



**Οι κυριότερες κακοήθειες νεοπλασίες κατά εντόπιση –
Σύγχρονες προσεγγίσεις στην Κλινική Ογκολογία**

Δρ. Α. Σκορίλας

*Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας
Τομέας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Ο Καρκίνος του μαστού

- Κυριότερη αιτία θανάτου από καρκίνο στο γυναικείο πληθυσμό.
- Συνήθως εμφανίζεται μετά την ηλικία των 30 χρόνων, με μεγαλύτερα ποσοστά εμφάνισης σε μεγαλύτερες ηλικίες (45-55 και 65-75 χρόνων).
- Στους άνδρες εκδηλώνεται σε ποσοστό περίπου 1% της συχνότητας στις γυναίκες.
- Ορμονοεξαρτώμενος καρκίνος.
- Αιματογενής και λεμφογενής διασπορά (σκελετός, πνεύμονες, ήπαρ και εγκέφαλος).

Αυξημένη πιθανότητα εκδήλωσης καρκίνου του μαστού έχουν γυναίκες με:

- Οικογενειακό ιστορικό (Μεταλλάξεις στα γονίδια *BRCA I*, *BRCA II*)
- Παρουσία καλοηθών αλλοιώσεων
- Άτοκες γυναίκες, μοναχές και γυναίκες με ηλικία πρώτης τεκνοποίησης μετά τα 35 χρόνια.
- Έκθεση σε οιστρογόνα
- Υψηλή κατανάλωση λίπους κακή διατροφή.

Μορφές καρκίνου μαστού

- *Λοβιακό καρκίνωμα in situ*. Πολυεστιακό, μικροσκοπικό καρκίνωμα συχνά αμφοτερόπλευρο.
- *Πορογενές καρκίνωμα in situ (ενδοαυλικό καρκίνωμα)*. Πολυεστιακό καρκίνωμα, ανιχνεύσιμου μεγέθους.
- *Διηθητικοί όγκοι*.
- *Νόσος Paget*. Επηρεάζει την επιδερμίδα της θηλής, της θηλαίας άλω και του γύρω δέρματος.

Σταδιοποίηση καρκίνου μαστού

Σύστημα TNM.

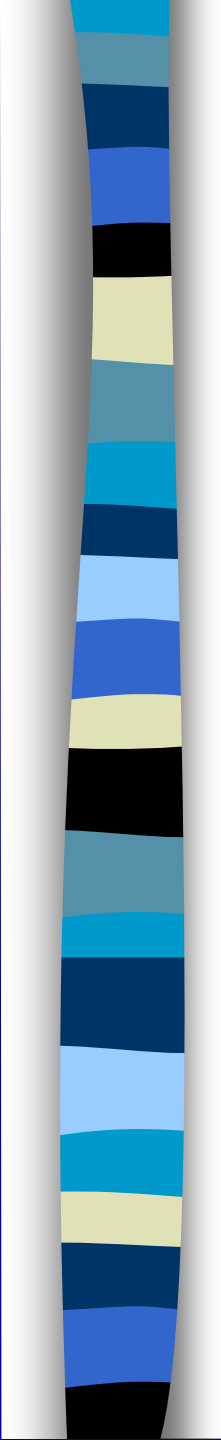
T : μέγεθος και φύση του πρωτοπαθούς όγκου.

N : ύπαρξη διογκωμένων λεμφαδένων στην γύρω περιοχή.

M : ύπαρξη ή μη μεταστάσεων.

Συνδυασμός των παραπάνω παραγόντων δίνει διάκριση σε τέσσερα στάδια (I-IV) με το στάδιο IV να αποτελεί την πλέον σοβαρή εκδήλωση της νόσου.

Σταδιοποίηση καρκίνου μαστού

- 
- ✓ T_{1s} : *In situ* καρκίνωμα, μη διηθητικό, ενδοπορικό, νόσος Paget χωρίς ψηλαφητό όγκο.
 - ✓ T₁ : Όγκος διαμέτρου < 2cm.
 - ✓ T₂ : Όγκος διαμέτρου 2 -5cm.
 - ✓ T₃ : Όγκος διαμέτρου > 5cm.
 - ✓ T₄ : Όγκος οποιουδήποτε μεγέθους με διήθηση θωρακικού τοιχώματος ή δέρματος.
 - N0 : Αψηλάφητοι σύστοιχοι μασχαλιαίοι λεμφαδένες.
 - N1 : Ευκίνητοι σύστοιχοι μασχαλιαίοι λεμφαδένες.
 - N2 : Καθηλωμένοι σύστοιχοι διηθημένοι μασχαλιαίοι λεμφαδένες.
 - N3: Διηθημένοι σύστοιχοι υπερκλείδιοι ή υποκλείδιοι λεμφαδένες ή οίδημα του βραχίονα.
 - M0 : Δεν υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις.
 - M1: Ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων.



Θεραπεία καρκίνου μαστού

- ❖ Καθορίζεται με βάση το στάδιο της νόσου και τη μορφή του όγκου:
 - ❖ Χειρουργική θεραπεία
 - ❖ Ακτινοθεραπεία
 - ❖ Χημειο-ορμονοθεραπεία (κυρίως με αντι-οιστρογόνα)
 - ❖ Συνδυασμός τους
 - ❖ Ανοσοθεραπεία
 - ❖ Μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του ογκογονιδίου *ERBB2* (ή *c-erbB2* ή *neu* ή *Her-2*) σε ασθενείς που το υπερεκφράζουν.

Καρκινικοί βιοδείκτες

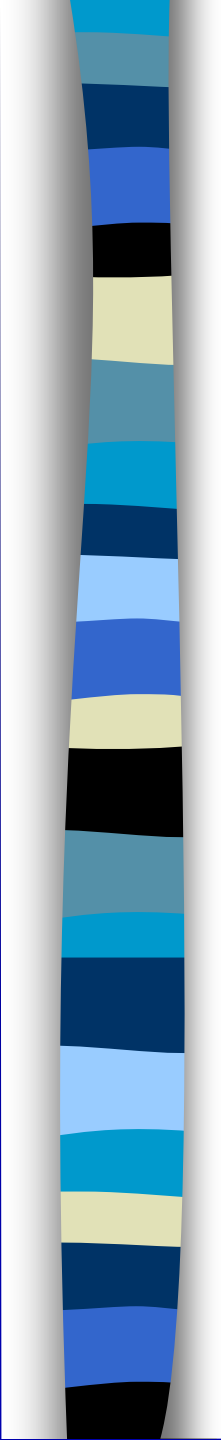
- Τα καρκινικά αντιγόνα **CA 15-3**, **CA 27.29**, **CA-549**
 - Το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο **CEA**.
 - Το **TPA** (ιστικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο).
 - Διερεύνηση υποδοχέων οιστρογόνων (**ER**), προγεστερόνης (**PR**), και επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (**EGF-R/c-erbB1**) στον ιστό.
 - Το ογκογονίδιο **ERBB2**.
 - **MSA** (Mammary Serum Antigen)
 - **BRAC1** και **BRAC2** για έγκαιρη διάγνωση κληρονομικών (~8%) καρκίνων μαστού και ωοθήκης.
-
- ✓ Γενικότερα κάθε γυναίκα πρέπει να αυτοψηλαφάται στους μαστούς μία φορά το μήνα, τη 10^η ημέρα της περιόδου.
 - ✓ Πρέπει κάθε χρόνο μετά την ηλικία των 35 ετών να γίνεται μία μαστογραφία και ένα υπέρηχος μαστών σε γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού αλλά και σε όλες τις γυναίκες άνω των 40 ετών.



Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο CEA

- Κυτταρομεμβρανική πρωτεΐνη 200KDa.
- Κωδικοποιείται από γονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19.
- Αύξηση τιμών σε ορισμένες καλοήθεις καταστάσεις και σε καπνιστές, που δεν ξεπερνούν όμως τις τιμές αναφοράς (<10 ng/mL).
- Προσδιορισμός της έκτασης της νόσου, πρόγνωση της νόσου, βαθμός διαφοροποίησης του όγκου και ύπαρξη μεταστάσεων.
- Παρουσιάζει αυξημένα επίπεδα και σε άλλους όγκους και σε στερείται εξειδίκευσης.

CA 15-3

- 
- Γλυκοπρωτεΐνη MB 300 kDa.
 - Το πιο ειδικό αντιγόνο για τη διερεύνηση του καρκίνου του μαστού.
 - Στον πρωτογενή καρκίνο του μαστού η τιμή του CA 15-3 είναι αυξημένη στο 20% των περιπτώσεων, ενώ στην περίπτωση μεταστατικού καρκίνου στο 61-84% των περιπτώσεων.
 - Χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους βιοδείκτες για την παρακολούθηση της πορείας της νόσου.



TPA (ΙΣΤΙΚΟ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΚΟ ΑΝΤΙΓΟΝΟ)

- Αντιπροσωπεύει τις κερατίνες που βρίσκονται στους επιθηλιακούς ιστούς.
- Αύξηση του καρκινικού όγκου έχει ως συνέπεια αύξηση της συγκέντρωσης των κερατινών.
- Παρόμοιος δείκτης ο TPS (ειδικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο των ιστών)
- Έλεγχος της θεραπευτικής αγωγής και παρακολούθηση της πορείας της νόσου.

MSA

Αντιγόνο στον ορό ασθενών με καρκίνο μαστού (Mammary Serum Antigen)

- Στην πραγματικότητα πρόκειται για το μόριο της MUC-1 βλεννίνης.
- Το ειδικό αντίσωμα (MAb 3E12) που χρησιμοποιείται ανιχνεύει το γλυκονευραμινικό οξύ του μορίου της MUC-1 βλεννίνης.
- Το MSA παρουσιάζει ικανοποιητική εξειδίκευση στον καρκίνο του μαστού
- Χρησιμοποιείται μαζί με τα CA 15-3, CA 27.29, CA-549
- Έλεγχος της θεραπευτικής αγωγής και παρακολούθηση της πορείας της νόσου.

Το ογκογονίδιο *ERBB2*

- ✓ Το *ERBB2* είναι ένα πρωτο-ογκογονίδιο στο χρωμόσωμα 17q21.1, το οποίο κωδικοποιεί μία διαμεμβρανική κινάση τυροσίνης, που έχει μοριακό βάρος 185 kDa και αποτελείται από 1260 αμινοξέα. Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στον ιό ερυθροβλάστωσης των πτηνών. Από κύτταρα του ανθρώπου απομονώθηκε το 1985. Το ανθρώπινο *ERBB2* περιγράφεται και ως *c-erbB-2*, *HER2* ή *NEU*
- ✓ Σε όγκους μαστού η υπερέκφραση του *ERBB2* γίνεται κυρίως μέσω γονιδιακής επέκτασης και παρατηρείται σε 10-30% των όγκων. Όγκοι με ενεργοποιημένα ογκογονίδια *ERBB2* εμφανίζουν χαρακτηριστικά επιθετικού φαινοτύπου όπως μεγάλο μέγεθος, αυτονομία ανάπτυξης, μεγάλο ιστολογικό βαθμό κακοήθειας (grade) και είναι συνήθως φλεγμονώδους τύπου.
- ✓ Η ανίχνευση υπερέκφρασης του *ERBB2*, σε επίπεδο mRNA ή και σε επίπεδο πρωτεΐνης, αποκτά ιδιαίτερη σημασία λόγω της σχετικά πρόσφατης ανακάλυψης και χρήσης μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι της *ERBB2* ογκοπρωτεΐνης στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού, κυρίως IV σταδίου ασθενών.

ER / PR / EGF-R

Υποδοχείς οιστρογόνων, προγεστερόνης και επιδερμικού αυξητικού παράγοντα

ER/PR:

- Θετική πρόγνωση.
- Μέτρηση των 'ελεύθερων' υποδοχέων.
- Μέτρηση των μη μεταλλαγμένων υποδοχέων.

EGF-R:

- Αρνητική πρόγνωση.

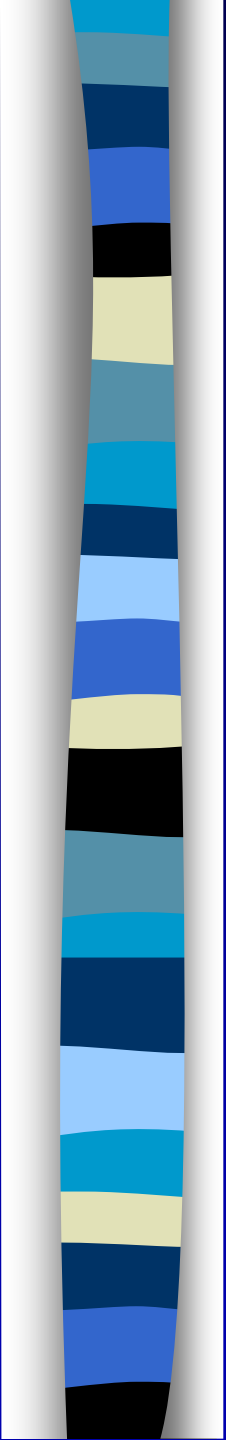
➤Οι στεροειδείς ορμόνες (οιστραδιόλη – οιστρόνη) δρουν ως επαγωγείς όγκων ρυθμίζοντας την έκφραση των ογκογονιδίων.

➤Οι όγκοι μαστού που περιέχουν στα κύτταρα τους υποδοχείς στεροειδών ορμονών (ορμονοεξαρτώμενοι όγκοι), αν και αναγνωρίζουν τις ορμόνες που επάγουν την αύξηση του όγκου εντούτοις ανταποκρίνονται στην αντιοιστρογονική θεραπεία.

Τα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2*

- ✓ Πρόκειται για ογκοκατασταλτικά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που επιτελούν κυρίως επιδιορθωτικές λειτουργίες στο DNA των κυττάρων και παρεμποδίζουν την κακοήθη εξέλιξη των κυττάρων.
- ✓ Περίπου 6-8% του συνόλου των περιπτώσεων καρκίνου μαστού και 8-10% των περιπτώσεων καρκίνου ωοθήκης οφείλονται σε κληρονομικά μεταβιβάσιμες μεταλλάξεις στα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2*.
- ✓ Οι περιπτώσεις που ενδείκνυται ο έλεγχος μεταλλάξεων των *BRCA1* και *BRCA2* είναι η ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού καρκίνου μαστού σε ηλικία μικρότερη των 50 ετών καθώς και ωοθήκης σε οποιοδήποτε ηλικία. Περισσότερο ενδείκνυται σε κόρες και αδελφές γυναικών με αμφοτερόπλευρο καρκίνο μαστού ή με ταυτόχρονο καρκίνο ωοθήκης. Η ύπαρξη πάνω του ενός κρούσματος καρκίνου μαστού ή ωοθήκης στην ίδια οικογένεια αποτελεί σημαντική ένδειξη ελέγχου μεταλλάξεων των *BRCA1* και *BRCA2*.
- ✓ Ο έλεγχος γίνεται σε DNA αίματος σε εξειδικευμένα εργαστήρια μοριακής διάγνωσης του δημόσιου και ιδιωτικού τομέα και ακόμη κοστίζει σχετικά ακριβά.

Ο καρκίνος της ωοθήκης





Καρκίνος της ωοθήκης

- 20% των καρκίνων των γυναικείων γεννητικών οργάνων.
- Λόγω της θέσης των ωοθηκών η διάγνωσή του γίνεται σχετικά αργά και κυρίως μετά την εμφάνιση ορισμένων συμπτωμάτων:
 - ✓ Συμπτώματα που προκαλούνται από πίεση εξαιτίας της ανάπτυξης του όγκου.
 - ✓ Συμπτώματα που προκαλούνται από τη διασπορά του όγκου και τη δημιουργία ασκίτη.
 - ✓ Συμπτώματα που σχετίζονται με ορμονικές εκδηλώσεις.

Μορφές καρκίνου της ωοθήκης

- ❖ Επιθηλιακοί όγκοι. Αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό. Διακρίνονται σε ορώδεις ή βλεννώδεις. Αναπτύσσονται αμφοτερόπλευρα.
- ❖ Όγκοι εκ γεννητικών ταινιών. Διακρίνονται σε ανδροβλαστώματα, κοκκιοβλαστώματα και σε όγκους από τα κύτταρα της θήκης. Συνήθως συνυπάρχουν στοιχεία από αυτές τις κατηγορίες.
- ❖ Όγκοι που προέρχονται από βλαστικά κύτταρα.
- ❖ Όγκοι που προέρχονται από τον ινώδη ιστό της ωοθήκης.

Σταδιοποίηση

Κατά UICC/ TNM (T_1 - M_1) και κατά FIGO (I-IV):

- T_1 /I : Ο όγκος περιορίζεται στις ωθήκες.
- T_2 /II : Ο όγκος επεκτείνεται στην πύελο.
- T_3 /III : Επέκταση στην ελάσσονα πύελο ή ενδοπεριτοναϊκές μεταστάσεις.
- M_1 /IV : Μετάσταση σε απομακρυσμένα όργανα.



Θεραπεία

- Συνήθως χειρουργική επέμβαση με υστερεκτομή και αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωθηκεκτομή.
- Σε ορισμένες περιπτώσεις, ιδιαίτερα στα αρχικά στάδια, μπορεί να χρησιμοποιηθεί:
 - χημειοθεραπεία με cis-platinum, αλκυλιωτικούς παράγοντες, αντιμεταβολίτες ή αντιβιοτικά.
 - ακτινοθεραπεία.

Προγνωστικοί / Διαγνωστικοί βιοδείκτες

- Καρκινικό αντιγόνο **CA125** (ο κυριότερος δείκτης).
- **CASA** (Cancer Associated Serum antigen).
- Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο CEA.
- AFP (α- φετοπρωτεΐνη).
- hCG (ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη) .
- TPA (ειδικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο).
- **BRAC1** και **BRAC2** για έγκαιρη διάγνωση κληρονομικών (~8%) καρκίνων μαστού και ωοθήκης

CA 125

- Γλυκοπρωτεΐνη MB 200 kDa.
- Φυσιολογικά απαντάται στο επιθήλιο των ωοθηκών, των σαλπίγγων, του ενδομητρίου και του παχέος εντέρου.
- Ανιχνεύεται σε καλοήθεις καταστάσεις και στο πρώτο κυρίως τρίμηνο της εγκυμοσύνης.
- Η συχνότερη χρήση της συνίσταται στην παρακολούθηση του καρκίνου των ωοθηκών.
- Αυξημένο στο 12% των περιπτώσεων του καρκίνου του μαστού.
- Τιμές αναφοράς : < 35 U/mL.

CASA

Αντιγόνο στον ορό ασθενών με καρκίνο ωοθήκης (Cancer Associated Serum Antigen)

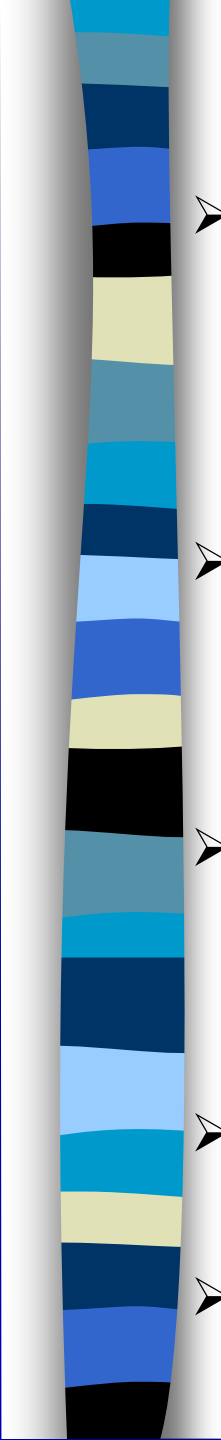
- Πρόκειται για το μόριο της ομάδας των πολυμορφικών επιθηλιακών βλεννινών (μουκινών).
- Τα ειδικά αντισώματα (BC2 και BC3) που χρησιμοποιούνται, ανιχνεύουν τον πεπτιδικό επίτοπο APDTR ο οποίος επαναλαμβάνεται στις γλυκοπρωτεΐνες βλεννίνες.
- Το CASA παρουσιάζει ικανοποιητική εξειδίκευση στον καρκίνο της ωοθήκης σε σχέση με τις διάφορες καλοήθεις γυναικολογικές ασθένειες (ινομυώματα, ενδομητρίωση κλπ).
- Βρίσκεται αυξημένος και σε άλλους επιθηλιακούς όγκους όπως του μαστού, των πνευμόνων και της ουροδόχου κύστης.
- Συνεκτιμάται κυρίως μαζί με το CA125 για διαφοροδιάγνωση στον καρκίνο της ωοθήκης αλλά και για έλεγχο της θεραπευτικής αγωγής και παρακολούθησης της πορείας της νόσου.



AFP (α- φετοπρωτεΐνη)

- Γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 70 kDa.
- Φυσιολογικά ανιχνεύεται σε εμβρυϊκό ορό και κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.
- Στους υγιείς ενήλικες τα επίπεδά της είναι μη ανιχνεύσιμα.
- Αυξημένες τιμές δίνουν ορισμένες καλοήθειες καταστάσεις (π.χ. ηπατίτιδα).
- Τιμή αναφοράς : < 4ng/ml.
- Κυριότερος βιοχημικός δείκτης για ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, εμβρυϊκό καρκίνωμα όρχεος, τεράτωμα όρχεος και όγκους λεκιθικού ασκού.

HCG (ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη)

- 
- Η ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (Human Chorionic gonadotropin, HCG) είναι ένας ευαίσθητος δείκτης της εγκυμοσύνης, γιατί η συγκέντρωσή της αυξάνει πολύ γρήγορα μετά τη σύλληψη και υπάρχει παραλληλισμός μεταξύ των επιπέδων της στα ούρα και στο αίμα.
 - Η HCG είναι γλυκοπρωτεΐνη M.W. 39 Kd και αποτελείται από δύο υπομονάδες την α και β , οι οποίες είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους με μη ομοιοπολικούς δεσμούς. Οι αλυσίδες β είναι αυτές που προσφέρουν βιολογική και ανοσολογική εξειδίκευση.
 - Μόλις εμφυτεύει το γονιμοποιημένο ωάριο στη μήτρα, η HCG αρχίζει να παράγεται από τα τροφοβλαστικά κύτταρα του χοριακού επιθηλίου που αργότερα θα σχηματίσουν τον πλακούντα. Από εκεί περνάει στο αίμα της μητέρας και στα ούρα μέσω των νεφρών.
 - Η HCG μπορεί σήμερα να ανιχνευτεί στο αίμα και στα ούρα της εγκύου 7-10 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση.
 - Ο προσδιορισμός της HCG χρησιμεύει και για την παρακολούθηση της σωστής πορείας της εγκυμοσύνης.



HCG ως καρκινικός δείκτης

Η HCG αποτελεί έναν σημαντικό καρκινικό δείκτη σε ασθενείς με:

- Καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, της ωοθήκης, και του κόλπου.
- Υδατιδώδη μύλη κύηση και χοριοεπιθηλιώματα της μήτρας.
- Καρκίνο των όρχεων (σεμινώματα, χοριοεπιθηλιώματα).

Έτσι τα αυξημένα επίπεδα HCG στον άνδρα δυστυχώς δεν υποδηλώνουν εγκυμοσύνη!



Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας

Καρκίνος του τραχήλου της μήτρας

- Δεύτερος σε συχνότητα εμφάνισης καρκίνος στις γυναίκες.
- Μέση ηλικία εμφάνισης τα 48-52 χρόνια.
- Εμφανίζεται συχνότερα στις παντρεμένες γυναίκες και αυξάνει με τον αριθμό των κυήσεων.
- Υπάρχει σαφής συσχέτιση με τον ιό των ανθρώπινων κονδυλωμάτων HPV για τον οποίο μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 100 στελέχη.
- Τα στελέχη 16 και 18 του HPV ευθύνονται για το 70% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας ενώ τα στελέχη 6 και 11 ευθύνονται για το μεγαλύτερο ποσοστό των εξωτερικών κονδυλωμάτων στα γεννητικά όργανα. Τα στελέχη 31,33 και 45 θεωρούνται επίσης υψηλού κινδύνου.
- Τα συγκεκριμένα στελέχη του ιού HPV ευθύνονται επίσης και για μεγάλο ποσοστό καρκίνων κεφαλής και τραχήλου (στόματος, φάρυγγα, λάρυγγα)
- Το έτος 2006 πήρε έγκριση το εμβόλιο έναντι των στελεχών 16,18,6 και 11 του ιού HPV. Σήμερα κυκλοφορεί το εννεαδύναμο HPV9 (6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58) εμβόλιο, το οποίο συστήνεται και σε άνδρες.
- Με το τεστ Παπανικολάου (PAP test) μπορεί να γίνει εύκολη η έγκαιρη διάγνωση προκαρκινικών καταστάσεων του τραχήλου της μήτρας ((τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία,CIN).



Μορφές του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

- Αρχικά μορφή δυσπλασίας (CIN), η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε επιθηλιακό καρκίνωμα *in situ*.
- Εξέλιξη σε διηθητικό καρκίνωμα, το οποίο μπορεί να έχει τρεις μορφές:
 - Εξωφυτική, όταν εκτείνεται προς τον κολπικό σωλήνα.
 - Ενδοφυτική, όταν εκτείνεται προς τον τραχηλικό σωλήνα.
 - Ελκωτική, όταν καταστρέφεται η αρχιτεκτονική του τραχήλου.

Σταδιοποίηση

Κατά UICC/ TNM (T_{is} - M_1) και κατά FIGO (0-IV_b):

- $T_{is} / 0$: *In situ* καρκίνωμα
- T_1 / I : Όγκος περιοριζόμενος στον τράχηλο.
- T_2 / II : Όγκος επεκτεινόμενος στον κόλπο (εκτός του κάτω τριμορίου) ή στο παραμήτριο (εκτός του πυελικού τοιχώματος).
- T_3 / III : Όγκος επεκτεινόμενος στο κάτω τριμόριο του κόλπου ή στο πυελικό τοίχωμα του παραμητρίου.
- T_4 / IV_a : Επέκταση προς ουροδόχο κύστη, ορθό, ή πέραν της πυέλου.
- M_1 / IV_b : Μεταστάσεις σε απομακρυσμένα όργανα.



Θεραπεία

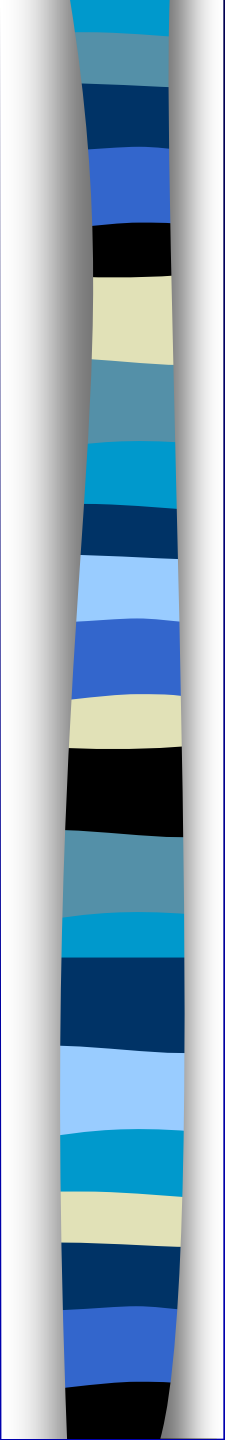
- Στο στάδιο T_{is} προτιμάται η χειρουργική επέμβαση.
- Σε πιθανότητα τεκνοποίησης, ενεργείται κωνοειδής εκτομή ή ακρωτηριασμός του τραχήλου.
- Σε διηθητικούς καρκίνους προτιμάται η ακτινοθεραπεία.
- Ανάπτυξη πρωτοκόλλων χημειοθεραπείας.



Προγνωστικοί / Διαγνωστικοί βιοδείκτες

- SCC (Καρκινικό αντιγόνο εκ πλακωδών κυττάρων).
- TPA (ιστικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο).
- Ανίχνευση στελεχών HPV.
- hCG (ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη).

Ο καρκίνος του ενδομητρίου

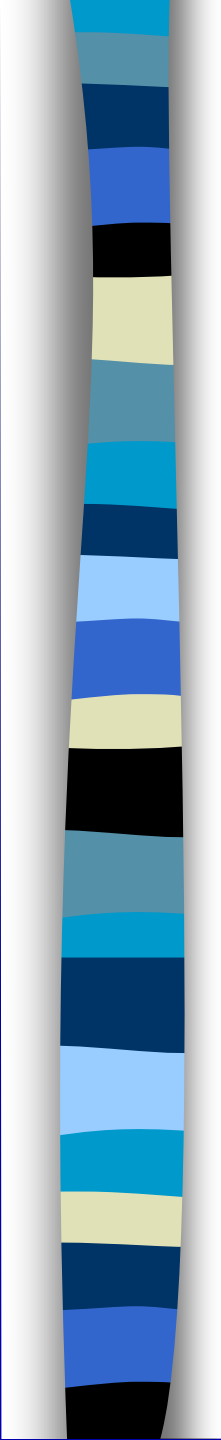




Καρκίνος του ενδομητρίου

- Εμφανίζεται κυρίως στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.
- Η χρήση οιστρογόνων κατά την κλιμακτήριο μπορεί να αυξήσει τις πιθανότητες εμφάνισης.
- Αδενοκαρκίνωμα, συνήθως καλά διαφοροποιημένο με βραδεία εξέλιξη.
- Στην καθυστέρηση της διήθησης πιστεύεται πως συντελεί το μυϊκό τοίχωμα της μήτρας.

Σταδιοποίηση

- 
- Κατά UICC/ TNM (T_1 - T_4) και κατά FIGO (I-IV):
 - T_1 /I : Καρκίνωμα περιοριζόμενο στο σώμα.
 - T_2 /II : Καρκίνωμα που διηθεί τον τράχηλο, αλλά δεν επεκτείνεται έξω από τη μήτρα.
 - T_3 /III : Καρκίνωμα επεκτεινόμενο εκτός μήτρας, με διασπορά προς τον κόλπο, που παραμένει μέσα στην ελάσσονα πύελο.
 - T_4 /IV : Καρκίνωμα που διηθεί τον βλεννογόνο της ουροδόχου κύστεως ή του ορθού και/ή επεκτείνεται εκτός της ελάσσονος πυέλου.



Θεραπεία

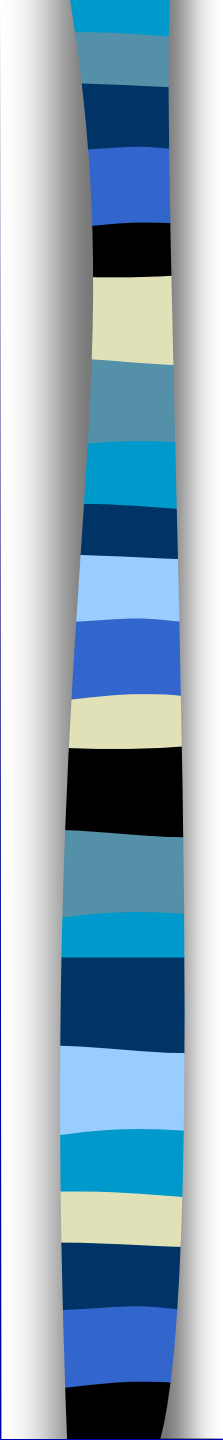
- Διακοιλιακή υστερεκτομία με αμφοτερόπλευρη σαλπινγγο-ωοθηκεκτομή για τα στάδια T_{is} και T₁
- Συνδυασμός χειρουργικής και προεγχειρητικής ή μετεγχειρητικής ακτινοθεραπείας με ράδιο ή κοβάλτιο.



Προγνωστικοί / Διαγνωστικοί βιοδείκτες

- SCC (Καρκινικό αντιγόνο εκ πλακωδών κυττάρων).
- CEA (καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο).
- TPA (ιστικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο).

Ο καρκίνος του προστάτη



Ο καρκίνος του προστάτη

- Ο καρκίνος του προστάτη (CaP) είναι η πιο συχνά διαγνωσμένη κακοήθης νόσος και η δεύτερη κατά σειρά αιτία θανάτου, που σχετίζεται με καρκίνο στους άνδρες, τόσο στην Ευρώπη όσο και στη Βόρεια Αμερική.
- Η American Cancer Society εκτιμά ότι το 35 % των νέων περιπτώσεων καρκίνου, αντιστοιχεί στον καρκίνο του προστάτη, ο οποίος καθίσταται έτσι ο πρώτος σε συχνότητα καρκίνος στους άνδρες.
- Από το 1973 έως σήμερα τα περιστατικά αυξήθηκαν κατά 200%.
- Στην Ελλάδα η Ελληνική Ουρολογική Εταιρεία εκτιμά ότι ετησίως υπάρχουν 4500 νέα περιστατικά και 1500 θάνατοι.
- Η θνητότητα της νόσου θα ήταν πολύ μεγαλύτερη εάν δεν είχε ανακαλυφθεί και καθιερωθεί η ανάλυση του PSA στον ορό. Κάθε min γίνονται παγκοσμίως 10 έγκαιρες διαγνώσεις CaP λόγω προσδιορισμού και σωστής εκτίμησης του PSA.

Καρκίνος του προστάτη (1)

- Συχνότερος στους έγγαμους παρά στους άγαμους άνδρες.
- Η συχνότητά του είναι ανάλογη της ηλικίας.
- Μεγάλη συχνότητα της λανθάνουσας φάσης.
- Ορμονοεξαρτώμενος καρκίνος.
- Αδενοκαρκίνωμα που ξεκινάει ως σκληρή μάζα από τα λόβια. Αργή διήθηση στην ουροδόχο κύστη, στους γύρω ιστούς και στους αντίστοιχους λεμφαδένες.
- Αιματογενείς μεταστάσεις στα οστά.
- Σπανιότερη μορφή του καρκίνου που μπορεί να εκδηλωθεί και στους άνδρες νεώτερης ηλικίας είναι ο αναπλαστικός καρκίνος του προστάτη.

Σταδιοποίηση

Σταδιοποίηση με το σύστημα TNM:

- T_0 : Κλινικά μη διαπιστούμενος όγκος που περιορίζεται στον προστατικό αδένα.
- T_1 : Ενδοκαψικός όγκος που περιβάλλεται από ομαλό προστατικό ιστό.
- T_2 : Μεγαλύτερος όγκος περιοριζόμενος στον αδένα, με φανερά πλευρικά οζίδια ομαλής σύστασης. Δεν συμμετέχουν οι σπερματοδόχεις κύστεις.
- T_3 : Επέκταση πέραν της κάψας με ή χωρίς συμμετοχή των σπερματοδόχων κύστεων.
- T_4 : Συμπαγής όγκος ή διήθηση παρακείμενων ιστών.



Θεραπεία

- Σε ασθενείς σταδίου T_0 δε συνιστάται θεραπεία.
- Στα στάδια T_1 και T_2 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ριζική προστατεκτομή ή ραδιοθεραπεία.
- Ορμονοθεραπεία (ασθενή οιστρογόνα ή αντι- ανδρογόνα).
- Χημειοθεραπεία (όγκοι ανθεκτικοί στην ορμονοθεραπεία).



Προγνωστικοί / Διαγνωστικοί βιοδείκτες

- PSA (ειδικό προστατικό αντιγόνο).
- PAP (προστατικό κλάσμα της όξινης φωσφατάσης).
- TPA (ιστικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο).



ΡΑΡ (προστατικό κλάσμα της όξινης φωσφατάσης)

- Διμερής γλυκοπρωτεΐνη.
- Καταλύει την υδρόλυση φωσφομονοεστερικών ομάδων με βέλτιστο pH δράσης 4,5- 7.
- Μεγάλη αστάθεια σε θερμοκρασία 37° C.
- 1000 φορές μεγαλύτερο σε σχέση με τα κλάσματα άλλων ιστών.
- Υψηλή ειδικότητα και αρκετά καλή ευαισθησία.
- Η μέτρηση της ολικής όξινης φωσφατάσης χρησιμοποιείται στη διάγνωση του μεταστατικού καρκίνου του προστάτη.



PSA (ειδικό προστατικό αντιγόνο, KLK3)

- Γλυκοπρωτεΐνη της οικογένειας των καλικρεΐνών μοριακού βάρους 34kDa
- Ανιχνεύεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων του προστάτη και στο υγροποιημένο σπέρμα.
- Αυξημένες τιμές PSA ορού σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη. Σε μικρότερο βαθμό αυξημένες τιμές, δίνουν και άλλες ανωμαλίες, όπως η προστατίτιδα και η καλοήθης υπερπλασία του προστάτη.
- Οι τιμές αναφοράς <math><4 \text{ ng/ml}</math> ορού, 2.5-10 ng/ml – gray zone



PSA (1)

- Αποτελεί έναν από τους καλύτερους διαγνωστικούς και προγνωστικούς βιοδείκτες.
- Σχετίζεται με αρνητική πρόγνωση
- Συμβάλει σημαντικά στην έγκαιρη διάγνωση της νόσου.
- Χρησιμοποιείται επίσης στην παρακολούθηση της χορηγούμενης θεραπείας ή ανίχνευση υποτροπής.
- Σε ολική προστατεκτομή αποτελεί μέθοδο ελέγχου επανεμφάνισης του όγκου.
- Free PSA – νέες καλλικρεΐνες για την αντιμετώπιση των περιστατικών που ανήκουν στη «gray zone»



Το Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο (PSA) ως Καρκινικός Δείκτης

- Παράγεται από τα προστατικά επιθηλιακά εκκριτικά κύτταρα αλλά και από το μαστό, το θυρεοειδή αδένα και τον πλακούντα.
- Έτσι το PSA δεν είναι ειδικό μόριο του προστάτη, αλλά είναι ένας πολύ καλός καρκινικός δείκτης για τον καρκίνο του προστάτη.
- Φυσιολογικά στον ορό βρίσκεται σε μικρά ποσά (ng/ml) και αυξάνει με την αύξηση των επιθηλιακών κυττάρων του προστάτη
- 70-90% προσδεδεμένο με την α_1 -αντιχυμοθρυψίνη (ACT, αναστολέας πρωτεασών). Σε πολύ μικρότερα ποσά (<1.0%) προσδεδεμένο με την α_2 -μακροσφαιρίνη (A2M) και τον α_1 αναστολέα πρωτεασών (API). 10-30% είναι ελεύθερο (Free PSA).



Το Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο (PSA) ως Καρκινικός Δείκτης (1)

- Στον καρκίνο του προστάτη αυξάνει στον ορό το ολικό PSA, ενώ στις καλοήθειες καταστάσεις αυξάνει το ελεύθερο PSA.
- Καρκίνος \Rightarrow απώλεια αρχιτεκτονικής δομής του ιστού \Rightarrow απελευθέρωση στην κυκλοφορία του ενδοκυτταρικού ενεργού PSA \Rightarrow εύκολη συμπλοκοποίηση με αναστολείς που υπερεκφράζονται στα καρκινικά κύτταρα \Rightarrow αύξηση ολικού PSA \Rightarrow μείωση του ελεύθερου PSA.
- ✓ Αντίθετα, το PSA που απελευθερώνεται από μη καρκινικό προστάτη στην κυκλοφορία, δεν προλαβαίνει να ενωθεί με αναστολείς, υπόκειται νωρίτερα σε πρωτεολυτική διάσπαση, οπότε αρκετοί από τους επιτόπους του ανιχνεύονται ως ελεύθερο PSA.

Τιμές αναφοράς του PSA

Ηλικία (έτη)	PSA (ng/mL)
40-49	$\leq 2,5$
50-59	$\leq 3,5$
60-	≤ 4

Η έκφραση του γονιδίου αυξάνει από την παρουσία ανδρογόνων τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες. (Slagter M, Scorilas A et al. Clin Chem, 2006).

Τα επίπεδα του PSA στον ορό είναι αυξημένα, εκτός από τις περιπτώσεις καρκίνου και σε περιπτώσεις:

Καλοήθους προστατικής υπερπλασίας (BPH), προστατίτιδας, επεμβάσεων όπως DRE (δακτυλική εξέταση), βιοψία, ύστερα από σεξουαλική δραστηριότητα.

➤ Η «Γκρίζα Ζώνη» των 2,5-10 ng/mL Ολικού PSA

➤ Λόγος Ελεύθερο/Ολικό PSA > 25%

~ 20-30% των καρκίνων δεν ανιχνεύονται (ΨΑ αποτελέσματα)

~ 25% των περιπτώσεων θα διαγνωστεί με προχωρημένο καρκίνο του προστάτη

Το *PCA3*

- Το *PCA3* (Prostate Cancer Antigen 3) είναι ένα μεγάλο μη κωδικό μόριο RNA (lncRNA) το οποίο δεν μεταφράζεται σε πρωτεΐνη.
- Το γονίδιο *PCA3* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 9q21–22
- Ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την κυτταρική αύξηση ή επιβίωση,
- Αλληλεπιδρά με χρωματίνη, μεταγραφικούς παράγοντες και microRNAs.
- Ενισχύει την προ-καρκινική φαινοτυπική διαφοροποίηση των κυττάρων.
- Εκφράζεται σχεδόν αποκλειστικά στον προστάτη
- Υπερεκφράζεται σε καρκινικά κύτταρα του προστάτη
- Ως βιοδείκτης βοηθά στον εντοπισμό καρκίνου του προστάτη, ειδικά όταν τα επίπεδα PSA είναι αμφίβολα ή στα "γκρίζα όρια".
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αποφευχθούν περιττές βιοψίες προστάτη.
- Υπολογίζεται το *PCA3 Score* (αναλογία *PCA3/PSA* (x1000) σε επίπεδο mRNA στα ούρα μετά από διέγερση του προστάτη), με τιμές >35 να θεωρούνται αυξημένες και ενδεικτικές καρκίνου.

Το PSMA (*Prostate-Specific Membrane Antigen*)

- Πρωτεϊνικό μόριο που εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στην κυτταρική μεμβράνη των καρκινικών κυττάρων του προστάτη.
- Χρησιμοποιείται για τη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη και για την εντόπιση μεταστάσεων, κυρίως μέσω της ποζιτρονική τομογραφίας (PET-CT scan).
- Στο PET-CT scan, χορηγείται ενδοφλέβια ένα ραδιοφάρμακο που στοχεύει ειδικά το PSMA. Τα πιο γνωστά ραδιοφάρμακα: Ga-68-PSMA-11 (Γάλλιο-68), F-18 DCFPyL (Φθόριο-18). Το PET-CT εντοπίζει τις περιοχές όπου έχει συγκεντρωθεί το φάρμακο → εκεί υπάρχουν κύτταρα με υψηλή έκφραση PSMA (δηλαδή καρκινικά).
- Το PSMA είναι ένας στόχος για καινοτόμες θεραπείες. Στην στοχευμένη ραδιοθεραπεία, χρησιμοποιούνται ραδιοϊσότοπα που συνδέονται με αντισώματα ή οργανικά μόρια που στοχεύουν το PSMA. Αυτά τα ραδιοϊσότοπα εκπέμπουν ακτινοβολία που καταστρέφει τα καρκινικά κύτταρα. Στην ανοσοθεραπεία χρησιμοποιούνται αντισώματα που συνδέονται με το PSMA και ενισχύουν την ανοσολογική αντίδραση του σώματος κατά των καρκινικών κυττάρων.



Παρόλο

.....που κάθε μήν γίνονται παγκοσμίως 10 έγκαιρες διαγνώσεις CaP λόγω προσδιορισμού και σωστής εκτίμησης του PSA, ένας ακόμη μεγαλύτερος αριθμός ασθενών δεν ανιχνεύεται ή ανιχνεύεται σε προχωρημένο στάδιο.

- Είναι πλέον αποδεκτό ότι ένας μόνο δείκτης δε μπορεί να δώσει όλες τις εργαστηριακές πληροφορίες που απαιτούνται για τη διάγνωση, την πρόγνωση και τις στρατηγικές θεραπείας του καρκίνου.
- Η έρευνα σήμερα επικεντρώνεται στη μελέτη της εφαρμογής συνδυασμού καρκινικών δεικτών.



