

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

τοπογραφία	116
<b>ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΕΙΣ</b>	
Θεραπευτικές προσεγγίσεις των χαμηλής κακοήθειας Non-Hodgkin's λεμφωμάτων από β-κύτταρα	117
<i>M.M. Βασιλαματζής, Χ. Βαδάλα, Π. Στασινοπούλου</i>	
Η μοριακή διάσταση του HER-2 και η εμπλοκή του στην αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού	154
<i>Ε.Γ. Παπαδοπούλου, Κ. Αναγνωστόπουλος, Α.Χ. Κορτσάρης</i>	
<b>ΠΡΩΤΟΤΥΠΗ ΜΕΛΕΤΗ</b>	
Μελέτη της έκφρασης του παράγοντα VEGF σε διηθητικά και μη, καρκινώματα ουροδόχου κύστης	162
<i>Μ. Χρ. Μιχαήλ, Ε. Ιωακείμ, Ν. Σταυρόπουλος, Μ.Μ. Μιχαήλ, Ε. Κίτσιου, Δ. Καλογεράς, Ι. Τσίμαρης, Β. Μαλάμου-Μήτση</i>	
<b>ΑΝΤΙΚΑΤΟΠΤΡΙΣΜΟΙ</b>	
Ευθανασία ή Ελπίδα για ζωή; Με ευκαιρία την ταινία "Η θάλασσα μέσα μου"	169
<i>Αλέξης Ν. Δερμεντζόγλου</i>	
<b>ΣΕΛΙΔΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ</b>	
2-Μεθοξυιστραδιόλη: Από τη βασική έρευνα στην κλινική εφαρμογή	172
<i>Ε. Κωλέττας</i>	
<b>ΕΙΔΙΚΑ ΑΡΘΡΑ</b>	
Μοριακή τοπογραφική ανάλυση καρκινικού πεδίου	180
<i>Δ. Ηλιόπουλος Γ. Πουλταΐδης</i>	
Συνεχιζόμενη ιατρική εκπαίδευση στην ακτινοθεραπευτική ογκολογία. Αδενώματα υποφύσεως: ακτινοθεραπευτική αντιμετώπιση	185
<i>Δ. Δημόπουλος, Ν. Μπορονικολός, Δ. Βόμβας, Ζ. Μαλαταρά, Δ. Καρδαμάκης</i>	
<b>ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ</b>	
Νόσος von Hippel-Lindau: Περιγραφή μιας περίπτωσης	191
<i>Χ. Μελεξοπούλου, Σ. Ρηγάτος, Γ. Αραβαντινός, Κ. Παπανικήτας, Μ. Τριανταφύλης, Γ. Καραγιαννίδης, Γ. Κουτσοράκης, Σ. Δαμηλάκη, Ε. Σαμαντάς</i>	
Σύγχρονα ενδομητρίοειδη νεοπλάσματα ωοθηκών και ενδομήτριου μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση	194
<i>Α. Αρδαβάνης, Μ.Β. Καραμούζης, Α. Αλεξόπουλος, Γ. Ρηγάτος</i>	
<b>ΑΠΕΙΚΑΣΜΑΤΑ</b>	199
<b>ΗΜΕΡΟΛΟΓΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ</b>	200
Οδηγίες για τους συγγραφείς	202

# FORUM OF CLINICAL ONCOLOGY

Official Journal of the Hellenic Society of Medical Oncology

Volume 4(B), Issue 2-3, April - September 2005

# ΒΗΜΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ

Επίσημο περιοδικό της Εταιρείας Ογκολόγων Παθολόγων Ελλάδος

ISSN 1107-5384

Περίοδος Β, Τόμος 4, Τεύχος 2-3 • Απρίλιος - Σεπτέμβριος 2005



## BOARD OF THE HELLENIC SOCIETY OF MEDICAL ONCOLOGY

**President:** D. Bafaloukos  
**Vice President:** G. Aravantinos  
**Secretary:** P. Papakostas  
**Special Secretary:** E. Samantas  
**Treasurer:** G. Samelis  
**Members:** A. Ardabanis  
E. Briasoulis

## ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΟΓΚΟΛΟΓΩΝ ΠΑΘΟΛΟΓΩΝ ΕΛΛΑΔΑΣ

**Πρόεδρος:** Δ. Μπαφαλιούκος  
**Αντιπρόεδρος:** Γ. Αραβαντινός  
**Γενικός Γραμματέας:** Π. Παπακώστας  
**Ειδικός Γραμματέας:** Ε. Σαμαντάς  
**Ταμίας:** Γ. Σαμέλης  
**Μέλη:** Α. Αρδαβάνης  
Ε. Μπριασούλης

## EDITORIAL BOARD

**Editor in chief:** E. Briasoulis  
**Associate Editor:** E. Linardou  
**Secretary:** Ch. Andreadis

### Members of the Board

A. Ardavanis	S. Droufakou
I. Varthalitis	M. Xidakis
M. Vaslamatzis	Ch. Panopoulos
N. Karvounis	S. Rigatos
D. Mavroudis	Ch. Christodoulou
A. Bamias	

## ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Διευθυντής Σύνταξης:** Ε. Μπριασούλης  
**Αναπληρωτής:** Ε. Λινάρδου  
**Γενικός Γραμματέας:** Χ. Ανδρεάδης

### Μέλη

A. Αρδαβάνης	Σ. Ντρουφάκου
I. Βαρθαλίτης	Μ. Ξυδάκης
Μ. Βασιλαματζής	Χ. Πανόπουλος
N. Καρβούνης	Σ. Ρηγάτος
Δ. Μαυρουδής	Χ. Χριστοδούλης
A. Μπάμιας	

*Quarterly official publication  
of Hellenic Society of Medical Oncology*

**Address for correspondence:**  
HESMO, 105 Alexandras Av., 4th floor  
Tel./Fax: 210 6457971, E-mail: hesmo@otenet.gr

### Publisher:

"EPSILON", 4 Papadiamantopoulou Str., Athens 11528  
Tel.: +30 2107254360-2, Fax: +30 2107254363  
e-mail: epsilonb@hol.gr

### Press:

TECHNOGRAMMA, Tel.: +30 2106000643 - Fax: +30 2106002295

### Ιδιοκτησία - Σύνταξη:

Εταιρεία Ογκολόγων Παθολόγων Ελλάδος  
**Διεύθυνση για αλληλογραφία - Γραμματεία:**  
Ε.Ο.Π.Ε. Λεωφόρος Αιεξάνδρας 105, 4ος όροφος  
Τηλ.: 210 6457971 E-Mail: hesmo@otenet.gr

### Εκδότης:

"ΕΪΣΙΛΟΝ", Παπαδιαμαντοπούλου 4  
115 28 Αθήνα, Τηλ.: 210 7254360-2 - Fax: 210 7254363  
e-mail: epsilonb@hol.gr

### Εκτύπωση:

TECHNOGRAMMA, Τηλ.: 210 6000643 - Fax: 210 6002295

## Περιεχόμενα

τοπογραφία .....	116
<b>ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΕΙΣ</b>	
Θεραπευτικές προσεγγίσεις των χαμηλής κακοήθειας Non-Hodgkin's λεμφωμάτων από β-κύτταρα .....	117
<i>Μ.Μ. Βασιλαματζής, Χ. Βαδάλα, Π. Στασινοπούλου</i>	
Η μοριακή διάσταση του HER-2 και η εμπλοκή του στην αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού .....	154
<i>Ε.Γ. Παπαδοπούλου, Κ. Αναγνωστόπουλος, Α.Χ. Κορτσάρης</i>	
<b>ΠΡΩΤΟΤΥΠΗ ΜΕΛΕΤΗ</b>	
Μελέτη της έκφρασης του παράγοντα VEGF σε διηθητικά και μη, καρκινώματα ουροδόχου κύστης .....	162
<i>Μ. Χρ. Μιχαήλ, Ε. Ιωακείμ, Ν. Σταυρόπουλος, Μ.Μ. Μιχαήλ, Ε. Κίτσιου, Δ. Καλογεράς, Ι. Τσίμαρης, Β. Μαλάμου-Μήτση</i>	
<b>ΑΝΤΙΚΑΤΟΠΤΡΙΣΜΟΙ</b>	
Ευθανασία ή Ελπίδα για ζωή; Με ευκαιρία την ταινία “Η θάλασσα μέσα μου” .....	169
<i>Αλέξης Ν. Δερμεντζόγλου</i>	
<b>ΣΕΛΙΔΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ</b>	
2-Μεθοξυιστραδιόλη: Από τη βασική έρευνα στην κλινική εφαρμογή .....	172
<i>Ε. Κωλέττας</i>	
<b>ΕΙΔΙΚΑ ΑΡΘΡΑ</b>	
Μοριακή τοπογραφική ανάλυση καρκινικού πεδίου .....	180
<i>Δ. Ηλιόπουλος Γ. Πουλτσίδης</i>	
Συνεχιζόμενη ιατρική εκπαίδευση στην ακτινοθεραπευτική ογκολογία. Αδενώματα υποφύσεως: ακτινοθεραπευτική αντιμετώπιση .....	185
<i>Δ. Δημόπουλος, Ν. Μπορονικολός, Δ. Βόμβας, Ζ. Μαλαταρά, Δ. Καρδαμάκης</i>	
<b>ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ</b>	
Νόσος von Hippel-Lindau: Περιγραφή μιας περίπτωσης .....	191
<i>Χ. Μελεξοπούλου, Σ. Ρηγάτος, Γ. Αραβαντινός, Κ. Παπανικήτας, Μ. Τριανταφύλης, Γ. Καραγιαννίδης, Γ. Κουτσοουράκης, Σ. Δαμηλάκη, Ε. Σαμαντάς</i>	
Σύγχρονα ενδομητριοειδή νεοπλάσματα ωοθηκών και ενδομήτριου μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση .....	194
<i>Α. Αρδαβάνης, Μ.Β. Καραμούζης, Α. Αλεξόπουλος, Γ. Ρηγάτος</i>	
<b>ΑΠΕΙΚΑΣΜΑΤΑ</b> .....	199
<b>ΗΜΕΡΟΛΟΓΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ</b> .....	200
Οδηγίες για τους συγγραφείς .....	202

## Contents

Topography .....	116
<b>REVIEWS</b>	
Evolution of the treatment of Low-Grade B-Cell Lymphoma .....	117
<i>M. Vaslamatzis, Ch. Vadala, P. Stassinopoulou</i>	
Molecular aspects of HER2 involvement in Breast Cancer .....	154
<i>E.G. Papadopoulou K. Anagnostopoulos, A.Ch. Kortsaris</i>	
<b>ORIGINAL REPORT</b>	
Vegf expression in urothelial cancer .....	162
<i>M.C. Michael, E. Ioachim, N. Stavropoulos, M.M. Michael, E. Kitsou, D. Kalogeras, I. Tsimaris, V. Malamou-Migtsi</i>	
<b>REFLECTIONS</b>	
Euthanasia or life hope .....	169
<i>A.N. Dermentzoglou</i>	
<b>MOLECULAR ONCOLOGY PAGES</b>	
2-methoxyestradiol: advancement from basic science to clinical application .....	172
<i>E. Kolettas</i>	
<b>SPECIALS ARTICLES</b>	
Molecular topography of cancer field .....	180
<i>D. Iliopoulos, G. Poultsidis</i>	
Radiation therapy of pituitary adenomas .....	185
<i>D. Dimopoulos, N. Mporonikolos, D. Vombas, Z. Malatara, D. Kardamakis</i>	
<b>CASE REPORTS</b>	
Von Hippel- Lindau disease: a case report .....	191
<i>Ch. Metaksopoulou, S. Rigatos, G. Aravantinos, K. Papanikitas, M. Triantafyllis, G. Karagiannidis, G. Koutsourakis, S. Damilaki, E. Samantas</i>	
Endometrioid ovarian and uterine carcinoma presented in a 40 years-old female after in-vitro fertilization procedure .....	194
<i>A. Ardavanis, M.V. Karamouzis, A. Alexopoulos, G. Rigatos</i>	
<b>ICONICS</b> .....	199
<b>CALENDAR</b> .....	200
Guidelines for authors .....	202

## ΤΟΠΟΓΡΑΦΙΑ

Η διαλεύκανση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών συμπεριφοράς των κακοήθων νεοπλασμάτων, είτε αφορούν στην εμφάνιση τοπικής υποτροπής είτε στην εκδήλωση απομακρυσμένων μεταστάσεων, αποτελεί σημαντικό γνωστικό αντικείμενο που ανοίγει δυνατότητες εφαρμογής νέων θεραπευτικών μοντέλων. Στο πλαίσιο αυτό της διερεύνησης της παθοφυσιολογίας των καρκίνων έχει πλέον γίνει κοινά παραδεκτό ότι οι βιολογικές διεργασίες διήθησης και μετάστασης αποτελούν σύνθετες λειτουργίες στις οποίες εμπλέκονται τόσο τα γενετικά καθορισμένα καρκινικά κύτταρα όσο και το περιβάλλον ιστικό στρώμα του ξενιστή, αλλά και οι γειτνιάζοντες φυσιολογικοί ιστοί.

Το πρόβλημα της τοπικής υποτροπής ενός κακοήθους όγκου θέτει σημαντικά θεραπευτικά και ακανθώδη ερευνητικά ερωτήματα, τα οποία είναι δυσχερώς προσπελάσιμα και παραμένουν σχετικά αναπάντητα σε πολλούς όγκους. Βασικό ερώτημα που απασχολεί την καθημερινή κλινική πράξη είναι ο καθορισμός του «ελεύθερου διήθησης» χειρουργικού χείλους. Ποιοί όροι μπορούν να θεωρηθούν καθοριστικά επαρκείς να τεκμηριώσουν ασφαλή τα χειρουργικά όρια εκτομής ενός όγκου; Επιπλέον, πέραν των γνωστών παθοφυσιολογικών μηχανισμών της τοπικής υποτροπής μιας νεοπλασίας, ποιό είναι το υποκείμενο άγνωστο βιολογικό υπόστρωμα στην διαδικασία αυτή;

Σε αυτό το τεύχος του «ΒΚΟ» παρουσιάζεται μια πρωτοποριακή μελέτη που έχει σαν κεντρικό στόχο την έρευνα της τοπικής υποτροπής υπό το πρίσμα της βιολογίας του καρκίνου. Η ερευνητική δουλειά του Δ. Ηλιόπουλου επικεντρώνεται στην ανάλυση των δύο διαφορετικών δρόμων μέσω των οποίων είναι δυνατόν να εξελιχθεί η διαδικασία της τοπικής υποτροπής ενός όγκου μετά από χειρουργική αφαίρεση. Στην έρευνα αυτή, η οποία έχει αποφέρει πρόσφατα στον Έλληνα επιστήμονα το βραβείο του καλύτερου νέου ερευνητή στην έρευνα κατά του καρκίνου του μαστού από το Υπουργείο Εθνικής Αμύνης των ΗΠΑ (Breast Cancer Program, US Department of Defence-2005), αιτιολογείται η ανάγκη του προσδιορισμού ενός γενετικού και ενός επιγενετικού χάρτη μεταβολών στο καρκινικό πεδίο και σκιαγραφείται η εργαστηριακή μεθοδολογία που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την οριοθέτηση αυτού του χάρτη. Η επιχείρηση ακριβούς τοπογραφικής κατανομής των ιστολογικά μη-ανιχνεύσιμων καρκινικών αλλαγών στα χειρουργικά όρια εκτομής αποτελεί σημαντικό πεδίο έρευνας, το οποίο ονομάζεται μοριακή τοπογραφική ανατομία και το ενδιαφέρον του αγγίζει όλες τις ογκολογικές ειδικότητες. Οι εξελίξεις στο πεδίο της μοριακής τοπογραφικής ανατομίας φαίνεται ότι θα αποτελέσουν σημαντικό μοχλό για τον επαναπροσδιορισμό των ορίων ασφαλούς χειρουργικής εκτομής, αλλά – ενδεχομένως- και τον επαναπροσδιορισμό των μεθόδων μετεγχειρητικής θεραπευτικής αγωγής.

**Χαράλαμπος Ανδρεάδης**



# Θεραπευτικές προσεγγίσεις των χαμηλής κακοήθειας Non-Hodgkin's λεμφωμάτων από β-κύτταρα

*M.M. Βασλαματζής, Χ. Βαδάλα, Π. Στασινοπούλου*

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα NHL χαμηλής κακοήθειας έχουν κλινική πορεία χαρακτηριζόμενη από υφέσεις και εξάρσεις και συνήθως δεν εμφανίζουν αξιόλογα ποσοστά πλήρων υφέσεων με την κλασική χημειοθεραπεία ή/ και ακτινοθεραπεία. Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν μέχρι τώρα κοινά αποδεκτές θεραπείες που να οδηγούν σημαντικό ποσοστό ασθενών με χαμηλής κακοήθειας NHL σε ίαση, διερευνώνται νέες θεραπείες. Στην παρούσα ανασκόπηση παρουσιάζονται οι τρέχουσες θεραπευτικές προσεγγίσεις της νοσολογικής ομάδας. Ιδιαίτερη έμφαση δίδεται στα νεώτερα θεραπευτικά σχήματα με τη χρήση μονοθεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα, συνδυασμών μεταξύ των, ή με συμβατική χημειοθεραπεία και μεγαθεραπείας με υποστήριξη με μυελικό μόσχευμα. Πολλές μελέτες υποδηλώνουν ότι οι θεραπευτικοί συνδυασμοί είναι γενικά ασφαλείς και μπορεί να δίνουν καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα απ' ότι οι μονοθεραπείες. Ήδη διεξάγονται κλινικές μελέτες με στόχο τον περαιτέρω καθορισμό των καλύτερων θεραπευτικών στρατηγικών με τη χρήση των νέων αυτών παραγόντων. **Βήμα Κλινικής Ογκολογίας 2005, 4 (1-2):117-153.**

## Εισαγωγή

Τα κακοήγη λεμφώματα (NHL) αποτελούν λίαν ετερογενή νοσολογική οντότητα ως προς την βιολογική τους συμπεριφορά, τις κλινικές εκδηλώσεις & την θεραπευτική τους αντιμετώπιση. Η πιθανότητα ίασεως B-NHL γενικώς, ποικίλλει για τις διάφορες υποομάδες της νόσου & είναι αντιστρόφως ανάλογη του βαθμού κακοηθείας των, ώστε πρακτικά το οζώδες NHL από μικρά λεμφοκύτταρα, το οποίο αποτελεί το ιστικό υπόστρωμα της ΧΛΛ, είναι νόσος ανίατος. Η επιβίωση των ασθενών χωρίς θεραπεία, κυμαίνεται από λίγες ημέρες από την διάγνωση της νόσου έως αρκετές δεκαετίες, στην περίπτωση των χαμηλής κακοηθείας NHL. Στην τελευταία ομάδα περιλαμβά-

νονται το λεμφοκυτταρικό λέμφωμα από μικρά λεμφοκύτταρα (ΛΜΛ), το λεμφοπλασματοκυτταροειδές λέμφωμα (ΛΠΚΛ), τα λεμφώματα με θυλακιώδη κεντροκύτταρα (ΛΘΚ) grade I & II, τα οποία αποτελούν την συντριπτική πλειοψηφία της ομάδας & το λέμφωμα εκ κυττάρων της οριακής ζώνης (ΛΚΟΖ). Το τελευταίο εκφράζεται υπό δύο κύριες κλινικές μορφές: το εξωλεμφοαδενικό το οποίο σχετίζεται με αυτοάνοσα νοσήματα (θυρεοειδίτιδα Hashimoto, σύνδρομο Sjogren, γαστρίτιδα από *Helicobacter pylori*) και το λεμφοαδενικό. Οι θεραπευτικές ιδιαιτερότητες των εξωλεμφοαδενικών NHL δεν θα συζητηθούν στην παρούσα μελέτη. Οι σύγχρονες ταξινόμησεις των χαμηλής κακοήθειας NHL από B-κύτταρα στηρίζονται στην μορφολογία και τον ανοσοφαινότυπο των κυττάρων & παρουσιάζονται στον Πίνακα 1<sup>1</sup>. Σύμφωνα με την ταξινόμηση REAL (Revised Eu-

**Πίνακας 1.** Ανοσοφαινότυπος Β-Κυττάρων

ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ	Sig	Cig	CD				
			5	10	11	23	43
ΛΛΜΛ	+/-	-/+	+		-/+	+	+
ΛΠΚΛ	+	+	-	-	-/+	-	+/-
ΛΘΚ	+	-	-	+/-	-	-/+	-
ΛΚΟΖ	+	+	-	-	+/-	-	-/+

Από: Gutierrez M and Wilson WH. Non Hodgkin's Lymphoma. In Bethesda Handbook of Clinical Oncology. Eds Abraham J, Allegra CJ. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2001, pp 319-331.

ropean - American Classifications of Lymphoid Neoplasms) & την αναθεώρησή της από την ΠΟΥ οι οποίες είναι ευρύτατα αποδεκτές σήμερα, τα NHL με θυλακιώδη κεντροκύτταρα διακρίνονται<sup>2,3,4</sup> ανάλογα με τον ιστολογικό βαθμό κακοήθειας σε τρεις κατηγορίες (grades I-III). Τα NHL με θυλακιώδη κεντροκύτταρα grades I-II εντάσσονται στα χαμηλής κακοήθειας λεμφώματα. Η πρόσφατη ταξινόμηση της WHO<sup>5</sup> προτείνει ανάλογο σύστημα κατάταξης εξαρτώμενο από το βαθμό κακοήθειας (grades I-III) βασισμένο στον απόλυτο αριθμό κεντροβλαστών σε 10 νεοπλασματικά θυλάκια, ανά υψηλής ευκρίνειας μικροσκοπικό πεδίο (ΥΕΜΠ) 0,159 mm<sup>2</sup>. Τα NHL grade I έχουν 0-5 κεντροβλάστες ανά ΥΕΜΠ, τα grade II έχουν 6-15 & τα grade III έχουν > 15 κεντροβλάστες ανά ΥΕΜΠ & ανήκουν στην ομάδα των υψηλής κακοήθειας NHL. Η ιστολογική κατάταξη κατά WHO είναι ιδιαίτερα σημαντική διότι φαίνεται ότι συνδέεται απολύτως με την συνολική επιβίωση (ΣΕ) & το διάστημα ελεύθερο υποτροπής (ΔΕΥ) των ασθενών<sup>6</sup>.

### Επιδημιολογικά στοιχεία

Η συχνότητα διαγνώσεως των NHL αυξάνει τα τελευταία χρόνια στις περισσότερες χώρες της Ευρώπης & κυρίως της Βορείου Αμερικής. Υπολογίζεται ότι κατ' έτος διαγιγνώσκονται 287.000 νέες περιπτώσεις παγκοσμίως<sup>7</sup>. Ειδικότερα στις Η.Π.Α. το 2003 εκτιμάται ότι θα διαγνωστούν 53400 νέοι ασθενείς<sup>8</sup>. Η συχνότητα αυξάνει με την ηλικία των ατόμων & στο σύνολο των ατόμων, με ετήσιο ρυθμό 5%. Το 20% του συνόλου των NHL, είναι θυλακιώδη & το 80% περίπου των ασθενών αυτών διαγιγνώσκονται για πρώτη φορά, με στάδια III & IV<sup>9-11</sup>. Η φυσική ιστορία των χαμηλής κακοήθειας NHL χαρακτηρίζεται από πολλές υποτροπές & ενίοτε, αυτόματες υφέσεις. Τα διαστήματα μεταξύ των υποτροπών βραχύνονται,

προϊόντος του χρόνου νοσήσεως<sup>11</sup>.

Το λεμφοκυτταρικό λέμφωμα από μικρά λεμφοκύτταρα διαγιγνώσκεται συνήθως σε άτομα προχωρημένης ηλικίας (διάμεση ηλικία διαγνώσεως η έβδομη δεκαετία της ζωής), με συχνή προσβολή του μυελού των οστών, του περιφερικού αίματος, των λεμφαδένων, του ήπατος & του σπληνός.

Το λεμφοπλασματοκυτταροειδές λέμφωμα προσβάλλει άτομα μεγάλης ηλικίας (διάμεση ηλικία διαγνώσεως η έβδομη δεκαετία της ζωής), με συχνή εντόπιση στον μυελό των οστών, τους λεμφαδένες & τον σπλήνα. Το περιφερικό αίμα προσβάλλεται σπάνια ενώ IgM παραπρωτεϊναιμία & υπεργλοιοτικότητα είναι συνήθεις. Σε γενικευμένη μορφή η νόσος είναι ανίατη με διάμεση ΣΕ 8-10 έτη.

Τα λεμφώματα με θυλακιώδη κεντροκύτταρα grade I & II διαγιγνώσκονται συνήθως στην έκτη δεκαετία της ζωής. Είναι ο δεύτερος σε συχνότητα υπότυπος μεταξύ των λεμφωμάτων & ανάλογα με την αναλογία σε μικρά & μεγάλα κύτταρα κατατάσσεται ως grade I (η συντριπτική αναλογία είναι μικρά κύτταρα) & grade II (ίσο ποσοστό μικρών & μεγάλων κυττάρων, μολονότι το απαιτούμενο ακριβώς ποσοστό των μεγάλων κυττάρων για να τεθεί η διάγνωση είναι αδιευκρίνιστο.) Στις Η.Π.Α. η επίπτωση του ΛΘΚ ήταν 0,5 στους 100.000 στον γενικό πληθυσμό το 1998<sup>12</sup>. Ο συγκεκριμένος υπότυπος συνοδεύεται από συχνή προσβολή του μυελού των οστών, του περιφερικού αίματος, των λεμφαδένων & του σπληνός. Σε γενικευμένη μορφή η νόσος είναι ανίατη με διάμεση ΣΕ 8-10 έτη. Εκτροπή σε υψηλής κακοήθειας NHL, συμβαίνει στο 25% των περιπτώσεων.

Το λέμφωμα από κύτταρα της οριακής ζώνης διαγιγνώσκεται συνήθως στην έβδομη δεκαετία της ζωής & επί γενικευμένου σταδίου η ΔΕ είναι 10 έτη<sup>6,13,14-16</sup>.

Σε ασυμπτωματικούς ασθενείς με χαμηλής

κακοήθειας NHL, συνήθως ακολουθείται τακτική αναμονής με προσεκτική παρακολούθησή τους, δεδομένου ότι δεν έχει αποδειχθεί πως η πρώτη θεραπεία αυξάνει την επιβίωση<sup>17</sup>. Η διάμεση επιβίωση (ΔΕ) του συνόλου των ασθενών με χαμηλής κακοήθειας NHL προχωρημένων σταδίων κυμαίνεται μεταξύ 5-8 χρόνια. Τις τελευταίες 10ετίες & μολονότι η νόσος είναι πολύ ευαίσθητη στην χημειοθεραπεία (ΧΘΠ) & την ακτινοθεραπεία (ΑΚΤΘ), οι ιάσεις εξακολουθούν να είναι εξαιρετικά σπάνιες & η ΣΕ των ασθενών δεν αυξήθηκε σημαντικά. Δύο σειρές ασθενών οι οποίες μελετήθηκαν από τους Dillman και συν. στις δεκαετίες 1980-1989 & 1990-1999 εμφάνιζαν παρόμοιες επιβιώσεις. Στις δύο σειρές η ΔΕ ήταν 9 έτη. Οι ασθενείς των ομάδων είχαν ποσοστό 5ετούς επιβιώσεως 70%<sup>18</sup>. Δεν υπάρχει ομοφωνία για το είδος της θεραπείας πρώτης γραμμής (όταν αυτή απαιτείται) σε χαμηλής κακοήθειας NHL προχωρημένου σταδίου, μολονότι οι περισσότεροι χρησιμοποιούν τον συνδυασμό cyclophosphamide, vincristine, prednisone (CVP) ή μονοθεραπεία με chlorambucil<sup>19,20</sup>. Οι ασθενείς στους οποίους επιτυγχάνεται πλήρης ύφεση (ΠΥ) με θεραπεία πρώτης γραμμής παρουσιάζουν μεγαλύτερη ΣΕ, μεγαλύτερο διάστημα ελεύθερο νόσου (ΔΕΝ) & μικρότερο κίνδυνο εκτροπής σε επιθετικότερες μορφές κατά την υποτροπή της νόσου<sup>21</sup>.

Τα οζώδη NHL χαρακτηρίζονται από αυξημένο πολλαπλασιασμό Β-κυττάρων CD10+ τα οποία εμφανίζουν την μετάθεση (14;18), [t(14;18)]. Η συγκεκριμένη χρωμοσωμική μετάθεση φέρνει το πρωτοογκογονίδιο BCL2, η λειτουργία του οποίου σχετίζεται με την πρόληψη του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση), από την ταινία q21 του χρωμοσώματος 18 στην «μεταγραφική επιρροή» του γονιδίου των βαρειών αλύσεων στην ταινία q32 του χρωμοσώματος 14<sup>22</sup>, με αποτέλεσμα την έκπτωση της εκφράσεως του γονιδίου<sup>23</sup>. Με χρήση μοριακών τεχνικών, η t(14;18) ανιχνεύεται στο 100%, ενώ η αναδιάταξη του BCL2 γονιδίου στο 60-70% των περιπτώσεων<sup>3,4</sup>. Η εξαφάνιση κυττάρων τα οποία εμφανίζουν την αναδιάταξη του γονιδίου BCL2, από το αίμα & τον μυελό των οστών με την θεραπεία, συνδυάζεται με καλύτερη πρόγνωση. Οι ποικίλοι τρόποι ανιχνεύσεως της αναδιατάξεως, τους οποίους χρησιμοποιούν τα διάφορα εργαστήρια παγκοσμίως, συμβάλλουν στην ανάδειξη υψηλού ποσοστού (28%), ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων. Η χρησιμοποίηση της PCR στην ανίχνευση των αναδιατάξεων του γονιδίου BCL2 αποτρέπει

την ανάδειξη ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων και πρέπει να εφαρμόζεται σε όλες τις περιπτώσεις<sup>24</sup>.

Κατά την εκτροπή των οζωδών NHL σε επιθετικότερες μορφές, παρατηρείται συσώρευση επιγενών γενετικών αλλοιώσεων στις οποίες συμπεριλαμβάνονται μη τυχαίες χρωμοσωμικές αλλαγές, γενετική αστάθεια, ανακατατάξεις & αλλαγή εκφράσεως του ογκογονιδίου c-MYC & των εξαρτώμενων από αυτό γονιδίων, μεταλλάξεις του γονιδίου P53 & του ήδη αναδιατεταγμένου ογκογονιδίου BCL2. Εξάλλου έχουν παρατηρηθεί: απενεργοποίηση των γονιδίων p16<sup>INK4A</sup> & p15<sup>INK4B</sup> λόγω μεταλλάξεων, ελλείψεων & υπερμεθυλίωσης. Είναι σαφές ότι ετερογενείς γενετικές βλάβες & διαφορετικοί γενετικοί μηχανισμοί παρατηρούνται στην πορεία της εκτροπής των οζωδών NHL<sup>23</sup>.

### Προγνωστικοί παράγοντες

Όπως ήδη ανεφέρθη τα χαμηλής κακοήθειας NHL έχουν μακρά, συνήθως κυμαινόμενη, κλινική πορεία, ανεξαρτήτως αρχικού σταδίου νόσου. Πρόσφατα περιγράφηκαν τα αποτελέσματα από την παρακολούθηση για 12-35 χρόνια, επιλεγμένης ομάδας 11 ασθενών διάμεσης ηλικίας 44 χρονών, με οζώδη NHL εκ Β-κυττάρων, τα οποία διαγνώστηκαν στο Royal Marsden Hospital μεταξύ 1962-1985. Κατά την διάγνωση, 4 ασθενείς είχαν νόσο σταδίου I, 6 σταδίου III, & 1 σταδίου IV. Οι περισσότεροι από τους ασθενείς αυτούς, δεν πήραν θεραπεία ενώ στους υπολοίπους έγιναν ελάχιστες θεραπευτικές παρεμβάσεις, του τύπου της εντοπισμένης ΑΚΤΘ ή της εγχειρήσεως. Η ΣΕ ήταν 87% στα 15 χρόνια σε σύγκριση με το 40% (γενικώς) & του 58% στα 30 χρόνια, των μελετών του Stanford<sup>25</sup>.

Η πρόγνωση των ασθενών με χαμηλής κακοήθειας NHL εξαρτάται κυρίως από την ύπαρξη δυσμενών προγνωστικών παραμέτρων (μαζική νόσος, Β-συμπτωματολογία, αυξημένη LDH ορού), οι οποίες συνοδεύουν συνήθως νόσο απαιτούσα θεραπεία & λιγότερο από το στάδιο της νεοπλασματικής εξαλλαγής του κυττάρου (μικρό με εντομή → μεγάλο χωρίς εντομή), μολονότι για το τελευταίο υπάρχουν ισχυρές αντίθετες απόψεις. Αυτές κυρίως βασίζονται στην μελέτη των Rodriguez J και συν., από το MD Anderson Cancer Center, η οποία έδειξε ότι ασθενείς με θυλακίωδες κεντροκυτταρικό NHL grade II έχουν πρόγνωση ανάλογη εκείνης ασθενών με διάχυτο NHL από μεγάλα κύτταρα & πρέπει να θεραπεύονται αναλόγως. Η μελέτη περιλάμβανε 100 ασθενείς,

με διάμεση παρακολούθηση 67 μηνών & ποσοστά 5ετούς ΣΕ & 5ετούς ΔΕΝ 72% & 67% αντιστοίχως<sup>15</sup>. Εντούτοις επανειλημμένες αναδρομικές μελέτες έχουν δείξει ότι η έκβαση ασθενών με οζώδη NHL είναι ανεξάρτητη του ποσοστού των μεγάλων κυττάρων τα οποία περιλαμβάνουν<sup>3,4</sup>. Είναι ενδιαφέρον το καταληκτικό συμπέρασμα αναδρομικής μελέτης η οποία ανέδειξε ότι η έντονη έκφραση των LFA-1 (CD11a και CD18) στα νεοπλασματικά κύτταρα, συνοδεύεται από μεγαλύτερη επιβίωση των ασθενών. Σε πληθυσμιακές μελέτες η διάμεση ΣΕ των ασθενών αυτών κυμαίνεται περί τα 6 χρόνια. Μετά μία ή περισσότερες υποτροπές (ενίοτε & στην έναρξη της νόσου) η νόσος εκτρέπεται σε περισσότερο επιθετική μορφή, η οποία χαρακτηρίζεται από τον πολλαπλασιασμό μεγάλων κυττάρων χωρίς εντομή ή Burkitt like κυττάρων<sup>26</sup>. Η Nebraska Lymphoma Study Group μελέτησε 40 ασθενείς με εντοπισμένα οζώδη NHL & κατέληξε ότι ο ιστολογικός υπότυπος, το στάδιο & ο βαθμός της διαφοροποίησης, δεν φαίνεται ότι επηρέαζε την έκβαση της νόσου. Όσοι ασθενείς αντιμετωπίστηκαν εξ αρχής με ΧΘΠ είχαν καλύτερη έκβαση<sup>27</sup>. Οι Wood LA, και συν., περιέγραψαν την έκβαση 157 ασθενών με προχωρημένα στάδια οζωδών NHL σε πληθυσμιακή μελέτη στην Alberta του Καναδά. Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι οι μόνοι παράγοντες με προγνωστική αξία για την έκβαση της νόσου, ήταν η τιμή της LDH ορού & η ύπαρξη β-συμπτωματολογίας<sup>28</sup>. Οι σύγχρονες απόψεις συγκλίνουν ότι οι προγνωστικοί παράγοντες είναι το στάδιο της νόσου, ηλικία >60 ετών, ο δείκτης δραστηριότητας, η προσβολή >1 εξωλεμφαδενικών εστιών, τα επίπεδα της β2 μικροσφαιρίνης, η Β-συμπτωματολογία & το συνολικό φορτίο νόσου<sup>29</sup>. Ανάλογες είναι & οι υποδείξεις του International Prognostic Index (IPI) το οποίο καταλήγει ότι οι δυσμενείς προγνωστικοί παράγοντες είναι: ηλικία > 60, αυξημένη LDH ορού, ECOG Performance status  $\geq 2$ , προσβολή  $\geq 2$  εξωλεμφαδενικών εστιών, κλινικό στάδιο III ή IV κατά Ann Arbor. Σημειώνεται ότι το IPI σχεδιάστηκε για επιθετικά NHL, ενώ κατόπιν εφαρμόστηκε με περιορισμένη επιτυχία στην πρόγνωση & των οζωδών NHL. Νέος συνδυασμός προγνωστικών δεικτών ειδικός για τα οζώδη NHL προτάθηκε από το Italian Lymphoma Intergroup (ILI). Η ομάδα κατέληξε ότι αξιόπιστοι δυσμενείς προγνωστικοί δείκτες είναι ηλικία > 60 έτη, άρρεν φύλο, προσβολή  $\geq 2$  εξωλεμφαδενικών εστιών, αυξημένη LDH ορού, ύπαρξη Β συμπτωματολογίας, ταχύτητα καθίζησης ερυθρών  $\geq 30$  mm /1η ώρα<sup>30</sup>. Τα χα-

μηλής κακοήθειας NHL εμφανίζουν συχνά,εκτροπή ενός κυτταρικού κλώνου των, σε επιθετικότερο ιστολογικό υπότυπο συνήθως ανθεκτικό στην ΧΘΠ & συνδεδεμένο με πτωχή πρόγνωση. Ο προβλεπόμενος κίνδυνος εκτροπής είναι 44% στα 5 χρόνια & 67% στην δεκαετία. Υπολογίζεται ότι το ποσοστό 10ετούς επιβίωσης των ασθενών με & χωρίς εκτροπή είναι 13% & 77% αντιστοίχως<sup>31</sup>.

## ΘΕΡΑΠΕΙΑ Α΄ ΓΡΑΜΜΗΣ

### Χημειοθεραπεία

Τα ποσοστά πλήρους ανταποκρίσεως στην θεραπεία συνιστούν δείκτες της αποτελεσματικότητάς της & προϋπόθεση εφαρμογής της, ιδίως επί επιθετικότερων NHL. Η σημασία τους είναι πολύ μικρότερη για χαμηλής κακοήθειας NHL, στα οποία η παράταση του διαστήματος ελεύθερου προόδου νόσου (ΔΕΠΝ) & η ΣΕ είναι οι μόνοι αξιόπιστοι δείκτες αξιολογήσεως της θεραπείας. Επειδή η κλινική πορεία των οζωδών NHL είναι σχετικά μακρά, τα πρώιμα αποτελέσματα μιας θεραπευτικής παρεμβάσεως μπορεί να είναι παραπλανητικά<sup>16</sup>.

Η χορήγηση chlorambucil σε δόση 10mg/ημέρα για άλλοτε άλλο διάστημα ανά 28 ημέρες, είναι αποδεκτή θεραπεία της νόσου τα τελευταία χρόνια. Υπάρχουν ενδείξεις ότι αύξηση της δόσεως της chlorambucil σε 30mg/ημέρα μπορεί να προκαλέσει βελτίωση των ποσοστών συνολικής ανταποκρίσεως (ΣΑ) & ΣΕ<sup>32</sup>. Θεραπείες 1<sup>ης</sup> γραμμής με συνδυασμούς chlorambucil, vinblastine & prednisone (ChIVP) ή cyclophosphamide, adriamycin, vincristine & prednisone (CHOP), στις περισσότερες περιπτώσεις προκαλούν υψηλά ποσοστά ΣΑ, χωρίς να επηρεάζουν ουσιωδώς την έκβαση της νόσου<sup>33</sup>. Γενικώς οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι τα ποσοστά ΠΥ μετά μονοθεραπεία με αλκυλιούντες παράγοντες είναι περίπου 50%, ενώ με συνδυασμούς ΧΘΠ περίπου 60%-80%. Εντούτοις, σύγκριση του συνδυασμού 3 φαρμάκων cyclophosphamide, oncovin, prednisone (COP) έναντι μόνο chlorambucil ή cyclophosphamide δεν κατέληξε σε σημαντικές διαφορές στην μακροχρόνια έκβαση της νόσου & την επιβίωση. Σήμερα η εμπειρία από τη χορήγησή του CHOP & άλλων ανάλογων συνδυασμών στην αντιμετώπιση των οζωδών NHL, φαίνεται ότι επάγει υψηλά ποσοστά ΠΥ στις περισσότερες μελέτες. Σε δύο προοπτικές μελέτες η προσθήκη doxorubicin σε συνδυασμούς ΧΘΠ, δεν παρείχε καμμία επιπλέον ωφέλεια<sup>34</sup>. Εντούτοις τα διαστήματα παρακολου-

θήσεως των ασθενών στις μελέτες αυτές ήταν βραχεία & επιπλέον το CHOP & οι παραλλαγές του συγκρίθηκαν με άλλους χημειοθεραπευτικούς συνδυασμούς & όχι με μονήρεις χημειοθεραπευτικούς παράγοντες<sup>16</sup>. Σε πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη (CALGB 9150), 29 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL, θεραπεύθηκαν με χορήγηση αυξημένων δόσεων cyclophosphamide (4.5gr/m<sup>2</sup> IV κάθε 14 ημέρες) & mesna, με παράλληλη προφύλαξη με rhG-CSF. Οι ασθενείς πήραν τουλάχιστον 4 κύκλους ΧΘΠ & παρακολούθηθηκαν για διάμεσο διάστημα 5(2.5-6.7) ετών. Παρατηρήθηκαν 9 πλήρεις & 9 μερικές υφέσεις (ΣΑ 75%) & ΔΕ 5.53 έτη. Η εκτιμώμενη πιθανότητα οι ασθενείς να ήταν ελεύθεροι νόσου & να επιβιώνουν ένα έτος από την θεραπεία, ήταν 50% & 92% αντίστοιχα. Τα αντίστοιχα ποσοστά στα 3 χρόνια ήταν 17% & 78%. Σε 13 ασθενείς είχε παρατηρηθεί αναδιάταξη του BCL-2 προ της θεραπείας. Σχετικός έλεγχος μετά την ολοκλήρωση της ΧΘΠ έγινε σε 7 ασθενείς οι οποίοι ανταποκρίθηκαν & οι 4 δεν εμφάνιζαν την αναδιάταξη<sup>35</sup>. Σε πρόσφατη μελέτη έγινε σύγκριση μονοθεραπείας με cyclophosphamide έναντι του συνδυασμού CHOP & bleomycin (CHOP-Bleo) σε 228 ασθενείς με οζώδη NHL σταδίου III/IV, η προσθήκη 4<sup>ου</sup> χημειοθεραπευτικού (bleomycin) στο CHOP δεν αύξησε την αποτελεσματικότητα της θεραπείας συγκριτικά με τη χορήγηση της λιγότερο τοξικής μονοθεραπείας με cyclophosphamide<sup>16</sup>. Σε πρόσφατα δημοσιευμένη προοπτική μελέτη συγκρίθηκε η χορήγηση CHOP έναντι 1<sup>ης</sup> γραμμής θεραπείας με CHOP & θεραπείας συντηρήσεως με υψηλή δόση cyclophosphamide (CHOP-HC). Ο μικρός αριθμός ασθενών της μελέτης περιόρισε την εξαγωγή οριστικών συμπερασμάτων, εντούτοις τα ποσοστά ΣΑ, το ΔΕΝ & η ΣΕ ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες ασθενών. Το CHOP-HC προκαλούσε πολύ μεγαλύτερη αιματολογική τοξικότητα, παρά την υποστήριξη με αυξητικούς παράγοντες, ώστε να μην συνιστάται ως θεραπεία των NHL χαμηλής κακοήθειας<sup>36</sup>. Τέλος, η τρέχουσα συγκριτική προοπτική μελέτη χορηγήσεως chlorambucil έναντι ΑΚΤΘ προσβεβλημένου πεδίου 2x2 Gy, σε ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL σταδίων III & IV, οι οποίοι δεν έχουν λάβει προηγούμενη θεραπεία<sup>37</sup>, αναμένεται να αναδείξει υψηλά ποσοστά ΣΑ & μακροχρόνιας ΠΥ της νόσου με ιδιαίτερα χαμηλή τοξικότητα.

