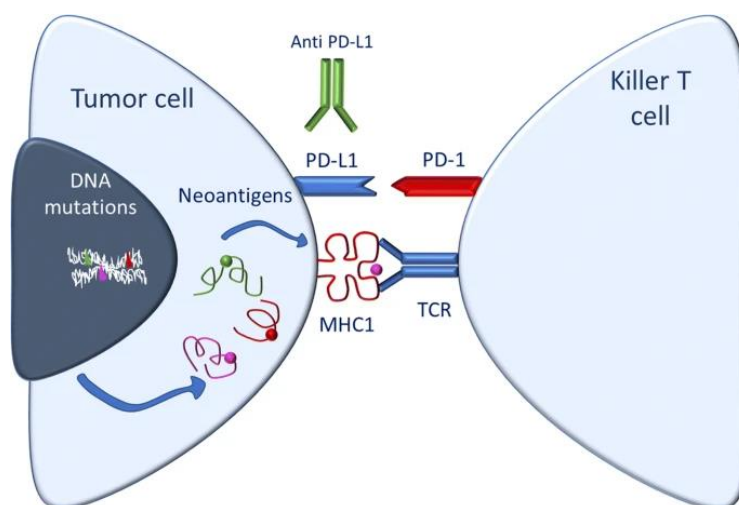
Η διαπίστωση αυτή υποδηλώνει ότι η ανοσοθεραπεία έχει επιφέρει αποτελεσματική καταστολή της καρκινικής δραστηριότητας, οδηγώντας είτε σε μείωση είτε σε επιβράδυνση της εξέλιξης του όγκου.

Αντιθέτως, η εμμένουσα παρουσία ανιχνεύσιμων επιπέδων ctDNA αποτελεί ένδειξη συνεχιζόμενης καρκινικής δραστηριότητας και μειωμένης θεραπευτικής

αποτελεσματικότητας. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η σταδιακή αύξηση των επιπέδων του ctDNA μπορεί να υποδηλώνει ανεπαρκή ανταπόκριση ή ανάπτυξη μηχανισμών αντοχής, γεγονός που μπορεί να απαιτεί τροποποίηση του θεραπευτικού πλάνου. [72]

Συνολικά, η παρακολούθηση του ctDNA αποτελεί ένα δυναμικό εργαλείο για την εξατομικευμένη διαχείριση των ασθενών, επιτρέποντας την έγκαιρη εκτίμηση της θεραπευτικής απόκρισης, την πρόγνωση της συνολικής επιβίωσης και τη λήψη κλινικών αποφάσεων για την πιθανή τροποποίηση της θεραπευτικής στρατηγικής.

Επιπλέον, το υψηλό φορτίο μεταλλάξεων έχει αναδειχθεί ως κρίσιμος προγνωστικός βιοδείκτης για την ανταπόκριση στη πεμπρολιζουμάμπη. Η αξιοποίησή του έχει καταστεί δυνατή χάρη στην εφαρμογή τεχνολογιών NGS, επιτρέποντας την ακριβή και εκτενή γενετική ανάλυση των νεοπλασματικών ιστών. Ασθενείς με αυξημένο αριθμό γενετικών μεταλλάξεων στον καρκινικό τους ιστό, όπως σε περιπτώσεις μελανώματος και NSCLC, παρουσιάζουν συχνά ενισχυμένη κλινική ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία. [72], [92]



Εικόνα 27: Καρκινικό κύτταρο με υψηλό φορτίο μεταλλάξεων, σχηματισμός νεοαντιγόνων, ενίσχυση ανοσολογικής αναγνώρισης και αποτελεσματικότητα ανοσοθεραπείας. [93]

Η συσσώρευση εκτεταμένων γενετικών μεταλλάξεων στους καρκινικούς ιστούς οδηγεί στην παραγωγή νεοαντιγόνων, δηλαδή πρωτεϊνικών επιτόπων που δεν εκφράζονται φυσιολογικά στα κύτταρα του οργανισμού. Αυτά τα νεοαντιγόνα αναγνωρίζονται από το ανοσοποιητικό σύστημα ως ξένα μόρια, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μιας ισχυρής ανοσολογικής απόκρισης. Η ενισχυμένη αυτή ανοσολογική δραστηριότητα

καθιστά τους όγκους με υψηλό φορτίο μεταλλάξεων πιο επιρρεπείς στη θεραπευτική παρέμβαση με πεμπρολιζουμάμπη. Επομένως, η αξιολόγηση του υψηλού φορτίου μεταλλάξεων ως βιοδείκτης μπορεί να διευκολύνει την επιλογή των ασθενών που είναι πιθανότερο να ανταποκριθούν θετικά στη θεραπεία. (Εικόνα 27) [72], [92]

Ένας ακόμη βιοδείκτης ο οποίος έχει μελετηθεί είναι οι συγκεντρώσεις της ιντερλευκίνης-8, IL-8, στον ορό του αίματος. Τα επίπεδα αυτά αντικατοπτρίζουν το φορτίο του όγκου και τη βιολογική του συμπεριφορά. Η IL-8 είναι μια χημοκίνη με προ-ογκογόνο δράση, η οποία εκκρίνεται από τα καρκινικά κύτταρα και το μικροπεριβάλλον του όγκου, προάγοντας τη νεοαγγειογένεση, την κυτταρική επιβίωση και τη μεταστατική ικανότητα. Υψηλά επίπεδα IL-8 έχουν συσχετιστεί με αυξημένο ρυθμό ανάπτυξης του όγκου, επιθετικότερη βιολογική συμπεριφορά και χειρότερη πρόγνωση. [72]

Οι δυναμικές, λοιπόν, μεταβολές των επιπέδων IL-8 κατά τη διάρκεια της θεραπείας με πεμπρολιζουμάμπη έχουν αναδειχθεί ως σημαντικό δείκτη της θεραπευτικής ανταπόκρισης. Συγκεκριμένα, πρώιμες μειώσεις των επιπέδων IL-8, εντός των πρώτων 2–4 εβδομάδων από την έναρξη της ανοσοθεραπείας, έχουν συσχετιστεί με αυξημένη συνολική επιβίωση των ασθενών. Η μείωση αυτή ενδέχεται να αντανάκλα την περιορισμένη καρκινική δραστηριότητα και τη μείωση του όγκου, γεγονός που υποδηλώνει αποτελεσματική αντικαρκινική απόκριση. [72]

Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις της IL-8 μπορούν να διαδραματίσουν καθοριστικό ρόλο στη διάκριση μεταξύ πραγματικής εξέλιξης της νόσου και ψευδοπροόδου. Στην περίπτωση που οι απεικονιστικές εξετάσεις φανερώνουν αύξηση του μεγέθους του όγκου, αλλά ταυτόχρονα παρατηρηθούν μειωμένα επίπεδα IL-8, υποδηλώνεται ότι η φαινομενική αύξηση του όγκου δεν οφείλεται σε καρκινική εξέλιξη, αλλά σε ανοσολογική απόκριση λόγω της φλεγμονώδους διήθησης. [72]