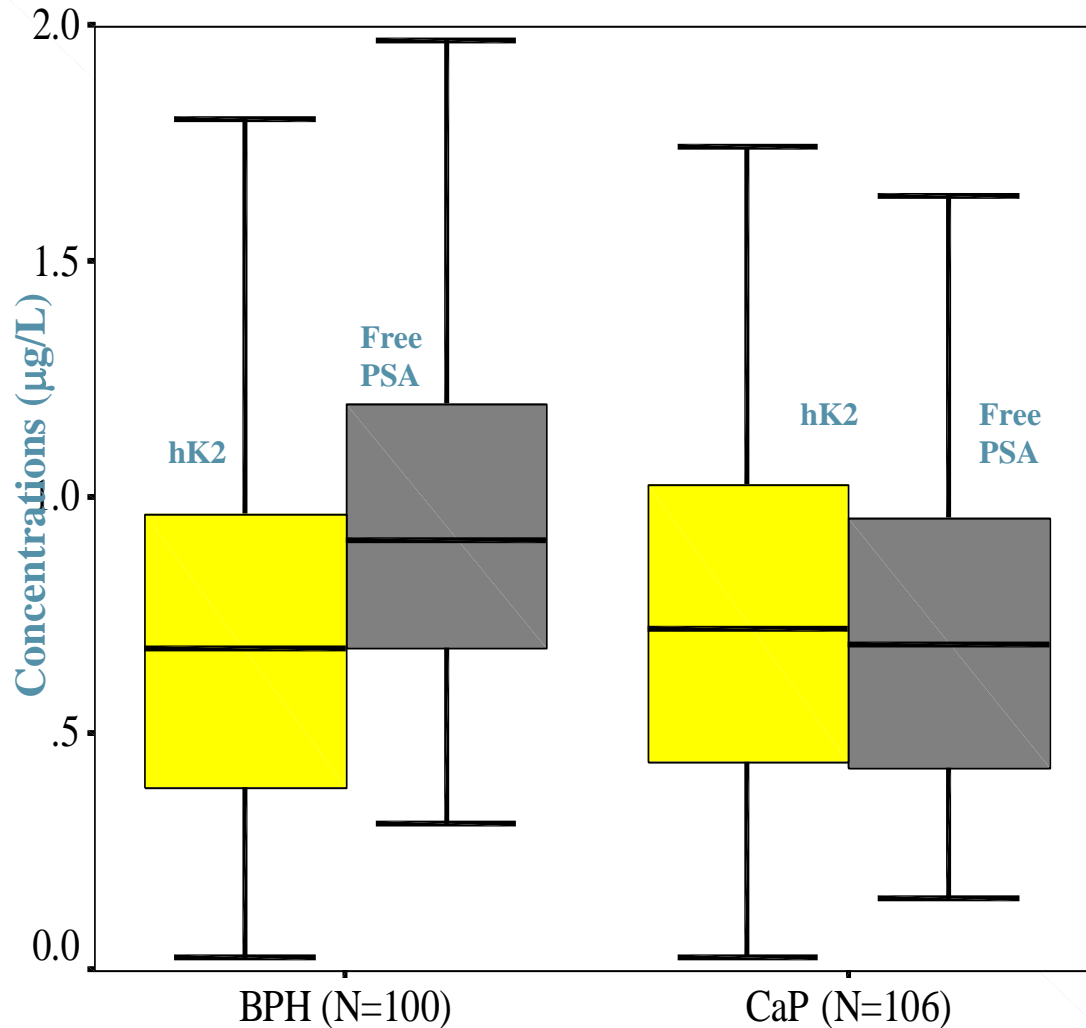
Καλλικρεΐνες και Καρκίνος του Προστάτη

Η ανθρώπινη αδενική καλλικρεΐνη 2 (KLK2, hK2) είναι χρήσιμη για τη διάκριση ανάμεσα στον καρκίνο του προστάτη (CaP) & την καλοήγη προστατική υπερπλασία (BPH) σε ασθενείς με ολικό PSA=4-10 $\mu\text{g/L}$ (γκρίζα ζώνη).

Scorilas A, Plebani M et al. *Prostate* 2003; 54: 220-22

Magklara A, Scorilas A, Catalona WJ, Diamandis EP. *Clin Chem* 1999, 45: 1960-66

Επίπεδα της KLK2 (hk2) στον ορό ασθενών με ολικό PSA στην γκρίζα ζώνη.

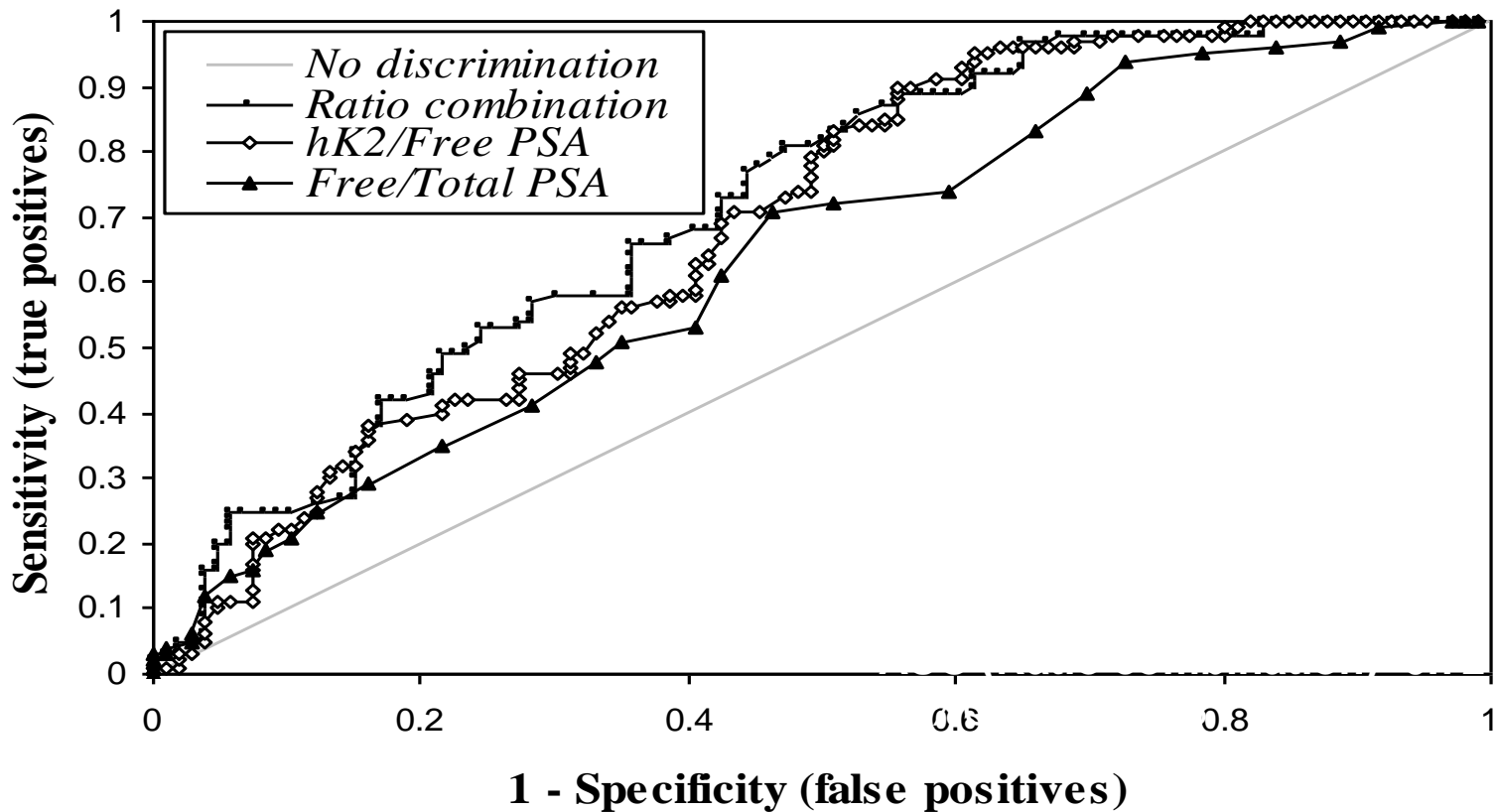


Παρατηρήσαμε ότι τα επίπεδα της hK2 στον ορό είναι ελαφρώς αυξημένα σε ασθενείς με CaP σε σχέση με ασθενείς με BPH.

Έτσι, θεωρήσαμε ότι ο λόγος hK2/ελεύθερο PSA έχει υψηλή διαφοροδιαγνωστική αξία ανάμεσα στον καρκίνο του προστάτη (CaP) & την καλοήγη προστατική υπερπλασία (BPH).

Επίπεδα της hK2 στον ορό

Σε ασθενείς με ολικό PSA=4-10 μ g/L



Η ανάλυση ROC δείχνει πως ο λόγος hK2/ελεύθερο PSA έχει καλύτερη διαφορο - διαγνωστική αξία από το λόγο ελεύθερο/ολικό PSA σε ασθενείς της «γκρίζας ζώνης».

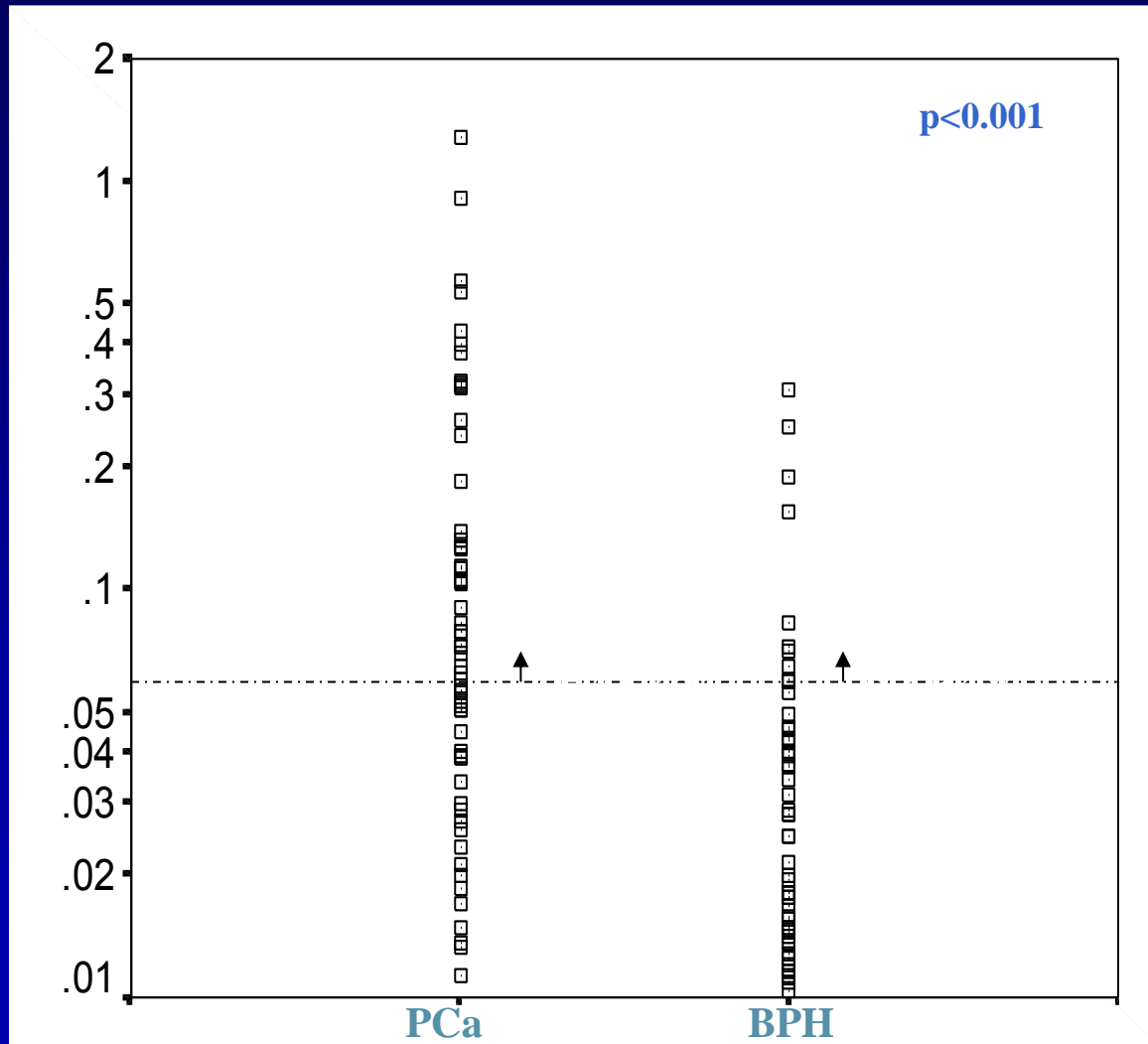


Η καλλικρεΐνη 11 στον καρκίνο του προστάτη

Η ανθρώπινη καλλικρεΐνη 11 (hK11) είναι χρήσιμη για τη διάκριση ανάμεσα στον καρκίνο του προστάτη (CaP) και την καλοήγη προστατική υπερπλασία (BPH). Αποτελεί δυσμενή προγνωστικό δείκτη στην εξέλιξη της νόσου.

Scorilas A and Gregorakis A. *Biol Chem* 387: 789-93, 2006

Επίπεδα της KLK11 (hK11) στον ορό



Κατανομή των λόγων hK11/ fPSA σε BPH & CaP ασθενείς.

Για 90% ευαισθησία και 49% ειδικότητα ο λόγος hK11/ολικό PSA είναι 0,06.



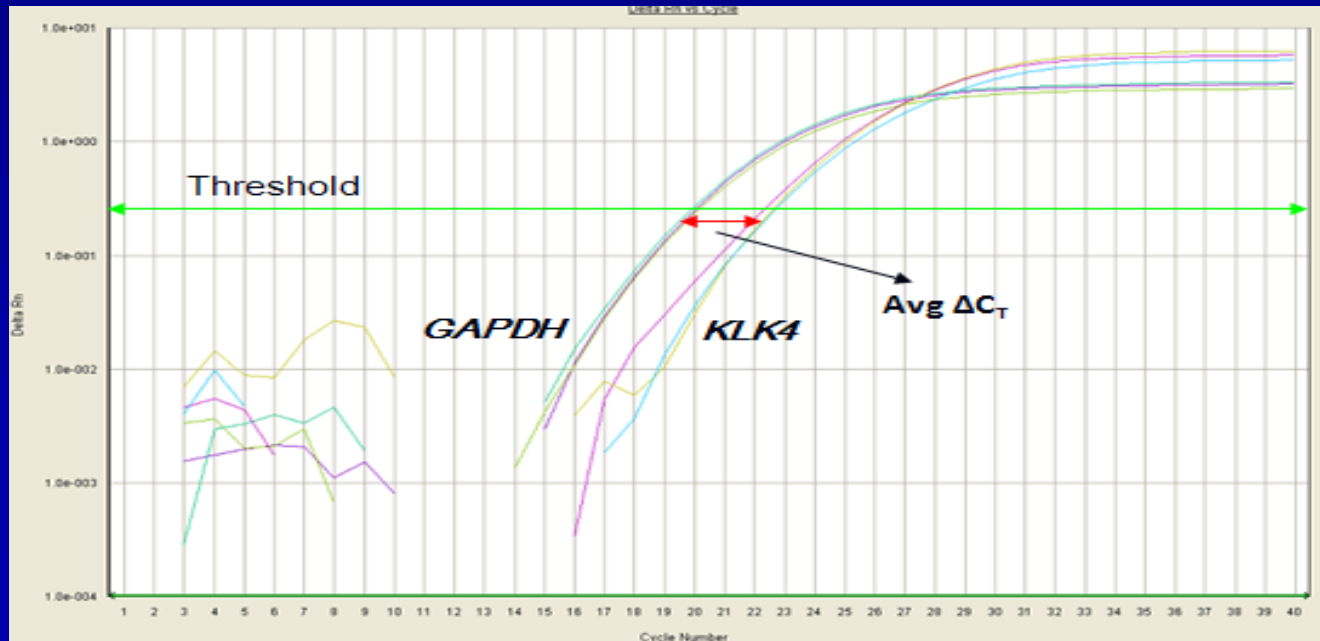
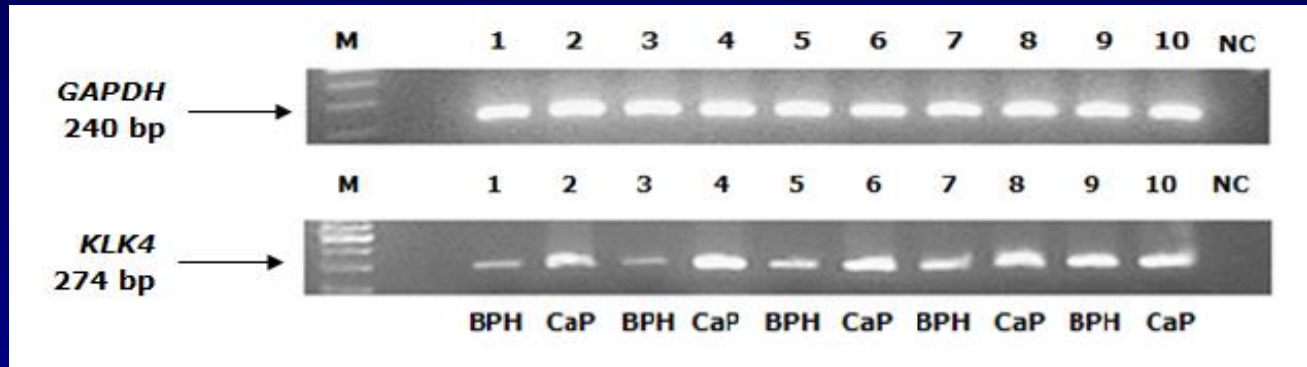
Οι καλλικρεΐνες 4 (*KLK4*) και 5 (*KLK5*) στον καρκίνο του προστάτη

Η ανθρώπινες καλλικρεΐνες 4 (*KLK4*) και 5 (*KLK5*) αποτελούν σημαντικούς προγνωστικούς βιοδείκτες στον καρκίνο του προστάτη.

Korbakis D, Gregorakis AK and Scorilas A. Clin Chem., 2009

Avgeris M, Stravodimos K and Scorilas A. Prostate, 2011

Επίπεδα έκφρασης του γονιδίου *KLK4* σε κύτταρα και ιστούς προστάτη



Τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου *KLK5* σχετίζονται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με το στάδιο της νόσου και με το Gleason score.

Variable	No. of patients	No. of patients (%)		p value
		<i>KLK5</i> - negative ^a	<i>KLK5</i> - positive ^a	
Patient Stage				
pT1	15	3 (20.0)	12 (80.0)	0.014^b
pT2	16	8 (50.0)	8 (50.0)	
pT3/pT4	20	14 (70.0)	6 (30.0)	
x	2			
Gleason score				
≤ 6	16	3 (18.8)	13 (81.3)	0.005^c
>6	34	22 (64.7)	12 (35.3)	
x	3			

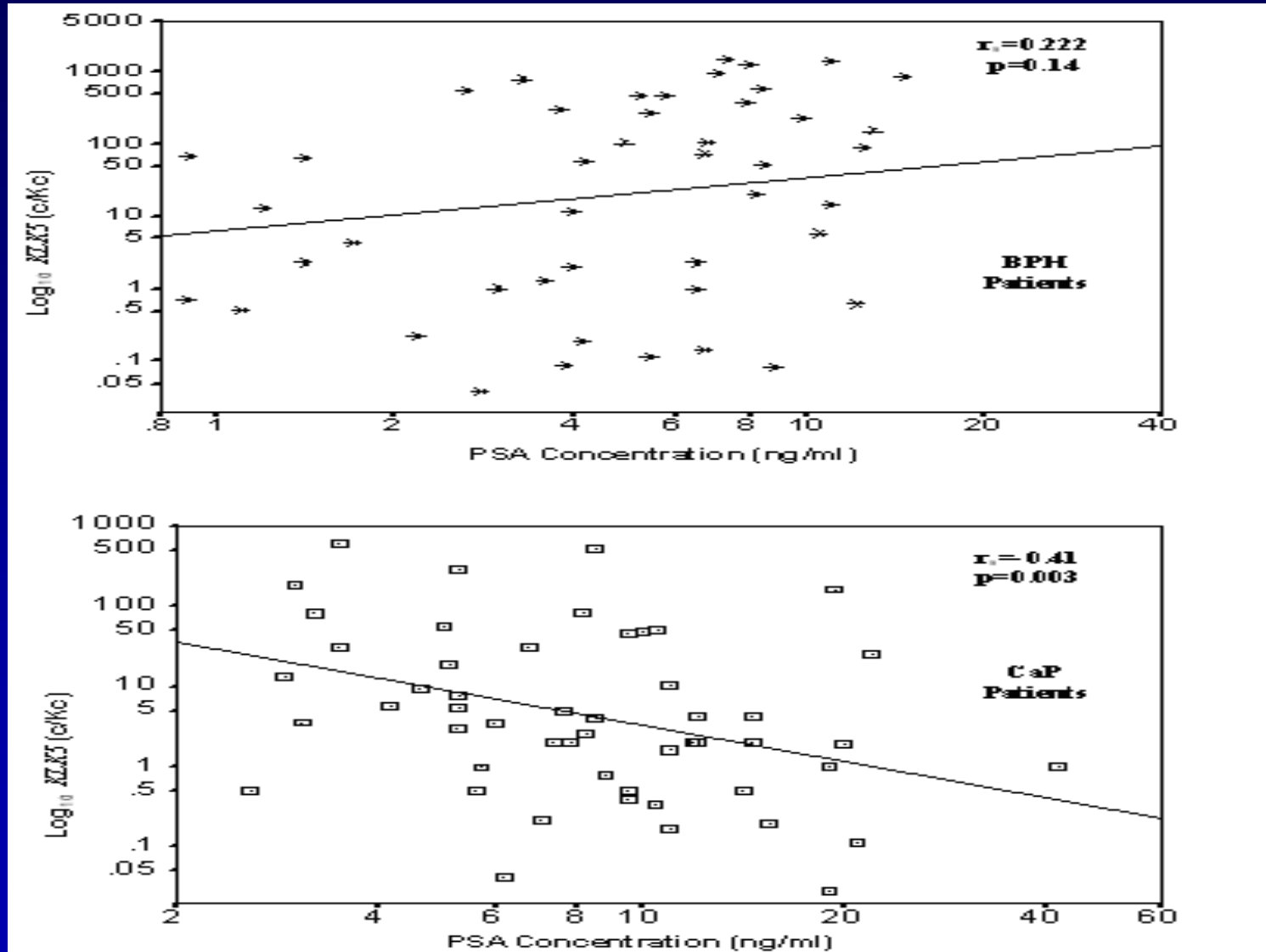
^a Cutoff = 3.50 c/Kc, equal to median

^b Calculated by Chi-Square Test

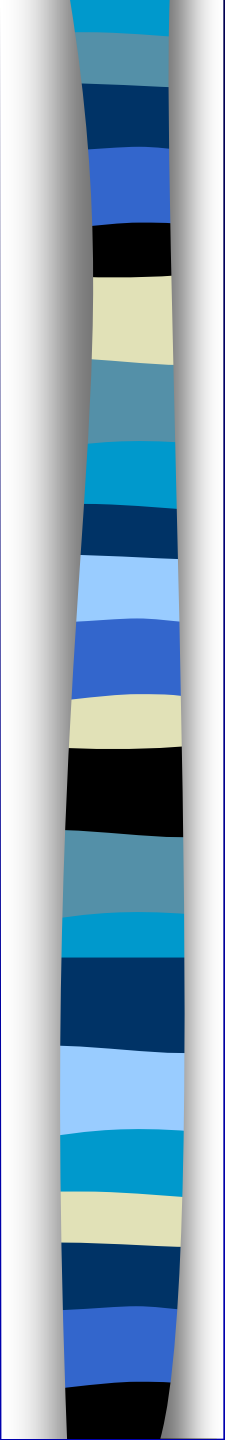
^c Calculated by Fisher's Exact Test

x: Unknown

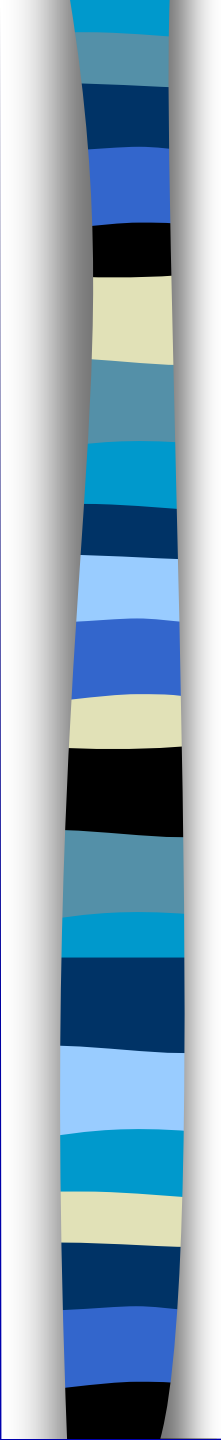
Τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου *KLK5* συσχετίζονται με το PSA στον καρκίνο του προστάτη αλλά όχι και στην καλοήγη προστατική υπερπλασία.



Οι Λευχαιμίες - Λεμφώματα



Λευχαιμίες

- 
- Ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός κακοήθους κλώνου που προέρχεται από τα άωρα κύτταρα των αιμοποιητικών σειρών.
 - Καταστολή της φυσιολογικής αιμοποίησης.
 - Ηπατοσπληνομεγαλία, αναιμία, αιμορραγίες, ευαισθητοποίηση στις λοιμώξεις.
 - Γενικευμένη νόσος.
 - 5-6/100.000 πληθυσμού ετησίως.
 - Συσχετισμός με ηλικία, φύλο, καταγωγή, γεωγραφικούς παράγοντες.
 - Αιτιολογικοί παράγοντες:
 - Ιονίζουσα ακτινοβολία.
 - Χημικά καρκινογόνα (βενζόλιο, αντινεοπλασματικά φάρμακα).
 - Γενετικοί παράγοντες (χρωμοσωμικές ανωμαλίες, κληρονομικές ανοσοανεπάρκειες).
 - Ογκογόνοι ιοί (HTLV,EBV)



Κατάταξη λευχαιμιών κατά FAB (Γαλλο-Βρετανο-Αμερικάνικη ομάδα)

1. Οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ- τύποι L1, L2, L3)
2. Οξεία μυελογενής λευχαιμία (ΟΜΛ)
 - I. Οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία (τύποι M1, M2)
 - II. Οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία (τύπος M3)
 - III. Οξεία μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (τύποι M4, M4E0)
 - IV. Οξεία μονοβλαστική λευχαιμία (τύπος M5α)
 - V. Οξεία προμονοκυτταρική λευχαιμία (τύπος M5β)
 - VI. Οξεία ερυθρολευχαιμία (τύπος M6)
 - VII. Οξεία μεγακαρυοβλαστική λευχαιμία (τύπος M7)
3. Χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ)
4. Χρόνια λεμφογενής λευχαιμία (ΧΛΛ)
5. Χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (ΧΜΜΛ)



Οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ)

- Εμφανίζεται συχνότερα σε άτομα μικρής ηλικίας και σε παιδιά που ζουν σε μεγάλες πόλεις με υψηλό επίπεδο διαβίωσης.
- Αποτελεί το 80-90 % των παιδικών κακοηθών νεοπλασμάτων.
- Διακρίνεται στην Β-ΟΛΛ και στην Τ-ΟΛΛ όπου το νεόπλασμα προέρχεται από τα κύτταρα της Β ή Τ σειράς αντίστοιχα.
- Πλήρης ύφεση στο 95% των παιδιών και στο 70-80 % των ενηλίκων μετά την πρώτη προσπάθεια αντιμετώπισης.
- Ύαση στο 70 % των παιδιών και στο 30 % των ενηλίκων.

Μοριακή Αιτιοπαθολογία:

- Χρωμοσωμικές αντιμεταθέσεις:
 - Β-ΟΛΛ : t(8:14), t(8:2), t(8:22)
 - Τ-ΟΛΛ : t(11:14)
 - Χρωμόσωμα Philadelphia: Αμοιβαία μετατόπιση μεταξύ των χρωμοσωμάτων 9 και 22 [t(9:22)].



Οξεία μυελογενής λευχαιμία (ΟΜΛ)

- Κλώνος άωρων κυττάρων του μυελού εκτός των λεμφοειδών.
- Συχνότερα μυελοειδής ή μονοκυτταρική σειρά.
- Συχνότερη εμφάνιση στους άνδρες, ενήλικες.
- 2-3/100.000 πληθυσμού
- Κύριες αιτίες θανάτου: λοιμώξεις, αιμορραγίες, τοξικότητα χημειοθεραπείας.
- Ίαση:
 - Χημειοθεραπεία 10-30%
 - Μεταμόσχευση μυελού 45-65%

Μοριακή Αιτιοπαθολογία:

- Χρωμοσωμικές αντιμεταθέσεις
- Ογκογονίδια
- Σημειακές μεταλλάξεις.



Χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ)

- Υπερπλασία όλων των κυτταρικών σειρών του μυελού.
- Μονοκλωνική νόσος.
- Χρόνια φάση και βλαστική κρίση (οξεία φάση).
- Συχνότερη εμφάνιση στους άνδρες, ενήλικες.
- Κύρια αιτία θανάτου : βλαστική κρίση (ομοιότητα με ΟΜΛ)
- Ίαση με μεταμόσχευση μυελού :
 - 50-70% των περιπτώσεων χρόνιας φάσης.
 - 10% των περιπτώσεων βλαστικής κρίσης.
- Χρωμόσωμα Philadelphia (Αιτιογενής παράγοντας στο 90% των περιστατικών).



Χρόνια λεμφογενής λευχαιμία (ΧΛΛ)

- Συσσώρευση φαινομενικά ώριμων λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα και διήθηση μυελού, σπλήνας, λεμφαδένων.
- Μονοκλωνική νόσος.

B-ΧΛΛ:

- Τυπική B-ΧΛΛ
- Προλεμφοκυτταρική λευχαιμία
- Λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα.

T-ΧΛΛ:

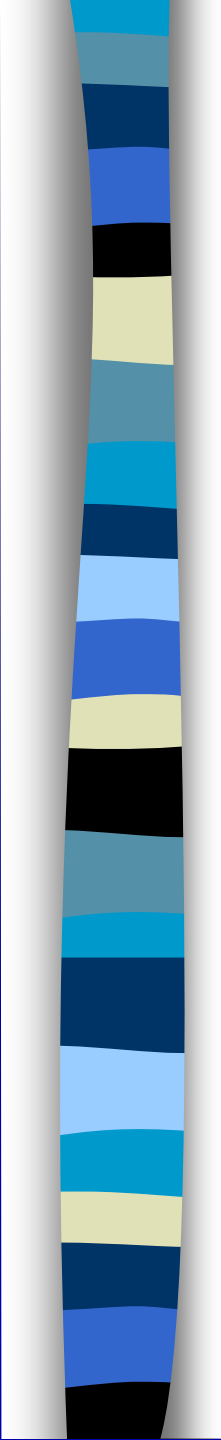
- T- λευχαιμία του ενήλικα
 - T-προλεμφοκυτταρική λευχαιμία
 - Σύνδρομο Sezary
- Συχνότερη εμφάνιση σε λευκούς, άνδρες, ηλικίες >50 χρ.
 - Μερική ύφεση με ελάττωση αριθμού λεμφοκυττάρων (χημειοθεραπεία, ακτινοβολία).



Διάγνωση και πρόγνωση λευχαιμιών

- Αιματολογικές εξετάσεις (π.χ. αριθμός και μορφολογία λευκών)
- Εξετάσεις μυελού
- **Καρκινικοί βιοδείκτες**
 - ✓ IL2R (Interleukin 2 Receptor, υποδοχέας της ιντερλευκίνης 2).
 - ✓ TK (Thymidine Kinase, κινάση της θυμιδίνης).
 - ✓ LDH (Lactic Dehydrogenase, γαλακτική αφυδρογονάση).
 - ✓ β2-μικροσφαιρίνη.
 - ✓ Φερριτίνη, λυσοζύμη.
 - ✓ Τελική δεοξυνουκλεοτιδυλοτρανσφεράση (TdT)
- **Συνάθροισμα αντιγόνων διαφοροποίησης** - cluster of differentiation antigens (CDs)

β₂ - μικροσφαιρίνη

- 
- Πρωτεΐνη MB 11800 Da.
 - Εντοπίζεται στην επιφάνεια όλων των εμπύρηνων κυττάρων και στα βιολογικά υγρά.
 - Ελαφριά αλυσίδα του συμπλόκου ιστοσυμβατότητας HLA.
 - Αύξηση συγκέντρωσης:
 - Νεφρική δυσλειτουργία
 - Ενεργοποίηση ανοσοποιητικού συστήματος
 - Κακοήθεις νεοπλασίες (κυρίως Β-λεμφοκύτταρα)
 - Τιμή αναφοράς : <2 μg/ml



Γαλακτική αφυδρογονάση (LDH)

- Κυτταροπλασματικό ένζυμο (οξειδωση γαλακτικού οξέος σε πυροσταφυλικό).
- Συγκέντρωση στους ιστούς= 500 X συγκέντρωση ορού.
- Τετραμερής δομή – Υπομονάδες H και M.
- Πέντε ισοένζυμα :
 - LD1 (H₄). Καρκινώματα γεννητικών οργάνων
 - LD2 (H₃M)
 - LD3 (H₂M₂)
 - LD4 (H₃M). Κακοήθεια,ομοιότητα με εμβρυϊκό ιστό.
 - LD5 (M₄). Κακοήθεια, ομοιότητα με εμβρυϊκό ιστό.
- Μέτρια αύξηση στη μυελογενή λευχαιμία
- Φυσιολογικά επίπεδα στη λεμφοκυτταρική λευχαιμία



Κινάση της θυμιδίνης (TK)

- Ένζυμο, μεταβολισμός νουκλεϊκών οξέων.
- Φωσφορυλίωση δεοξυθυμιδίνης σε μονοφωσφορική δεοξυθυμιδίνη.
- Δύο ισοένζυμα :
 - TK1. Κυτταροπλασματικό, εκφράζεται σε κύτταρα που πολλαπλασιάζονται, μεταβάλλεται ανάλογα με το ρυθμό σύνθεσης του DNA, προγνωστικός δείκτης σε λέμφωμα και λευχαιμία
 - TK2. Μιτοχονδριακό, σταθερή συγκέντρωση κατά τον κυτταρικό κύκλο.
- Τιμή αναφοράς : <5U/L.



Τελική δεοξυνουκλεοτιδυλοτρανσφεράση (TdT)

- Ένζυμο, μεταβολισμός νουκλεϊκών οξέων.
- DNA πολυμεράση
- Ενσωμάτωση νουκλεοτιδίων στο 3' άκρο χωρίς τη χρήση εκμαγείου.
- Απαντάται στα κύτταρα του θύμου αδένα και στα πρόδρομα κύτταρα των λεμφοκυττάρων στο μυελό των οστών.
- Αυξημένα επίπεδα στην ΟΛΛ και στη βλαστική κρίση της ΧΜΛ (ποσοστό 30%)
- Προσδιορισμός τύπου λευχαιμίας
- Παρακολούθηση αποτελεσματικότητας χορηγούμενης θεραπείας.



Λυσοζύμη (μουραμιδάση)

- Απαντάται στα λυσοσώματα και στα εξωκυτταρικά υγρά.
- Αντιβακτηριδιακή δράση.
- Παράγεται από κοκκιοκύτταρα και μονοκύτταρα, αλλά όχι από λεμφοκύτταρα.
- Αυξημένα επίπεδα στη μυελογενή (μονοκυτταρική) λευχαιμία.



Λεμφώματα

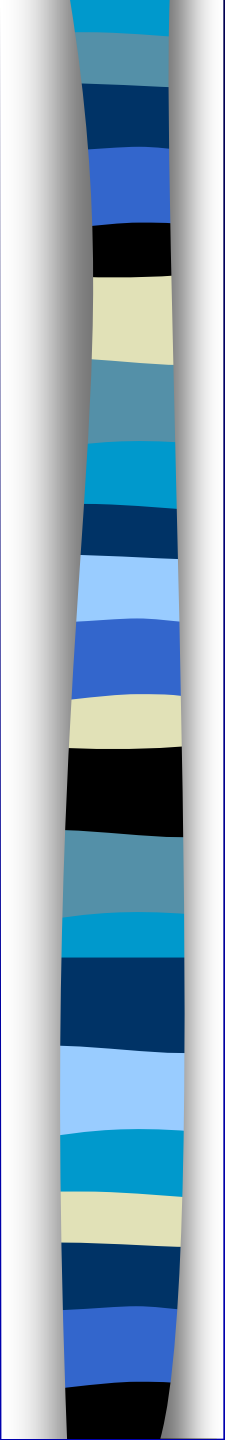
- Προέρχονται από τα κύτταρα του λεμφοδικτυωτού ιστού των λεμφαδένων.
- Λέμφωμα Hodgkin's, παρουσία κυττάρων Reed Sternberg, συχνότερο σε ηλικίες 15-30 & 50-70 ετών, σχετικά καλή πρόγνωση στα πρώτα στάδια αλλά και σε αρκετούς ασθενείς III ή IV σταδίου που ανταποκρίνονται στα χημειοθεραπευτικά σχήματα.
- Λέμφωμα no Hodgkin's, απουσία κυττάρων Reed Sternberg, συχνότερο σε ηλικίες >40 ετών, δυσμενέστερη, σε σχέση με το Λέμφωμα Hodgkin's, πρόγνωση.



Λεμφώματα (συνέχεια)

- 4% όλων των κακοηθειών
- Κλινικές διαγνωστικές ενδείξεις: Ανώδυνη διόγκωση περιφερικών λεμφαδένων, πυρετός, νυχτερινός ιδρώτας, σπληνομεγαλία, απώλεια βάρους.
- Διάγνωση: Αφαίρεση του διογκωμένου λεμφαδένα και παθολογοανατομικός έλεγχος.
- Εργαστηριακές αναλύσεις: Γενική αίματος, ταχύτητα καθίζησης ερυθρών (ΤΚΕ), τρανσαμινάσες, Γαλακτική αφυδρογονάση, αλκαλική φωσφατάση, ασβέστιο ορού, ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ορού.

ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ





Ορισμός

Κάθε παράμετρος που βρίσκεται στα καρκινικά κύτταρα ή παράγεται από τον υγιή οργανισμό ως απάντηση στην παρουσία του όγκου και μπορεί να μετρηθεί ποσοτικά, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με τη νόσο.



ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

- ✓ Έγκαιρη διάγνωση της κακοήθειας.
- ✓ Ικανότητα διαφορικής διάγνωσης.
- ✓ Εκτίμηση της βιοχημικής φύσης του όγκου και κλινική σταδιοποίηση/ταξινόμησή του.
- ✓ Ικανότητα πρόγνωσης.
- ✓ Παρακολούθηση και αξιολόγηση της θεραπείας.
- ✓ Έλεγχος μεταστάσεων.

Κατηγορίες Καρκινικών βιοδεικτών

Μόρια που έχουν χαρακτηριστεί ως καρκινικοί βιοδείκτες είναι:

- ❖ **Ένζυμα**, όπως το ειδικό προστατικό αντιγόνο - prostate-specific antigen (PSA), η όξινη προστατική φωσφατάση - prostatic acid phosphatase (PAP), τα ισοένζυμα της αλκαλικής φωσφατάσης - alkaline phosphatase (ALP), και τα ισοένζυμα της γαλακτικής αφυδρογονάσης - lactic dehydrogenase ή (LDH).
- ❖ **Ορμόνες**, όπως η ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη – human chorionic gonadotropin (HCG).
- ❖ **Αντιγόνα καρκινικών κυττάρων**: Καρκινικά αντιγόνα (μεγάλου μοριακού βάρους βλεννοπρωτεΐνες) – cancer antigens (CA), όπως το CA125, το CA19-9 και το CA15-3.
- ❖ **Αντιγόνα που αντιστοιχούν στο εμβρυϊκό στάδιο της εξέλιξης**, όπως το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο – carcinoembryonic antigen (CEA) και η α-εμβρυϊκή πρωτεΐνη – alpha-fetoprotein (AFP).

Κατηγορίες Καρκινικών βιοδεικτών (1)

- ❖ **Συνάθροισμα αντιγόνων διαφοροποίησης** - cluster of differentiation antigens (CDs), όπως τα CD17, CD44, CD31 κ.ά.
- ❖ **Υποδοχείς ορμονών**, όπως οι υποδοχείς οιστραδιόλης (estrogen receptors, ER) και προγεστερόνης (progesterone receptors, PR) στον καρκίνο του μαστού.
- ❖ **Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια** όπως το *HRAS*, το *KRAS* το *MYC*, το *ERBB2* και το *TP53*.

Ιδιότητες ιδεατού καρκινικού δείκτη

- ✓ Υψηλή ευαισθησία.
- ✓ Υψηλή ειδικότητα.
- ✓ Υψηλή διαγνωστική ή προγνωστική αξία θετικού αποτελέσματος.
- ✓ Υψηλή αποτελεσματικότητα.
- ✓ Αντιστοιχία των μεταβολών του στα βιολογικά υγρά με την παρουσία μεταστάσεων, την πορεία της νόσου και την ανταπόκριση στη θεραπευτική αγωγή.
- ✓ Μη ανιχνεύσιμος σε υγιή άτομα και σε καλοήθεις καταστάσεις.
- ✓ Σταθερότητα των επιπέδων του στα βιολογικά υγρά.
- ✓ Φθηνός, εύκολος προσδιορισμός και δυνατότητα αυτοματοποίησης.
- ✓ *Ιδεατός καρκινικός δείκτης ακόμη δεν έχει βρεθεί και η έρευνα για ανακάλυψη νέων μοριακών δεικτών καρκίνου βρίσκεται σε εξέλιξη.*

Καρκινικοί βιοδείκτες κατά εντόπιση (1)

- **Μαστός:** Τα καρκινικά αντιγόνα **CA15-3**, **CA27.29**, **CA125**, **CA549**, **CA50**, το **MSA** (Αντιγόνο στον ορό ασθενών με καρκίνο μαστού, Mammary Serum Antigen), το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο **CEA**, το ιστικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο **TPA**, το ειδικό πολυπεπτιδικό αντιγόνο των ιστών **TPS**, οι υποδοχείς οιστρογόνων (**ER**), προγεστερόνης (**PR**), και επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (**EGF-R/c-erbB1**), το ογκογονίδιο **ERBB2** (c-erbB2/Her2/neu), τα γονίδια **BRCA1** και **BRCA2**.
- **Προστάτης :** **PSA** (prostate specific antigen, ειδικό προστατικό αντιγόνο), **fPSA**, **PAP** (prostatic acid phosphatase, όξινη προστατική φωσφατάση), **PCA3** (lncRNA), **PSMA**, **TPA**.
- **Ωοθήκη:** **CA 125** (ο κυριότερος δείκτης), human epididymis protein 4, **HE4**, **CASA** (Αντιγόνο στον ορό ασθενών με καρκίνο ωοθήκης, Cancer Associated Serum Antigen), τα γονίδια **BRCA1** και **BRCA2**, **CA15-3**, **CA 72-4**, **CEA**, **AFP**, **hCG**, **TPA**.
- **Μήτρα:** **CEA**, **SCC**, **TPA**.
- **Τράχηλος μήτρας:** **SCC**, **CEA**, **HPV** (human papilloma virus, ιός του ανθρώπινου θηλώματος), **hCG**.

Καρκινικοί βιοδείκτες κατά εντόπιση (2)

- **Νεοπλασίες αίματος και λεμφικού συστήματος, λεμφώματα:** β2-μικροσφαιρίνη, φερριτίνη, LDH (lactate dehydrogenate, γαλακτική αφυδρογονάση), ΤΚΕ (ταχύτητα καθίζησης ερυθρών), IL-2R (interleukin 2 receptor, υποδοχέας της ιντερλευκίνης 2), TK (thymidine kinase, κινάση της θυμιδίνης), λυσοζύμη, CDs (Cluster of Differentiation Antigens, Συστάδες αντιγόνων διαφοροποίησης)
- **Πνεύμονας, βρόγχοι:** CEA (carcino embryonic antigen, καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο), NSE (neuron-specific enolase, ειδική νευρωνική ενολάση), SCC (squamous cell carcinoma antigen, καρκινικό αντιγόνο του πλακώδους κυττάρου), SYFRA 21-1 (κλάσμα της κυτταροκερατίνης 19, CK19), CA 50, TK, EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), **μεταλλάξεις** των γονιδίων ROS1, RET, BRAF, MET, KRAS G12C, ALK, βιοδείκτες ανοσοθεραπείας (PD1, PD-L1 - Programmed Death-Ligand 1).
- **Στόμαχος :** CA195, TAG-72 (tumor associated glycoprotein), CA19-9, CEA, CA72-4, AFP (alpha fetoprotein, α-εμβρυϊκή πρωτεΐνη), SCC, TPA, CA 50, γαστρίνη, HER2, EGFR, PD1, PD-L1, MSI-H (Microsatellite Instability), dMMR (Deficient Mismatch Repair).