Από τις αρχές της 10ετίας του 1990 στην θεραπεία των υποτροπιάζοντων ή ανθεκτικών, χαμηλής κακοήθειας NHL, εισήχθη η fludarabine με ποσοστά ΣΑ 70% (ΠΥ 37%) & περί το 50%

όταν χορηγήθηκε ως θεραπεία 1<sup>ης</sup> & 2<sup>ης</sup> γραμμής αντιστοίχως. Η διάμεση διάρκεια ανταποκρίσεως (ΔΔΑ) είναι 18 μήνες, αλλά μακράς διάρκειας ΠΥ, ίασεις ή σημαντική αύξηση της ΣΕ των ασθενών, είναι ανεκδοτικές. Ένταξη του φαρμάκου σε χημειοθεραπευτικούς συνδυασμούς αυξάνει τα ποσοστά ΣΑ & ΠΥ, σε 94% & 47% αντιστοίχως. Η fludarabine επάγει μεγαλύτερη μυελοκαταστολή & αυξημένα ποσοστά λοιμώξεων σε σχέση με τους αλκυλιούντες παράγοντες<sup>38,39</sup>. Στις παρενέργειες της περιλαμβάνονται ναυτία, έμετοι, αίσθημα κακουχίας & κοπώσεως, καθυστερημένη μυελοκαταστολή με συνακόλουθες λοιμώξεις, εκδηλώσεις από το Κ.Ν.Σ. ή/ & τα περιφερικά νεύρα, νέκρωση μυελού των οστών, αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία & θρομβοπενία με ηωσινοφιλία. Πρόσφατα περιγράφηκε εμφάνιση ηωσινοφιλικής πνευμονίας σε γυναίκα 53 ετών η οποία έλαβε το φάρμακο, για οζώδες NHL, σταδίου IV<sup>40</sup>.

Το 1999 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα του πρωτοκόλλου GELA με τυχαία κατανομή ασθενών, στο οποίο συνεκρίθη η αποτελεσματικότητα του συνδυασμού cyclophosphamide + doxorubicin + teniposide + prednisone (CHVP) + interferon α (IFN-α) έναντι μόνον fludarabine, σε ηλικιωμένους ασθενείς με δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες (μαζική νόσος, χαμηλός δείκτης δραστηριότητας, Β-συμπτωματολογία, β2 μικροσφαιρίνη ≥3 mg/l, LDH ≥ φυσιολογικού). Οι ασθενείς των δύο σκελών ήταν υπό θεραπεία επί 18 μήνες & η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι η πρώτη ομάδα είχε υψηλότερο ποσοστά ΣΑ, μεγαλύτερο ΔΕΝ & καλύτερη επιβίωση (p<0.05). Μέχρι σήμερα ο συνδυασμός CHVP + IFN-α παραμένει ο μόνος ο οποίος έχει αποδειχθεί ότι συνοδεύεται από καλύτερη επιβίωση σε συγκριτικές μελέτες. Η μελέτη έδωσε & άλλα ενδιαφέροντα στοιχεία τα οποία ήταν:

1. Η fludarabine προκάλεσε πολύ μικρότερο ποσοστό λευκοπενίας.
2. Η IFN-α μειώθηκε ή διεκόπη στο 39% των ασθενών, λόγω σοβαρής τοξικότητας.
3. Η fludarabine αποδείχθηκε ανεπαρκής στην πρόκληση σημαντικού ποσοστού ΣΑ & μακρών επιβιώσεων σε ασθενείς με επιθετική νόσο<sup>41</sup>.

Στην μελέτη παρατηρήθηκαν υψηλότερα ποσοστά σοβαρών παρενεργειών της IFN-c σε σχέση με άλλη, προγενέστερη, στην οποία όμως οι συμπεριληφθέντες ασθενείς ήταν νεώτερης ηλικίας<sup>24,42</sup>.

Μετά το GELA, σημαντικός αριθμός μελετών έδειξε ότι ο συνδυασμός CHVP+IFN-α προκαλούσε περισσότερες ΣΑ, μεγαλύτερο ΔΕΝ & καλύτε-

ρη επιβίωση σε σύγκριση με θεραπεία με μόνη fludarabine. Η 2ετής ελεύθερη νόσου επιβίωση & η διετής επιβίωση ήταν 63% έναντι 49% & 77% έναντι 62% για τις ομάδες CHVP+IFN- $\alpha$  & της fludarabine ( $p < 0.05$ , στις δύο περιπτώσεις) αντιστοίχως<sup>3,4,43</sup>. Πρόσφατα δημοσιεύθηκαν από το MD Anderson Cancer Center Huston, τα αποτελέσματα συγκριτικής μελέτης του συνδυασμού fludarabine, mitoxantrone, dexamethasone (FMD) έναντι χορηγήσεως κατ' εναλλασσόμενο τρόπο των (τριών) θεραπευτικών συνδυασμών CHOD-Bleo (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, dexamethasone, bleomycin), ESHAP (etoposide, methylprednisolone, cytarabine, cisplatin) & NOPP (mitoxantrone, vincristine, procarbazine, prednisone), σε 142 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL. Οι ασθενείς μετά την ολοκλήρωση της 1<sup>ης</sup> γραμμής ΧΘΠ έλαβαν θεραπεία συντηρήσεως με IFN- $\alpha$ +dexamethasone επί 1 έτος & παρακολούθηθηκαν για διάμεσο χρονικό διάστημα 5.9 χρόνων. Τα ποσοστά ΣΑ ήταν 97% & στα δύο σκέλη, της 5ετούς επιβιώσεως 84% έναντι 82% ( $p=0.9$ ) & του 5ετούς ΔΕΝ 41% έναντι 50% ( $p=0.02$ ). Υπήρχαν 1 & 2 τοξικοί θάνατοι αντιστοίχως στα δύο σκέλη & η μη αιματολογική τοξικότητα ήταν συχνότερη μεταξύ των ασθενών του δεύτερου σκέλους. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση οι ανεξάρτητοι προβλεπτικοί παράγοντες για την επίτευξη μεγαλύτερου ΔΕΝ ήταν επίπεδα β2-μικροσφαιρίνης  $< 3\text{mg/L}$  ( $p=0.01$ ) & χορήγηση εναλλασσόμενης ΧΘΠ<sup>44</sup>.

Η χορήγηση 1<sup>ης</sup> γραμμής θεραπείας συνδυασμού fludarabine + mitoxantrone, εξετάσθηκε σε σειρές με μικρούς αριθμούς ασθενών μετά τα εξαιρετικά αποτελέσματά του σε προθεραπευμένους ασθενείς<sup>45</sup> & έδωσε ποσοστά ΣΑ 89%-100%. Από τον συνδυασμό αποκλείσθηκε η dexamethasone, στην προσπάθεια των ερευνητών να μειωθεί η πιθανότητα της σοβαρής ανοσοκαταστολής & των ευκαιριακών λοιμώξεων<sup>46-48</sup>. Με βάση αυτό το πρότυπο, σε πρόσφατη Ελληνική μελέτη ελέγχθηκε ο συνδυασμός fludarabine  $25\text{mg/m}^2/\text{ημέρα}/\text{IV}$ , ημέρες 1-3 & mitoxantrone  $10\text{mg/m}^2/\text{IV}$ , ημέρα 1, ανά 28 ημέρες, σε 27 ασθενείς οι οποίοι πήραν  $\leq 6$  χημειοθεραπευτικούς κύκλους. Παρατηρήθηκαν 12(44%) ΠΥ & 8(30%) μερικές υφέσεις (ΜΥ). Το διάμεσο ΔΕΝ ήταν 32(10-42.5+) μήνες & η πιθανότητα επιβιώσεως στα 3 χρόνια, 75%. Η διάμεση διάρκεια της ΠΥ & της ΜΥ ήταν 37.3 & 24 μήνες αντιστοίχως. Το 40% των ασθενών εμφάνισε ουδετεροπενία βαθμού III ή IV, αλλά όχι συχνά ευκαιριακές λοιμώξεις<sup>49</sup>. Εντούτοις συνδυασμοί fludarabine με cyclophosphamide ή mitox-

antrone δεν έχουν ελεγχθεί σε μεγάλες μελέτες φάσεως III, έως τώρα. Σε πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη επί 78 ασθενών με προχωρημένα στάδια NHL χαμηλής κακοήθειας, ο συνδυασμός fludarabine με mitoxantrone επήγγε 34 ΠΥ & 39 ΜΥ. Το 88% των ασθενών ζούσε 4 χρόνια από την έναρξη της αγωγής<sup>50</sup>. Ενδιαφέρον υπάρχει για την συσχέτιση της ανταποκρίσεως σε μοριακό επίπεδο την οποία επάγει η fludarabine, με την κλινική ανταπόκριση ή την αύξηση του ΔΕΝ<sup>39</sup>.

Στην θεραπεία των οζωδών NHL έχει δοκιμασθεί η cladribine, η οποία είναι ανάλογο των πουρινών. Μονοθεραπεία με cladribine σε μελέτη φάσεως II σε 55 ασθενείς, προκάλεσε ΣΕ & ΔΕΝ, ανάλογες της fludarabine<sup>51</sup>. Άλλες μελέτες φάσεως II, με μικρούς αριθμούς ασθενών, έδειξαν ότι η cladribine επάγει ελάχιστη τοξικότητα, ήταν καλά ανεκτή από τους ασθενείς, αλλά η αποτελεσματικότητά της στην νόσο είναι μικρότερη έναντι συνδυασμών ΧΘΠ με βάση την doxorubicin. Για τον λόγο αυτό, η χρησιμοποίηση της cladribine σε θεραπείες πρώτης γραμμής, αμφισβητείται εντόνως<sup>4,52</sup>.

Σε κλινικές μελέτες φάσεως I/II, δοκιμάζεται το arsenic trioxide το οποίο αυξάνει την απόπτωση των λεμφωματικών κυττάρων μέσω BCL-2. Παρά την σημαντική δραστηριότητα του φαρμάκου, η κλινική του εφαρμογή φαίνεται δεν προχώρησε αξιολογικά, λόγω των πολλών παρενεργειών (γαστρεντερική, ηπατική, νεφρική, μυοσκελετική τοξικότητα), τις οποίες προκαλεί<sup>38</sup>.

Γενικώς η διάρκεια ανταποκρίσεως της νόσου στις πλείστες των περιπτώσεων των χαμηλής κακοήθειας NHL είναι περιορισμένη, με εξαίρεση την ομάδα των ασθενών, οι οποίοι αντιμετωπίζονται με μεγαθεραπεία και μόσχευμα αυτόλογων προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων στα πλαίσια θεραπειών σταθεροποίησης, αμέσως μετά από επιτυχείς θεραπείες 1<sup>ης</sup> γραμμής. Στις περιπτώσεις αυτές, (όπως & όταν η μεγαθεραπεία επάγει μακρές ΠΥ ή ιάσεις χρησιμοποιούμενη στα πλαίσια θεραπείας σε ασθενείς με πρώτη υποτροπή), παρατηρείται αναδιάταξη του BCL2, στα κύτταρα του αίματος και του μυελού των οστών σε πολύ υψηλά ποσοστά<sup>4,24,26</sup>.

Πολύ λίγες μελέτες έχουν σχεδιασθεί για τον έλεγχο παραμέτρων ποιότητας ζωής σε ασθενείς με οζώδη NHL. Μελέτη επί 141 ασθενών έδειξε ότι κάθε θεραπεία προκαλούσε σημαντική φυσιολογική, συναισθηματική και λειτουργική επιβάρυνση μη αναμενόμενη, λόγω της βελτιώσεως των συμπτωμάτων & εκδηλώσεων της νόσου η οποία επήγγετο σε συντριπτικό ποσοστό<sup>53</sup>. Όπως ανα-

φέρθηκε ήδη, ο συνδυασμός CHVP+IFN-a έχει σημαντική θεραπευτική αξία για ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL. Εντούτοις η χορήγηση IFN-a συνοδεύεται από αυξημένη τοξικότητα, σημαντική δυσμενή επίδραση στην ποιότητα ζωής των ασθενών & σε πρόσφατη μελέτη το 39% των ασθενών διέκοψε την χρήση της, λόγω παρενεργειών<sup>4,41</sup>. Είναι αξιοσημείωτο ότι παρά τον αριθμό αξιόλογων εργασιών οι οποίες καταλήγουν σε θετική συμβολή της προσθήκης IFN-a σε συνδυασμούς ΧΘΠ σχεδιασμένους για την αντιμετώπιση χαμηλής κακοήθειας NHL επί ασθενών με δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες, υπάρχουν πολλές μελέτες κατά τις οποίες η επίδραση της IFN-a, ειδικότερα στην επιβίωση των πασχόντων, αμφισβητείται<sup>54</sup>. Τα θεραπευτικά δεδομένα μπορεί να αλλάξουν όταν παγιωθούν ήδη ανακινωθέντα προκαταρκτικά αποτελέσματα από την συγχορήγηση ΧΘΠ & μονοκλωνικών αντισωμάτων, για τα οποία θα γίνει ανεξάρτητη αναφορά στην συνέχεια<sup>3,4</sup>.

Σε ανασκόπηση επτά μοριακών μελετών επί ασθενών με οζώδη NHL & την t(14;18) αντιμετωπισθέντες επιτυχώς με ΧΘΠ, παρατηρήθηκε αρνητική PCR για αναδιάταξη του BCL-2 σε ποσοστό 38%-82% στην φάση ανταποκρίσεως<sup>22</sup>. Σταθεροποίηση του αποτελέσματος της ΧΘΠ με ανοσοθεραπεία (ιντερφερόνη, ιντερλευκίνη, εμβόλια με ιδιοτυπική πρωτεΐνη) μπορεί να αυξησει τα ποσοστά αρνητικής PCR για αναδιάταξη του BCL-2<sup>55</sup>.

### Ακτινοθεραπεία

Τα οζώδη NHL είναι εξαιρετικά ακτινοευαίσθητοι όγκοι. Η θέση της ΑΚΤΘ στην αντιμετώπιση χαμηλής κακοήθειας NHL σταδίων I ή II, μέχρι

πρόσφατα, επεφυλάσσετο κυρίως για ασθενείς μεγάλης ηλικίας, με εντοπισμένη νόσο & επηρεασμένο δείκτη δραστηριότητας. Η ΑΚΤΘ επάγει καλό έλεγχο της τοπικής νόσου (για άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα), αλλά, δεν προλαμβάνει υποτροπές, μακράν της πρωτοπαθούς εστίας, όπως αναμένεται. Συνδυασμός ΑΚΤΘ με ήπια ΧΘΠ επάγει μικρή βελτίωση των αποτελεσμάτων της ΑΚΤΘ<sup>56</sup> & αυτό ανακοινώθηκε για πρώτη φορά από την British National Lymphoma Investigation (BNLI) η οποία, σε 148 ασθενείς, έδειξε ότι μικρές δόσεις chlorambucil για 6 μήνες μετά την ολοκλήρωση της ΑΚΤΘ, προκαλούσε μικρή, μη στατιστικά σημαντική, μείωση των υποτροπών στην ομάδα του συνδυασμού<sup>57</sup>.

Αποτελέσματα επανειλημμένων μελετών τα τελευταία έτη, αναδεικνύουν την σημαντική θέση της ΑΚΤΘ προσβεβλημένου πεδίου με δόση 36-40Gy για την αντιμετώπιση οζωδών NHL σταδίων I & II, με ποσοστά 40%-50% 10ετούς ελεύθερης νόσου επιβιώσεως<sup>58,59</sup>. Οι δημοσιευμένες μελέτες θεραπείας χαμηλής κακοήθειας NHL με μόνη ΑΚΤΘ, δίνονται στον Πίνακα 2 Η διακύμανση των ποσοστών ανταποκρίσεως σε αυτές εξαρτάται από:

- 1) την επιβάρυνση του πληθυσμού των ασθενών από δυσμενείς προγνωστικούς δείκτες, όπως τα αυξημένα επίπεδα της β2 μικροσφαιρίνης και
- 2) την εντατικότητα του είδους της πρώτης σταδιοεκτιμήσεως των ασθενών με χρησιμοποίηση της ερευνητικής λαπαροτομίας ή όχι, την ένταξη στον κατάλογο των υποχρεωτικών, ορισμένων εξειδικευμένων εξετάσεων όπως είναι η [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography ή το gallium scanning<sup>60</sup>.  
Επί προχωρημένων σταδίων, ολοσωματική

**Πίνακας 2.** Δημοσιευμένες μελέτες θεραπείας χαμηλής κακοήθειας λεμφωμάτων με μόνη ακτινοθεραπεία

ΜΕΛΕΤΗ	Α.Α. (%στάδιο II)	Δ.Η. (εύρος)	Δόση ΑΚΤΘ (Gy)/εύρος	% 10ετές ΔΕΝ.	% 10ετής Σ.Ε.
BNLI-1	82 <sup>57</sup>	60 <sup>30-80</sup>	Κοιλιά <sup>25</sup> , Αλλού <sup>35</sup>	28	52
BNLI-2	208 <sup>0</sup>	59 <sup>31-86</sup>	Αναλόγως <sup>35</sup>	47	64
Toronto	190 <sup>45</sup>	56 <sup>18-87</sup>	30 <sup>20-35</sup>	53 στα 12 χρόνια	58 στα 12 χρόνια
Stanford	177 <sup>58</sup>	52 <sup>22-83</sup>	35-50	44	64
MD Anderson	80 <sup>59</sup>	54 <sup>24-81</sup>	40 <sup>26-50</sup>	41 στα 15 χρόνια	43 στα 15 χρόνια
Royal Marsden	58 <sup>31</sup>	55 <sup>21-82</sup>	40 <sup>30-54</sup>	43	79

Δ.Η. = διάμεση ηλικία, ΑΚΤΘ= ακτινοθεραπεία, ΔΕΝ = διάστημα ελεύθερο νόσου, Σ.Ε. = συνολική επιβίωση.  
Από: Seymour JF, Pro B, Fuller LM, et al. Long-term follow-up of prospective study of combined modality therapy for stage I-II indolent non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol 2003, 21: 2115-2122.

ΑΚΤΘ χαμηλής συνολικής δόσεως (1.5-2.5Gy σε συνεδρίες των 10cGy) προκαλεί αξιόλογες ανταποκρίσεις<sup>11,61</sup>. Σε ενδιαφέρουσα μελέτη επί 48 ασθενών με διάμεση παρακολούθηση 3.3 ετών, η ολοσωματική ΑΚΤΘ επέγγε ποσοστά ΣΑ & ΠΥ 89% & 37% αντιστοίχως<sup>62</sup>. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης επιβεβαίωσαν αντίστοιχα προγενέστερων μικροτέρων μελετών<sup>63,64</sup>.

Ιδιαίτερως ενδιαφέρουσες μελέτες έλεγξαν την δράση της ΑΚΤΘ στην μετάθεση t(14;18). Σε μία εξ αυτών επί 21 ασθενών με χαμηλής κακοήθειας NHL, οι οποίοι αντιμετώπιζονταν με ΑΚΤΘ εκτεταμένου πεδίου, κύτταρα φέροντα την μετάθεση t(14;18), ανιχνεύθηκαν σε ποσοστό 38% των ασθενών μετά διάμεσο χρονικό διάστημα 6.5 χρόνων, από την θεραπεία. Μειονέκτημα της μελέτης ήταν ότι δεν είχε προσδιορισθεί η συχνότητα της μεταθέσεως προ θεραπείας<sup>65</sup>. Σε άλλη μελέτη 20 ασθενών με οζώδη NHL σταδίων I-III, οι οποίοι εμφάνισαν ανταπόκριση μακράς διάρκειας, μελετήθηκε η μεταβολή της συχνότητας της μεταθέσεως t(14;18) στο αίμα & τα κύτταρα του μυελού των οστών. Αξιολόγηση προ θεραπείας έδειξε ότι 9/19(47%) δείγματα αίματος & 9/16(56%) δείγματα μυελικών κυττάρων είχαν την αναδιάταξη του BCL-2. Οι 8/9(89%) ασθενείς είχαν PCR αρνητική για αναδιάταξη του BCL-2 στην φάση της ανταποκρίσεως<sup>66</sup>.

Σε πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη, 102 ασθενείς διάμεσης ηλικίας 56<sup>28-77</sup> ετών, με οζώδη NHL σταδίων I & II, έλαβαν 10 χημειοθεραπευτικούς κύκλους COP-Bleo ή CHOP-Bleo & ΑΚΤΘ προσβεβλημένου πεδίου, με 30-40Gy. Τα ποσοστά επιβιώσεως ελεύθερης νόσου (EEN) & ΣΕ στα 10 χρόνια, ήταν 76% & 82% αντιστοίχως<sup>60</sup>.

## ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΧΑΜΗΛΗΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ NHL ΛΕΜΦΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΥΠΟΤΡΟΠΗ

### Ακτινοθεραπεία προσβεβλημένου πεδίου

Μέχρι πρόσφατα ασθενείς με υποτροπιάζουσα νόσο σε μία ή λίγες εστίες αντιμετωνίζονταν με εντοπισμένη ΑΚΤΘ, συνολικής δόσεως 20-36Gy. Το 2003 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα ΑΚΤΘ εντοπισμένου πεδίου, σε 109 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL & τοπικοπεριοχική υποτροπή. Οι ασθενείς πήραν συνολική δόση 4Gy & το 92% εξ αυτών, εμφάνισε ταχεία ανταπόκριση χωρίς αξιόλογη τοξικότητα. Σε ασθενείς με οζώδη NHL η πολιτική της αναμονής είναι αποδεκτή επί πολυεστιακής υποτροπής & ασυμπτωματικής νόσου. Εντούτοις σε συμπτωματικούς ασθενείς η κλασι-

κή αντιμετώπιση συνίσταται σε χορήγηση ΧΘΠ ± ανοσοθεραπεία. Είναι ενδιαφέρον ότι τελευταία αποτελέσματα ενισχύουν την άποψη, ότι χαμηλής δόσεως ΑΚΤΘ των προσβεβλημένων περιοχών συνιστά αποδεκτή, εναλλακτική θεραπευτική προσέγγιση<sup>11</sup>.

### Χημειοθεραπεία

Από το 1982 δοκιμάσθηκαν διάφοροι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες & συνδυασμοί τους, σε ασθενείς με ανθεκτικά ή υποτροπιάσαντα οζώδη NHL, μετά 1<sup>ης</sup> γραμμής, κλασική θεραπεία με CHOP. Μελέτες φάσεως II με μικρούς αριθμούς ασθενών έχουν δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα από την χρήση mitoxantrone<sup>67</sup>, epirubicin<sup>68</sup> ή του συνδυασμού ifosfamide + etoposide<sup>69</sup>, με ΣΑ μεταξύ 63%-81%.

Στις αρχές της 10ετίας του 1990 ασθενείς με NHL, οι οποίοι είχαν πάρει ήδη, εντατική ΧΘΠ & η πλειοψηφία τους (69%) doxorubicin αντιμετωνίσθηκαν με 2<sup>ης</sup> γραμμής ΧΘΠ με mitoxantrone. Η ανταπόκριση των ομάδων χαμηλής & ενδιάμεσης κακοήθειας NHL ήταν 54% & 36% αντιστοίχως<sup>70</sup>.

Η gemcitabine έχει θεραπευτική δραστηριότητα σε ασθενείς με οζώδη NHL σε φάση υποτροπής, αλλά μικρότερη σε σχέση με την αντίστοιχη επί νόσου του Hodgkin<sup>38</sup>. Σε πολυκεντρική μελέτη φάσεως II, 36 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL αντιμετωνίσθηκαν με 2<sup>ης</sup> γραμμής gemcitabine 1gr/m<sup>2</sup> τις ημέρες 1,8,15 με 6 χημειοθεραπευτικούς κύκλους ανά 28 ημέρες, χωρίς αξιόλογη τοξικότητα. Από τους ασθενείς, οι 26 είχαν υποτροπιάσει μετά ΧΘΠ 1<sup>ης</sup> γραμμής & οι υπόλοιποι 10 είχαν ανθεκτική νόσο. Δεκαοκτώ ασθενείς είχαν λάβει ΧΘΠ 1<sup>ης</sup> γραμμής με βάση νουκλεοσιδικά ανάλογα. Συνολική ανταπόκριση εμφάνισαν 9 (25%) ασθενείς, (2 ΠΥ & 7 ΜΥ) με ΔΔΑ 150(45-200) ημέρες<sup>71</sup>. Συνοπτικά & μετά από εκτίμηση σχετικών μελετών της τελευταίας πενταετίας, η μονοθεραπεία με gemcitabine σε ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL σε υποτροπή επάγει ποσοστά ΣΑ 20-70%<sup>72</sup>. Η συνεργική αντινεοπλασματική δράση της cisplatin & της gemcitabine, τα μη αλληλοεπικαλυπτόμενα προφίλ τοξικοτήτων & η έλλειψη διασταυρούμενης αντοχής, δικαιολογούν περαιτέρω κλινική εφαρμογή του συνδυασμού. Προκαταρκτικά αποτελέσματα δύο μελετών με συνδυασμένη θεραπεία gemcitabine, cisplatin & κορτικοστεροειδών σε υποτροπιάζοντα NHL ανέδειξαν ποσοστά ΣΑ 50% - 57%<sup>73,74</sup>. Σε πρόσφατη μελέτη, ο συνδυασμός

gemcitabine+ cisplatin σε 20 ασθενείς έδωσε ΣΑ 80% (5 ΠΥ & 11 ΜΥ). Μολονότι τα ποσοστά ΣΑ των ασθενών οι οποίοι αντιμετωπίζονται με συνδυασμό gemcitabine-cisplatin είναι ικανοποιητικά, η ΔΔΑ (περίπου 5,7 μήνες) δεν διαφέρει αξιολογικά από την αντίστοιχη μελετών μονοθεραπείας με gemcitabine<sup>75,76</sup>. Ο συνδυασμός gemcitabine+cisplatin είναι καλύτερα να χρησιμοποιείται κατά την πρώτη υποτροπή ή πριν από αυτήν, στα πλαίσια θεραπειών σταθεροποιήσεως. Ο συνδυασμός δεν αποδείχθηκε ιδιαίτερα μυελοτοξικός, δεν παρατηρήθηκε αξιολογική ουδετεροπενία ή θρομβοπενία με αιμορραγία, ενώ η μη-αιματολογική τοξικότητα ήταν μικρότερη από grade III-IV<sup>72</sup>. Η megaθεραπεία με υποστήριξη με αυτόλογα προγονικά μυελικά κύτταρα αυξάνει το διάστημα ελεύθερο υποτροπής επί νόσου του Hodgkin<sup>77,78</sup> & την ΣΕ στα NHL<sup>79</sup>, όταν χρησιμοποιείται ως θεραπεία 2<sup>ης</sup> γραμμής & εξής. Εντούτοις σε πολλές περιπτώσεις, η αυτόλογη μεταμόσχευση αποκλείεται εξ αρχής λόγω πτωχής προγνώσεως, ενώ είναι χαμηλό το ποσοστό ασθενών από τους οποίους μπορεί να συλλεχθεί ικανοποιητικό δείγμα μυελού των οστών & να γίνει επιτυχής μεταμόσχευση<sup>72</sup>.

Η oxaliplatin είναι πλατινοειδές τρίτης γενιάς με ελάχιστη νεφρική ή ακουστική τοξικότητα, με αξιολογική δραστηριότητα σε υποτροπή ή ανθεκτικά NHL, όταν χορηγείται ως μονοθεραπεία<sup>80</sup>, ή σε συνδυασμό με cytarabine & δεξαμεθαζόνη<sup>81</sup>. Ο συνδυασμός gemcitabine & oxaliplatin σε πολυχημειοθεραπευμένους ή ασθενείς με υποτροπιάζοντα NHL δίνει ποσοστά ΣΑ μέχρι 60%<sup>72</sup>.

Αποτελέσματα 2<sup>ης</sup> γραμμής, μονοθεραπείας με fludarabine σε 26 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL, ανακοινώθηκαν για πρώτη φορά το 1987<sup>82</sup>. Έκτοτε & έως το 1994, επανειλημμένες μελέτες δίνουν ποσοστά ΣΑ 31%-55% & ΠΥ περί το 15%<sup>83-87</sup>. Από τις μελέτες αυτής της περιόδου, πλέον σημαντική είναι η μελέτη της Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), η οποία αξιολόγησε θεραπεία 2<sup>ης</sup> γραμμής με fludarabine σε 25 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL & ανακοίνωσε 13(52%) ΣΑ<sup>83</sup>.

Τον Δεκέμβριο του 2002 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα συγκριτικής μελέτης φάσεως III, μόνον fludarabine, έναντι του συνδυασμού COP σε 91 ασθενείς με υποτροπή χαμηλής κακοήθειας NHL. Η μελέτη ανέδειξε υπεροχή της fludarabine στην επίτευξη ΔΕΝ (p=0.02), την επιβίωση ελεύθερη νόσου (p=0.03) & την διατήρηση των κοινωνικών δραστηριοτήτων των ασθενών (p=0.008). Δεν υπήρχαν διαφορές, στα ποσοστά

(64% έναντι 52%) ΣΑ μεταξύ των ασθενών οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με fludarabine & COP<sup>54</sup>. Τα αποτελέσματα δημιούργησαν αίσθηση, προκάλεσαν επιστημονικές συζητήσεις & πιθανότατα ερμηνεύονται, δεδομένου ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με COP, είχαν ήδη πάρει CHOP στα πλαίσια θεραπείας 1<sup>ης</sup> γραμμής, ώστε η πιθανότητα ανταχής σε αλκυλιούντες παράγοντες ήταν εξαιρετικά αυξημένη<sup>88</sup>.

Η bendamustine, ουσία ανάλογη των πουρινών, σε δύο μελέτες επί 52 & 62 ασθενών με ανθεκτικά ή υποτροπιάζοντα NHL, έδωσε ΣΑ 73%-82.5% (ΠΥ 11%-14.5%). Οι παρενέργειες ήταν σπάνιες & συνίσταντο σε τοξικότητα από το Γ.Ε.Σ., μυελοκαταστολή & αλλεργικές αντιδράσεις<sup>89</sup>.

Δεδομένης της αποδειχθείσας σε κυτταρικές σειρές, συνεργιστικής δραστηριότητας της bendamustine, με αλκυλιούντες παράγοντες, ανάλογα πουρινών & fludarabine<sup>90</sup>, σχεδιάστηκε & ήδη βρίσκεται σε εξέλιξη μελέτη αξιολογήσεως του συνδυασμού bendamustine & fludarabine στην αντιμετώπιση ασθενών με χαμηλής κακοήθειας NHL σε φάση ανθεκτικότητας ή υποτροπής. Η προκαταρκτική ανάλυση των αποτελεσμάτων της θεραπείας, σε 14 ασθενείς της μελέτης, ανέδειξε 9 ΠΥ & 4 ΜΥ ή ποσοστό ΣΑ 93%<sup>89</sup>.

Μελέτη φάσεως III επί 162 ασθενών, μεταξύ bendamustine+ vincristine+ prednisone, έναντι COP, δεν ανέδειξε διαφορές στα ποσοστά ΣΑ & ΣΕ μεταξύ των δύο σκελών, μολονότι ο συνδυασμός με την bendamustine ήταν καλύτερα ανεκτός από τους ασθενείς<sup>89</sup>.

Σε μελέτη φάσεως I, ο συνδυασμός FMD, έδωσε ΣΑ 71% σε 21 ασθενείς με υποτροπιάσαντα NHL χαμηλής κακοήθειας<sup>91</sup>.

Μελέτες φάσεως II συνδυασμού fludarabine με cyclophosphamide ή mitoxantrone & κορτικοστεροειδή, έχουν δώσει ποσοστά ΣΑ έως 94% αν & συνοδεύτηκαν από μεγαλύτερη αιματολογική τοξικότητα σε σχέση με χημειοθεραπευτικά σχήματα με βάση την doxorubicin<sup>45,92</sup>.

*Μεγαχημειοθεραπεία με υποστήριξη με μυελικό μόσχευμα ή αρχέγονα μυελικά κύτταρα ως πρώτης ή δεύτερης γραμμής θεραπεία σε ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας λεμφώματα*

Μεγαθεραπεία με υποστήριξη με αυτόλογα προγονικά μυελικά κύτταρα πιθανότατα αυξάνουν την ελεύθερη νόσου επιβίωση (ENE) σε ασθενείς οι οποίοι βρίσκονται σε 1η ή 2η υποτροπή. Σε ανακοινώσεις μεμονωμένων κέντρων, ασθενείς οι

οποίοι αντιμετωπίζονται με megaθεραπεία ως 1ης ή 2ης γραμμής θεραπεία, εμφανίζουν ENE έναντι ιστορικών μαρτύρων οι οποίοι πήραν συμβατική ΧΘΠ. Πρέπει να σημειωθεί ότι έως σήμερα δεν υπάρχουν μελέτες με τυχαία κατανομή ασθενών μεταξύ 1<sup>ης</sup> γραμμής megaθεραπείας ή συμβατικής ΧΘΠ<sup>4,93</sup>. Στο Dana Farber Cancer Institute 153 ασθενείς με υποτροπιάσαντα οζώδη NHL, αντιμετωπίστηκαν με μεγάλες δόσεις cyclophosphamide, ολοσωματική AKTΘ, μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι των β-κυττάρων & υποστήριξη με αυτόλογο μυελικό μόσχευμα & εμφάνισαν ΔΕΝ & ΣΕ στα 8 χρόνια 42% & 66% αντιστοίχως. Κατά τον χρόνο της χορηγήσεως του μυελικού μοσχεύματος, το 47% των ασθενών είχε εμφανή διήθηση του μυελού των οστών<sup>94</sup>. Ασθενείς των οποίων τα συλλεχθέντα αρχέγονα κύτταρα μετά την κάθαρση, είναι αρνητικά στην PCR για αναδιάταξη BCL-2 IgH, εμφανίζουν ΔΕΝ, σημαντικά μεγαλύτερο ( $p < 0.0001$ ), σε σχέση με όσους τα αντίστοιχα κύτταρα ήταν θετικά στην PCR. Είναι ενδιαφέρον ότι PCR αρνητική στα μυελικά κύτταρα ασθενών κατά την παρακολούθηση, είναι ισχυρός προβλεπτικός παράγων για συνεχιζόμενη ΠΥ. Μολονότι όλα τα μέχρι σήμερα δεδομένα είναι συνηγορητικά υπέρ της επιλογής megaθεραπείας στην φάση της 1ης υποτροπής ασθενών με οζώδη NHL, ο ρόλος της καθάρσεως των μυελικών κυττάρων στην επίτευξη καλύτερων ΔΕΝ & την ΣΕ δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένος<sup>95</sup>.

Τα οζώδη NHL σε εκτροπή συνιστούν πολύ επιθετική νόσο & μολονότι αρκετοί ασθενείς μπορεί να ανταποκρίνονται σε συμβατική θεραπεία, συνήθως ο χρόνος έως την επόμενη υποτροπή είναι βραχύς & η επιβίωση μετά την ιστολογική εκτροπή είναι μικρότερη του έτους. Η ομάδα των ασθενών με ιστολογική εκτροπή εξακολουθούσα χημειοευαίσθητη, ωφελείται περισσότερο από megaθεραπεία με μυελική υποστήριξη<sup>96</sup>. Σε πολύ ενδιαφέρουσα μελέτη ανασκοπήθηκαν 99 ασθενείς με οζώδη NHL, οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με cyclophosphamide, ολοσωματική AKTΘ, megaθεραπεία & υποστηρίχθηκαν με αυτόλογο μόσχευμα στην δεύτερη ή σε επόμενη υποτροπή & παρακολούθηθηκαν για διάμεσο χρονικό διάστημα 5.5 χρόνια. Κατά την παρακολούθηση 33 ασθενείς υποτροπίασαν, σε διάμεσο διάστημα 14 μηνών από την megaθεραπεία. Είναι ενδιαφέρον ότι η υποτροπή έγινε αντιληπτή για πρώτη φορά από τον ίδιο τον ασθενή σε 26 περιπτώσεις & μόνον σε 7, τα προγράμματα παρακολούθησεως βοήθησαν στην ανίχνευση & την διάγνωσή της Παρατηρήθηκε στις θέσεις αρχικής νόσου σε 26

περιπτώσεις & κατ'αυτήν οι 22 (67%) ασθενείς εμφάνιζαν οζώδες NHL ενώ οι υπόλοιποι 11 είχαν εκτροπή σε υψηλής κακοήθειας νόσο από Β κύτταρα. Οι 5 από τους 8 ασθενείς οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν επιθετικά, επιβίωσαν επί 21-53 μήνες. Είκοσι πέντε ασθενείς έλαβαν ήπια, συμπτωματική θεραπεία, οι 8 παρέμεναν στην ζωή από 6 μήνες - 10 χρόνια & 5 από αυτούς, ήταν σε φάση υφέσεως. Το 45% των ασθενών εμφάνιζε 5ετή επιβίωση ενώ η επιβίωση μετά την υποτροπή & η ΣΕ από την διάγνωση ήταν παρόμοιες ιστορικών μαρτύρων, οι οποίοι έλαβαν συμβατική θεραπεία με διορθωμένο συντελεστή κινδύνου 1.56 & 1.34 &  $p=0.3, 0.4$ , αντιστοίχως. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η megaθεραπεία με υποστήριξη με μυελικό μόσχευμα στην δεύτερη υποτροπή, δεν φαίνεται να επηρεάζει την ΣΕ των ασθενών<sup>97</sup>.

Έως πρόσφατα η ανίχνευση εμμένουσας αναδιάταξης BCL-2 σε κύτταρα περιφερικού αίματος & μυελού των οστών σε ασθενείς, με οζώδη NHL μετά megaθεραπεία συνδυάζονταν με πτωχή πρόγνωση. Το πρόσφατα χρησιμοποιούμενο μονοκλωνικό αντίσωμα rituximab μπορεί, είτε να απαλλάξει τα συλλεχθέντα αρχέγονα κύτταρα από την παρουσία λεμφωματικών κυττάρων in vivo, είτε να περιορίσει την υπολειμματική νόσο χρησιμοποιούμενο στα πλαίσια θεραπείας συντηρήσεως μετά την μεταμόσχευση<sup>98</sup>. Είναι ενδιαφέρον ότι η θεραπεία με rituximab συνοδεύεται από αυξημένη κάθαρση των κυττάρων του αίματος & του μυελού των οστών με αναδιάταξη BCL-2. Πρόσφατα χορηγήθηκε rituximab σε 10 ασθενείς, 2 ημέρες προ της λήψεως του μυελικού μοσχεύματος. Στους ασθενείς αυτούς ο αριθμός των CD34+ κυττάρων τα οποία συνελέχθησαν, ήταν αντίστοιχος των ιστορικών μαρτύρων, ενώ η διάρκεια της ουδετεροπενίας ή/ & της θρομβοπενίας δεν ήταν αυξημένη<sup>99</sup>. Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με το ποσοστό των υποτροπών μετά θεραπεία με rituximab, ενώ η δραστηριότητα της μιάς δόσεως rituximab, δύο ημέρες προ της συλλογής μυελικών κυττάρων, παραμένει συζητήσιμη<sup>4</sup>. Το κλινικό όφελος από τον συνδυασμό rituximab + megaθεραπείας & υποστήριξη με αυτόλογα προγονικά μυελικά κύτταρα δεν έχει ακόμη πλήρως αποσαφηνιστεί καθώς βρίσκονται σε εξέλιξη μελέτες φάσεως II. Μελέτες φάσεως III είναι απαραίτητες για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων των μελετών φάσεως II & την ανάδειξη της σημασίας της ανοσοολογικής καθάρσεως με μονοκλωνικά αντισώματα στην κλινική πράξη<sup>98</sup>.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ασθενείς σε υποτροπή είναι οι κύριοι υποψήφιοι για μεγαθεραπεία με υποστήριξη με αυτόλογα αρχέγονα περιφερικά αιμοποιητικά κύτταρα. Ο συνήθως χρησιμοποιούμενος χημειοθεραπευτικός συνδυασμός συνίσταται σε ifosfamide 5gr/m<sup>2</sup> ημέρα 1, etoposide 100mg/m<sup>2</sup> ημέρες 1-3, cytarabine 1.2mg/m<sup>2</sup>/12ώρες ημέρες 1-2 & methylprednisolone 80mg/m<sup>2</sup> ημέρες 1-5 (IAPVP-16), επάγει ποσοστό ΣΑ περί το 80%, αλλά συνοδεύεται από σοβαρή μυελοτοξικότητα. Συνδυασμοί με ανάλογα των πουρινών προκαλούν αιματολογική τοξικότητα & δέον να αποφεύγονται σε ασθενείς, για τους οποίους σχεδιάζεται μεγαθεραπεία<sup>95,100,101</sup>. Σε μελέτη 7 ασθενών οι οποίοι έλαβαν ΧΘΠ 1<sup>ns</sup> γραμμής με βάση την fludarabine στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Siena, βρέθηκε ότι το φάρμακο επηρέαζε δυσμενώς την συλλογή περιφερικών προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων<sup>102</sup>.