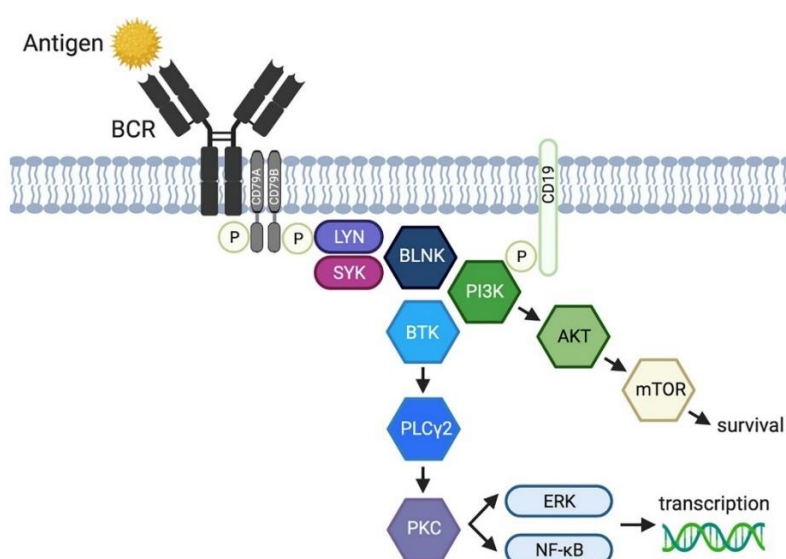
#### **4.3.3.2 Ιμπρουτινίμπη**

Η υπερρύθμιση της οδού του υποδοχέα των B-κυττάρων αποτελεί χαρακτηριστικό στοιχείο της παθοφυσιολογίας της χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας, καθώς και ορισμένων υποτύπων του λεμφώματος μη-Hodgkin. [94]

Στο μονοπάτι σηματοδότησης του υποδοχέα B-λεμφοκυττάρων, BCR, η Bruton's Tyrosine Kinase, BTK, είναι μία από τις κεντρικές πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην

σηματοδότηση του BCR. Η BTK ενεργοποιείται όταν το B-κύτταρο αναγνωρίζει το κατάλληλο αντιγόνο και συμβάλλει στην ενεργοποίηση άλλων κυτταρικών μονοπατιών που υποστηρίζουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των B-κυττάρων. Ο BCR είναι υπεύθυνος για τη μετάδοση των σημάτων από την επιφάνεια του B-κυττάρου προς το εσωτερικό του, ενεργοποιώντας διάφορες κυτταρικές διαδικασίες, όπως πολλαπλασιασμό, ωρίμανση, επιβίωση και μετανάστευση των B-κυττάρων. Αυτή η σηματοδότηση είναι κρίσιμη για την ανοσολογική απόκριση του οργανισμού, καθώς τα B-κύτταρα, αφού ενεργοποιηθούν μέσω του BCR, παράγουν αντισώματα που καταπολεμούν λοιμώξεις. Συγκεκριμένα, μόλις πραγματοποιηθεί η πρόσδεση του αντιγόνου στον BCR, η BTK ενεργοποιείται με την σειρά της από ανάντη των κινασών, που αποτελούν μέλη της οικογένειας Src, καθώς και από την κινάση Syk. [94]

Η ενεργοποιημένη BTK στη συνέχεια επηρεάζει διάφορες κυτταρικές πρωτεΐνες, όπως τη φωσφολιπάση Cγ2, PLCγ2, προκαλώντας την ενεργοποίησή της μέσω φωσφορυλίωσης. Η ενεργοποιημένη πλέον Cγ2 προκαλεί την κινητοποίηση  $Ca^{2+}$  μέσα στο κύτταρο και η μεταβολή των επιπέδων αυτών αποτελεί ένα κρίσιμο σήμα για επόμενες κυτταρικές λειτουργίες. Τελικά, η διέγερση της σηματοδοτικής οδού οδηγεί στην ενεργοποίηση των μονοπατιών NF-κB, ERK και AKT, τα οποία συμβάλλουν στην προώθηση της κυτταρικής επιβίωσης, του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των B-κυττάρων. (Εικόνα 28) [95]



Εικόνα 28: Σηματοδοτική οδός BCR, ενεργοποίηση των μονοπατιών NF-κB, ERK και AKT, ρύθμιση επιβίωσης και απόκρισης B-κυττάρων. [96]



Ωστόσο, στις κακοήθεις καταστάσεις, όπως στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία και σε άλλες λεμφοειδείς κακοήθειες, η υπερβολική ή αυθόρμητη ενεργοποίηση του μονοπατιού του BCR οδηγεί σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και επιβίωση των καρκινικών κυττάρων, συμβάλλοντας στην πρόοδο της ασθένειας. Η διαταραγμένη σηματοδότηση του BCR καθίσταται, συνεπώς, κεντρική αιτία της ανάπτυξης των παραπάνω κακοηθειών, καθιστώντας τις πρωτεΐνες της οδού αυτής, όπως η BTK, υποσχόμενους στόχους για θεραπευτικές παρεμβάσεις με σκοπό την καταστολή της καρκινικής ανάπτυξης. [94]

Η ιμπρουτινίμη αποτελεί έναν μη αναστρέψιμο αναστολέα της BTK, με σκοπό την αναστολή της ανεξέλεγκτης σηματοδότησης του BCR. Συγκεκριμένα, η ιμπρουτινίμη δεσμεύεται με υψηλή συγγένεια στην Cys-481 στην ενεργή περιοχή της BTK, όπως καταδεικνύεται από την τιμή IC<sub>50</sub> 0,5 nM. Ο παράγοντας IC<sub>50</sub> ορίζεται ως η συγκέντρωση του φαρμάκου στην οποία το 50% της δραστηριότητας του στόχου, στην προκειμένη περίπτωση της κινάσης BTK, αναστέλλεται. Όσο πιο χαμηλή είναι η συγκέντρωση, τόσο μεγαλύτερη είναι η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου, καθώς απαιτείται χαμηλότερη συγκέντρωση του φαρμακευτικού παράγοντα για να αναστείλει το 50% της δραστηριότητας του στόχου. Κατά συνέπεια, η αναστολή της BTK από την ιμπρουτινίμη έχει ως αποτέλεσμα την μείωση ή καταστολή της φωσφορυλίωσης της φωσφολιπάσης Cγ2, εμποδίζοντας τη συνέχιση της σηματοδότησης και περιορίζοντας τη δραστηριότητα των καρκινικών κυττάρων. [94]

Η εισαγωγή της ιμπρουτινίμης στην κλινική πρακτική για τη θεραπεία της χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας αποτέλεσε σημαντικό ορόσημο, καθώς σήμανε την αρχή μιας νέας εποχής στη θεραπευτική προσέγγιση της νόσου. Η επιτυχία του φαρμάκου οδήγησε στην ανάπτυξη και άλλων BTK αναστολέων, οι οποίοι προσφέρουν ελπιδοφόρες θεραπευτικές επιλογές για ασθενείς με την παραπάνω νόσο, καθώς και άλλες λεμφοειδείς κακοήθειες, και παράλληλα ανοίγουν νέες προοπτικές για εξατομικευμένες θεραπείες. [95]

Τον Φεβρουάριο του 2014, η ιμπρουτινίμη έλαβε επιτυχημένη έγκριση από τον FDA για τη θεραπεία της χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας και του μικρού λεμφοκυτταρικού λεμφώματος. Η έγκριση αυτή βασίστηκε σε κλινικές μελέτες που αναδείκνυαν την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου σε ασθενείς με αυτές τις παθήσεις, ιδιαίτερα σε εκείνους που είχαν υποτροπιάσει ή είχαν αποτύχει σε προηγούμενες θεραπείες. [94]

Δύο βασικοί φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες που σχετίζονται με την απόκριση στην ιμπρουτινίμη είναι οι μεταλλάξεις BTK C481S και PLCγ2. [72]