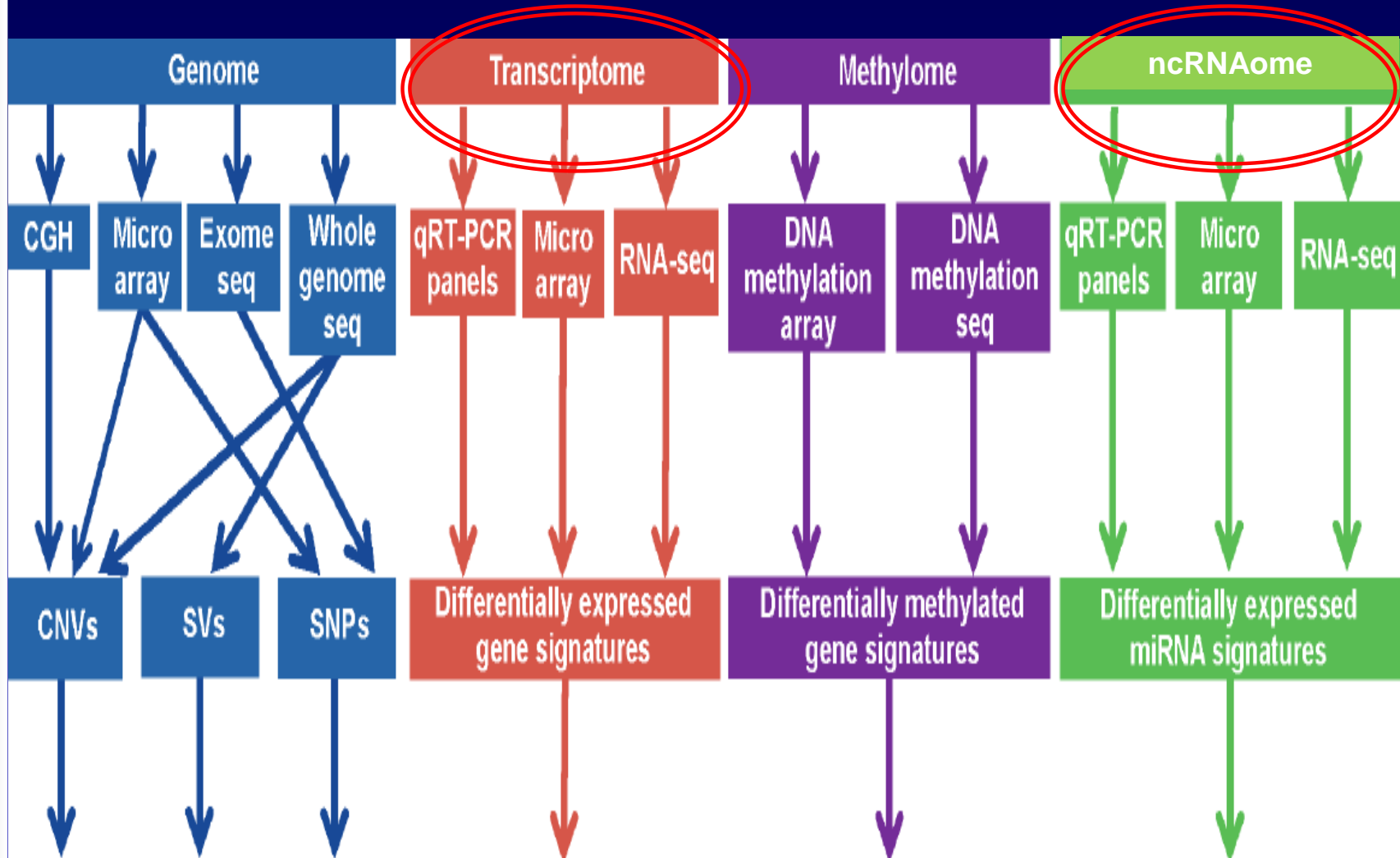
Καρκινικοί βιοδείκτες κατά εντόπιση (3)

- **Ήπαρ:** **AFP**, CEA, TPA, φερριτίνη, GGT (γ-glutamyltransferase, γ-γλουταμυλο τρανσφεράση, ALP (alkaline phosphatase, αλκαλική φωσφατάση), LDH.
- **Νεφροί :** GPT, gGT, TPE.
- **Πάγκρεας:** **CA19-9**, CEA, CA195, AFP, hCG (human chorionic gonadotrophin, ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη), TPA, CA50, γαστρίνη.
- **Παχύ έντερο-ορθό:** **CEA**, CA19-9, CA195, CA 50, TPA, CA72-4, **MSI-H/dMMR**, μεταλλάξεις των γονιδίων **KRAS, NRAS, BRAF**.
- **Όρχεις:** **HGC, AFP**, NSE, SP-1 (pregnancy-specific protein 1, ειδική πρωτεΐνη της εγκυμοσύνης), CEA, TPA.
- **Ουροδόχος κύστη:** **BTA** (bladder tumor antigen), CASA, CA50, TPA, CEA, το μεγάλο μη κωδικό μόριο RNA **UCA1** (Urothelial Cancer Associated 1)

Καρκινικοί βιοδείκτες κατά εντόπιση (4)

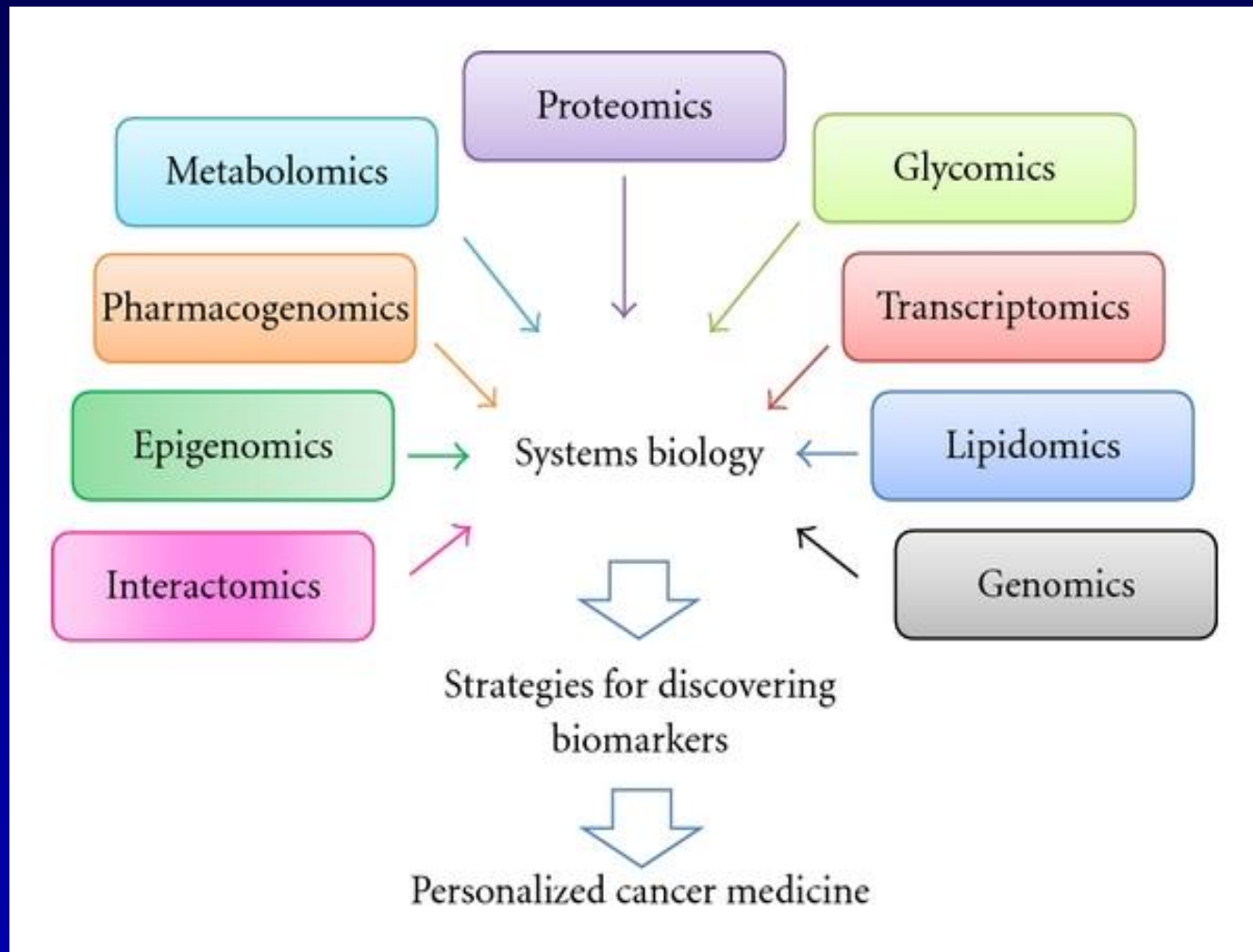
- *Κεφαλή και τράχηλος: SCC, CEA.*
- *ΩΡΛ: SCC, TSA (total sialic acid, ολικό σιαλικό οξύ), LSA (ή LASA : lipid-associated sialic acid, δεσμευμένο με λιπίδια σιαλικό οξύ), CEA.*
- *Οισοφάγου: SCC, CEA, CA19-9, AFP.*
- *Οστεοσάρκωμα: ALP.*
- *Πολλαπλό μυέλωμα: ΤΚΕ, ανοσοσφαιρίνες.*
- *Μελάνωμα: Μελανίνη ούρων.*
- *Σάρκωμα Erwing: LDH, ΤΚΕ*
- Καρκίνος ενδοκρινών αδένων:
- *Θυρεοειδής: Θυρεοσφαιρίνη, Καλσιτονίνη, CEA.*
- *Υπόφυση: Προσδιορισμός των ορμονών Προλακτίνη, ACTH, TSH, LH, FSH.*
- *Φαιοχρωματοκύττωμα: Επινεφρίνη, νορεπινεφρίνη, ντοπαμίνη, νευροπεπτίδιο Υ.*

Προσεγγίσεις για την ανακάλυψη νέων μοριακών βιοδεικτών καρκίνου



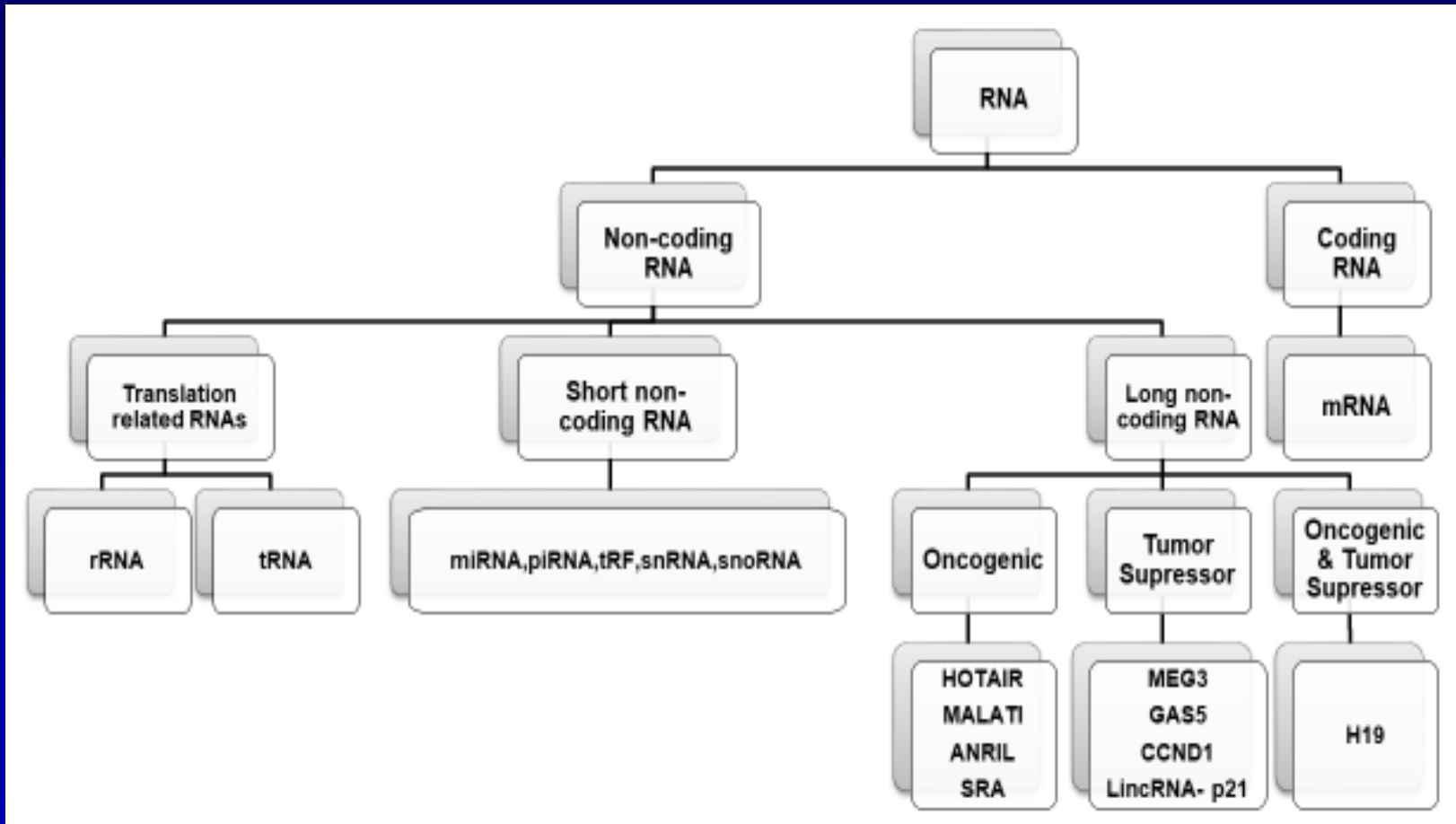
Ανακάλυψη βιοδεικτών για τη μοριακή ταξινόμηση, τη διάγνωση, την παρακολούθηση, την πρόγνωση και την ανταπόκριση σε θεραπεία των όγκων.

Ο «καταρράκτης» των -omics



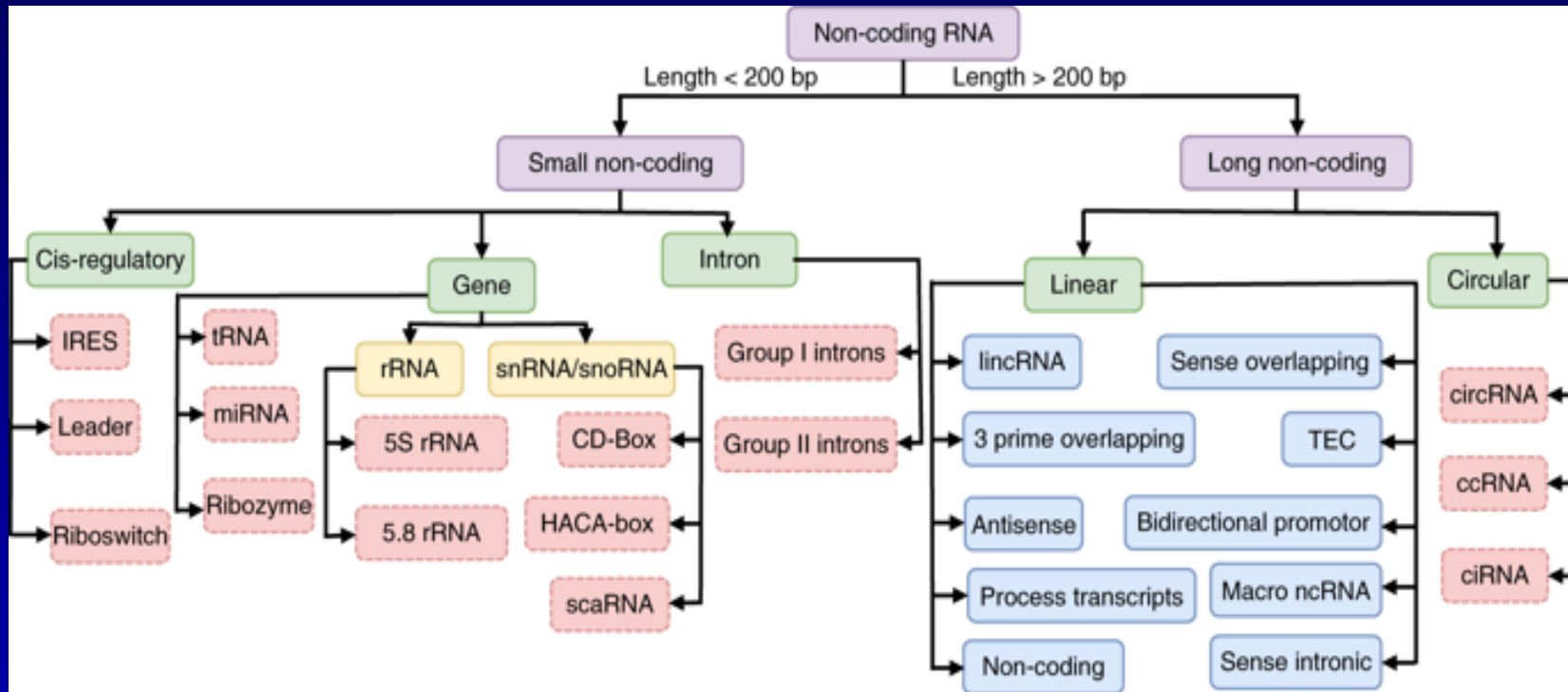
Μη κωδικά μόρια RNA (ncRNAs)

- Περισσότερο από το 80% του ανθρώπινου DNA είναι μεταγραφικά ενεργό
- Ωστόσο, λιγότερο από το 3% κωδικοποιεί πρωτεΐνες
- Τα μη κωδικά μόρια RNA αποτελούν μη-μεταφραζόμενα σε πρωτεΐνες μετάγραφα RNA τα οποία μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε:



Μη κωδικά μόρια RNA (ncRNAs)

Τα μη κωδικά μόρια RNA μπορούν να κατηγοριοποιηθούν, ανάλογα με το μέγεθός τους, σε: **small ncRNAs (<200nt)** and **long ncRNAs (>200nt)**.



▶ Information

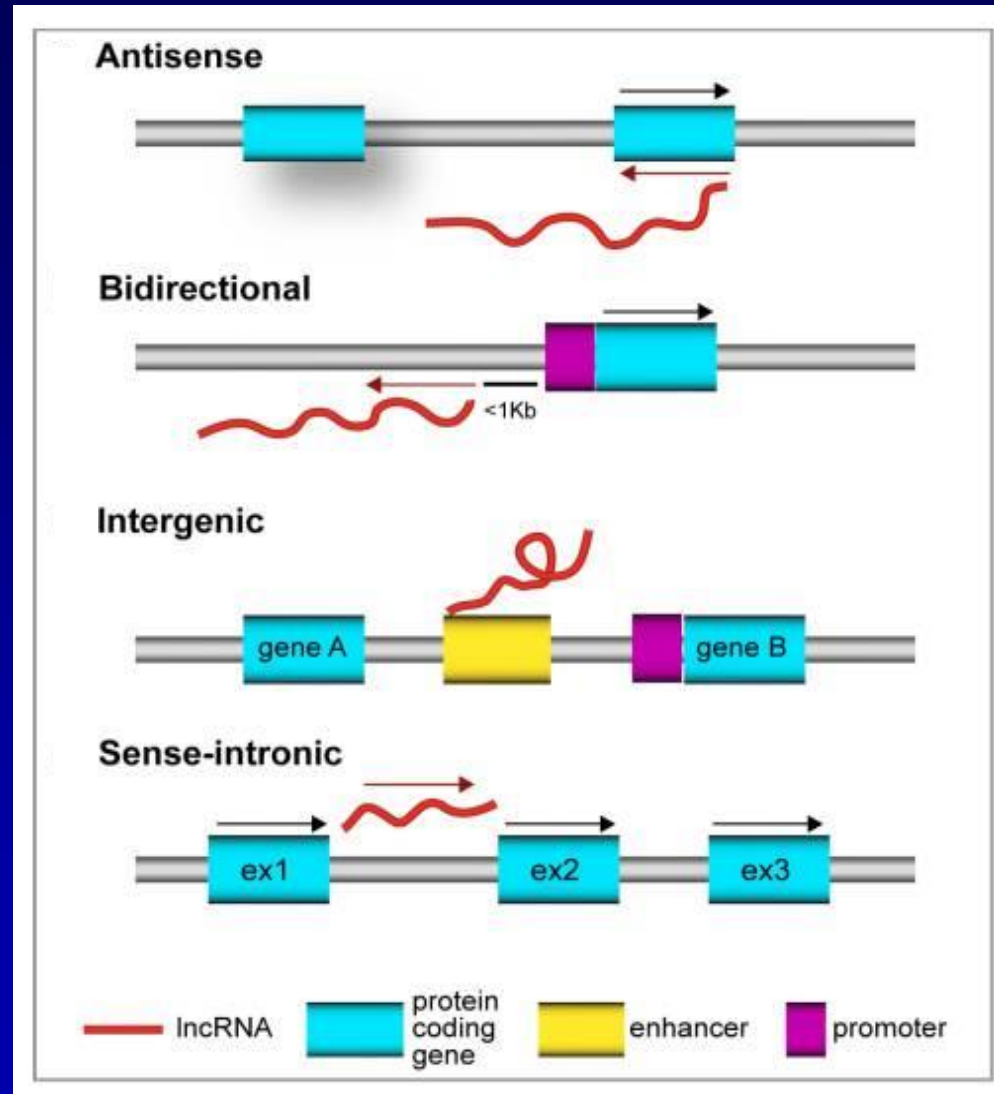
Μεγάλα μη κωδικά μόρια RNA (lncRNAs)

- ❖ Έχουν μήκος >200nt
- ❖ Μεταγράφονται από την RNA pol II και RNA pol III, όπου προκύπτουν αντίστοιχα πολυαδενυλιωμένα και μη πολυαδενυλιωμένα lncRNA
- ❖ Στερούνται ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης (open reading frame, ORF)
- ❖ Η πλειοψηφία των lncRNAs γονιδίων που έχουν εντοπιστεί αφορούν κυρίως lncRNAs που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες
- ❖ Περίπου το 20% της διαδικασίας της μεταγραφής ολόκληρου του ανθρώπινου γονιδιώματος σχετίζεται με γονίδια που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες
- ❖ Τα lncRNAs έχουν μήκος 4 φορές (τουλάχιστον) μεγαλύτερο από το μήκος των κωδικών αλληλουχιών του RNA

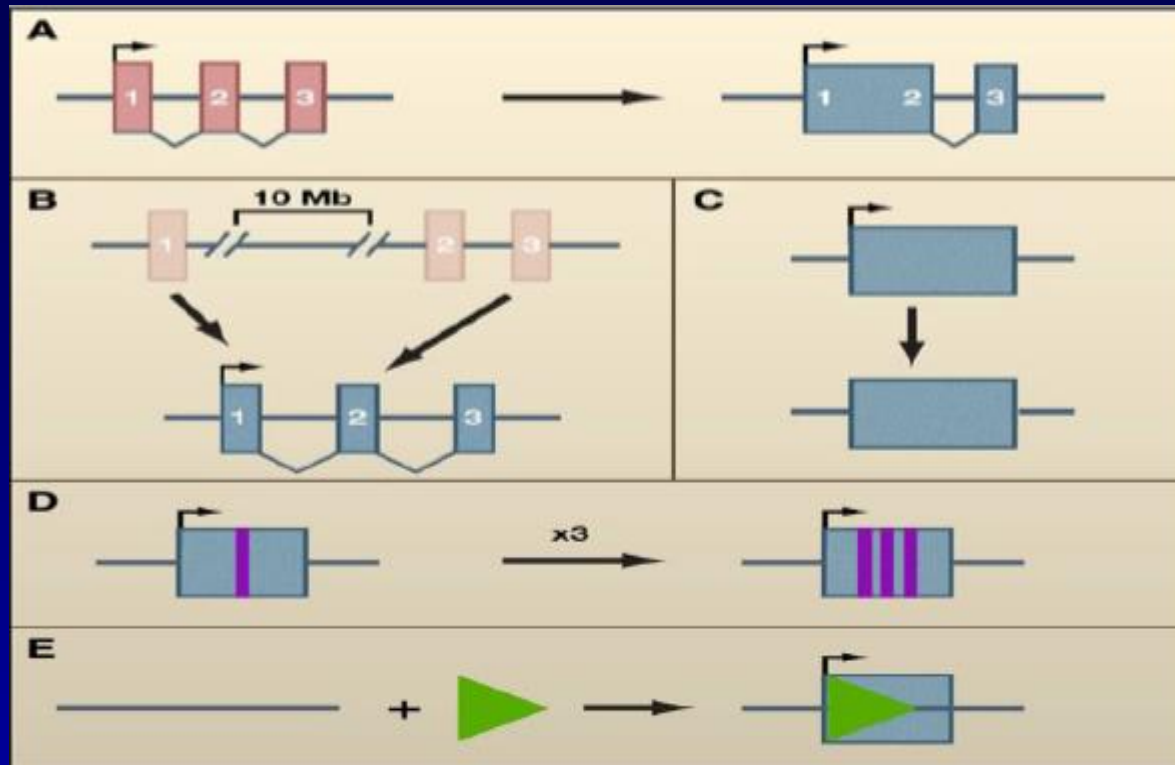
Μεγάλα μη κωδικά μόρια RNA (lncRNAs)

- ❖ Τα lncRNA ανήκουν σε μια από τις παρακάτω κατηγορίες:
 - Νοηματικό, όταν υπάρχει επικάλυψη με ένα ή περισσότερα εξώνια ενός μεταγράφου στον ίδιο κλώνο του DNA
 - Αντινοηματικό, όταν μεταγράφεται από τον αντίθετο κλώνο του DNA
 - Αμφίδρομο, όταν η αλληλουχία μεταγράφεται στον αντίθετο κλώνο από ένα γειτονικό κωδικοποιόν μετάγραφο, του οποίου το σημείο έναρξης της μεταγραφής εδράζεται σε απόσταση μικρότερη των 1000 bp
 - Ιντρονικό, όταν προέρχεται εξολοκλήρου από περιοχή εσωνίου χωρίς να υπάρχει επικάλυψη με εξώνια
 - Μεσογονιδιακό, όταν εντοπίζεται στην περιοχή μεταξύ 2 γονιδίων

Μεγάλα μη κωδικά μόρια RNA (lncRNAs)



Προέλευση lncRNAs



Προέλευση των lncRNAs: (A) Ένα γονίδιο που κωδικοποιεί πρωτεΐνη (ρόζ χρώμα) μετά από αλλαγές του πλαισίου ανάγνωσης μετατρέπεται σε ένα λειτουργικό non-coding RNA (μπλέ χρώμα) που ενσωματώνει μέρος της προηγούμενης κωδικοποιούσας αλληλουχίας. (B) Μετά τη χρωμοσωμική αναδιάταξη δύο μη-μεταγραφόμενες και σαφώς διαχωρισμένες περιοχές αντιπαρατίθενται και δημιουργούν ένα πολυεξωνικό, μη κωδικοποιόν RNA. (C) Διπλασιασμός, εξαιτίας ρετρομετάθεσης, ενός λειτουργικού γονιδίου που μεταγράφεται σε μη-κωδικό RNA μόριο. (D) Γειτονικές επαναλήψεις εντός ενός non-coding RNA είναι αποτέλεσμα 2 γεγονότων διαδοχικού διπλασιαμού. (E) Εισαγωγή ενός μεταθετού στοιχείου (πράσινο τρίγωνο) οδηγεί στη δημιουργία ενός λειτουργικού non-coding RNA.

Αποτελούν τα lncRNA μόρια μεταγραφικού θορύβου?

- ❖ Αν τα lncRNA ήταν αποτέλεσμα μεταγραφικού θορύβου:
 - Θα αναμέναμε ομοιόμορφη έκφραση μεταξύ διαφορετικών ιστών, και διαφορετικών εξελικτικών σταδίων
 - Θα αναμέναμε όμοιο ρυθμό μεταβολής της αλληλουχίας τους με άλλες αλληλουχίες, όπως για παράδειγμα των μεταθετών στοιχείων, τα οποία σχεδόν πάντοτε παρουσιάζουν ουδέτερη εξέλιξη

Μεγάλα μη κωδικά μόρια RNA (lncRNAs)

- ❖ Κλασικά long - non coding RNAs (lncRNA, lnRNAs): για παράδειγμα HOTAIR, XIST, MALAT1
- ❖ Long intergenic non-coding RNA (lincRNA)
- ❖ Ribosomal RNA (rRNA): 18S rRNA
28S rRNA
Μιτοχονδριακό 12S RNA
Μιτοχονδριακό 16S RNA
- ❖ RNA component of mitochondrial RNA processing endoribonuclease (RMRP)
- ❖ Ribonuclease P RNA component H1 (RPPH1)
- ❖ Telomerase RNA component (TERC)

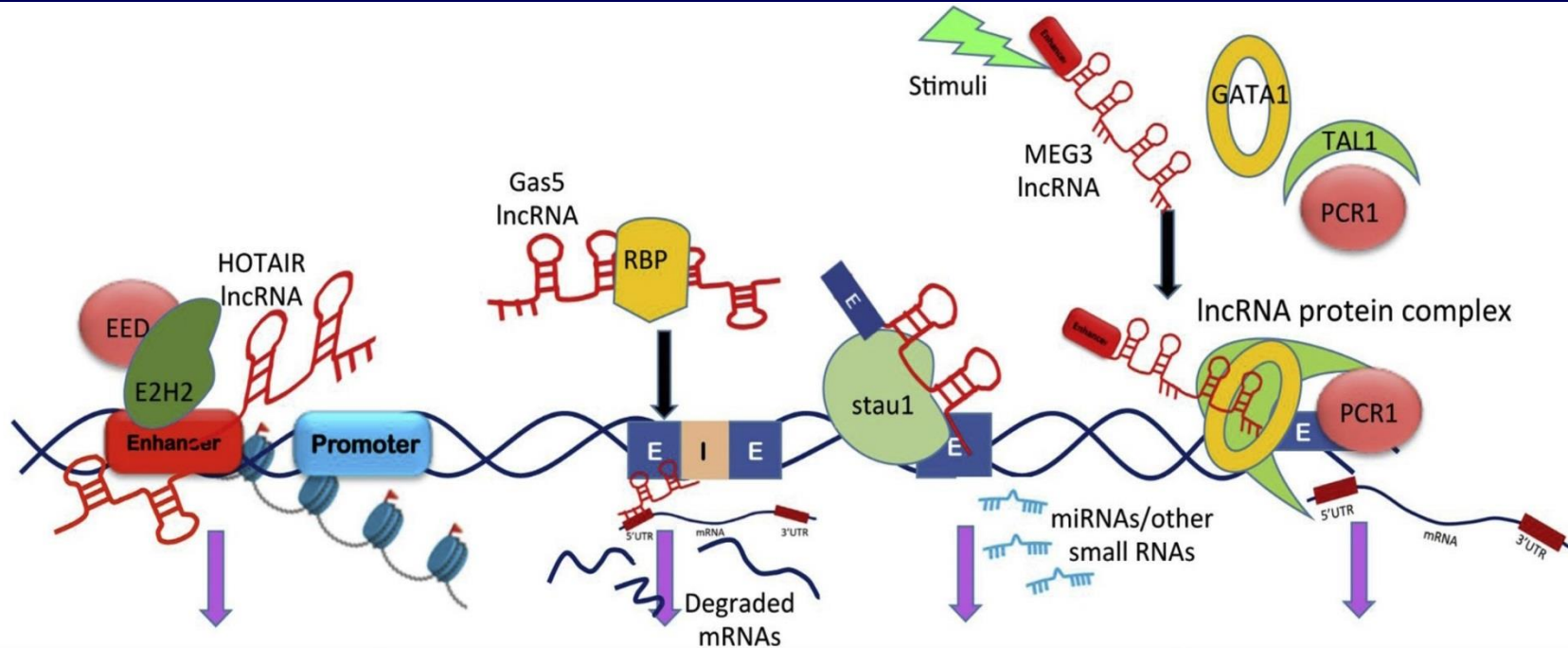
Φυσιολογικός ρόλος των lncRNAs

Τα lncRNAs εμπλέκονται σε ένα ευρύ φάσμα βιολογικών λειτουργιών **όπως:**

- ❖ αποτελούν δομικά συστατικά του πυρήνα
- ❖ στην κυτταρική ανάπτυξη
- ❖ στη κυτταρική διαφοροποίηση και τη νευρογένεση
- ❖ αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης
 - μεταγραφική ρύθμιση
 - μετα-μεταγραφική ρύθμιση
- ❖ στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης DNA
- ❖ στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση)
- ❖ στην επιγενετική ρύθμιση
- ❖ στην εναλλακτική συρραφή – ωρίμανση mRNA
- ❖ στη μετάφραση
- ❖ στη μετά-μεταφραστική των τροποποίησηση πεπτιδικών αλυσίδων

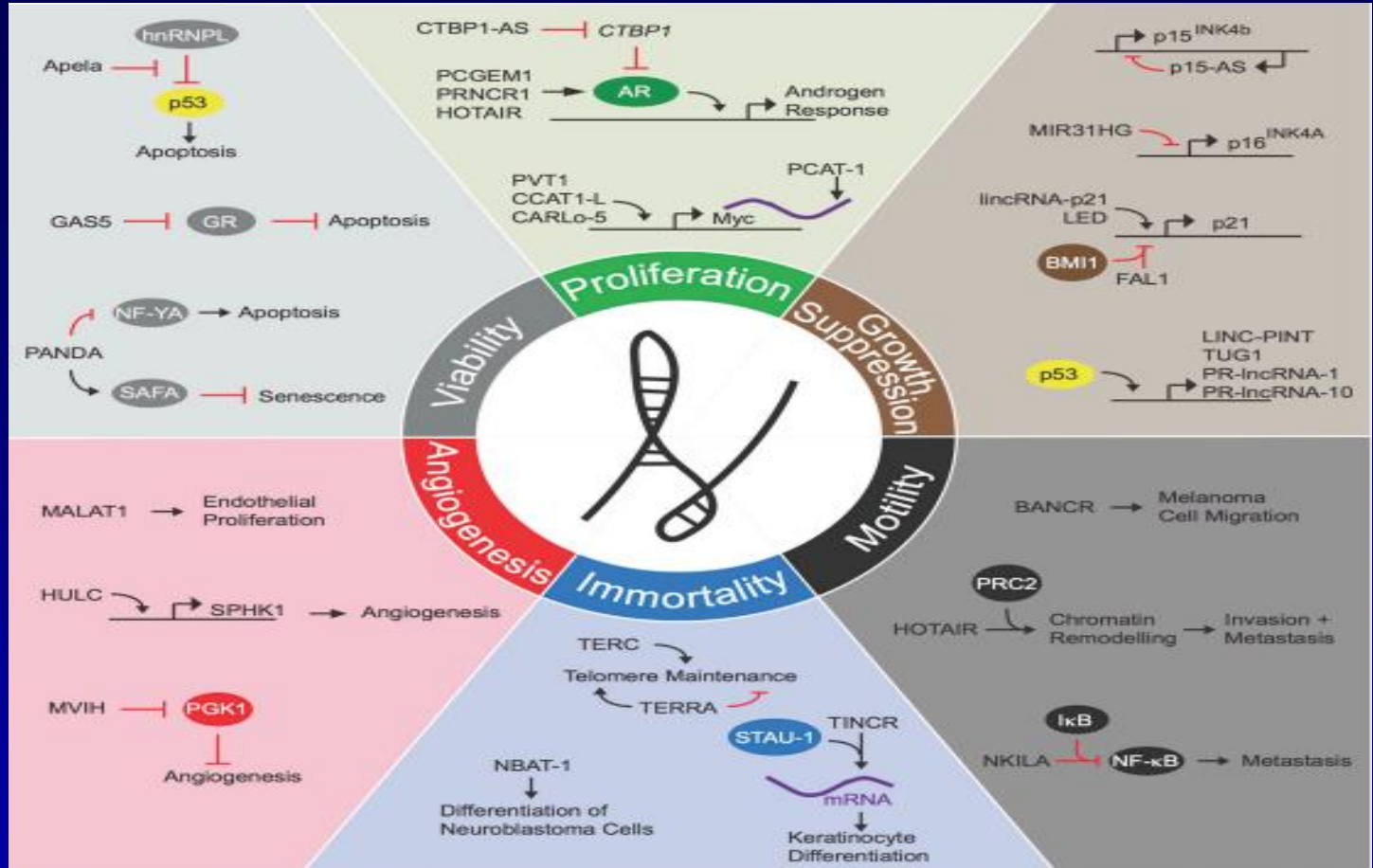
Συνεπώς εμπλέκονται ενεργά στις διαδικασίες κυτταρικής γήρανσης και παθογένειας διάφορων νόσων.

Φυσιολογικός ρόλος των lncRNAs



Scaffold	Decoy	Guide	Signal
Chromatin modification and epigenetic modification also recruitment of chromatin remodeler. e.g. HOTAIR, ANRIL, and PARTICLE etc.	Transcriptional inhibition / mRNA degradation and RNA-RNA interaction, transcriptional and translation inhibition. e.g. HOTTIP, GAS5, and KCNQ1OT1 etc.	Precursors of miRNAs and other small and medium RNAs or RNA Processing such as splicing, editing, turnover and miRNA sequestration. e.g. MALAT1, GAS5, XIST, FENDRR, and lncHSC1-2 etc.	Transcription/Translation activation for gene activation, modulation of miRNA regulation e.g. NRON, BAND, DLEU2, PACER, and lincRNA COX2

Λειτουργικός ρόλος των lncRNAs στον καρκίνο



Έχει βρεθεί ότι τα lncRNA εμπλέκονται σε βιολογικές διαδικασίες που σχετίζονται με την επιβίωση και την ανάπτυξη καθώς και την μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.

lncRNAs ως μοριακοί βιοδείκτες καρκίνου

❖ Διάγνωση:

1. Καρκινικό προστατικό αντιγόνο PCA3. Μέτρηση του mRNA του γονιδίου στα ούρα και υπολογισμός του PCA3 score (Εγκεκριμένο από τον FDA, 2012)
2. Ανίχνευση της έκφρασης του *UCA1* (Urothelial Carcinoma-Associated 1) σε ίζημα ούρων. Πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα για την έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως

❖ Πρόγνωση:

1. *HOTAIR*: Ισχυρός δυσμενής προγνωστικός δείκτης όσον αφορά την ελευθέρα νόσου και την ολική επιβίωση των ασθενών με καρκίνο του μαστού.
2. *MALAT1*: Υπερέκφραση σε μεταστατικούς όγκους μη-μικροκυτταρικού καρκινώματος του πνεύμονα αλλά και ανεξάρτητος βιοδείκτης δυσμενούς πρόγνωσης για τους ασθενείς με όγκους αρχικού σταδίου.

❖ Πρόβλεψη της ανταπόκρισης των ασθενών στην θεραπεία:

1. *XIST*: συσχέτιση με την ανταπόκριση στη θεραπεία σε ασθενείς με καρκίνο ωοθήκης.
2. Η έκφραση του *MALAT1* στο οστεοσάρκωμα, σχετίζεται με φτωχή ανταπόκριση στη θεραπεία.

lncRNAs ως θεραπευτικοί στόχοι ή ρυθμιστές

❖ Στόχοι για την ανάπτυξη νέων θεραπειών :

Κατασκευή του φορέα DNA BC-819 (DTA-H19), που φέρει το γονίδιο της τοξίνης της διφθερίτιδας A (DTA) υπό τον έλεγχο μεταγραφικών ρυθμιστικών αλληλουχιών του lncRNA H19.

Το πλασμίδιο BC-819 εκμεταλλεύεται την ιστοειδική έκφραση του H19 και λειτουργεί ως «δούρειος ίππος» για να σκοτώσει τα καρκινικά κύτταρα μέσω της έκφρασης της DTA. Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του BC-819 φορέα αξιολογείται σε τρέχουσες κλινικές δοκιμές και, μέχρι στιγμής, έχουν ολοκληρωθεί μελέτες φάσης I / II στον καρκίνο του παγκρέατος και της ουροδόχου κύστης.

❖ Ως ρυθμιστές:

Η siRNA-επαγόμενη επιλεκτική αποσιώπηση ορισμένων γονιδίων των lncRNA, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες (π.χ. αποσιώπηση του HOTAIR σε καρκινικά κύτταρα ήπατος οδηγεί σε αύξηση της ευαισθησίας τους, στη σισπλατίνη και τη δοξορουβικίνη).

Στόχευση ορισμένων αλληλεπιδράσεων miRNA-lncRNA αποτελεί μια νέα θεραπευτική στρατηγική.

Μικρά μη κωδικά μόρια RNA

- ❖ Μικρά πυρηνικά RNA (snRNA): RNU

7SK small nuclear RNA

Small ILF3/NF90-associated

RNA

- ❖ 7SL μικρά κυτταροπλασματικά μόρια RNA (scRNA)

- ❖ microRNAs (miRNAs)

- ❖ Piwi-interacting RNA (piRNA)

- ❖ Ριβοσωμικά RNA (rRNA): 5S rRNA

5.8S rRNA

- ❖ Μεταφορικά μόρια RNA (tRNA)

- ❖ Θραύσματα tRNA (tRF / tiRNA)

- ❖ Ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια (Vault RNA; vtRNA)

- ❖ Υ RNA (συστατικά του σωματιδίου ριβονουκλεοπρωτεΐνης Ro60)

- ❖ Θραύσματα RNA με λειτουργικό ρόλο

Μικρά μη κωδικά μόρια RNA

❖ Μικρά Πυρηνισκικά RNA

(snoRNA):

RNU (RNU3P1, RNU3P2, RNU3P3,
RNU3P4, RNU86, RNU105A, RNU105B,
RNU105C)

Small nucleolar RNA, A/B box (SNORA)

Small nucleolar RNA, C/D box (SNORD)

Small Cajal body-specific RNA (scaRNA)

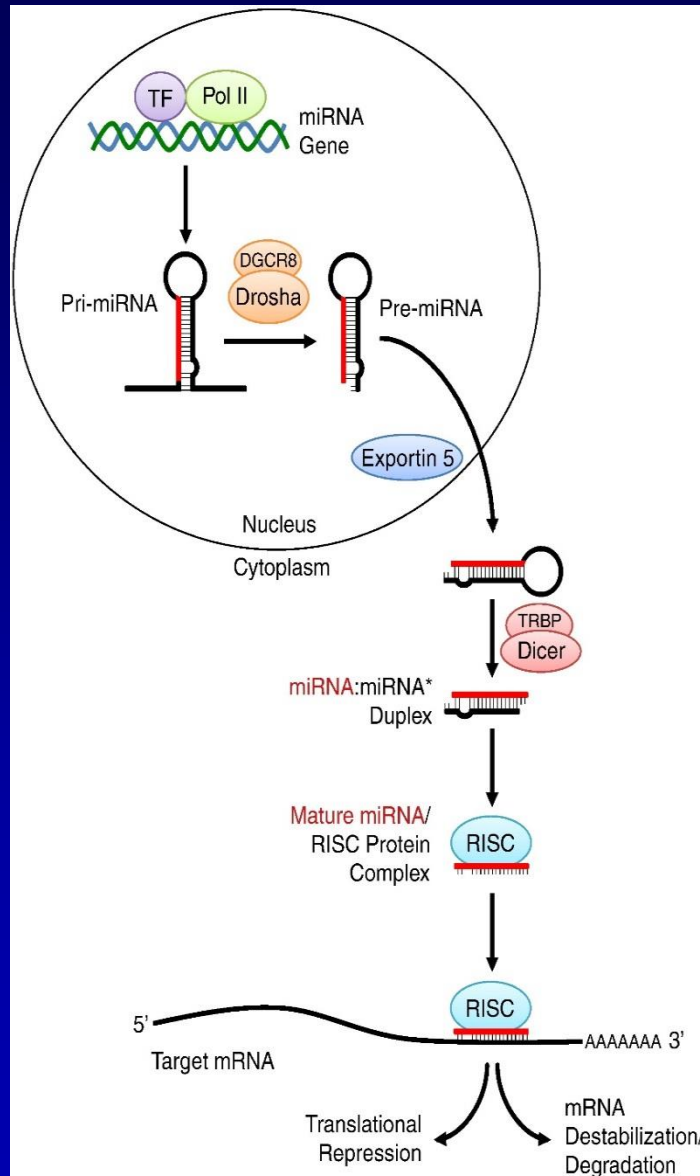
❖ Μη κωδικά μόρια RNA, τα οποία σχετίζονται με θέσεις έναρξης της μεταγραφής (Transcription Start Site; TSS) γονιδίων:

Μικρά RNA μόρια που σχετίζονται με τους υποκινητές γονιδίων (PASRs)

TSS-σχετιζόμενα RNAs (TSSa-RNAs),

Μετάγραφα ανοδικά του υποκινητή (PROMPTs)

microRNAs (miRNAs)



Information

Ενδογενή, μικρά, μη-κωδικά, ρυθμιστικά μόρια RNA.

Παράγονται μέσω μιας σχετικά πολύπλοκης βιοσυνθετικής πορείας που περιλαμβάνει αρκετά στάδια ωρίμανσης.

Ρυθμίζουν, σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο, την έκφραση πολυάριθμων γονιδίων που εμπλέκονται σε σημαντικές κυτταρικές διεργασίες από την κυτταρική διαφοροποίηση μέχρι την απόπτωση.