Σε άλλη μελέτη 77 ασθενείς με προχωρημένα στάδια οζωδών NHL πήραν 1<sup>ns</sup> γραμμής μεγαθεραπεία & αυτόλογο μυελικό μόσχευμα. Τα δείγματα μυελού των οστών όλων των ασθενών ήταν θετικά για την μετάθεση t(14;18) προ της θεραπείας, ενώ μετά από αυτήν, οι 30 είχαν PCR (-) για αναδιάταξη του BCL-2. Οι τελευταίοι, εμφάνιζαν συχνότερα, 3ετές ΔΕΝ σε βαθμό στατιστικά πολύ σημαντικό (p=0.0006), έναντι όσων διατηρούσαν την αναδιάταξη του BCL-2<sup>103</sup>. Πρόσφατα ανακοινώθηκαν τα αποτελέσματα μελέτης σε 114 ασθενείς με οζώδη NHL σε 1<sup>η</sup> υποτροπή, οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με μεγαθεραπεία & υποστήριξη με αυτόλογο μυελικό μόσχευμα. Όλοι οι ασθενείς εμφάνιζαν αναδιάταξη του BCL-2, κατά τον χρόνο συλλογής του μυελικού μοσχεύματος. Μετά την ανοσολογική κάθαρση (με ποικίλους συνδυασμούς μονοκλωνικών αντισωμάτων + ΧΘΠ) παρατηρήθηκε αρνητικοποίηση της αναδιατάξεως του BCL-2 σε 48(42%) ασθενείς. Το 8ετές ΔΕΝ των ασθενών με αρνητική & θετική PCR για αναδιάταξη του BCL-2 κατά την συλλογή του μυελικού μοσχεύματος ήταν 83% & 19% (p=0.0001) αντιστοίχως<sup>94</sup>. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η παρουσία PCR (+) δειγμάτων κυττάρων αίματος ή/ & μυελού των οστών σε ασθενείς με οζώδη NHL μετά την μεγαθεραπεία, συνιστά προβλεπτικό παράγοντα για αυξημένη πιθανότητα νέας υποτροπής<sup>22</sup>.

Η αλλογενής μεταμόσχευση πιθανόν πλεονεκτεί της αυτολόγου διότι επάγει δράση του τύπου μοσχεύματος έναντι λεμφώματος σε συνδυασμό με την καταστροφή των λεμφωματικών κυττάρων από τις μεγάλες δόσεις ΧΘΠ + ΑΚΤΘ όταν

χρησιμοποιούνται συνδυασμοί ακτινοανοσοθεραπευτικών. Εντούτοις τα πλεονεκτήματα αυτά δεν αντισταθμίζουν τις συνέπειες εκ της υψηλής τοξικότητάς της<sup>104</sup>, ενώ σε πρόσφατη μελέτη δεν αποδείχθηκε αντίδραση του τύπου μοσχεύματος έναντι λεμφώματος<sup>105</sup> σε αλλογενείς μεταμοσχεύσεις. Πολύ λίγες μελέτες συγκρίνουν μεγαθεραπεία με αυτόλογο έναντι αλλογενούς μυελικού μοσχεύματος & από αυτές καμμία δεν έχει σχεδιασθεί με τους κανόνες της τυχαίας κατανομής ασθενών. Σε πρόσφατη αναδρομική μελέτη μελετήθηκαν 33 ασθενείς, με οζώδη NHL κακής προγνώσεως από τους οποίους οι 18 υποστηρίχθηκαν με αυτόλογο μόσχευμα αρχηγόνων περιφερικών κυττάρων. Δέκα τέσσερις εμφάνισαν ΠΥ, εκ των οποίων οι 11 υποτροπίασαν, ενώ κανένας δεν πέθανε από άμεση τοξικότητα της θεραπείας. Από την δεύτερη ομάδα, 4 ασθενείς πέθαναν από επιπλοκές αμέσως μετά την χορήγηση του αλλογενούς μοσχεύματος. Η πιθανότητα υποτροπής, ΣΕ & ΕΝΕ στα 3 χρόνια ήταν 0%, 70% & 70% αντιστοίχως για την αλλογενή και 78%, 33% & 22% για την αυτόλογη μεταμόσχευση με χορήγηση αρχηγόνων προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων. Οι διαφορές στα ποσοστά υποτροπών & ΔΕΝ, εμπίπτουν στα όρια της στατιστικής υψηλής σημαντικότητας<sup>104</sup>. Είναι ενδιαφέρον ότι ασθενής με διάχυτο λεμφοκυτταρικό λέμφωμα από μικρά λεμφοκύτταρα, ο οποίος υποβλήθηκε σε αλλογενή μεταμόσχευση στο Princess Margaret Hospital στο Toronto του Καναδά & εμφάνισε υπότροπη της νόσου 2 μήνες μετά την μεγαθεραπεία, ανταποκρίθηκε στην χορήγηση interleukin-2<sup>106</sup>.

Σε δεύτερη προοπτική μελέτη συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα της συγγενεϊκής, αλλογενούς & αυτόλογης μεταμοσχεύσεως αιμοποιητικών κυττάρων σε ασθενείς με NHL<sup>105</sup>, με χρησιμοποίηση στοιχείων των βάσεων δεδομένων της IBMTR (International Bone Marrow Transplant Registry) & της Ευρωπαϊκής Ομάδας Μεταμόσχευσης Αίματος & Μυελού των Οστών. Η μελέτη δεν ανέδειξε σημαντικές διαφορές στα ποσοστά υποτροπής μεταξύ αλλογενούς & συγγενεϊκής μεταμοσχεύσεως. Σε ασθενείς με χαμηλής & ενδιάμεσης κακοήθειας NHL λεμφώματα, η κάθαρση των αλλογενών μοσχευμάτων από T-λεμφοκύτταρα σχετιζόταν με καλύτερα ποσοστά ΣΕ. Οι ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL οι οποίοι έλαβαν μη καθαρθέντα αυτομοσχεύματα είχαν πενταπλάσιο (p=0.008) κίνδυνο υποτροπών σε σχέση με τους λήπτες συγγενεϊκών μοσχευμάτων & διπλάσιο κίνδυνο υποτροπής (p=0.009) έναντι όσων έλαβαν καθαρθέντα αυτομοσχεύματα. Σε καμμία πε-

ρίπτωση δεν αναδείχθηκε αντίδραση μοσχεύματος-έναντι-λεμφώματος. Η σημασία της κάθαρσης των κυττάρων προς μεταμόσχευση στην τελική έκβαση των ασθενών έχει εξετασθεί σε αρκετές μελέτες με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Μόνο μία από αυτές<sup>93</sup> ασχολήθηκε προοπτικά με την αξία της καθάρσεως των αυτόλογων μοσχευμάτων σε ασθενείς με NHL. Προκαταρκτική ανάλυση της μελέτης δεν έδειξε σημαντικές διαφορές στην πρόοδο νόσου ή την επιβίωση μεταξύ δεκτών καθαρθέντων & μη-καθαρθέντων αυτομοσχευμάτων. Οι περισσότερες από τις αναδρομικές μελέτες δεν δείχνουν πλεονεκτήματα της καθάρσεως. Οι πλείστες των υποτροπών σε NHL μετά αυτόλογη μεταμόσχευση παρατηρούνται σε σημεία προηγούμενης νόσου. Είναι ενδιαφέρον ότι σε πρόσφατες μελέτες<sup>105,107</sup> η κάθαρση του αυτομοσχεύματος συνοδευόταν από αυξημένο ΔΕΝ ( $p=0.003$ ) & ΣΕ ( $p=0.04$ ). Σε μελέτη του M.D. Anderson Cancer Center επί 112 ασθενών με ανθεκτικά ή υποτροπιάσαντα NHL χαμηλής κακοήθειας συγκρίθηκε μεθερραπεία με αυτόλογη (68 ασθενείς) ή αλλογενή (44 ασθενείς) μεταμόσχευση. Οι δύο ομάδες ασθενών ήταν παρόμοιες από άποψη ηλικίας, φύλου, ιστολογικών τύπων, αριθμού χημειοθεραπευτικών σχημάτων προ της μεταμοσχεύσεως & προγνωστικών δεικτών κατά το International Prognostic Index. Ο διάμεσος χρόνος από τη διάγνωση ως τη μεταμόσχευση ήταν μεγαλύτερος στην ομάδα ατόμων με αυτόλογη έναντι αλλογενούς μεταμόσχευση (46 έναντι 27 μήνες,  $p=0.002$ ). Η πρώτη ομάδα ήταν υπό παρακολούθηση για διάμεσο χρονικό διάστημα 53 μηνών, κατά το οποίο τα ποσοστά ΣΕ & ΕΝΕ ήταν αντιστοίχως 49% & 45%. Στην δεύτερη ομάδα & μετά διάμεσο χρόνο παρακολούθησεως 71 μήνες, τα ποσοστά ΣΕ & ΕΝΕ ήταν 34% & 17% αντιστοίχως. Οι ασθενείς της δεύτερης ομάδας είχαν συχνότερα χημειοευαίσθητη νόσο ( $p<0.001$ ) & ΠΥ κατά την μεταμόσχευση ( $p=0.001$ ). Η μελέτη έδειξε ότι η πιθανότητα προϊούσας νόσου (ΠΝ) ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα της αυτόλογης μεταμοσχεύσεως έναντι της αλλογενούς (74% & 19% αντίστοιχα,  $p=0.003$ ). Συνοπτικά ασθενείς οι οποίοι έλαβαν αλλογενές μόσχευμα είχαν μικρότερα ποσοστά υποτροπών αλλά υψηλότερα ποσοστά θνητότητας εκ της θεραπείας σε σύγκριση με όσους υποστηρίχθηκαν με αυτόλογο μόσχευμα<sup>108</sup>.

Η European Bone Marrow Transplantation (EBMT) πρόσφατα ανέλυσε τα δεδομένα από 1185 μεθερραπείες με υποστήριξη με αλλογενές μόσχευμα οι οποίες έγιναν μεταξύ 1982-1998 και

τα συνέκρινε με 14687 αυτόλογες μεταμοσχεύσεις. Στην μελέτη συνεκρίθησαν μόνον οι πρώτες μεθερραπείες. Για τις ομάδες ασθενών με NHL χαμηλής ( $N=231$ ) & ενδιάμεσης ( $N=147$ ) κακοήθειας οι οποίοι υποστηρίχθηκαν με αλλογενές μόσχευμα, το ποσοστό της προβλεπόμενης 4ετούς επιβιώσεως από τον χρόνο της μεθερραπείας, ήταν 51.1% & 38.3%, αντιστοίχως. Εντούτοις όσοι υπεβλήθησαν σε αλλογενή μεταμόσχευση είχαν πολύ συχνότερα σοβαρή νοσηρότητα & θνησιμότητα, οι οποίες περιορίζουν την εφαρμογή της<sup>109</sup>. Σε άλλη μελέτη, 904 ασθενείς με θηλακιδώδες NHL υποστηρίχθηκαν με μυελικό μόσχευμα, οι 176 (19%) με αλλομοσχεύματα, οι 131 (14%) με καθαρθέντα αυτομοσχεύματα & οι 597 (67%) με μη καθαρθέντα αυτομοσχεύματα. Τα ποσοστά της 5ετούς σχετιζόμενης με την θεραπεία θνησιμότητας ανέρχονταν στο 30%, 14% & 8% και της υποτροπής στα 5 χρόνια στο 21%, 43% & 58% μετά από αλλογενή, αυτόλογη με καθαρθέντα & με μη καθαρθέντα κύτταρα μεταμόσχευση, αντίστοιχα. Η αυτόλογη μεταμόσχευση με καθαρθέντα κύτταρα επάγει κίνδυνο υποτροπής κατά 26% χαμηλότερο συγκριτικά με μεταμόσχευση με μη καθαρθέντα. Οι προβλεπόμενες 5ετείς επιβιώσεις ήταν 51%, 62% & 55% μετά αλλογενή, με καθαρθέντα & μη καθαρθέντα κύτταρα αυτόλογη μεταμόσχευση αντίστοιχα. Ανεπιθύμητα αποτελέσματα σχετιζόνταν με προχωρημένη ηλικία των ασθενών, παρατεταμένο διάστημα ενάρξεως θεραπείας από τον χρόνο διαγνώσεως της νόσου, υψηλά επίπεδα γαλακτικής αφυδρογονάσης ορού (LDH), ανθεκτική νόσο, προσβολή του μυελού των οστών, χαμηλό δείκτη δραστηριότητας & μεταμοσχεύσεις στο διάστημα 1990-1993. Η ολοσωματική ΑΚΤΘ σχετιζόταν με υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας εκ της θεραπείας, αλλά λιγότερες υποτροπές. Δεν φαίνεται συσχέτιση μεταξύ οξείας ή χρόνιας αντίδρασης μοσχεύματος-έναντι-λεμφώματος & υποτροπής μετά αλλογενή μεταμόσχευση. Συνοπτικά η μελέτη έδειξε ότι η αυτόλογη & η ετερόλογη μεταμόσχευση προκαλούν σημαντικής χρονικής διάρκειας υφέσεις της νόσου<sup>107</sup>.

Η προσπάθεια μείωσης της τοξικότητας της αλλογενούς μεταμοσχεύσεως από τις υψηλές δόσεις των χρησιμοποιούμενης ΧΘΠ σε συνδυασμό με την ακτινοβολία των ακτινοανοσοθεραπευτικών βρήκε εφαρμογή με την χρησιμοποίηση μη μυελοαφαιρετικών σχημάτων (nonmyeloablative allogeneic BMT ή miniBMT) & υποστήριξη με HLA ταυτόσημα προγονικά κύτταρα. Η μέθοδος βασίζεται στην παραδοχή ότι τα T- κύτταρα,

τα οποία αποτελούν το σημαντικότερο τμήμα του αλλογενούς μοσχεύματος είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη αντιδράσεως μοσχεύματος έναντι λεμφωματικού ιστού & έχει δώσει ενθαρρυντικά, πρώτα αποτελέσματα<sup>110,111</sup>. Οι προοπτικές είναι ιδιαίτερα καλές, για την ομάδα των ασθενών μεγάλης ηλικίας<sup>111</sup>. Η χρησιμοποίηση ικανών εμβολίων στην μεταμοσχευτική περίοδο ελπίζεται να βοηθήσει στην βελτίωση των αποτελεσμάτων αναλόγων μελετών<sup>112</sup>.

**Η χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων στην θεραπεία πρώτης ή δεύτερης γραμμής ασθενών με NHL χαμηλής κακοήθειας**

Η ιστορία των μονοκλωνικών αντισωμάτων ξεκινά στις αρχές του προηγούμενου αιώνα με τις πρωτοποριακές ανοσολογικές μελέτες του Paul Ehrlich (Nobel Ιατρικής το 1908). Στα τέλη της 10ετίας του 1970 οι Georges JF Köhler & Cisar Milstein περιέγραψαν τις θεραπευτικές δυνατότητες των μονοκλωνικών αντισωμάτων & τα εισήγαγαν σε κλινικές δοκιμές. Για την εξέλιξη της τεχνολογίας παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων, οι συγγραφείς μοιράστηκαν το Nobel Ιατρικής το 1984, με τον Niels K Jerne<sup>114</sup>.

Τελευταία μονοκλωνικά αντισώματα & ραδιενεργά ανοσοσυμπλέγματα έχουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση αιματολογικών κακοηθειών από Β-κύτταρα, δεδομένου ότι αυτά εκφράζουν ποικιλία αντιγόνων, όπως τα CD20, CD22, CD19, CD52 & HLA-DR. Για τον λόγο αυτό, οι αιματολογικές κακοήθειες γενικότερα & τα λεμφώματα από Β-κύτταρα ειδικότερα, αποτελούν ενδιαφέροντα πρότυπα μελέτης της χρήσεως μονοκλωνικών αντισωμάτων<sup>39</sup>. Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα χρησιμοποιούμενα στα NHL μονοκλωνικά αντισώματα & τα ραδιοανοσοσύνπλοκά τους<sup>38</sup>.

Θεραπείες με μη συνεζευγμένα μονοκλωνικά αντισώματα ποντικών, στα μέσα της δεκαετίας του 1980 προκαλούσαν χαμηλά ποσοστά ΣΑ, ενώ οι ασθενείς εμφάνιζαν πρώιμες υποτροπές. Η χρησιμοποίηση των συγκεκριμένων αντισωμάτων σε ανθρώπους, δημιούργουσε σοβαρά προβλήματα σχετιζόμενα με τον σχηματισμό ανθρώπινων αντισωμάτων έναντι στοιχείων του ποντικού, τα οποία προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις & τελικά, χαμηλή δραστικότητα του συνδεδεμένου συμπληρώματος & περιορισμένη εκ του αντισώματος εξαρτώμενη, κυτταροτοξικότητα<sup>39</sup>.

**Rituximab**

Στην δεκαετία του 1990 έγινε δυνατή η παρασκευή χιμαιρικού αντισώματος, IgG kappa ισότυπου το οποίο περιέχει μόνον το Fab τμήμα του αντισώματος εκ του ποντικού & ανθρώπινο Fc τμήμα. Η Rituximab είναι χιμαιρικό C2B8 μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD20 το οποίο πρωτοπαρασκευάσθηκε το 1990 από την IDEC Pharmaceuticals San Diego, Ca<sup>38,115</sup>. Οι κλινικές δοκιμές της σε ανθρώπους ξεκίνησαν το 1993 με μελέτες φάσεως I & κλιμακούμενες δόσεις του αντισώματος στο Stanford University<sup>18</sup>. Το 1994 παρασκευάσθηκε αντί CD20 αντίσωμα με χρησιμοποίηση γενετικού μηχανισμού<sup>116</sup> & τον Νοέμβριο του 1997, η US FDA ενέκρινε την χρήση Rituximab για την αντιμετώπιση των ανθεκτικών ή υποτροπιαζόντων οζωδών, χαμηλής κακοήθειας NHL<sup>38</sup>. Τον Ιούνιο του 1998 η rituximab έλαβε έγκριση χρησιμοποίησης στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ενώσεως με το όνομα MabThera, για ασθενείς σταδίων III/IV, με οζώδη, χημειοανθεκτικά ή υποτροπιάζοντα (≤ 2 υποτροπών) NHL<sup>28</sup>.

Το μόριο CD20 είναι διαμεμβρανική φωσφοπρωτεΐνη 33 - 37 kd, απαρτίζεται από μία εξω-

**Πίνακας 3.** Μονοκλωνικά αντισώματα και ραδιοανοσοσύνπλοκα τους χρησιμοποιούμενα στην θεραπεία των NHL

ΑΝΤΙΣΩΜΑ	ΑΝΤΙΓΟΝΟ	ΣΥΖΕΥΞΗ
Rituximab (MabThera, Rituxan)	CD20	Όχι
Alemtuzumab (MabCampath)	CD52	Όχι
Epratuzumab	CD22	Όχι, <sup>131</sup> I, <sup>90</sup> Y
Hu-ID10 (Apolitzimab)	HLA-DR	Όχι
Bevacizumab	Vascular Endothelial Growth Factor	Όχι
Tositumomab	CD20	<sup>131</sup> I
Ibritumomab	CD20	<sup>90</sup> Y
Lym 1	HLA-DR	<sup>131</sup> I
Gemtuzumab- Ozogamicin	CD 33	Όχι

Από: Cheson BD. Hematologic malignancies: New developments and future treatments. Semin Oncol 2002, 29(4 Suppl 13): 33-45.

κυττάρια αγκύλη, τέσσερις διαμεμβρανικές περιοχές & C- & N-κυτταροπλασματικά άκρα. Το CD20 εκφράζεται σε όλα σχεδόν τα φυσιολογικά & κακοήγη Β-κύτταρα, αλλά όχι στα προγονικά κύτταρα & δεν αποβάλλεται από την κυτταρική επιφάνεια ούτε εγκοιλώνεται στο κυτταρόπλασμα μετά τη σύνδεση του με αντίσωμα & αποτελεί ελκυστικό στόχο θεραπειών με μονοκλωνικά αντισώματα. Επιπρόσθετα, φαίνεται να έχει λειτουργικό ρόλο στην ανάπτυξη των Β-κυττάρων, πιθανώς δρώντας ως δίαυλος Ca, μολονότι δεν έχει εισέτι ταυτοποιηθεί ο φυσικός συνδέτης του<sup>117</sup>. Σε φυσιολογικά άτομα το CD20 δεν επάγει ελεύθερη πρωτεΐνη στο πλάσμα. Η περίπτωση αυτή θα αποτελούσε ιδανικό στόχο για αντι-CD20 θεραπεία με μονοκλωνικό αντίσωμα. Είναι ενδιαφέρον ότι πρόσφατα αποδείχθηκε η ανίχνευση μεγάλων τίτλων κυκλοφορούντων κυττάρων CD20+, σε ασθενείς με ΧΛΛ. Η παρουσία του CD20 στο πλάσμα δεν οφείλεται σε απόπτωση ή διάσπαση κυττάρων, αλλά στην ένταξη του σε μεγάλα συμπλέγματα ή τμήματα κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Τα επίπεδα κυκλοφορούντος CD20 διαφέρουν μεταξύ των ασθενών & φαίνεται να συνδέονται με δυσμενείς κλινικές & βιολογικές παραμέτρους. Το κυκλοφορούν CD20 αντιγόνο φαίνεται ότι δρα ανταγωνιζόμενο το κυτταρικό CD20 στην σύνδεσή του με την rituximab, ώστε η παρουσία κυκλοφορούντων αντιγόνων εξηγεί την αποτυχία κάποιων θεραπειών<sup>117</sup>.

Η συσχέτιση του CD20 με πρωτεϊνικές κινάσες της τυροσίνης ενισχύει την υπόθεση για τον ρόλο του στην ενδοκυττάρια μετάδοση σημάτων & πολλοί ερευνητές έδειξαν ότι, μετά τη σύνδεση του μορίου με τα αντισώματα ακολουθούν μοριακές μεταβολές σχετιζόμενες με την κυτταρική απόπτωση. Αυτές περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση της οικογένειας των src κινασών, φωσφολιπασών, κασπασών & τη μεταφορά Ca<sup>118,119</sup>. Η αποπτωτική ικανότητα της rituximab έχει αποδειχθεί από ετών *in vitro* & σε πρόσφατη μελέτη σε ΧΛΛ & *in vivo*<sup>120</sup>. Οι αποπτωτικές πρωτεΐνες των μονοπύρηνων κυττάρων των ασθενών με ΧΛΛ μετρήθηκαν προ & μετά την θεραπεία με rituximab. Σε πολλούς ασθενείς παρατηρήθηκε ενεργοποίηση των συνδεδεμένων με την απόπτωση κασπασών (κασπάσες-3 & -9) & κάθαρση της πολυ(ADP- ριβόζη) πολυμεράσης η οποία είναι γνωστό υποκατάστατο των κασπασών<sup>117</sup>.

Άλλοι αποδεκτοί μηχανισμοί δράσεως της Rituximab είναι: κυτταροτοξικότητα (εκ) του αντισώματος, ή/ & εξαρτώμενη από το συμπλήρωμα, στρατολόγηση δραστικών κυττάρων, κινητοποίη-

ση κυτταροκινών & ενίοτε, μείωση της ενεργοποίησης της STAT3 (signal transducer and activator of transcription-3) & υποβάθμιση της εκφράσεως του γονιδίου Bcl-2<sup>121-123</sup>.

Σε εργασίες οι οποίες ελέγξαν τον ρόλο της rituximab στην επαγωγή κυτταροτοξικότητας εκ του αντισώματος, μελετήθηκε προθεραπευτικά, η ευαισθησία των νεοπλασματικών κυττάρων σε ασθενείς ανταποκρίθεντες ή όχι στην θεραπεία. Στις μελέτες συσχετίζεται ο πολυμορφισμός των υποδοχέων του τμήματος C των IgG ανοσοσφαιρινών (FcγR) & η ανταπόκριση σε θεραπεία με rituximab. Εκτιμάται ότι η ύπαρξη του γονοτύπου 158 V/V του αλληλίου του υποδοχέα FcγRIIIa (CD16) συνδέεται με υψηλότερα ποσοστά ΣΑ στην θεραπεία με rituximab. Σε τελευταία δημοσίευση, ασθενείς με γονιδιακές μορφές των υποδοχέων στα αλληλία 158 & 131, (γονότυπος 158 V/V & 131 H/H) παρουσιάζουν υψηλότερα ποσοστά ΣΑ στους 6,9,12 μήνες μετά την θεραπεία & μακροχρόνιες ΠΥ της νόσου<sup>124,125</sup>.

Μελέτες φάσεως I από το Stanford University, βοήθησαν στην επιλογή του θεραπευτικού σχήματος με Rituximab (375mg/m<sup>2</sup> / εβδομάδα x 4 εβδομάδες), κατέγραψαν ποσοστό ανταποκρίσεως 40% & ταυτοποίησαν τις παρενέργειες της θεραπείας, οι οποίες συνίστανται σε πυρετό, ρίγη, ναυτία, εμετούς, ερυθρότητα, δερματική αλλεργία, ορθοστατική υπόταση, αγγειοίδημα, θωρακικό πόνο, καρδιακή ισχαιμία, κόπωση, λευκοπενία, αναιμία & βρογχόσπασμο<sup>122,126,127</sup>. Άλλες μελέτες φάσεως I έδειξαν ότι η rituximab προκαλεί ταχεία εξαφάνιση των CD20+ λεμφωματικών & φυσιολογικών κυττάρων από το αίμα. Σε μελέτες φάσεως II τα ποσοστά ΣΑ των χαμηλής κακοήθειας NHL με το φάρμακο είναι περί το 50%<sup>128</sup>. Ασθενείς με μαζική υποτροπή (μία τουλάχιστον βλάβη >10εκατοστών) αντιμετώπισθηκαν με 4 εβδομαδιαίες εγχύσεις rituximab & εμφάνισαν ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 36% & 3% αντιστοίχως & ΔΔΑ 6.9 μήνες<sup>92</sup>. Σε δύο μελέτες φάσεως II, 2ης γραμμής θεραπεία με Rituximab έδωσε ΣΑ & ΠΥ 46%-48% & 6% αντιστοίχως, με ΔΔΑ 8.2 – 12 μήνες<sup>38,127</sup>. Η βασική μελέτη σχετικά με τη χρήση της σε υποτροπιάζοντα NHL χαμηλής κακοήθειας περιελάμβανε 166 ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκαν 4 εβδομαδιαίες δόσεις rituximab 375mg/m<sup>2</sup>. Οι ΣΑ άγγιζαν το 48%, με ΔΔΑ 13 μήνες<sup>129</sup>.

Μελέτη φάσεως III, αναπαρήγε τα αποτελέσματα με ποσοστά ΣΑ & ΠΥ 46%-48% & 6% αντιστοίχως, επί 166 (αξιολογήσιμοι οι 151) ασθενών με χαμηλής κακοήθειας NHL σε φάση υποτροπής. Η ΔΔΑ ήταν 1 έτος<sup>129</sup>. Μεταξύ 1997-2002

δημοσιεύθηκαν 6 μελέτες οι οποίες αποδεικνύουν όφελος θεραπειών με Rituximab σε δόση 375mg/m<sup>2</sup>/εβδομάδα για διάστημα >των 4 εβδομάδων. Τα αποτελέσματα των μελετών δίνονται στον Πίνακα 4<sup>18</sup>.

Το 2001 η US FDA αποδέχθηκε την χορήγηση 8 εβδομαδιαίων σχημάτων με rituximab σε δόση 375mg/m<sup>2</sup>/εβδομάδα για την αντιμετώπιση μαζικής ή υποτροπιαζούσης νόσου μετά επιτυχή θεραπεία με το φάρμακο (85,115). Θεραπεία με 8 κύκλους rituximab 375mg/m<sup>2</sup>/εβδομάδα σε ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας ή υποτροπιάσαντα NHL έδειξαν ποσοστά ΣΑ & ΠΥ 57% & 14% αντιστοίχως, με ΔΔΑ 13.4 μήνες<sup>130</sup>. Φαρμακοκινητικές μελέτες έδειξαν, συνεχιζόμενη αύξηση των επιπέδων του φαρμάκου και μετά την 4<sup>η</sup> εβδομαδιαία χορήγησή του. Τα επίπεδα σταθεροποιούνται μετά την 7<sup>η</sup> ή 8<sup>η</sup> έγχυση. Εντούτοις μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν μελέτες οι οποίες να σχεδιάστηκαν με σκοπό να απαντήσουν εάν περισσότερη θεραπεία των 8 εβδομαδιαίων εγχύσεων είναι καλύτερη<sup>115</sup>.

Σε μελέτη φάσεως II, 1<sup>ης</sup> γραμμής θεραπεία με συνδυασμό rituximab+ΧΘΠ με CHOP ή CVP έδειξε αυξημένη δραστηριότητα, με ποσοστά ΣΑ 97% (57% ΠΥ) σε 82 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL<sup>131</sup>. Από αυτούς το 87% είχε την χαρακτηριστική χρωμοσωμική μετάθεση t(14;18), η οποία προκαλεί υπερέκφραση του αντιαποπτω-

τικού γονιδίου bcl-2. Η επίτευξη υφέσεως της νόσου σε μοριακό επίπεδο μετά την θεραπεία & η εξαφάνιση των bcl-2 θετικών κυττάρων συνδέεται με αυξημένο διάστημα ελεύθερο υποτροπής (ΔΕΥ) & μακρότερα διαστήματα ΣΕ<sup>132</sup>.

Η τοξικότητα (οι συνήθεις μορφές της οποίας ανεφέρθησαν προηγουμένως), προκαλείται από την εκτεταμένη καταστροφή νεοπλασματικών κυττάρων με συνέπεια την μαζική έκλυση στοιχείων του συμπληρώματος (C3b/c & C4b/c) & απελευθέρωση κυτταροκινών (TNF-a, IL-6, IL-8). Σοβαρότερη τοξικότητα παρατηρείται σε ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL & μαζική νόσο (133,134,135). Ο βαθμός ενεργοποίησης του συμπληρώματος φαίνεται ότι σχετίζεται με τον αριθμό των κυκλοφορούντων Β-κυττάρων προ της χορηγήσεως της rituximab & την σοβαρότητα των παρενεργειών<sup>136</sup>. Κλασικές παρενέργειες της ΧΘΠ (αλωπεκία, ναυτία, μυελοκαταστολή), όπως & θανατηφόρες αντιδράσεις, εξ οξέος αναπνευστικού συνδρόμου ή/ & συνδρόμου εκ μαζικής καταστροφής της νεοπλασματικής μάζας σπανίως παρατηρούνται με την Rituximab<sup>113,133</sup>. Σπανιότατα (8 περιπτώσεις επί >125000 ασθενών, οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με rituximab) έχουν περιγραφεί θάνατοι από τοξική νεκρωτική επιδερμολυσία, σύνδρομο Stevens-Johnson ή παρανεοπλασματική πέμφιγα. Ο χρόνος εμφανίσεως των παρενεργειών ποικίλλει μεταξύ 1-13 εβδομάδων από

**Πίνακας 4.** Μελέτες με χορήγηση rituximab για περισσότερο των 4 εβδομάδων σε ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL

Μελέτη	AAA	Δοσολογικό σχήμα	Τύπος λεμφώματος	ΣΑ	ΔΔΑ (μήνες)
Piro	37	4 επιπλέον εβδομαδιαία σχήματα	Υποτροπιάζον χαμηλής κακοήθειας NHL	60	>19
Gordon	31	1 επιπλέον σχήμα το μήνα, όταν τα επίπεδα ορού είναι <25 µg/mL	Υποτροπιάζον χαμηλής κακοήθειας NHL	62*	-
Ghielmini	75	1 επιπλέον σχήμα τους μήνες 3, 5, 7, 9	1η θεραπεία FCL	66	22
Hainsworth	60	4 επιπλέον εβδομαδιαία σχήματα τους μήνες 6, 12, 18, 24	1η θεραπεία χαμηλής κακοήθειας NHL	75	34
Aviles	17	2 επιπλέον εβδομαδιαία σχήματα	Υποτροπιάζον ΟΛ	76	>24
Kimby	25	4 επιπλέον εβδομαδιαία σχήματα τον 3ο μήνα	ΟΛ, 64% 1η θεραπεία	76	

\*= Η θεραπεία συνεχίζεται & τα τελικά ποσοστά ΣΑ μπορεί να είναι υψηλότερα.

AAA = Αριθμός Αξιολογήσιμων Ασθενών, ΣΑ = Συνολική Ανταπόκριση

ΔΔΑ = Διάμεσο Διάστημα Ανταποκρίσεως, ΟΛ = Οζώδες Λέμφωμα

Από Dillman R.O. Treatment of Low-Grade B-Cell Lymphoma with the Monoclonal Antibody Rituximab. Sem Onc 2003, 30: 434-447.

την έναρξη της θεραπείας με rituximab, ενώ δεν φαίνεται να υπάρχουν προβλεπτικοί παράγοντες για την εμφάνισή τους. Είναι ενδιαφέρον ότι πρόσφατα ανακοινώθηκε επιτυχής θεραπεία με rituximab δύο περιπτώσεων παρανεοπλασματικής πέμφιγας<sup>115,137</sup>.

Ο ρόλος της Rituximab στα πλαίσια θεραπείας 1<sup>ης</sup> γραμμής, έχει εξετασθεί σε περιορισμένο αριθμό εργασιών. Σε μελέτη 50 ασθενών από την Γαλλία τα ποσοστά ΣΑ & ΠΥ ήταν 73% & 20% αντιστοίχως, αλλά η ΔΔΑ μόνο 12 μήνες. Με την θεραπεία υπήρξε αρνητικοποίηση της αναδιατάξεως του Bcl-2, όπως αυτή ανιχνεύθηκε με PCR, στο περιφερικό αίμα & τον μυελό των οστών σε ποσοστά 57% & 31% αντιστοίχως<sup>123</sup>. Θεραπεία 1<sup>ης</sup> γραμμής με Rituximab, σε 41 ασθενείς, προκάλεσε ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 54% & 5% αντιστοίχως. Στην μελέτη οι ασθενείς οι οποίοι ανταποκρίθηκαν στην αρχική θεραπεία συνέχισαν την ίδια αγωγή ανά 4 εβδομάδες επί 6 μήνες<sup>122</sup>. Η χρησιμότητα της θεραπείας συντηρήσεως συνιστά σημαντικό ερώτημα. Το 1998 το Minnie Pearl Cancer Research Network των Η.Π.Α. διεξήγαγε πολυκεντρική μελέτη φάσεως II για εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της Rituximab ως θεραπείας 1ης γραμμής & ως θεραπείας συντηρήσεως σε NHL χαμηλής κακοήθειας επί 62 ασθενών [38 (61%) με οζώδες λέμφωμα & 24 (39%) με λέμφωμα εκ μικρών λεμφοκυττάρων]. Το 1/3 των ασθενών ήταν υψηλού κινδύνου σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά IPI οι περισσότεροι από αυτούς είχαν νόσο προχωρημένου σταδίου & χρειαζόταν άμεσα θεραπεία. Οι ασθενείς έλαβαν το κλασικό θεραπευτικό σχήμα των 4 εβδομαδιαίων κύκλων με Rituximab. Δύο εβδομάδες μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας, ΣΑ παρατηρήθηκε σε ποσοστό 47% (ΠΥ 7%) ενώ σταθερή νόσο (ΣΝ) εμφάνισε το 45%. Σαράντα πέντε από τα άτομα τα οποία παρουσίασαν ΣΑ ή ΣΝ, έλαβαν ακολούθως θεραπεία συντηρήσεως με Rituximab σε 4 εβδομαδιαία σχήματα ανά 6 μήνες & μέγιστο αριθμό θεραπείας τα 2 έτη. Μετά από ελάχιστη παρακολούθηση 24 μηνών η τελική ΣΑ ήταν 74% (ΠΥ 37%). Οι 19 εκ των 22 ασθενών με ΠΥ συνέχισαν να βρίσκονται χωρίς νόσο 5 χρόνια μετά την έναρξη της θεραπείας. Οι 16 από τους 27 ασθενείς (59%) με ΣΝ στην 1η επανεκτίμηση συνέχισαν να ανταποκρίνονται κατά την διάρκεια της θεραπείας συντηρήσεως. Είναι ενδιαφέρον ότι ορισμένες ανταποκρίσεις συνέβησαν μετά από 2, 3 ή 4 σχήματα θεραπείας συντηρήσεως. Συνολικά το 42% των ασθενών βελτίωσαν την ποιότητα της ανταποκρίσεώς τους από ΣΝ σε ΜΥ ή από

ΜΥ σε ΠΥ κατά την διάρκεια της θεραπείας συντηρήσεως. Τα ποσοστά ΣΑ δεν διέφεραν μεταξύ ασθενών με οζώδες λέμφωμα ή λέμφωμα εκ μικρών λεμφοκυττάρων (76% & 70% αντιστοίχως). Το διάμεσο ΔΕΝ ήταν 34 μήνες για το σύνολο των ασθενών, ανεξαρτήτως ομάδας κινδύνου κατά IPI. Το σύνολο των παρενεργειών ανεπιθύμητων από τη χρήση της Rituximab ήταν αναστρέψιμες & οι περισσότερες παρουσιάστηκαν κατά τη διάρκεια του 1ου θεραπευτικού σχήματος. Δεν παρατηρήθηκαν: αυξημένη τοξικότητα σε ασθενείς > των 70 ετών, τοξικότητα βαθμού III/IV κατά τη διάρκεια της θεραπείας συντηρήσεως, αθροιστική τοξικότητα & αύξηση του ποσοστού των λοιμώξεων. Σημαντικά επιπρόσθετα στοιχεία σχετικά με την χρήση θεραπείας συντηρήσεως με Rituximab δημοσιεύθηκαν πρόσφατα από το Swiss Group for Clinical Cancer Research. Στην μελέτη, 202 ασθενείς με οζώδη NHL έλαβαν αρχικά το σχήμα των 4 εβδομαδιαίων δόσεων Rituximab & όσοι παρουσίασαν ανταπόκριση ή ΣΝ, χωρίστηκαν με τυχαία κατανομή σε 2 ομάδες, μία χωρίς θεραπεία & μία άλλη με θεραπεία συντηρήσεως με Rituximab 375mg/m<sup>2</sup> τους μήνες 3, 5, 7 & 9. Το διάστημα ελεύθερο προόδου νόσου ήταν σημαντικά μεγαλύτερο στην ομάδα με θεραπεία συντηρήσεως (22.4 έναντι 13.4 μήνες, p<0.05) ιδιαίτερα στην υποομάδα των ατόμων τα οποία δεν είχαν προηγουμένως λάβει καμμία άλλη θεραπεία (35.6 έναντι 18.3 μήνες). Είναι ενδιαφέρον ότι στην συγκεκριμένη μελέτη & σε αντίθεση με προηγούμενες, η Rituximab χορηγήθηκε αρχικά ως θεραπεία 1ης γραμμής & κατόπιν ως θεραπεία συντηρήσεως<sup>21</sup>. Στους Πίνακες 5,6,7 δίνονται συνοπτικά αποτελέσματα από τη χρήση Rituximab σε ασθενείς με NHL από μικρά λεμφοκύτταρα, λεμφοπλασματοκυτταροειδή NHL & γενικά χαμηλής κακοήθειας NHL<sup>18</sup>. Άλλη μελέτη φάσεως II με παρόμοιο σχεδιασμό με την μελέτη του Hainsworth περιέλαβε 68 ασθενείς με NHL από μικρά λεμφοκύτταρα / ΧΑΛ σταδίου III/IV, οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με Rituximab. Εκτιμήσιμοι ήταν οι 66, ΠΥ παρατηρήθηκε σε 2 (3%) & ΜΥ σε 31 (47%) ασθενείς. Είκοσι επτά ασθενείς συνέχισαν να λαμβάνουν Rituximab στα πλαίσια θεραπείας συντηρήσεως & το ποσοστό ΣΑ ανήλθε στο 56% (με 8% ΠΥ). Με βάση τα αποτελέσματα αυτά οι συγγραφείς εκτιμούν ότι η σημασία της Rituximab, ως θεραπεία 1ης γραμμής σε NHL από μικρά λεμφοκύτταρα / ΧΑΛ είναι αναμφισβήτητη. Ο ρόλος της όμως ως θεραπεία συντηρήσεως επιδέχεται συζητήσεως γιατί πολλοί από τους ασθενείς της μελέτης δεν ολοκλήρωσαν την θερα-

**Πίνακας 5.** Χρήση rituximab σε NHL από μικρά λεμφοκύτταρα

Μελέτη	AAA	ΔΗ (έτη)	ΔΔΘ (εβδομάδες)	Είδος θεραπείας	ΣΑ (%)
Nguyen	15	ΔΔ	4	2ης γραμμής	7
McGloughlin	33	58	4	2ης γραμμής	12
Piro	30	55	8	2ης γραμμής	14
Foran	28	58	4	2ης γραμμής	14
Hainsworth	24	65	4	1ης γραμμής	47*

= Όπως εκτιμάται την 6η εβδομάδα από την έναρξη της θεραπείας. Οι ασθενείς κατόπιν συνέχισαν με θεραπεία συντηρήσεως ανά 6 μήνες. Τελικό ποσοστό ΣΑ = 70%

ΔΗ = Διάμεση Ηλικία, ΔΔΘ = Διάμεση Διάρκεια Θεραπείας, ΔΔ = Δεν Δίνεται

Από Dillman R.O. Treatment of Low-Grade B-Cell Lymphoma with the Monoclonal Antibody Rituximab. Sem Onc 2003, 30: 434-447.