Η μεταλλαγή BTK C481S εντοπίζεται στη θέση 481 της BTK και αφορά την αντικατάσταση κυστεΐνης με σερίνη. Η θέση 481 είναι καθοριστική για τη σύνδεση του φαρμάκου με την BTK, επιτρέποντας την επιτυχή αναστολή της κινάσης. Ωστόσο, στην περίπτωση της μετάλλαξης C481S, η πλέον παρουσία της σερίνης αποτρέπει τη σωστή σύνδεση της ιμπρουτινίμης, εμποδίζοντας έτσι την αναστολή της BTK. Από φαρμακοδυναμικής πλευράς, η ανίχνευση αυτής της μετάλλαξης μέσω γονιδιακής ανάλυσης των CTCs ή του ctDNA μπορεί να χρησιμεύσει στην πρόβλεψη της ανθεκτικότητας στη θεραπεία με ιμπρουτινίμη, επισημαίνοντας τη μείωση της αποτελεσματικότητας του φαρμάκου και ενδεχομένως την ανάγκη για εναλλακτική θεραπευτική προσέγγιση. [97]

Η PLCγ2 είναι μια πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην οδό σηματοδότησης του BCR και ακολουθεί άμεσα την BTK στην αλυσίδα σηματοδότησης. Η μετάλλαξη της PLCγ2 συνήθως αφορά αλλαγές στο γονίδιο PLCγ2, οι οποίες οδηγούν σε αυξημένη ή ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C-γ. Ως αποτέλεσμα, ενεργοποιούνται δευτερεύουσες οδοί σηματοδότησης, οι οποίες λειτουργούν ανεξάρτητα από τη δράση της BTK. Με αυτόν τον τρόπο, τα καρκινικά κύτταρα παρακάμπτουν την αναστολή που προκαλεί η ιμπρουτινίμη, συνεχίζοντας να επιβιώνουν και να πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα. [98]

Όπως και στην περίπτωση της μετάλλαξης BTK C481S, η ανίχνευση της μετάλλαξης PLCγ2 μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω γονιδιακής ανάλυσης είτε σε CTCs είτε σε ctDNA. Αυτή η προσέγγιση υπογραμμίζει την κλινική αξία της έγκαιρης ανίχνευσης της μετάλλαξης ως φαρμακοδυναμικό βιοδείκτη, ο οποίος μπορεί να προβλέψει την μελλοντική ανθεκτικότητα του ασθενή στη θεραπεία με ιμπρουτινίμη. Η πρόωπη αναγνώριση των ασθενών με την παραπάνω μετάλλαξη επιτρέπει την κατάλληλη κατεύθυνση και προσαρμογή της θεραπευτικής στρατηγικής, όπως η μετάβαση σε επόμενης γενιάς BTK αναστολείς ή η χρήση εναλλακτικών θεραπευτικών στόχων. [98]

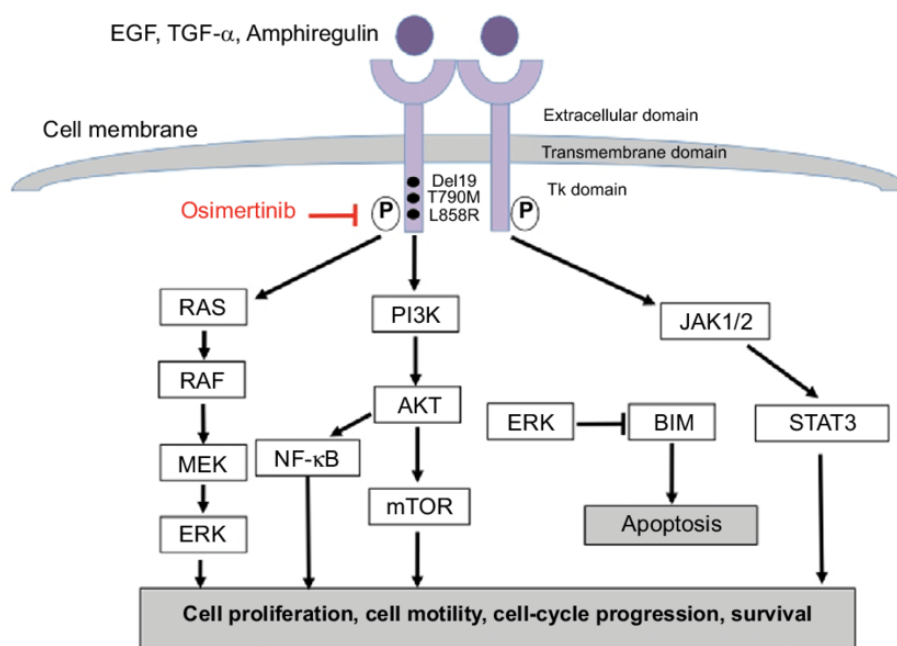
#### **4.3.3.3 Οσιμερτινίμη**

Οι μεταλλάξεις στον τομέα της κινάσης του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, EGFR, οι οποίες εντοπίζονται στα εξώνια 18–21, αποτελούν κύριους

ογκογονικούς παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια του NSCLC. Η συχνότητα εμφάνισης αυτών των μεταλλάξεων παρουσιάζει γεωγραφική διαφοροποίηση, με εκτιμώμενη εμφάνιση περίπου 15% στον ευρωπαϊκό πληθυσμό, ενώ στις ασιατικές χώρες μπορεί να φτάσει έως και το 40%. Η ανακάλυψη αυτών των μεταλλάξεων σηματοδότησε την απαρχή της ανάπτυξης στοχευμένων θεραπειών με TKIs του EGFR, που παρεμβαίνουν εκλεκτικά στη σηματοδότηση του EGFR, αναστέλλοντας τη δυσλειτουργική ενεργοποίησή του και περιορίζοντας τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. [72]

Η αρχική θεραπεία με TKIs πρώτης ή δεύτερης γενιάς έχει αποδειχθεί αποτελεσματική σε πολλούς ασθενείς με NSCLC, ωστόσο, η ανάπτυξη μηχανισμών ανθεκτικότητας οδηγεί συχνά σε υποτροπή της νόσου. Ανάμεσα στους κυριότερους μηχανισμούς ανθεκτικότητας συγκαταλέγεται η μετάλλαξη T790M στο γονίδιο του EGFR, η οποία μειώνει τη δραστηριότητα των TKIs πρώτης και δεύτερης γενιάς, περιορίζοντας την ικανότητα τους να αναστέλλουν τη σηματοδότηση του EGFR. [72]

Η οσιμερτινίμη αποτελεί έναν αναστολέα της κινάσης τυροσίνης τρίτης γενιάς και εμφανίζει ειδικότητα ως προς τη μετάλλαξη T790M, συμπεριλαμβανομένων και άλλων μεταλλαγμένων μορφών του EGFR. [99]



Εικόνα 29: Σηματοδοτικό μονοπάτι του EGFR και μηχανισμός δράσης της οσιμερτινίμης. [99]

Ως εκ τούτου, έχει καθιερωθεί ως θεραπεία πρώτης γραμμής (έγκριση από FDA και EMA) για ασθενείς με NSCLC που παρουσιάζουν εξέλιξη της νόσου παρά τη θεραπεία με TKIs πρώτης και δεύτερης γενιάς, καθώς και για ασθενείς των οποίων οι όγκοι εμφανίζουν τη μετάλλαξη T790M *de novo*. [72], [99]

Ο βασικός, λοιπόν, φαρμακοδυναμικός βιοδείκτης που συνδέεται με την οσιμερτινίμη είναι η παρουσία της μετάλλαξης T790M, η οποία αποτελεί τον κύριο μηχανισμό επίκτητης αντοχής στις προηγούμενες θεραπείες με TKIs. [72], [99]