Μηχανισμοί Ρύθμισης

1. Αποικοδόμηση του mRNA στόχου
2. Αναστολή της μετάφρασης του mRNA στόχου

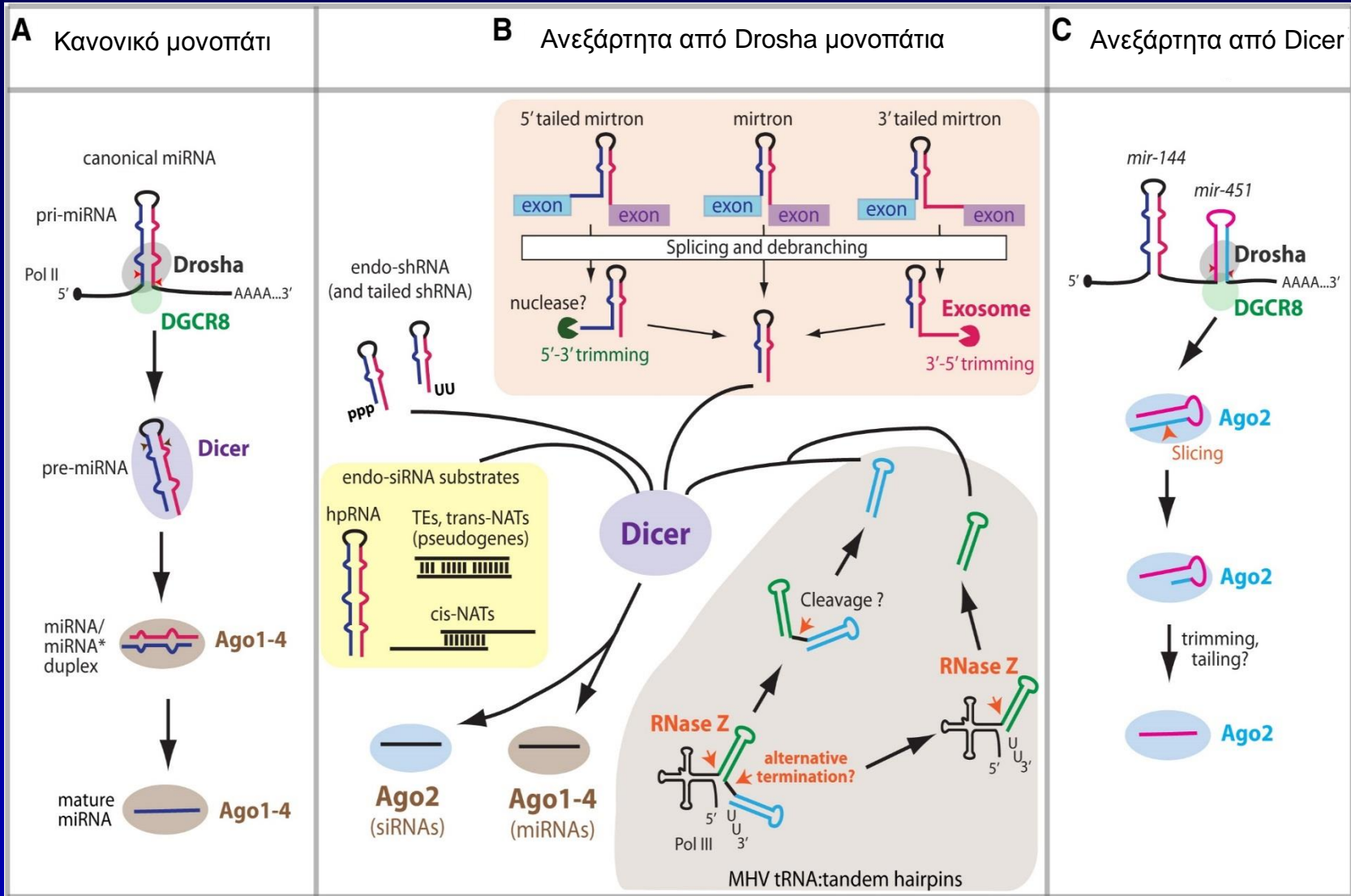
Ένα miRNA μπορεί να ρυθμίζει της έκφραση πολλών γονιδίων και ένα γονίδιο μπορεί να ρυθμίζεται από πολλαπλά miRNAs.



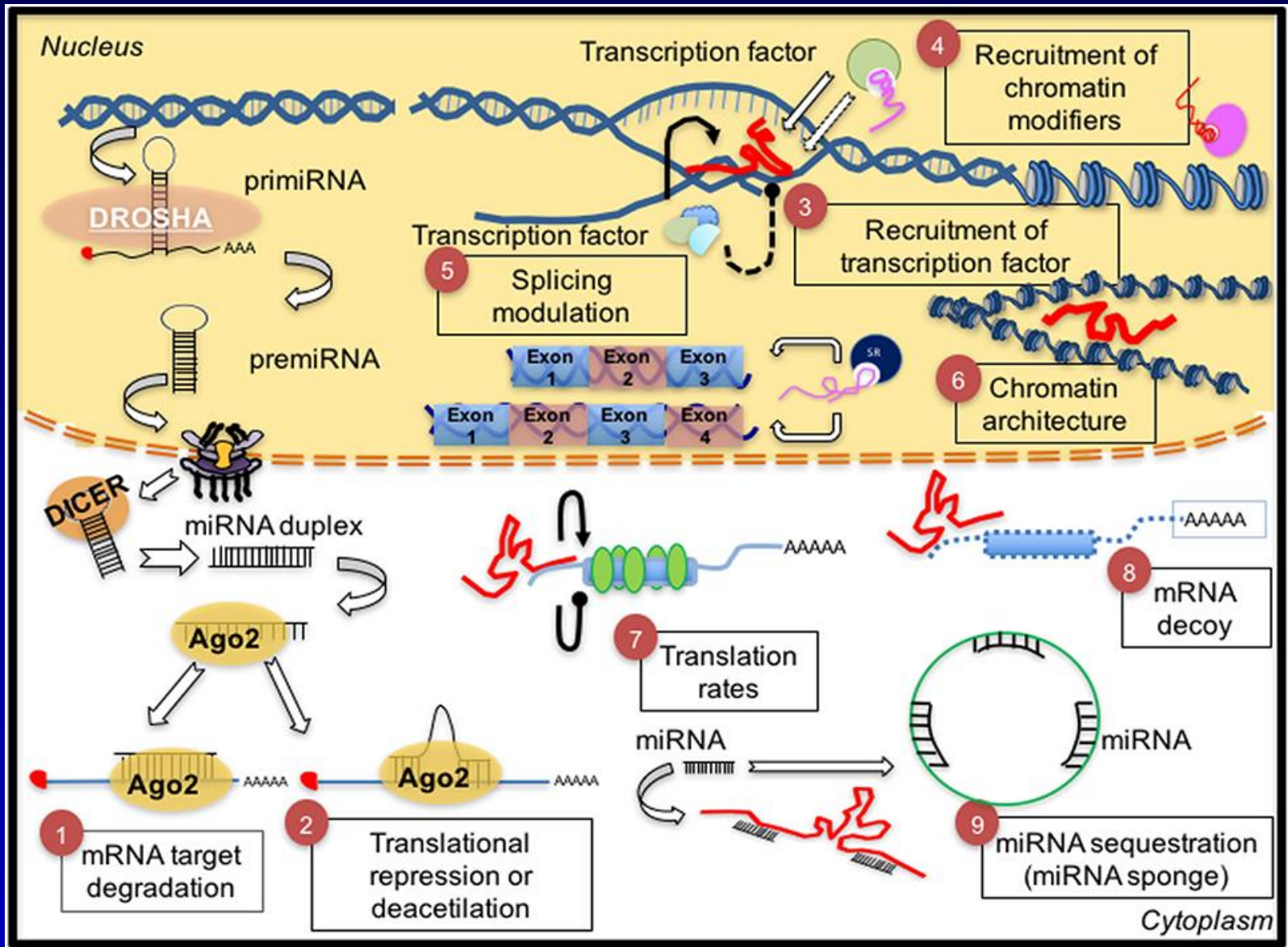
Βιοσύνθεση microRNA (miRNAs)

- ✓ Οικογένεια μικρών ρυθμιστικών μορίων RNA μήκους 21-25 νουκλεοτιδίων
- ✓ Τα miRNA γονίδια μεταγράφονται ως πρόδρομα μετάγραφα (pri-miRNA) από την RNA pol II, τα οποία υφίστανται 2 διαδοχικά στάδια ωρίμανσης – μέσω της δράσης συγκεκριμένων ριβονουκλεασών– για να προκύψει το λειτουργικό miRNA μόριο
- ✓ Προϊόντα έκφρασης γονιδίων που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες (non-coding genes)
- ✓ Τα γονίδια τους εντοπίζονται είτε μεμονωμένα είτε οργανωμένα σε συναθροίσεις (clusters) στο γονιδίωμα και εδράζονται σε:
 - Διαγονιδιακές περιοχές
 - Εσώνια γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (protein coding genes)
 - Εσώνια/εξώνια γονιδίων που κωδικοποιούν μόνο RNA (non-coding genes)
- ✓ Βιογένεση: Κανονικά και μη-κανονικά μονοπάτια βιοσύνθεσης των microRNA (miRNA)

Βιοσύνθεση microRNA (miRNAs)



Βιοσύνθεση microRNA (miRNAs)

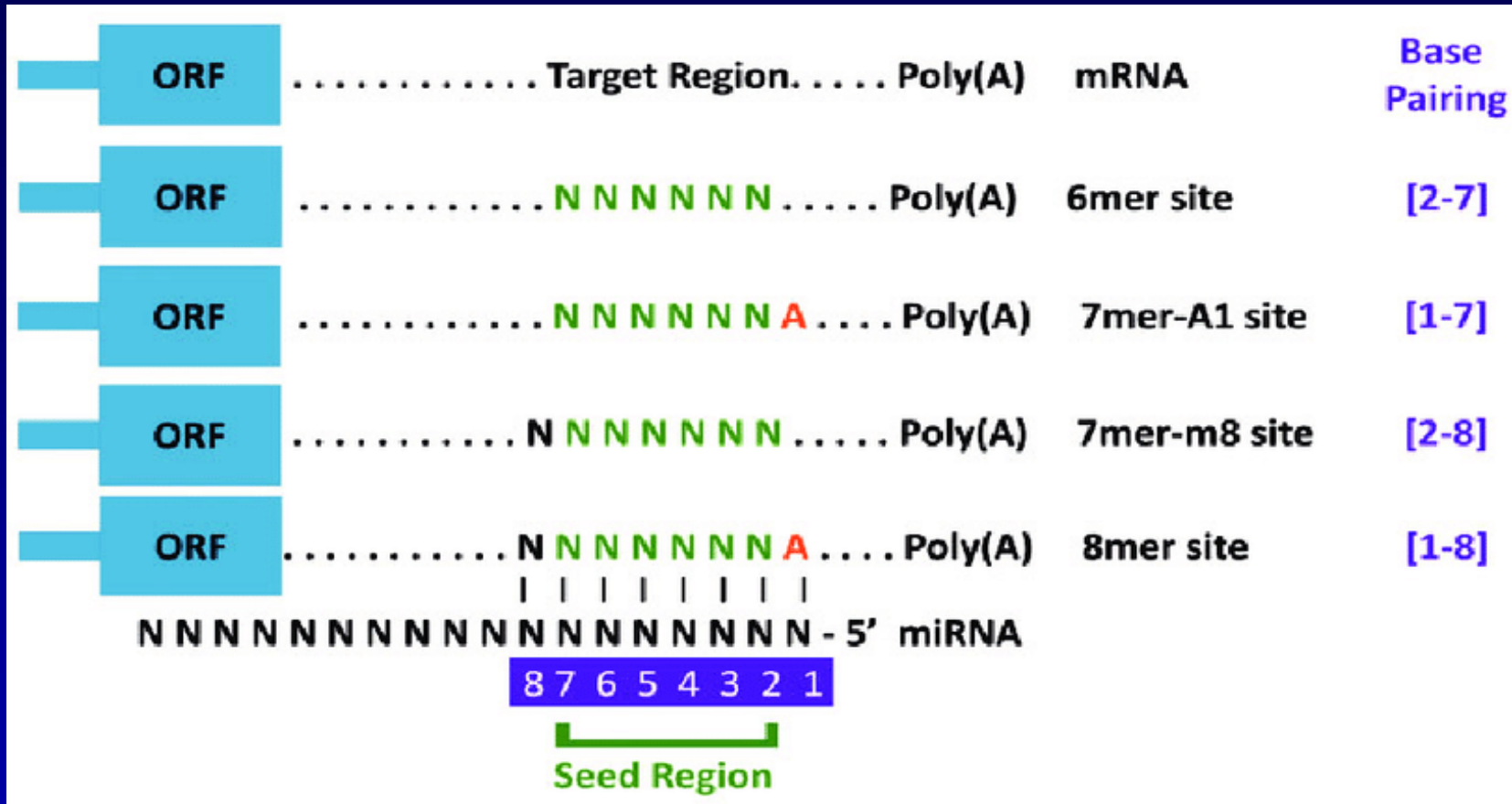




Δράση των microRNA

- Τα microRNA συνιστούν ρυθμιστές της έκφρασης των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο
- Τα ώριμα miRNA εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα ως συστατικά του ριβονουκλεοπρωτεϊνικού συμπλόκου RISC μέσω του οποίου επιτυγχάνεται η αποσιώπηση της έκφρασης των mRNA
- Στο RISC, τα miRNA λειτουργούν ως οι νουκλεοτιδικές αλυσίδες-οδηγοί που κατευθύνουν το σύμπλοκο σε συγκεκριμένες αλληλουχίες αναγνώρισης που εντοπίζονται στα mRNA των γονιδίων-στόχων τους, οι οποίες συνήθως εμφανίζουν μερική συμπληρωματικότητα
- Το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης είναι η καταστολή της μεταφρασης ή/και η αποσταθεροποίηση του mRNA

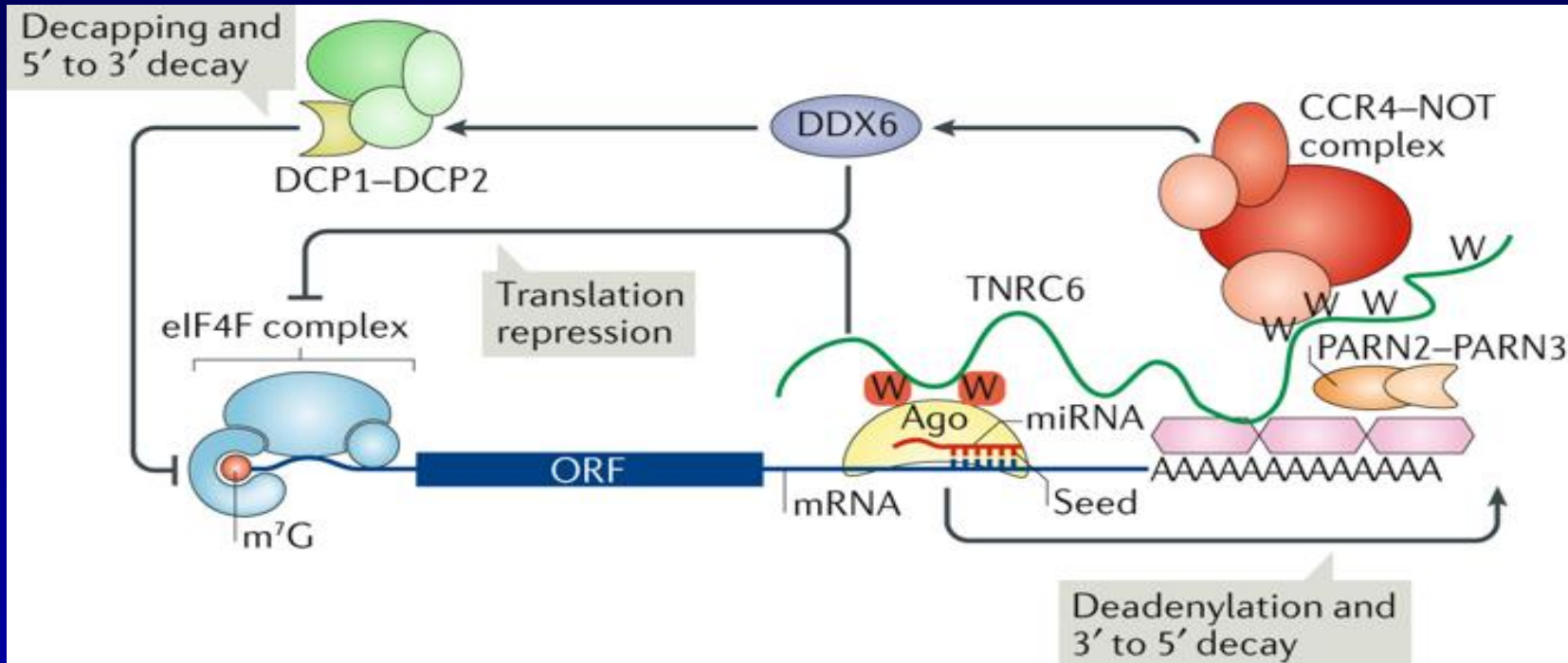
Δράση των microRNA



▶ Information

Τα miRNA αναγνωρίζουν τους mRNA-στόχους μέσω της αλληλεπίδρασης της αλληλουχίας 2-8 του 5'-άκρου τους (seed region) και των 3'-UTR των mRNA-στόχων. Συχνά, παρατηρείται και επιπλέον συμπληρωματικότητα των νουκλεοτιδίων 12-16 (ή και μεγαλύτερης περιοχής του 3'-ακρου των miRNA) η οποία σταθεροποιεί τη δέσμευση των miRNA στα mRNA-στόχους, ενισχύοντας τη ρυθμιστική τους δράση.

Πως αποσταθεροποιείται το μήνυμα RNA (mRNA)?



► Information

Μετά την αλληλεπίδραση του miRNA με το mRNA στόχο η Ago πρωτεΐνη του συμπλόκου miRISC στρατολογεί μια πρωτεΐνη μέλος της οικογένειας των TNRC6 (trinucleotide repeat containing gene 6) πρωτεϊνών. Τέτοιες πρωτεΐνες στερούνται προκαθορισμένης 3-ταγούς δομής και διαθέτουν πολλαπλές επαναλήψεις γλυκίνης-τρυπτοφάνης. Τα αμινοξικά κατάλοιπα τρυπτοφάνης της TNRC6 πρωτεΐνη απαιτούνται για την αλληλεπίδραση με την Ago πρωτεΐνη, αλλά απαιτούνται και για την αλληλεπίδραση με το σύμπλοκο αποαδενυλασών PARN2-PARN3 και CCR4-NOT που καταλύουν την αποαδενυλίωση του mRNA. Η αποαδενυλίωση του mRNA προκαλεί την στρατολόγηση του συμπλόκου DCP1-DCP2 μαζί με άλλες πρωτεΐνες με σκοπό την αφαίρεση της καλύπτρας [(m⁷G) cap] από το 5' άκρο του mRNA. Το μη προστατευμένο πλέον 5' άκρο του mRNA μπορεί να αποικοδομηθεί από την 5'-3' εξωριβονουκλεάση 1 (XRN1).

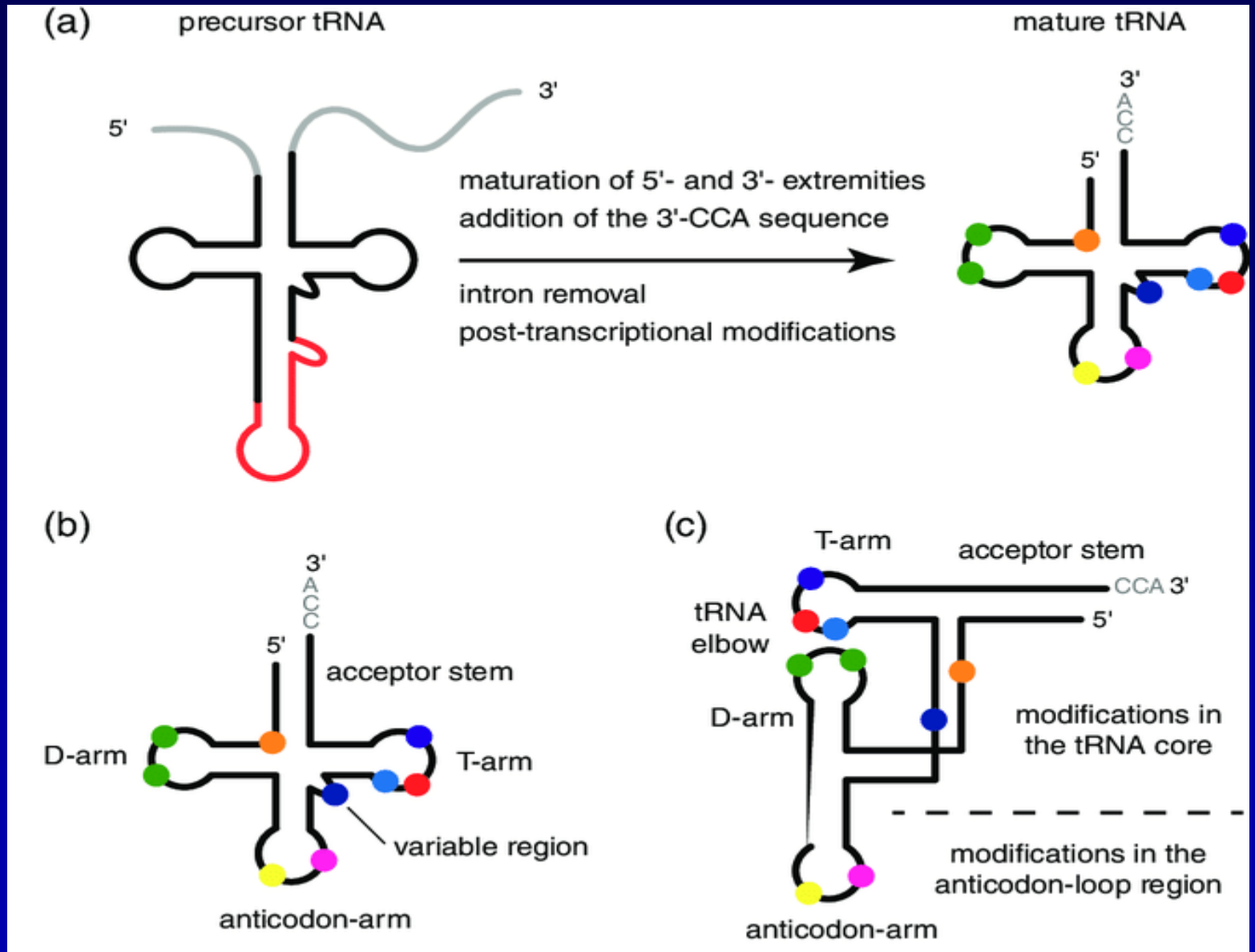
Βιοσύνθεση άλλων sncRNAs

- Το πρότυπο βιοσύνθεσης των miRNAs αποτελεί το πιο πολύπλοκο μονοπάτι σύνθεσης sncRNAs, καθώς στη βιοσύνθεση των άλλων υποκατηγοριών sncRNAs παραλείπονται βήματα
- Τα siRNAs προκύπτουν από δίκλινα RNAs, τα οποία υφίστανται τη δράση του ενζύμου dicer, ενώ δεν απαιτείται η επίδραση του ενζύμου Drosha.
- Τα riwiRNAs αποτελούν μια ομάδα μικρών μη κωδικών μορίων RNA, η βιοσύνθεση των οποίων ακολουθεί το γενικότερο πλάνο της σύνθεσης των miRNAs, με τη διαφορά ότι για τα riwiRNAs δεν εμπλέκεται η ριβονουκλεάση DICER
- Σε άλλες κατηγορίες sncRNA, όπως π.χ. τα tRFs, τα μόρια που συμμετέχουν στη βιογένεση τους δεν έχουν ταυτοποιηθεί πλήρως μέχρι τώρα

Βιοσύνθεση tRNA

- Τα tRNA γονίδια μεταγράφονται από την RNA pol III ως πρόδρομα tRNA (pre-tRNA)
- Η RNase P είναι υπεύθυνη για την ωρίμανση του 5' άκρου του ώριμου tRNA
- Η RNase Z είναι υπεύθυνη για την ωρίμανση του 3' άκρου του ώριμου tRNA
- Στο 3' άκρο των ώριμων tRNA η νουκλεοτιδική τρανσφεράση καταλύει τη προσθήκη της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας CCA η οποία είναι απαραίτητη για τη λειτουργικότητα του tRNA
- Τα ώριμα tRNA υφίστανται πλήθος μετά-μεταγραφικών τροποποιήσεων στις νουκλεοτιδικές βάσεις της αλληλουχίας τους

Βιοσύνθεση tRNA





Θραύσματα RNA προερχόμενα από tRNA (tRNA-derived RNA fragments -tRFs)

Ενδογενή, μικρά, μη-κωδικά, ρυθμιστικά μόρια RNA.

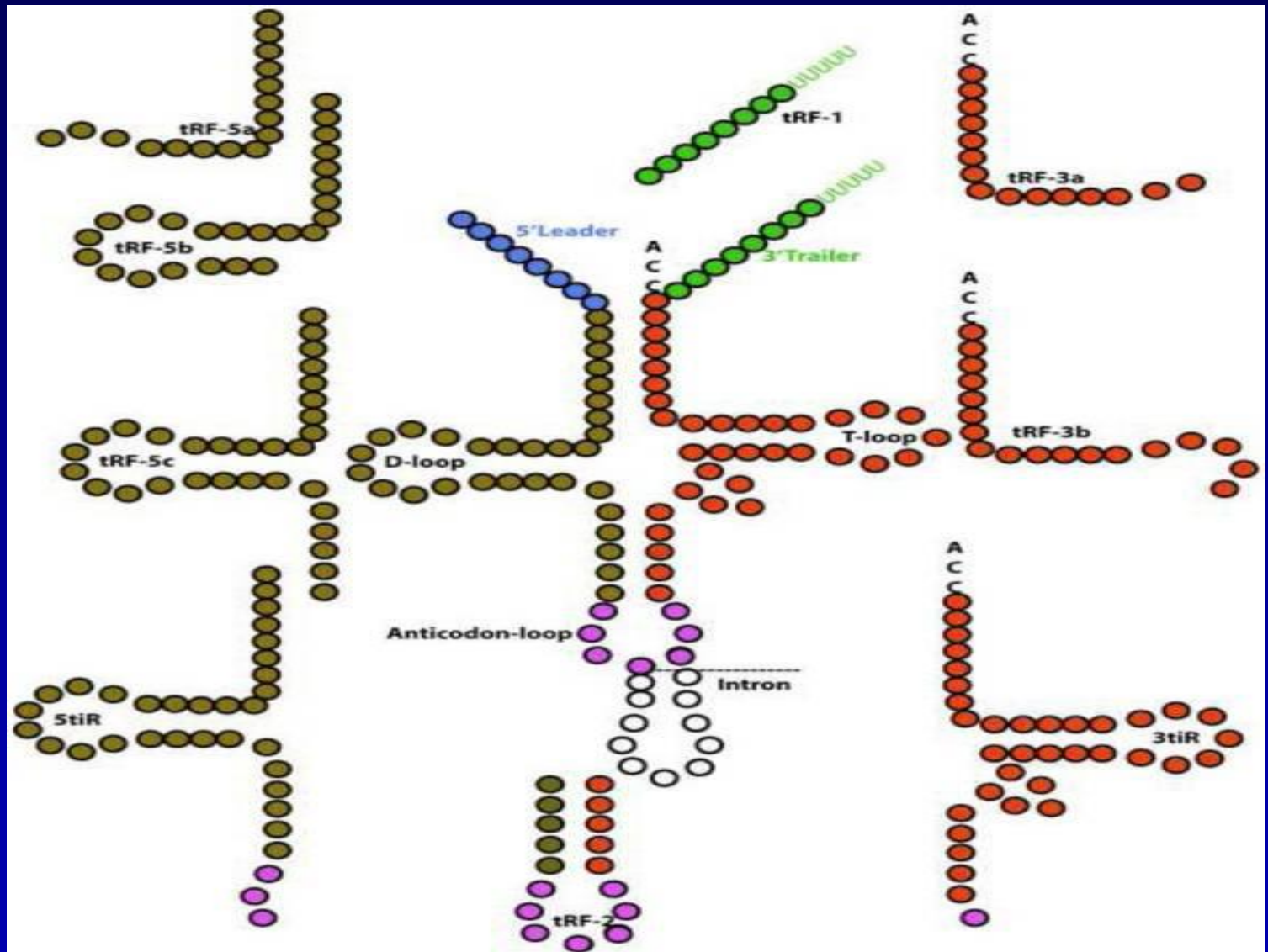
Παράγονται μέσω μιας σχετικά πολύπλοκης βιοσυνθετικής πορείας που περιλαμβάνει αρκετά στάδια ωρίμανσης.

- ❖ Εμπλέκονται στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης μέσω RNAi
- ❖ Αποτελούν ρυθμιστές της μεταγραφής
- ❖ Εμπλέκονται στη ρύθμιση της μετάφρασης
- ❖ Εμπλέκονται σε μηχανισμούς διαγενεακής επιγενετικής κληρονομικότητας
- ❖ Εμπλέκονται στη ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου

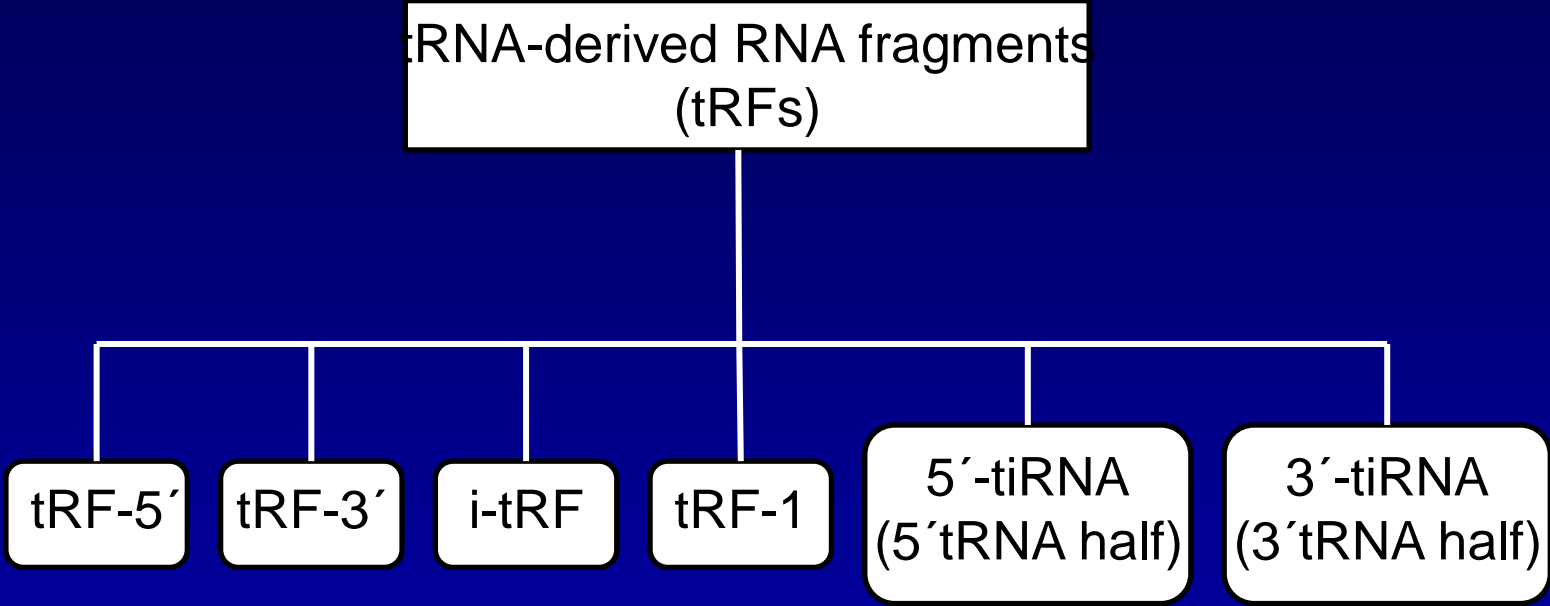
Βιοσύνθεση θραυσμάτων RNA προερχόμενα από tRNA (tRNA-derived RNA fragments)

- Τα tRF που δημιουργούνται από το κόψιμο της αγγειογενίνης (angiogenin, RNase A ή T) μέσα στο βρόγχο του αντικωδικονίου (~31-44 nt) κάτω από συνθήκες στρες, ονομάζονται tRNA halves (tiRNA, tiR)
- Τα tRF μεγέθους ~14-30 nt που προέρχονται από τα 5' και 3' άκρα του ώριμου tRNA και ονομάζονται tRF-5 και tRF-3
- Τα tRF μεγέθους ~14-30 nt που προέρχονται από τα 3' άκρα του πρόδρομου tRNA (pre-tRNA) και ονομάζονται tRF-1
- Τα tRF μεγέθους ~14-30 nt που προέρχονται από την εσωτερική αλληλουχία του ώριμου tRNA και ονομάζονται internal tRF (i-tRF)

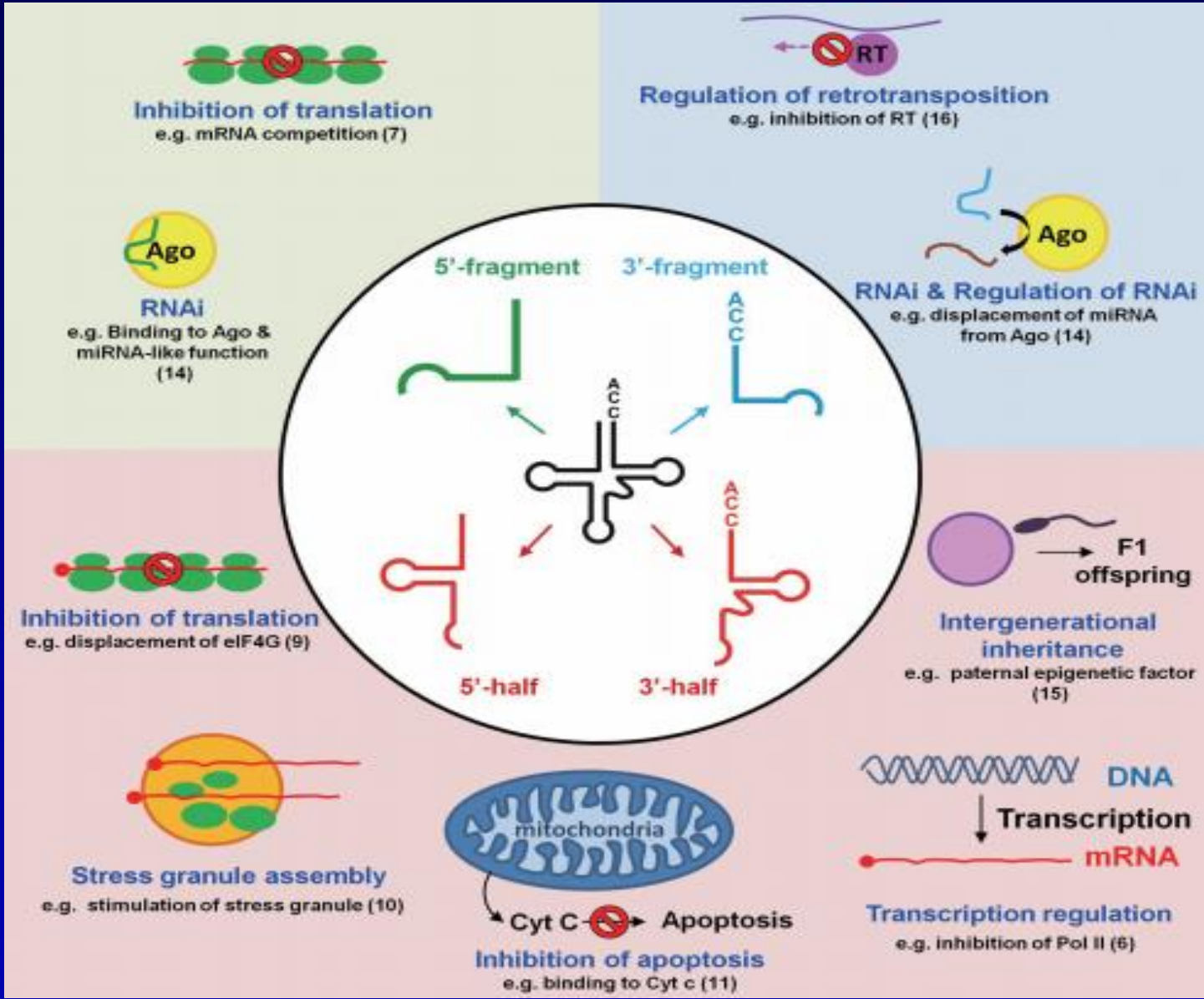
Βιοσύνθεση θραυσμάτων RNA προερχόμενα από tRNA (tRNA-derived RNA fragments)



Κατηγοριοποίηση tRFs



tRNA-derived RNA fragments (tRFs)





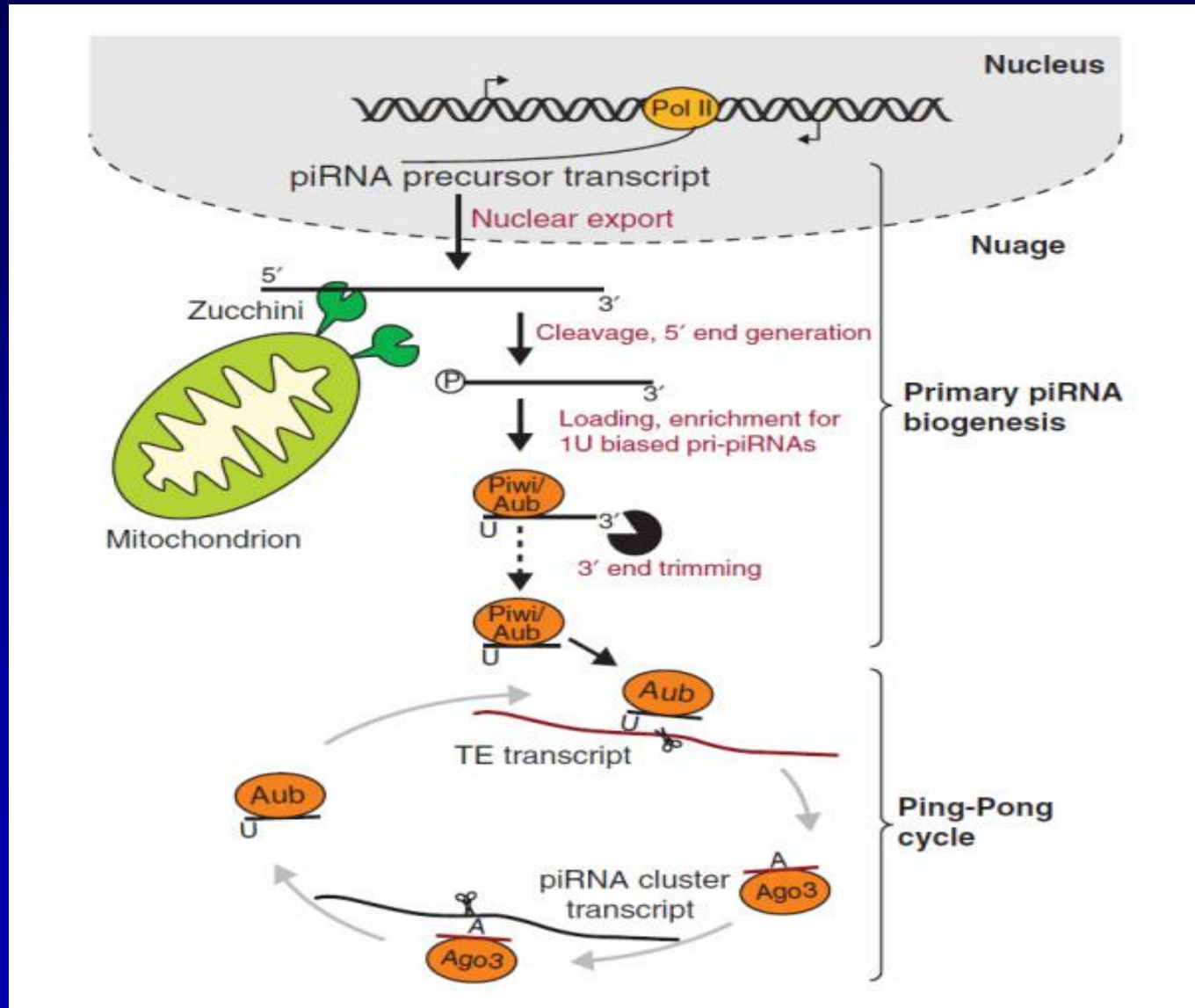
RNA που αλληλεπιδρούν με Ριwi πρωτεΐνες (ριRNA)

- ✓ Οικογένεια μικρών ρυθμιστικών μορίων RNA μήκους 21-35 νουκλεοτιδίων που φέρουν 2'-Ο-μεθυλομάδες στο 3' άκρο τους
- ✓ Αλληλεπιδρούν με τις Ριwi πρωτεΐνες οι οποίες αποτελούν υποοικογένεια των Αργοναυτών
- ✓ Η δράση τους εντοπίζεται κυρίως στα γαμετικά κύτταρα όπου μέσω RNAi ελέγχουν τη δραστηριότητα των μεταθετών στοιχείων (τρανσποζόνια), εξασφαλίζοντας στη διατήρηση της σταθερότητας του γονιδιώματος της γαμετικής σειράς
- ✓ Βιογένεση: Διαθέτουν δύο μονοπάτια βιογένεσης. Ενα κύριο μονοπάτι και ένα εναλλακτικό που ονομάζεται “ring-pong” μονοπάτι ενίσχυσης των ριRNA

Βιογένεση piRNA

- ✓ Στο κύριο μονοπάτι, τα piRNA-γονίδια (εντοπίζονται με τη μορφή cluster πάνω στο γονιδίωμα) μεταγράφονται ως πρόδρομα piRNA-μετάγραφα από την RNA pol II. Στη συνέχεια με τη δράση της ριβονουκλεάσης PLD6, η οποία βρίσκεται στα μιτοχόνδρια (Zucchini στη *Drosophila melanogaster*), δημιουργείται το 5' άκρο του piRNA. Αυτό αλληλεπιδρά και συμπλοκοποιείται με Piwi πρωτεΐνες. Στο τελευταίο στάδιο, το ώριμο piRNA προκύπτει από τη ενδονουκλεολυτική διάσπαση του 3' άκρου του από μια άγνωστη ενδονουκλεάση, ενώ η μεθυλοτρανσφεράση HENMT1 προσθέτει τις 2'-O-μεθυλομάδες.
- ✓ Στο εναλλακτικό μονοπάτι βιογένεσης (“ring-rong” μονοπάτι ενίσχυσης), το οποίο έχει μελετηθεί λεπτομερώς στη *Drosophila melanogaster*, ένα ώριμο piRNA συμπλοκοποιείται με την πρωτεΐνη aub (aubergine) με σκοπό να αναγνωρίσει και να διασπάσει ένα συμπληρωματικό RNA το οποίο προέρχεται ως αποτέλεσμα της δραστηριότητας μεταθετών στοιχείων ή από μετάγραφα προερχόμενα από την αντίθετη αλυσίδα από την οποία έχει μεταγραφεί το piRNA. Το παραπάνω κόψιμο δημιουργεί τα 5' άκρα νέων piRNA τα οποία συμπλοκοποιούνται με τη AGO3 πρωτεΐνη με αποτέλεσμα να επάγεται η διάσπαση περισσότερων συμπληρωματικών RNA και να παράγονται περισσότερα piRNA.