**Πίνακας 6.** Rituximab σε λεμφοπλασματοκυτταροειδή NHL

Μελέτη	AAA	ΔΔΘ (εβδομάδες)	Είδος θεραπείας	ΣΑ (%)	ΔΔΑ (μήνες)
Treon	30	4	2ης γραμμής	27	8*
Foran	25	4	2ης γραμμής	28	Υ
Byrd	7	4	2ης γραμμής	43	Υ
Dimopolous	27	4+	2ης γραμμής	44	>16ωω
Treon	22	4+	1ης γραμμής	50	>12ωω
Treon	14	4+	2ης γραμμής	86	

\* = Συμπεριλαμβάνονται & ασθενείς με ελάχιστες ανταποκρίσεις

ωω = Όσοι δεν παρουσίασαν εξέλιξη σε 3 μήνες έλαβαν επιπλέον άλλες 4 εβδομάδες Rituximab.

Υ = Rituximab + fludarabine: Σχήμα 4 εβδομάδων προ & μετά ΧΘΠ.

Από Dillman R.O. Treatment of Low-Grade B-Cell Lymphoma with the Monoclonal Antibody Rituximab. Sem Onc 2003, 30: 434-447.

**Πίνακας 7.** Ανταπόκριση οζωδών χαμηλής κακοήθειας λεμφωμάτων με rituximab

ΜΕΛΕΤΗ	AAA	Π.Θ.	ΠΥ	ΣΑ(%)	ΔΔΑ(μήνες)
Maloney et al	15	Ναι	0	33	6.4
Maloney et al	34	Ναι	9	46	10.2
McLaughlin et al	166	Ναι	6	48	13
Piro et al	37	Ναι	14	43	7.7+
Foran et al *	120	Ναι	10	30	11
Davis et al	31	Ναι	3	39	8.1
Colombat et al	50	Όχι	20	73	12
Hainsworth et al	41	Όχι	5	54	Δεν Δίνεται
Czuczman	40	Όχι	22	95	Δεν Δίνεται
Solal-Celigny	50	Όχι	16	70	Δεν Δίνεται

Π.Θ.= Προηγούμενη Θεραπεία.

\* = Η μελέτη περιλαμβάνει 67 ασθενείς με NHL τύπου μανδύα, 25 με ανοσοκυττώματα & 28 με NHL από μικρά λεμφοκύτταρα.

Από: Cheson BD. Hematologic malignancies: New developments and future treatments. Semin Oncol 2002, 29(4 Suppl 13): 33-45., και Press OW. Radioimmunotherapy for non-Hodgkin's Lymphomas. Semin Oncol 2003, 30(Suppl 4): 10-21.

πεία & ο χρόνος παρακολούθησής τους είναι βραχύς. Δεν υπήρξαν ανεπιθύμητες ενέργειες θανατηφόρες ή αρκετά σοβαρές ώστε να αποτρέψουν την ολοκλήρωση της θεραπείας<sup>21</sup>. Συνοπτικά η αρχική εμπειρία από τη χρησιμοποίηση

της Rituximab στα πλαίσια θεραπείας συντηρήσεως φαίνεται ότι μπορεί να αποτελεί ελπιδοφόρο θεραπεία των χαμηλής κακοήθειας NHL.

Η παρατεταμένη μονοθεραπεία με Rituximab<sup>130</sup> ή/ & η επαναχορήγησή της<sup>138</sup> σε υποτροπές,

πιθανότητα αυξάνουν τα ποσοστά ΣΑ & το ΔΕΝ. Μακράς διάρκειας θεραπεία με Rituximab επάγει ΣΑ έως το 60% & διάμεσο ΔΕΝ μέχρι 19 μήνες<sup>130</sup>, δικαιολογώντας την χορήγησή της ως θεραπεία 1ης γραμμής, ιδίως σε ομάδες ασθενών όπως οι ηλικιωμένοι, οι οποίες εμφανίζουν ιδιαίτερη τοξικότητα σε συμβατική ΧΘΠ ή ανοσοχημειοθεραπεία. Μονοθεραπεία με Rituximab συνήθως είναι δραστική σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα νόσο αλλά οι υφέσεις δεν διαρκούν περισσότερο εκείνων της συμβατικής ΧΘΠ<sup>132</sup>.

Πολλές μελέτες υποστηρίζουν ότι ο συνδυασμός ΧΘΠ + ανοσοθεραπείας με Rituximab είναι δραστικότερος της μονοθεραπείας με Rituximab ή ΧΘΠ σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα νόσο<sup>132</sup>. Σε μελέτη 1<sup>ης</sup> γραμμής θεραπεία με Rituximab+FMMD επάγει μεγάλα ποσοστά μοριακής ανταποκρίσεως στο περιφερικό αίμα (90%) & στο μυελό των οστών (76%) σε μελέτη με βραχύ (6 μήνες) διάστημα παρακολούθησης των ασθενών<sup>139</sup>. Ο καλύτερα μελετημένος συνδυασμός, Rituximab + CHOP, σε προεπεξεργασμένους ή μη ασθενείς έδωσε ποσοστά ΣΑ έως 100% (έως 58% ΠΥ), με διάστημα ελεύθερο υποτροπής 65 μήνες<sup>140</sup>. Στον παρόντα χρόνο ενδιαφέρουσα είναι η μελέτη της Γερμανικής Ομάδας Μελέτης Λεμφωμάτων Χαμηλής Κακοήθειας η οποία συγκρίνει το συνδυασμό fludarabine, cyclophosphamide, mitoxantrone (FCM) έναντι FCM + Rituximab σε ασθενείς με υποτροπιάζοντα NHL χαμηλής κακοήθειας & NHL τύπου μανδύα. Οι ενδιάμεσες αναλύσεις αναφέρουν ποσοστά ΣΑ 83% & 53% για τα σκέλη της χημειοανοσοθεραπείας & ΧΘΠ με FCM, αντίστοιχως. Το πρωτόκολλο M 39021 ελέγχει σε μελέτη φάσεως III με τυχαία κατανομή ασθενών 1<sup>ης</sup> γραμμής θεραπεία με τον συνδυασμό Rituximab + CVP έναντι CVP σε χαμηλής κακοήθειας NHL<sup>132</sup>.

Η Rituximab έχει επίσης εκτιμηθεί ως θεραπεία σταθεροποίησης της ελαχίστης υπολειμματικής νόσου (EYN) η οποία ορίζεται ως διατήρηση της bcl-2 θετικότητας επί κλινικής ΠΥ. Το φάρμακο εκτιμήθηκε μετά από χορήγηση του συνδυασμού fludarabine-mitoxantrone(FM) ή του CHOP<sup>141</sup>. Ο σκοπός της θεραπείας σταθεροποίησης ήταν η επίτευξη υφέσεως σε μοριακό επίπεδο & η παράταση του διαστήματος επιβίωσης ελεύθερου υποτροπής. Η χορήγηση θεραπείας σταθεροποίησης με Rituximab προκάλεσε αύξηση της μοριακής υφέσεως στην ομάδα του CHOP από 20% σε 40% & σε του FM από 34% σε 59%. Πρώτης γραμμής διαδοχική θεραπεία με βραχυχρόνια ΧΘΠ ακολουθούμενη από Rituximab, έδωσε αποτελέσματα αντίστοιχα των επιτυγχανομέ-

νων με σύγχρονη θεραπεία<sup>142</sup>.

Σε ασθενείς με υποτροπή μετά από προηγούμενη ανταπόκριση σε Rituximab, η επαναχορήγηση της ως θεραπεία 2ης γραμμής επάγει ΣΑ 40%-52%, με διάμεση διάρκεια των δεύτερων ανταποκρίσεων μεγαλύτερη από των πρώτων (18 έναντι 12 μήνες). Τα αποτελέσματα αυτά είναι μοναδικά & υποδηλώνουν ότι η διαλείπουσα χορήγηση της Rituximab μπορεί όχι μόνο να είναι αποτελεσματική ως θεραπεία συντηρήσεως αλλά & να βελτιώνει την αρχική απάντηση σ' αυτήν<sup>21</sup>. Σε πρόσφατη μελέτη 2<sup>ης</sup> γραμμής μονοθεραπεία με rituximab επί ασθενών οι οποίοι είχαν προηγουμένως ανταποκριθεί στο φάρμακο έδωσε ποσοστά ΣΑ & ΠΥ 38% & 10% αντίστοιχως, με ΔΔΑ 15 μήνες<sup>138</sup>. Σε ανάλογη πολυκεντρική Ευρωπαϊκή μελέτη, τα ποσοστά ΣΑ ασθενών σε 2<sup>ης</sup> γραμμής θεραπεία με rituximab, ήταν καλύτερα αλλά πάντως χαμηλότερα του 50%<sup>143</sup>. Σε ασθενείς οι οποίοι δεν ανταποκρίθηκαν σε 1<sup>ης</sup> γραμμής άλλη θεραπεία, η χορήγηση Rituximab προκάλεσε ΣΑ περί το 40% με διάρκεια ανταποκρίσεως 15+ μήνες<sup>38,127</sup>. Πιθανότερη εξήγηση των σχετικά χαμηλών ποσοστών ΣΑ σε θεραπεία 2<sup>ης</sup> γραμμής με Rituximab, σε ασθενείς οι οποίοι είχαν προηγουμένως, ανταποκριθεί πολύ καλά στο φάρμακο, είναι η απώλεια της εκφράσεως του CD20 αντιγόνου από τα νεοπλασματικά κύτταρα. Η απώλεια αυτή συνδέεται με την προηγούμενη θεραπεία και για τον λόγο αυτό όταν αποφασίζεται θεραπεία 2<sup>ης</sup> γραμμής με χορήγηση εκ νέου rituximab, πρέπει να επανεξετάζεται το ποσοστό των κυττάρων τα οποία εξακολουθούν να διατηρούν την έκφραση του CD20 αντιγόνου<sup>144</sup>. Μετα-ανάλυση δημοσιευμένων μελετών με χρήση Rituximab έδειξε υψηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης σε ασθενείς οι οποίοι είχαν προηγουμένως λάβει λιγότερα χημειοθεραπευτικά σχήματα. Σύμφωνα με αυτές, 2ης γραμμής θεραπεία με Rituximab προκαλεί ΣΑ περί το 57%. Το αντίστοιχο ποσοστό σε ασθενείς οι οποίοι είχαν λάβει =3 ΧΘΠ σχήματα ήταν 38%. Συμπερασματικά, η Rituximab επάγει υψηλότερα ποσοστά ΣΑ όταν χορηγείται ως θεραπεία 1ης γραμμής, συγκριτικά με τη χρήση της μετά από προηγούμενα ΧΘΠ. Η μεγάλη αποτελεσματικότητά της & η σχετικά μικρή τοξικότητά της την καθιστούν εξαιρετική επιλογή σε ασθενείς με κακή γενική κατάσταση ή πτωχή παρακολούθηση. Τα ποσοστά ΣΑ & η διάρκεια υφέσεως την οποία προκαλεί, πιθανόν να αυξηθούν σημαντικά με την περαιτέρω χρήση της ως θεραπείας συντηρήσεως χωρίς παράλληλη αύξηση της τοξικότητάς της. Πολλά ερωτήματα σχετι-

κά με τον τρόπο ή/ & την διάρκεια χορηγήσεώς της, τον βέλτιστο συνδυασμό της με ΧΘΠ & τον ακριβή ρόλο της ως θεραπεία συντηρήσεως, μένουν να απαντηθούν & προς τούτο είναι απαραίτητες σχετικές μελέτες φάσεως III με μεγάλους αριθμούς ασθενών<sup>21</sup>.

Συνοπτικά, στην παρούσα χρονική περίοδο βρίσκονται σε εξέλιξη μελέτες επί ασθενών με χαμηλής κακοήθειας NHL, στις οποίες εξετάζονται<sup>115</sup>.

- A. Η ενίσχυση της θεραπευτικής ισχύος 1<sup>ης</sup> γραμμής ΧΘΠ με CVP ή CHOP από την συγχορήγηση της rituximab. Οι περισσότερες μελέτες αυτής της κατηγορίας, όπως έχει προαναφερθεί, ελέγχουν την κάθαρση του bcl-2, από τα λεμφωματικά κύτταρα,
- B. Η αξία θεραπείας συντηρήσεως με rituximab μετά την ολοκλήρωση χημειοθεραπείας με CVP. Επί θετικού αποτελέσματος το χρονικό διάστημα της θεραπείας συντηρήσεως το οποίο προσφέρει το μεγαλύτερο όφελος,
- Γ. Η σύγκριση των συνδυασμών CHOP + rituximab & CHOP + ανοσοθεραπεία,
- Δ. Η ισχύς της rituximab στην επίτευξη καθάρσεως κυττάρων όταν το φάρμακο χορηγείται σε προμεταμοσχευτική φάση,
- E. Η θεραπευτική αξία του συνδυασμού CHOP+ rituximab όταν ακολουθείται από ακτινοανοσοθεραπεία ή tositumomab ή ibritumomab (Zevalin).

Η αύξηση της εντάσεως της θεραπείας με Rituximab δεν φαίνεται να προσφέρει αξιόλογα στην έκβαση των ασθενών.

### Αυτόλογη μυελική μεταμόσχευση και rituximab

Οι πρόοδοι στην μεταμόσχευση προγονικών μυελικών κυττάρων, με την ανάπτυξη βελτιωμένων τεχνικών καθάρσεως in vivo & in vitro, έχουν αυξήσει το ενδιαφέρον για εφαρμογή της σε χαμηλής κακοήθειας NHL. Μολονότι η παραμονή bcl-2+ κυττάρων μετά από ΑΚΤΘ ή ΧΘΠ δεν σημαίνει απαραίτητα κλινική υποτροπή, η μετα-μεταμοσχευτική παρουσία bcl-2/IgH+ κυττάρων, συνήθως προδικάζει κλινική υποτροπή. Για τον λόγο αυτό η μοριακή ύφεση της νόσου αποτελεί σπουδαίο στόχο κατά την μεταμόσχευση προγονικών μυελικών κυττάρων. Η εξέταση μοριακών δεικτών με τη μέθοδο real-time PCR στα χαμηλής κακοήθειας NHL όπως η μετάθεση t(14;18) & οι αναδιατάξεις του γονιδίου IgH, δίνει θετικά αποτελέσματα στο 1/3 περίπου των περιπτώσεων<sup>145</sup>.

Αν και η ex vivo κάθαρση εξαφανίζει τα υπολειμματικά νεοπλασματικά κύτταρα από τα μυελικά μοσχεύματα, η μέθοδος αυτή είναι χρονοβόρα, επίπονη & ακριβή. Η Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO) προτείνει κάθαρση χρησιμοποιώντας διαδοχική megaθεραπεία με 2 κύκλους doxorubicin, vincristine, prednisone (& επί μη επιτεύξεως ΠΥ, δύο κύκλους DHAP), κινητοποίηση των προγονικών μυελικών κυττάρων με etoposide, high-dose methotrexate, cyclophosphamide & τέλος μεταμόσχευση μυελικών κυττάρων με συνδυασμό melphalan + mitoxantrone. Με το σχήμα αυτό 42 ασθενείς με προχωρημένη νόσο οι οποίοι δεν είχαν λάβει προηγουμένως ΧΘΠ, εμφάνισαν μοριακή ύφεση της νόσου στο 48%. Το 90% των ασθενών οι οποίοι έλαβαν μοσχεύματα με αρνητική PCR παρουσίασαν τελικά ΠΥ. Τα ποσοστά ΣΕ & ΔΕΝ για τις PCR- έναντι των PCR+ στην τετραετία ήταν 84% & 67% αντιστοίχως. Εντούτοις κατά τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων της μελέτης, 4 ασθενείς ανέπτυξαν μυελοδυσπλασία, αυξάνοντας τις επιφυλάξεις για την μελλοντική ευρεία εφαρμογή της θεραπείας. Η Rituximab είναι ασφαλής για την in vivo κάθαρση μοσχευμάτων, αλλά η ανάπτυξη μοριακής υφέσεως εξαρτάται από την ΧΘΠ & είναι 50%, 66% & 100% για τους συνδυασμούς CHOP+Rituximab, fludarabine-mitoxantrone + Rituximab & megaθεραπείας + Rituximab, σε μη προθεραπευμένους ασθενείς.

Ο ρόλος της Rituximab στην μεταμόσχευση μυελικών κυττάρων σε ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL συζητήθηκε σε τρεις πρόσφατες κλινικές μελέτες. Στην συγκριτική μελέτη της GITMO οι ασθενείς λαμβάνουν rituximab & megaθεραπεία ή CHOP & rituximab. Σε προκαταρκτικά αποτελέσματα επί 45 ασθενών τα ποσοστά ΣΑ & ΠΥ είναι 79% ή 75%<sup>145,146</sup>.

Στις άλλες δύο μελέτες χρησιμοποιήθηκε η ανοσοθεραπεία στα πλαίσια μετα-μεταμοσχευτικής θεραπείας σταθεροποιήσεως. Στην πολυκεντρική Γερμανική μελέτη φάσεως II με 30 με νεοδιαγνωσθέντες ή υποτροπιάσαντες ασθενείς η θεραπεία ενάρξεως ήταν VACOP-B ή CHOP, ακολουθούμενη από VIP-E ή DexaBEAM<sup>147</sup>. Η megaθεραπεία συνίστατο σε ολοσωματική ΑΚΤΘ, cyclophosphamide, ακολουθούμενη από μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD34+. Η Rituximab (4 εβδομαδιαίες χορηγήσεις των 375mg/m<sup>2</sup>), δόθηκε 63 (38-108) ημέρες μετά τη μεταμόσχευση. Οι ΠΥ ήταν 57% & 88% στους 6 & 12 μήνες αντιστοίχως. Μετά διάμεση παρακολούθηση 24 μηνών, οι 29 από τους 30 εκτιμηθέντες ασθενείς ήταν σε κλινική ΠΥ. Προ της megaθεραπείας, το 22% των

δειγμάτων περιφερικού αίματος ή μυελού των οστών των ασθενών ήταν PCR(-) & το ποσοστό αυξήθηκε στο 53% μετά την μεγαθεραπεία, 72% στις 4 εβδομάδες μετά την χορήγηση Rituximab & 100%, 6 μήνες μετά την μεταμόσχευση. Η Καναδική μελέτη περιλαμβάνει 49 ασθενείς με ανθεκτικό ή υποτροπιάζον NHL οι οποίοι ανταποκρίθηκαν σε ΧΘΠ διασώσεως με DHAP ή CHOP x 4-5 κύκλους & ένα από τα παρακάτω μεταμεταμοσχευτικά σχήματα με: (I) IFN-a x 2 έτη, (II) Rituximab 375mg/m<sup>2</sup> x 1 προ της συλλογής του μυελικού δείγματος & έπειτα ανά εβδομάδα x 4 εβδομάδες, τον 2<sup>ο</sup> & 6<sup>ο</sup> μήνες μετά την μεταμόσχευση, (III) Rituximab x 3 ανά εβδομάδα, σε συνδυασμό με DHAP ή CHOP πριν την μεταμόσχευση μυελικών κυττάρων & έπειτα Rituximab x 6 εβδομάδες, αρχίζοντας τον 4<sup>ο</sup> μήνα μετά την μεταμόσχευση, σε συνδυασμό με IFN-a (3 MU/m<sup>2</sup> δύο φορές την εβδομάδα) x 2 χρόνια. Μετά 3ετή διάμεση παρακολούθηση (4.3, 2.9 & 0.4 έτη για τις ομάδες της IFN-a, Rituximab & του συνδυασμού Rituximab+IFN-a, αντιστοιχώς), 4 ασθενείς είχαν πεθάνει & 18 είχαν υποτροπιάσει (10/14 της ομάδας της IFN-a, 7/23 της Rituximab & 1/12 της Rituximab+IFN-a), σε διάμεσο χρονικό διάστημα 2.75, 1.8 & 0.4 ετών από την μεταμόσχευση αντίστοιχα. Είναι ενδιαφέρον ότι η Rituximab δεν επήγε μοριακή ύφεση στα περισσότερα (23/29) PCR+ δείγματα μυελού των οστών, Μοριακή ύφεση παρατηρήθηκε σε μεταγενέστερο στάδιο στους περισσότερους ασθενείς. Η μοριακή ύφεση διατηρήθηκε σε 10/12 ασθενείς της ομάδας της Rituximab (18-48 μήνες), ενώ η επανεμφάνιση θετικών μοριακών δεικτών ήταν προβλεπτική υποτροπής σε 6/10 άτομα. Το διάμεσο διάστημα ελεύθερο υποτροπής ήταν 3,3 έτη για τον πληθυσμό της IFN-a, αλλά ανάλογο διάστημα δεν είχε επιτευχθεί μέχρι την ανακοίνωση των αποτελεσμάτων στους δύο άλλους πληθυσμούς<sup>148</sup>.

Γενικά, η Rituximab φαίνεται περισσότερο ανεκτική στα πλαίσια της αυτόλογης μεταμοσχεύσεως προγονικών μυελικών κυττάρων και δεν επηρεάζει την λειτουργία των μεταμοσχευθέντων κυττάρων & τα επίπεδα των ανοσοσφαιρινών. Σε μία αναδρομική μελέτη 237 μεταμοσχεύσεων σε NHL, παρατηρήθηκε χρονική καθυστέρηση στην μεταμόσχευση, στους ασθενείς οι οποίοι έλαβαν προηγουμένως Rituximab, έναντι όσων δεν έλαβαν το μονοκλωνικό αντίσωμα. Πάντως, δεν υπήρχε διαφορά στην επίπτωση μετα-μεταμοσχευτικών λοιμώξεων, της διάρκειας νοσηλείας των ασθενών & της θνησιμότητας μετά από 100 ημέρες από την μεταμόσχευση (100-day mortality)<sup>149,150,151</sup>.

### Θεραπεία με Αντι-CD33

Το CD33 αποτελεί αντιγόνο μυελοειδούς διαφοροποίησης, ανήκει σε ομάδα ανοσοσφαιρινών & είναι γλυκοπρωτεΐνη 67 kd συνδεδεμένη με την κυτταρική μεμβράνη. Εκφράζεται σε ανθρώπινα μονοκύτταρα, προμυελοκύτταρα, μυελοειδείς βλάστες, ενίοτε σε κύτταρα ΟΛΛ, ενώ απουσιάζει από φυσιολογικό αιμοποιητικό ιστό & μη αιμοποιητικά κύτταρα. Η ακριβής λειτουργία του CD33 στα μυελοειδή κύτταρα δεν έχει πλήρως αποδειχθεί<sup>152</sup>.

Η Gemtuzumab-Ozogamicin (Mylotarg, Wyeth-Ayerst Laboratories) είναι ανθρώπινο IgG<sub>4</sub> μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD33, συνδεδεμένο με παράγωγο καλιχεαμικίνης (calicheamicin), την Ν-ακετυλο γ<sub>1</sub> καλιχεαμικίνη. Μετά τη σύνδεση με το στόχο της, η Gemtuzumab-Ozogamicin ενδοκυτταρώνεται γρήγορα ακολουθεί η απελευθέρωση του δραστικού αντινεοπλασματικού παραγώγου της καλιχεαμικίνης, η οποία διασπά την διπλή έλικα του DNA & οδηγεί τελικά σε κυτταρική απόπτωση<sup>152,153</sup>. Όπως γίνεται εμφανές ο μηχανισμός δράσης φαίνεται διαφορετικός από της Rituximab & της alemtuzumab. Η Gemtuzumab-Ozogamicin επάγει βλάβη του DNA, η οποία ακολουθείται από αναστολή του κυτταρικού κύκλου έτσι ώστε να γίνει επιδιόρθωση του κυτταρικού DNA, είτε έναρξη της αποπτωτικής διαδικασίας. Εντός 3-6 ωρών από την έγχυση του αντισώματος, επέρχεται κορεσμός των αντιγονικών θέσεων συνδέσεως του CD33 στους βλάστες της ΟΜΛ, τα μονοκύτταρα & τα κοκκιοκύτταρα. In vitro, η Gemtuzumab-Ozogamicin μετά τη σύνδεσή της με το αντιγόνο CD33, περνά γρήγορα στο εσωτερικό του κυττάρου & επάγει δοσοεξαρτώμενη απόπτωση των μυελικών κυττάρων. Η απάντηση των κυττάρων της ΟΜΛ είναι ετερογενής. Σε κάποιες κυτταρικές σειρές η Gemtuzumab-Ozogamicin προκαλεί αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη G2 φάση, σε άλλες τα κύτταρα εγκλωβίζονται στην ίδια φάση αλλά γρήγορα αποπίπτουν, ενώ άλλα κύτταρα εμφανίζουν ανθεκτικότητα στο φάρμακο. Οι ετερογενείς απαντήσεις στην χορήγηση του φαρμάκου δεν συσχετίζονται με τα επίπεδα εκφράσεως του αντιγόνου CD33. Έχει προταθεί ότι η ATM/ATR-chk1/chk2 οδός εμπλέκεται στην απάντηση των κυττάρων στην Gemtuzumab-Ozogamicin<sup>154</sup>.

Δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της εντάσεως χορηγήσεως αντισώματος έναντι του CD33 & ΣΑ στην θεραπεία ή στην ΣΕ 35 ασθενών οι οποίοι θεραπεύτηκαν σε πρωτόκολλα με Gemtuzumab-

Ozogamicin <sup>155</sup>. Έχει περιγραφεί ότι η υπολειμματική λευχαιμική νόσος στο μυελό των οστών μετά από θεραπεία με Gemtuzumab- Ozogamicin & η μη επίτευξη ανταποκρίσεως συνδέεται ισχυρά με τις λειτουργίες των P- γλυκοπρωτεϊνών των βλαστών & με μικρή επαγωγή της αποπτώσεώς τους in vitro <sup>156</sup>.

**Tositumomab**

Η tositumomab (Bexxar) είναι μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD20 αντιγόνου ραδιοσημασμένο με ιώδιο-131 (<sup>131</sup>I), η οποία σε αρχική μελέτη φάσεως I/II επί 59 ασθενών, προκάλεσε ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 71% & 34% αντιστοίχως <sup>157</sup> & τα αποτελέσματα έχουν αναπαραχθεί επανειλημμένα σε μελέτες φάσεως II επί ασθενών με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα νόσο <sup>158,159</sup>. Σε μελέτες φάσεως III χορήγηση <sup>131</sup>I tositumomab σε συμβατικές δόσεις, προκάλεσε ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 75%-80% & 35%-40% αντιστοίχως <sup>4,160</sup>. Σε πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη θεραπεία, με Bexxar επήγε ΣΑ στο 65% (ΠΥ 20%) & ΔΔΑ 6.5 μήνες επί 60 εντόνως προθεραπευμένων ασθενών με ανθεκτικά ή λεμφώματα σε εκτροπή. Μόνο ένας ασθενής χρειάστηκε νοσηλεία σε νοσοκομείο λόγω εμπύρετης ουδετεροπενίας, ενώ τέσσερεις ανέπτυξαν μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο κατά την φάση της παρακολούθησής <sup>161</sup>.

Σε πρόσφατη μελέτη επί 42 ασθενών με ανθεκτικά ή υποτροπιάσαντα NHL χαμηλής κακοήθειας, τα ποσοστά ΣΑ & ΠΥ ήταν 83% & 48% αντιστοίχως <sup>159</sup>. Σε άλλη μελέτη φάσεως III, 60 ασθενείς, οι οποίοι υποτροπίασαν μετά από θεραπεία ≤2 διαφορετικών χημειοθεραπευτικών συνδυασμών κατανεμήθηκαν μεταξύ δύο θεραπευτικών επιλογών: tositumomab & ραδιενεργού <sup>131</sup>I tositumomab ή της προηγούμενης ΧΘΠ εφόσον αυτή ήταν επιτυχής & είχε μεσολαβήσει χρονικό

διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών από του τέλους της. Τα αποτελέσματα της μελέτης δίδονται στον Πίνακα 8.

Μεγαθεραπεία με tositumomab με υποστήριξη με αρχέγονα μυελικά κύτταρα προκάλεσε ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 85%-90% & 75%-80% αντιστοίχως <sup>162</sup>. Μολονότι για διατύπωση καταληκτικών συμπερασμάτων, είναι απαραίτητες μελέτες με ένταξη μεγάλου αριθμού ασθενών & μακρά παρακολούθηση, τα μέχρι τώρα αποτελέσματα παρέχουν πρώτες, αισιόδοξες, ενδείξεις <sup>4</sup>. Σε 65 Πανεπιστημιακά & Πολιτειακά Νοσοκομεία στις Η.Π.Α. βρίσκεται σε εξέλιξη πολυκεντρική μελέτη αξιολογήσεως της tositumomab & της <sup>131</sup>I tositumomab. Σύμφωνα με τον σχεδιασμό της μελέτης, προκαταρκτική ανάλυση & παρουσίαση αποτελεσμάτων θα γίνει μετά την ένταξη 475 ασθενών. Σε πρώτη, ανεπίσημη ανάλυση επί 394 αξιολογήσιμων ασθενών, τα ποσοστά ΣΑ & ΠΥ 59% & 26% & το ΔΔΑ 15 & 9+ μήνες αντιστοίχως <sup>159</sup>.

Πρόσφατα αναλύθηκαν δεδομένα από 58 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL σε μετατροπή, οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με tositumomab & <sup>131</sup>I tositumomab. Παρατηρήθηκε ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 53% & 29%, με ΔΔΑ 11 & 20 μήνες αντιστοίχως. Αποτελέσματα από επανάληψη επιτυχούς προηγούμενης θεραπείας συγκλίνουν σε ποσοστά ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 52% & 22%, με ΔΔΑ 4 & 6 μήνες αντιστοίχως <sup>159</sup>. Μελέτες φάσεως I/II ακτινοανοσοθεραπείας με tositumomab & <sup>131</sup>I tositumomab, έδειξαν ότι η μέγιστη ανεκτή συνολική ολοσωματική ΑΚΤΘ δόση είναι 75cGy <sup>157,158,161</sup>. Οι κυριότερες παρενέργειες από θεραπευτική χρησιμοποίηση tositumomab & <sup>131</sup>I tositumomab, δίδονται στους Πίνακες 9 & 10.

Σε μελέτη με τυχαία κατανομή ασθενών εξετάστηκε ο ρόλος υψηλών δόσεων ραδιοανοσοθεραπείας έναντι συμβατικής μεγαθεραπείας με υποστήριξη με αυτόλογο μυελικό μόσχευμα, σε

**Πίνακας 8.** Ανταπόκριση στην tositumomab και iodine i 131 tositumomab έναντι επιτυχούς προηγούμενης θεραπείας

	<i>Tositumomab και I-131 tositumomab</i>	<i>ΕΠΘ</i>	<i>P*</i>
Ανταπόκριση (%)	65	28	<0.001
Δ.Δ.Α. (μήνες)	6.5	3.4	=0.005
Π.Υ. (%)	17	3	=0.001
Δ.Δ.Π.Υ. (μήνες)	47+	6	=0.0004

\* = Χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες McNemar's για την σύγκριση των επιβιώσεων και logrank για την διάρκεια επιβιώσεως.

Δ.Δ.Α. = Διάμεσο Διάστημα Ανταποκρίσεως.

Δ.Δ.Π.Υ. = Διάμεσο Διάστημα Πλήρους Υφέσεως.

Από: Zelenetz AD. A clinical and scientific overview of tositumomab and iodine I 131 tositumomab. Semin Oncol 2003, 30(Suppl 4): 22-30.

**Πίνακας 9.** Μη αιματολογική τοξικότητα από την χρήση tositumomab και I-131 tositumomab επί 179 ασθενών

Παρενέργεια	GRADE	GRADE
	1+2 (%)	3+4 (%)
Ασθένεια	39	0
Πυρετός	35	2
Ναυτία	35	2
Κεφαλαλγία	21	<1
Ρίγη	19	<1
Μυαλγία	18	0
Ανορεξία	17	0
Αρθραλγία	16	2
Εξάνθημα	16	0
Κνησμός	15	0
Εμετός	10	1
Πόνος	10	0

Από: Zelenetz AD. A clinical and scientific overview of tositumomab and iodine I 131 tositumomab. *Semin Oncol* 2003, 30(Suppl 4): 22-30.

**Πίνακας 10.** Αιματολογική τοξικότητα Grade 3+4 από την χρήση tositumomab και I-131 tositumomab σε μελέτες φάσεως II / III

	Φάση II/ 47 Ασθενείς (%)	Φάση III/ 60 Ασθενείς (%)
Πολυμορφοπύρρινα <1000/μL	29 <sup>62</sup>	33 <sup>55</sup>
Λευκά <2000/μL	27 <sup>57</sup>	28 <sup>47</sup>
Αιμοπετάλια <50000/μL	27 <sup>57</sup>	28 <sup>47</sup>
Αιμοσφαιρίνη <8g/dl	10 <sup>21</sup>	10 <sup>7</sup>

Από: Vose JM, Wahl RL, Saleh M, et al. Multicenter phase II study of iodine-131 tositumomab for chemotherapy relapsed/ refractory low-grade and transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2000, 18: 1316-1323. και Kaminski MS, Zelenetz AD, Press O, et al. Pivotal study of iodine I 131 tositumomab for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2001, 19: 3918-3928.

ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL σε υποτροπή. Για το σκοπό αυτό κατανεμήθηκαν 125 ασθενείς οι οποίοι είχαν λάβει αρχικά, υψηλών δόσεων ραδιοανοσοθεραπεία με <sup>131</sup>I- tositumomab (27 άτομα) ή συμβατική ΧΘΠ με υψηλές δόσεις & αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (98 άτομα). Οι ομάδες ασθενών ήταν συγκρίσιμες μολονότι τα άτομα της πρώτης ομάδας είχαν υψηλά προμεταμοσχευτικά επίπεδα γαλακτικής αφυδρογονάσης (41% έναντι 20%, p=0.03) & υψηλή θέση στον πίνακα το διεθνούς προγνωστικού δείκτη (41% έναντι 19%, p=0.02). Οι ασθε-

νείς της πρώτης ομάδας έλαβαν εξατομικευμένες δόσεις <sup>131</sup>I-tositumomab (διάμεση τιμή 19,7 GBq[531mCi]) ώστε να μεταφέρεται δόση 17-31 Gy (διάμεση τιμή 27 Gy) στα ζωτικά όργανα. Οι ασθενείς της δεύτερης ομάδας πήραν ολοσωματική ΑΚΤΘ+ΧΘΠ (70%), ή μόνον ΧΘΠ (30%). Οι ασθενείς οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με υψηλές δόσεις ραδιοανοσοθεραπείας είχαν μεγαλύτερο διάστημα ΣΕ (για 95% διάστημα αξιοπιστίας, 0.2-0.9, p=0.02) & ΔΕΝ (για 95% διάστημα αξιοπιστίας, 0.3-1, p=0.06) έναντι της ομάδας της ΧΘΠ. Η υπολογιζόμενη πενταετής επιβίωση & ΔΕΝ ήταν 67% & 48% έναντι 53% & 29% στις δύο ομάδες αντιστοίχως. Η θνησιμότητα στις πρώτες 100 ημέρες από την θεραπεία ήταν 3,7% & 11% για τις δύο ομάδες. Η πιθανότητα αναπτύξεως δευτεροπαθώς μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου/ ΟΜΛ υπολογίστηκε στο 0,076 στα 8 έτη από τη θεραπεία για την πρώτη ομάδα & στο 0,086 στα 7 έτη για την ομάδα της μεγαθεραπείας. Οι συγγραφείς της μελέτης καταλήγουν ότι η ραδιοανοσοθεραπεία μπορεί να βελτιώσει την έκβαση της νόσου έναντι της συμβατικής μεγαθεραπείας <sup>163</sup>.

Σε πρόσφατη μελέτη φάσεως II του Southwest Oncology Group (SWOG) σε 90 μη προθεραπευμένους ασθενείς με οζώδη NHL προχωρημένων σταδίων χορηγήθηκαν 6 κύκλοι CHOP & μετά 4 - 8 εβδομάδες θεραπεία με tositumomab/ <sup>131</sup>I-tositumomab. Το ποσοστό ΣΑ ήταν 90% (ΠΥ 67%). Από 47 ασθενείς οι οποίοι αξιολογήθηκαν λεπτομερώς, οι 27 (57%) παρουσίασαν βελτίωση της αρχικής (μετά το CHOP) ανταποκρίσεως με την προσθήκη tositumomab & <sup>131</sup>I-tositumomab. Μετά διάμεση παρακολούθηση 2.3 ετών, το 2ετές διάστημα ελεύθερο προόδου νόσου (ΔΕΠΝ) ήταν 81% & η διετής επιβίωση 97%. Το ΔΕΠΝ της μελέτης ήταν καλύτερο σε σχέση με αντίστοιχα προηγούμενων ιστορικών μελετών στις οποίες χρησιμοποιήθηκε το σχήμα CHOP± 4 εβδομαδιαίες δόσεις Rituximab. Η σημαντικότερη παρενέργεια της θεραπείας ήταν η αναστρέψιμη μυελοκαταστολή η οποία ήταν βαρύτερη κατά την εφαρμογή του CHOP σε σύγκριση με την ραδιοανοσοθεραπεία. Εντούτοις χρειάζεται μακρά παρακολούθηση για την ανάδειξη του πιθανού κινδύνου καταστροφής των αρχέγονων μυελικών κυττάρων, της αναπτύξεως μυελοδυσπλασίας & οξείας λευχαιμίας. Είναι σε εξέλιξη δύο μελέτες με τυχαία κατανομή ασθενών από το SWOG & από το Cancer and Leukemia Group B (S0016), οι οποίες συγκρίνουν την αποτελεσματικότητα χορηγήσεως συνδυασμού CHOP + tositumomab/ <sup>131</sup>I-tositumomab έναντι συνδυασμού CHOP + Rituximab<sup>164</sup>.

## Ibritumomab

Προκαταρκτικά αποτελέσματα υπάρχουν από την ένταξη ασθενών σε θεραπευτικά πρωτόκολλα με την χρήση ενός άλλου μονοκλωνικού αντισώματος έναντι του CD20 αντιγόνου, ραδιοσημασμένου με ύτριο-90 ( $^{90}\text{Y}$ ), της ibritumomab (Zevalin). Τα ποσοστά ΣΑ σε μελέτες φάσεως I, κυμαίνονται μεταξύ 64%-67%<sup>165</sup>. Σε μελέτη φάσεως I/II ασθενείς με υποτροπή ή ανθεκτικό CD20+ λέμφωμα, εκ β-κυττάρων, αντιμετωπίστηκαν με ibritumomab. Η μέγιστη ανεκτή δόση ήταν 0.4 mCi/kg, η επαγόμενη ΣΑ για ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL ήταν 82% (ΠΥ 26%) & η ΔΔΑ 12 μήνες. Οι παρενέργειες της ibritumomab, ήταν κυρίως αιματολογικές & σχετίζονται με την έκταση της προσβολής του μυελού των οστών & τον αριθμό των αιμοπεταλίων προ της έναρξης της θεραπείας<sup>166</sup>.