Η αποτελεσματικότητα της θεραπείας, έπειτα από χορήγηση οσιμερτινίμης, αξιολογείται με βάση τα κριτήρια RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours), τα οποία επιτρέπουν την εκτίμηση της ανταπόκρισης του όγκου τρεις μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας. Η αξιολόγηση περιλαμβάνει τον προσδιορισμό της πλήρους ή μερικής ανταπόκρισης, με βάση τις αλλαγές στο μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου καθώς και των μεταστάσεων, εφόσον αυτές υπάρχουν. [72]

Σε περίπτωση που διαπιστωθεί εξέλιξη της νόσου, η έγκαιρη ανίχνευση της ανάπτυξης ανθεκτικών υποπληθυσμών καρκινικών κυττάρων πραγματοποιείται μέσω της λήψης υγρών βιοψιών. Η πρόωπη ανίχνευση κλωνικής εξέλιξης, πριν από την ανιχνεύσιμη αύξηση του όγκου στις απεικονιστικές εξετάσεις, επιτρέπει την έγκαιρη προσαρμογή της θεραπείας με στόχο τη μείωση του κινδύνου της περαιτέρω εξέλιξης της νόσου και μετάστασης. [72]

Από φαρμακοδυναμική σκοπιά, η μείωση ή η πλήρης εξαφάνιση της μετάλλαξης T790M κατά τη διάρκεια της θεραπείας με οσιμερτινίμη αποτελεί ένδειξη αποτελεσματικής αναστολής του μοριακού στόχου, αντανακλώντας τη θεραπευτική δράση του φαρμάκου. Αντίθετα, η επανεμφάνιση της μετάλλαξης ή η εμφάνιση νέων γενετικών αλλοιώσεων, όπως η μετάλλαξη C797S, υποδηλώνουν την ανάπτυξη μηχανισμών αντοχής, οι οποίοι ενδέχεται να μειώσουν τη δραστηριότητα του φαρμακευτικού παράγοντα και να οδηγήσουν στην εξέλιξη της νόσου. [72], [99]

Σε κλινικό επίπεδο, η ανίχνευση τέτοιων μεταλλάξεων μέσω υγρών βιοψιών μπορεί να καθοδηγήσει τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων, επιτρέποντας την έγκαιρη προσαρμογή του θεραπευτικού σχήματος. Ανάλογα με το μοριακό προφίλ του όγκου, οι στρατηγικές αντιμετώπισης μπορεί να περιλαμβάνουν τη μετάβαση στη συμβατική χημειοθεραπεία ή σε συνδυασμό θεραπευτικών επιλογών, με στόχο τη βελτιστοποίηση της κλινικής διαχείρισης και της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας.

Συνοψίζοντας, η απεικόνιση του καρκινικού όγκου μέσω αξονικής τομογραφίας επιτρέπει την αξιολόγηση της παρουσίας ή απουσίας μεταβολών στο μέγεθος του, προσφέροντας μια μορφολογική εκτίμηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης. Ωστόσο, η παρακολούθηση φαρμακοδυναμικών βιοδεικτών μέσω υγρής βιοψίας παρέχει μια πιο πρώιμη και δυναμική αξιολόγηση της απόκρισης στη θεραπεία, καθώς και της κλωνικής εξέλιξης του όγκου. Με αυτό τον τρόπο ανιχνεύονται μοριακές αλλαγές προτού αυτές εμφανιστούν ως ορατές μεταβολές στην απεικόνιση, επιτρέποντας έτσι την έγκαιρη προσαρμογή της θεραπευτικής στρατηγικής και την εξατομικευμένη διαχείριση του ασθενούς.

## Κεφάλαιο 5 Συμπεράσματα και Προοπτικές

Βάσει των πληροφοριών και των δεδομένων που αναλύθηκαν στα προηγούμενα κεφάλαια, καθίσταται σαφές ότι οι φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες διαδραματίζουν θεμελιώδη ρόλο στη σύγχρονη ογκολογία, ενισχύοντας τη δυναμική παρακολούθηση της θεραπευτικής απόκρισης και συμβάλλοντας στην εξατομίκευση των θεραπειών στρατηγικών. Η ενσωμάτωσή τους στην κλινική πρακτική επιτρέπει την προσαρμογή της δοσολογίας και της θεραπευτικής προσέγγισης με βάση τα εξατομικευμένα χαρακτηριστικά των ασθενών, βελτιστοποιώντας τόσο την αποτελεσματικότητα όσο και την ασφάλεια των αντικαρκινικών θεραπειών.

Όσον αφορά τους κυκλοφορούντες βιοδείκτες – ctDNA, ct-miRNAs, CTCs – τα διαθέσιμα δεδομένα υποδεικνύουν την κλινική τους αξία και χρησιμότητα ως υποσχόμενα εργαλεία στη διάγνωση, την πρόγνωση και την παρακολούθηση της αντικαρκινικής θεραπείας. Ωστόσο, η ενσωμάτωσή τους στην κλινική πρακτική εξακολουθεί να συνοδεύεται από σημαντικές προκλήσεις, οι οποίες αναδείχθηκαν μέσα από την ανασκόπηση της σύγχρονης βιβλιογραφίας.

Τα κύρια προβλήματα και προκλήσεις σχετίζονται με την προαναλυτική και τεχνική μεταβλητότητα, την κανονικοποίηση των δεδομένων, την ετερογένεια των όγκων και την ποικιλομορφία μεταξύ των ασθενών. Επιπλέον, η απουσία τυποποιημένων και επικυρωμένων πρωτοκόλλων ανάλυσης συνιστά ένα σημαντικό εμπόδιο για την αξιόπιστη εφαρμογή των κυκλοφορούντων βιοδεικτών στην κλινική πράξη.

Στον Πίνακα 1, παρουσιάζονται οι κύριες προκλήσεις ανά κυκλοφορούντα βιοδείκτη:

<b><u>Κυκλοφορούντες Βιοδείκτες</u></b>	<b><u>Προκλήσεις Κυκλοφορούντων Βιοδεικτών</u></b>
miRNAs	Έλλειψη κοινά αποδεκτών προτύπων ποσοτικοποίησης, κανονικοποίησης και μεθοδολογιών συλλογής και επεξεργασίας των δειγμάτων. Δημιουργία «θορύβου» από την επιρροή ενδογενών και εξωγενών παραγόντων (ηλικία, λήψη φαρμακευτικής αγωγής, συννοσηρότητες).

ctDNA	Προαναλυτική και τεχνική μεταβλητότητα, Χαμηλές συγκεντρώσεις σε πρώιμα στάδια, Διαφοροποίηση μεταξύ ασθενών, Έλλειψη ομοφωνίας στις τεχνικές ποσοτικοποίησης.
CTCs	<p>Προβλήματα σύγκρισης μελετών λόγω φαινοτυπικής ετερογένειας &amp; ύπαρξη διαφορετικών μορφών βιολογικής κατάστασης: ζωντανών, νεκρών/αποπτωτικών.</p> <p>Ανάγκη για: 1) Τυποποίηση των πρωτοκόλλων συλλογής, αποθήκευσης και επεξεργασίας του αίματος,</p> <p>2) Διασφάλιση ευαισθησίας από τεχνική απομόνωσης λόγω χαμηλών συγκεντρώσεων στο περιφερικό αίμα.</p>

*Πίνακας 1: Κυκλοφορούντες βιοδείκτες και προκλήσεις*

Η τυποποίηση και η εναρμόνιση των διαδικασιών είναι απαραίτητη για το σύνολο των φαρμακοδυναμικών βιοδεικτών που αναλύθηκαν στην παρούσα ανασκόπηση, καθώς και για εκείνους που βρίσκονται σε στάδιο ανάπτυξης ή επικύρωσης από την επιστημονική κοινότητα. Ιδιαίτερη σημασία έχει η ανάπτυξη κοινών πρωτοκόλλων για τη συλλογή, την επεξεργασία και την ανάλυση των δειγμάτων, καθώς και η καθιέρωση σταθερών μεθόδων κανονικοποίησης και ποσοτικοποίησης των δεδομένων. Η διασφάλιση της αναπαραγωγιμότητας των αποτελεσμάτων και η ενσωμάτωσή τους σε PK/PD μοντέλα αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την αξιόπιστη εφαρμογή τους στην κλινική πράξη.