Βιογένεση piRNA



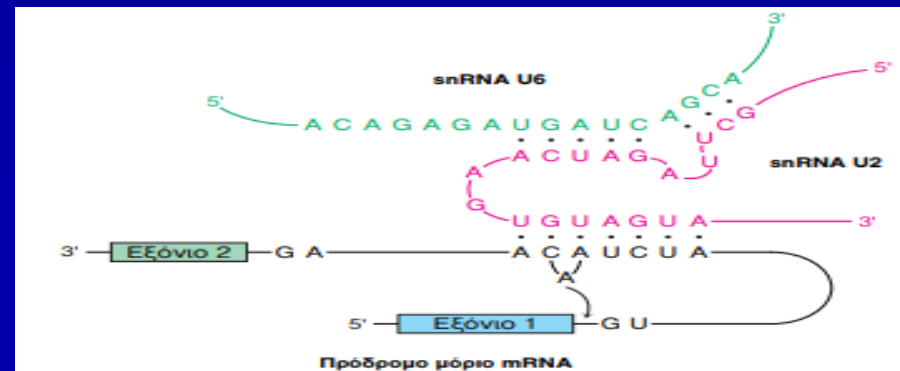


Μικρά πυρηνισκικά RNA (small nucleolar RNAs, snoRNA)

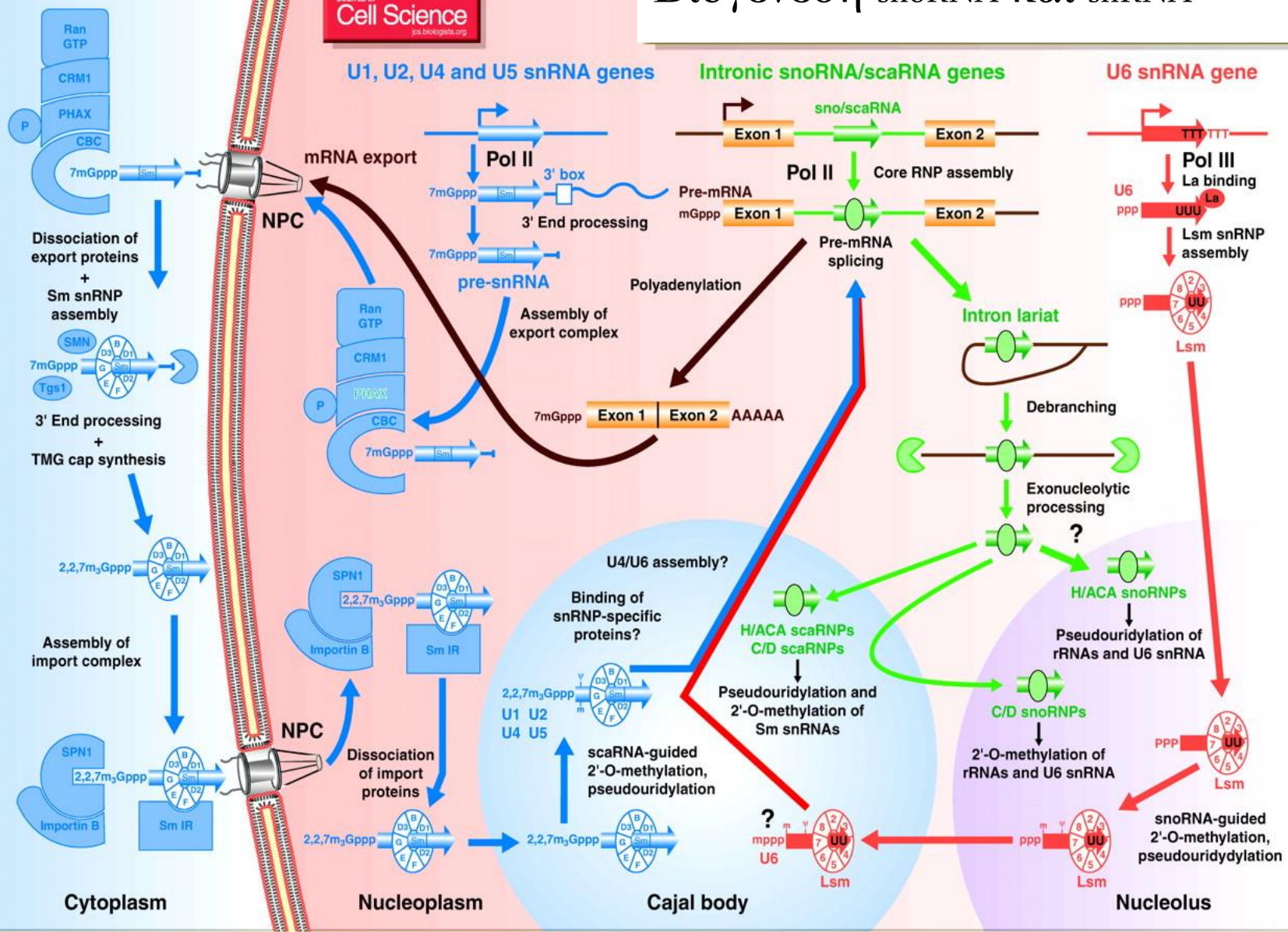
- ✓ Αποτελούν μια ομάδα μικρών (60-300 nt) RNA μορίων
- ✓ Διαχωρίζονται σε C/D box snoRNAs και H/ACA box snoRNAs και scaRNAs βάσει της δομής και της λειτουργίας τους η οποία προκύπτει από την ύπαρξη συντηρημένων μοτίβων στην αλληλουχίας τους
- ✓ Κατευθύνουν τη χημική τροποποίηση των μορίων rRNA, tRNA, snRNA και άλλων μη-κωδικών RNA μορίων
- ✓ Τα C/D box snoRNAs (60-200 nt) κατευθύνουν τη μεθυλίωση άλλων RNA (ιδιαίτερα rRNA)
- ✓ Τα H/ACA box snoRNAs (120-250 nt) κατευθύνουν τη ψευδοουριδυνιλίωση άλλων RNA (ιδιαίτερα rRNA)
- ✓ Τα scaRNA είναι μεγαλύτερα σε μήκος από τα C/D box και H/ACA box snoRNAs μπορεί να φέρουν ταυτόχρονα τα μοτίβα των 2 προηγούμενων κατηγοριών snoRNA, ενώ επιπλέον φέρουν το μοτίβο UGAG (CAB box) το οποίο αποτελεί σήμα εντοπισμού τους στα Cajal bodies (CBs). Κατευθύνουν τόσο τη μεθυλίωση όσο και τη ψευδοουριδυνιλίωση άλλων RNA

Μικρά πυρηνικά RNA (small nuclear RNAs, snRNAs)

- ✓ Αποτελούν μια ομάδα μικρών RNA μορίων μήκους ~150 nt
- ✓ Μεταγράφονται από την RNA pol II ή RNA pol III
- ✓ Διαθέτουν πολύ συντηρημένες δευτεροταγείς δομές
- ✓ Εντοπίζονται στο πυρήνα των ευκαρυωτικών κυττάρων όπου μαζί με πρωτεΐνες σχηματίζουν τα σωμάτια συρραφής
- ✓ Έχουν καθοριστικό ρόλο στην ωρίμανση των mRNA καθώς κατευθύνουν τη διάταξη των θέσεων ματίσματος και μεσολαβούν στην κατάλυσή της
- ✓ Το καταλυτικό κέντρο των σωμάτων συρραφής σχηματίζεται από το snRNA U2 και το snRNA U6 (έλικα U2-U6)



Βιογένεση snoRNA και snRNA



Τα snoRNA και τα snRNA στις ανθρώπινες κακοήθειες

SnoRNAs	Class	Changes	Proposed role	Cancer type
U50	C/D box	Decreased	TS	Breast & Prostate cancer
h5sn2	H/ACA	Decreased	TS	Meningioma
RNU43	C/D box	Decreased	TS	Breast cancer & HNSCC
RNU44	C/D box	Decreased	TS	Breast cancer & HNSCC
snoRD33	C/D box	Increased	OG	NSCLC
snoRD66	C/D box	Increased	OG	NSCLC
snoRD76	C/D box	Increased	OG	NSCLC
snoRA42	H/ACA box	Increased	OG	NSCLC
snoRD44	C/D box	Increased	OG	Breast cancer

TS, tumor suppressor; OG, oncogene

▶ Information

Τα επίπεδα έκφρασης των snoRNA μεταβάλλονται στις ανθρώπινες κακοήθειες, ενώ λειτουργούν ως ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά.

Marker

Brain

Heart

Kidney

Liver

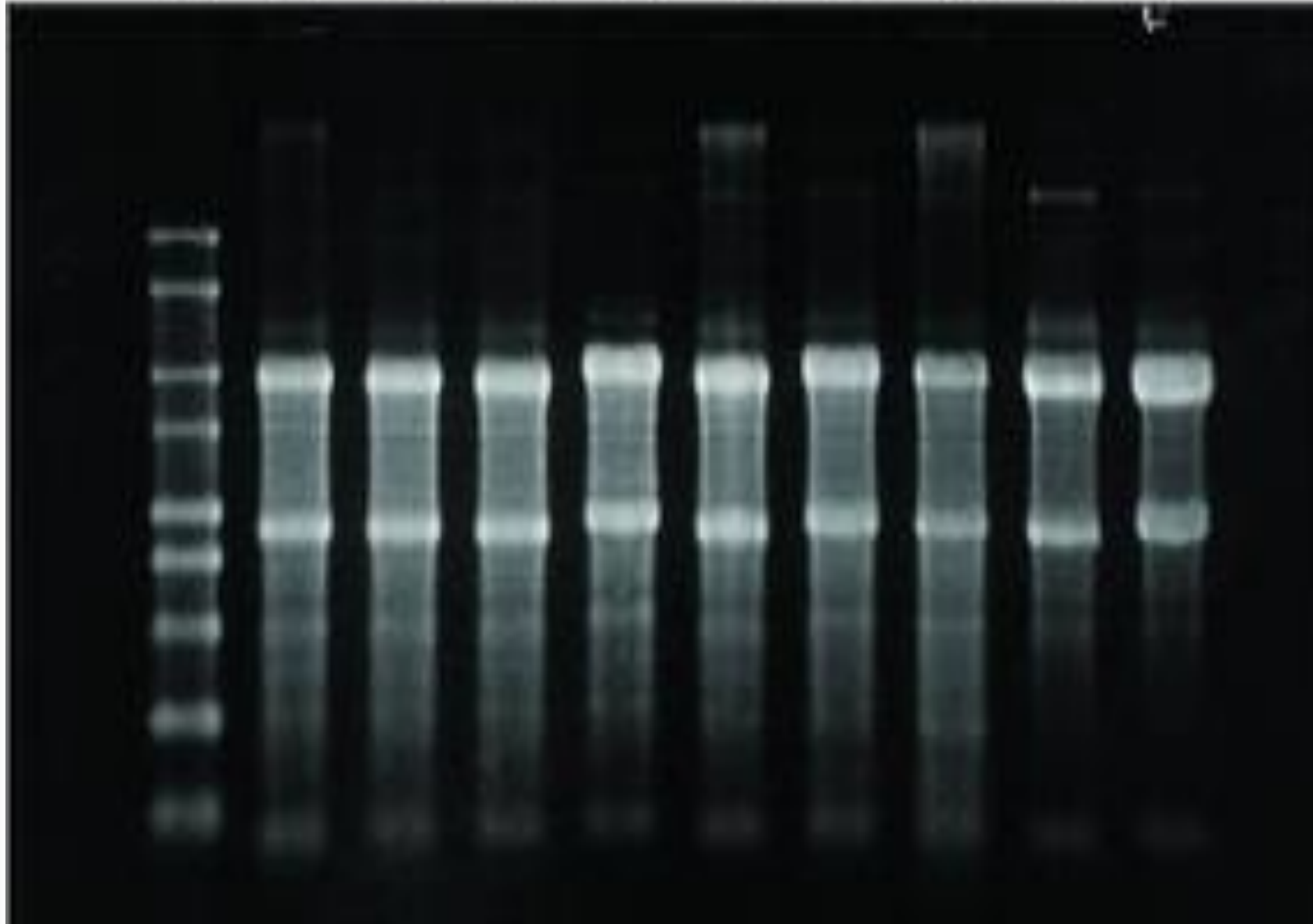
Lung

Pancreas

Spleen

NIH 3T3

HeLa



snRNAs ως νέοι και πολλά υποσχόμενοι βιοδείκτες καρκίνου

Δύο κύριοι λόγοι για την αύξηση ερευνητικού ενδιαφέροντος για την μελέτη του δυναμικού των ncRNAs ως πιθανοί βιοδείκτες καρκίνου:

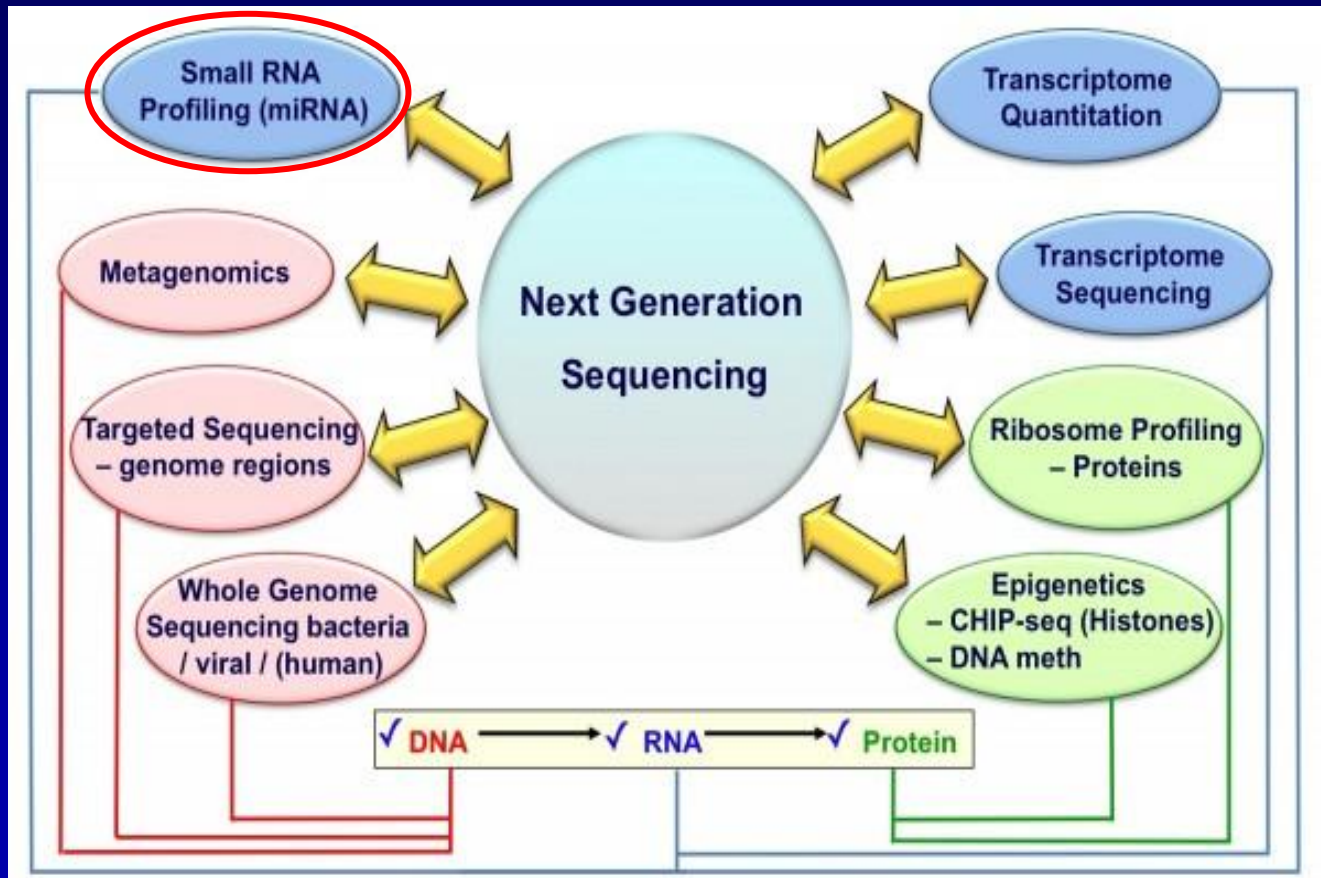
1. Μπορούν να διαδραματίσουν **σημαντικό λειτουργικό ρόλο στην ανάπτυξη του και την εξέλιξη του καρκίνου.**
2. Είναι **εξαιρετικά σταθερά και ανιχνεύσιμα** σε ιστούς (συμπεριλαμβανομένου και παραφίνο-ποιημένων δειγμάτων), ορό/ πλάσμα, ούρα, σάλιο κ.λ.π καθιστώντας τα ιδανικούς υποψηφίους ως βιοδείκτες καρκίνου.

Πολλές μελέτες εξετάζουν το προφίλ έκφρασης των snRNA και την σχέση τους με την επιβίωση των ασθενών με καρκίνο, την υποτροπή, ή τη μετάσταση.

Διάφορες κλινικές μελέτες που εξετάζουν τα miRNAs ως βιοδείκτες καρκίνου βρίσκονται σε εξέλιξη : π.χ. Καρκίνωμα νεφρού (NCT00743054), οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (NCT00526084), κλινική μελέτη φάσης II για μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NCT00840125) κ.α.

Εφαρμογές της τεχνολογίας αλληλούχησης επόμενης γενιάς (next generation sequencing)

Η εφαρμογή νεότερων τεχνολογιών υψηλής απόδοσης, αποκάλυψε την ύπαρξη ενός μεγάλου αριθμού μη κωδικών μορίων RNA (ncRNAs) τα οποία μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του '80 θεωρούνταν ως «άχρηστο» γενετικό υλικό.



▶ Information

Η ερευνητική μας ομάδα εστιάζει:
στη μελέτη των μορίων snRNA (miRNA, tiRNA κ.ά)

Ανάπτυξη μεθοδολογίας αξιόπιστου προσδιορισμού ncRNA

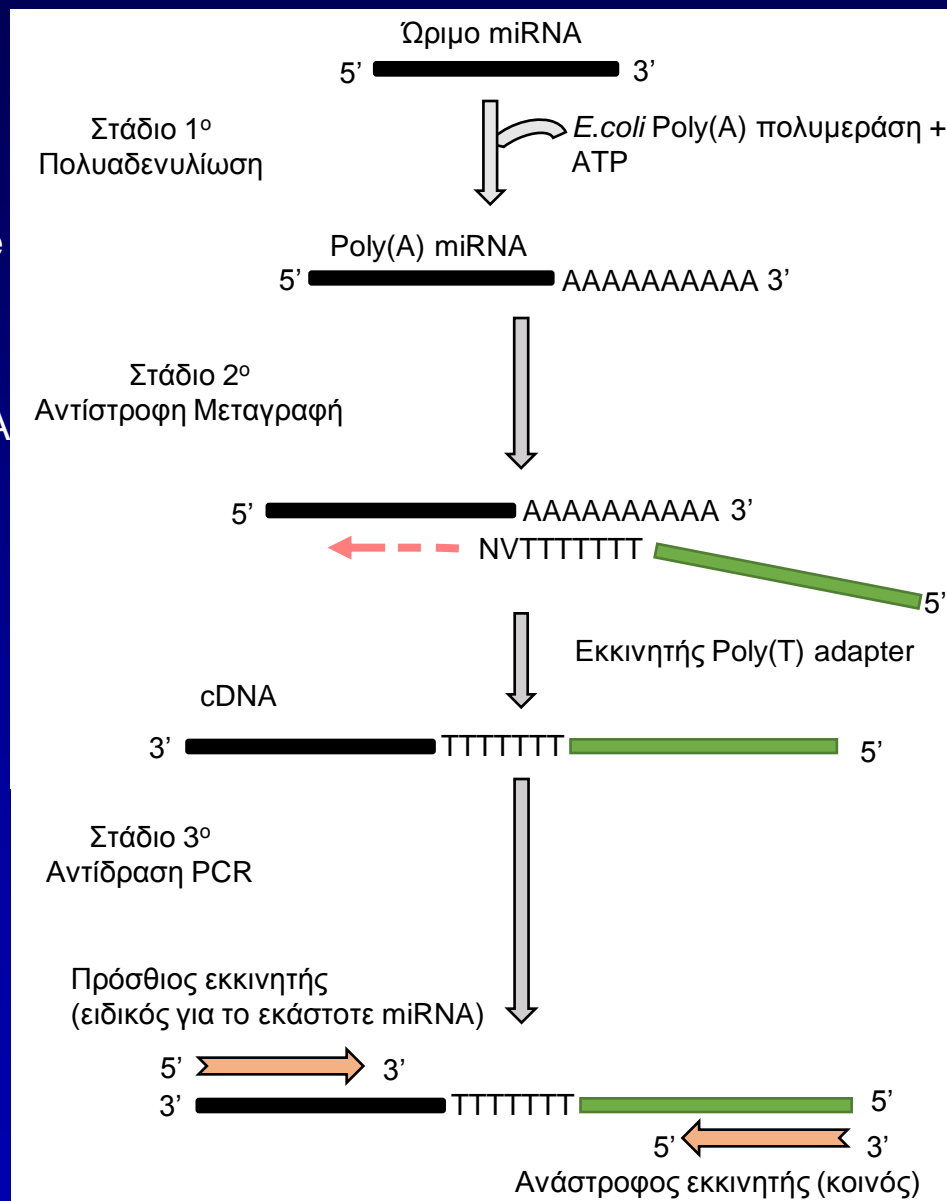
Ομογενοποίηση του ιστού
Απομόνωση του ολικού RNA
Πολυαδενυλίωση 1μg ολικού RNA με την βοήθεια *E. coli* Poly(A) Polymerase

Αντίστροφη μεταγραφή του Poly(A) RNA σε cDNA με τη χρήση ενός Πολύ (T) προσαρμογέα:

5'-GCGAGCACAGAATTAATA
CGACTCACTATAGGTTTTTTTTTTTVN-3'
V = A, G, C; N = A, T, G, C.

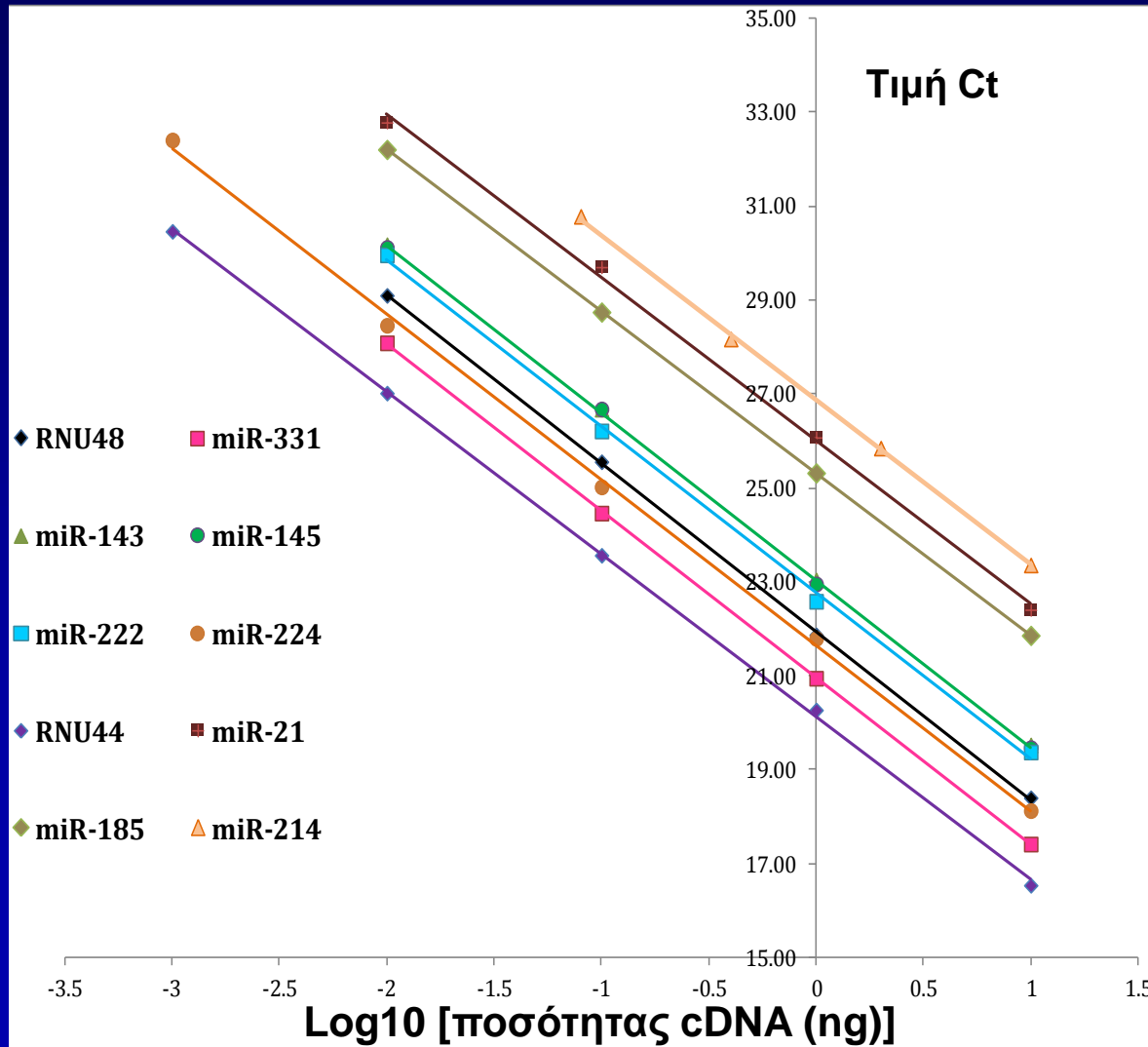
Ανάπτυξη δοκιμασίας PCR σε πραγματικό χρόνο (Real-Time PCR), με τη χρήση της χρωστικής SYBR-Green.

Ποσοτικοποίηση με τη μέθοδο σχετικής ποσοτικοποίησης 2^{-ΔΔCT}



Έλεγχος ποιότητας μεθόδου :

Κατασκευή πρότυπων καμπυλών αναφοράς για την εκτίμηση της απόδοσης της αντίδρασης PCR σε πραγματικό χρόνο, για την ενίσχυση του μορίου αναφοράς καθώς και των μορίων στόχων.



✓Κλίση = -3.3 – -3.5

✓ $R^2 > 0.99$

✓Απόδοση
αντιδράσεων= 92.0 –
95.0 %

✓CV% = 9.0 – 16 %

✓Επιβεβαίωση της
ειδικότητας της
μεθόδου: α) Ανάλυση
καμπυλών τήξης και β)
Ηλεκτροφόρηση σε
πήκτωμα αγαρόζης

Downregulation and Prognostic Performance of MicroRNA 224 Expression in Prostate Cancer

Konstantinos Mavridis,¹ Konstantinos Stravodimos,² and Andreas Scorilas^{1*}

INTRODUCTION: The extensive use of prostate-specific antigen as a general prostate cancer biomarker has introduced the hazards of overdiagnosis and overtreatment. Recent studies have revealed the immense biomarker capacity of microRNAs (miRNAs) in prostate cancer. The aim of this study was to analyze the expression pattern of miR-224, a cancer-related miRNA, in prostate tumors and investigate its clinical utility.

METHODS: Total RNA was isolated from 139 prostate tissue samples. After the polyadenylation of total RNA by poly(A) polymerase, cDNA was synthesized with a suitable poly(T) adapter. miR-224 expression was assessed by quantitative real-time PCR and analyzed with the comparative quantification cycle method, $C_q(2^{-\Delta\Delta C_q})$. We performed comprehensive biostatistical analyses to explore the clinical value of miR-224 in prostate cancer.

RESULTS: miR-224 expression was significantly downregulated in malignant samples compared with benign samples ($P < 0.001$). Higher miR-224 expression levels were found in prostate tumors that were less aggressive ($P = 0.017$) and in an earlier disease stage ($P = 0.018$). Patients with prostate cancer who were positive for miR-224 had significantly enhanced progression-free

tive molecular methodologies could provide a useful biomarker for prostate cancer.

© 2012 American Association for Clinical Chemistry

Prostate-specific antigen (PSA)³ is one of the most extensively used cancer biomarkers (1). Nevertheless, the importance of PSA in prostate cancer (CaP) screening and prognosis is still being challenged (1, 2), since any benefits of PSA testing come with the costs of overdiagnosis and overtreatment. Apart from the undoubted physiological and psychological inconvenience for the patients, the increased financial costs for healthcare systems globally should be taken into account as well, considering also the high prevalence of prostate malignancies (1, 2). Consequently, there is an urgent need for novel CaP biomarkers.

Numerous studies illustrate that microRNAs (miRNAs) are aberrantly expressed in human malignancies, including CaP (3-5). Because miRNAs exert key roles in carcinogenesis and tumor progression, miRNA genes (MIR)⁶ are currently considered a novel class of oncogenes or tumor suppressor genes (6). Moreover, miRNAs are regarded as promising biomarkers and therapeutic tools for human neoplasms,

Δημοσιευμένα
αποτελέσματα της
ερευνητικής μας ομάδας
αποδεικνύουν την
σημαντική **προγνωστική**
αξία της έκφρασης του
miR-224 στον καρκίνο
του προστάτη.

Αξίζει να αναφερθεί ότι τα
αποτελέσματα αυτά
επιβεβαιώθηκαν και
από 3 ανεξάρτητες
μελέτες:

✓Kristensen H et al: *Clin Cancer Res.* 2014,

✓Goto Y et al: *FEBS Lett.* 2014,

✓Lin ZY et al: *Int J Cancer* 2014.

BJC

British Journal of Cancer (2015), 1–9 | doi: 10.1038/bjc.2015.119

Keywords: lung cancer; prognostic biomarker; microRNAs; miR-197; stage I NSCLC; overall survival

The oncomiR miR-197 is a novel prognostic indicator for non-small cell lung cancer patients

K Mavridis¹, F Gueugnon², A Petit-Courty², Y Courty², A Barascu², S Guyetant² and A Scorilas^{*,1}

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15701 Athens, Greece and ²Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, INSERM UMR1100, F-37032 Tours, France

ORIGINAL MANUSCRIPT

Uncovering the clinical utility of miR-143, miR-145 and miR-224 for predicting the survival of bladder cancer patients following treatment

Margaritis Avgeris, Konstantinos Mavridis, Theodoros Tokas¹, Konstantinos Stravodimos¹, Emmanuel G.Fragoulis and Andreas Scorilas*

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15701 Athens, Greece and

¹First Department of Urology, “Laiko” General Hospital, Medical School, University of Athens, Agiou Thoma 17, 11527 Athens, Greece

*To whom correspondence should be addressed. Tel: +30 210 727 4306; Fax: +30 210 727 4158; Email: ascorilas@biol.uoa.gr

Abstract


Accurate prognosis is a key factor in establishing optimal therapeutic decisions; yet in the case of bladder cancer (BlCa) current prognostic indicators cannot ensure optimal disease management. Here, we aimed to evaluate the previously unexplored clinical potential of the urological cancer-related miR-145, miR-143 and miR-224 in BlCa. A total of 279 bladder tissue specimens were included in this study (133 BlCa, 107 adjacent normal and 39 healthy samples). Total RNA was extracted from tissues, it was polyadenylated and reverse transcribed to cDNA. The expression of target molecules was measured via quantitative real-time PCR. The expression levels of both miR-143 and miR-145 were significantly decreased, whereas those of miR-224 were increased in BlCa. Receiver operating characteristic curve analysis indicated a significant discriminatory capacity for miR-143/miR-145 levels. Important associations with disease aggressiveness were observed for all three microRNAs; elevated levels were observed in tumors of higher stage and grade, as well as in ‘high-risk’ TaT1 patients. More importantly, high miR-143/145 levels could effectively prognose inferior overall survival for muscle-invasive patients and could independently predict the progression of superficial tumors. Finally, the combination of miR-143/145 overexpression with the widely used prognostic markers of European Organization for Research and Treatment of Cancer-risk groups or recurrence at the first follow-up cystoscopy resulted to a superior positive prediction of non-muscle-invasive bladder cancer short-term progression compared with the use of the abovementioned markers alone. The cancer-related miR-143, miR-145 and miR-224 were investigated for the first time in the clinical setting of BlCa, and miR-143/145 cluster constitutes a novel marker helpful for providing an enhanced prediction of oncologic outcome for BlCa patients.



ARTICLE

Clinical Study

Loss of GAS5 tumour suppressor lncRNA: an independent molecular cancer biomarker for short-term relapse and progression in bladder cancer patients

Margaritis Avgeris¹, Anastasia Tsilimantou¹, Panagiotis K. Levis², Theodoros Tokas², Diamantis C. Sideris¹, Konstantinos Stravodimos², Alexandros Ardavanis³ and Andreas Scorilas¹ 

BACKGROUND: Bladder cancer (BlCa) heterogeneity and the lack of personalised prognosis lead to patients' highly variable treatment outcomes. Here, we have analysed the utility of the GAS5 tumour-suppressor lncRNA in improving BlCa prognosis.

METHODS: GAS5 was quantified in a screening cohort of 176 patients. Hedegaard et al. (2016) ($n = 476$) and TCGA provisional ($n = 413$) were used as validation cohorts. Survival analysis was performed using recurrence and progression for NMIBC, or death for MIBC. Internal validation was performed by bootstrap analysis, and decision curve analysis was used to evaluate the clinical benefit on disease prognosis.

RESULTS: GAS5 levels were significantly downregulated in BlCa and associated with invasive high-grade tumours, and high EORTC-risk NMIBC patients. GAS5 loss was strongly and independently correlated with higher risk for NMIBC early relapse ($HR = 2.680$, $p = 0.011$) and progression ($HR = 6.362$, $p = 0.035$). Hedegaard et al. and TCGA validation cohorts' analysis clearly confirmed the association of GAS5 loss with NMIBC worse prognosis. Finally, multivariate models incorporating GAS5 with disease established markers resulted in higher clinical benefit for NMIBC prognosis.

CONCLUSIONS: GAS5 loss is associated with adverse outcome of NMIBC and results in improved positive prediction of NMIBC patients at higher risk for short-term relapse and progression, supporting personalised prognosis and treatment decisions.

Alternative Splicing Detection Tool—a novel PERL algorithm for sensitive detection of splicing events, based on next-generation sequencing data analysis

Panagiotis G. Adamopoulos¹, Margarita C. Theodoropoulou², Andreas Scorilas¹

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens, Greece;

²Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University of Thessaly, Papasiopoulou, Lamia, Greece

Correspondence to: Dr. Andreas Scorilas. Department of Biochemistry and Molecular Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens GR-15701, Greece. Email: ascorilas@biol.uoa.gr.

Abstract: Next-generation sequencing (NGS) can provide researchers with high impact information regarding alternative splice variants or transcript identifications. However, the enormous amount of data acquired from NGS platforms make the analysis of alternative splicing events hard to accomplish. For this reason, we designed the “Alternative Splicing Detection Tool” (ASDT), an algorithm that is capable of identifying alternative splicing events, including novel ones from high-throughput NGS data. ASDT is available as a PERL script at <http://aias.biol.uoa.gr/~mtheo> and can be executed on any system with PERL installed. In addition to the detection of annotated and novel alternative splicing events from high-throughput NGS data, ASDT can also analyze the intronic regions of genes, thus enabling the detection of novel cryptic exons residing in annotated introns, extensions of previously annotated exons, or even intron retentions. Consequently, ASDT demonstrates many innovative and unique features that can efficiently contribute to alternative splicing analysis of NGS data.

Keywords: Bioinformatics; alternative splicing; splice variant; isoform; next-generation sequencing (NGS)

Submitted Apr 28, 2018. Accepted for publication Jun 19, 2018.

doi: 10.21037/atm.2018.06.32

View this article at: <http://dx.doi.org/10.21037/atm.2018.06.32>

Ann Transl Med. 2018;6(12):244



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Leukemia Research

journal homepage: <http://ees.elsevier.com>



Research paper

Identification of a novel, internal tRNA-derived RNA fragment as a new prognostic and screening biomarker in chronic lymphocytic leukemia, using an innovative quantitative real-time PCR assay

Katerina Katsaraki^a, Pinelopi I. Artemaki^a, Sotirios G. Papageorgiou^b, Vasiliki Pappa^b, Andreas Scorilas^a, Christos K. Kontos^{a,*}

^a Department of Biochemistry and Molecular Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15701, Athens, Greece

^b Second Department of Internal Medicine and Research Unit, University General Hospital "Attikon", 1 Rimini St., Haidari, 12462, Athens, Greece

ARTICLE INFO

Keywords

Internal tRNA fragment
Unfavorable prognosis
Screening
Molecular biomarker
CLL

ABSTRACT

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is one of the most common types of leukemia in adults. Several studies have identified various prognostic biomarkers in CLL. In this study, we investigated the potential value of an internal fragment of the tRNAs bearing the Glycine anticodon CCC (i-tRF-GlyCCC), which is a small non-coding RNA, as a prognostic and screening biomarker in CLL. For this purpose, blood samples were collected from 90 CLL patients and 43 non-leukemic blood donors. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated, total RNA was extracted and *in-vitro* polyadenylated, and first-strand cDNA was synthesized using an oligo-dT-adaptor primer. A real-time quantitative PCR assay was developed and applied for the quantification of i-tRF-GlyCCC in our samples. The biostatistical analysis revealed that i-tRF-GlyCCC levels are significantly lower in PBMCs of CLL patients, compared to PBMCs of non-leukemic controls, and that i-tRF-GlyCCC could be considered as a screening biomarker. Kaplan-Meier overall survival (OS) analysis revealed reduced OS for CLL patients with positive i-tRF-GlyCCC expression ($P = 0.001$). Multivariate Cox regression confirmed its independent unfavorable prognostic power with regard to OS. In conclusion, i-tRF-GlyCCC may constitute a promising molecular biomarker in CLL, for screening and prognostic purposes.

Non-coding RNAs: the riddle of the transcriptome and their perspectives in cancer

Marios A. Diamantopoulos, Panagiotis Tsiakanikas, Andreas Scorilas

Department of Biochemistry and Molecular Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Contributions: (I) Conception and design: All authors; (II) Administrative support: A Scorilas; (III) Provision of study materials or patients: All authors; (IV) Collection and assembly of data: MA Diamantopoulos, P Tsiakanikas; (V) Data analysis and interpretation: MA Diamantopoulos, P Tsiakanikas; (VI) Manuscript writing: All authors ; (VII) Final approval of manuscript: All authors.

Correspondence to: Dr. Andreas Scorilas. Department of Biochemistry and Molecular Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens GR-15701, Greece. Email: ascorilas@biol.uoa.gr.

Abstract: Non-coding RNAs (ncRNAs) constitute a heterogeneous group of RNA molecules in terms of biogenesis, biological function as well as length and structure. These biological molecules have gained attention recently as a potentially crucial layer of tumor cell progression or regulation. ncRNAs are expressed in a broad spectrum of tumors, and they play an important role not only in maintaining but also in promoting cancer development and progression. Recent discoveries have revealed that ncRNAs may act as key signal transduction mediators in tumor signaling pathways by interacting with RNA or proteins. These results reinforce the hypothesis, that ncRNAs constitute therapeutic targets, and point out their clinical potential as stratification markers. The major purpose of this review is to mention the emergence of the importance of ncRNAs, as molecules which are correlated with cancer, and to discuss their clinical implicit as prognostic diagnostic indicators, biomarkers, and therapeutic targets.

Keywords: Biomarker; long non-coding RNA (lncRNA); small non-coding RNA (sncRNA); transcriptomics

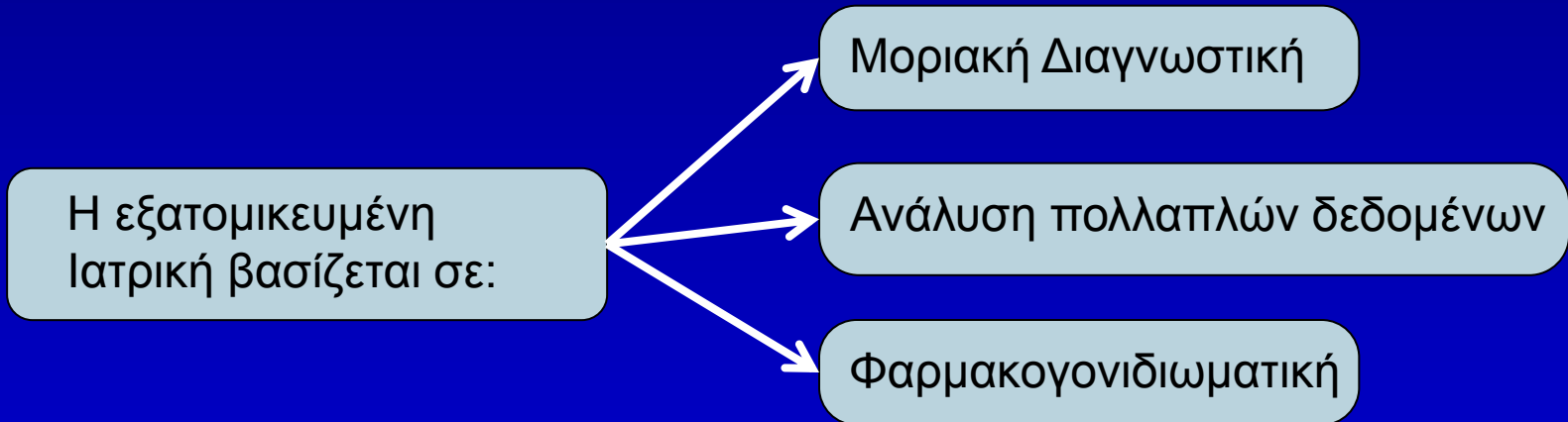
Submitted Mar 30, 2018. Accepted for publication Jun 06, 2018.

doi: 10.21037/atm.2018.06.10

View this article at: <http://dx.doi.org/10.21037/atm.2018.06.10>

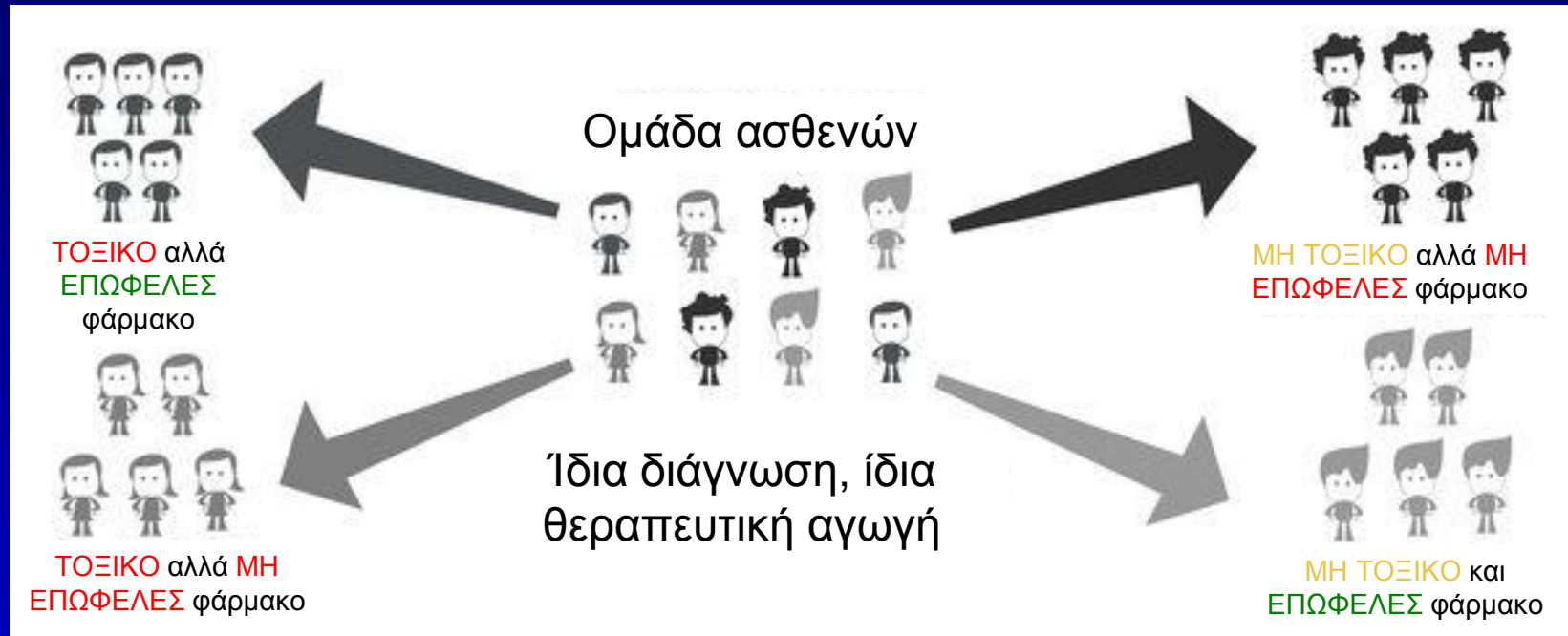
Εξατομικευμένη Ιατρική – Ιατρική Ακριβείας

Χρήση των γονιδιωματικών δεδομένων ενός ασθενούς για την στοχευμένη χορήγηση θεραπευτικής αγωγής και τον προσδιορισμό της προδιάθεσης σε μια συγκεκριμένη νόσο, με απώτερο στόχο τη βελτίωση της ποιότητας ζωής και τη μείωση του κόστους της προσφερόμενης ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης.



Φαρμακογονιδιωματική

Στόχος: Το σωστό φάρμακο για τον σωστό ασθενή

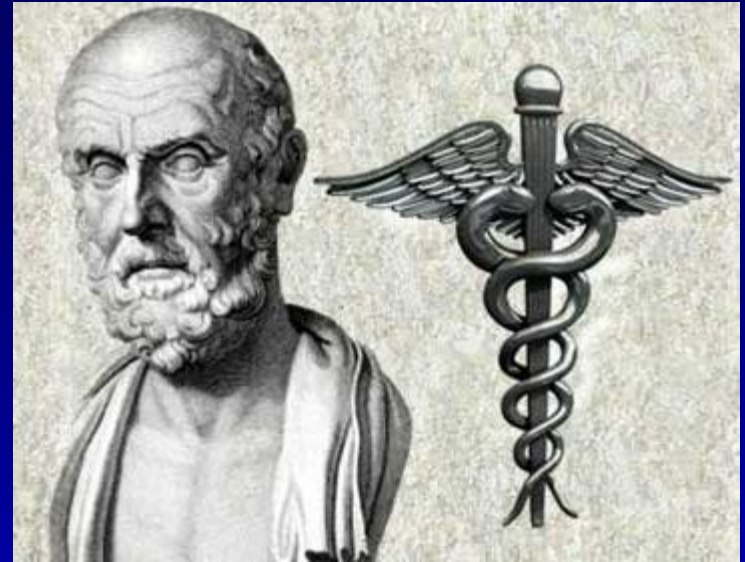


Η Φαρμακογονιδιωματική είναι το «κλειδί» για την ανάπτυξη της εξατομικευμένης θεραπείας, η οποία παρουσιάζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και ασφάλεια.

Ιστορική αναδρομή

Ιπποκράτης (4ος αιώνας π.Χ.):

«Είναι σημαντικότερο να γνωρίζεις κανείς
τί είδους άνθρωπος πάσχει από μια
ασθένεια παρά από τί είδους ασθένεια
πάσχει κάποιος άνθρωπος»



F. Vogel (1959): Εισαγωγή του όρου «φαρμακογενετική».

Φαρμακογενετική- Φαρμακογονιδιωματική

Οι όροι αναφέρονται στον εντοπισμό της **γενετικής** αιτιολογίας της διαφορετικής ανταπόκρισης ενός ατόμου/ασθενούς σε μια συγκεκριμένη θεραπευτική αγωγή, στοχεύοντας στην επίτευξη εξατομικευμένης θεραπείας. **Δεν έχουν ακριβώς το ίδιο εννοιολογικό περιεχόμενο:**

- ❑ Ο όρος **Φαρμακογενετική** είναι παλαιότερος και συνδέεται με τη μελέτη της συσχέτισης **ενός ή περιορισμένου αριθμού γονιδιακών πολυμορφισμών** με την ανταπόκριση ενός πληθυσμού ασθενών στη φαρμακοθεραπεία, με τη βοήθεια «κλασικών» τεχνικών μοριακής γενετικής (π.χ. PCR, RFLP)
- ❑ Ο όρος **Φαρμακογονιδιωματική** είναι ένας νεολογισμός που προέκυψε μετά τη χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος και την ανάπτυξη εργαστηριακών και αναλυτικών τεχνικών μεγάλου αριθμού δεδομένων (high-throughput analysis), π.χ. Microarrays, DNA chips κλπ. Συνδέεται τη μελέτη της συσχέτισης **ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων** με την ανταπόκριση ενός πληθυσμού ασθενών στη φαρμακοθεραπεία

Γιατί χρειάζεται η φαρμακογονιδιωματική?