Τα αποτελέσματα από την θεραπευτική χρησιμοποίηση της tositumomab & της ibritumomab φαίνονται ενθαρρυντικά. Προς το παρόν υπάρχουν μεμονωμένες μόνον συγκριτικές θεραπευτικές μελέτες μεταξύ των συγκεκριμένων νεότερων μονοκλωνικών αντισωμάτων & της rituximab<sup>4</sup>. Σε μία από αυτές, 143 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL κατατάχθηκαν με τους κανόνες της τυχαίας κατανομής μεταξύ ακτινοανοσοθεραπείας με  $^{90}\text{Y}$  ibritumomab tiuxetan & ανοσοθεραπείας με rituximab. Σε προκαταρκτική ανάλυση επί 90 ασθενών οι ΣΑ ήταν 80% & 44% ( $p < 0.001$ ), οι ΠΥ 21% & 7%,  $p = 0.06$ . Η  $^{90}\text{Y}$  ibritumomab tiuxetan έδωσε ΣΑ στο 46% των ανθεκτικών ασθενών στην rituximab<sup>167</sup>. Η μελέτη ολοκληρώθηκε και τα αποτελέσματά της δημοσιεύθηκαν πρόσφατα. Σύμφωνα με αυτά, τα ποσοστά ΣΑ ήταν 80% έναντι 56% ( $p = 0.002$ ), των ΠΥ 30% έναντι 16% ( $p = 0.04$ ) & η ΔΔΑ 14.2 έναντι 12.1 μήνες για τις ομάδες της  $^{90}\text{Y}$  ibritumomab tiuxetan & της rituximab αντιστοίχως. Η τοξικότητα της θεραπείας συνίστατο σε μυελοκαταστολή, αφορούσε συχνότερα την ομάδα ασθενών οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με  $^{90}\text{Y}$  ibritumomab tiuxetan & ήταν αναστρέψιμη σε όλες τις περιπτώσεις<sup>168</sup>. Η ίδια ομάδα συγγραφέων μελέτησε την ασφάλεια χορηγήσεως  $^{90}\text{Y}$  ibritumomab tiuxetan επί 349 ασθενών με NHL χαμηλής κακοήθειας σε φάση ανθεκτικότητας, υποτροπής ή εκτροπής. Χορήγηση δόσεως 0.4-mCi/kg  $^{90}\text{Y}$  ibritumomab tiuxetan οδήγησε σε ουδετεροπενία, θρομβοπενία & αναιμία σε ποσοστά 30%, 10% και 3% αντιστοίχως, ενώ με μείωση της δόσεως σε 0.3-mCi/kg τα παρατηρούμενα ποσοστά ήταν αντιστοίχως 35%, 14% & 8%. Ο

κίνδυνος της αιματολογικής τοξικότητας είχε σχέση με τον βαθμό διηθήσεως του μυελού από τη νόσο. Νοσηλεία λόγω λοιμώξεως χρειάστηκε το 7% ασθενών (3% με ουδετεροπενία), ενώ 2% παρουσίασε αιμορραγικές εκδηλώσεις βαθμού III & IV. Πέντε ασθενείς (1.4%) ανέπτυξαν μυελοδυσπλασία 8 - 34 μήνες μετά την θεραπεία. Δημοσιευμένες μελέτες έδειξαν αθροιστικό κίνδυνο για ανάπτυξη μυελοδυσπλασίας σε ασθενείς με NHL οι οποίοι δεν είχαν υποβληθεί σε εντατική ΧΘΠ της τάξεως του 4-8% ή 1-1.5% ανά έτος από τον 2ο έως τον 9ο χρόνο της θεραπείας. Επειδή από τις μέχρι σήμερα μελέτες έχει αποδειχθεί ότι παρενέργεια της ακτινοανοσοθεραπείας είναι η ανάπτυξη μυελοδυσπλασίας, η απόφαση για τη χορήγησή της θα πρέπει να λαμβάνεται με πολύ προσοχή σε ασθενείς των οποίων η ανάλυση μυελού των οστών αποκαλύπτει κυτταρογενετικές ή μορφολογικές αλλοιώσεις συμβατές με μυελοδυσπλασία<sup>169</sup>.

Ασθενείς με υποτροπιάζοντα ή ανθεκτικά NHL χαμηλής κακοήθειας & αριθμό αιμοπεταλίων στα κατώτερα φυσιολογικά όρια, έχουν αυξημένο κίνδυνο σοβαρής μυελοκαταστολής εκ θεραπείας 2<sup>ης</sup> γραμμής. Η δραστηριότητα & η ασφαλής χορήγηση ακτινοανοσοθεραπείας με ελαττωμένη δόση  $^{90}\text{Y}$  ibritumomab tiuxetan (0.3mCi/kg [11MBq/kg]), μέγιστη δόση 32mCi [1.2GBq]), εκτιμήθηκε σε 30 ασθενείς με αριθμό αιμοπεταλίων  $100-149 \times 10^9$  /l & NHL χαμηλής κακοήθειας σε φάση υποτροπής ή αναπτύξεως αντοχής στην θεραπεία. Οι ασθενείς είχαν διάμεση ηλικία 61 χρόνια, το 90% είχε στάδιο  $\geq$ III & το 67% προσβολή του μυελού των οστών. Το 83% των ασθενών εμφάνισε ΣΑ (37% ΠΥ). Ο διάμεσος χρόνος προόδου της νόσου ήταν 9.4 (1.7-24.6) & 12.6 (4.9-24.6) μήνες για το σύνολο των ασθενών & τους ανταποκριθέντες στην θεραπεία, αντιστοίχως. Η τοξικότητα ήταν κυρίως αιματολογική, ήπια & αναστρέψιμη. Η συχνότητα grade IV ουδετεροπενίας, θρομβοπενίας & αναιμίας ήταν 33%, 13% & 3% αντιστοίχως<sup>170</sup>.

## Campath-1H (CP-1H)

Η CAMPATH-1H (CP-1H), είναι εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό IgG1 αντίσωμα κατά του αντιγόνου CD52, με θεραπευτικές ικανότητες για χαμηλής κακοήθειας NHL από B ή T- κύτταρα. Το αντιγόνο CD52 είναι γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 21-28 kd. Αποτελείται από μικρή πεπτιδική αλληλουχία 12 αμινοξέων & μεγάλο N-συνδεδεμένο ολιγοσακχαρίδιο το οποίο συνδέεται με

την μεμβράνη με μία κατασκευή γλυκοφωσφατιδουλινοσιτόλης εκφραζόμενη κυρίως στα λιπιδικά τμήματα της μεμβράνης. Το αντιγόνο CD52 εμφανίζεται, σε φυσιολογικά & νεοπλασματικά T- & B-λεμφοκύτταρα αποτελώντας το 5% της κυτταρικής μεμβράνης τους, σε μονοκύτταρα & μακροφάγα αλλά όχι σε πλασματοκύτταρα, ερυθροκύτταρα, αιμοπετάλια & προγονικά μυελικά κύτταρα<sup>171,172,173</sup> & δεν υφίσταται μετατροπή. Εκφράζεται σε λευκαίμεις από T- ή B-κύτταρα<sup>174</sup>, προλεμφοκυτταρική λευκαίμια από T-κύτταρα & B-κύτταρα της ΧΛΛ. Σε μία μελέτη περιγράφονται υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντος CD52 (cCD52) στον ορό ασθενών με ΧΛΛ<sup>175</sup>. Το cCD52 μπορεί να ανταγωνίζεται με τα κύτταρα *in vitro* για τη σύνδεση στην Campath-1H και μπορεί να σχηματίζει συμπλέγματα σε ασθενείς οι οποίοι λαμβάνουν Campath-1H. Αυξημένα επίπεδα cCD52 πλάσματος συσχετίζονται με το στάδιο κατά Rai, τα αυξημένα επίπεδα β2- μικροσφαιρίνης, την κυτταρογενετική έκφραση στη ΧΛΛ & συνδέονται με εξαιρετικά μειωμένη επίβιωση<sup>176</sup>.

Σε πρόσφατη μελέτη, 16 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL ανθεκτικά σε συμβατική θεραπεία ή υποτροπίασαν μετά από αυτήν, έλαβαν CP-1H σε δόση 30mg, τρεις φορές την εβδομάδα. Παρατηρήθηκε ΣΑ σε 8(50%), ΣΝ σε 2(12.5%) & ΠΝ σε 6(37.5%) ασθενείς. Οι συχνότερες μη αιματολογικές παρενέργειες της θεραπείας ήταν πυρετός, κνίδωση, φρίκια, ρίγη, ναυτία, εμετοί & βρογχόσπασμος. Κυριότερες αιματολογικές παρενέργειες ήταν θρομβοπενία grade III-IV, σε 6(37.5%) ασθενείς & λευκοπενία με απόλυτο λεμφοπενία. Οι ιογενείς λοιμώξεις ήταν ιδιαίτερα συχνές στην ομάδα. Η CP-1H σε μελέτη φάσεως I/II αποδείχθηκε δραστικότερη στην εκρίζωση υπολειμματικών λεμφοματικών κυττάρων από το αίμα & τον μυελό των οστών σε σύγκριση με την ανταπόκριση λεμφαδενικών μαζών. Συνδυασμοί CP-1H + CHOP ήδη δοκιμάζονται<sup>177</sup>.

## Epratuzumab

Το CD22 είναι διαμεμβρανική σιαλογλυκοπρωτεΐνη 135-kd, εκφράζεται αποκλειστικά στα B κύτταρα & αποτελεί μέλος της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών (IgSF). Το μόριό της περιλαμβάνει τις εξής πρωτεΐνες δεσμεύσεως σιαλικού οξέος: sialoadhesin, CD33 & myelin-associated glycoprotein. Εκφράζεται στο κυτταρόπλασμα των πρόδρομων μορφών των B κυττάρων, ανιχνεύεται στην επιφάνειά τους μόνο σε ωριμότερα στάδια της διαφοροποίησής τους & εξαφανί-

ζεται από αυτήν κατά την διαφοροποίησή τους σε πλασματοκύτταρα & την ενεργοποίησή τους. Στις κακοήθειες εκ B κυττάρων εκφράζεται σε ποσοστό 60-80% εξαρτώμενο από τον ιστολογικό τύπο και τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους μελέτης. Το μόριο του CD22 συνδέεται με κατάλοιπα σιαλικού οξέος των γλυκοπρωτεϊνών τα οποία βρίσκονται σε ερυθροκύτταρα, ενεργοποιημένα T & B λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα & ενδοθηλιακά κύτταρα. Η λειτουργία του CD22 δεν είναι πλήρως κατανοητή, εντούτοις φαίνεται ότι: α) έχει ιδιότητες μορίου προσκολλησεως & ειδικότητα για την σύνδεση σιαλικού οξέος, & β) αποτελεί συστατικό του συμπλέγματος το οποίο ενεργοποιεί τα B κύτταρα. Έχει αποδειχθεί ότι ποντίκια στερούμενα του CD22, εκφράζουν αυξημένη αντισωματική απάντηση σε αντιγονικούς ερεθισμούς, αναπτύσσουν αυξημένη παραγωγή αυτοαντισωμάτων, έχουν μειωμένο αριθμό ώριμων B κυττάρων στον μυελό των οστών & το αίμα, ενώ τα B κύτταρά τους έχουν βραχύτερη επιβίωση. Οι παρατηρήσεις αυτές αποδεικνύουν ότι το CD22 έχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη & επιβίωση των B κυττάρων<sup>178</sup>. Όταν το CD22 συνδεθεί με αντισώματα ή άλλα συγγενή στοιχεία μεταφέρεται ταχέως στο εσωτερικό του κυττάρου & παρέχει ισχυρό σήμα διεγέρσεως στα B κύτταρα & προαποπτωτικά ερεθίσματα στα νεοπλασματικά B κύτταρα<sup>178,179</sup>. Δεδομένου ότι η έκφραση του CD22 περιορίζεται στα ώριμα B λεμφοκύτταρα & δεν εξαφανίζεται κατά την νεοπλασματική τους εκτροπή, αντιπροσωπεύει ελκυστικό στόχο ανοσοθεραπείας με μονοκλωνικά αντισώματα.

Η Epratuzumab είναι μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του ανθρώπινου CD22 & σε μελέτη φάσεως I/II δοκιμάστηκε η αποτελεσματικότητά της σε 103 ασθενείς με υποτροπιάζοντα NHL (51 χαμηλής κακοήθειας, 52 επιθετικά). Η Epratuzumab χορηγήθηκε επί 4 εβδομάδες σε δόσεις 120 - 1000mg/m<sup>2</sup>. Από την ομάδα NHL χαμηλής κακοήθειας, ανταπόκριση παρουσίασε μόνο η υποκατηγορία των 40 ασθενών με οζώδη NHL με 3 ΠΥ & 9 ΜΥ, με δόσεις Epratuzumab 360 mg/m<sup>2</sup> (43%) & 480 mg/m<sup>2</sup> (57%). Η ΔΔΑ ήταν 79.3 εβδομάδες, ενώ το διάμεσο ΔΕΠΝ 86.6 εβδομάδες. Η σημαντικότερη παρενέργεια του φαρμάκου ήταν η παροδική μείωση του αριθμού των B κυττάρων, χωρίς μείωση των ανοσοσφαιρινών του ορού<sup>17,179,180</sup>.

Όπως ήδη αναφέρθηκε τα λεμφοματικά κύτταρα συχνά αναπτύσσουν αντίσταση στην Rituximab. Δεδομένου ότι η Epratuzumab έχει διαφο-

ρετικούς μηχανισμούς δράσεως από άλλους κυτταροτοξικούς παράγοντες & την Rituximab, μπορεί να ενταχθεί σε συνδυασμούς για την θεραπεία των NHL. Πρόσφατα αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του συνδυασμού Rituximab+Epratuzumab σε 21 ασθενείς, 15 με οζώδες, 6 με διάχυτο εκ μεγάλων κυττάρων NHL. Το σχήμα συνίστατο σε Epratuzumab 360mg/m<sup>2</sup>/εβδομάδα X 4 εβδομάδες & ακολούθως Rituximab 375 mg/m<sup>2</sup>/εβδομάδα X 4 εβδομάδες. Μεταξύ των 16 αξιολογήσιμων ασθενών παρατηρήθηκαν 9 ΠΥ & 1 ΜΥ. Ο συνδυασμός αποδείχθηκε 3-4 φορές αποτελεσματικότερος όσον αφορά την επίτευξη ΠΥ, συγκρινόμενος με μονοθεραπεία με Rituximab σε πληθυσμούς αντίστοιχων ασθενών & εξίσου αποτελεσματικός με επιθετικότερες ανοσοθεραπείες (π.χ. Ibritumomab tiuxetan) ή με σχήματα ΧΘΠ, τα οποία είχαν μεγαλύτερη τοξικότητα. Ο συνδυασμός επήγε τοξικότητα βαθμού I ή II σχετιζόμενη με την έγχυση των αντισωμάτων, όχι μεγαλύτερη από την παρατηρηθείσα σε μονοθεραπείες με μονοκλωνικά αντισώματα<sup>179,180</sup>. Είναι λογικό τα πρώτα αυτά ενθαρρυντικά αποτελέσματα από την χορήγηση Epratuzumab να πρέπει να επιβεβαιωθούν σε μελέτες με μεγαλύτερους αριθμούς ασθενών. Εντούτοις η Epratuzumab φαίνεται ότι αποτελεί μια υποσχόμενη θεραπεία στην αντιμετώπιση χαμηλής κακοήθειας NHL.

Σήμερα βρίσκονται σε εξέλιξη μελέτες ασθενών με NHL στις οποίες εξετάζονται η αποτελεσματικότητα της Epratuzumab στην θεραπεία ανθεκτικών στην Rituximab οζωδών & διάχυτων από μεγάλα Β κύτταρα NHL, και η θεραπευτική αξία του συνδυασμού Rituximab + Epratuzumab στα οζώδη NHL.

Το CD22 έχει την ιδιότητα να μεταφέρεται στο εσωτερικό του κυττάρου, σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό απ' ότι το CD20, ώστε καθίσταται ιδανικό υποψήφιο μόριο – φορέας κυτταροτοξικών παραγόντων & παραγόντων ακτινοανοσοθεραπείας. Αντισώματα έναντι του CD22 συνδεδεμένα με κυτταροτοξική RNAάση παρουσιάζουν ικανοποιητική αντιλεμφωματική δράση in vitro & σε μοντέλα ανθρώπινου NHL σε ποντικούς με βαρεία συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια. Στην κλινική πράξη αντι CD22 αντισώματα συνδεδεμένα με ψευδομοναδική εξωτοξίνη & την τοξίνη ricin A φαίνεται ότι έχουν θεραπευτική αξία σε ασθενείς με κακοήθειες εκ Β κυττάρων & τριχωτή λευχαιμία ανθεκτικές σε προηγούμενες άλλες συμβατικές θεραπείες<sup>179,180</sup>.

Ήδη βρίσκονται σε εξέλιξη μελέτες οι οποίες ελέγχουν την αποτελεσματικότητα της Epratuzu-

mab ως σύμπλοκο με ακτινοβολούνται στοιχεία στην θεραπεία NHL χαμηλής κακοήθειας, τα προκαταρκτικά αποτελέσματα των οποίων είναι αρκετά ενθαρρυντικά<sup>179</sup>.

### Συνδυασμοί χημειοθεραπείας και rituximab

Η λογική του συνδυασμού ΧΘΠ με rituximab, βασίζεται στους διαφορετικούς μηχανισμούς δράσεώς τους και στην παρατηρηθείσα συνέργεια μεταξύ τους στην αύξηση της αποπτώσεως των κακοήθων Β-κυττάρων in vitro<sup>181</sup>. Η Rituximab έχει συγχορηγηθεί με τους εξής συνδυασμούς χημειοθεραπευτικών: CHOP, COP, FM, FC (fludarabine, cyclophosphamide), FCM, FMD, CD (cyclophosphamide, dexamethasone), MCP (mitoxandrone, chlorambucil, prednisone) ή bendamustine<sup>18,182</sup>.

Στον πίνακα 11 συνοψίζονται τα αποτελέσματα μελετών συνδυασμένης χορήγησης Rituximab & ΧΘΠ σε ασθενείς με NHL χαμηλής κακοήθειας.

Οι Demidem et al, περιέγραψαν ότι προσθήκη rituximab σε DHL-4 κύτταρα λεμφώματος αύξανε την ευαισθησία τους σε πολλά κυτταροτοξικά (όπως σισπλατίνη, αδριαμυκίνη, διφθεριτική τοξίνη)<sup>183</sup>. Πλήθος μελετών επιβεβαίωσαν την δραστηριότητα της συνδυασμένης χημειοανοσοθεραπείας & ορισμένοι μηχανισμοί δράσης ταυτοποιήθηκαν. Οι Alas et al, απέδειξαν συνέργεια της rituximab με fludarabine & άλλα ΧΘΠ σε σειρές Β-κυττάρων. Οι συγγραφείς συζητούν ότι η μείωση της παραγωγής IL-10 από τη rituximab οδηγεί σε μείωση παραγωγής της πρωτεΐνης bcl-2 & αύξηση της αποπτώσεως<sup>184</sup>.

Σε μελέτη φάσεως II εξετάσθηκε η αποτελεσματικότητα του συνδυασμού Rituximab + Chlorambucil επί 29 ασθενών με NHL χαμηλής κακοήθειας (14 υποτροπιάζοντα/ ανθεκτικά). Η θεραπεία συνίστατο σε Chlorambucil (6 mg/m<sup>2</sup>/μέρα) X6 συνεχείς εβδομάδες + 4 δόσεις/ εβδομάδα Rituximab. Όσοι ανταποκρίνονταν ελάμβαναν 4 επιπλέον κύκλους με Chlorambucil (6 mg/m<sup>2</sup>/μέρα X2 εβδομάδες/ μήνα)+ Rituximab (1/ μήνα). Μεταξύ των 27 οι οποίοι εκτιμήθηκαν μετά την θεραπεία συντηρήσεως παρατηρήθηκαν ΠΥ & ΜΥ σε ποσοστά 63% και 26% αντιστοίχως. Μόνον 1 ασθενής αποσύρθηκε από τη μελέτη λόγω ΠΝ<sup>185</sup>.

Δύο μελέτες φάσεως II εξέτασαν τον συνδυασμό rituximab με CHOP & fludarabine στην αντιμετώπιση ασθενών με NHL χαμηλής κακοήθειας. Τα ποσοστά ΣΑ & ΠΥ ήταν 95% & 55% & 93% & 80% στις ομάδες CHOP + Rituximab και Rituximab + fludarabine αντιστοίχως. Οι διαφορές στα ποσοστά ΠΥ στις δύο μελέτες οφείλονται

**Πίνακας 11.** Μελέτες συγχορηγήσεως η rituximab + ΧΘΠ στην θεραπεία NHL χαμηλής κακοήθειας (κυρίως οζώδους τύπου)

Μελέτη	AAA	Δ.Η. (έτη)	ΧΘΠ	ΣΑ (%)	ΠΥ (%)	ΔΔΕΠΝ (έτη)
Drapkin	60	–	Pentostatin	70	17	–
Garcia-Conde	32	52	CVP	81	50	0.5+
Czuczman	39	53	Fludarabine	92	67	1.5+
Hiddemann	43	–	FCM	95	–	–
Czuczman	38	48	CHOP	95	58	5.5+
Sacchi	39	62	FC	97	74	1.1

CVP, cyclophosphamide, vincristine, prednisone, FCM, fludarabine, cyclophosphamide, mitoxantrone, CHOP, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone, FC, fludarabine, cyclophosphamide.

Δ.Η. = Διάμεση ηλικία ΔΔΕΠΝ = Διάμεσο διάστημα ελεύθερο προόδου νόσου

Από Dillman R.O. Treatment of Low-Grade B-Cell Lymphoma with the Monoclonal Antibody Rituximab. *Sem Onc* 2003, 30: 434-447.

στην διαφορετική σύνθεση του πληθυσμού τους από την άποψη του ποσοστού των προηγούμενα θεραπευθέντων ή μη, ασθενών. Οι ασθενείς του συνδυασμού Rituximab + fludarabine εμφάνισαν αρνητικοποίηση της μεταθέσεως t(14;18) σε όλες (9/9) τις περιπτώσεις<sup>33,38,186</sup>. Τελευταία δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα μελέτης φάσεως I/II συνδυασμού Rituximab + Fludarabine επί 33 ασθενών με χαμηλής κακοήθειας NHL & ΧΛΛ. Τρεις από τους ασθενείς αποσύρθηκαν από την μελέτη λόγω αναφυλακτικών αντιδράσεων εκ του Rituximab & τέσσερις λόγω παρατεταμένης αιματολογικής τοξικότητας. Η τοξικότητα & η αποτελεσματικότητα του συνδυασμού δεν διέφεραν για διαφορετικές δόσεις Rituximab. Μεταξύ των 29 ασθενών οι οποίοι εκτιμήθηκαν, παρατηρήθηκαν ποσοστά ΣΑ & ΠΥ 82.8% & 34.5% αντίστοιχως. Έξι από τους ασθενείς παρέμειναν σε ΠΥ ύφεση για διάμεσο διάστημα 16 μηνών. Εξάλλου υπήρξε σημαντική διαφορά στην ΣΑ μεταξύ προθεραπευμένων & μη, ασθενών. Η πρώτη ομάδα εμφάνιζε ΣΑ & ΠΥ 68.5% & 25%, ενώ η δεύτερη ομάδα σε ποσοστά 100% & 46.2% αντίστοιχα<sup>187</sup>.

Είναι ενδιαφέρον ότι η ένταξη της Rituximab σε θεραπευτικούς συνδυασμούς με χημειοθεραπεία ή fludarabine δεν επάγει αυξημένη τοξικότητα σε σύγκριση με την προκαλούμενη όταν οι παράγοντες δίνονται μεμονωμένα<sup>186,188</sup>. Άλλη μελέτη έδειξε ότι η Rituximab αυξάνει σημαντικά την ευαισθησία κυτταρικών σειρών στη δοξορουβικίνη in vitro. Ομοδιμερή της rituximab, τα οποία επιτρέπουν σύνδεση μεταξύ κυττάρων, είναι πλέον αποτελεσματικά<sup>189</sup>.

Συνδυασμός CHOP + Rituximab σε 40 ασθε-

νείς (οι 31 χωρίς προηγούμενη θεραπεία) με χαμηλής κακοήθειας NHL, έδωσε ποσοστό ΣΑ 100% & ΠΥ 63%. Η ΔΔΑ ήταν 50.4+ μήνες & το 50% των ασθενών ήταν σε ύφεση μετά παρακολούθηση 36+ - 54.5 μήνες. Σε επτά από τους οκτώ ασθενείς οι οποίοι εμφάνισαν αναδιάταξη του γονιδίου BCL-2 παρατηρήθηκε ΠΥ με την θεραπεία για 44+ - 68+ μήνες<sup>190,191</sup>. Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης, η SWOG & η Cancer and Leukemia Group B σχεδίασαν & πραγματοποιούν συγκριτική μελέτη μεταξύ CHOP & CHOP + rituximab με τους ασθενείς του πρώτου σκέλους να λαμβάνουν σε δεύτερο χρόνο <sup>131</sup>I tositumomab. Ελληνική μελέτη αξιολόγησε τα αποτελέσματα του συνδυασμού Rituximab & CNOP (cyclophosphamide, mitoxandrone, vincristine, prednisone) ως θεραπεία 1ης γραμμής σε 42 ασθενείς με NHL : οζώδη, από μικρά λεμφοκύτταρα / λεμφοπλασματοκυτταρικά & εκ της οριακής ζώνης. Χορηγήθηκαν 6 κύκλοι CNOP σε συνδυασμό με 6 εγχύσεις Rituximab (375 mg/m<sup>2</sup>) με ποσοστά ΣΑ 90% (ΠΥ 71%). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη ΣΑ μεταξύ των διαφορετικών ιστολογικών υποομάδων ή μεταξύ ατόμων διαφορετικών ομάδων κινδύνου, σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά IPI (P>0.05). Η παρακολούθηση των ασθενών συνεχίζεται ακόμα & για τον λόγο αυτό δεν δίνονται πληροφορίες σχετικά με την διάρκεια της ΣΑ της ανταποκρίσεως & το χρονικό ΔΕΠΝ. Μέχρι τώρα το 90% των ασθενών ζούνε & το 74% δεν παρουσιάζει ΠΝ. Η θεραπεία ήταν καλά ανεκτή. Ένας ασθενής παρουσίασε τοξικότητα σχετιζόμενη με την έγχυση των φαρμάκων grade III/IV, 13 λευκοπενία grade III/IV & 18 ουδετεροπενία

grade III/IV. Επτά ασθενείς ανέπτυξαν λοιμώξεις grade I/II & 1 grade III. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι 1<sup>η</sup> γραμμής συνδυασμός Rituximab + CNOP επάγει υψηλά ποσοστά ΣΑ χωρίς σημαντική επιπρόσθετη τοξικότητα σε ασθενείς με NHL<sup>192</sup>. Ενδιαφέροντα αποτελέσματα ανακοινώθηκαν από τον συνδυασμό bendamustine+mitoxantrone+rituximab, σε ήδη πολυχημειοθεραπευμένους ασθενείς. Ο συνδυασμός προκάλεσε ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 95% & 35% αντιστοίχως & υποδεικνύει τον ευρύτερο έλεγχο του ρόλου της bendamustine σε χαμηλής κακοήθειας NHL<sup>193</sup>.

Σε ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL, πολύ ενθαρρυντικά είναι τα πρώτα θεραπευτικά αποτελέσματα από τον συνδυασμό rituximab + fludarabine, cyclophosphamide + mitoxantrone, τα οποία φαίνονται ανώτερα όλων των αντιστοιχών, από τις μέχρι σήμερα δημοσιευμένες σχετικές μελέτες<sup>33</sup>. Σε ευρωπαϊκή μελέτη συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα του συνδυασμού FCM (fludarabine, cyclophosphamide, mitoxandrone) & Rituximab έναντι μόνον FCM ως θεραπείας 1ης γραμμής σε οζώδη & NHL από κύτταρα του μανδύα. Εκ των 43 ασθενών με οζώδη NHL η ομάδα η οποία έλαβε R FCM παρουσίασε ΣΑ & ΠΥ σε ποσοστά 95% & 36% έναντι 68% και 15% αντιστοίχως (P<0.05) της ομάδας του FCM<sup>18</sup>.

### Χορήγηση rituximab μετά την χημειοθεραπεία

Η Rituximab έχει χορηγηθεί μετά από ΧΘΠ ή στα πλαίσια θεραπείας συντηρήσεως σε ασθενείς ήδη ανταποκριθέντες στην ΧΘΠ. Αποτελέσματα σχετικών μελετών συνοψίζονται στον Πίνακα 12.

Σε μία απ' αυτές τις μελέτες μετά από χορήγηση CHOP το ποσοστό ΣΑ ήταν 72% & οι ΠΥ αυξήθηκαν κατά 19% μετά θεραπεία με Rituximab<sup>194</sup>. Άλλη μελέτη κατέληξε σε ποσοστά ΣΑ 95% σε ασθενείς οι οποίοι έλαβαν Rituximab μετά από θεραπεία με FMD<sup>195</sup>. Σε Ιταλική μελέτη 159 μη

προθεραπευμένοι ασθενείς κατανεμήθηκαν τυχαία μεταξύ FM & CHOP. Όσοι ανταποκρίθηκαν στην ΧΘΠ έλαβαν κατόπιν 4 εβδομαδιαίες δόσεις Rituximab. Προκαταρκτικά αποτελέσματα επί 93 ατόμων έδειξαν ΣΑ σε ποσοστά 93% & 94% & ΠΥ 68% & 37% (p=0.003) αντιστοίχως μετά ΧΘΠ με FM ή CHOP. Μετά την προσθήκη Rituximab οι ΠΥ ανήλθαν στο 87% & 76% για τις ομάδες του FM & CHOP αντιστοίχως<sup>196</sup>.

Σε άλλη μελέτη σε 33 μη προθεραπευμένοι ασθενείς με οζώδη NHL πήραν 4-6 κύκλους fludarabine+cyclophosphamide. Οι ανταποκριθέντες έλαβαν Rituximab X 4 εβδομάδες. Τα ποσοστά ΠΥ ανέρχονταν σε 85% & η πιθανότητα 2ετούς ENE ήταν 63%<sup>197</sup>. Προκαταρκτικά αποτελέσματα άλλης μελέτης φάσεως II, σε 31 ασθενείς με χαμηλής κακοήθειας NHL οι οποίοι έλαβαν 4-6 κύκλους fludarabine + mitoxandrone & επί ανταποκρίσεως Rituximab, έδωσαν ποσοστό ΣΑ 97% (ΠΥ 45%). Το 50% όσων εμφάνισαν ΠΥ, την διατηρούσαν 2+ χρόνια μετά τη θεραπεία. Στο M.D. Anderson Cancer Center, Houston συγκρίθηκαν οι συνδυασμοί FMD + Rituximab (επί 6μηνο) & FMD ως θεραπεία 1ης γραμμής σε 134 ασθενών με NHL χαμηλής κακοήθειας. Μετά τους 6 πρώτους μήνες η ανταπόκριση σε μοριακό επίπεδο ήταν υψηλότερη για την ομάδα R-FMD έναντι της μόνον FMD, εντούτοις τα ποσοστά εξισώθηκαν 12 μήνες μετά την θεραπεία<sup>198</sup>.

Μολονότι αρκετές μελέτες αναδεικνύουν τον θετικό ρόλο θεραπείας συντηρήσεως με Rituximab υπάρχουν & αντίθετες θέσεις οι οποίες καταλήγουν υπέρ της ταυτόχρονης χορηγήσεως ΧΘΠ + Rituximab με βάση την: 1) in vitro συνεργεία ΧΘΠ + Rituximab & την μείωση της αντιστάσεως στην ΧΘΠ, 2) αύξηση της ΣΑ στον συνδυασμό ΧΘΠ + Rituximab, 3) μη σημαντική αύξηση της τοξικότητας κατά την χορήγηση του συνδυασμού<sup>18</sup>.

Συνδυασμός ανοσοτροποποιητών+Rituximab σε

**Πίνακας 12.** Μελέτες κατά τις οποίες χορηγήθηκε rituximab μετά από επίτευξη ανταποκρίσεως με ΧΘΠ

Συγγραφέας	AAA	Δ.Η (έτη)	ΧΘΠ	ΣΑ (%)	ΠΥ (%)	ΔΔΕΠΝ (μήνες)
Maloney	84	53	CHOP	72	54	>24
Cohen	33	48	FC	89	85	>17
Zinzani	47	—	FM*	94	26	—
Vitolo	36	66	FMD	95	48	—
Gregory	31	—	FM	97	45	—

\* = Η Rituximab χορηγήθηκε μόνο σε ασθενείς οι οποίοι ανταποκρίθηκαν & ήταν ακόμη θετικοί για Bcl-2 στην PCR.

Από Dillman R.O. Treatment of Low-Grade B-Cell Lymphoma with the Monoclonal Antibody Rituximab. Sem Onc 2003,. 30: 434-447.

ανθεκτικά/ υποτροπιάζοντα NHL χαμηλής κακοήθειας, έδωσε ενδιαφέροντα αποτελέσματα<sup>145</sup>. Η IL-2 αποτελεί ενισχυτή της αντισωματο-εξαρτώμενης κυτταροτοξικότητας (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity[ADCC]) η οποία πρόσφατα μελετήθηκε σε σχέση με την Rituximab, σε ασθενείς με υποτροπιάζοντα ή ανθεκτικά NHL<sup>199</sup>. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της μελέτης αναδεικνύουν ΣΑ 55% (ΠΥ, 5%). Η IL-12 ευοδώνει τις κυτταρολυτικές ιδιότητες των T- & NK- λεμφοκυττάρων & διεγείρει την έκκριση της IFN-γ από τα κύτταρα αυτά<sup>145</sup>. Σε μελέτη φάσεως I, 43 ατόμων με NHL από B-κύτταρα, ο συνδυασμός IL-2 + Rituximab έδωσε ΣΑ 69% με 26%, ΠΥ<sup>200</sup>. Ο συνδυασμός Rituximab με GM-CSF εξετάστηκε σε πρόσφατες μελέτες<sup>201,202</sup> με ανθεκτικό/υποτροπιάζον χαμηλής κακοήθειας NHL & έδωσε ΣΑ 60-83% (ΠΥ 40-42%). Άλλα ανοσοτροποποιητικά (immunoadjuvants) τα οποία σε συνδυασμό με Rituximab βρίσκονται υπό μελέτη, είναι το Favid, μία ογκοεκλεκτική B-κυτταρική ιδιοτυπική ανοσοσφαιρίνη συνδεδεμένη με KLH, η οποία χρησιμοποιείται για την επαγωγή ενεργητικής ανοσίας στα χαμηλής κακοήθειας NHL, η θαλιδομίδη & το ανάλογο της revimid<sup>203,204</sup>.

Τέλος, οι συνδυασμοί της Rituximab με άλλα μονοκλωνικά αντισώματα, όπως η arolizumab (Hu1D10), ανθρώπινο IgG1 αντίσωμα εναντίον της HLA-DRα αλύσου του CD10 αντιγόνου, το οποίο εκφράζεται στην πλειοψηφία των λεμφωμάτων από B- κύτταρα, φαίνονται πολλά υποσχόμενοι<sup>205</sup>.

## Εναλλακτικές θεραπευτικές προσεγγίσεις

Εμβολιασμός έναντι κακοήθων λεμφωματικών κυττάρων αποτελεί υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση. Η πρώτη σχετική, δημοσιευθείσα μελέτη περιέγραψε τα αποτελέσματα από την χορήγηση εμβολίου με ιδιοτυπική πρωτεΐνη σε 11 ασθενείς με υπολειμματικά BCL-2+, κύτταρα στην διάρκεια της πρώτης κλινικής υφέσεως. Με την μέθοδο επιτεύχθηκε η εξαφάνιση όλων των BCL-2+, κυττάρων από το αίμα σε 8 από τους ασθενείς<sup>206</sup>. Antisense ολιγονουκλεοτίδια με ικανότητα εκλεκτικής δεσμεύσεως γονιδίων σχετιζόμενων με την νόσο, με απώτερη συνέπεια την δέσμευση συνδεδεμένων με την νόσο, πρωτεϊνών έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται. Με την χορήγηση ειδικών ολιγονουκλεοτιδίων στρεφομένων ειδικά κατά του αρχικού κωδωνίου του BCL-2 γονιδίου, επιτυγχάνεται η επαγωγή της αποπτώσεως των BCL-2 κυττάρων & η μείωση της BCL-2 πρωτεΐνης σε κυτταρικές σειρές οζωδών NHL, οι οποίες υπερεκφράζουν BCL-2<sup>207,208</sup>.

Επίσης, βάσει προαναφερθείσας μελέτης σχετικής με τον πολυμορφισμό των FcγRs των φυσικών φονικών & μακροφάγων κυττάρων & την ανοσία μέσω κυτταροτοξικότητας εκ του αντισώματος στην δραστικότητα της rituximab<sup>125</sup>, είναι πιθανή η ενίσχυση της θεραπευτικής δράσης της & πιθανώς άλλων MoAbs με την γενετική κατασκευή του Fc τμήματος του αντισώματος ώστε να αυξηθεί η σύνδεσή του με τους αντίστοιχους υποδοχείς (κάτι ανάλογο του anti-HER2/new- Trastuzumab)<sup>209</sup>.