Η υιοθέτηση αυτών των προτάσεων θα συμβάλει στην αντιμετώπιση της πρόκλησης που προκύπτει από την ετερογένεια των μεθόδων, ενισχύοντας την τεκμηρίωση της κλινικής αξίας των φαρμακοδυναμικών βιοδεικτών στην ογκολογία. Παράλληλα, θα διευκολύνει την αποδοχή τους ως απαραίτητα εργαλεία για την εξατομικευμένη θεραπεία, αξιοποιώντας τις μοναδικές δυνατότητές τους στη βελτιστοποίηση της αντικαρκινικής αγωγής.

Όσον αφορά τις κλινικές διαστάσεις της τοξικότητας, διαπιστώθηκε ότι οι φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες δε χρησιμοποιούνται μόνο για την ανίχνευση της τοξικότητας που προκύπτει από τη στοχευμένη αντικαρκινική θεραπεία, αλλά και ότι η ίδια η τοξικότητα ενδέχεται να λειτουργεί ως φαρμακοδυναμικός βιοδείκτης για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της εκάστοτε θεραπείας. Ωστόσο, η

καθιέρωση ενός φαρμακοδυναμικού βιοδείκτη για μια συγκεκριμένη τοξικότητα, καθώς και η αξιολόγηση της κλινικής χρησιμότητας της τοξικότητας ως δείκτη, συνοδεύονται από σημαντικές προκλήσεις:

1. Πολυπαραγοντικές αλληλεπιδράσεις: Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των φαρμάκων δεν είναι απομονωμένες, καθώς επηρεάζονται από παράγοντες όπως η συγχορήγηση άλλων φαρμάκων, η ηλικία των ασθενών και οι συννοσηρότητες. Αυτό καθιστά ιδιαίτερα δύσκολη την απομόνωση ενός σαφούς φαρμακοδυναμικού προφίλ που να μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ακρίβεια ως βιοδείκτης.
2. Ετερογένεια στα προφίλ τοξικότητας: Η τοξικότητα μπορεί να εκδηλωθεί με διαφορετικούς τρόπους ανάλογα με το φάρμακο και τον ασθενή. Για παράδειγμα, η καρδιοτοξικότητα που προκαλείται από την τραστουζουμάμπη διαφέρει σημαντικά από εκείνη των ανθρακυκλινών, γεγονός που καθιστά δύσκολη τη διαμόρφωση γενικών προγνωστικών μοντέλων που να εφαρμόζονται σε ευρύ φάσμα θεραπειών.
3. Διαφοροποίηση μεταξύ οξείας και χρόνιας τοξικότητας: Η πρόωμη ανίχνευση τοξικών επιδράσεων απαιτεί τη διαστρωμάτωση των ασθενών με βάση τις μακροχρόνιες επιπτώσεις της θεραπείας. Ωστόσο, η προσέγγιση αυτή δεν έχει ακόμη καθιερωθεί συστηματικά στην κλινική πρακτική, περιορίζοντας έτσι τη δυνατότητα πρόγνωσης και έγκαιρης παρέμβασης.

Η εφαρμογή τόσο των κυκλοφορούντων βιοδεικτών όσο και της κλινικής τοξικότητας στη θεραπευτική παρακολούθηση των φαρμάκων προϋποθέτει την επιτυχή και αξιόπιστη ενσωμάτωσή τους σε PK/PD μοντέλα. Η σημασία τους καθίσταται ακόμη πιο εμφανής όταν αυτά τα μοντέλα αξιοποιούνται για μια ολοκληρωμένη ανάλυση της σχέσης μεταξύ της φαρμακολογικής έκθεσης, της βιολογικής απόκρισης και των ανεπιθύμητων ενεργειών. Τα βασικά οφέλη από τη χρήση τους συνοψίζονται ως εξής:

1. Προτυποποίηση και κανονικοποίηση δεδομένων: Τα PK/PD μοντέλα συμβάλλουν στη συστηματική ανάλυση δεδομένων από διαφορετικούς βιοδείκτες, επιλύοντας ζητήματα επικύρωσης και κανονικοποίησης που περιορίζουν τη γενίκευση των αποτελεσμάτων.
2. Συσχέτιση δοσολογίας και κλινικής απόκρισης μέσω PD βιοδεικτών: Οι φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες αποτελούν μετρήσιμα σημεία αναφοράς που συνδέουν τη συγκέντρωση του φαρμάκου με τη βιολογική του επίδραση,



επιτρέποντας την ποσοτικοποίηση της θεραπευτικής ανταπόκρισης και της τοξικότητας.

3. Ανάπτυξη εξατομικευμένων στρατηγικών θεραπείας: Τα PK/PD μοντέλα συμβάλλουν στον καθορισμό της βέλτιστης ακολουθίας χορήγησης φαρμάκων, στη διαχείριση φαρμακευτικών αλληλεπιδράσεων και στη βελτίωση της κατανομής των φαρμάκων στον οργανισμό.
4. Δυνατότητα προσαρμογής της δοσολογίας σε πραγματικό χρόνο: Η συνεχής ανάλυση της φαρμακολογικής απόκρισης του ασθενούς επιτρέπει τη ρύθμιση της δοσολογίας, ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη αποτελεσματικότητα με τη χαμηλότερη δυνατή τοξικότητα.
5. Πρόβλεψη τοξικότητας και αποτελεσματικότητας: Τα PK/PD μοντέλα επιτρέπουν την εκτίμηση της έκτασης και της διάρκειας της τοξικότητας πριν από τη χορήγηση της θεραπείας, συμβάλλοντας στη λήψη πιο στοχευμένων αποφάσεων.
6. Μείωση της ανάγκης για επεμβατικούς ελέγχους: Με τη χρήση υπολογιστικών μοντέλων, είναι δυνατή η πρόβλεψη των επιπέδων τοξικότητας χωρίς την ανάγκη συχνών δειγματοληψιών, διευκολύνοντας έτσι τη θεραπευτική παρακολούθηση.

Ο Πίνακας 2, συνοψίζει τα οφέλη των Βιοδεικτών/Όψεων Κλινικής Τοξικότητας από τα Μοντέλα PK/PD:

<b><u>Βιοδείκτες/ Όψεις Τοξικότητας</u></b>	<b><u>Οφέλη από PK/PD μοντέλα</u></b>
miRNAs	Ανάπτυξη τυποποιημένων μεθοδολογιών ανάλυσης και κανονικοποίησης. Χρήση πολυπαραγοντικών αναλύσεων για τη μείωση της μεταβλητότητας και τη βελτίωση της ακρίβειας των δεδομένων.
ctDNA	Τυποποίηση διαδικασιών συλλογής, αποθήκευσης και ανάλυσης δειγμάτων. Συναίνεση στη χρήση τεχνολογιών όπως το ddPCR και το NGS για βελτιωμένη ευαισθησία και ειδικότητα.