Πάνω από 50% του γενικού πληθυσμού και των ασθενών έχει αλλαγές στο γενετικό του υλικό που επηρεάζουν την ανταπόκριση στα συχνότερα συνταγογραφούμενα φάρμακα

Therapeutic area	Efficacy rate (%)
Alzheimer's	30
Analgesics (Cox-2)	80
Asthma	60
Cardiac Arrhythmias	60
Depression (SSRI)	62
Diabetes	57
HCV	47
Incontinence	40
Migraine (acute)	52
Migraine (prophylaxis)	50
Oncology	25
Osteoporosis	48
Rheumatoid arthritis	50
Schizophrenia	60

Φάρμακα χορηγούμενα σε ασθενείς με:

- Καρκίνο
- Καρδιολογικά νοσήματα
- Νευροψυχιατρικά νοσήματα
- Αυτοάνοσα νοσήματα

Γιατί χρειάζεται η φαρμακογονιδιωματική?

Πάνω από 50% του γενικού πληθυσμού και των ασθενών έχει αλλαγές στο γενετικό του υλικό που επηρεάζουν την ανταπόκριση στα συχνότερα συνταγογραφούμενα φάρμακα

Φάρμακα χορηγούμενα σε ασθενείς με:

- Καρκίνο
- Νευροψυχιατρικά νοσήματα
- Καρδιολογικά νοσήματα
- Αυτοάνοσα νοσήματα

Γιατί χρειάζεται η φαρμακογονιδιωματική?

- ❑ Πολλές συνταγογραφήσεις είναι εσφαλμένες: Οι ασθενείς υπόκεινται σε λανθασμένη ή αναποτελεσματική φαρμακευτική αγωγή
- ❑ Πάνω από 100.000 ασθενείς πεθαίνουν ετησίως στις ΗΠΑ ή στην Ευρώπη από παρενέργειες της φαρμακευτικής αγωγής
- ❑ 70-80% των δοκιμαζόμενων φαρμάκων «αποτυγχάνουν» στις κλινικές δοκιμές
- ❑ Πολλά εγκεκριμένα φάρμακα αποσύρονται από την αγορά λόγω των παρενεργειών

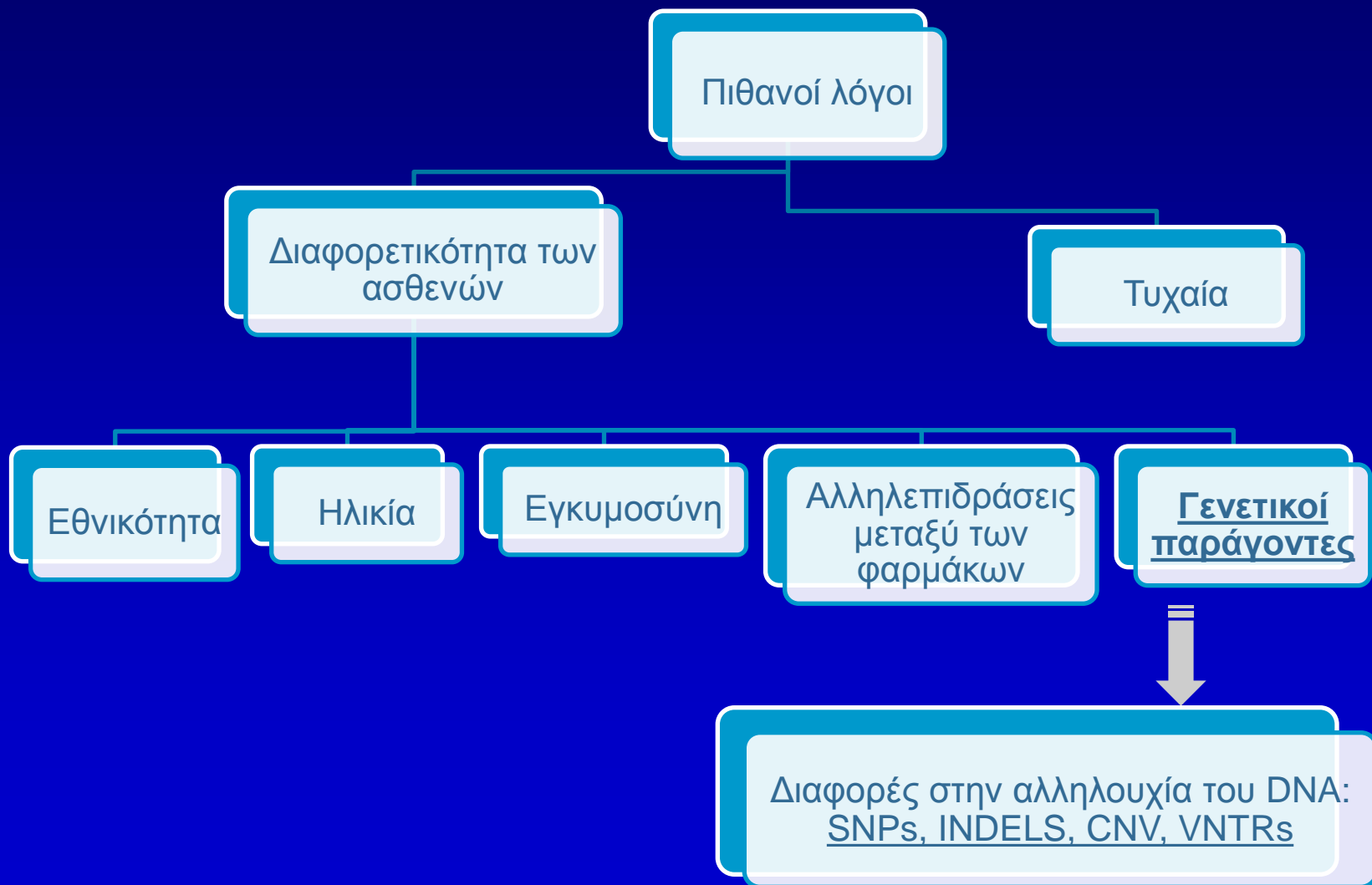
Τα ίδια συμπτώματα και τα ίδια κλινικά ευρήματα σε διαφορετικούς ασθενείς δε συνεπάγονται ίδια ασθένεια

Η χορήγηση της ίδιας δόσης του ίδιου φαρμάκου στους διάφορους ασθενείς συνεπάγεται διαφορετική επίδραση:

1. Αποτελεσματική δράση του φαρμάκου
2. Έλλειψη αποτελεσματικότητας
3. Παρενέργειες-Τοξικότητα

Γιατί χρειάζεται η φαρμακογονιδιοματική?

Η χορήγηση της ίδιας δόσης του ίδιου φαρμάκου στους διάφορους ασθενείς συνεπάγεται διαφορετική επίδραση

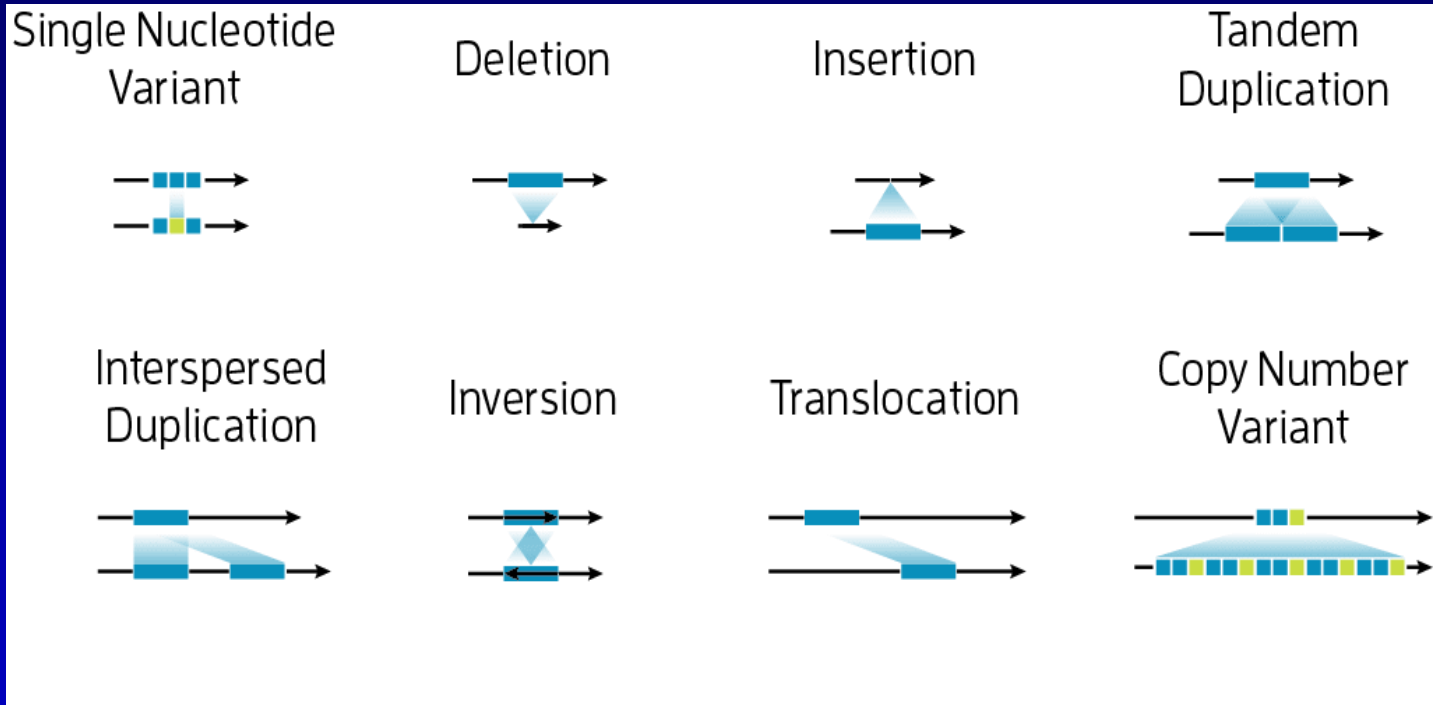


Γενετικοί παράγοντες

- Πολυμορφισμός ενός Νουκλεοτιδίου-Single Nucleotide Polymorphism (SNP): Μετάλλαξη μίας βάσης κατά την οποία ένα νουκλεοτίδιο αντικαθίσταται από ένα άλλο. Η πιο συχνή τροποποίηση της αλληλουχίας του DNA. Τις περισσότερες φορές οι πολυμορφισμοί αυτοί δεν οδηγούν σε φαινοτυπικές αλλαγές.
- Προσθήκες/Απαλοιφές (Insertions/Deletions-INDELS) ενός ή περισσότερων νουκλεοτιδίων - Μικρότερη συχνότητα εμφάνισης ειδικά στη κωδική περιοχή των γονιδίων
- Διαφοροποίηση στον αριθμό των αντιγράφων των γονιδίων (Copy number variations-CNV)- Διπλασιασμός ή απαλοιφή γονιδίων
- Variable number tandem repeat (VNTR)-Περιοχή του γονιδιώματος όπου παρατηρούνται πολλαπλές επαναλήψεις μίας μικρής νουκλεοτιδικής αλληλουχίας τοποθετημένες στη σειρά.

Πολυμορφισμός: Γενετική τροποποίηση, η οποία παρατηρείται σε ποσοστό >1% του πληθυσμού

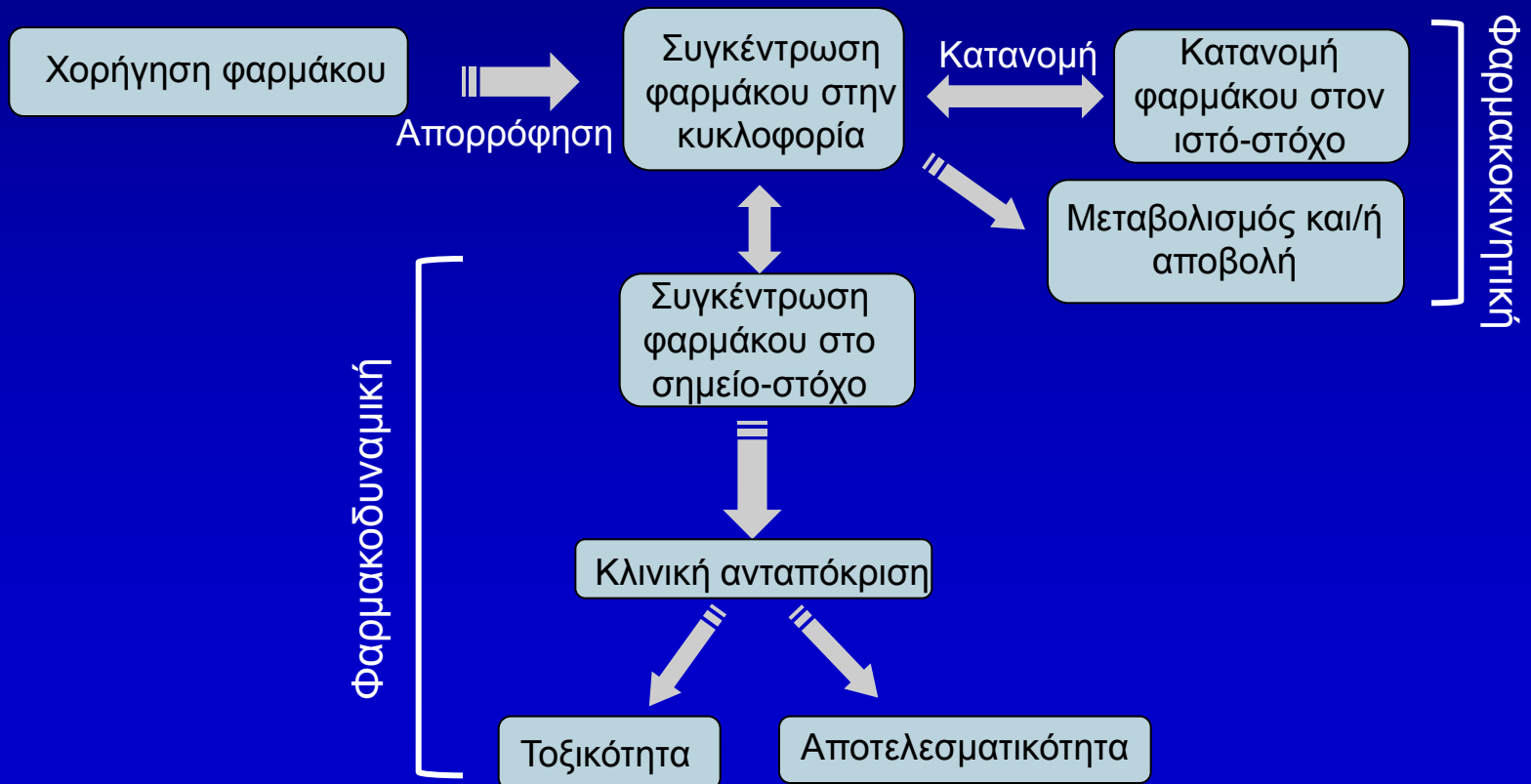
Γενετικοί παράγοντες



▶ Information

Φαρμακογονιδιωματική (1)

□ Μελέτη της ποικιλομορφίας της αλληλουχίας γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες που σχετίζονται με την απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμό, αποβολή (Φαρμακοκινητική) και/ή τη δράση του φαρμάκου δλδ πρωτεΐνες-στόχους ή πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε downstream μονοπάτια (Φαρμακοδυναμική).



Φαρμακογονιδιωματική (2)



Γενετικοί πολυμορφισμοί
SNPs, INDEL, VNTRs

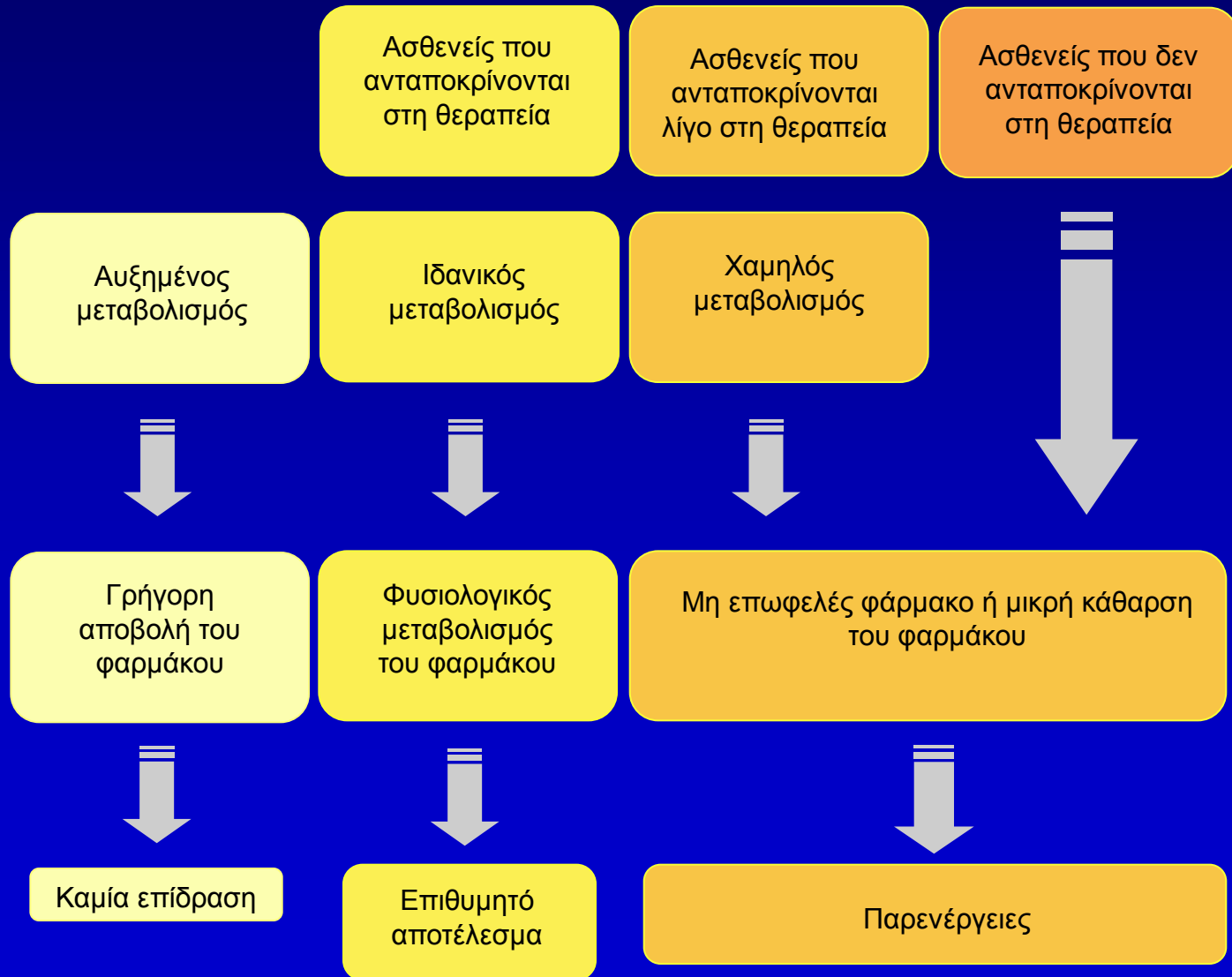


Πιθανά γονίδια στόχοι είναι αυτά που κωδικοποιούν

- Ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των φαρμάκων
- Πρωτεΐνες- μεταφορείς
- Υποδοχείς
- Στόχους των φαρμάκων

Φαρμακογονιδιωματική (3)

Η αποτελεσματικότητα και ο μεταβολισμός ενός φαρμάκου είναι αλληλένδετα με το γονιδιωματικό πρότυπο ενός ατόμου και επηρεάζουν την τοξικότητα ή/και την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου



Φαρμακογονιδιωματική (4)

Μεγάλης σημασίας είναι κληρονομικοί παράγοντες που επηρεάζουν την **φαρμακοκινητική** και τη **φαρμακοδυναμική**.

Ποικιλομορφία στην φαρμακοκινητική: Ποικιλομορφία στη μεταφορά του φαρμάκου στα σημεία δράσης του φαρμάκου ή στην απομάκρυνση του από αυτά. Οι θέσεις αυτές καθορίζουν σε σημαντικό βαθμό την αποτελεσματικότητα και/ή την τοξικότητα του φαρμάκου. Σημαντικό ρόλο στη φαρμακοκινητική παίζουν **ένζυμα που μεταβολίζουν τα φάρμακα** (Drug-metabolising enzymes-DMEs) και **μόρια-μεταφορείς των φαρμάκων** (Drug transportes DT)

Ποικιλομορφία στην φαρμακοδυναμική: Διαφορετική επίδραση των φαρμάκων παρά την ομοιόμορφη κατανομή του φαρμάκου στα διάφορα σημεία δράσης. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη διαφορετική δράση των **μορίων-στόχων των φαρμάκων**, τα οποία είναι **υποδοχείς** (Drug receptors-DR) ή **ένζυμα**

Φαρμακογονιδιωματική (5)

Η γενετική ποικιλομορφία στα γονίδια που κωδικοποιούν DMEs, DT και DR σχετίζεται με τις παρατηρούμενες διαφορές στην αποτελεσματικότητα και τοξικότητα του ίδιου φαρμάκου ανάμεσα στους διάφορους ασθενείς.

Η πλειονότητα των φαρμακογενετικών διαφορών αντιπροσωπεύουν διαφορές στο μεταβολισμό του φαρμάκου. Ένα μεγάλο ποσοστό φαρμακογενετικών διαφορών αντιπροσωπεύουν αλλαγές στα DT, DR και στις πρωτεΐνες πρόσδεσης. Φαρμακογενετικές διαφορές στην απορρόφηση και αποβολή των φαρμάκων είναι σχετικά σπάνιες.

Φαινότυποι του μεταβολισμού των φαρμάκων

- ❑ **Ultra-extensive metabolizer (UEM):** Υπολειπόμενη αυτοσωμική κληρονομικότητα. Οφείλεται σε ενίσχυση του γονίδιου.
- ❑ **Extensive metabolizer (EM):** Επικρατής κληρονομικότητα, κληρονομείται είτε σαν ομόζυγο είτε σαν ετερόζυγο για το αλληλόμορφο άγριου τύπου.
- ❑ **Intermediate metabolizer (IM):** Οφείλεται στην παρουσία ενός μόνο αλληλόμορφου αγρίου τύπου.
- ❑ **Poor metabolizer (PM):** Υπολειπόμενη αυτοσωμική κληρονομικότητα. Οφείλεται σε μετάλλαξη και/ή απαλοιφή των δύο αλληλόμορφων. Κληρονομείται σαν ομόζυγο ή ετερόζυγο για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο.

Ένζυμα του κυτοχρώματος P450 (CYP450)

- ❑ Τα πιο σημαντικά ένζυμα μεταβολισμού των φαρμάκων (DMEs)
- ❑ Εμπλέκεται στη βιοσύνθεση και αποικοδόμηση ενδογενών ουσιών (στεροειδή, λιπίδια, βιταμίνες)
- ❑ Υπεύθυνο για την αποικοδόμηση εξωγενών ουσιών
- ❑ Υψηλά επίπεδα πολυμορφισμού
- ❑ 57 CYP450 γονίδια-Χρωμόσωμα 7q22.1
- ❑ Οι CYP1, CYP2, CYP3 οικογένειες συμβάλλουν στο μεταβολισμό των φαρμάκων
- ❑ Τα CYP ένζυμα εμπλέκονται στον οξειδωτικό μεταβολισμό της πλειοψηφίας των φαρμάκων
- ❑ Εντοπίζονται κυρίως στο εντερικό επιθήλιο και στο ήπαρ
- ❑ 50% της δράσης των ενζύμων εντοπίζεται στο ήπαρ

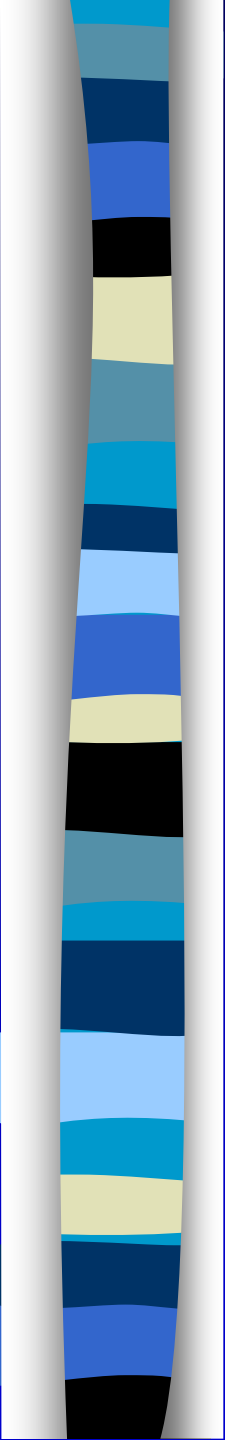
Κυτόχρωμα P450-2D6 (CYP2D6)

- ❑ Σημαντικός ρόλος στο μεταβολισμό πολλών γνωστών και ευρέως χρησιμοποιούμενων φαρμάκων
- ❑ Το γονίδιο **CYP2D6** εδράζεται στο γενετικό τόπο 22q13.1, κοντά σε 2 ψευδογονίδια του P450. Βρέθηκαν, μέχρι σήμερα, 78 εναλλακτικά μετάγραφα.
- ❑ Γενετικοί πολυμορφισμοί λόγω: SNPs, απαλοιφή του γονιδίου, διπλασιασμός ή πολλαπλασιασμός του γονιδίου
- ❑ Οι πολυμορφισμοί του CYP2D6 σχετίζονται με:
 - Φαινότυπο PM (πλήρης έλλειψη της πρωτεΐνης, υπολειπόμενη κληρονομικότητα)
 - Φυσιολογικό μεταβολισμό (SNP)
 - Αυξημένο μεταβολισμό (πολλαπλές μεταλλάξεις του ενός αλληλομόρφου)
 - Φαινότυπο UEM (διπλασιασμός/ ενίσχυση του γονιδίου-το ένζυμο είναι λειτουργικό αλλά έχει αυξημένη καταλυτική δράση)

Κυτόχρωμα P450-2D6 (CYP2D6)

Κλινική σημασία των CYP2D6 πολυμορφισμών:

- Οι ασθενείς με φαινότυπο PM εμφανίζουν το μεγαλύτερο κίνδυνο παρενεργειών → Υψηλή συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα
- Μη ωφέλιμη δράση του φαρμάκου σε ασθενείς με φαινότυπο UEM → Χαμηλή συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα



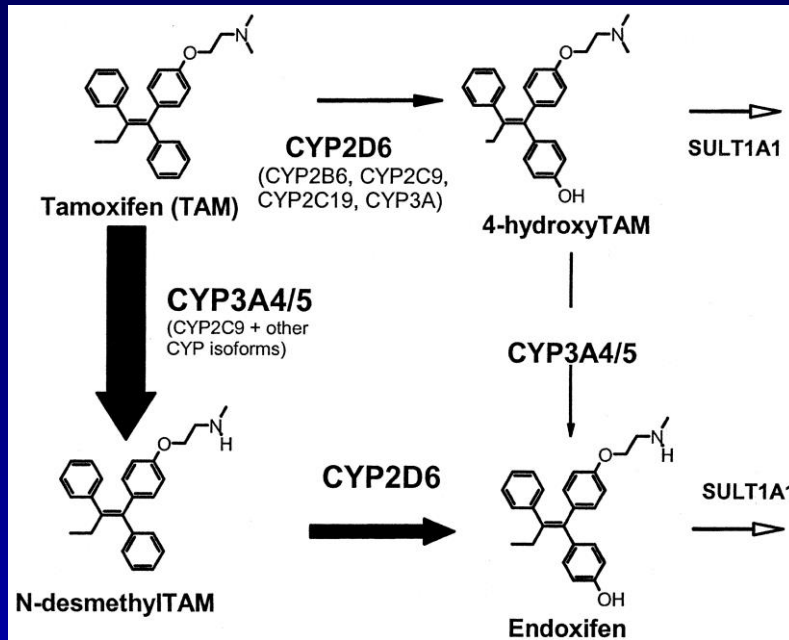
Φαρμακογονιδιωματική και καρκίνος

- Εξατομικευμένη θεραπεία με το αντιοιστρογόνο tamoxifen ασθενών με καρκίνο του μαστού βάσει των CYP2D6 αλληλόμορφων. Γενικότερα, απαιτείται η ύπαρξη ορμονικών υποδοχέων οιστρογόνων (ER) ή/και προγεστερόνης (PR) στα κύτταρα του όγκου για να δράση.
- Εξατομικευμένη θεραπεία με irinotecan ασθενών με καρκίνο του εντέρου βάσει των UGT1A1 (UDP glucuronosyltransferase family 1 member A1) αλληλομόρφων για την αποφυγή παρενεργειών κατά την θεραπεία.
- Εξατομίκευση της θεραπείας με Herceptin (trastuzumab) για καρκίνο του μαστού με βάση το γονίδιο HER2 (EGFR2).
- Εξατομίκευση της θεραπείας με TKI αναστολείς EGFR (gefitinib, erlotinib) ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα βάσει του γονοτύπου στο γονίδιο EGFR.
- Πολυμορφισμοί στον υποκινητή του γονιδίου TPMT ως πιθανοί φαρμακογενετικοί δείκτες στη θεραπεία με 6-MP (6-mercaptopurine).

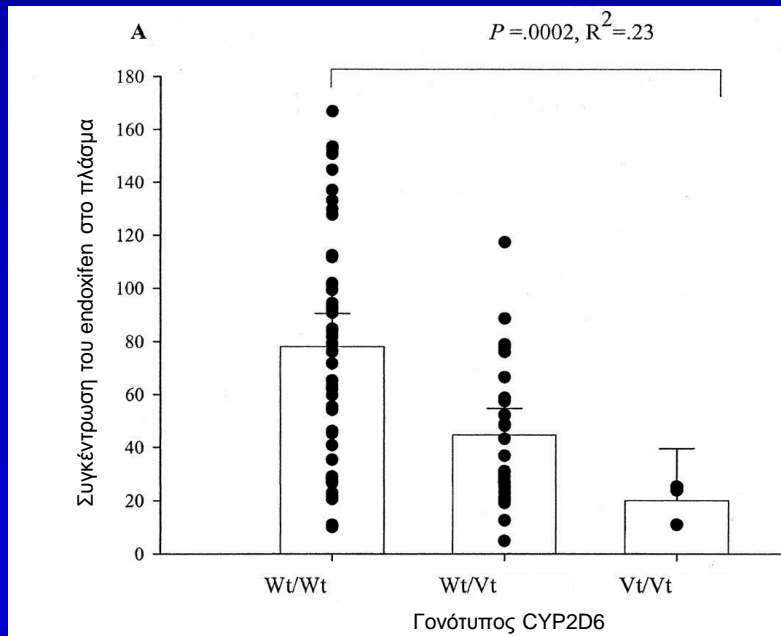
Ταμοξιφεν- Καρκίνος του μαστού

- Περίπου 500,000 ασθενείς λαμβάνουν tamoxifen
- Το CYP2D6 επηρεάζει τον μεταβολισμό του tamoxifen στον ενεργό μεταβολίτη του, endoxifen, το οποίο είναι 30-100 φορές ενεργότερο.
- Τα άτομα που φέρουν γενετική αλλαγή στο CYP2D6 και μεταβολίζουν ανεπαρκώς το φάρμακο αποτελούν το 7 – 10% του γενικού πληθυσμού.
- Σήμερα, έχει αναφερθεί 35% βαθμός αποτυχίας στη θεραπεία ο οποίος θα μπορούσε να μειωθεί στο 10% σε συνδυασμό με την μοριακή γονιδιακή ανάλυση.

Ανταπόκριση στο tamoxifen



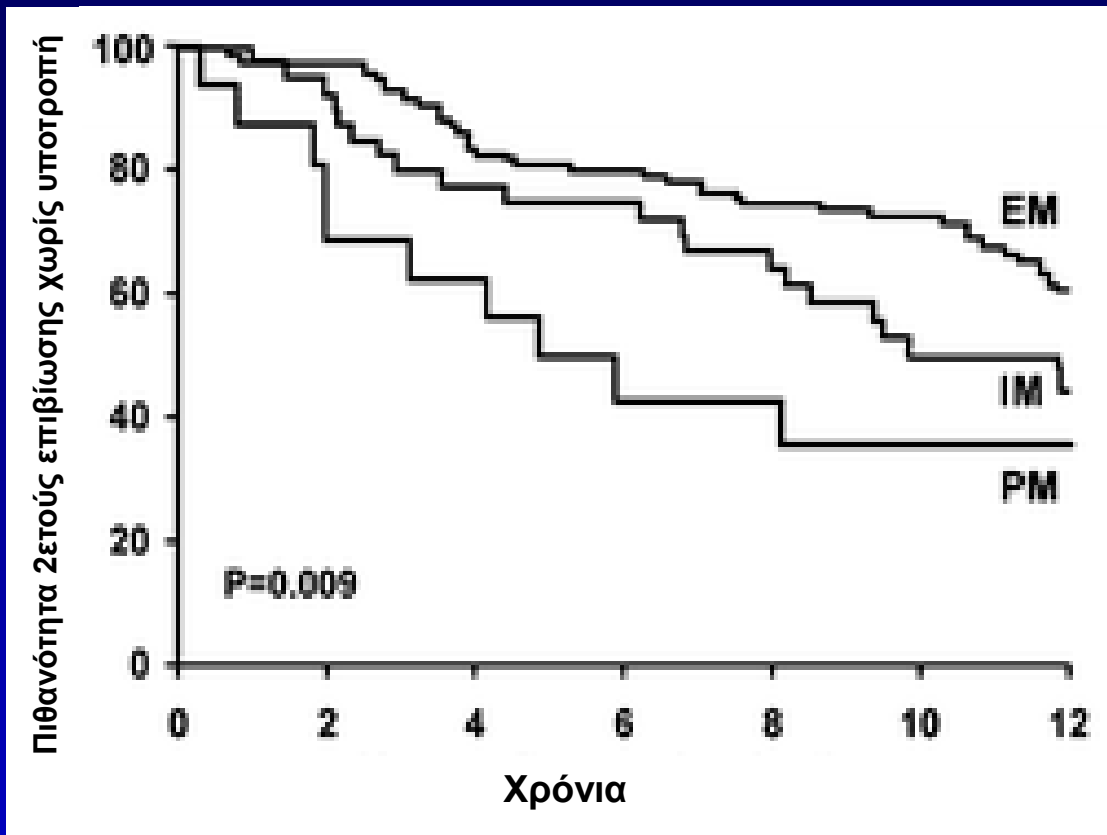
Μεταβολισμός του tamoxifen: Η μετατροπή του tamoxifen σε 4-desmethyl tamoxifen καταλύεται κυρίως από την ισομορφή CYP3A4/5. Ο σχηματισμός του 4-hydroxytamoxifen και του endoxifen καταλύεται κυρίως από το CYP2D6



Αυξημένη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο πλάσμα ασθενών με απουσία γενετικού πολυμορφισμού του CYP2D6

- Wt/Wt: Απουσία γενετικού πολυμορφισμού
- Wt/Vt: Γενετικός πολυμορφισμός στο ένα αλληλόμορφο
- Vt/Vt: Γενετικός πολυμορφισμός και στα δύο αλληλόμορφα

Ανταπόκριση στο tamoxifen



- EM: Extensive metabolizer
- IM: Intermediate metabolizer
- PM: Poor metabolizer

Επιβίωση ασθενών ανάλογα με τα επίπεδα μεταβολισμού του φαρμάκου:

- 82% για 10 έτη, Extensive metabolizer
- 55% για 10 έτη, Intermediate metabolizer
- 38% για 10 έτη, Poor metabolizer

Herceptin- Καρκίνος του μαστού

Κατηγοριοποίηση των ασθενών με καρκίνο του μαστού σε 4 μοριακούς υπότυπους με βάση τα επίπεδα έκφρασης:

- των υποδοχέων οιστρογόνων (ER)
- των υποδοχέων προγεστερόνης (PR)
- του πυρηνικού αντιγόνου Ki-67
- του υποδοχέα HER2

Μοριακοί Υπότυποι

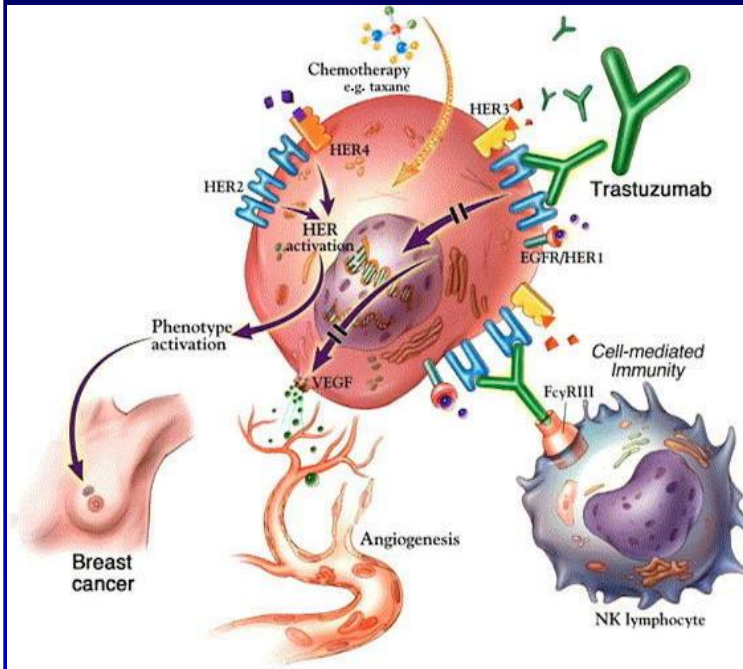
- Luminal A → ER θετικοί και/ή PR θετικοί, HER2 αρνητικοί, χαμηλή έκφραση Ki67
- Luminal B → ER θετικοί και/ή PR θετικοί, HER2 θετικοί ή αρνητικοί, υψηλή έκφραση Ki67
- Triple Negative → ER αρνητικοί και PR αρνητικοί και HER2 αρνητικοί
- HER2-Positive → ER αρνητικοί και PR αρνητικοί και HER2 θετικοί

Herceptin- Καρκίνος του μαστού (1)

Οι ασθενείς με όγκους μαστού HER2 υποτύπου έχουν δυσμενή πρόγνωση, ωστόσο η χρήση μοριακά στοχευμένης θεραπείας με το μονοκλωνικό αντίσωμα Herceptin, έχει συμβάλει σημαντικά στη βελτίωση της πρόγνωσης των ασθενών

Απαιτείται ο προσδιορισμός της έκφρασης του HER2 υποδοχέα σε όλες τις ασθενείς με καρκίνο μαστού, με σκοπό να ανιχνευθούν κατάλληλοι υποψήφιοι για τη χορήγηση μοριακά στοχευμένης θεραπείας (Herceptin)

Herceptin (trastuzumab) - Καρκίνος του μαστού



Information

Το Herceptin οδηγεί στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη G1 φάση, στην ενεργοποίηση ανοσολογικής απόκρισης δρώντας ως ισχυρός μεσολαβητής της, καταστέλλει την νεοαγγειογένεση και ευαισθητοποιεί τους HER2 θετικούς όγκους στις κυτταροτοξικές θεραπείες.

- Ανασυνδυασμένο εξανθρωποποιημένο IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα, έναντι του HER2 υποδοχέα
- Δεσμεύεται με υψηλή συγγένεια στην εξωκυτταρική περιοχή του HER2 (ERBB2) υποδοχέα, αναστέλλοντας την ανεξάρτητη από το προσδέτη μετάδοση σήματος από τον HER2.
- Εμποδίζει την πρωτεολυτική αποδόμηση του εξωκυτταρικού του τμήματος, που αποτελεί ένα μηχανισμό ενεργοποίησης του HER2.

Στόχευση HER2 στα αδενοκαρκινώματα του οισοφάγου και του στομάχου

- ❑ Εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια στην έκφρασή του στα αδενοκαρκινώματα του οισοφάγου και του στομάχου
- ❑ Η υπερέκφραση και ενίσχυση του HER2 εμφανίζεται σε 6–35% των αδενοκαρκινομάτων του οισοφάγου και του στομάχου.
- ❑ Πρόσφατα αναθεωρήθηκαν οι οδηγίες για την αξιολόγηση της έκφρασης του HER2 τα οποία διαφέρουν σημαντικά από της αντίστοιχες στο καρκίνο του μαστού.

▶ Information

Guidelines for Scoring HercepTest™ - Gastric Cancer

Surgical Specimens	Score to Report	HER2 Protein Overexpression Assessment	Staining Pattern
	0	Negative	No reactivity or membranous reactivity in < 10% of tumor cell
1+	Negative	Faint/barely perceptible membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells; cells are reactive only in part of their membrane	
2+	Equivocal	Weak to moderate complete, basolateral or lateral membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells	
3+	Positive	Strong complete, basolateral or lateral membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells	

Guidelines based on Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopath* 2008; 52:797–805. For more details, please refer to the current version of the package insert provided with the HercepTest™ kit or visit www.dako.com

Biopsy Specimens	Score to Report	HER2 Protein Overexpression Assessment	Staining Pattern
	0	Negative	No reactivity or no membranous reactivity in any (or < 5 clustered) tumor cell
1+	Negative	Tumor cell cluster (≥ 5 cells) with a faint/barely perceptible membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained	
2+	Equivocal	Tumor cell cluster (≥ 5 cells) with a weak to moderate complete, basolateral or lateral membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained	
3+	Positive	Tumor cell cluster (≥ 5 cells) with a strong complete, basolateral or lateral membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained	

Oncotype DX στον καρκίνο του μαστού

Πάνελ από 21 γονίδια

PROLIFERATION KI-67 STK15 Survivin Cyclin B1 MYBL2	INVASION Stromelysin 3 Cathepsin L2	HER2 GRB7 HER2
ESTROGEN ER PR Bcl2 SCUBE2	REFERENCE Beta-actin GAPDH RPLPO GUS TFRC	OTHER GSTM1 CD68 BAG1

▶ Information

Η δοκιμασία Μοριακής Διαγνωστικής "Oncotype DX® " είναι μια εξέταση γονιδιώματος που αναλύει την έκφραση μιας ομάδας γονιδίων που μπορεί να επηρεάσει τον τρόπο με τον οποίο ένας καρκίνος είναι πιθανό να συμπεριφερθεί και να ανταποκριθεί στη θεραπεία. Το Oncotype DX χρησιμοποιείται με δύο κυρίως τρόπους:



Το Oncotype DX χρησιμοποιείται με δύο κυρίως τρόπους:

α. Για να βοηθήσει τους κλινικούς ογκολόγους να εκτιμήσουν τον κίνδυνο επανεμφάνισης του καρκίνου του μαστού σε πρώιμο στάδιο, καθώς επίσης και το πόσο πιθανό είναι να ωφεληθεί η ασθενής από χημειοθεραπεία μετά από χειρουργική επέμβαση καρκίνου του μαστού στο στάδιο αυτό.

β. Για να βοηθήσει τους κλινικούς ογκολόγους να εντοπίσουν τον κίνδυνο επανεμφάνισης του "In Situ" πορογενούς καρκινώματος του μαστού (DCIS) ή / και του κινδύνου εμφάνισης ενός νέου διηθητικού καρκίνου στο ίδιο μαστό, καθώς και το πόσο πιθανό είναι να ωφεληθεί η ασθενής από την ακτινοθεραπεία μετά DCIS χειρουργική επέμβαση.

Άλλες Μοριακές Δοκιμασίες στον καρκίνο του μαστού:

- Breast Cancer Index test
- EndoPredict test
- Mammostrat test
- Prosigna Breast Cancer Prognostic Gene Signature Assay

Oncotype DX στον καρκίνο του παχέος εντέρου

Πάνελ από 12 γονίδια

The Oncotype DX Colon Recurrence Score 12-Gene Panel

Cell Cycle
Ki-67
C-MYC
MYBL2

Stromal
FAP
BGN
INHBA

GADD45B

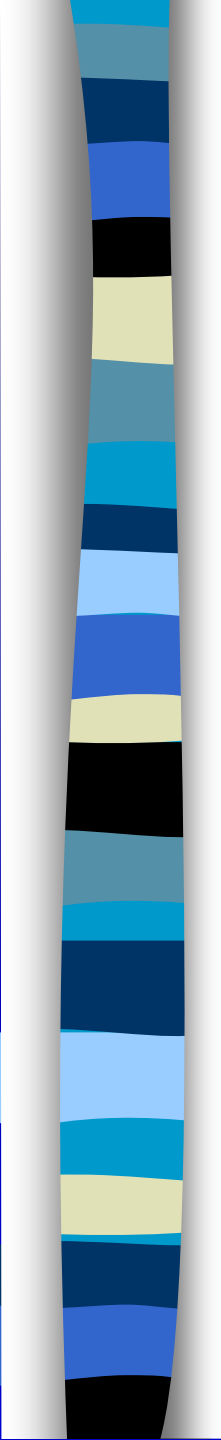
ATP5E	UBB
PGK1	VDAC2
GPX1	

5 reference genes normalize the expression of cancer-related genes

7 cancer genes consistently associated with colon cancer recurrence

▶ Information

Η Oncotype DX[®] είναι μια πολυγονιδιακή διαγνωστική εξέταση η οποία προσδιορίζει τον ατομικό κίνδυνο υποτροπής του καρκίνου του παχέος εντέρου:



α. Για ασθενείς σε στάδιο II, που έχουν υψηλότερο σκορ υποτροπής (άρα και υψηλότερο κίνδυνο) μπορεί να επωφεληθούν περισσότερο από τη χημειοθεραπεία σε σχέση με αυτούς που έχουν χαμηλότερο σκορ.