## ABSTRACT

### M. VASLAMATZIS, CH. VADALA, P. STASSINOPOULOU: Evolution of the treatment of Low-Grade B-Cell Lymphoma

Indolent non Hodgkin's lymphomas have a relapsing and remitting clinical course and usually remain incurable with conventional chemotherapy and radiotherapy. As there are not standard therapies offering cure in a substantial proportion of patients with NHL, novel regimens are being explored. Here the current therapeutic approaches to indolent NHL are revised. Special consideration is set upon novel therapeutic regimens with the use of monoclonal antibodies, as they seem to be efficient and associated with less side effects than the conventional therapy. The vast majority of B cell NHL expresses lineage restricted specific cell surface antigens. Monoclonal antibodies directed against these antigens are recently available. These antibodies have shown promising clinical activity both as single agents and in combination with: other antibodies, conventional chemotherapy and autologous stem cell transplantation. Many trials suggest that combination therapies are generally safe and might give superior clinical results. Clinical studies are being carried out now, to further define the optional treatment strategies with the use of these new agents. **Forum of Clinical Oncology 4 (1-2):117-153, 2005.**

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Gutierrez M, Wilson WH, Non Hodgkin's Lymphoma In Bethesda Handbook of Clinical Oncology, Eds Abraham J, Allegra CJ, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2001, pp 319-331.
2. Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 2001, 84: 1361-1392.
3. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. *J Clin Oncol* 1998, 16: 2780-2795.
4. Coiffier B. Follicular lymphomas. In Annual of lymphoid malignancies. Ed Cavalli Fr, Armitage JO, Longo DL. Martin Dunitz, London 2001, p 44-60.
5. Nathwani BN, Harris NL, Weisenberger DD, Isaacson PG, Piris MA, Berger F, Luller-Hermelink HK, Swerdlow SH, Follicular Lymphoma. In World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics Of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, IARC Press, Lyon, 2001, pp 162-167.
6. Martin AR, Weisenberger DD, Chan WC et al. Prognostic value of cellular proliferation and histologic grade in follicular lymphoma, *Blood* 1995, 85: 3671-3678.
7. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. In GLOBOCAN 2000- Cancer Incidence, Mortality and Prevalence WORLDWIDE, Version 1.0, Lyon 2001, IARC Press.
8. Jemal A, Murray T, Samuels A, et al. Cancer statistics, 2003. *CA Cancer J Clin* 2003, 53: 5-26.
9. Cartwright R, Brincker H, Carli PM, et al. The rise in incidence of lymphomas in Europe. 1985-1992. *Eur J Cancer* 1999, 35: 627-633.
10. Federico M, Vitolo U, Zinzani PL, et al. Prognosis of follicular lymphoma: A predictive model based on a retrospective analysis of 987 cases. *Blood* 2000, 95: 783-789.
11. Haas RLM, Poortmans Ph, de Jong D, et al. High response rates and lasting remissions after low-dose involved field radiotherapy in indolent lymphomas. *J Clin Oncol* 2003, 21: 2474-2480.
12. Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, Edwards BK. In SEER Cancer Statistic Review, 1973-1998, MD: National Cancer Institute, Bethesda 2001.
13. Newlell GR, Cabanillas FG, Hagemeister FJ et al. Incidence of lymphoma in the US classified by the working formulation. *Cancer* 1987, 59: 857-861.
14. Miller TP, Leblanc M, Grogan TM et al. Follicular lymphomas: do histologic subtypes predict outcome. *Heamatol Oncol Clin N Am* 1997, 11: 893-900.
15. Rodriguez J, Mc Laughlin P, Hagemeister FB et al. Follicular large cell lymphoma: an aggressive lymphoma that often presents with favourable prognostic features. *Blood* 1999, 93: 2202-2207.
16. Peterson BA, Petroni GR, Frizzera G. Prolonged single-agent versus combination chemotherapy in indolent follicular lymphomas: a study of the cancer and leukemia Group B. *J Clin Onc* 2003, 21: 5-15.
17. Leonard JP, Coleman M, Ketas JC, et al. Phase I/II trial of Epratuzumab (humanized anti-CD22 antibody) in indolent non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Onc* 2003, 21: 3051-3059.
18. Dillman RO. Treatment of Low-Grade B-Cell Lymphoma with the monoclonal antibody Rituximab. *Sem Onc* 2003, 30: 434-447.
19. Gupta RK, Lister TA. Current management of follicular lymphoma. *Curr Opin Oncol* 1996, 8: 360-365.
20. Hagenbeek A, Carde P, Meerwaldt JH, et al. Maintenance of remission with human recombinant interferon alpha-2a in patients with stages III and IV low-grade malignant non-Hodgkin's lymphoma: European Organization for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1998, 16: 41-47.
21. Hainsworth JD. First-line and maintenance treatment with Rituximab for patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Sem Oncol* 2003, 30: 9-15.
22. Bordeleau L and Berinstein ML. Molecular diagnostics in follicular non-Hodgkin's lymphoma: A review. *Semin Oncol* 2000, 27(6 Suppl 12): 42-52.
23. Akasaka T, Lossos IS, Levy R. BCL6 gene translocation in follicular lymphoma: a harbinger of eventual transformation to diffuse aggressive lymphoma. *Blood* 2003, 102: 1443:1448.
24. Johnson PW, Swinbank K, MacLennan S, et al. Variability of polymerase chain reaction detection of the bcl-2-IgH translocation in an international multicentre study. *Ann Oncol* 1999, 10: 1349-1354.
25. Sapunar F, Catovsky D, Wotherspoon A and Matutes E. Follicular lymphoma. A series of 11 patients with minimal or no treatment and long survival. *Leuk Lymphoma* 2000, 37(1-2): 163-167.
26. Bechter OE, Eisterer W, Dirnhofner S, et al. Ex-

- pression of LFA-1 identifies different prognostic subgroups in patients with advanced follicle center lymphoma (FCL). *Leuk Res* 1999, 23: 483-488.
27. Tezcan H, Vose JM, Bast M, et al. Limited stage I and II follicular non-Hodgkin's lymphoma: The Nebraska Lymphoma Study Group experience. *Leuk Lymphoma* 1999, 34: 273-285.
  28. Wood LA, Coupland RW, North SA, et al. Outcome of advanced stage low grade follicular lymphomas in a population-based retrospective cohort. *Cancer* 1999, 85: 1361-1368.
  29. Johnson PW, Rohatiner A, Whelan JS, et al. Patterns of survival in patients with recurrent follicular lymphoma: a 20 year study from a single center. *J Clin Oncol* 1995, 13: 160-167.
  30. Perea G, Altes A, Montoto S, et al. International and Italian prognostic indices in follicular lymphoma. *Haematologica* 2003, 88: 700-704.
  31. Zelenetz AD. A clinical and scientific overview of tositumomab and iodine I 131 tositumomab. *Semin Oncol* 2003, 30(Suppl 4): 22-30.
  32. Summerfield GP, Taylor PRA, Mounter PJ and Proctor SJ. High dose chlorambucil for the treatment of chronic lymphocytic leukaemia and low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2002, 116: 781-786.
  33. Hiddemann W, Dreyling M and Unterhalt M, for the German Low Grade Lymphoma Study Group. Rituximab plus chemotherapy in follicular and mantle cell lymphomas. *Semin Oncol* 2003, 30(1 Suppl 2): 16-20.
  34. Lepage E, Sebban C, Gisselbrecht C, et al. Treatment of low grade non-Hodgkin's lymphomas: Assessment of doxorubicin in a controlled trial. *Hematol Oncol* 1990, 8: 31-39.
  35. Lichtman SM, Petroni G, Schilsky RL, et al. High dose cyclophosphamide plus recombinant human granulocyte-colony stimulating factor (rhG-CSF) in the treatment of follicular, low grade non-Hodgkin's lymphoma: CALGB 9150. *Leuk Lymphoma* 2001, 42: 1255-1264.
  36. Pan D, Qin Jing, Farber C, et al. CHOP with high dose cyclophosphamide consolidation versus CHOP alone as initial therapy for advanced stage, indolent non-Hodgkin's lymphomas. *Leuk Lymphoma* 2003, 44: 967-971.
  37. Haas RLM, Girinsky T. HOVON 47/EORTC 20013: chlorambucil vs 2x2 Gy involved field radiotherapy in stage III/IV previously untreated follicular lymphoma patients. *Ann Hematol* 2003, 82: 458-462.
  38. Cheson BD. Hematologic malignancies: New developments and future treatments. *Semin Oncol* 2002, 29(4 Suppl 13): 33-45.
  39. Voliotis D, and Diehl V. Challenges in treating hematologic malignancies. *Semin Oncol* 2002, 29(3 Suppl 8): 30-39.
  40. Trojan A, Meier R, Licht A, Taverna C. Eosinophilic pneumonia after administration of fludarabine for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* 2002, 81: 535-537.
  41. Coiffier B, Neidhardt-Berard EM, Tilly H, et al. Fludarabine alone compared to CHVP plus interferon in elderly patients with follicular lymphoma and adverse prognostic parameters: a GELA study. *Ann Oncol* 1999, 10: 1191-1197.
  42. Solal-Celigny P, Lepage E, Brousse N, et al. Recombinant interferon alpha-2b combined with a regimen containing doxorubicin in advanced follicular lymphoma. *N Engl J Med* 1993, 329: 1608-1614.
  43. Cole BF, Solal-Celigny P, Gelber RD, et al. Quality of life adjusted survival analysis of interferon alpha-2b treatment for advanced follicular lymphoma: An aid to clinical decision making. *J Clin Oncol* 1998, 16: 2339-2344.
  44. Tsimberidou AM, McLaughlin P, Younes A, et al. Fludarabine, mitoxantrone, dexamethasone (FND) compared with an alternating triple therapy (ATT) regimen in patients with stage IV indolent lymphoma. *Blood* 2002, 100: 4351-4357.
  45. McLaughlin P, Hagemeister FB, Romaguera JE, et al. Fludarabine, mitoxantrone and dexamethasone: an effective new regimen for indolent lymphoma. *J Clin Oncol* 1996, 14: 1262-1268.
  46. Emmanouilides C, Rosen P, Rasti S, et al. Treatment of indolent lymphoma with fludarabine / mitoxantrone combination: a phase II trial. *Hematol Oncol* 1998, 16: 107-116.
  47. Zinzani PL, Magagnoli M, Bendandi M, et al. Efficacy of fludarabine and mitoxantrone combination regimen in untreated indolent non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Oncol* 2000, 11: 363-365.
  48. Gregory SA, Vose J, Modiano M, et al. Mitoxantrone and fludarabine in the treatment of patients with non-Hodgkin's lymphoma failing primary therapy with doxorubicin or mitoxantrone containing regimen. *Leuk Lymphoma* 2001, 40(3-4): 315-324.
  49. Dimopoulos MA, Fountzilias G, Papageorgiou E, et al. Primary treatment of low-grade Non-Hodgkin's Lymphoma with the combination of fludarabine and mitoxantrone: A phase II study of the Hellenic Cooperative Oncology Group. *Leuk Lymphoma* 2002, 43: 111-114.
  50. Velasquez WS, Lew D, Grogan TM, et al. Combination of fludarabine and mitoxantrone in untreated stages III and IV low grade lymphoma: S

9501. *J Clin Oncol* 2003, 21<sup>10</sup>: 1996-2003.
51. Fridrik MA, Jager G, Kienzer HR, et al. Efficacy and toxicity of 2- chlorodeoxyadenosine (cladribine), 2h infusion for 5 days, as first-line treatment for advanced low grade non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Cancer* 1998, 34: 1560-1564.
  52. Laurencet FM, Zulian GB, Guetty-Alberto M, et al. Cladribine with cylophosphamide and prednisone in the management of low-grade lymphoproliferative malignancies. *Br J Cancer* 1999, 79: 1215-1219.
  53. Webster K, Cella D. Quality of life in patients with low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Oncology* 1998, 12: 697-714.
  54. Klasa RJ, Meyer RM, Shustik C, et al. Randomized phase III study of fludarabine phosphate versus cylophosphamide, vincristine, and prednisone in patients with recurrent low-grade non-Hodgkin's lymphoma previously treated with an alkylating agent or alkulator-containing regimen. *J Clin Oncol* 2002, 20: 4649-4654.
  55. Davis TA, Maloney DG, Czerwinski DK, et al. Anti-idiotype antibodies can induce long-term complete remissions in non-Hodgkin's lymphoma without eradicating the malignant clone. *Blood* 1998, 92: 1184-1190.
  56. Kamath SS, Marcus RB, Lynch JW, et al. The impact of radiotherapy dose and other treatment related and clinical factors on in-field control in stage I and II non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999, 44: 563-568.
  57. Kelsey SM, Newland AC, Hudson GV, et al. A British National Lymphoma Investigation randomised trial of single agent chlorambucil plus radiotherapy versus radiotherapy alone in low-grade, localised non-Hodgkin's lymphoma. *Med Oncol* 1994, 11: 19-25.
  58. MacManus MP, Seymour JF. Management of localized low-grade follicular lymphomas. *Australas Radiol* 2001, 45: 326-334.
  59. Wilder RB, Jones D, Tucker SL, et al. long-term results with radiotherapy for stage I-II follicular lymphomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001, 51: 1219-1227.
  60. Seymour JF, Pro B, Fuller LM, et al. Long-term follow-up of prospective study of combined modality therapy for stage I-II indolent non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2003, 21: 2115-2122.
  61. MacManus MP, Hoppe RT. Is radiotherapy curative for stage I and II low grade follicular lymphoma? *J Clin Oncol* 1996, 14: 1282-1290.
  62. Girinsky T, Guillot-Vals D, Koscielny S, et al. A high and sustained response rate in refractory or relapsing low-grade radiation: analysis of predictive parameters of response to treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001, 51: 148-155.
  63. Sawyer EJ, Timothy AR. Low-dose palliative radiotherapy in low-grade non Hodgkin's lymphoma. *Radiother Oncol* 1997, 42: 49-51.
  64. Johansson J, Specht L, Meijer J, et al. Phase II study of palliative low-grade local radiotherapy in disseminated indolent non-Hodgkin's lymphoma (INHL) and chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001, 51: 361-362.
  65. Finke J, Slanina J, Lange W, et al. Persistence of circulating t(14;18) positive cells in long-term remission after radiation therapy for localized-stage follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 1993, 11: 1668-1673.
  66. Ha CS, Cabanillas F, Lee MS, et al. Serial determination of the bcl-2 gene in the bone marrow and peripheral blood after central lymphatic irradiation for stages I-III follicular lymphoma: A preliminary report. *Clin Cancer Res* 1997, 3: 215-219.
  67. Jones L, Cotter FE, Lord D, et al. Phase 2 study of mitoxantrone in combination with chlorambucil and prednisolone for relapsed and refractory non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol Oncol* 1990, 8: 41-45.
  68. Al-Ismaïl SAD, Whittaker JA, Gough J. Combination chemotherapy including epirubicin for the management of non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987, 23: 1379-1384.
  69. Cabanillas F, Hagemester FB, Bodey GP, et al. IMVP-16: An effective regimen for patients who have relapsed after initial combination chemotherapy. *Blood* 1982, 60: 693-697.
  70. Silver RT, Case DC, Wheeler RH, et al. Multi-center clinical trial of mitoxantrone in non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1991, 9: 754-761.
  71. Dumontet C, Morschhauser F, Solal-Celigny P, et al. Gemcitabine as a single agent in the treatment of relapsed or refractory low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2001, 113: 772-778.
  72. Chau I, Harries M, Cunnigham D, et al. Gemcitabine, cisplatin and methprednisolone chemotherapy (GEM-P) is an effective regimen in patients with poor prognostic primary progressive or multiply relapsed Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2003; 120: 970-977.
  73. Crump M, Baetz T, Belch A et al. Gemcitabine, dexamethasone, cisplatin (GDP) chemotherapy for relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 2002, 13: 158a.

74. Emmanouilides C, Colovos C, Pinter-Brown L et al. A gemcitabine, cisplatin and dexamethasone combination in patients with multiple relapsed Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2002, 13: 159a.
75. Santoro A, Bredenfeld H, Devizzi L et al. Gemcitabine in the treatment of refractory Hodgkin's disease: results of a multicenter phase II study. *J Clin Oncol* 2000, 18: 2615-2619.
76. Dumontet C, Morschhauser F, Solal-Celigny P et al. Gemcitabine as a single agent in the treatment of relapsed or refractory low grade non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2001, 113: 772-778.
77. Linch DC, Winfield D, Goldstone AH et al. Dose intensification with autologous bone marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet* 1993, 341: 1051-1054.
78. Schmitz N, Pfistner B, Sextro M et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002, 359: 2065-2071.
79. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Eng J Med* 1995, 333: 1540-1545.
80. Germann N, Brienza S, Rotarski M et al. Preliminary results on the activity of oxaliplatin (L-OHP) in refractory/recurrent non-Hodgkin's lymphoma patients. *Ann Onc* 1999, 10: 351-354.
81. Chau I, Webb A, Cunningham D et al. An oxaliplatin-based chemotherapy in patients with relapsed or refractory intermediate and high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2001, 115: 786-792.
82. Leiby JM, Snider KM, Kraut EH, et al. Phase II trial of 9-b-D-arabinofuranosyl - 2 fluoroadenine - 5-monophosphate in non-Hodgkin's lymphoma: Prospective comparison of response with deoxycytidine kinase activity. *Cancer Res* 1987, 47: 2719-2722.
83. Hochster HS, Kim KM, Green MD, et al. Activity of fludarabine in previously treated in non-Hodgkin's low-grade lymphoma: Results of an Eastern Cooperative Oncology Study Group. *J Clin Oncol* 1992, 10: 28-32.
84. Redman JR, Cabanillas F, Velazquez WS, et al. Phase II trial of fludarabine phosphate in lymphoma: An effective new agent in low-grade lymphoma. *J Clin Oncol* 1992, 10: 790-794.
85. Zinzani PL, Lauria F, Rondelli D, et al. Fludarabine: An active agent in the treatment of previously-treated and untreated low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1993, 4: 575-578.
86. Hiddemann W, Unterhalt M, Pott C, et al. Fludarabine single-agent therapy for relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphomas: A phase II study of the German Low-grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group. *Semin Hematol* 1993, 7: 28-31.
87. Gillis S, Dann EJ, Cass Y, et al. Activity of fludarabine in refractory chronic lymphocytic leukemia and low-grade non-Hodgkin's lymphoma - the Jerusalem experience. *Leuk Lymphoma* 1994, 15: 173-175.
88. Alliot C. Fludarabine versus cyclophosphamide, vincristine, and prednisone in recurrent low grade lymphoma. *J Clin Oncol* 2003, 21: 2626 (letter).
89. Rummel MJ, Mitrou PS, and Hoelzer D. Bendamustine in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: Results and future perspectives. *Semin Oncol* 2002, 29(Suppl 13): 27-32.
90. Rummel MJ, Chow KU, Hoelzer D, et al. In vitro studies with bendamustine: Enhanced activity in combination with rituximab. *Semin Oncol* 2002, 29(Suppl 13): 12-14.
91. Mc Laughlin P, Hagemester FB, Swan F, et al. Phase I study of the combination fludarabine, mitoxantrone, and dexamethasone in low-grade lymphoma. *J Clin Oncol* 1994, 12: 575-579.
92. Lazzarino R, Orlandi E, Montillo M, et al. Fludarabine, cyclophosphamide and dexamethasone (FluCyD) combination is effective in pretreated low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1999, 10: 59-64.
93. Schouten HC, Kvaloy S, Sydes M et al. The CUP trial: A randomized study analyzing the efficacy of high-dose therapy and purging in low grade non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Ann Oncol* 2000, 11(Suppl 1): 91-94.
94. Freedman AS, Neuberg D, Mauch P, et al. Long-term follow-up of autologous bone marrow transplantation in patients with relapsed follicular lymphoma. *Blood* 1999, 94: 3325-3333.
95. Lopez R, Martino R, Sureda A, et al. Autologous stem cell transplantation in advanced follicular lymphoma. A single center experience. *Haematologica* 1999, 84: 350-355.
96. Friedberg JW, Neuberg D, Gribben JG, et al. Autologous bone marrow transplantation after histologic transformation of indolent B cell malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 1999, 5: 262-268.
97. Apostolidis J, Foran JM, Johnson PWM, et al. Patterns of outcome following recurrence after

- myeloablative therapy with autologous bone marrow transplantation for follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 1999, 17: 216-221.
98. Gisselbrecht C, Mounier N. Rituximab: enhancing outcome of autologous stem cell transplantation in non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Onc* 2003, 30: 28-33.
  99. Buckstein R, Imrie K, Spaner D, et al. Stem cell function and engraftment is not affected by "in vivo purging" with rituximab for autologous stem cell treatment for patients with low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 1999, 26: 115-122.
  100. Robak T, Gora-Tybor J, Urbanska-Rys H, et al. Combination regimen of 2-Chlorodeoxyadenosine (cladribine), mitoxantrone and dexamethasone (CMD) in the treatment of refractory and recurrent low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1999, 32: 359-363.
  101. Micalfé INM, Lillington DM, Apostolidis J, et al. Therapy related myelodysplasia and secondary acute myelogenous leukemia after high dose therapy with autologous hematopoietic progenitor-cell support for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol* 2000, 18: 947-955.
  102. Laszlo D, Galièni P, Raspadori D, et al. Fludarabine containing-regimens may adversely affect peripheral blood stem cell collection in low-grade non-Hodgkin lymphoma patients. *Leuk Lymphoma* 2000, 37(1-2): 157-161.
  103. Freedman AS, Gribben JG, Neuberg D, et al. High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation in patients with follicular lymphoma during first remission. *Blood* 1996, 88: 2780-2786.
  104. Verdonck LF. Allogeneic versus autologous bone marrow transplantation for refractory and recurrent low-grade non-Hodgkin's lymphoma: updated results of the Utrecht experience. *Leuk Lymphoma* 1999, 34: 129-136.
  105. Bierman PJ, Sweetnam J, Loberiza F, et al. Syngeneic hematopoietic stem-Cell transplantation for Non-Hodgkin's Lymphoma: A comparison with allogeneic and autologous transplantation- The Lymphoma Working Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry and the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol* 2003; 21<sup>20</sup>:3744-3753.
  106. Kiss TL, Spaner D, Daly AS, et al. Complete remission of tumour with interleukin 2 therapy in a patient with non-Hodgkin's lymphoma post allogeneic bone marrow transplant associated with polyclonal T-cell marrow lymphocytosis. *Br J Haematol* 2003, 120: 523-525.
  107. van Biesen K, Loberiza F, Bajorunaite R. et al. Comparison of autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for follicular lymphoma. *Blood* 2003; 102<sup>10</sup>: 3521-3529.
  108. Hosing C, Saliba RM, Mc Laughlin et al. Long-term results favor allogeneic over autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory or recurrent indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Onc* 2003, 14: 737-744.
  109. Peniket AJ, de Elvira MCR, Taghipour G, et al. An EBMT registry matched study of allogeneic stem cell transplants for lymphoma: allogeneic transplantation is associated with a lower relapse rate but a higher procedure-related mortality rate than autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003, 31: 667-678.
  110. Grigg A, Bardy P, Byron K, et al. Fludarabine based non myeloablative chemotherapy followed by infusion of HLA-identical stem cells for relapsed leukemia and lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 1999, 23: 107-110.
  111. Berdeja JG and Flinn IW. New approaches to blood and marrow transplantation for patients with low-grade lymphomas. *Curr Opin Oncol* 2001, 13: 335-339.
  112. Borrello I, Sotomayor EM, Rattis FM, et al. Sustaining the graft versus tumor effect through posttransplant immunization with granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)-producing tumor vaccines. *Blood* 2000, 95: 3011-3019.
  113. Press OW. Radioimmunotherapy for non-Hodgkin's Lymphomas. *Semin Oncol* 2003, 30(Suppl 4): 10-21.
  114. Grillo-Lopez AJ. Rituximab: An insider's historical perspective. *Semin Oncol* 2000, 27(Suppl 12): 9-16.
  115. Grillo-Lopez AJ, Hedrick E, Rashford M and Benyunes M. Rituximab: Ongoing and future clinical development. *Semin Oncol* 2002 29(1 Suppl 2): 105-112.
  116. Reff ME, Carner K, Chambers KS, et al. Depletion of B cell in vivo by a chimairic mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 1994, 83: 435-445.
  117. Johnson P, Glennie M. The mechanisms of action of Rituximab in the elimination of tumor cells. *Semin Oncol* 2003; 30(Suppl 2): 3-8.
  118. Shan B, Ledbetter JA, Press OW. Apoptosis of malignant human B cells by ligation of CD20 with monoclonal antibodies. *Blood* 1998, 91: 1644-1652.
  119. Mathas S, Rickers A, Bommert K et al. Anti-CD 20 and B-cell receptor-mediated apoptosis: Evi-

- dence for shared intracellular signaling pathways. *Cancer Res* 2000, 60: 7170-7176.
120. Byrd JC, Kitada S, Flinn IW et al. The mechanism of tumor cell clearance by rituximab in vivo in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: Evidence of caspase activation and apoptosis induction. *Blood* 2002, 99: 1038-1043.
  121. Foran JM, Gupta RK, Cunningham D, et al. A UK multicentre phase II study of rituximab (chimaeric anti-CD20 monoclonal antibody) in patients with follicular lymphoma, with PCR monitoring of molecular response. *Br J Haematol* 2000, 109: 81-88.
  122. Hainsworth JD, Burris HA III, Morrissey LH, et al. Rituximab monoclonal antibody as initial systemic therapy for patients with low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2000, 95: 3052-3056.
  123. Colombat P, Salles G, Brousse N, et al. Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) as single first-line therapy for patients with follicular lymphoma with a low tumor burden: Clinical and molecular evaluation. *Blood* 2001, 97: 101-106.
  124. Cartron G, Dacheux L, Salles G et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor Fc-gamma-R IIIa gene. *Blood* 2002, 99: 754-758.
  125. Weng W, Levy R. The immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to Rituximab in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3940-3947.
  126. Pedersen IM, Buhl AM, Klausen P, et al. The chimeric anti-CD20 antibody rituximab induces apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells through a p38 mitogen activated protein-kinase-dependent mechanism. *Blood* 2002, 99: 1314-1319.
  127. Maloney DG, Grillo-Lopez AJ, Bodkin DJ, et al. IDEC-C2B8: Results of a phase I multiple-dose trial in patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1997, 15: 3266-3274.
  128. Golay J, Zaffaroni L, Vaccari Th, et al. Biologic response of B lymphoma cells to anti-CD20 monoclonal antibody rituximab in vitro: CD55 and CD59 regulate complement-mediated cell lysis. *Blood* 2000, 95: 3900-3908.
  129. McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: Half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998, 16:2825-2833.
  130. Piro LD, White CA, Grillo-Lopez AJ, et al. Extended rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) therapy for relapsed or refractory low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1999, 10: 655-661.
  131. Hainsworth JD, Burris III HA, Yardley DA et al. Rituximab plus short duration chemotherapy as a first-line treatment for follicular non-Hodgkin's lymphoma (NHL): a Minnie Pearl Cancer Research Network phase II trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002, 21: 268a(abstract 1070).
  132. Avivi I, Robinson S, Goldstone A. Clinical use of rituximab in haematological malignancies. *Br J Cancer* 2003; 89: 1389- 1394.
  133. Byrd JC, Waselenko JK, Maneatis TJ, et al. Rituximab therapy in hematologic malignancy patients with circulating blood tumor cells: association with increased infusion-related side effects and rapid blood tumor clearance. *J Clin Oncol* 1999, 17: 791-795.
  134. Yang H, Rosove MH, Figlin RA. Tumor lysis syndrome occurring after the administration of rituximab in lymphoproliferative disorders: high-grade non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 1999, 62: 247-250.
  135. Winkler U, Jensen M, Manzke O, et al. Cytokine-release syndrome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia and high lymphocyte counts after treatment with an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab, IDEC-C2B8). *Blood* 1999, 94: 2217-2224.
  136. van der Kolk LE, Grillo-Lopez AJ, Baars JW, et al. Complement activation plays a key role in the side-effects of rituximab treatment. *Br J Haematol* 2001, 115: 807-811.
  137. Heizmann M, Itin P, Wenli M, et al. Successful treatment of PNP in follicular NHL with rituximab. *Am J Hematol* 2001, 66: 142-144.
  138. Davis TA, Grillo-Lopez AJ, White CA et al. Rituximab anti-CD20 monoclonal antibody therapy in non-Hodgkin's lymphoma: safety and efficacy of re-treatment. *J Clin Oncol* 2000, 18:3135-3143.
  139. Cabanillas F, McLaughlin P, Hagemester F et al. Molecular responses with FND+rituxan chemoimmunotherapy for stage IV indolent follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2000, 96(suppl 1): 331a (abstract 1429).
  140. Czuczman MS, Grillo-Lopez AJ, White CA et al. Progression-free survival(PFS) after six years (median) follow-up of the first clinical trial of rituximab/CHOP immunochemotherapy. *Blood* 2001b, 98: 601a (abstract 2519).
  141. Zinzani PL. A multi-center randomized trial of

- fludarabine and mitoxantrone (FM) plus rituximab versus CHOP plus rituximab as a first-line treatment in patients with follicular lymphoma (FL). *Blood* 2002, 100: 93a (abstract 344).
142. Rambaldi A, Iazzari M, Carlotti E et al. Monitoring of minimal residual disease after CHOP and rituximab in previously untreated patients with follicular lymphoma. *Blood* 2002, 99: 856-862.
  143. Foran JM, Rohatiner AZ, Cunningham D, et al. European phase II study of rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) for patients with newly diagnosed mantle-cell lymphoma and previously treated mantle-cell lymphoma, immunocytoma, and small B-cell lymphocytic lymphoma. *J Clin Oncol* 2000, 18: 3317-3324.
  144. Haidar JH, Shamseddine A, Salem Z, et al. Loss of CD20 expression in relapsed lymphomas after rituximab therapy. *Eur J Haematol* 2003, 70: 330-332.
  145. Cohen Y, Solal- Celigny P, Polliack A. Rituximab therapy for follicular lymphoma: a comprehensive review of its efficacy as primary treatment, treatment for relapsed disease, re- treatment and maintenance. *Haematologica* 2003; 88: 811-823.
  146. Ladetto M, Ricca I, Benedetti F, et al. Multi-center prospective randomized GITMO trial comparing high-dose sequential chemotherapy with autografting and CHOP both supplemented with rituximab as frontline therapy for high-risk follicular lymphoma(FL) patients: an interim analysis. *Blood* 2002, 100: 4769a.
  147. Brugger W, Hirsch J Repp R, et al. Treatment of follicular and mantle cell lymphoma with rituximab after high-dose chemotherapy and autologous blood stem cell transplantation: a multi-center phase II study. *Blood* 2002, 100: 2532a.
  148. Buckstein RJ, Mangel J, Imrie K et al. High-dose therapy/ ASCT consolidated with rituximab and or a interferon immunotherapy for relapsed follicular lymphoma prolongs PFS and achieves durable molecular transmissions. *Blood* 2002, 100: 2547a.
  149. Blum KA, Hidalgo J, Khoury H, et al. Delayed neutrophil and platelet engraftment following autologous transplantation in non-Hodgkin's lymphoma patients previously treated with rituximab. *Blood* 2002, 100:2531a (abstract).
  150. Hidalgo J, Blum KA, Adkins D, et al. Impact of pre-transplant rituximab on early post-transplant complications in NHL. *Blood* 2002, 100: 5313a(abstract).
  151. Buckstein RJ, Imrie K, Spaner D, et al. Stem cell function and engraftments is not affected by "in vivo purging" with rituximab for autologous stem cell treatment for patients with low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 1999, 26(suppl 14): 115-122.
  152. Villamor N, Montserrat E, Colomer D. Mechanisms of action and resistance to monoclonal antibody therapy. *Semin Oncol* 2003; 30<sup>4</sup>: 424-433.
  153. Nicolaou KC, Stabila P, Esmaeli-Azad B, et al. Cell-specific regulation of apoptosis by designed enediynes. *Proc Antl Acad Sci USA* 1993, 90:3142-3146.
  154. Amico D, Barbui AM, Erba E et al. Differential response of human acute myeloid leukemia cells to gemtuzumab-ozogamicin (Mylotarg) in vitro: Role of Chk1 and Chk2 phosphorylation and caspase 3. *Blood* 2003, 101:4589-4597.
  155. Jilani I, Estey E, Huh Y, et al. Differences in CD33 intensity between various myeloid neoplasms. *Am J Clin Pathol* 2002, 118:560-566.
  156. Linenberger ML, Hong T, Flowers D, et al. Multidrug-resistance phenotype and clinical responses to gemtuzumab-ozogamicin. *Blood* 2001, 98:988-994.
  157. Kaminski MS, Estes J, Zasadny KR, et al. Radioimmunotherapy with iodine 131 I tositumomab for chemotherapy-relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma: Updated results and long term follow-up of the University of Michigan experience. *Blood* 2000, 96: 1259-1266.
  158. Vose JM, Wahl RL, Saleh M, et al. Multicenter phase II study of iodine-131 tositumomab for chemotherapy relapsed/ refractory low-grade and transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2000, 18: 1316-1323.
  159. Zelenetz AD. A clinical and scientific overview of tositumomab and iodine I 131 tositumomab. *Semin Oncol* 2003, 30(Suppl 4): 22-30.
  160. Kaminski MS, Zelenetz AD, Press O, et al. Multicenter phase III study of iodine-131 tositumomab (anti-B1 antibody) for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1998, 92: 316a.
  161. Kaminski MS, Zelenetz AD, Press O, et al. Pivotal study of iodine I 131 tositumomab for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2001, 19: 3918-3928.
  162. Liu SY, Eary JF, Petersdorf SH, et al. Follow-up of relapsed B-cell lymphoma patients treated with iodine-131-labeled anti-CD20 antibody and autologous stem-cell rescue. *J Clin Oncol* 1998, 16: 3270-3278.
  163. Gopal AK, Gooley T, Maloney D, et al. High-dose radioimmunotherapy versus conventional

- high-dose therapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation for relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma: a multivariable cohort analysis. *Blood* 2003, 102<sup>7</sup>:2351-2357.
164. Press O.W., Unger JM, Brazier RM, et al. A phase 2 trial of CHOP chemotherapy followed by tositumomab/iodine I 131 tositumomab for previously untreated follicular non-Hodgkin lymphoma: Southwest Oncology Group protocol S9911. *Blood* 2003, 102: 1606-1612.
  165. Wiseman GA, White CA, Witzig TE, et al. Radioimmunotherapy of relapsed non-Hodgkin's lymphoma with zevalin, a 90Y- labeled anti-CD20 monoclonal antibody. *Clin Cancer Res* 1999, 5: 3281S-3282S.
  166. Witzig TE, White CA, Wiseman GA, et al. Phase I/II trial of IDEC-Y2B8 radioimmunotherapy for treatment of relapsed or refractory CD20+ B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1999, 17: 3793-3803.
  167. Witzig TE. The use of ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for patients with relapsed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 2000, 27(Suppl 12): 74-78.
  168. Witzig TE, Gordon LI, Cabanillas F, et al. Randomized controlled trial of yttrium-90-labeled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus rituximab immunotherapy for patients with relapsed or refractory low-grade, follicular, or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2002, 20: 2453-2463.
  169. Witzig TE, White CA, Gordon LI et al. Safety of Yttrium - 90 Ibritumomab Tiuxetan radioimmunotherapy for relapsed low-grade, follicular or transformed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Onc* 2003, 21: 1263-1270.
  170. Wiseman GA, Gordon LI, Multani PS, et al. Ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma and mild thrombocytopenia: a phase II multicenter trial. *Blood* 2002, 99: 4336-4342.
  171. Elsner J, Hochstetter R, Spiekermann K, et al. Surface and mRNA expression of the CD52 antigen by human eosinophils but not by neutrophils. *Blood* 1996, 88: 4684-4693.
  172. Rowan W, Tite J, Topley P, et al. Cross-linking of the CAMPATH-1H antigen (CD52) mediates growth inhibition of human B-and T-lymphoma cell lines, and subsequent emergence of CD52-deficient cells. *Immunology* 1998, 95: 427-436.
  173. Taylor ML, Noble PW, White B, et al. Extensive surface phenotype of alveolar macrophages in interstitial lung disease. *Clin Immunol* 2000, 94: 33-41.
  174. Ginaldi L, DeMartinis M, Matutes E, et al. Levels of expression of CD52 in normal and leukemic B and T cells: correlation with *in vivo* responses to CAMPATH-1H. *Leuk Research* 1998, 22: 185-191.
  175. Giles F, Vose J, Do K. et al. Circulating CD20 and CD52 in patients with non-Hodgkin's lymphoma or Hodgkin's disease. *Br J Haematol* 2003; 123: 850-857.
  176. Manshouri T, Giles F, O'Brien S, et al. Soluble CD52 is detectable in the plasma of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001, 98(Suppl1): 370a.
  177. Uppenkamp M, Engert A, Diehl V, et al. Monoclonal antibody therapy with CAMPATH-1H in patients with relapsed high and low grade non-Hodgkin's lymphoma: a multicenter phase I/II. *Ann Hematol* 2002, 81: 26-32.
  178. Carnahan J, Wang P, Kendall R, et al. Epratuzumab a humanized monoclonal antibody targeting CD22: characterization of *in vitro* properties. *Clin Can Res* 2003, 9: 3982S-3990S.
  179. Cesano A, Gayko U. CD22 as a target of passive immunotherapy. *Semin Oncol* 2003, 30: 253-257.
  180. Siegel AB, Goldenberg DM, Cesano A, et al. CD22-directed monoclonal antibody therapy for lymphoma. *Semin Oncol* 2003, 30: 457-464.
  181. Alas S, Bonavida B, Emmanouilides C. Potentiation of fludarabine cytotoxicity on non-Hodgkin's lymphoma by pentoxifylline and rituximab. *Anticancer Res* 2000, 20: 2961-2966.
  182. Boye J, Elter T, Engert A. An overview of the current clinical use of the anti-CD20 monoclonal antibody Rituximab. *Ann Onc* 2003, 14: 520-535.
  183. Demidem A, Lam T, Alas S, et al. Chimeric anti-CD20 (IDEC-C2B8) monoclonal antibody sensitizes a B cell lymphoma cell line to cell killing by cytotoxic drugs. *Canc Biother Radiopharm* 1997, 12:177-186.
  184. Alas S, Bonavida B, Emmanouilides C. Potentiation of fludarabine cytotoxicity on non-Hodgkin's lymphoma by pentoxifylline and rituximab. *Anticancer Res* 2000, 20: 2961-2966.
  185. Martinelli G, Laszlo D, Bertolini F, et al. Chlorambucil in combination with induction and maintenance Rituximab is feasible and active in indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2003, 123: 271-277.
  186. Czuczman MS, Fallon A, Mohr A, et al. Rituximab in combination with CHOP or fludarabine in low-grade lymphoma. *Semin Oncol* 2002, 29(Suppl 2): 36-40.
  187. Savage DG, Cohen NS, Hesdorffer CS, et al. Combine Fludarabine and Rituximab for low-

- grade lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymph* 2003, 44: 477-481.
188. Vose JM, Link BK, Grossbard ML, et al. Phase II study of rituximab in combination with CHOP chemotherapy in patients with previously untreated, aggressive non Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2001, 19: 389-397.
  189. Ghetie MA, Bright H, Vitetta ES. Homodimers but not monomers of Rituxan (chimeric anti-CD20) induce apoptosis in human B-lymphoma cells and synergize with a chemotherapeutic agent and an immunotoxin. *Blood* 2001, 97:1392-1398.
  190. Czuczman MS. CHOP plus rituximab chemoimmunotherapy of indolent B-cell lymphoma. *Semin Oncol* 1999, 26: 88-96.
  191. Czuczman MS, Grillo-Lopez AJ, White CA, et al. Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999, 17: 268-276.
  192. Economopoulos T, Fountzilias G, Pavlidis N, et al. Rituximab in combination with CNOP chemotherapy in patients with previously untreated indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Haematol J* 2003, 4: 110-115.
  193. Weide R, Heymanns J, Gores A, et al. Bendamustine, mitoxantrone and rituximab (BMR): A new effective treatment for refractory or relapsed indolent lymphomas. *Leuk Lymphoma* 2002, 43: 327-331.
  194. Maloney DG, Press OW, Braziel RM, et al; A phase II trial of CHOP followed by rituximab chimeric monoclonal anti-CD20 antibody for treatment of newly diagnosed follicular non-Hodgkin's lymphoma: SWOG 9800. *Blood* 2001, 98:843a (Suppl 1), abstr 3502.
  195. Vitolo U, Boccomini C, Ladetto M, et al. High clinical and molecular response rate in elderly patients with advanced stage follicular lymphoma treated at diagnosis with a brief chemo-immunotherapy FND<sup>+</sup> rituximab. *Blood* 2002, 100:93a (Suppl 1), abstr 1392.
  196. Zinzani PL. A multicenter randomized trial of fludarabine and mitoxandrone plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment in patients with follicular lymphoma. *Blood* 2002, 100: 93a (Suppl 1), abstr 344.
  197. Cohen A, Polliack A, Ben-Bassat I, et al. Results of a phase II study employing a combination of fludarabine, cyclophosphamide and rituximab as primary therapy for patients with advanced follicular lymphoma. *Blood* 2002, 100: 360a (Suppl 1) abstr 1393.
  198. Gregory SA, Venugopal P, Adler S, et al. Combined fludarabine, mitoxandrone and rituximab achieves a high response as initial treatment for advanced low grade non Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2002, 100: 362a (Suppl 1), abstr 1401.
  199. Friedberg JW, Neuberger D, Gribben JG, et al. Combination immunotherapy with rituximab and interleukin-2 in patients with relapsed or refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2002, 117: 828-834.
  200. Ansell SM, Witzig TE, Kurtin PJ, et al. Phase-1 study of interleukin-12 in combination with rituximab in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2002, 99: 67-74.
  201. McLaughlin P, Rodriguez MA, Reuben J, et al. Rituximab in combination with GM-CSF (leukine) for patients with recurrent indolent lymphoma. *Blood* 2001, 98:2536a(abstract).
  202. Rossi JF, Yang LJ, Quittet P, et al. Rituximab (Rab) and GM-CSF, an effective therapy for relapsed/refractory patients (pts) with low-grade B-cell lymphoma (L): correlation between response and dendritic cell (DC) subpopulation embolized. *Blood* 2001, 98: 2542a(abstract).
  203. Redfern C, Guthrie TH, Smith MR, et al. A phase II trial of Favid (Id-KLH) for relapsed indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2002, 99: 1383a(abstract).
  204. Hayashi T, Anderson KC, Treon SP. Rituximab induced antibody-dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) is enhanced by thalidomide and its analogue revimid. *Blood* 2002, 100: 4800a (abstract).
  205. Hedge U, White T, Stetler-Stevenson M, Marti G, et al. Phase I study of combination Rituximab (CD20) and Apolizumab (Hu1D10) monoclonal antibody therapy in previously treated B-cell lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002, 100: 1389a(abstract).
  206. Bendandi M, Gocke CD, Kobrin CB, et al. Complete molecular remissions induced by patient-specific vaccination plus granulocyte - monocyte colony stimulating factor against lymphoma. *Nature Med* 1999, 5: 1171-1177.
  207. Cotter FE. Antisense therapy of hematologic malignancies. *Semin Hematol* 1999, 36: 9-14.
  208. Kuss B, Cotter F. Antisense: time to shoot the messenger. *Ann Oncol* 1999, 10: 495-503.
  209. Shields RL, Namenuk AK, Hong K et al. High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc-gamma-RI, Fc-gamma-RII, Fc-gamma-RIII and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc-gamma-R. *J Biol Chem* 2001, 276: 6591-6604.

# Η μοριακή διάσταση του HER-2 και η εμπλοκή του στην αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού

Ε.Γ. Παπαδοπούλου, Κ. Αναγνωστόπουλος, Α.Χ. Κορτσάρης<sup>1</sup>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ενίσχυση και η υπερέκφραση του γονιδίου c-erbB-2/neu/HER-2 (Human Epidermal growth factor receptor-2) συνδέθηκε για πρώτη φορά το 1987 με την εξέλιξη της ασθένειας του καρκίνου του μαστού και συσχετίστηκε με κακή πρόγνωση και μειωμένη επιβίωση των ασθενών. Μεταλλάξεις του πρωτοογκογονιδίου c-erbB-2 ενοχοποιήθηκαν για καρκινογένεση και συσχετίστηκαν επίσης με την πρόγνωση του καρκίνου του μαστού. Απόρροια αυτών των δεδομένων ήταν να χρησιμοποιηθεί ο HER-2 ως στόχος για την ανάπτυξη καινούργιων αντικαρκινικών θεραπειών. Η αποκτηθείσα καλή γνώση της βιολογίας του μορίου του υποδοχέα, αλλά και των μηχανισμών άνοιγμα μέσω των οποίων το κύτταρο οδηγείται προς την αύξηση και τον πολλαπλασιασμό του, βοήθησαν την έρευνα για τον καρκίνο και συνέβαλαν στην ανάπτυξη εξειδικευμένων αποτελεσματικών θεραπειών. Σε αυτή τη βάση αναπτύχθηκαν διάφορα αντι-HER-2 θεραπευτικά μονοκλωνικά αντισώματα, όπως το εξανθρωποποιημένο anti-HER-2 mAb 4D5 μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab (Herceptin), το οποίο οδήγησε το θέμα της θεραπείας των νεοπλασιών σε νέα μονοπάτια. **Λέξεις ευρετηρίου:** Καρκίνος του μαστού, μοριακή βιολογία, μοριακή διάσταση, HER-2. **Βήμα Κλινικής Ογκολογίας 2005, 4 (1-2):154-161.**

## Εισαγωγή

Ο καρκίνος είναι μία από τις σοβαρότερες ασθένειες του ανθρώπου στη σύγχρονη εποχή. Αποτελεί τη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου μετά τις παθήσεις της καρδιάς. Σύμφωνα με στατιστικά στοιχεία των ΗΠΑ για το 2002, 31% των περιπτώσεων καρκίνου στις γυναίκες αντιστοιχεί σε καρκίνο του μαστού. Σημαντικά στοιχεία της βιολογικής ταυτότητας του καρκίνου μαστού αποτελούν η έκφραση των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων καθώς και της δαμεμβρανικής ογκοπρωτεΐνης HER2. Η HER2 υπερεκφράζεται στο

20–30 % των περιπτώσεων καρκίνου μαστού και υψηλά επίπεδα γονιδιακής ενίσχυσης και έκφρασης της αποτελούν αρνητικό προγνωστικό δείκτη εξέλιξης της νόσου<sup>1-5</sup>. Πιο ειδικά, η υπερέκφραση του HER2 σχετίζεται με επιθετική συμπεριφορά του όγκου, αλλά ακόμη και με μεταστατική δραστηριότητα<sup>6</sup>.

## Ο προγνωστικός ρόλος των επιπέδων του HER-2

Ο διαμεμβρανικός υποδοχέας HER2 είναι μία γλυκοπρωτεΐνη, προϊόν έκφρασης του γονιδίου c-erbB-2 ή αλλιώς, neu, το οποίο ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά σε νευροβλάστωμα ποντικών (rat neuroectodermal tumors)<sup>7</sup> και αργότερα εντοπίστηκε σε ανθρώπους. Ο πρωτεϊνικός αυτός υποδο-

1.Εργαστήριο Βιοχημείας, Ιατρικό Τμήμα, Δ.Π.Θ., Αλεξανδρούπολη, 68100.