CTCs	Ανάπτυξη ευαίσθητων μεθόδων απομόνωσης και ανίχνευσης. Καθιέρωση κοινών πρωτοκόλλων για τη συλλογή, αποθήκευση και ανάλυση, διασφαλίζοντας τη συγκρισιμότητα των δεδομένων.
Θυροειδής δυσλειτουργία	Πρόβλεψη θυρεοειδικών διαταραχών με βάση φαρμακολογικά δεδομένα. Εξατομικευμένη προσαρμογή της θεραπείας και βελτιστοποίηση της δοσολογίας της λεβοθυροξίνης για την αποφυγή διαταραχών του μεταβολισμού.
Καρδιοτοξικότητα	Εκτίμηση των επιπέδων NT-proBNP για την πρόωπη ανίχνευση καρδιακής δυσλειτουργίας. Προσαρμογή της δοσολογίας καρδιοτοξικών θεραπειών, όπως η τραστουζουμάμπη, και βελτιστοποίηση των στρατηγικών καρδιοπροστασίας.
Υπέρταση	Καθορισμός της συσχέτισης μεταξύ της αύξησης της αρτηριακής πίεσης και της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας. Δυνατότητα δυναμικής προσαρμογής της δοσολογίας των VEGF αναστολέων σε πραγματικό χρόνο. Εξατομίκευση της θεραπείας με βάση κλινικούς παράγοντες όπως η ηλικία, η ύπαρξη μεταβολικών νοσημάτων και το κάπνισμα.
Τοξικότητα δέρματος	Πρόβλεψη του κινδύνου δερματικής τοξικότητας με βάση φαρμακολογικά δεδομένα. Προσαρμογή της δοσολογίας των φαρμάκων, ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες χωρίς να μειωθεί η θεραπευτική αποτελεσματικότητα.

Πίνακας 2: Βιοδείκτες και οφέλη από PK/PD μοντέλα

## Βιβλιογραφία

- [1] D. Hanahan and R. A. Weinberg, “The hallmarks of cancer,” 2000. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
- [2] V. K. Chaturvedi, A. Singh, V. K. Singh, and M. P. Singh, “Cancer Nanotechnology: A New Revolution for Cancer Diagnosis and Therapy,” *Curr Drug Metab*, vol. 20, no. 6, pp. 416–429, Sep. 2018, doi: 10.2174/1389200219666180918111528.
- [3] J. Gautier, “Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.,” 1993.
- [4] G. M. Cooper, “The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition. The Development and Causes of Cancer,” National Library of Medicine.
- [5] E. N. Kontomanolis *et al.*, “Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: A review,” 2020. doi: 10.21873/anticancerres.14622.
- [6] R. S. Y. Wong, “Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment,” 2011. doi: 10.1186/1756-9966-30-87.
- [7] X. G. Shen *et al.*, “Downregulation of caspase-9 is a frequent event in patients with stage II colorectal cancer and correlates with poor clinical outcome,” *Colorectal Disease*, vol. 12, no. 12, 2010, doi: 10.1111/j.1463-1318.2009.02009.x.
- [8] M. Andrikoula and G. Vartholomatos, “Apoptosis: Cell death necessary for life,” 2001.
- [9] F. J. Van der Meer, D. J. Faber, M. C. G. Aalders, A. A. Poot, I. Vermes, and T. G. Van Leeuwen, “Apoptosis- and necrosis-induced changes in light attenuation measured by optical coherence tomography,” *Lasers Med Sci*, vol. 25, no. 2, 2010, doi: 10.1007/s10103-009-0723-y.
- [10] J. W. Shay and S. Bacchetti, “A survey of telomerase activity in human cancer,” *European Journal of Cancer Part A*, vol. 33, no. 5, 1997, doi: 10.1016/S0959-8049(97)00062-2.
- [11] Merck KGaA, “Angiogenesis Assays.”
- [12] A. Charalampopoulos, “The role of adhesion molecules in gastrointestinal tract malignancies,” University of Ioannina, Ioannina, Greece, 2009.
- [13] M. El-Tanani *et al.*, “The impact of the BCR-ABL oncogene in the pathology and treatment of chronic myeloid leukemia,” 2024. doi: 10.1016/j.prp.2024.155161.
- [14] K. Y. P. S. Avelino, R. R. Silva, A. G. da Silva Junior, M. D. L. Oliveira, and C. A. S. Andrade, “Smart applications of bionanosensors for BCR/ABL fusion gene detection in leukemia,” 2017. doi: 10.1016/j.jksus.2017.08.002.

- [15] C. Gutierrez and R. Schiff, "HER 2: Biology, Detection, and Clinical Implications", doi: 10.1043/2010-0454-RAR.1.
- [16] C. Joyce and A. Kasi, *Cancer, Tumor-Suppressor Genes*. 2018.
- [17] B. A. Chabner and T. G. Roberts, "Chemotherapy and the war on cancer," 2005. doi: 10.1038/nrc1529.
- [18] E. Pérez-Herrero and A. Fernández-Medarde, "Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy," Jun. 01, 2015, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.ejpb.2015.03.018.
- [19] S. Di Pietro, "Scientific basis of cancer chemotherapy," *Tumori Journal*, vol. 55, no. 6, 1969, doi: 10.1177/030089166905500612.
- [20] C. A. Amjad, M, "Cancer Chemotherapy - StatPearls - NCBI Bookshelf," 2022.
- [21] J. Reedijk and K. Poeppelmeier, *Comprehensive Inorganic Chemistry II (Second Edition): From Elements to Applications*, vol. 1. 2013. doi: 10.1016/C2009-0-63454-1.
- [22] K. Johnson-Arbor and R. Dubey, *Doxorubicin - StatPearls - NCBI Bookshelf*. 2021.
- [23] T. Jacobs and M. Farrar, *Tamoxifen*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2023. Accessed: Feb. 13, 2025. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532905/>
- [24] D. Johnson, M. Lopez, and B. Kelley, *Dexamethasone*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2023.
- [25] L. Ramzy, M. Nasr, A. A. Metwally, and G. A. S. Awad, "Cancer nanotheranostics: A review of the role of conjugated ligands for overexpressed receptors," Jun. 15, 2017, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.ejps.2017.04.005.
- [26] P. Shi *et al.*, "Active targeting schemes for nano-drug delivery systems in osteosarcoma therapeutics," 2023. doi: 10.1186/s12951-023-01826-1.
- [27] S. Panneerselvam and S. Choi, "Nanoinformatics: Emerging databases and available tools," *Int J Mol Sci*, vol. 15, no. 5, 2014, doi: 10.3390/ijms15057158.
- [28] M. Sell *et al.*, "Application of Nanoparticles in Cancer Treatment: A Concise Review," 2023. doi: 10.3390/nano13212887.
- [29] Y. Zhuo, Y. G. Zhao, and Y. Zhang, "Enhancing Drug Solubility, Bioavailability, and Targeted Therapeutic Applications through Magnetic Nanoparticles," Oct. 01, 2024, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/molecules29204854.
- [30] P. Liu, G. Chen, and J. Zhang, "A Review of Liposomes as a Drug Delivery System: Current Status of Approved Products, Regulatory Environments, and Future Perspectives," 2022. doi: 10.3390/molecules27041372.