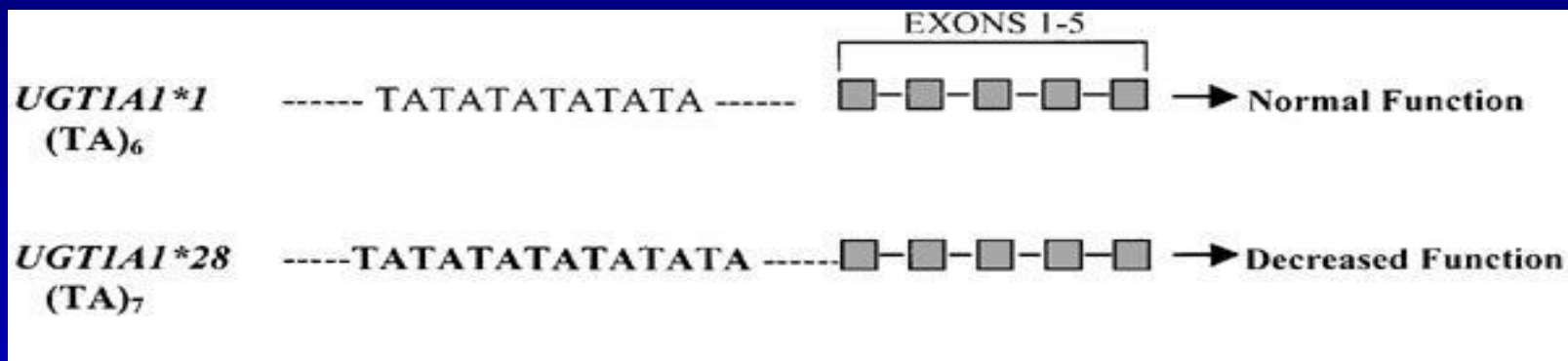
β. Για ασθενείς σε στάδιο III A/B, που έχουν χαμηλότερο σκορ υποτροπής μπορεί να επωφεληθούν λιγότερο από ορισμένα φάρμακα σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία σε σχέση με αυτούς που έχουν υψηλότερο σκορ.

Άλλες Μοριακές Δοκιμασίες στον καρκίνο του παχέος εντέρου:

- Invitae Colorectal Cancer Panel
- Hereditary Colon Cancer Multi-Gene Panel (HCRC)
- ColoNext®
- COLARIS® και COLARIS AP®

Irinotecan-Καρκίνος του παχέος εντέρου

- Εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία καρκίνου του εντέρου και του πνεύμονα σε προχωρημένο στάδιο. Η ιρινοτεκάνη δρά ως αναστολέας της τοποϊσομεράσης I.
- Τοξικότητα που περιλαμβάνει διάρροια, τάση για εμετό και ουδετεροπενία



UGT1A1: Πολυμορφικές επαναλήψεις TA στο TATA box, (TA)5, (TA)6, (TA)7, (TA)8

Το ένζυμο UGT1A1 (UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1), οδηγεί σε γλυκουρονιδίωση του ενεργού μεταβολίτη της ιρινοτεκάνης SN-38 (παράγεται στον οργανισμό από καρβοξυλ-εστεράσες). Ασθενείς με χαμηλό ρυθμό γλυκουρονιδίωσης συσσωρεύουν SN-38 και αναπτύσσουν τοξικές αντιδράσεις.

Τοξικότητα στο irinotecan και πολυμορφισμοί στον υποκινητή UGT1A1

Ασθενείς ομόζυγοι στο αλληλόμορφο UGT1A1*28 (7/7) έχουν αυξημένη πιθανότητα να εμφανίσουν ανεπιθύμητες παρενέργειες κατά τη θεραπεία με irinotecan, όπως ουδετεροπενία, τάση εμετού και διάρροια

NDA 20-571

Camptosar®(irinotecan HCl)

Camptosar®

irinotecan hydrochloride injection

UGT1A1

Final Label

Patients with Reduced UGT1A1 Activity

Individuals who are homozygous for the UGT1A1*28 allele are at increased risk for neutropenia following initiation of CAMPTOSAR treatment. A reduced initial dose should be considered for patients known to be homozygous for the UGT1A1*28 allele (see DOSAGE AND ADMINISTRATION). Heterozygous patients (carriers of one variant allele and one wild-type allele which results in intermediate UGT1A1 activity) may be at increased risk for neutropenia; however, clinical results have been variable and such patients have been shown to tolerate normal starting doses.

Πρόσφατα αναθεωρήθηκε το φύλλο οδηγιών του φαρμάκου irinotecan και προειδοποιεί για τις πιθανές παρενέργειες σε σχέση με τον γονότυπο του ασθενούς

Μονοκλωνικά αντισώματα που έχουν εγκριθεί για τη θεραπεία του καρκίνου στον άνθρωπο

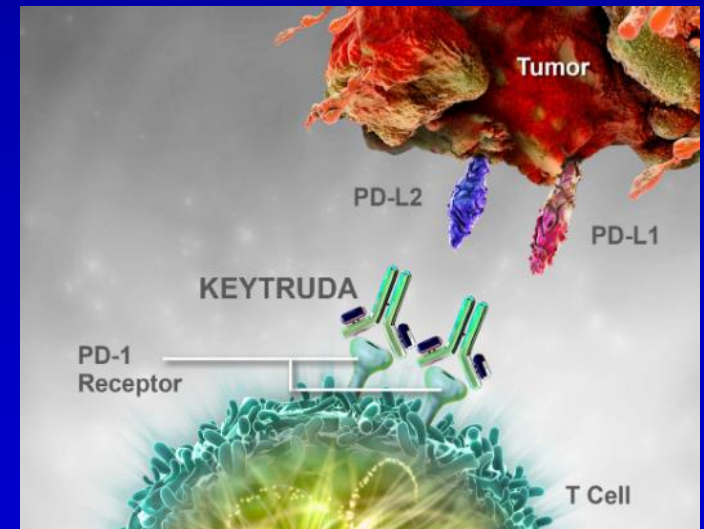
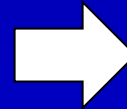
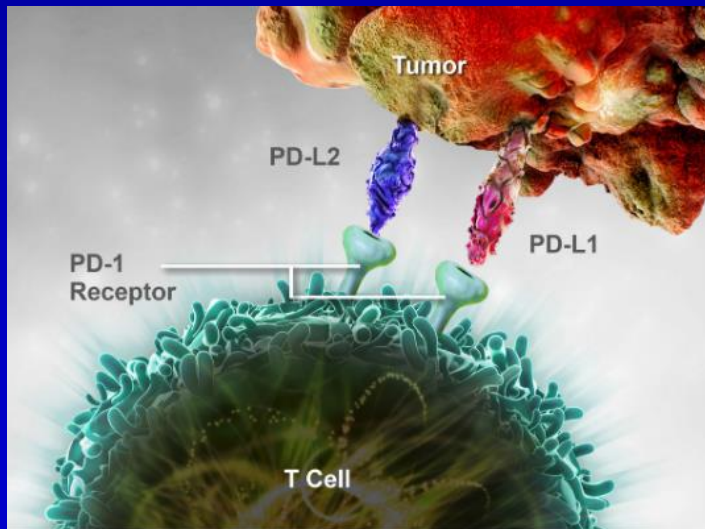
Αντίσωμα	Εμπορική ονομασία (εταιρεία)	Στόχος	Τύπος αντισώματος	Τύπος καρκίνου
Alemtuzumab	Campath (Genzyme)	CD52	Ανθρωποποιημένο	ΧΛΛ
Bevacizumab	Avastin (Roche)	VEGFA	Ανθρωποποιημένο	CRC, NSCLC, RCC, γλοιοβλάστωμα
Cetuximab	Erbix (Bristol-Myers Squibb/Lilly)	EGFR	Χιμαιρικό	CRC, μαστού, πνεύμονα
Daratumumab	Darzalex (Janssen)	CD38	Ανθρώπινο	ΠΜ
Denosumab	Xgeva/Prolia (Amgen)	Προσδέτης του RANK	Ανθρώπινο	Οστικές μεταστάσεις συμπαγών όγκων
Gemtuzumab ozogamicin	Mylotarg (Pfizer/Wyeth)	CD33	Ανθρωποποιημένο	ΟΜΛ
Nimotuzumab	Theraloc/Thera CIM (YM Biosciences)	EGFR	Ανθρωποποιημένο	Κεφαλής και τραχήλου
Obinutuzumab	Gazyva (Genentech/Roche)	CD20	Ανθρωποποιημένο	ΧΛΛ, θυλακικό λέμφωμα
Ofatumumab	Azerra (GlaxoSmithKline)	CD20	Ανθρώπινο	ΧΛΛ
Olaratumab	Lartruvo (Lilly)	PDGFRα	Ανθρώπινο	Σάρκωμα μαλακών μορίων
Panitumumab	Vectibix (Amgen)	EGFR	Ανθρώπινο	CRC
Pertuzumab	Perjeta (Roche)	HER2	Ανθρωποποιημένο	Μαστού
Rituximab	Rituxan/MabThera (Biogen, Roche)	CD20	Χιμαιρικό	Λέμφωμα μη Hodgkin
Tositumomab, ¹³¹ I-tositumomab	Bexxar (GlaxoSmithKline)	CD20	Από ποντικό	Λέμφωμα
Trastuzumab	Herceptin (Roche)	HER2	Ανθρωποποιημένο	Μαστού

ΧΛΛ: Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, CRC: Καρκίνος παχέος εντέρου, NSCLC: Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, RCC: Καρκίνος του νεφρού, ΠΜ: Πολλαπλούν μυέλωμα, ΟΜΛ: Οξεία μυελογενής λευχαιμία

▶ Information

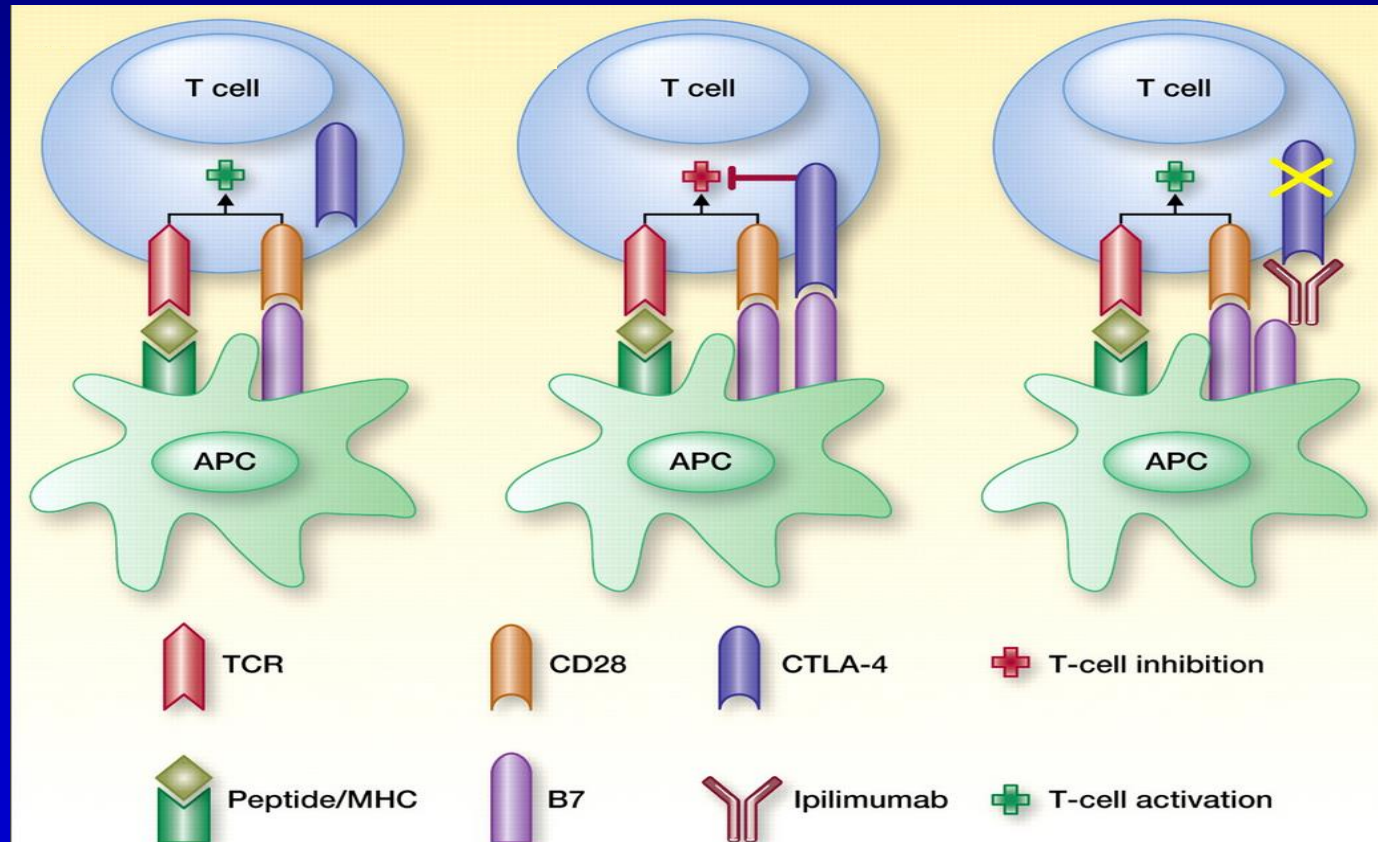
Πεμπρολιζουμάμπη (Keytruda, Merck)

- Ανασυνδυασμένο ανθρωποποιημένο IgG4 μονοκλωνικό αντίσωμα, έναντι του PD-1 υποδοχέα των Τ κυττάρων
- Δεσμεύεται με υψηλή συγγένεια στον υποδοχέα PD-1 εμποδίζοντας την αλληλεπίδρασή του με τους κατασταλτικούς ρυθμιστές PD-L1/L2 που εκφράζονται από τα καρκινικά κύτταρα
- Το μονοπάτι PD-1/PD-L1/2 περιορίζει την υπερδιέγερση των Τ-κυττάρων. Στον καρκίνο, η δέσμευση οποιουδήποτε από τα δύο μόρια οδηγεί σε μειωμένο πολλαπλασιασμό και κυτταροτοξικότητα των Τ-κυττάρων, ευαισθησία των Τ-κυττάρων σε απόπτωση, οδηγώντας σε εξάντληση των Τ-κυττάρων και αρνητική ρύθμιση της αντικαρκινικής απόκρισης



Ιπιλιμουμάμπη (Yervoy, Bristol Myers Squibb)

- IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση μεταξύ CTLA-4 (CD152) και B7-1/2
- Το κυτταροτοξικό T-λεμφοκυτταρικό αντιγόνο-4 (CTLA-4) είναι αρνητικός ρυθμιστής της ενεργοποίησης των T-κυττάρων. Το ipilimumab αποτελεί ενισχυτή-ενεργοποιητή των T-κυττάρων ο οποίος εμποδίζει ειδικά το ανασταλτικό σήμα του CTLA-4



FDA approved immune checkpoint inhibitors

(Αναστολείς των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος)

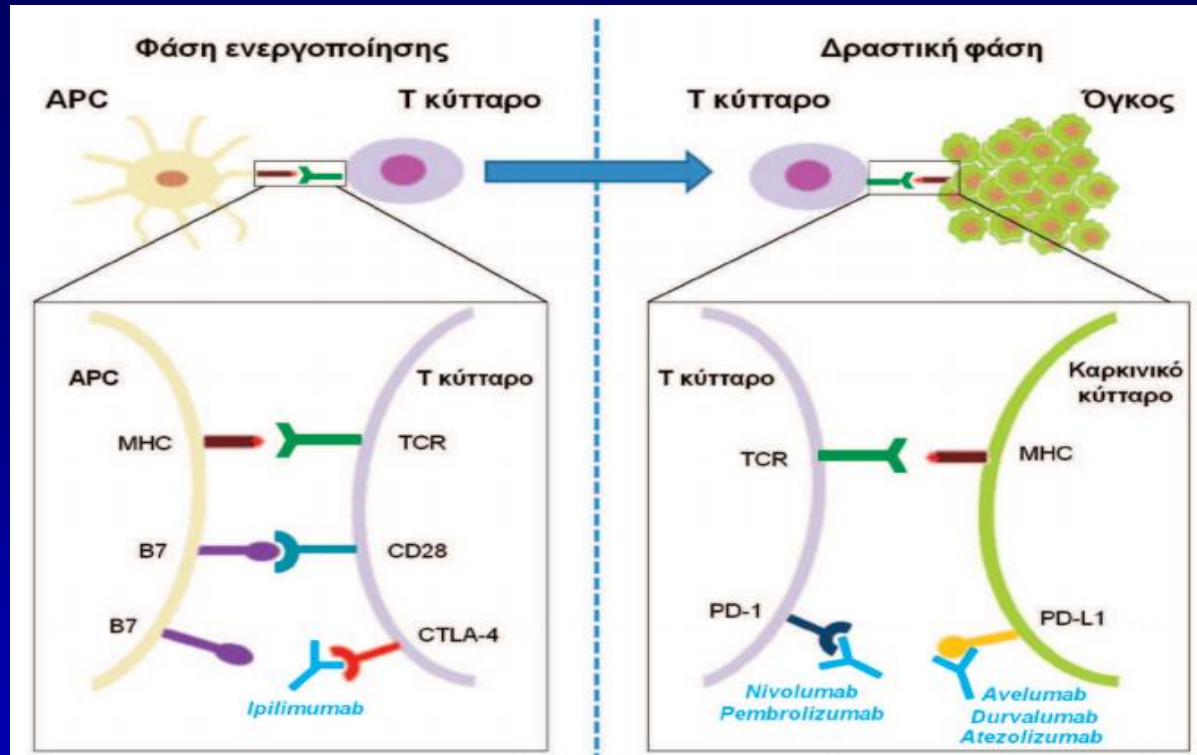
Αντίσωμα	Εμπορική ονομασία (εταιρεία)	Στόχος	Τύπος αντισώματος	Τύπος καρκίνου
Ipilimumab	Yervoy (Bristol Myers Squibb)	CTLA-4	Ανθρώπινο	Μελάνωμα
Pembrolizumab	Keytruda (Merck)	PD-1	Ανθρωποποιημένο	Μελάνωμα, NSCLC, πλακώδες καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου, λέμφωμα Hodgkin
Nivolumab	Opdivo (Bristol Myers Squibb)	PD-1	Ανθρώπινο	Μελάνωμα, NSCLC, πλακώδες καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου, RCC, λέμφωμα Hodgkin, ουροθηλιακό καρκίνωμα
Atezolizumab	Tecentriq (Genentech/Roche)	PD-L1	Ανθρωποποιημένο	Ουροθηλιακό καρκίνωμα, NSCLC
Avelumab	Bavencio (EMD Serono)	PD-L1	Ανθρώπινο	Καρκίνωμα κυττάρων Merkel
Durvalumab	Imfinzi (AstraZeneca)	PD-L1	Ανθρώπινο	Ουροθηλιακό καρκίνωμα

NSCLC: Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, RCC: Καρκίνος του νεφρού

Information

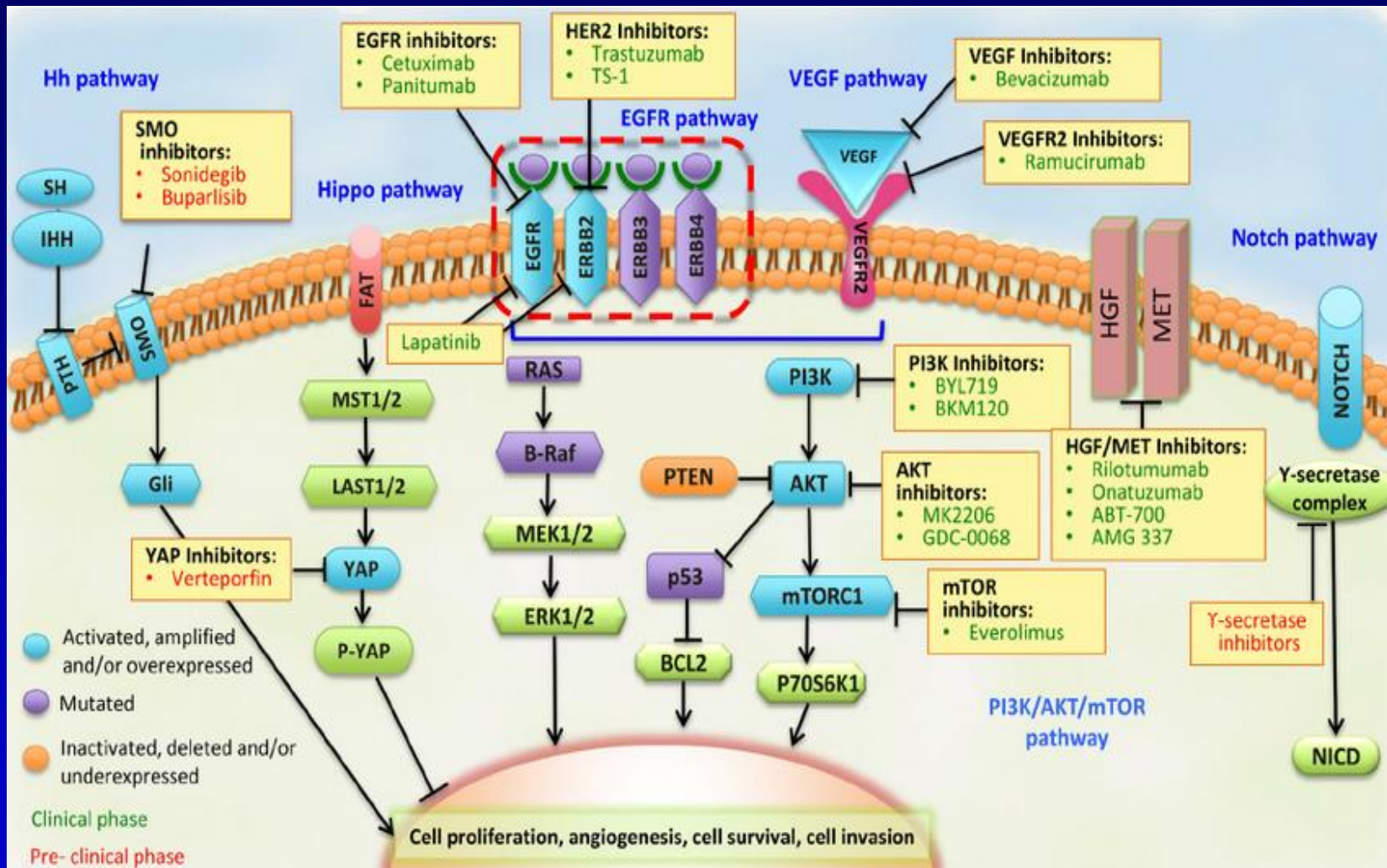
Στον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται τα αντισώματα-αναστολείς των σημείων ελέγχου της ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος τα οποία έχουν εγκριθεί από τον οργανισμό τροφίμων και φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) στη θεραπεία διαφόρων τύπων κακοηθειών του ανθρώπου.

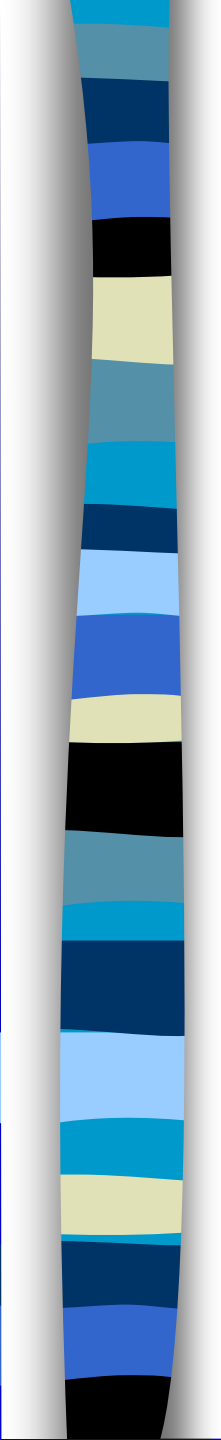
FDA approved immune checkpoint inhibitors



Τα Τ-κύτταρα αλληλεπιδρούν με τα APCs και λαμβάνουν το σήμα 1 (MHC/ καρκινικό αντιγόνο-TCR) και το σήμα 2 (B7-CD28). Τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα εκφράζουν το κατασταλτικό μόριο CTLA-4 (CD152), το οποίο αναστέλλεται από την ιπιλιμουμάμπη (*ipilimumab*), διατηρώντας την ενεργοποίησή τους. Κατά τη δραστική φάση (δεξιά), τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα μεταναστεύουν στον όγκο, όπου ο TCR τους αναγνωρίζει καρκινικά αντιγόνα σε συνδυασμό με MHC μόρια. Η πεμπρολιζουμάμπη (*pembrolizumab*) και η νιβολουμάμπη (*nivolumab*) αναστέλλουν το σημείο ελέγχου PD-1 και την αλληλεπίδρασή του με τον κατασταλτικό ρυθμιστή PD-L1, που εκφράζεται από τα καρκινικά κύτταρα. Η αβελουμάμπη (*avelumab*), η ατεζολιζουμάμπη (*atezolimumab*) και η δουρβαλουμάμπη (*durvalumab*) δεσμεύουν τον προσδέτη PD-L1 και αναστέλλουν την πρόσδεσή του στο PD-1. Ως αποτέλεσμα, τα Τ-κύτταρα αποφεύγουν την επαγόμενη από τον όγκο καταστολή.

Θεραπευτικοί στόχοι των κυριότερων σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στους καρκίνους του πεπτικού

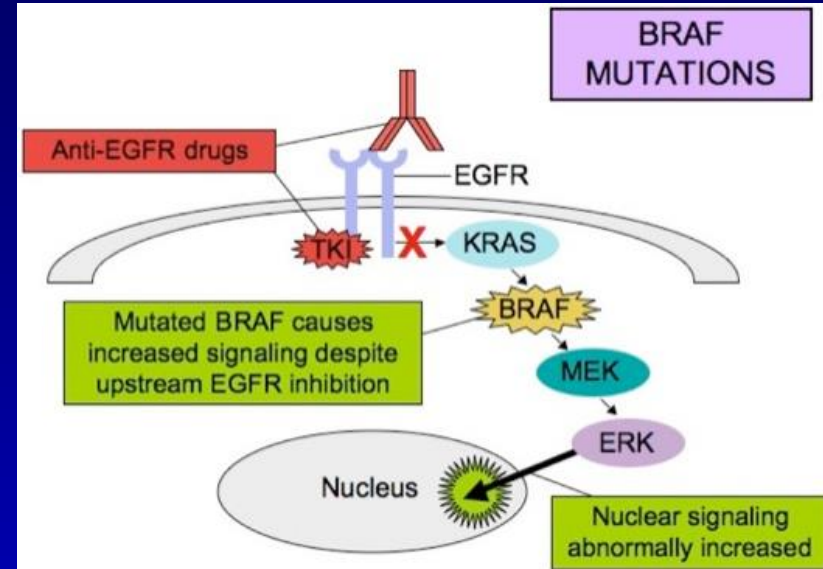
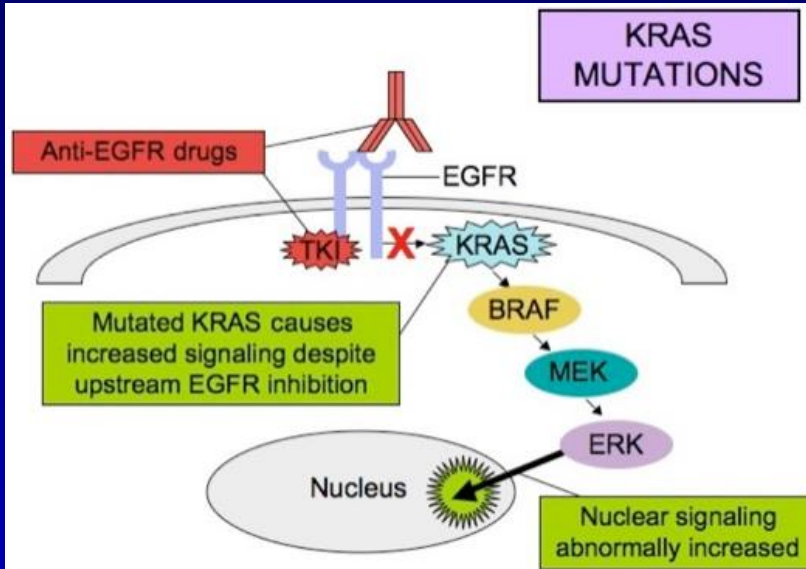




Μοριακή Διαγνωστική και καρκίνος: Σωματικές μεταλλάξεις που αποτελούν δείκτες πρόβλεψης της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία

- ❑ Ανταπόκριση στα EGFR αντισώματα (panitumumab και cetuximab) μέσω ανάλυσης των μεταλλάξεων στο γονίδιο *KRAS* στον καρκίνο του παχέος εντέρου.
- ❑ Πρόκειται για αντι-EGFR μονοκλωνικά αυτά αντισώματα
- ❑ Τα φάρμακα αυτά συνδέονται στο EGFR και εμποδίζουν την ανάπτυξη και επιβίωση των καρκινικών κυττάρων που εκφράζουν τον συγκεκριμένο υποδοχέα. Καταστέλλουν ανταγωνιστικά τη πρόσδεση συνδέσμων (ligands) στον υποδοχέα και αυτό οδηγεί σε μειωμένη κυτταρική ανάπτυξη και απόπτωση.
- ❑ Το ογκογονίδιο γονίδιο *KRAS* είναι μεταλλαγμένο στο 40% των καρκίνων του παχέος εντέρου με αποτέλεσμα να παραμένει συνεχώς ενεργό.
- ❑ Δεδομένου ότι η *KRAS* βρίσκεται σε επόμενο βήμα στο σηματοδοτικό μονοπάτι σε σχέση με το EGFR, η αναστολή του EGFR έχει πολύ μικρή επίδραση σε όγκους που η καρκινογένεση προκαλείται από μεταλλάξεις στο *KRAS*.
- ❑ Οι σωματικές μεταλλάξεις στα κωδικόνια 12 (6 μεταλλάξεις) και 13 (1 μετάλλαξη) του εξωνίου 1 *KRAS* μπορούν να ανιχνευθούν με ποικίλες μοριακές μεθοδολογίες βάση αυστηρών πρωτοκόλλων ελέγχου ποιότητας.

Μοριακή Διαγνωστική και καρκίνος: Σωματικές μεταλλάξεις που αποτελούν δείκτες πρόβλεψης της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία



▶ Information

Οι υποψήφιοι ασθενείς για θεραπεία με anti-EGFR είναι απαραίτητο να ελέγχονται για μεταλλάξεις στο *KRAS* και *BRAF*.

Πλεονεκτήματα της στοχευμένης θεραπείας

□ Πιο ισχυρά φάρμακα

Στοχευμένα φάρμακα για μία συγκεκριμένη ασθένεια, με αποτέλεσμα τη μεγιστοποίηση των θεραπευτικών επιδράσεων και ταυτόχρονα την περιορισμένη βλάβη των γειτονικών υγιών κυττάρων

□ Χρήση καλύτερων και ασφαλέστερων φαρμάκων από την αρχή της θεραπείας

Πιο σύντομη θεραπεία, μείωση της πιθανότητας εμφάνισης παρενεργειών

□ Πιο ακριβείς μέθοδοι καθορισμού της κατάλληλης δόσης

Οι τρέχουσες μέθοδοι καθορισμού της δόσης που βασίζονται στο βάρος και την ηλικία του ασθενούς θα αντικατασταθούν από τον καθορισμό της ιδανικής δόσης με βάση το γεντικό προφίλ του κάθε ασθενούς

Πλεονεκτήματα της στοχευμένης θεραπείας (1)

□ Βελτίωση της παρακολούθησης της εξέλιξης της ασθένειας

Η κατάλληλη θεραπεία θα χορηγείται στο κατάλληλο στάδιο της ασθένειας, βελτιώνοντας σημαντικά την επιτυχία της θεραπείας

□ Καλύτερα εμβόλια

Η δημιουργία εμβολίων με που θα περιέχουν DNA ή RNA υπόσχονται πλεονεκτήματα και αποφυγή των κινδύνων που συνοδεύουν τα υπάρχοντα εμβόλια

□ Βελτίωση της διαδικασίας ανακάλυψης νέων φαρμάκων και έγκρισης

Το κόστος των κλινικών δοκιμών θα μειωθεί σημαντικά καθώς θα επιλέγονται και θα συμμετέχουν σε αυτές μόνο οι ασθενείς που αναμένεται να ανταποκριθούν και να ωφεληθούν από τη συγκεκριμένη θεραπεία

□ Μείωση του συνολικού κόστους της φροντίδας της υγείας



Γονίδια και ανάπτυξη νέων φαρμάκων

- ❑ Από τα υπολογιζόμενα ~26.000 γονίδια του ανθρώπινου γονιδιώματος, μόνο 43 από τις κωδικοποιημένες πρωτεΐνες στοχεύονται από τα 100 πρώτα σε πωλήσεις φάρμακα
- ❑ Η εύρεση της αλληλουχίας του ανθρώπινου γονιδιώματος αποκάλυψε και άλλα βιομόρια που θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως στόχοι για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων
- ❑ Η επιβεβαίωση της σημαντικότητάς τους, ως στόχους φαρμάκων, είναι ακόμη μια επίπονη διαδικασία που απαιτεί κατανόηση του ρόλου του γονιδίου ή της πρωτεΐνης στην πορεία της νόσου.
- ❑ Παράλληλα με το ανθρώπινο γονιδίωμα έχουν αποκρυπτογραφηθεί μικροβιακά γονιδιώματα προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως αντιβακτηριδιακοί και αντιικοί στόχοι και γονίδια που προκαλούν ανοσολογική απόκριση για δημιουργία εμβολίων.

Προβλήματα στην εφαρμογή των γονιδιωματικών δοκιμασιών

- ❑ Γονιδιακός πλεονασμός (redundancy)
- ❑ Λειτουργική επικάλυψη γονιδίων. Το ίδιο φάρμακο μπορεί να μεταβολίζεται/ μεταφέρεται δια της μεμβράνης από διαφορετικά ένζυμα ή πρωτεΐνες
- ❑ Σπάνια αλληλόμορφα
- ❑ Επιγενετικές επιδράσεις όπως μεθυλίωση DNA, ομοιοπολική τροποποίηση ιστονών και χρωματίνης, παρεμβολή RNA. Επηρεάζουν τον τρόπο κληρονόμησης και τη διεισδυτικότητα του πολυμορφισμού
- ❑ Φυλετικές διαφορές στη κατανομή των πολυμορφισμών στους πληθυσμούς μπορεί να επηρεάζουν τη συσχέτιση με την ανταπόκριση
- ❑ Η μεγάλη απόσταση ανάμεσα στο γονότυπο και το φαινότυπο είναι ίσως το μεγαλύτερο εμπόδιο στην εξατομικευμένη θεραπεία. Η απόσταση αυτή μπορεί ενδεχομένως να καλυφθεί με τη χρήση άλλων τεχνικών



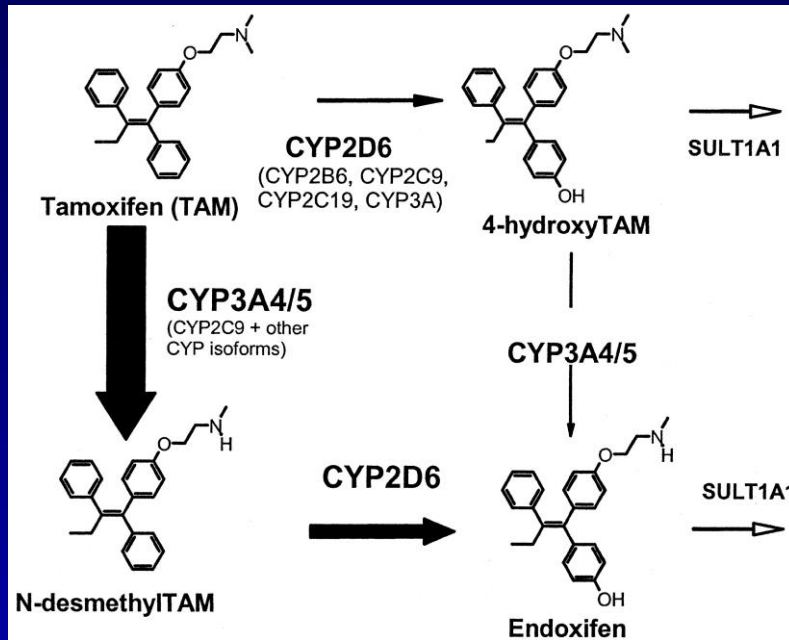
Εμπόδια στην ευρύτερη εφαρμογή των γονιδιωματικών δοκιμασιών στην κλινική πράξη

- ❑ Περιορισμένη ενημέρωση των κλινικών γιατρών
- ❑ Ασαφείς κατευθυντήριες γραμμές
- ❑ Ανεπαρκής ανάπτυξη πρωτοκόλλων
- ❑ Μη εξακριβωμένη κλινική αξιοπιστία και χρησιμότητα
- ❑ Ανεπαρκής χαρακτηρισμός αντιστοιχίας γονιδίου-φαρμάκου
- ❑ Κόστος
- ❑ Προβληματικά συστήματα υγείας
- ❑ Ανεπαρκής χαρακτηρισμός πολυμορφισμών στον πληθυσμό
- ❑ Ηθικές, νομικές και κοινωνικές ενστάσεις
- ❑ ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

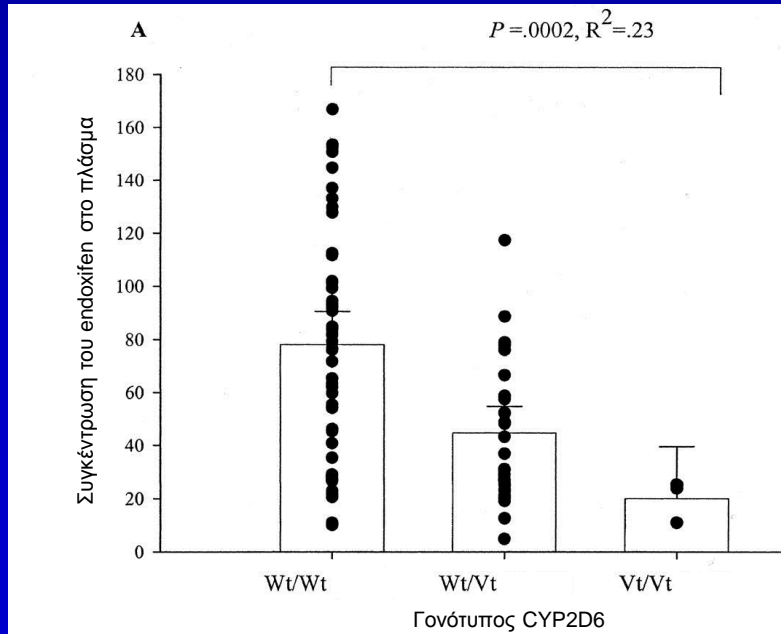
Ταμοξιφεν- Καρκίνος του μαστού

- Περίπου 500,000 ασθενείς λαμβάνουν tamoxifen
- Το CYP2D6 επηρεάζει τον μεταβολισμό του tamoxifen στον ενεργό μεταβολίτη του, endoxifen, το οποίο είναι 30-100 φορές ενεργότερο.
- Τα άτομα που φέρουν γενετική αλλαγή στο CYP2D6 και μεταβολίζουν ανεπαρκώς το φάρμακο αποτελούν το 7 – 10% του γενικού πληθυσμού.
- Σήμερα, έχει αναφερθεί 35% βαθμός αποτυχίας στη θεραπεία ο οποίος θα μπορούσε να μειωθεί στο 10% σε συνδυασμό με την μοριακή γονιδιακή ανάλυση.

Ανταπόκριση στο tamoxifen



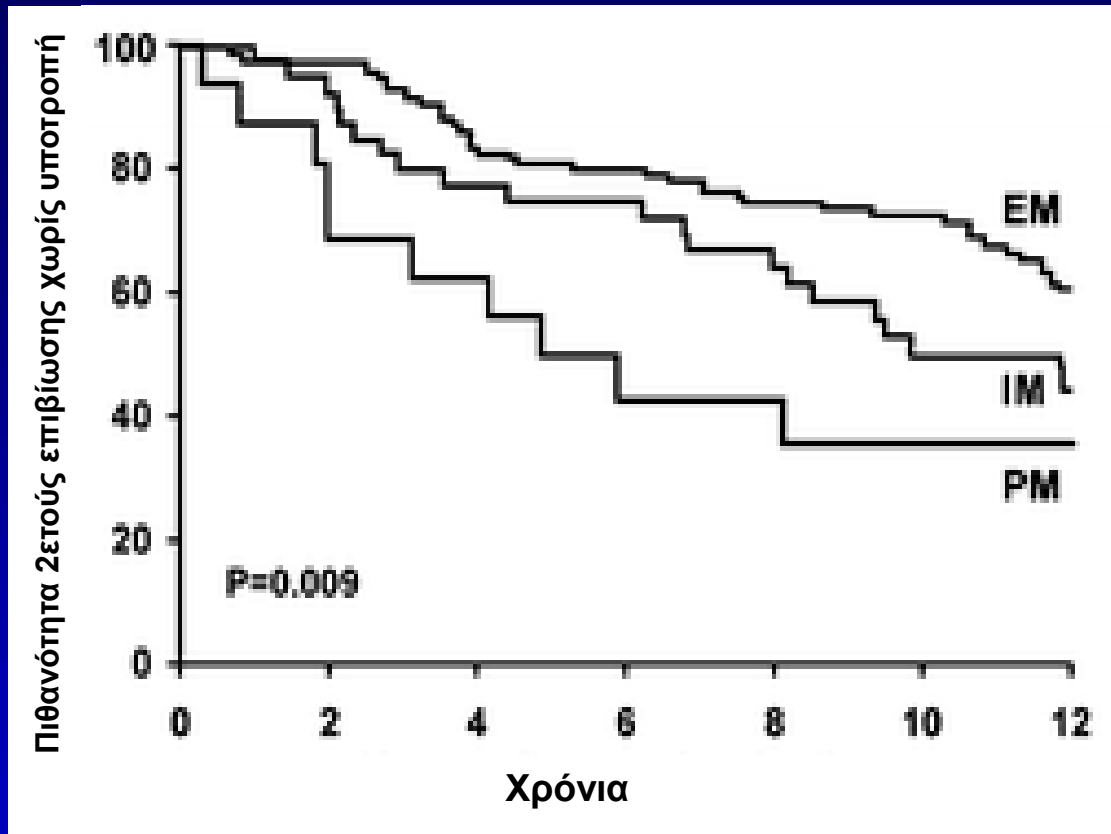
Μεταβολισμός του tamoxifen: Η μετατροπή του tamoxifen σε 4-desmethyl tamoxifen καταλύεται κυρίως από την ισομορφή CYP3A4/5. Ο σχηματισμός του 4-hydroxytamoxifen και του endoxifen καταλύεται κυρίως από το CYP2D6



Αυξημένη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο πλάσμα ασθενών με απουσία γενετικού πολυμορφισμού του CYP2D6

- Wt/Wt: Απουσία γενετικού πολυμορφισμού
- Wt/Vt: Γενετικός πολυμορφισμός στο ένα αλληλόμορφο
- Vt/Vt: Γενετικός πολυμορφισμός και στα δύο αλληλόμορφα

Ανταπόκριση στο tamoxifen



- EM: Extensive metabolizer
- IM: Intermediate metabolizer
- PM: Poor metabolizer

Επιβίωση ασθενών ανάλογα με τα επίπεδα μεταβολισμού του φαρμάκου:

- 82% για 10 έτη, Extensive metabolizer
- 55% για 10 έτη, Intermediate metabolizer
- 38% για 10 έτη, Poor metabolizer

Herceptin- Καρκίνος του μαστού

Κατηγοριοποίηση των ασθενών με καρκίνο του μαστού σε 4 μοριακούς υπότυπους με βάση τα επίπεδα έκφρασης:

- των υποδοχέων οιστρογόνων (ER)
- των υποδοχέων προγεστερόνης (PR)
- του πυρηνικού αντιγόνου Ki-67
- του υποδοχέα HER2

Μοριακοί Υπότυποι

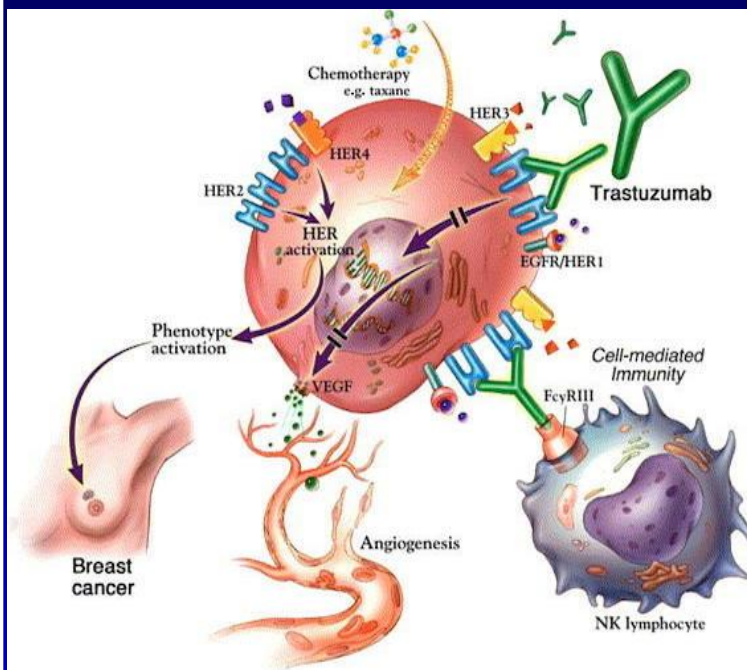
- Luminal A → ER θετικοί και/ή PR θετικοί, HER2 αρνητικοί, χαμηλή έκφραση Ki67
- Luminal B → ER θετικοί και/ή PR θετικοί, HER2 θετικοί ή αρνητικοί, υψηλή έκφραση Ki67
- Triple Negative → ER αρνητικοί και PR αρνητικοί και HER2 αρνητικοί
- HER2-Positive → ER αρνητικοί και PR αρνητικοί και HER2 θετικοί

Herceptin- Καρκίνος του μαστού (1)

Οι ασθενείς με όγκους μαστού HER2 υποτύπου έχουν δυσμενή πρόγνωση, ωστόσο η χρήση μοριακά στοχευμένης θεραπείας με το μονοκλωνικό αντίσωμα Herceptin, έχει συμβάλει σημαντικά στη βελτίωση της πρόγνωσης των ασθενών

Απαιτείται ο προσδιορισμός της έκφρασης του HER2 υποδοχέα σε όλες τις ασθενείς με καρκίνο μαστού, με σκοπό να ανιχνευθούν κατάλληλοι υποψήφιοι για τη χορήγηση μοριακά στοχευμένης θεραπείας (Herceptin)

Herceptin (trastuzumab) - Καρκίνος του μαστού



▶ Information

Το Herceptin οδηγεί στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη G1 φάση, στην ενεργοποίηση ανοσολογικής απόκρισης δρώντας ως ισχυρός μεσολαβητής της, καταστέλλει την νεοαγγειογένεση και ευαισθητοποιεί τους HER2 θετικούς όγκους στις κυτταροτοξικές θεραπείες.