Υπεύθυνος αλληλογραφίας: Α.Χ. Κορτσάρης, Τηλ.-Fax: 2551-0-39894. e-mail: akortsar@med.duth.gr

χέας έχει παρεμφερή δομή με την αντίστοιχη του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, όπως βρήκαν 4 χρόνια μετά οι Coussens L. et.al.<sup>8</sup>, και για το λόγο αυτό τον ονόμασαν HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2).

Ο υποδοχέας HER-2 παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίηση φυσιολογικών κυττάρων. Ωστόσο, ενίσχυση του γονιδίου HER-2/neu (gene amplification) οδηγεί στην παραγωγή πολλών αντιγράφων και αυξημένη μεταγραφή με αποτέλεσμα μεγάλη σύνθεση και υπερέκφραση του πρωτεϊνικού αυτού υποδοχέα HER2 πάνω στην κυτταροπλασματική μεμβράνη<sup>9</sup>, κάτι που έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη πολλών τύπων ανθρώπινων καρκινωμάτων, όπως του στήθους, των ωθηκών, non-small cell lung cancer, του παγκρέατος και του γαστρεντερικού συστήματος<sup>10,11</sup>.

Αρχικά κατά τους Slamon et al.<sup>12</sup>, η δραστηριοποίηση του γονιδίου σχετίστηκε με την επιβίωση ευρήματα τα οποία επιβεβαιώθηκαν από μεταγενέστερες μελέτες, όπως των Ross J.S., Fletcher J.A., 1998<sup>13</sup>. Η μελέτη των Slamon et al., έδειξε ότι το 28% των ασθενών με καρκίνο μαστού παρουσιάζουν ενίσχυση του γονιδίου από δύο έως και είκοσι φορές μεγαλύτερη του φυσιολογικού. Με πολυπαραγοντική ανάλυση βρέθηκε ότι η ενίσχυση του γονιδίου έχει ανεξάρτητη προγνωστική σημασία κατά συσχέτιση με το μέγεθος του όγκου, τα επίπεδα των ορμονικών υποδοχέων, καθώς και τον αριθμό των θετικών λεμφαδένων. Σε μεταγενέστερη μελέτη<sup>14</sup> επιβεβαιώθηκε η προγνωστική σημασία της ενίσχυσης του HER-2, αλλά δεν επιβεβαιώθηκε το ίδιο με ομάδα με αρνητικούς. Επιπλέον, εξετάστηκαν η υπερέκφραση του αντίστοιχου mRNA με Northern blot ανάλυση, καθώς και την έκφραση του υπερέκφρασμένου υποδοχέα HER-2 με Western blot ανάλυση και ανοσοϊστοχημεία (IHC). Η συσχέτιση που έγινε μεταξύ των παραπάνω αποτελεσμάτων και της ενίσχυσης του γονιδίου HER-2 αποδείχθηκε αληθής με συμφωνία στο 90% των δειγμάτων.

Όπως αναφέρει η Kaptain S.<sup>15</sup>, τουλάχιστον 52 δημοσιεύσεις, μετά τις παραπάνω πρώτες μελέτες, ασχολήθηκαν με την προγνωστική σπουδαιότητα της ενίσχυσης του HER-2 γονιδίου με τη βοήθεια διαφόρων μεθόδων, όπως Southern blot analysis, slot blot testing, polymerase chain reaction (PCR), fluorescence in situ hybridization (FISH), chromagenic in situ hybridization (CISH). Μελετήθηκε ακόμη η υπερέκφραση του υποδοχέα με Western blot analysis και ανοσοϊστοχημεία (immunohistochemistry -IHC) σε μονιμοποιημένους με χλωροφόρμιο και εγκιβωτισμένους σε

παραφίνη ιστούς, καθώς και ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays).

Σε πολλές περιπτώσεις ο καρκίνος του μαστού επιδεικνύει υψηλή ανθεκτικότητα στα κλασικά φάρμακα, οδηγώντας σε αποτυχία τη θεραπευτική αγωγή. Για παράδειγμα, όταν υπερεκφράζεται ο HER2, ο οργανισμός δεν ανταποκρίνεται σωστά στη θεραπεία με ταμοξιφαίνη (tamoxifen) [16] ή ακόμη, στην κυκλοφωσφαμίδη (CMF)<sup>17,18</sup>. Για το λόγο αυτό, τα επίπεδα του HER2 θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως προβλεπτικός δείκτης για την ανταπόκριση σε ορμονο- και χημειο-θεραπευτικά σχήματα σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Αντίθετα, υπερέκφραση του HER2 μπορεί να σχετισθεί με καλύτερη απάντηση στη χημειοθεραπεία βασισμένη στις ανθρακυκλίνες<sup>15</sup>.

Σήμερα μπορούμε να πούμε ότι τα επίπεδα του HER2 μπορούν να αποτελέσουν προγνωστικό δείκτη επιθετικότητας του καρκίνου και παράγοντα κακής πρόγνωσης. Επιπλέον, ερευνάται ο υποδοχέας αυτός ως στόχος για καινούργιες θεραπείες με μονοκλωνικά αντισώματα που κατευθύνονται εναντίον του HER2.

Τελευταίες μελέτες, εξάλλου, ασχολούνται με πολυμορφισμούς του γονιδίου c-erbB-2, δηλαδή σημειακές μεταλλάξεις, σε διάφορους πληθυσμούς γυναικών, διαφόρων εθνοτήτων, με την προοπτική ότι θα μπορούσαν να αποτελέσουν, ή όχι, παράγοντα κινδύνου προγνωστικό δείκτη ή ακόμη προβλεπτικό δείκτη ανταπόκρισης σε θεραπευτικά σχήματα<sup>19-27</sup>.

### **Ο υποδοχέας HER2 ως μέλος της οικογένειας των επιδερμικών αυξητικών παραγόντων - EGFR**

Στα θηλαστικά παρατηρήθηκαν τέσσερις υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, ο HER1 (EGF receptor), ο HER2, ο HER3 και ο HER4, οι οποίοι, επειδή εμφανίζουν εξαιρετική ομολογία μεταξύ τους, καταχωρήθηκαν από τους ερευνητές σε μία οικογένεια, HER receptor family, που χαρακτηρίζεται λειτουργικά από ενζυμική δραστηριότητα κινάσης της τυροσίνης. Οι HER υποδοχείς βρίσκονται στην πλασματική μεμβράνη των κυττάρων, σε διάφορα είδη ιστών. Περιέχουν μία αμινο-τελική εξωκυτταρική περιοχή (ECD—extracellular domain), με τμήματα πλούσια σε κυστεΐνες που μπορούν να γλυκοζυλιωθούν, και στα οποία προσδένονται ειδικά μόρια που ονομάζονται συνδέτες (ligands). Κεντρικά έχουν ένα λιπόφιλο διαμεμβρανικό τμήμα (TM- transmembrane), ελικοειδούς μορφής, και εσωτερικά μια καρβοξυτελική ενδο-

κυτταρική περιοχή με καταλυτική δράση κινάσης της τυροσίνης. Το ενδοκυττάριο τμήμα, αποτελεί σημείο πρόσδεσης πρωτεϊνών που συμμετέχουν στη μεταγωγή σημάτων. Οι κινάσες τυροσίνης είναι ένζυμα τα οποία μεταγούν τη γ-φωσφορική ομάδα του ATP σε μόρια-υποδοχείς του κυττάρου που περιέχουν υπολείμματα τυροσίνης δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο περιοχές πρόσδεσης για διάφορα άλλα ένζυμα και άλλες προσαρμογείς πρωτεΐνες με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών καταρρακτών. Τα μεταγόμενα σήματα έχουν ποικίλες επιδράσεις στο κύτταρο, όπως αυξημένο πολλαπλασιασμό, αποδιαφοροποίηση, παρεμπόδιση της απόπτωσης, προσκόλληση μορίων και αγγειογένεση<sup>28</sup>.

Ειδικότερα, ο υποδοχέας HER2 είναι μία διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από 1255 αμινοξέα (185 kD) και ονομάστηκε p185<sup>HER</sup>. Κωδικοποιείται από το αντίστοιχο γονίδιο c-erbB-2, το όνομα του οποίου προήλθε από τον ιό ερυθροβλάστωσης των πτηνών (v-erbB). Το γονίδιο είναι γνωστό και ως neu από το νευροβλάστωμα των rat ποντικών στο οποίο επίσης ανιχνεύθηκε. Πρόκειται λοιπόν για ένα πρωτο-ογκογονίδιο (γονίδιο με δυνητική ογκοεπαγωγική δράση), που χαρτογραφήθηκε στο χρωμόσωμα 17q21.

Όσον αφορά στην στερεοχημική διαμόρφωση του υποδοχέα HER2, οι Fleishman et.al.<sup>29</sup> βρήκαν, το 2002, ότι στο μόριο έχει ένα δομικό μοτίβο – GxxxG- που επαναλαμβάνεται στο C-τελικό άκρο του και το οποίο μεσολαβεί για το διμερισμό του μορίου, με αποτέλεσμα να δημιουργείται μία ελάχιστη εγκοπή στη διαμεμβρανική περιοχή, που εξυπηρετεί τη σταθερότητα του δεσίματος των ελίκων κατά το διμερισμό του μορίου (HER2-HER2). Υπάρχει, επίσης, ένα μοτίβο που επαναλαμβάνεται στο N-τελικό άκρο του και με τη διαμόρφωση αυτή το προκύπτουν διμερές, θεωρητικά, μεταβάλλεται μεταξύ δύο τύπων, χωρίς να χρειάζονται μεγάλες αλλαγές στη συνολική διαμόρφωση του.

Έτσι, πρότειναν το μοντέλο του “μοριακού διακόπτη” κατά το οποίο η δομή της διαμεμβρανικής περιοχής του πρωτεϊνικού υποδοχέα επιτρέπει σε ομοδιμερή του να υφίστανται σε μία από τις δύο καταστάσεις. Σύμφωνα με μοντέλο αυτό το δομικό μοτίβο που υπάρχει στο C-τελικό άκρο της διαμεμβρανικής περιοχής της πρωτεΐνης, είναι πιο σταθερό από το ομοδιμερές που προκύπτει με τη μεσολάβηση του δομικού μοτίβου που βρίσκεται στο N-τελικό άκρο. Η πιο σταθερή διαμόρφωση (με το C-τελικό άκρο) αντιστοιχεί στην ανενεργή κατάσταση του υποδοχέα, η οποία δεν διεγείρει τη δραστηριότητά του ως

πρωτεϊνική κινάση τυροσίνης. Σε φυσιολογικά επίπεδα έκφρασης της HER-2 τα μονομερή βρίσκονται σε ισορροπία με τα διμερή που βρίσκονται στην ανενεργή τους φάση. Η μετάθεση στην ενεργή κατάσταση του υποδοχέα προκαλείται από περιστροφή του μορίου (120°) και μετακίνηση προς διμερισμό που λαμβάνει χώρα δια μέσου του δομικού μοτίβου του N-τελικού άκρου. Με τον τρόπο αυτό προκαλείται επαναπροσανατολισμός των δύο καταλυτικών περιοχών του ομοδιμερούς με αποτέλεσμα την αυτοφωσφορυλίωσή του, αλλά και τη διέγερση της δραστηριότητας του υποδοχέα ως τυροσινυλο-κινάσης.

### Τα συνδέματα (ligands) του υποδοχέα HER-2

Σε φυσιολογικές συνθήκες οι υποδοχείς HER υφίστανται ως μονομερή μόρια. Μόλις όμως συνδεθούν με ένα συνδέτη, σχηματίζουν διμερή, είτε ομοδιμερή, του τύπου HER1-HER1, είτε ετεροδιμερή, του τύπου HER1-HER2<sup>35</sup>. Είναι φανερό ότι ο διμερισμός αυτός πραγματοποιείται για τη σταθεροποίηση του δημιουργούμενου συμπλόκου, υποδοχέα - Ισυνδέτη

Οι συνδέτες είναι μόρια που συνιστούν την οικογένεια των επιδερμικών αυξητικών παραγόντων (EGF-family) και έχουν κοινή την περιοχή 50-55 αμινοξέων αλλά και άλλες 6 περιοχές μορφοποιημένες με δισουλφιδικούς δεσμούς (πλούσιες σε κυστεΐνη).

Ο υποδοχέας HER1 διαδραματίζει πολλούς ρόλους και ενεργοποιείται από 6 συνδέτες: EGF, TGFα, Amphiregulin, Heparin-binding EGF-like growth factor, Betacellulin και Epiregulin. Οι υποδοχείς HER-3 (160 kD) και HER-4 (180 kD) συνδέονται με τους νευροαυξητικούς παράγοντες (neuregulins-NGFs) ή αλλιώς heregulins (HRGs), οι οποίοι συνιστούν μία οικογένεια δομικά διαφοροποιημένων πεπτιδίων. Η σηματοδότηση των NGFs κατευθύνεται από πρωτεϊνοκινάσες που ενεργοποιούνται από μιτογόνα<sup>30</sup>.

Ο HER2 ενεργοποιείται διαμέσου ετεροδιμερισμού του με τους άλλους υποδοχείς της HER οικογένειας, ενεργεί δηλαδή ως συνυποδοχέας τους. Έτσι, για παράδειγμα οι NGFs οδηγούν στο σχηματισμό των ετεροδιμερών HER2-HER3 ή HER2-HER4. Ωστόσο, φαίνεται να μην υπάρχει συνδέτης που να προωθεί το σχηματισμό του ομοδιμερούς HER2-HER2, κάτι που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι, μέχρι στιγμής, μάλλον δεν υπάρχει συνδέτης που να δέχεται στον υποδοχέα HER-2, τουλάχιστον, άμεσα. Αυτή τη θεωρία, εξάλλου, τη στηρίζει και μελέτη αυξητικών παραγόν-

ντων σε rox virus, όπου προκύπτει ότι δεν υπάρχει συνδέτης να συνδέεται απευθείας στον HER-2, αλλά συνδέονται με τον HER2 μόνον όταν συμμετέχει σε σχηματισμένα ετεροδιμερή. Μετά από αυτό μπορούμε να θεωρήσουμε τον HER2 – υποδοχέα ως “ορφανό από συνδέτες”<sup>31</sup>.

Αυτού του είδους τη συνεργασία του HER2 με άλλους υποδοχείς μπορεί κανείς να τη δει και στην περίπτωση της neuregulin-1 (NGF-1)<sup>32</sup>. Πρόκειται για ένα διμερές μόριο με δύο “πόλους” μέσω των οποίων δεσμεύεται με δύο υποδοχείς, αντίστοιχα. Έτσι, ο ένας “πόλος”, το N-τελικό άκρο, δεσμεύεται πρώτος με τον HER3 ή τον HER4 υποδοχέα, ενώ το C-τελικό άκρο, αφού ακινητοποιηθεί πρώτα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, δεσμεύεται σε έναν άλλο υποδοχέα, που συνήθως είναι ο HER2, οπότε πραγματοποιείται μετάδοση του σήματος για τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου.

Τα ετεροδιμερή μόρια-υποδοχείς μεταδίδουν καλύτερα τα σήματα από ό,τι τα ομοδιμερή μόρια και μάλιστα αυτά στα οποία συμμετέχει ο HER2 δεσμεύονται ισχυρότερα με τους αντίστοιχους συνδέτες, συγκρινόμενα, βεβαίως, με αυτά από τα οποία απουσιάζει ο HER2. Για παράδειγμα, η ενδοκυττάρωση ενός αυξητικού παράγοντα γίνεται γρηγορότερα με την παρουσία του HER1, αλλά δεν γίνεται χωρίς τη διαμεσολάβηση του HER-2<sup>33,34</sup>.

Ο πιο αποτελεσματικός συνδυασμός διμερούς είναι HER2-HER3. Αυτός ο συνδυασμός προάγει ευκολότερα τη μίτωση, ενώ ο HER3 αποτελεί τον προαγωγό συνοδό του υποδοχέα HER2 στα καρκινικά κύτταρα<sup>30,35</sup>. Ο HER-3 έχει μόνο μία περιοχή με ασθενή ενεργότητα κινάσης, ενώ τα ομοδιμερή HER3-HER3 είναι παντελώς ανενεργά<sup>33</sup>.

Συνοπτικά, η μετάδοση του σήματος από την οικογένεια των υποδοχέων HER ακολουθεί τα εξής στάδια: πρόσδεση συνδέτη (συνήθως αυξητικού παράγοντα – EGF), αναδιάταξη στο χώρο με σχηματισμό ομο- και ετερο- διμερών των υποδοχέων, με προτιμότερο συνήθως συνεργάτη τον HER-2, και τέλος μετάδοση του αντίστοιχου αυξητικού σήματος μέσω φωσφορυλίωσης του C-τελικού άκρου του υποδοχέα, μέσω της οποίας προάγεται μιτωτική διαίρεση και συνεπώς αύξηση του κυττάρου, διαφοροποίησή του ή ακόμη και μετανάστευσή του.

### **Θεραπευτικές στρατηγικές με τη βοήθεια μονοκλωνικών αντισωμάτων**

Αναφέρθηκε πιο πάνω, ότι ο υποδοχέας HER-2 ισχυροποιεί τα αυξητικά σήματα μέσω του ετε-

ροδιμερισμού του με τα υπόλοιπα μέλη της HER-οικογένειας. Επιπλέον, η υπερέκφραση του HER-2 προάγει το σχηματισμό και άλλων ετεροδιμερών με HER-2. Όταν όμως απουσιάζει ο HER-2 η σηματοδότηση είναι σχετικά ισχνή και δεν οδηγεί σε κακοήθεια, αλλά οδηγεί σε φυσιολογική αύξηση του κυττάρου.

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου το υπερεκφρασμένο γονίδιο HER-2/νευ οδηγεί σε νεοπλασία έχει συσχετισθεί με δύο τουλάχιστον παράγοντες<sup>15</sup>: (α) την ικανότητά του να προάγει ανθεκτικότητα των κυττάρων έναντι του TNF-α (Tumor Necrosis Factor), μία πρωτεΐνη που αποδεδειγμένα (τόσο in vitro, όσο και in vivo) παίζει σπουδαίο ρόλο ως κυτταροτοξικό στην “εξόντωση” των καρκινικών κυττάρων, κατά την επίθεση των μακροφάγων και των φυσικών φονικών κυττάρων (β) την ενεργοποίησή του από διάφορες οδούς μετάδοσης σήματος, με τελικό αποτέλεσμα την επαγωγή πολλαπλασιασμό του κυττάρου.

Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε ποντίκια όπου ενσωματώθηκαν ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα, στα οποία εκφραζόταν ο HER-2, διαπιστώθηκε ότι η αύξηση των όγκων ανεστάλη από μονοκλωνικά αντισώματα που κατευθύνονταν εναντίον του υποδοχέα HER-2<sup>36</sup>. Υπάρχουν διάφορες θεραπευτικές στρατηγικές που χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα (Mab) εναντίον καρκίνων του μαστού, όπου υπερεκφράζεται ο HER-2. Αντίστοιχα πειράματα απέδειξαν ότι ανάλογα με τον τύπο των αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται σε κάθε περίπτωση έχουμε και αντίδραση διαφορετική για την αύξηση των όγκων. Δηλαδή, κάποια αντισώματα παρεμπόδισαν σχεδόν τελείως την αύξηση του όγκου, ενώ άλλα ήταν μερικώς ανταγωνιστικά<sup>37</sup>. Σε άλλες περιπτώσεις ωστόσο, μετά από θεραπεία με κάποια μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του HER-2 παρουσιάστηκε μεγαλύτερη αύξηση του όγκου<sup>38</sup>, πράγμα που οδήγησε φυσικά στην αλλαγή στρατηγικής.

Όταν ξεκίνησε η έρευνα με τα μονοκλωνικά αντισώματα, στην αρχή αυτά προκάλεσαν την ανάπτυξη εξανθρωποποιημένων anti-mouse αντισωμάτων (HAMA). Μετά από αυτά τα πειράματα, το 4D5 μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού μετετράπη σε ανθρώπινου τύπου, οδηγώντας στο ανασυνδυασμένο ανθρώπινο αντι-HER2 μονοκλωνικό αντίσωμα, rhuMab-HER2, με φαρμακευτικό όνομα τραστουζουμάμπη (trastuzumab – Herceptin). Το αντίσωμα αυτό εισήχθη στην κλινική πρακτική, σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού και ήταν αποτελεσματικό στις φάσεις II και III των

κλινικών δοκιμών. Μαζί με τη δράση του ως μοναδικού παράγοντα, η τραστουζουμάμπη ενισχύει την αντικαρκινική δράση της πακλιταξέλης (paclitaxel) και της δοξορουμπικίνης (doxorubicin), καθώς και της σισπλατίνης (cisplatin).

Σε μία άλλη έρευνα όπου χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του υποδοχέα HER-2 διαπιστώθηκε ότι η αύξηση του όγκου ανεστάλη σε μεγαλύτερο βαθμό συγκριτικά με ένα ένα αντίσωμα, ίσως επειδή ο συνδυασμός τους οδηγεί πιο εύκολα σε απομάκρυνση του υποδοχέα με ενδοκυττάρωση και καταστροφή του<sup>39</sup>. Η ενδοκυττάρωση είναι ένας μηχανισμός επιλεκτικής πρόσληψης από τα ζωικά κύτταρα<sup>40</sup> στον οποίο ένα μακρομόριο προσδένεται σε έναν υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης και εισέρχεται στο κύτταρο ως κυστιδίο επικαλυμμένο με κλαθρίνη (πρωτεΐνη που αποτελείται από τρεις βαριές αλυσίδες των 180 kD και τρεις ελαφριές των 35 kD περίπου, η οποία σχηματίζει τρισδιάστατο πλέγμα γύρω από το επικαλυμμένο κυστιδίο).

### Ενδοκυττάρωση του υποδοχέα HER-2

Γενικά, οι υποδοχείς HER ανακυκλώνονται διαρκώς μετά από ενδοκυττάρωσή τους. Ο υποδοχέας οδηγείται προς την αποδόμησή του, αφού περάσει από το ενδόσωμα στο λυσόσωμα. Αυτό το μονοπάτι ανακύκλωσης / καταστροφής ρυθμίζεται από μία κυτταροπλασματική πρωτεΐνη - προσαρμογέα το c-Cbl, η οποία αποτελεί σημαντικό υπόστρωμα φωσφορυλίωσης της τυροσίνης των υποδοχέων HER και δημιουργεί σύμπλοκο με αυτούς<sup>41</sup>. Το μόριο αυτό (το όνομα του οποίου προέρχεται από τα αρχικά του νηματοσκώληκα *Caenorhabditis elegans*) είναι απαραίτητο για τη μετακίνηση του HER-1 από το ενδόσωμα στο λυσόσωμα, όπου και αποικοδομείται. Αντίθετα όμως από τον HER-1, ο οποίος συνδέεται ισχυρά με το c-Cbl, ο HER2 υποδοχέας δεσμεύεται ελαφρώς, ενώ οι HER-3 και HER-4 δεν συνδέονται καθόλου<sup>42</sup>.

Όσον αφορά στη δομή του c-Cbl, φαίνεται ότι περιέχει μία περιοχή σε σχήμα δακτυλίου που εξυπηρετεί την πρόσδεσή του με την ουβικουΐνη, η οποία προάγει την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών-υποδοχέων, όπως συμβαίνει και με τους υποδοχείς HER<sup>43</sup>. Η ουβικουΐνη είναι μία μικρή πρωτεΐνη (8.5 kD), παρούσα σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στο δίκτυο σηματοδότησης για την καταστροφή πρωτεϊνών. Συνήθως η προς αποικοδόμηση πρωτεΐνη προσλαμβάνει πολλά μόρια ουβικουΐνης. Αυτή

η "πολυουβικουΐνωση" την οδηγεί σε πρωτεοσωμική και λυσοσωμική αποδόμηση. Αυτή η οδός ακολουθείται από τον υποδοχέα HER-1, ενώ ο HER-3 ανακυκλώνεται συνεχώς επειδή δεν έχει ενεργό κέντρο κινάσης, αλλά ούτε και σημείο πρόσδεσης για το c-Cbl. Ούτε όμως και ο HER-4 φαίνεται να σχετίζεται με το c-Cbl<sup>44</sup>.

### Πολυμορφισμός του γονιδίου HER-2/neu

Σύμφωνα με διάφορες μελέτες, έχουν αναφερθεί διαφοροποιήσεις στο γονίδιο του HER-2/neu/c-erbB-2, σε ποσοστό πάνω από 20% των περιπτώσεων του καρκίνου του μαστού, αποδεικνύοντας ότι αυτό το γονίδιο παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτήν την νεοπλασία. Χαρακτηριστικά, μελετήθηκαν διαγονιδιακά ποντίκια που έφεραν, διαμεταλλάξεως, ενεργοποιημένο το γονίδιο HER-2, τα οποία με μεγάλη συχνότητα ανέπτυξαν αδενοκαρκινώματα του μαστού. Μετά από ανάλυση του ανθρωπίνου erbB2 - γονιδίου<sup>20</sup>, εντοπίστηκε τελικά η ύπαρξη σημειακού πολυμορφισμού (SNP) του κωδικονίου 655, που εκφράζεται στη διαμεμβρανική περιοχή του υποδοχέα, είτε σε ισολευκίνη (Ile: ATC), είτε σε βαλίνη (Val: GTC). Εξαιτίας του βασικού ρόλου του υποδοχέα HER-2 στον πολλαπλασιασμό του κυττάρου και ειδικά σημασίας της διαμεμβρανικής περιοχής στην λειτουργικότητά του, ο πολυμορφισμός αυτού του τύπου καθίσταται ουσιώδης, όσον αφορά στην καρκινογένεση, και δελεαστικός για περαιτέρω έρευνες. Έτσι, οι Xie et.al.<sup>19</sup> μελετώντας την περίπτωση αυτή σε μεγάλο αριθμό γυναικών με καρκίνο του μαστού, που ήταν θετικές στο c-erbB-2, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυτές που έφεραν το αλληλόμορφο Val<sup>655</sup> συσχετίστηκαν με αυξημένο παράγοντα κινδύνου (risk factor) καρκίνου του μαστού, και ειδικότερα αυτές μικρότερων ηλικιών (≤45), έναντι αυτών που έφεραν το αλληλόμορφο Ile<sup>655</sup>. Αντίθετα, άλλες μελέτες, υποστηρίζουν ότι ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός HER2<sup>V655</sup> δεν μπορεί να αποτελεί παράγοντα κινδύνου, τουλάχιστον για κάποιες πληθυσμιακές ομάδες<sup>21,22</sup>. Ειδικά για γυναίκες καυκάσιες και αφροαμερικανικής καταγωγής οι Keshava et.al.<sup>22</sup> υποστηρίζουν ότι ο πολυμορφισμός αυτός δεν αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού, ενώ οι Ameyaw et.al.<sup>23,24</sup> θεωρούν ότι η συχνότητα ύπαρξης του HER2<sup>V655</sup> σε αυτές τις φυλές είναι υψηλότερη με διαφορά στατιστικά σημαντική. Είναι φανερό ότι έρευνα θα πρέπει να συνεχισθεί σε ανεξάρτητες και αμιγείς ομάδες πληθυσμού γυναικών προκειμένου να καταλήξουμε σε ασφαλή συμπεράσματα, αναφορικά με τη

δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί ο πολυμορφισμός ως παράγοντας κινδύνου.

### Επίλογος

Το γονίδιο c-erbB-2 και ο πρωτεϊνικός υποδοχέας HER2 τον οποίο κωδικοποιεί, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις σηματοδοτικές οδούς που αφορούν στη φυσιολογική αύξηση και ανάπτυξη των κυττάρων. Τα άλλα τρία μέλη της οικογένειας των HER υποδοχέων συνδέονται με διάφορους συνδέτες για την ενεργοποίησή τους, ενώ ο HER-2 δεν έχει κανένα ειδικό συνδέτη και προτιμάται ως συνοδός διμερισμού των υποδοχέων κατά τη σύνδεσή τους με τους αυξητικούς παράγοντες.

Όταν ο HER-2 εκφράζεται φυσιολογικά, οι ligands, που δεσμεύονται σε αυτόν, σχηματίζουν μόνο μερικά HER-2 ομοδιμερή ή/και ετεροδιμερή, και οι απαντήσεις στους αυξητικούς παράγοντες είναι σχετικά ασθενείς, οδηγώντας σε φυσιολογική αύξηση των κυττάρων. Ωστόσο, όταν ο HER-2 υπερεκφράζεται, όπως γίνεται στα καρκινικά κύτταρα, πολλοί συνδέτες που κατευθύνονται πρωταρχικά στο στρώμα ή στα καρκινικά κύτταρα οδηγούν τους υποδοχείς σε ομοδιμερισμό ή ετεροδιμερισμό. Με αυτήν τη μορφή μένουν για περισσότερο χρόνο στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και η μεταγωγή των σημάτων τους είναι αυξημένη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μετάδοση σημάτων από το στρώμα στο επιθήλιο, με συνέπεια την ύπαρξη αυξημένης απόκρισης σε

αυξητικούς παράγοντες και προφανώς σε αύξηση της κακοήθειας.

Στα καρκινικά κύτταρα τα επίπεδα της πρωτεΐνης HER-2 μπορεί να είναι έως και 100 φορές υψηλότερα από ό,τι στα φυσιολογικά κύτταρα, γεγονός που σε σημαντικό βαθμό οφείλεται, βεβαίως, στην ενίσχυση του γονιδίου και τη αυξημένη μεταγραφή του<sup>45</sup>. Η ενίσχυση του γονιδίου, δηλαδή η παραγωγή πολλαπλών αντιγράφων, είναι επίσης ο πιο κοινός λόγος της υπερέκφρασης στους καρκίνους των ωοθηκών και του στομάχου<sup>10</sup>.

Δεδομένου ότι ο HER-2 υπερεκφράζεται σε καρκίνους του ανθρώπου, και μάλιστα σε καρκίνους με επιθετικό χαρακτήρα, φυσικό είναι να αποτελεί στόχο για τη θεραπευτική από τους επιστήμονες. Η θέση του στη μεμβράνη των κυττάρων, και όχι μέσα στα ίδια τα κύτταρα, το καθιστά εύκολο στόχο. Στις περιπτώσεις καρκίνου του μαστού, όπου υπερεκφράζεται ο HER-2, έχουν αναπτυχθεί διάφορες θεραπευτικές στρατηγικές, και άλλες είναι σε εξέλιξη. Στο σύνολό τους οι αντι-HER2 θεραπείες στοχεύουν στη μείωση της έκφρασης του αντίστοιχου γονιδίου, αλλά και την πρόκληση ανοσολογικής αντίδρασης κατά του υποδοχέα. Στην κλινική πράξη, γυμνά μοκλωνικά θεραπευτικά αντισώματα κατά του HER-2 υποδοχέα έχουν ήδη πάρει έγκριση εμπορικής κυκλοφορίας και έχουν περάσει σε φάση ευρείας κλινικής εφαρμογής, για την θεραπεία ασθενών με μεταστατικό καρκίνο μαστού που υπερεκφράζει στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων.

### ABSTRACT

E.G. PAPADOPOULOU K. ANAGNOSTOPOULOS, A.CH. KORTSARIS: **Molecular aspects of HER2 involvement in Breast Cancer**

In 1987, amplification of the c-erbB-2/neu/HER-2 (Human Epidermal growth factor receptor-2) gene was linked to disease progression in patients with breast cancer by Slamon and his research group. In addition, a HER-2-positive tumor status was reported to correlate with poor breast cancer prognosis, including reduced relapse-free and overall survival. The association between HER-2 and breast cancer progression resulted in HER-2 being used as a target for the development of new cancer treatments. The well knowledge of the receptor's basic biology and the mechanisms of signaling pathways to growth and proliferation of the cell, will help the investigation about the cancer to contribute to finding new target-specific therapies more effective. Against this background, several anti-HER-2 monoclonal antibodies (MAbs) were developed, like the recombinant human anti-HER-2 muMAb 4D5 – trastuzumab (Herceptin), which led the cancer status to new paths, increasing the success of the treatment of patients even with metastatic breast cancer. Moreover, alterations (single nucleotide polymorphism – SNP) of the HER-2/c-erbB-2/neu protooncogene have been implicated in the carcinogenesis and prognosis of breast cancer. **Key words:** Breast cancer, HER-2, Molecular Biology, Molecular Implication. Forum of Clinical Oncology. **Forum of Clinical Oncology 4 (1-2):154-161, 2005.**

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Cooke T, Reeves J, Lanigan A and Stanton P: HER2 as a prognostic and predictive marker for breast cancer. *Ann. Oncol.* 2001, 12: Suppl. 1:S23-8.
2. Valagussa P: HER2 status: a statistician's view. *Ann. Oncol.* 2001, 12: Suppl. 1:S29-34.
3. Lohrisch C, Piccart M: HER-2/neu as a predictive factor in breast cancer. *Clin. Breast Cancer* 2001, 2(2): 129-137.
4. Piccart M, Lohrisch C, Di Leo A and Larsimont D: The predictive value of HER2 in breast cancer. *Oncology*; 2001, 61: Suppl. 2: 73-82.
5. Dowsett M, Cooke T et.al.: Assessment of HER2 status in breast cancer: why, when and how?. *European Journal of Cancer* 2000, 36(2): 170-176.
6. Hynes NE: Amplification and overexpression of the erbB-2 gene in human tumors: its involvement in tumor development, significance as a prognostic factor and potential as a target for cancer therapy. *Semin. Cancer Biol.* 1993, 4: 19-26.
7. Shih C, Padly LC, Murray M, Weinberg RA: Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblasts. *Nature* 1981, 290: 261-264.
8. Coussens L, Yang-Feng TL et.al.: Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985, 230: 1132-9.
9. Hynes NE, Gerber HA et.al.: Overexpression of the c-erbB-2 protein in human breast tumor cell lines. *J. Cell. Biochem.* 1989, 39: 167-173.
10. Hynes NE & Stern DF: The biology of erbB-2/neu/HER-2 and its role in cancer. *Biochem. Biophys. Acta Rev. Cancer* 1994, 1198: 165-184.
11. Klapper LN, Kirschbaum MH, Sela M and Yarden Y: Biochemical and clinical implications of the ErbB/HER signaling network of growth factor receptors" in Klein G., Woude V. (editions): *Advances in Cancer Research*. New York: Academic Press. 2000
12. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG et.al.: Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987, 235: 177-82.
13. Ross JS, Fletcher JA: The HER-2/neu oncogene in breast cancer: Prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Stem Cells* 1998, 16: 413-428.
14. Slamon D, Godolphin W, Jones LA et.al.: Studies of the HER-2/neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989, 244: 707-712.
15. Kaptain S, Tan LK and Chen B: HER-2/neu and Breast Cancer. *Diagnostic Molecular Pathology* 2001, 10(3):139-152.
16. Carlomagno C, Perrone F, Gallo C, et.al.: c-erb B2 overexpression decreases the benefit of adjuvant tamoxifen in early-stage breast cancer without axillary lymph node metastases. *Journal of Clinical Oncology* 1996, 14:2702-2708
17. Gusterson BA, Gelber RD, Goldhrisch A et.al. Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. *J. Clin Oncol.* 1992, 10: 1049-1056.
18. Pegram M, Hsu S, Lewis G et.al. Inhibitory effects of combinations of HER-2/neu antibody and chemotherapeutic agents used for treatment of human breast cancers. *Oncogene* 1999, 18: 2241-51.
19. Xie D, Shu X, Deng Z, et.al.: Population-based, case-control study of HER-2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *J.Natl. Cancer Inst.* 2000, 92: 412-417.
20. Papewallis J, Nikitin A and Rajewsky M: G to A polymorphism at amino acid codon 655 of the human erbB-2/HER-2 gene. *Nucleic Acids Res* 1991, 19: 5452.
21. Baxter S, Campbell I: Re: Population-based, case-control study of HER-2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *J.Natl. Cancer Inst.* 2001, 93: 557.
22. Keshava C, McCanlies E, et.al.: Distribution of HER2<sup>V655</sup> genotypes in breast cancer cases and controls in the United States. *Cancer Letters* 2001, 173(1): 37-41.
23. Ameyaw M, Thornton N and McLeod H: Re: Population-based, case-control study of HER-2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *J.Natl. Cancer Inst.* 2000, 92: 1947.
24. Ameyaw M, Tayeb M, Thornton N et.al.: Ethnic variation in the HER-2 codon 655 genetic polymorphism previously associated with breast cancer. *J. Hum Genet* 2002, 47(4): 172-175.
25. Ehsani A, Low J, Wallace RB and Wu AM: Characterization of a new allele of the human ErbB-2 gene by allele-specific competition hybridization. *Genomics* 1993, 15(2): 426-9.
26. Meyers SL, O'Brien MT, Smith T and Dudley JP: Analysis of the int-1, int-2, c-myc and neu oncogenes in human breast carcinomas, *Cancer Res* 1990, 50(18): 5911-8.
27. Garcia I, Dietrich PY et.al.: Genetic alterations of c-myc, c-erbB-2 and c-Ha-ras protooncogenes and clinical associations in human breast carcinomas. *Cancer Res* 1989, 49(23): 6675-9.
28. Baselga J, Hammond LA: HER-Targeted Tyrosine-Kinase Inhibitors. *Oncology* 2002, 63(suppl 1):6-16.

29. Fleishman SJ Schlessinger J and Ben-Tal N: A putative molecular-activation switch in the transmembrane domain of erbB-2. *Proc Natl Acad Sci* 2002, 99(25): 15937-40.
30. Pinkas-Kramarski R, Shelly M, Guarino BC et.al.: ErbB tyrosine kinases and the two neuregulin families constitute a ligand-receptor network. *Mol. Cell Biol.* 1998, 18:6090-6101]
31. Klapper LN, Glathe S, Vaisman N et.al.: The erbB-2/HER2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared co-receptor for multiple stroma-derived growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4995-5000.
32. Karunagaren D, Thazar E, Beerli RR et.al.: ErbB-2 is a common auxilliary subunit of NDF and EGF receptors:: Implications for breast cancer. *EMBO J.* 1996, 15:254-264.
33. Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H et.al.: Diversification of Neu differentiation factor and epidermal growth factor signaling by combinatorial receptor interactions. *EMBO J.* 1996, 15: 2452-67.
34. Baulida J., Kraus M.H. Alimandi M. et.al.: All RrbB receptors other than the epidermal growth factor receptor are endocytosis impaired. *J. Biol. Chem.* 1996, 271: 5251-7.
35. Alroy I& Yarden Y: The ErbB signaling network in embryogenesis and oncogenesis: Signal diversification through combinatorial ligand-receptor interactions. *FEBS Lett* 1997, 410:83-86]
36. Drebin JA, Link VC, Stern DF et..al.: Down modulation of an oncogene protein product and reversion of the transformed phenotype by monoclonal antibodies. *Cell* 1985, 41:697-706.
37. Stancovski I, Hurwitz E, Leitner O et.al.: Mechanistic aspects of the opposing effects of monoclonal antibodies to the ErbB-2 receptor of tumor growth. *Proc.Natl.Acad.Sci.* 1991, 88:8691-5
38. Hurwitz E, Stancovski I, Sela M and Yarden Y: Suppression and promotion of tumor growth by monoclonal antibodies to ErbB-2 differentially correlate with cellular uptake. *Proc.Natl.Acad.Sci.* 1995, 92:3353-7.
39. Kasprzyk PG, Song SU, Di Fiore PP and King CR: Therapy of an animal model of human gastric cancer using a combination of anti-erbB-2 monoclonal antibodies. *Cancer Res.* 1992, 52: 2771-6.
40. Alberts B, Bray D et.al.: *Essential Cell Biology: An introduction to the molecular biology of the cell.* Garland Publishing, Inc.N.Y. & London
41. Thien CBF, Langdom W: c-Cbl: A regulator of T-cell receptor-mediated signaling, *Immunol. Cell Biol.* 1998, 76:473-482.
42. Levkowitz G, Klapper LN, Thazar E et.al.: Coupling of the c-Cbl protooncogene product to ErbB-1/EGF-receptor but not to other ErbB proteins, *Oncogene* 1996, 12:1117-25.
43. Levkowitz G, Waterman H, Ettenberg SA et.al.:Ubiquitin ligase activity and tyrosine phosphorylation underlie suppression of growth factor signaling by c-Cbl/Sli-1. *Mol. Cell* 1999, 4:1029-40.
44. Waterman H, Sabanai I, Geiger B and Yarden Y: Alternative intracellular routing of ErbB receptors may determine signaling potency. *Journal of Biological Chemistry* 1998, 273 (22): 13819-27
45. Venter DJ, Tuzi NL, Kumar S and Gullik WJ: Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein in human breast carcinomas: Immunohistological assessment correlates with gene amplification. *Lancet* 1987, ii: 69-72.