- [31] S. Ajith, F. Almomani, A. Elhissi, and G. A. Hussein, "Nanoparticle-based materials in anticancer drug delivery: Current and future prospects," 2023. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e21227.
- [32] E. Naumenko, I. Guryanov, and M. Gomzikova, "Drug Delivery Nano-Platforms for Advanced Cancer Therapy," Jun. 01, 2024, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/scipharm92020028.
- [33] A. M. Jhaveri and V. P. Torchilin, "Multifunctional polymeric micelles for delivery of drugs and siRNA," 2014. doi: 10.3389/fphar.2014.00077.
- [34] A. V. V. V. Ravi Kiran, G. Kusuma Kumari, and P. T. Krishnamurthy, "Carbon nanotubes in drug delivery: Focus on anticancer therapies," Oct. 01, 2020, *Editions de Sante*. doi: 10.1016/j.jddst.2020.101892.
- [35] S. D. Perrault, "Gold Nanoparticles for Efficient Tumour Targeting: Materials, Biology & Application."
- [36] K. Nasirzadeh, S. Nazarian, S. Mohammad, and G. Hayat, "Inorganic Nanomaterials: A Brief Overview of the Applications and Developments in Sensing and Drug Delivery," 2016.
- [37] M. A. Dheyab *et al.*, "Gold nanoparticles-based photothermal therapy for breast cancer," Jun. 01, 2023, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.pdpdt.2023.103312.
- [38] E. Martinelli, R. De Palma, M. Orditura, F. De Vita, and F. Ciardiello, "Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in cancer therapy," 2009. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.03992.x.
- [39] N. Shaban, D. Kamashev, A. Emelianova, and A. Buzdin, "Targeted Inhibitors of EGFR: Structure, Biology, Biomarkers, and Clinical Applications," 2024. doi: 10.3390/cells13010047.
- [40] D. Zahavi and L. Weiner, "Monoclonal antibodies in cancer therapy," Sep. 01, 2020, *MDPI*. doi: 10.3390/antib9030034.
- [41] D. H. Kong, M. R. Kim, J. H. Jang, H. J. Na, and S. Lee, "A review of anti-angiogenic targets for monoclonal antibody cancer therapy," 2017. doi: 10.3390/ijms18081786.
- [42] B. Demir Cetinkaya and C. Biray Avci, "Molecular perspective on targeted therapy in breast cancer: a review of current status," 2022. doi: 10.1007/s12032-022-01749-1.
- [43] Y. Shen, X. Li, D. Dong, B. Zhang, Y. Xue, and P. Shang, "Transferrin receptor 1 in cancer: a new sight for cancer therapy.," *Am J Cancer Res*, vol. 8, no. 6, 2018.
- [44] R. Luria-Pérez, G. Helguera, and J. A. Rodríguez, "Antibody-mediated targeting of the transferrin receptor in cancer cells," *Bol Med Hosp Infant Mex*, vol. 73, no. 6, 2016, doi: 10.1016/j.bmhmx.2016.11.004.

- [45] C. Callens *et al.*, “Recent advances in adult T-cell leukemia therapy: Focus on a new anti-transferrin receptor monoclonal antibody,” 2008. doi: 10.1038/sj.leu.2404958.
- [46] J. Necas, L. Bartosikova, P. Brauner, and J. Kolar, “Hyaluronic acid (hyaluronan): a review,” 2008.
- [47] A. Marinho, C. Nunes, and S. Reis, “Hyaluronic acid: A key ingredient in the therapy of inflammation,” 2021. doi: 10.3390/biom11101518.
- [48] K. Ishikawa *et al.*, “Antitumor activities of anti-CD44 monoclonal antibodies in mouse xenograft models of esophageal cancer,” *Oncol Rep*, vol. 52, no. 5, Nov. 2024, doi: 10.3892/or.2024.8806.
- [49] G. Fotakopoulos *et al.*, “Exploring the Role of Sigma Receptors in the Treatment of Cancer: A Narrative Review,” *Cureus*, vol. 16, no. 10, p. e70946, Oct. 2024, doi: 10.7759/cureus.70946.
- [50] B. Farran, E. Pavitra, P. Kasa, S. Peela, G. S. Rama Raju, and G. P. Nagaraju, “Folate-targeted immunotherapies: Passive and active strategies for cancer,” 2019. doi: 10.1016/j.cytogfr.2019.02.001.
- [51] S. Das, M. K. Dey, R. Devireddy, and M. R. Gartia, “Biomarkers in Cancer Detection, Diagnosis, and Prognosis,” 2024. doi: 10.3390/s24010037.
- [52] G. Lech, R. Słotwiński, M. Słodkowski, and I. W. Krasnodębski, “Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances,” *World J Gastroenterol*, vol. 22, no. 5, 2016, doi: 10.3748/wjg.v22.i5.1745.
- [53] “BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource.”
- [54] D. W. Scott *et al.*, “Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue,” *Blood*, vol. 123, no. 8, 2014, doi: 10.1182/blood-2013-11-536433.
- [55] I. Thompson *et al.*, “Guideline for the Management of Clinically Localized Prostate Cancer: 2007 Update,” *Journal of Urology*, vol. 177, no. 6, 2007, doi: 10.1016/j.juro.2007.03.003.
- [56] J. D. Rizzo *et al.*, “American Society of Clinical Oncology/American Society of Hematology clinical practice guideline update on the use of epoetin and darbepoetin in adult patients with cancer,” 2010. doi: 10.1200/JCO.2010.29.2201.
- [57] T. J. Smith *et al.*, “Recommendations for the use of WBC growth factors: American society of clinical oncology clinical practice guideline update,” *Journal of Clinical Oncology*, vol. 33, no. 28, 2015, doi: 10.1200/JCO.2015.62.3488.
- [58] M. J. Khan *et al.*, “The elevated 10-Year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility

- of type-specific HPV testing in clinical practice,” *J Natl Cancer Inst*, vol. 97, no. 14, 2005, doi: 10.1093/jnci/dji187.
- [59] N. N. Basu *et al.*, “Risk of contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a 30-year semi-prospective analysis,” *Fam Cancer*, vol. 14, no. 4, 2015, doi: 10.1007/s10689-015-9825-9.
- [60] J. Ledermann *et al.*, “Olaparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive Relapsed Ovarian Cancer,” *New England Journal of Medicine*, vol. 366, no. 15, 2012, doi: 10.1056/nejmoa1105535.
- [61] G. J. Liao, A. S. Clark, E. K. Schubert, and D. A. Mankoff, “18F-fluoroestradiol PET: Current status and potential future clinical applications,” *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 57, no. 8, 2016, doi: 10.2967/jnumed.116.175596.
- [62] S. Sharma, “Tumor markers in clinical practice: General principles and guidelines,” *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, vol. 30, no. 01, 2009, doi: 10.4103/0971-5851.56328.
- [63] B. R. H. William, “Characteristics of the Ideal Tumor Marker,” in *Holland-Frei Cancer Medicine*, 6th edition., 2003. Accessed: Feb. 16, 2025. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK12917/>
- [64] L. J. Lesko and A. J. Atkinson, “USE OF BIOMARKERS AND SURROGATE ENDPOINTS IN DRUG DEVELOPMENT AND REGULATORY DECISION MAKING: Criteria, Validation, Strategies 1,” 2001. [Online]. Available: [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)
- [65] A. Farinde, “Overview of Pharmacodynamics,” *MSD Manual Professional Version*, 2016.
- [66] Ernstmeyer K. and Christman E., “Pharmacokinetics & Pharmacodynamics,” in *Nursing Pharmacology [Internet]*, 2nd edition., Ernstmeyer K. and Christman E., Eds., Eau Claire, 2023, ch. 1.
- [67] European Patients’ Academy, “Toolbox of Eupati - Glossary - Pharmacokinetics.” Accessed: Feb. 16, 2025. [Online]. Available: <https://toolbox.eupati.eu/glossary/pharmacokinetics/>
- [68] G. M. Currie, “Pharmacology, part 2: Introduction to pharmacokinetics,” *J Nucl Med Technol*, vol. 46, no. 3, pp. 221–230, Sep. 2018, doi: 10.2967/jnmt.117.199638.
- [69] “Pharmacodynamic Biomarkers,” National Cancer Institute. Accessed: Feb. 16, 2025. [Online]. Available: [https://next.cancer.gov/developmentresources/pd\\_biomarker.htm](https://next.cancer.gov/developmentresources/pd_biomarker.htm)
- [70] L. Ma *et al.*, “Liquid biopsy in cancer current: status, challenges and future prospects,” *Signal Transduct Target Ther*, vol. 9, no. 1, p. 336, Dec. 2024, doi: 10.1038/s41392-024-02021-w.