- Ανασυνδυασμένο εξανθρωποποιημένο IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα, έναντι του HER2 υποδοχέα
- Δεσμεύεται με υψηλή συγγένεια στην εξωκυτταρική περιοχή του HER2 (ERBB2) υποδοχέα, αναστέλλοντας την ανεξάρτητη από το προσδέτη μετάδοση σήματος από τον HER2.
- Εμποδίζει την πρωτεολυτική αποδόμηση του εξωκυτταρικού του τμήματος, που αποτελεί ένα μηχανισμό ενεργοποίησης του HER2.

Στόχευση HER2 στα αδενοκαρκινώματα του οισοφάγου και του στομάχου

- ❑ Εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια στην έκφρασή του στα αδενοκαρκινώματα του οισοφάγου και του στομάχου
- ❑ Η υπερέκφραση και ενίσχυση του HER2 εμφανίζεται σε 6–35% των αδενοκαρκινομάτων του οισοφάγου και του στομάχου.
- ❑ Πρόσφατα αναθεωρήθηκαν οι οδηγίες για την αξιολόγηση της έκφρασης του HER2 τα οποία διαφέρουν σημαντικά από της αντίστοιχες στο καρκίνο του μαστού.

▶ Information

Guidelines for Scoring HercepTest™ - Gastric Cancer

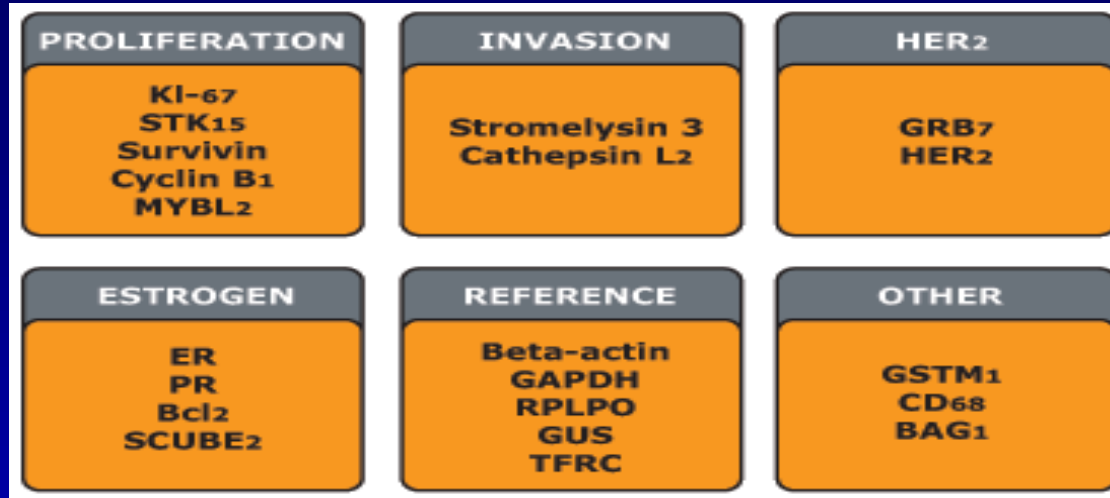
Surgical Specimens	Score to Report	HER2 Protein Overexpression Assessment	Staining Pattern
	0	Negative	No reactivity or membranous reactivity in < 10% of tumor cell
1+	Negative	Faint/barely perceptible membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells; cells are reactive only in part of their membrane	
2+	Equivocal	Weak to moderate complete, basolateral or lateral membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells	
3+	Positive	Strong complete, basolateral or lateral membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells	

Guidelines based on Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopath* 2008; 52:797–805. For more details, please refer to the current version of the package insert provided with the HercepTest™ kit or visit www.dako.com

Biopsy Specimens	Score to Report	HER2 Protein Overexpression Assessment	Staining Pattern
	0	Negative	No reactivity or no membranous reactivity in any (or < 5 clustered) tumor cell
1+	Negative	Tumor cell cluster (≥ 5 cells) with a faint/barely perceptible membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained	
2+	Equivocal	Tumor cell cluster (≥ 5 cells) with a weak to moderate complete, basolateral or lateral membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained	
3+	Positive	Tumor cell cluster (≥ 5 cells) with a strong complete, basolateral or lateral membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained	

Oncotype DX στον καρκίνο του μαστού

Πάνελ από 21 γονίδια



▶ Information

Η δοκιμασία Μοριακής Διαγνωστικής "Oncotype DX® " είναι μια εξέταση γονιδιώματος που αναλύει την έκφραση μιας ομάδας γονιδίων που μπορεί να επηρεάσει τον τρόπο με τον οποίο ένας καρκίνος είναι πιθανό να συμπεριφερθεί και να ανταποκριθεί στη θεραπεία. Το Oncotype DX χρησιμοποιείται με δύο κυρίως τρόπους:



Το Oncotype DX χρησιμοποιείται με δύο κυρίως τρόπους:

α. Για να βοηθήσει τους κλινικούς ογκολόγους να εκτιμήσουν τον κίνδυνο επανεμφάνισης του καρκίνου του μαστού σε πρώιμο στάδιο, καθώς επίσης και το πόσο πιθανό είναι να ωφεληθεί η ασθενής από χημειοθεραπεία μετά από χειρουργική επέμβαση καρκίνου του μαστού στο στάδιο αυτό.

β. Για να βοηθήσει τους κλινικούς ογκολόγους να εντοπίσουν τον κίνδυνο επανεμφάνισης του "In Situ" πορογενούς καρκινώματος του μαστού (DCIS) ή / και του κινδύνου εμφάνισης ενός νέου διηθητικού καρκίνου στο ίδιο μαστό, καθώς και το πόσο πιθανό είναι να ωφεληθεί η ασθενής από την ακτινοθεραπεία μετά DCIS χειρουργική επέμβαση.

Άλλες Μοριακές Δοκιμασίες στον καρκίνο του μαστού:

- Breast Cancer Index test
- EndoPredict test
- Mammostrat test
- Prosigna Breast Cancer Prognostic Gene Signature Assay

Oncotype DX στον καρκίνο του παχέος εντέρου

Πάνελ από 12 γονίδια

The Oncotype DX Colon Recurrence Score 12-Gene Panel

Cell Cycle
Ki-67
C-MYC
MYBL2

Stromal
FAP
BGN
INHBA

GADD45B

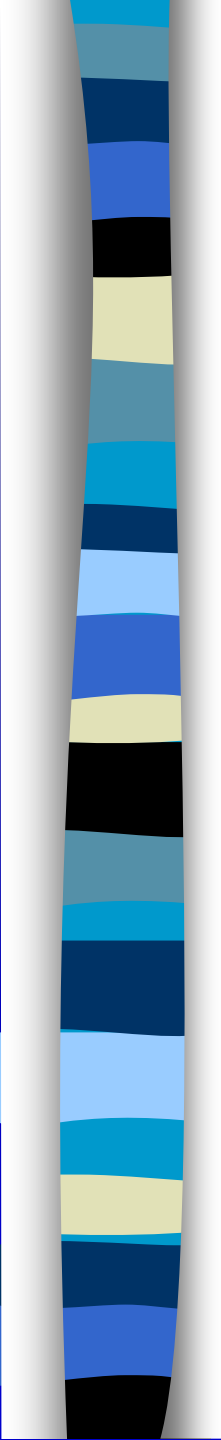
ATP5E	UBB
PGK1	VDAC2
GPX1	

5 reference genes normalize the expression of cancer-related genes

7 cancer genes consistently associated with colon cancer recurrence

▶ Information

Η Oncotype DX[®] είναι μια πολυγονιδιακή διαγνωστική εξέταση η οποία προσδιορίζει τον ατομικό κίνδυνο υποτροπής του καρκίνου του παχέος εντέρου:



α. Για ασθενείς σε στάδιο II, που έχουν υψηλότερο σκορ υποτροπής (άρα και υψηλότερο κίνδυνο) μπορεί να επωφεληθούν περισσότερο από τη χημειοθεραπεία σε σχέση με αυτούς που έχουν χαμηλότερο σκορ.

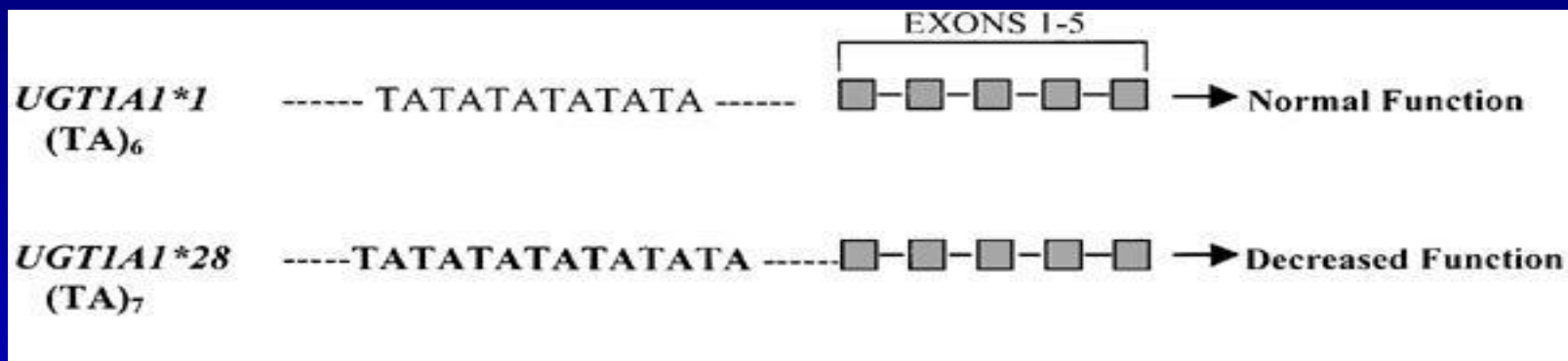
β. Για ασθενείς σε στάδιο III A/B, που έχουν χαμηλότερο σκορ υποτροπής μπορεί να επωφεληθούν λιγότερο από ορισμένα φάρμακα σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία σε σχέση με αυτούς που έχουν υψηλότερο σκορ.

Άλλες Μοριακές Δοκιμασίες στον καρκίνο του παχέος εντέρου:

- Invitae Colorectal Cancer Panel
- Hereditary Colon Cancer Multi-Gene Panel (HCRC)
- ColoNext®
- COLARIS® και COLARIS AP®

Irinotecan-Καρκίνος του παχέος εντέρου

- Εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία καρκίνου του εντέρου και του πνεύμονα σε προχωρημένο στάδιο. Η ιρινοτεκάνη δρά ως αναστολέας της τοποϊσομεράσης I.
- Τοξικότητα που περιλαμβάνει διάρροια, τάση για εμετό και ουδετεροπενία



UGT1A1: Πολυμορφικές επαναλήψεις TA στο TATA box, (TA)5, (TA)6, (TA)7, (TA)8

Το ένζυμο UGT1A1 (UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1), οδηγεί σε γλυκουρονιδίωση του ενεργού μεταβολίτη της ιρινοτεκάνης SN-38 (παράγεται στον οργανισμό από καρβοξυλ-εστεράσες). Ασθενείς με χαμηλό ρυθμό γλυκουρονιδίωσης συσσωρεύουν SN-38 και αναπτύσσουν τοξικές αντιδράσεις.

Τοξικότητα στο irinotecan και πολυμορφισμοί στον υποκινητή UGT1A1

Ασθενείς ομόζυγοι στο αλληλόμορφο UGT1A1*28 (7/7) έχουν αυξημένη πιθανότητα να εμφανίσουν ανεπιθύμητες παρενέργειες κατά τη θεραπεία με irinotecan, όπως ουδετεροπενία, τάση εμετού και διάρροια

NDA 20-571

Camptosar®(irinotecan HCl)

Camptosar®

irinotecan hydrochloride injection

UGT1A1

Final Label

Patients with Reduced UGT1A1 Activity

Individuals who are homozygous for the UGT1A1*28 allele are at increased risk for neutropenia following initiation of CAMPTOSAR treatment. A reduced initial dose should be considered for patients known to be homozygous for the UGT1A1*28 allele (see DOSAGE AND ADMINISTRATION). Heterozygous patients (carriers of one variant allele and one wild-type allele which results in intermediate UGT1A1 activity) may be at increased risk for neutropenia; however, clinical results have been variable and such patients have been shown to tolerate normal starting doses.

Πρόσφατα αναθεωρήθηκε το φύλλο οδηγιών του φαρμάκου irinotecan και προειδοποιεί για τις πιθανές παρενέργειες σε σχέση με τον γονότυπο του ασθενούς

Μονοκλωνικά αντισώματα που έχουν εγκριθεί για τη θεραπεία του καρκίνου στον άνθρωπο

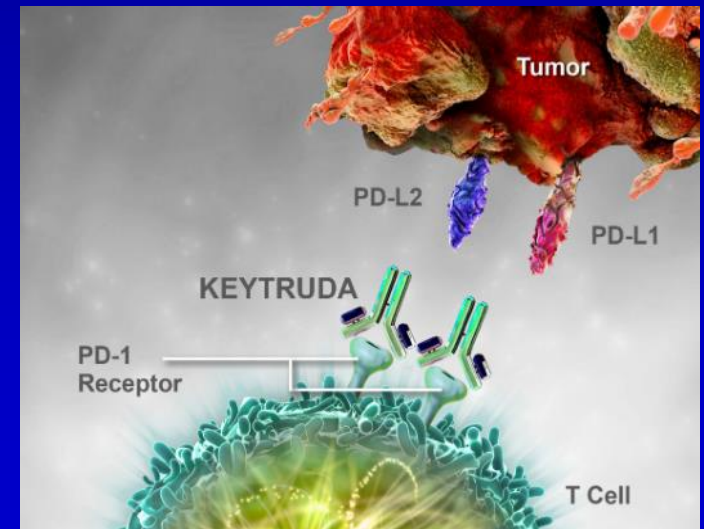
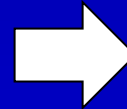
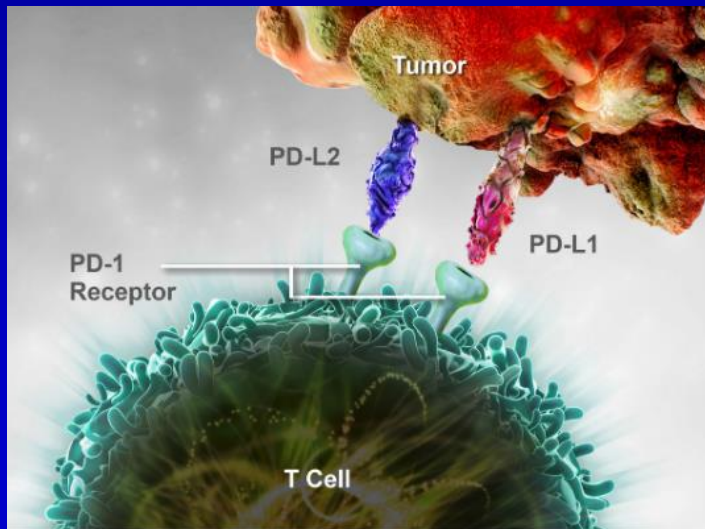
Αντίσωμα	Εμπορική ονομασία (εταιρεία)	Στόχος	Τύπος αντισώματος	Τύπος καρκίνου
Alemtuzumab	Campath (Genzyme)	CD52	Ανθρωποποιημένο	ΧΛΛ
Bevacizumab	Avastin (Roche)	VEGFA	Ανθρωποποιημένο	CRC, NSCLC, RCC, γλοιοβλάστωμα
Cetuximab	Erbix (Bristol-Myers Squibb/Lilly)	EGFR	Χιμαιρικό	CRC, μαστού, πνεύμονα
Daratumumab	Darzalex (Janssen)	CD38	Ανθρώπινο	ΠΜ
Denosumab	Xgeva/Prolia (Amgen)	Προσδέτης του RANK	Ανθρώπινο	Οστικές μεταστάσεις συμπαγών όγκων
Gemtuzumab ozogamicin	Mylotarg (Pfizer/Wyeth)	CD33	Ανθρωποποιημένο	ΟΜΛ
Nimotuzumab	Theraloc/Thera CIM (YM Biosciences)	EGFR	Ανθρωποποιημένο	Κεφαλής και τραχήλου
Obinutuzumab	Gazyva (Genentech/Roche)	CD20	Ανθρωποποιημένο	ΧΛΛ, θυλακικό λέμφωμα
Ofatumumab	Azerra (GlaxoSmithKline)	CD20	Ανθρώπινο	ΧΛΛ
Olaratumab	Lartruvo (Lilly)	PDGFRα	Ανθρώπινο	Σάρκωμα μαλακών μορίων
Panitumumab	Vectibix (Amgen)	EGFR	Ανθρώπινο	CRC
Pertuzumab	Perjeta (Roche)	HER2	Ανθρωποποιημένο	Μαστού
Rituximab	Rituxan/MabThera (Biogen, Roche)	CD20	Χιμαιρικό	Λέμφωμα μη Hodgkin
Tositumomab, ¹³¹ I-tositumomab	Bexxar (GlaxoSmithKline)	CD20	Από ποντικό	Λέμφωμα
Trastuzumab	Herceptin (Roche)	HER2	Ανθρωποποιημένο	Μαστού

ΧΛΛ: Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, CRC: Καρκίνος παχέος εντέρου, NSCLC: Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, RCC: Καρκίνος του νεφρού, ΠΜ: Πολλαπλούν μυέλωμα, ΟΜΛ: Οξεία μυελογενής λευχαιμία

▶ Information

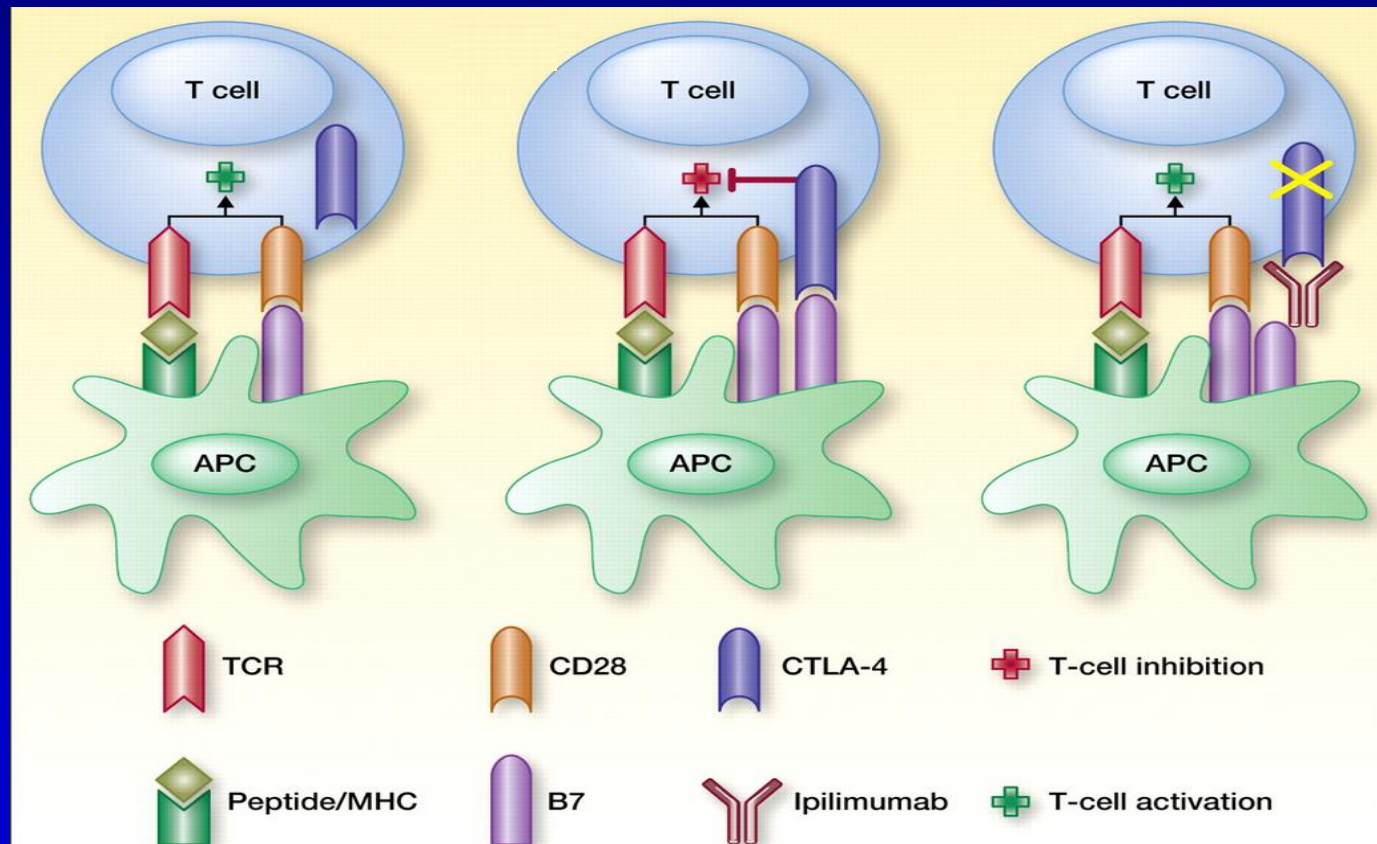
Πεμπρολιζουμάμπη (Keytruda, Merck)

- Ανασυνδυασμένο ανθρωποποιημένο IgG4 μονοκλωνικό αντίσωμα, έναντι του PD-1 υποδοχέα των T κυττάρων
- Δεσμεύεται με υψηλή συγγένεια στον υποδοχέα PD-1 εμποδίζοντας την αλληλεπίδρασή του με τους κατασταλτικούς ρυθμιστές PD-L1/L2 που εκφράζονται από τα καρκινικά κύτταρα
- Το μονοπάτι PD-1/PD-L1/2 περιορίζει την υπερδιέγερση των T-κυττάρων. Στον καρκίνο, η δέσμευση οποιουδήποτε από τα δύο μόρια οδηγεί σε μειωμένο πολλαπλασιασμό και κυτταροτοξικότητα των T-κυττάρων, ευαισθησία των T-κυττάρων σε απόπτωση, οδηγώντας σε εξάντληση των T-κυττάρων και αρνητική ρύθμιση της αντικαρκινικής απόκρισης



Ιπιλιμουμάμπη (Yervoy, Bristol Myers Squibb)

- IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση μεταξύ CTLA-4 (CD152) και B7-1/2
- Το κυτταροτοξικό T-λεμφοκυτταρικό αντιγόνο-4 (CTLA-4) είναι αρνητικός ρυθμιστής της ενεργοποίησης των T-κυττάρων. Το ipilimumab αποτελεί ενισχυτή-ενεργοποιητή των T-κυττάρων ο οποίος εμποδίζει ειδικά το ανασταλτικό σήμα του CTLA-4



FDA approved immune checkpoint inhibitors

(Αναστολείς των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος)

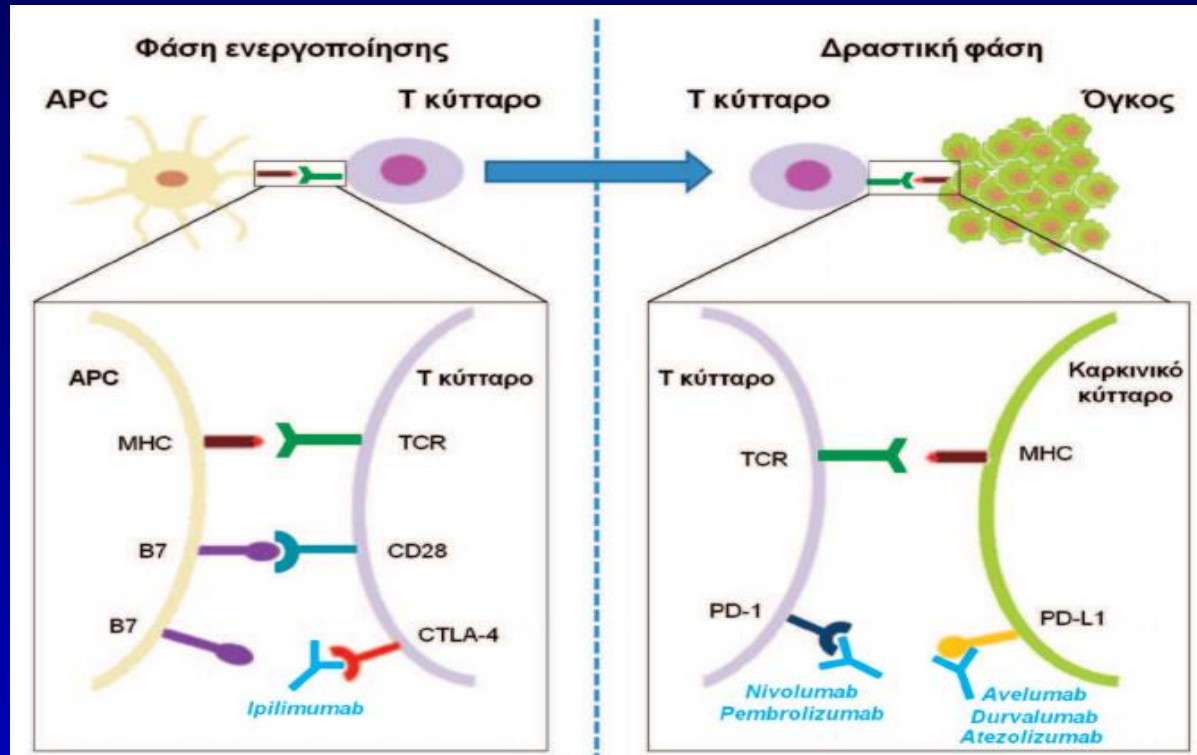
Αντίσωμα	Εμπορική ονομασία (εταιρεία)	Στόχος	Τύπος αντισώματος	Τύπος καρκίνου
Ipilimumab	Yervoy (Bristol Myers Squibb)	CTLA-4	Ανθρώπινο	Μελάνωμα
Pembrolizumab	Keytruda (Merck)	PD-1	Ανθρωποποιημένο	Μελάνωμα, NSCLC, πλακώδες καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου, λέμφωμα Hodgkin
Nivolumab	Opdivo (Bristol Myers Squibb)	PD-1	Ανθρώπινο	Μελάνωμα, NSCLC, πλακώδες καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου, RCC, λέμφωμα Hodgkin, ουροθηλιακό καρκίνωμα
Atezolizumab	Tecentriq (Genentech/Roche)	PD-L1	Ανθρωποποιημένο	Ουροθηλιακό καρκίνωμα, NSCLC
Avelumab	Bavencio (EMD Serono)	PD-L1	Ανθρώπινο	Καρκίνωμα κυττάρων Merkel
Durvalumab	Imfinzi (AstraZeneca)	PD-L1	Ανθρώπινο	Ουροθηλιακό καρκίνωμα

NSCLC: Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, RCC: Καρκίνος του νεφρού

Information

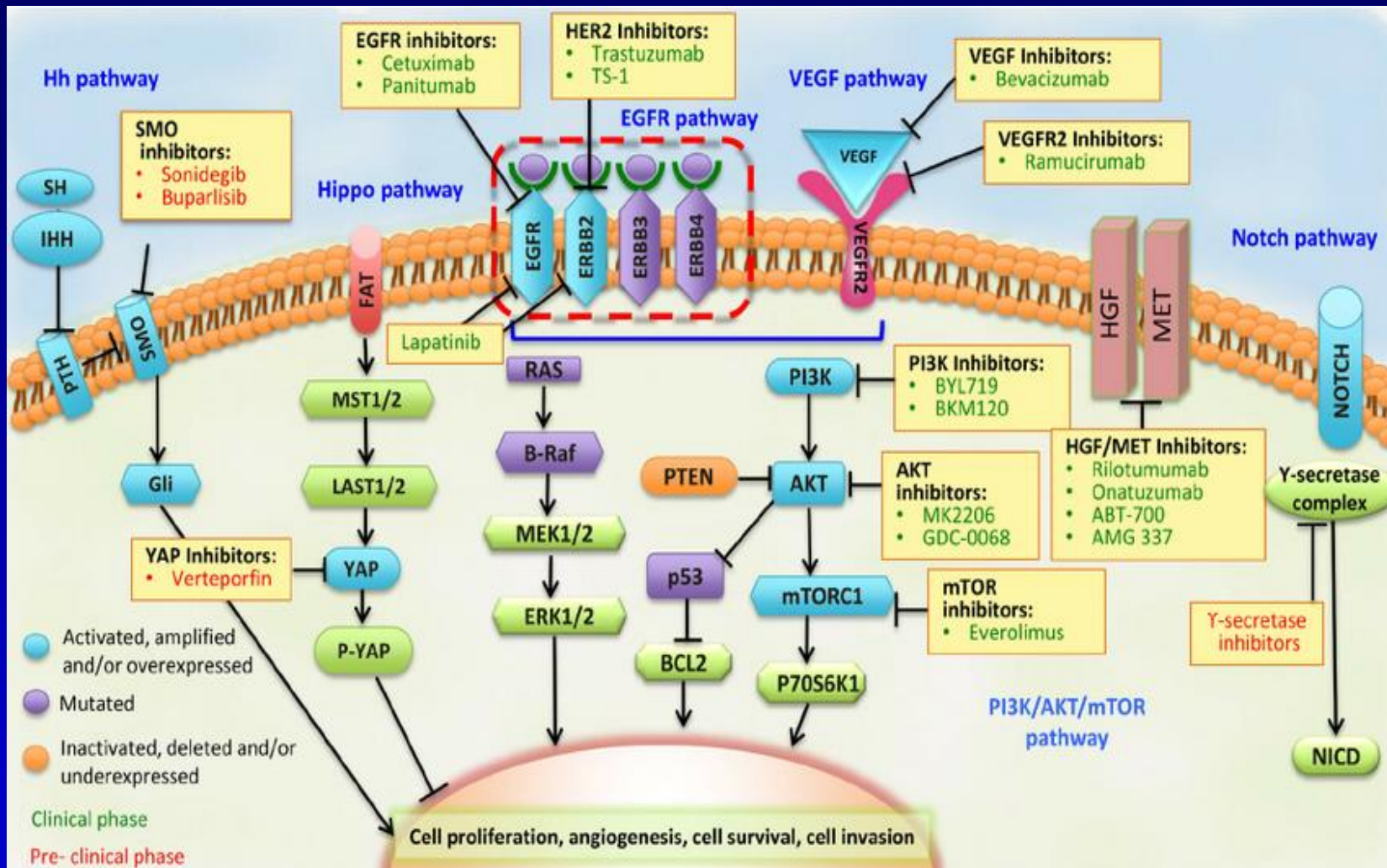
Στον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται τα αντισώματα-αναστολείς των σημείων ελέγχου της ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος τα οποία έχουν εγκριθεί από τον οργανισμό τροφίμων και φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) στη θεραπεία διαφόρων τύπων κακοηθειών του ανθρώπου.

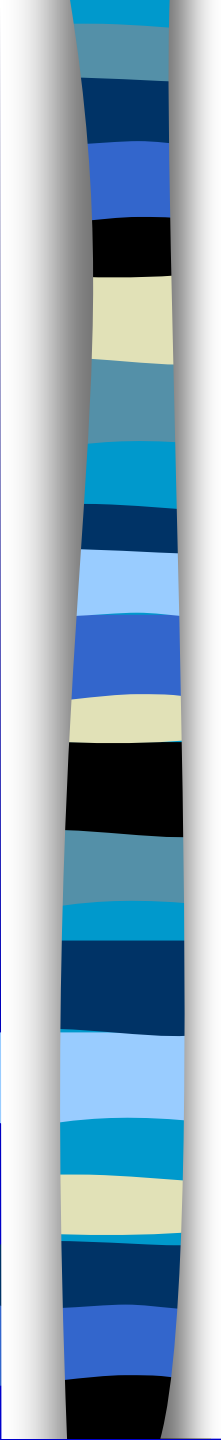
FDA approved immune checkpoint inhibitors



Τα Τ-κύτταρα αλληλεπιδρούν με τα APCs και λαμβάνουν το σήμα 1 (MHC/ καρκινικό αντιγόνο-TCR) και το σήμα 2 (B7-CD28). Τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα εκφράζουν το κατασταλτικό μόριο CTLA-4 (CD152), το οποίο αναστέλλεται από την ιπιλιμουμάμη (*ipilimumab*), διατηρώντας την ενεργοποίησή τους. Κατά τη δραστική φάση (δεξιά), τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα μεταναστεύουν στον όγκο, όπου ο TCR τους αναγνωρίζει καρκινικά αντιγόνα σε συνδυασμό με MHC μόρια. Η πεμπρολιζουμάμη (*pembrolizumab*) και η νιβολουμάμη (*nivolumab*) αναστέλλουν το σημείο ελέγχου PD-1 και την αλληλεπίδρασή του με τον κατασταλτικό ρυθμιστή PD-L1, που εκφράζεται από τα καρκινικά κύτταρα. Η αβελουμάμη (*avelumab*), η ατεζολιζουμάμη (*atezolizumab*) και η δουρβαλουμάμη (*durvalumab*) δεσμεύουν τον προσδέτη PD-L1 και αναστέλλουν την πρόσδεσή του στο PD-1. Ως αποτέλεσμα, τα Τ-κύτταρα αποφεύγουν την επαγόμενη από τον όγκο καταστολή.

Θεραπευτικοί στόχοι των κυριότερων σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στους καρκίνους του πεπτικού

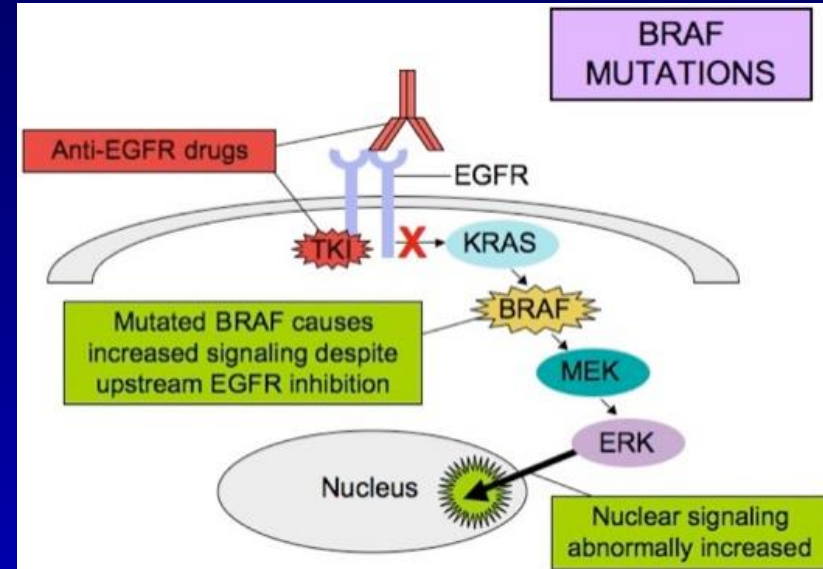
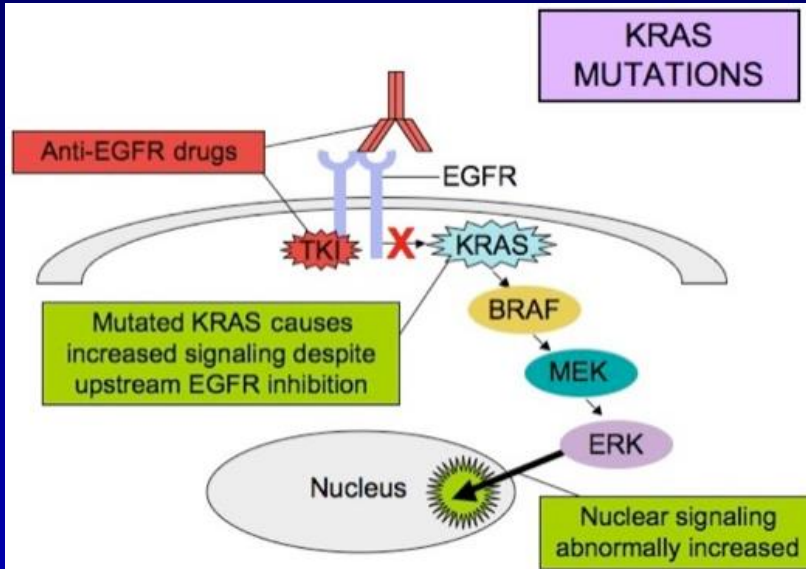




Μοριακή Διαγνωστική και καρκίνος: Σωματικές μεταλλάξεις που αποτελούν δείκτες πρόβλεψης της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία

- ❑ Ανταπόκριση στα EGFR αντισώματα (panitumumab και cetuximab) μέσω ανάλυσης των μεταλλάξεων στο γονίδιο *KRAS* στον καρκίνο του παχέος εντέρου.
- ❑ Πρόκειται για αντι-EGFR μονοκλωνικά αυτά αντισώματα
- ❑ Τα φάρμακα αυτά συνδέονται στο EGFR και εμποδίζουν την ανάπτυξη και επιβίωση των καρκινικών κυττάρων που εκφράζουν τον συγκεκριμένο υποδοχέα. Καταστέλλουν ανταγωνιστικά τη πρόσδεση συνδέσμων (ligands) στον υποδοχέα και αυτό οδηγεί σε μειωμένη κυτταρική ανάπτυξη και απόπτωση.
- ❑ Το ογκογονίδιο γονίδιο *KRAS* είναι μεταλλαγμένο στο 40% των καρκίνων του παχέος εντέρου με αποτέλεσμα να παραμένει συνεχώς ενεργό.
- ❑ Δεδομένου ότι η *KRAS* βρίσκεται σε επόμενο βήμα στο σηματοδοτικό μονοπάτι σε σχέση με το EGFR, η αναστολή του EGFR έχει πολύ μικρή επίδραση σε όγκους που η καρκινογένεση προκαλείται από μεταλλάξεις στο *KRAS*.
- ❑ Οι σωματικές μεταλλάξεις στα κωδικόνια 12 (6 μεταλλάξεις) και 13 (1 μετάλλαξη) του εξωνίου 1 *KRAS* μπορούν να ανιχνευθούν με ποικίλες μοριακές μεθοδολογίες βάση αυστηρών πρωτοκόλλων ελέγχου ποιότητας.

Μοριακή Διαγνωστική και καρκίνος: Σωματικές μεταλλάξεις που αποτελούν δείκτες πρόβλεψης της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία



▶ Information

Οι υποψήφιοι ασθενείς για θεραπεία με anti-EGFR είναι απαραίτητο να ελέγχονται για μεταλλάξεις στο *KRAS* και *BRAF*.

Πλεονεκτήματα της στοχευμένης θεραπείας

□ Πιο ισχυρά φάρμακα

Στοχευμένα φάρμακα για μία συγκεκριμένη ασθένεια, με αποτέλεσμα τη μεγιστοποίηση των θεραπευτικών επιδράσεων και ταυτόχρονα την περιορισμένη βλάβη των γειτονικών υγιών κυττάρων

□ Χρήση καλύτερων και ασφαλέστερων φαρμάκων από την αρχή της θεραπείας

Πιο σύντομη θεραπεία, μείωση της πιθανότητας εμφάνισης παρενεργειών

□ Πιο ακριβείς μέθοδοι καθορισμού της κατάλληλης δόσης

Οι τρέχουσες μέθοδοι καθορισμού της δόσης που βασίζονται στο βάρος και την ηλικία του ασθενούς θα αντικατασταθούν από τον καθορισμό της ιδανικής δόσης με βάση το γεντικό προφίλ του κάθε ασθενούς

Πλεονεκτήματα της στοχευμένης θεραπείας (1)

□ Βελτίωση της παρακολούθησης της εξέλιξης της ασθένειας

Η κατάλληλη θεραπεία θα χορηγείται στο κατάλληλο στάδιο της ασθένειας, βελτιώνοντας σημαντικά την επιτυχία της θεραπείας

□ Καλύτερα εμβόλια

Η δημιουργία εμβολίων με που θα περιέχουν DNA ή RNA υπόσχονται πλεονεκτήματα και αποφυγή των κινδύνων που συνοδεύουν τα υπάρχοντα εμβόλια

□ Βελτίωση της διαδικασίας ανακάλυψης νέων φαρμάκων και έγκρισης

Το κόστος των κλινικών δοκιμών θα μειωθεί σημαντικά καθώς θα επιλέγονται και θα συμμετέχουν σε αυτές μόνο οι ασθενείς που αναμένεται να ανταποκριθούν και να ωφεληθούν από τη συγκεκριμένη θεραπεία

□ Μείωση του συνολικού κόστους της φροντίδας της υγείας



Γονίδια και ανάπτυξη νέων φαρμάκων

- ❑ Από τα υπολογιζόμενα ~26.000 γονίδια του ανθρώπινου γονιδιώματος, μόνο 43 από τις κωδικοποιημένες πρωτεΐνες στοχεύονται από τα 100 πρώτα σε πωλήσεις φάρμακα
- ❑ Η εύρεση της αλληλουχίας του ανθρώπινου γονιδιώματος αποκάλυψε και άλλα βιομόρια που θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως στόχοι για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων
- ❑ Η επιβεβαίωση της σημαντικότητάς τους, ως στόχους φαρμάκων, είναι ακόμη μια επίπονη διαδικασία που απαιτεί κατανόηση του ρόλου του γονιδίου ή της πρωτεΐνης στην πορεία της νόσου.
- ❑ Παράλληλα με το ανθρώπινο γονιδίωμα έχουν αποκρυπτογραφηθεί μικροβιακά γονιδιώματα προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως αντιβακτηριδιακοί και αντιικοί στόχοι και γονίδια που προκαλούν ανοσολογική απόκριση για δημιουργία εμβολίων.

Προβλήματα στην εφαρμογή των γονιδιωματικών δοκιμασιών

- ❑ Γονιδιακός πλεονασμός (redundancy)
- ❑ Λειτουργική επικάλυψη γονιδίων. Το ίδιο φάρμακο μπορεί να μεταβολίζεται/ μεταφέρεται δια της μεμβράνης από διαφορετικά ένζυμα ή πρωτεΐνες
- ❑ Σπάνια αλληλόμορφα
- ❑ Επιγενετικές επιδράσεις όπως μεθυλίωση DNA, ομοιοπολική τροποποίηση ιστονών και χρωματίνης, παρεμβολή RNA. Επηρεάζουν τον τρόπο κληρονόμησης και τη διεισδυτικότητα του πολυμορφισμού
- ❑ Φυλετικές διαφορές στη κατανομή των πολυμορφισμών στους πληθυσμούς μπορεί να επηρεάζουν τη συσχέτιση με την ανταπόκριση
- ❑ Η μεγάλη απόσταση ανάμεσα στο γονότυπο και το φαινότυπο είναι ίσως το μεγαλύτερο εμπόδιο στην εξατομικευμένη θεραπεία. Η απόσταση αυτή μπορεί ενδεχομένως να καλυφθεί με τη χρήση άλλων τεχνικών



Εμπόδια στην ευρύτερη εφαρμογή των γονιδιωματικών δοκιμασιών στην κλινική πράξη

- ❑ Περιορισμένη ενημέρωση των κλινικών γιατρών
- ❑ Ασαφείς κατευθυντήριες γραμμές
- ❑ Ανεπαρκής ανάπτυξη πρωτοκόλλων
- ❑ Μη εξακριβωμένη κλινική αξιοπιστία και χρησιμότητα
- ❑ Ανεπαρκής χαρακτηρισμός αντιστοιχίας γονιδίου-φαρμάκου
- ❑ Κόστος
- ❑ Προβληματικά συστήματα υγείας
- ❑ Ανεπαρκής χαρακτηρισμός πολυμορφισμών στον πληθυσμό
- ❑ Ηθικές, νομικές και κοινωνικές ενστάσεις
- ❑ ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