- [71] E. Ricciardi *et al.*, “Metastatic Melanoma: Liquid Biopsy as a New Precision Medicine Approach,” Feb. 01, 2023, *MDPI*. doi: 10.3390/ijms24044014.
- [72] G. J. Veal *et al.*, “Pharmacodynamic Therapeutic Drug Monitoring for Cancer: Challenges, Advances, and Future Opportunities,” 2019.
- [73] T. Lozar *et al.*, “Preclinical and Clinical Evaluation of Magnetic-Activated Cell Separation Technology for CTC Isolation in Breast Cancer,” *Front Oncol*, vol. 10, 2020, doi: 10.3389/fonc.2020.554554.
- [74] I. Gareev *et al.*, “The current state of MiRNAs as biomarkers and therapeutic tools,” 2020. doi: 10.1007/s10238-020-00627-2.
- [75] C. H. Lawrie *et al.*, “Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma,” *Br J Haematol*, vol. 141, no. 5, 2008, doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07077.x.
- [76] S. Ali, K. Almhanna, W. Chen, P. A. Philip, and F. H. Sarkar, “Differentially expressed miRNAs in the plasma may provide a molecular signature for aggressive pancreatic cancer,” *Am J Transl Res*, vol. 3, no. 1, 2011.
- [77] A. Greystoke *et al.*, “Development of a circulating miRNA assay to monitor tumor burden: From mouse to man,” *Mol Oncol*, vol. 10, no. 2, 2016, doi: 10.1016/j.molonc.2015.10.004.
- [78] M. Elazezy and S. A. Joosse, “Techniques of using circulating tumor DNA as a liquid biopsy component in cancer management,” 2018. doi: 10.1016/j.csbj.2018.10.002.
- [79] J. J. Adashek, F. Janku, and R. Kurzrock, “Signed in blood: Circulating tumor dna in cancer diagnosis, treatment and screening,” 2021. doi: 10.3390/cancers13143600.
- [80] M. Holdhoff, K. Schmidt, R. Donehower, and L. A. Diaz, “Analysis of circulating tumor DNA to confirm somatic KRAS mutations,” 2009. doi: 10.1093/jnci/djp240.
- [81] K. Dickinson *et al.*, “Circulating Tumor DNA and Survival in Metastatic Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis,” *JAMA Netw Open*, vol. 7, no. 9, p. e2431722, Sep. 2024, doi: 10.1001/jamanetworkopen.2024.31722.
- [82] P. Petranović Ovčariček, D. Deandreis, and L. Giovanella, “Thyroid dysfunctions induced by molecular cancer therapies: a synopsis for nuclear medicine thyroidologists,” 2021. doi: 10.1007/s00259-021-05394-0.
- [83] Johann de Chickera, “What is Hypothyroid Disease?,” Absolute: Health & Wellness.
- [84] A. Sosa, E. Lopez Cadena, C. Simon Olive, N. Karachaliou, and R. Rosell, “Clinical assessment of immune-related adverse events,” 2018. doi: 10.1177/1758835918764628.



- [85] Z. CHEN and D. AI, "Cardiotoxicity associated with targeted cancer therapies," *Mol Clin Oncol*, vol. 4, no. 5, 2016, doi: 10.3892/mco.2016.800.
- [86] A. Cuomo *et al.*, "Heart Failure and Cancer: Mechanisms of Old and New Cardiotoxic Drugs in Cancer Patients," *Card Fail Rev*, vol. 5, no. 2, 2019, doi: 10.15420/cfr.2018.32.2.
- [87] B. I. Rini *et al.*, "Hypertension as a biomarker of efficacy in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib," *J Natl Cancer Inst*, vol. 103, no. 9, 2011, doi: 10.1093/jnci/djr128.
- [88] K. Ding, J. Pater, M. Whitehead, L. Seymour, and F. A. Shepherd, "Validation of treatment induced specific adverse effect as a predictor of treatment benefit: A case study of NCIC CTG BR21," *Contemp Clin Trials*, vol. 29, no. 4, 2008, doi: 10.1016/j.cct.2008.01.004.
- [89] S. Wang and F. I. Khan, "Investigation of Molecular Interactions Mechanism of Pembrolizumab and PD-1," *Int J Mol Sci*, vol. 24, no. 13, 2023, doi: 10.3390/ijms241310684.
- [90] J. Zhou *et al.*, "Soluble PD-L1 as a biomarker in malignant melanoma treated with checkpoint blockade," *Cancer Immunol Res*, vol. 5, no. 6, 2017, doi: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0329.
- [91] A. C. Huang *et al.*, "T-cell invigoration to tumour burden ratio associated with anti-PD-1 response," *Nature*, vol. 545, no. 7652, 2017, doi: 10.1038/nature22079.
- [92] Norman E. Sharpless, "A New FDA Approval Furthers the Role of Genomics in Cancer Care," *National Cancer Institute*, Jul. 2020.
- [93] F. Galuppini, C. A. Dal Pozzo, J. Deckert, F. Loupakis, M. Fassan, and R. Baffa, "Tumor mutation burden: From comprehensive mutational screening to the clinic," 2019. doi: 10.1186/s12935-019-0929-4.
- [94] M. S. Davids and J. R. Brown, "Ibrutinib: A first in class covalent inhibitor of Bruton's tyrosine kinase," *Future Oncology*, vol. 10, no. 6, 2014, doi: 10.2217/fon.14.51.
- [95] N. Timofeeva and V. Gandhi, "Ibrutinib combinations in CLL therapy: scientific rationale and clinical results," 2021. doi: 10.1038/s41408-021-00467-7.
- [96] I. E. Ahn and J. R. Brown, "Targeting Bruton's Tyrosine Kinase in CLL," 2021. doi: 10.3389/fimmu.2021.687458.
- [97] H. Y. Estupiñan Velasquez *et al.*, "Combination of Gatekeeper Mutations and Cysteine 481 Replacement Causes Super Resistance to the Irreversible BTK Inhibitors Ibrutinib, Acalabrutinib and Zanubrutinib," *Blood*, vol. 134, no. Supplement\_1, 2019, doi: 10.1182/blood-2019-123398.
- [98] J. A. Woyach *et al.*, "Mutational profile in previously treated patients with chronic lymphocytic leukemia progression on acalabrutinib or ibrutinib."

[Online]. Available: [http://ashpublications.org/blood/article-pdf/144/10/1061/2240733/blood\\_bld-2023-023659-main.pdf](http://ashpublications.org/blood/article-pdf/144/10/1061/2240733/blood_bld-2023-023659-main.pdf)

- [99] M. Santarpia *et al.*, “Osimertinib in the treatment of non-small-cell lung cancer: Design, development and place in therapy,” 2017. doi: 10.2147/LCTT.S119644.

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.