# Μελέτη της έκφρασης του παράγοντα VEGF σε διηθητικά και μη, καρκινώματα ουροδόχου κύστης

Μ. Χρ. Μιχαήλ<sup>1</sup>, Ε. Ιωακείμ<sup>1</sup>, Ν. Σταυρόπουλος<sup>2</sup>, Μ.Μ. Μιχαήλ<sup>4</sup>, Ε. Κίτσιου<sup>3</sup>, Δ. Καλογεράς<sup>2</sup>, Ι. Τσίμαρης<sup>2</sup>, Β. Μαλάμου-Μήτση<sup>1</sup>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), αποτελεί τον πλέον μελετημένο παράγοντα αγγειογένεσης σε νεοπλασματικούς ιστούς. Αρκετές μελέτες σε καρκινώματα ουροδόχου κύστης έχουν δείξει την εμπλοκή του στον μηχανισμό της αγγειογένεσης με πολύπλοκο τρόπο, αφού φαίνεται στα επιφανειακά καρκινώματα να λειτουργεί διαφορετικά από ό,τι στα διηθητικά. Το υλικό μας αποτέλεσαν 141 καρκινώματα ουροδόχου κύστης όπου έγινε μελέτη της έκφρασης του παράγοντα VEGF, των δεικτών πολλαπλασιασμού Ki-67 και PCNA, ενώ η ανάδειξη και καταμέτρηση των αγγείων (μικροαγγειακή πυκνότητα, microvessel density-MVD) έγινε με τη βοήθεια του ενδοθηλιακού δείκτη CD34. Η έκφραση του VEGF ήταν μεγαλύτερη σε καρκινώματα σταδίων pT1 και pT2-4 σε σχέση με καρκινώματα σταδίου pTa ( $p=0,042$  και  $p=0,044$  αντίστοιχα). Δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης του VEGF με τη μικροαγγειακή πυκνότητα, καθώς και με τις άλλες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους. Επίσης διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης αυτού με το δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA ( $p=0,002$ ). Από τα ευρήματα αυτά φαίνεται ότι η έκφραση του VEGF δεν αποτελεί αξιόπιστο δείκτη εξέλιξης και υποτροπής των καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης, ενώ συσχετίζεται με το στάδιο αυτών. Επίσης η μη συσχέτιση αυτού με την μικροαγγειακή πυκνότητα υποδηλώνει την μη, άμεση τουλάχιστον, εμπλοκή του στη διεργασία της αγγειογένεσης. Επιπλέον η έκφραση του VEGF φαίνεται να σχετίζεται με την αυξητική δραστηριότητα του νεοπλάσματος. **Key words:** αγγειογένεση, ουροδόχος κύστη, καρκίνωμα, VEGF, CD34. **Βήμα Κλινικής Ογκολογίας 2005, 4 (1-2):162-168.**

## Εισαγωγή

Ο πρώτος, και σημαντικότερος κατά πολλούς, αγγειογενετικός παράγοντας που έχει μελετηθεί,

όχι μόνο στο καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης αλλά και σε όλους τους νεοπλασματικούς ιστούς, είναι ο VEGF. Μετά το πείραμα του Chodak το

<sup>1</sup>Παθολογοανατομικό-Κυτταρολογικό Εργαστήριο Π.Γ.Ν.-Ιωαννίνων, <sup>2</sup>Ουρολογική Κλινική και <sup>3</sup>Παθολογοανατομικό Εργαστήριο Γ.Ν.-Ιωαννίνων "Χατζηκώστα" και <sup>4</sup>Μ.Ε.Θ., Νοσοκομείο Ερυθρός Σταυρός Αθήνα. Μιχαήλ Μιχαήλ του Χρίστου, Ειδικευόμενος Κυτταρολόγος Ιατρός. Ιωακείμ Έλλη, Αναπληρώτρια Διευθύντρια, Παθολογοανατόμος. Σταυρόπουλος Νικόλαος, Διευθυντής Ουρολογικής Κλινικής. Μιχαήλ Μιχαλάκης

του Μενελάου, Εξειδικευόμενος Μονάδας Εντατικής Θεραπείας. Κίτσιου Ευαγγελία, Επιμελήτρια Α' Παθολογοανατόμος. Καλογεράς Δημήτριος, Ειδικευόμενος Ουρολόγος. Τσίμαρης Ιωάννης, Ειδικευόμενος Ουρολογικός Ανατομικός. Υπεύθυνος Αλληλογραφίας. Μιχαήλ Χρίστου Μιχαήλ. Τηλ: 2651020716. Fax: 2651097893. e-mail: michaelcytology@yahoo.com

1981, στο οποίο παρατήρησε ότι τα ούρα ασθενών με καρκίνωμα ουροδόχου κύστης προκαλούσαν νεοαγγειογένεση στον κερατοειδή χιτώνα αρουραίων<sup>1</sup>, ο πρώτος παράγοντας που απομονώθηκε από τα ούρα αυτών των ασθενών, δεκατρία χρόνια αργότερα, ήταν ο VEGF<sup>2</sup>.

Ο παράγοντας αυτός προάγει τον πολλαπλασιασμό και μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων ενώ καταστέλλει την απόπτωση<sup>3</sup>. Ο VEGF έχει πέντε υπότυπους, 121, 145, 165, 189 και 206 αμινοξέων, οι οποίοι κωδικοποιούνται από το ίδιο γονίδιο<sup>4</sup>. Έχει βρεθεί σε διάφορες μοριακές μελέτες ότι ο υπότυπος 121 αποτελεί το 75% του συνόλου του VEGF που εκφράζεται στα καρκινώματα της ουροδόχου κύστης<sup>5,6</sup>.

Σε καρκινώματα μαστού η έκφραση του παράγοντα αυτού θρέθηκε να αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα<sup>7</sup> και συσχετίστηκε με την μικροαγγειακή πυκνότητα (MVD) του νεοπλάσματος<sup>8</sup>. Στα καρκινώματα αυτά η έκφραση του VEGF συσχετίστηκε με άλλους αγγειογενετικούς παράγοντες, όπως η Φωσφορυλάση της Θυμιδίνης (TP), και υψηλά επίπεδα των δύο αυτών παραγόντων συσχετίστηκαν με υποτροπή της νόσου<sup>9,10</sup>. Σε καρκινώματα παχέος εντέρου συσχετίστηκε τόσο με την πρόγνωση όσο και με τη μεταστατική εξέλιξη του νεοπλάσματος<sup>11</sup>. Σε καρκινώματα οισοφάγου συσχετίστηκε με την MVD, το στάδιο της νόσου, τη διήθηση αγγείων και την πρόγνωση της νόσου<sup>12</sup>. Τόσο σε μελέτες με καρκινώματα στομάχου όσο και παχέος εντέρου, η έκφραση του VEGF συσχετίστηκε με την MVD αλλά και με την πρόγνωση της νόσου<sup>12</sup>. Τα αποτελέσματα αυτά ενθαρρύνουν τους ερευνητές ότι η καταστολή

του παράγοντα αυτού ή γενικότερα του μηχανισμού δράσης αυτού ίσως αποτελέσει ένα σημαντικό χημειοθεραπευτικό φάρμακο, αφού όπως φαίνεται παίζει σημαντικό ρόλο στον μηχανισμό της αγγειογένεσης<sup>13</sup>.

Μελέτες σε καρκινώματα ουροδόχου κύστεως έδειξαν τη συσχέτιση του VEGF με την υποτροπή της νόσου, το στάδιο και την επιβίωση<sup>14,15</sup>, ενώ μόνο σε μια μελέτη το mRNA του VEGF συσχετίστηκε με την αγγειακή πυκνότητα<sup>5</sup>.

### Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της έκφρασης του αγγειογενετικού αυξητικού παράγοντα VEGF σε καρκινώματα ουροδόχου κύστης, η συσχέτιση αυτού με την αγγειακή πυκνότητα, την αυξητική δραστηριότητα του νεοπλάσματος καθώς επίσης και με γνωστές κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους (ηλικία, φύλο, βαθμός διαφοροποίησης, στάδιο νόσου, πολυεστιακότητα, υποτροπή και εξέλιξη του νεοπλάσματος σε διηθητικό καρκίνωμα).

### Υλικό και Μέθοδος

Δείγματα όγκου ελήφθησαν κατά τη διάρκεια διουρηθρικής επέμβασης από 141 ασθενείς, 27 γυναίκες και 114 άντρες, ηλικίας από 27 έως 89 ετών με μέσο όρο 66,8 έτη (Πίνακας 1). Η ιστολογική ταξινόμηση έγινε σε τομές παραφίνης με τη χρώση ρουτίνας Αιματοξυλίνης/Ηωσίνης. Ο βαθμός διαφοροποίησης των νεοπλασμάτων και το στάδιο εκτιμήθηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες της

**Πίνακας 1.** Κλινικές παράμετροι σε γυναίκες και άντρες.

Κλ. Παρ.   Φύλο	Γυναίκες		Άντρες
	27(19,1%)		114(80,9%)
Ηλικία	≤50 ετών		>51 ετών
33(23,4%)	108(76,6%)		
Grade	1	2	3
5(3, 5%)	75(53,2%)		61(43,3%)
Στάδιο	P <sub>a</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2-4</sub>
	71(50,4%)	55(39%)	5(10,6%)
Πολυεστιακότητα	Μονήρες		Πολυεστιακό
	74(52,5%)		65(46,1%)
In situ	Απουσία		Παρουσία
	121(85,8%)		20(14,2%)
Υποτροπή	Μη υποτροπή		Υποτροπή
	32(28,6%)		80(71,4%)
Εξέλιξη (διήθηση μυϊκού χιτώνα)	Όχι		Ναι
	104(92,9%)		8(7,1%)

Διεθνούς Ομάδας Κατά του Καρκίνου I.U.A.C.<sup>16</sup> Οι κλινικοπαθολογοανατομικές παράμετροι που εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 1. Από το σύνολο των περιστατικών που εξετάστηκαν, 8 εξελίχθηκαν σε διηθητικά καρκινώματα (διήθηση μυϊκού χιτώνα σε μεταγενέστερη βιοψία, σταδίου  $\geq$  pT2). Ασθενείς με επιφανειακά καρκινώματα παρακολούθηθηκαν κατά μέσο όρο 38,6 μήνες. Οι ασθενείς αυτοί κατατάχθηκαν σε 2 ομάδες: α) 28 ασθενείς, στους οποίους εφαρμόστηκε μόνο διουρηθρική εκτομή TURBT και β) 53 ασθενείς, στους οποίους μετά τη διουρηθρική εκτομή χορηγήθηκαν ενδοκυστικές εκχύσεις ιντερφερόνης- $\gamma$  (0,7 mg/ εβδομάδα για 8 εβδομάδες). Υπήρξε τακτική κλινική παρακολούθηση των ασθενών αυτών με κλινική εξέταση, βιοχημικό έλεγχο, ακτινογραφία θώρακα και κυστεοσκόπηση στους 3, 6, 9 και 12 μήνες κατά το πρώτο έτος, και κάθε 6 μήνες τα επόμενα έτη με μέσο χρόνο παρακολούθησης 38,6 μήνες. Ο χρόνος της πρώτης υποτροπής και εξέλιξης ήταν 10,3 και 33,2 μήνες αντίστοιχα. Στα καρκινώματα που μελετήθηκαν εφαρμόστηκε η ανοσοϊστοχημική μέθοδος της στρεπταβιδίνης-βιοτίνης σε τομές παραφίνης. Τα πρωταρχικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν, η προέλευση και η αραιώση τους φαίνονται στον πίνακα 2. Για τη μελέτη της έκφρασης του VEGF χρησιμοποιήθηκε ο υπότυπος VEGF<sub>121</sub>. Για την ανάδειξη των αγγείων και τη μέτρηση της αγγειακής πυκνότητας χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Weidner και συν. με τη βοήθεια του παράγοντα CD34 σε περιοχές αυξημένης αγγειοβρίθειας "hot spot"<sup>17</sup>. Η αυξητική δραστηριότητα του νεοπλάσματος εκτιμήθηκε με τους παράγοντες Ki-67 και PCNA. Για την εκτίμηση του παράγοντα VEGF χρησιμοποιήσαμε συνδυασμό δύο παραμέτρων, της έντασης και έκτασης της έκφρασης του αντιγόνου, όπως φαίνεται και σε προηγούμενη εργασία μας<sup>18</sup>. Ως προς την ένταση της χρώσης οι περιπτώσεις κατατάχθηκαν σε 4 κατηγορίες-διαβαθμίσεις (0=αρνητική χρώση, 1= ασθενώς θετική, 2= μέτρια θετική και 3= έντονα θετική χρώση). Ως προς την έκταση της έκφρασης του αντιγόνου από τα

νεοπλασματικά κύτταρα, οι περιπτώσεις κατατάχθηκαν σε 4 ομάδες ανάλογα με το % ποσοστό των θετικών νεοπλασματικών κυττάρων (0=0%, 1=1-25%, 2=26-50%, 3=51%). Όταν το άθροισμα της έντασης και έκτασης της χρώσης ήταν μεγαλύτερο του 2 τότε οι περιπτώσεις θεωρούνταν θετικές, ενώ εκείνες με άθροισμα ίσο ή μικρότερο του 2 αρνητικές. Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, κατατάξαμε τα αποτελέσματα της μικροαγγειακής πυκνότητας (CD34) σε δύο ομάδες. Αυτά που είχαν λιγότερα από 10 αγγεία ανά οπτικό πεδίο και αυτά που είχαν περισσότερα από 11 αγγεία ανά οπτικό πεδίο μεγάλης μεγέθυνσης (x40). Επίσης για τους δείκτες πολλαπλασιασμού, PCNA και Ki-67, τα καρκινώματα κατατάχθηκαν σε 2 ομάδες, αυτά που είχαν έκφραση σε λιγότερους ή περισσότερους από 10 πυρήνες ανά οπτικό πεδίο αντίστοιχα (Πίνακας 3).

### Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα και τα ποσοστά της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των VEGF, CD34, PCNA, Ki-67 σε σχέση με τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους (ηλικία, φύλο, βαθμός διαφοροποίησης-grade, στάδιο νόσου, συνύπαρξη ή όχι in situ καρκινώματος και πολυεστιακή εντόπιση του νεοπλάσματος) φαίνονται στον πίνακα 3. Ο παράγοντας VEGF εκφράστηκε από το κυτταρόπλασμα των νεοπλασματικών κυττάρων, ενώ εσωτερικό μάρτυρα αποτέλεσαν φλεγμονώδη κύτταρα, λεμφοκύτταρα και μακροφάγα/ ιστιοκύτταρα. Από τα 141 περιστατικά της μελέτης 119 ήταν θετικά στον παράγοντα VEGF, ενώ 22 ήταν αρνητικά (ποσοστά 84,4% και 15,6% αντίστοιχα, πίνακας 3). Η έκφραση του VEGF ήταν μεγαλύτερη σε καρκινώματα pT1 σε σύγκριση με τα καρκινώματα σταδίου pTa ( $p=0,042$ ) καθώς επίσης σε καρκινώματα σταδίων pT2-4 σε σχέση με καρκινώματα σταδίου pTa ( $p=0,044$ ). Μεταξύ των σταδίων pT1 και pT2-4 η συσχέτιση ήταν της τάξεως  $p=0,08$  (στατιστικώς μη σημαντική). Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της πρωτεΐνης VEGF με τη MVD, τον

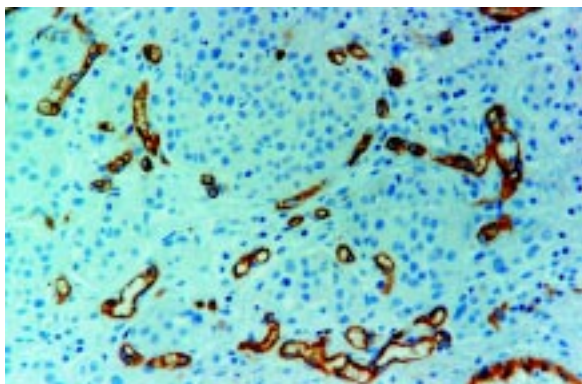
**Πίνακας 2.** Χρησιμοποιούμενα αντισώματα, προέλευση, κλώνος, αραιώση και χρόνος επώασης

Αντίσωμα	Προέλευση	Κλώνος	Αραιώση	Χρόν. Επ.
CD34	Novocastra	QBEnd/10	1:50	1 ώρα
VEGF	Neomarker	JH121	1:50	1 ώρα*
Ki-67	Dako	MIB-1	1:10	1 ώρα
PCNA	Dako	M0879	1:50	1 ώρα

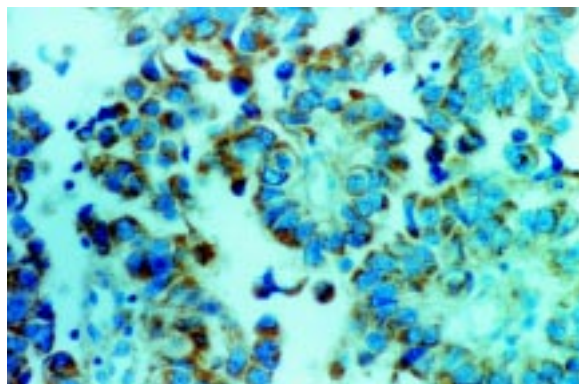
\*με φούρνο μικροκυμάτων

**Πίνακας 3.**

	VEGF		CD 34 (mvd)		PCNA		Ki-67	
	≤2	>2	≤10	>11	≤10	>11	≤10	>11
<u>Φύλο</u>								
Άντρες	9	18	13	9	11	6	11	10
Γυναίκες	23	91	47	51	27	23	45	35
<u>Ηλικία</u>								
≤50	10	23	10	15	13	6	17	8
>50	22	86	50	45	25	23	39	37
<u>grade</u>								
1	1	4	1	4	0	1	0	1
2	20	55	33	30	19	6	33	10
3	11	50	25	26	19	22	23	34
<u>Στάδιο</u>								
Pa	16	55	32	32	19	8	29	11
P1	15	40	27	14	17	12	27	21
P2-4	1	14	1	14	2	9	0	13
<u>In situ</u>								
Όχι	24	97	53	49	33	19	51	33
Ναι	8	12	7	11	5	10	5	12
<u>Πολυεστιακότητα</u>								
Μονήρες	12	62	22	42	17	20	28	25
Πολ/κό	20	45	36	18	21	9	26	20



**Εικόνα 1.** Ανοσοϊστοχημική έκφραση του δείκτη CD34 σε ενδοθηλιακά κύτταρα ουροθηλιακού καρκινώματος (Στρεπταβιδίνη-βιοτίνη, ABC, x200)



**Εικόνα 2.** Έντονη κυτταροπλασματική έκφραση του δείκτη VEGF σε ουροθηλιακό καρκίνωμα (Στρεπταβιδίνη-βιοτίνη, ABC, x400)

ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης και τις άλλες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους (πολυεστιακότητα, παρουσία in situ καρκινώματος κ.α.). Επίσης μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική μελέτη της έκφρασης του VEGF σε σχέση με την υποτροπή και την εξέλιξη του νεοπλασματος σε διηθητικό, δεν έδειξε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση.

Στατιστικώς σημαντική συσχέτιση σημειώθηκε με το δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA ( $p=0,002$ ).

### Συζήτηση

Ποσοτικές μελέτες που έχουν γίνει με το mRNA του VEGF (με τη μέθοδο PCR) έδειξαν μεγαλύτερη έκφραση στο στάδιο pT1 από ότι στο στάδιο pT2-4 και πολύ μικρότερη έκφραση στο φυσιολογικό ουροθήλιο<sup>5,15</sup>. Άλλες μελέτες (με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους-τεχνική παρόμοια με την δική μας) έδειξαν ότι η έκφραση της πρωτεΐνης ήταν αυξημένη μεν στο στάδιο pT1 αλλά μεγαλύτερη στο pT2-4, εύρημα που συμφωνεί και με τα δικά μας αποτελέσματα. Η προτεινόμενη επικρα-

τέστερη εξήγηση είναι ότι παρατηρείται μεγαλύτερη παραγωγή mRNA στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης, αλλά η πρωτεΐνη στα στάδια αυτά δεν είναι σταθεροποιημένη ως μόριο, καταστρέφεται δηλαδή με κάποιο μηχανισμό. Ο μηχανισμός αυτός πιθανολογείται ότι καταστέλλεται σε προχωρημένο στάδιο της νόσου<sup>5</sup>. Κατά τον O'Brien και συν. υπάρχουν δύο διαφορετικές οδοί αγγειογένεσης στην ουροδόχο κύστη, όπου το σημείο απενεργοποίησης της πρώτης και ενεργοποίησης της δεύτερης είναι η διήθηση του μυϊκού χιτώνα από το καρκίνωμα. Βέβαια και στις δύο οδούς εμπλέκεται ο VEGF αλλά και άλλοι αγγειογενετικοί παράγοντες με διαφορετικό ρόλο σε κάθε περίπτωση<sup>5,6</sup>. Παρατήρηση που ακολούθησε τη θεωρία αυτή είναι η εύρεση διαφορετικών μεταλλάξεων χρωμοσωμάτων σε επιφανειακό ή διηθητικό καρκίνωμα αντίστοιχα. Βρέθηκε ότι τα επιφανειακά ουροθηλιακά καρκινώματα έχουν την μετάλλαξη 9p ή 9q στο χρωμόσωμα 9, ενώ τα διηθητικά όπως και τα *in situ* έχουν την 17p<sup>6,19,20</sup>. Άλλη μία παρατήρηση, που πρέπει να επισημάνουμε, είναι η μειωμένη έκφραση του mRNA του VEGF σε περιοχές γειτνιάζουσες νέκρωσης, όπου ως γνωστόν ενεργοποιούνται άλλοι αγγειογενετικοί παράγοντες, όπως για παράδειγμα ο παράγοντας που επάγει την υποξία (HIF). Αυτή είναι μια παρατήρηση που μάλλον έρχεται να στηρίξει ακόμη περισσότερο τη θεωρία του O'Brien περί διαφορετικών οδών αγγειογένεσης. Τόσο τα δικά μας αποτελέσματα όσο και αυτά άλλων ερευνητών, που ασχολήθηκαν με την αγγειογένεση στην ουροδόχο κύστη, έρχονται σε αντίθεση με τη σχέση του VEGF σε άλλα συμπαγή νεοπλάσματα. Ενώ σε άλλους νεοπλασματικούς ιστούς, όπως αναφέραμε πιο πάνω, ο VEGF φαίνεται να παίζει πρωτεύοντα ρόλο στο μηχανισμό της αγγειογένεσης, στην ουροδόχο κύστη πιθανώς αυτό να μην ισχύει. Το πλέον μελετημένο όργανο αποτελεί ο μαστός, όπου η έκφραση του VEGF βρέθηκε να αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα σε καρκινώματα μαστού με λεμφαδενικές μεταστάσεις<sup>3</sup>. Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε αυξανόμενη έκφραση του VEGF σε καρκινώματα σταδίου pT2-4 σε σχέση με τα pTα και pT1. Το εύρημα αυτό συμφωνεί και με τα αποτελέσματα άλλων μελετών στην ουροδόχο κύστη<sup>21,22</sup>.

Στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκε συσχέτιση της πρωτεΐνης VEGF με την MVD, τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης, την υποτροπή αλλά και με την εξέλιξη της νόσου σε διηθητικό καρκίνωμα σε αντίθεση με άλλες μελέτες<sup>14,15</sup>. Προηγούμενη μελέτη από το εργαστήριό μας σε επι-

φανειακά καρκινώματα ουροδόχου κύστης<sup>18</sup> έδειξε συσχέτιση του VEGF με την MVD, ενώ δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση αυτού με τις λοιπές κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους. Πάντως, ενώ υπάρχουν αρκετές μελέτες με τον παράγοντα VEGF στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης, σε καμία δεν αναφέρεται συσχέτισή του με την MVD. Ίσως η θεωρία περί αστάθειας του μορίου στα αρχικά στάδια της νόσου να εξηγεί τα αντιφατικά αποτελέσματα των διαφόρων μελετών. Επίσης διαφορετικές τεχνικές, διαφορετική εκτίμηση των αποτελεσμάτων καθώς και η εφαρμογή διαφορετικών αντισωμάτων πιθανόν να επηρεάζουν τα αποτελέσματα. Όπως διαπίστωσαν και άλλοι ερευνητές, τα ευρήματα στους θηλώδεις όγκους ουροδόχου κύστης είναι αντιφατικά, δεδομένης της δυσκολίας εκτίμησης του υλικού, αφού στα ανώτερης διαφοροποίησης υπάρχουν άφθονοι θηλώδεις ινοαγγειακοί άξονες πλούσιοι σε αγγεία που εξαφανίζονται στα χαμηλής διαφοροποίησης καρκινώματα, ενώ οι μηχανικές αλλοιώσεις κάνουν την εκτίμηση του υλικού ακόμη πιο δύσκολη<sup>23</sup>. Η απουσία συσχέτισης με την πολυεστιακότητα της νόσου και τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης μας βρίσκει σύμφωνους και με άλλους συγγραφείς<sup>24-26</sup>.

Αναμενόμενη είναι η συσχέτιση του VEGF με την αυξητική δραστηριότητα του καρκινώματος, αφού πρόκειται για επαγωγέα της αγγειογένεσης, παρότι στην ουροδόχο κύστη φαίνεται ότι ο μηχανισμός δράσης του VEGF είναι πολύπλοκος. Ο μηχανισμός με τον οποίο η αυξητική δραστηριότητα του νεοπλάσματος συσχετίζεται με την αγγειογένεση είναι άγνωστος. Η πιο απλή εξήγηση που προτείνεται είναι ότι τα νεοπλάσματα με μεγάλη αυξητική δραστηριότητα υπερπαραγουν αγγειογενετικούς παράγοντες, ως εκ τούτου έχουν και αυξημένη MVD. Βέβαια εύλογος είναι ο προβληματισμός, εάν τα νεοπλάσματα με μεγάλη αυξητική δραστηριότητα έχουν αυξημένη παραγωγή αγγειογενετικών παραγόντων ή η υπερπαραγωγή αγγειογενετικών παραγόντων έχει ως αποτέλεσμα τη μεγάλη αυξητική δραστηριότητα του νεοπλάσματος.

## Συμπεράσματα

Από τα ευρήματα της μελέτης μας φαίνεται ότι η έκφραση του VEGF δεν αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη της εξέλιξης (διήθηση του μυϊκού χιτώνα) και της υποτροπής των καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης, σε αντίθεση με άλλους νεοπλασματικούς ιστούς, όπως μαστού,

οισοφάγου, στομάχου, παχέος εντέρου κ.α., όπου διάφοροι ερευνητές βρήκαν τον VEGF να αποτελεί ανεξάρτητο προγνώστικό παράγοντα, δίνοντας ελπίδες για μελλοντικές “στοχευμένες” θεραπείες. Επίσης η έκφραση του VEGF φαίνεται να συσχετίζεται με προχωρημένο στάδιο νόσου και πιθανόν να αποτελεί δείκτη επιθετικότερης βιολογικής συμπεριφοράς του νεοπλασματος. Η μη συσχέτιση του VEGF με τη μικροαγγειακή

πυκνότητα υποδηλώνει την μη άμεση τουλάχιστον εμπλοκή του στη διεργασία της αγγειογένεσης. Επιπλέον η έκφραση του VEGF φαίνεται να επηρεάζει την αυξητική δραστηριότητα του νεοπλασματος. Τέλος τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με την πλειονότητα άλλων μελετών, στις οποίες φαίνεται ότι ο παράγοντας VEGF δρα διαφορετικά στα επιφανειακά από ό,τι στα διηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα.

### ABSTRACT

M.C. MICHAEL, E. IOACHIM, N. STAVROPOULOS, M.M. MICHAEL, E. KITSOU, D. KALOGERAS, I. TSIMARIS, V. MALAMOU-MIGTISI: **Vegf expression in urothelial cancer**

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is one of the most extensively studied factors of angiogenesis in neoplastic tissues. Several studies of VEGF in urothelial bladder cancer showed its implication in the process of angiogenesis with a complex way which appears to be different in superficial and in invasive urothelial bladder carcinomas. Our material was consisted of 141 urothelial bladder carcinomas, where the expression of VEGF and the proliferation associated indices Ki-67 and PCNA were studied by immunohistochemistry. In addition the microvessel density of the tumours was assessed by using the immunohistochemical endothelial marker CD34. A higher VEGF expression in pT1 and pT2-4 tumours compared to pTa was observed. The correlation of VEGF with the microvessel density as well as with the other parameters included in this study was not significant. In addition, a statistically significant correlation of its expression with the proliferation associated index PCNA was found. From our findings it seems that VEGF does not constitute a reliable prognostic marker in regard to the recurrence rate of the bladder cancer, while seems to be correlated with the tumor stage. Also, our finding of non-correlation between VEGF expression and MVD suggests that VEGF is not implicated at least directly in the process of angiogenesis. Furthermore, the VEGF expression seems to influence the tumor growth fraction. **Key words:** angiogenesis, urinary bladder, cancer, VEGF, CD34. **Forum of Clinical Oncology 4 (1-2):162-168, 2005.**

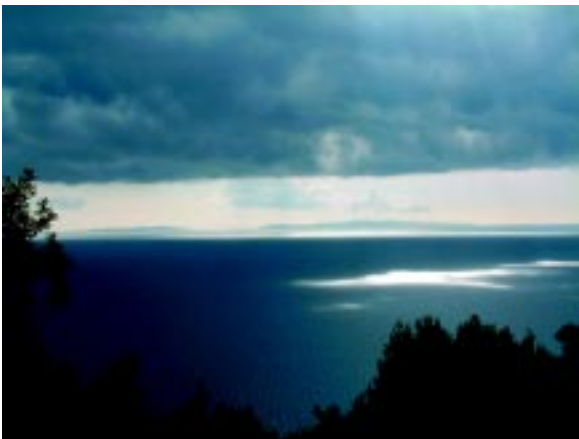
### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Chodak GW, Scheiner CJ. and Zetter BR. Urine from patients with transitional-cell carcinoma stimulates migration of capillary endothelial cells. *North England Journal of Medicine*. 1981; 305(15):869-74.
2. Messing EM, Murphy-Brooks N. Recovery of epidermal growth factor in voided urine of patients with bladder cancer. *Urology*. 1994; 44(4):502-6.
3. Gasparini G. Clinical significance of determination of surrogate markers of angiogenesis in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2001; 37(2):97-114.
4. Lutsenko SV, Kiselev SM, Severin SE. Molecular mechanisms of tumor angiogenesis. *Biochemistry (Moscow)*. 2003; 68(3):286-300.
5. Crew JP. Vascular Endothelial growth Factor: An important Angiogenic Mediator in Bladder Cancer. *Eur Urol* 1999; 35(1):2-8.
6. O'Brien T., Cranston D, Fuggle S, et al. Different angiogenic pathways characterize superficial and invasive bladder cancer. *Cancer Research*. 1995; 55(3):510-3.
7. Gasparini G, Toi M, Miceli R, et al. Clinical relevance of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase in patients with node-positive breast cancer treated with either adjuvant chemotherapy or hormone therapy. *Cancer J Sci Am*. 1999; 5(2):101-11.
8. Choi WW, Lewis MM, Lawson D, et al. Angiogenic and lymphangiogenic microvessel density in breast carcinoma: correlation with clinicopathologic parameters and VEGF-family gene expression. *Mod Pathol*. 2005; 18(1):143-52.
9. Toi M, Gion M, Biganzoli E, et al. Co-determina-

- tion of the angiogenic factors thymidine phosphorylase and vascular endothelial growth factor in node-negative breast cancer: prognostic implications. *Angiogenesis*. 1997; 1(1):71-83.
10. Locopo N, Fanelli M, Gasparini G. Clinical significance of angiogenic factors in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998; 52(1-3):159-73.
  11. Guba M, Seeliger H, Kleespies A, et al. Vascular endothelial growth factor in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2004; 19(6):510-7.
  12. Poon RT, Fan ST, Wong J. Clinical significance of angiogenesis in gastrointestinal cancers: a target for novel prognostic and therapeutic approaches. *Ann Surg*. 2003; 238 (1):9-28.
  13. Rosen LS. VEGF-Targeted Therapy: Therapeutic Potential and Recent Advances. *Oncologist*. 2005; 10(6):382-91
  14. Roberts JE, Zudaire JJ, Brian JM. Multivariate analysis of progression in superficial bladder cancer. *Br J Urol* 1993; 71: 284.
  15. Crew JP, O'Brien T, Bradburn, et al. Vascular endothelial growth factor is a predictor of relapse and stage progression in superficial bladder cancer. *Cancer Research*. 1997; 7(23):5281-5.
  16. Hermanek P, Hutter LH, Sobin G et al. Urinary bladder. In *TNM Atlas*, 4<sup>th</sup> ed. New York:Springer-Verlag, 1997:309-14.
  17. Hawke CK, Delahunt B. and Davidson PJ. Microvessel density as a prognostic marker for transitional cell carcinoma of the bladder. *Br. J. Urol*. 1998; 81(4):585-90.
  18. Stavropoulos NE, Bouropoulos C, Ioachim IE et al. Prognostic significance of angiogenesis in superficial bladder cancer. *Int Urol Nephrol*. 2004; 36(2):163-7.
  19. Orlov I, Lianes P, Lacombe L, et al. Chromosome 9 allelic losses and microsatellite alterations in human bladder tumors. *Cancer Res*. 1994; 54(11):2848-51.
  20. Knowles MA, Elder PA, Williamson M, et al. Allelotype of human bladder cancer. *Cancer Res*. 1994; 54(2):531-8.
  21. Wang S, Xia T, Zhang Z, et al. Expression of VEGF and tumor angiogenesis in bladder cancer. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2000; 38(1):34-6.
  22. Tiguert R, Lessard A, So A, et al. Prognostic markers in muscle invasive bladder cancer. *World J Urol*. 2002; 20(3):190-5.
  23. Dinney CP, Babkowski RC, Antelo M et al. Relationship among cystectomy, microvessel density and prognosis in stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol*. 1998; 160(4):1285-90.
  24. Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ, et al. Superficial bladder cancer: Progression and recurrence. *J. Urol*. 1983; 130(6):1083-6.
  25. Streeter EH, Harris AL. Angiogenesis in bladder cancer—prognostic marker and target for future therapy. *Surg Oncol* 2002; 11(1-2):85-100.
  26. Chow NH, Liu HS, Chan SH, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in primary superficial bladder cancer. *Anticancer Res*. 1999; 19(5C):4593-7.

## Ευθανασία ή Ελπίδα για ζωή;

*Με ευκαιρία την ταινία “Η θάλασσα μέσα μου”*



Η ταινία του Αλεχάντρο Αμεναμπάρ “Η θάλασσα μέσα μου” μπορεί να μην ασχολείται με έναν καρκινοπαθή, αλλά έβαλε σημαντικά προβλήματα και θέματα για ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο. Ο τελευταίος δεν είναι πια ανίατος, αλλά στα τελευταία στάδια της νόσου οι πάσχοντες υποφέρουν συνήθως από τρομερούς πόνους και άλλα προβλήματα. Σ’ αυτές τις περιπτώσεις ξαναπαίρνει το θέμα της ευθανασίας, με τα ηθικά, φιλοσοφικά, θεολογία και υπαρξιακά διλήμματα. Ο ήρωας του “Η θάλασσα μέσα μου” είναι ένας παραπληγικός που επιζητά την ευθανασία. Μην ξεχνάμε ότι και στη βραβευμένη με Όσκαρ ταινία του Κλιντ Ίστυουντ (“Million dollar baby”) η μποξέρ (Χίλαρι Σοιυάνγκ) που έγινε παραπληγική αποδέχεται την ευθανασία απ’ τα χέρια του ίδιου του αγαπημένου της προπονητή (Κλιντ Ίστυουντ).

Εν πάση περιπτώσει, θέλοντας αυτό το κείμενο να είναι αισιόδοξο, ας δούμε τις προόδους που έχουν γίνει από την ιατρική στα άτομα με τις λεγόμενες ειδικές δεξιότητες και τι ταινίες είχαμε επ’ αυτού του θέματος.

Αρχικά, έχουμε πλέον θαυμαστά κέντρα απο-

κατάστασης που προσφέρουν μεγάλη λειτουργικότητα στα πάσχοντα πρόσωπα. Στη συνέχεια υπάρχουν οι ειδικοί ψυχολογικοί (και οικογενειακοί) σύμβουλοι που βοηθούν στην προσαρμογή. Νέες συνθήκες με απώλειες λειτουργικότητας αλλά και ενσωμάτωση μ’ έναν διαρκή αγώνα. Η Ιατρική με όλους τους τομείς της πράττει, λοιπόν, το άριστα με την κοινωνία, όμως, με τη δημόσια γνώμη τι γίνεται; Καλά και όμορφα τα τηλεοπτικά λογάρια, με φράσεις όμως, όπως “σακάτης”, “ποτέ δε θα ’δυνα το παιδί μου σε έναν τέτοιο”, τι γίνεται; Αυτή την “πληγή” ποια επιστήμη θα θεραπεύσει;

Από τη μια μεριά, λοιπόν, αφιερώνουμε σε κάποιους συνανθρώπους μας ένα παγκόσμιο αθλητικό γεγονός, από την άλλη φαίνεται πως η παγκόσμια κοινωνία μας εξακολουθεί να παρουσιάζει απέναντί τους φαινόμενα ενός ιδιαίτερου ρατσισμού. Κραυγάζουμε για το δικαίωμα στο “διαφορετικό”, η κοινότητα, όμως, στρέφεται αλλού. Δείχνει δηλαδή μια τάση “ομαλοποίησης”, που στηρίζεται σε συγκεκριμένα πρότυπα, μοντέλα και στάνταρ. Στο επίπεδο σύγκλισης σε μια παγκόσμια ισορροπία σύμφωνα με τους κανόνες της αγοράς αλλά και της ασφαλούς διακίνησης του ανά την υψηλή εμπορίου, η ομοιομορφία και η ενσωμάτωση είναι οι βασικοί κανόνες αυτής της επιδίωξης.

Η διαφήμιση, βασικά δια της τηλεόρασης και των δεκάδων εκπομπών life-style, προάγει ένα μοντέλο ατόμου καλλίγραμμου, ωραίου, αθλητικού, αρτιμελούς, “ερωτικού”, ξέγνοιαστου και ιδιαίτερα παραγωγικού. Έτσι, ο κοινωνικός ρατσισμός για το “άλλο” αυξάνεται άθελα. Παράλληλα, σε μια κοινωνία ελεύθερης οικονομίας, όλοι πρέπει να είναι παραγωγικοί και να προσφέρουν. Έτσι, τα όποια άτομα με ειδικές δεξιότητες, πέρα της προσαρμογής τους, είναι χρήσιμα, όταν, μέσω της

εργασίας τους, καταφέρνουν όχι μόνον να μην “κοστίζουν” στην Πολιτεία, αλλά και να παράγουν εργαζόμενοι.

Μ' αυτό το πρίσμα, λοιπόν, είμαστε υποχρεωμένοι να αντιμετωπίσουμε το συγκεκριμένο, ευαίσθητο θέμα. Να παρατηρήσουμε και να αναλύσουμε δηλαδή αυτή τη διπλή, αντιφατική σχέση “προς τα άτομα με ειδικές δεξιότητες”, δηλαδή την υπέρμετρη προσπάθειά τους και τα “παχιά” λογάκια, και από την άλλη μεριά την πίεση για ενσωμάτωση και παραγωγικότητα.

Παράλληλα, είναι σκόπιμο να ερευνήσουμε με ειλικρίνεια τις απόψεις της κοινωνίας. Ωραιοί, καλοθαλμένοι λόγοι, ενθάρρυνση, φιλολογία, αλλά πόση ουσία υπάρχει και τι ακριβώς σημαίνει ο φόβος σχεδόν μεταφυσικός απέναντι στο διαφορετικό;

Λογικά, είναι χρήσιμο το τεστ που μας προτείνει διακεκριμένος ψυχίατρος της Θεσσαλονίκης, σε μακρά συζήτηση που είχα μαζί του: “Υπάρχει ένα αλάνθαστο τεστ. Ρωτήστε τους γονείς μιας κοπέλας, αν θα έδιναν το κορίτσι τους σ' ένα καλό και έξυπνο άτομο με ειδικές ανάγκες και με ερωτική λειτουργία. Ρωτήστε ακόμα και τους γονείς ενός νέου, πώς θα αντιδρούσαν, αν η επιλογή του γιου τους ήταν μια ωραία κοπέλα με τέτοιο πρόβλημα; Αν παραλάβετε ειλικρινείς απαντήσεις, θα δείτε πως είναι αρνητικές σε επίπεδο 90 - 95%”. Σοκ τελικά.

Φαίνεται, λοιπόν, ξεκάθαρα πως απαιτείται μια μακρόχρονη, διπλή εκπαίδευση της κοινωνίας. Αρχικά, να ενδυναμωθεί με κάθε τρόπο η ψυχολογία των συνανθρώπων μας με κάποια προβλήματα και από την άλλη μόνιμη παιδεία για τους υγιείς.

Πόσο δύσκολο, όμως, είναι να αποβάλεις το φόβο για το άλλο και το διαφορετικό, που εκδηλώνεται στη μετάλλαξη του ως ρατσισμός; Απόμακρη σκέψη από τον δικό μας Καιάδα η έντονη φοβία μήπως, διαφέροντας από το όμοιο και το εικονικά αποδεκτό μοντέλο, δημιουργήσουμε μια παράταιρη εικόνα, που δεν θα μας συγκροτεί ως σύνολο. Είναι μια αγωνία για κοινωνική συμμετοχή, για διαδικασία επικοινωνίας. Ψιλά γράμματα σε μια σύγχρονη, παγκόσμια κοινωνία που βιάζεται, επιταχύνει συνεχώς, για να προλάβει τη σκιά της, αλλά και τους οικονομικούς συντελεστές.

Το σινεμά δεν θα μπορούσε να μείνει ασυγκίνητο, να μη λάβει θέση. Ωστόσο, έδειξε και χαρακτηριστική ανεπάρκεια. Σε χιλιάδες ταινίες εμφανίστηκαν άτομα με ειδικές ανάγκες. Σε πολύ λίγες, όμως, έγινε η σωστή αξιοποίηση. Τις περισσότερες φορές ήταν για λόγους δραματουργι-

κούς, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις αξιοποιείται ως γραφικότητα ή για να καταγγεληθεί η συμπεριφορά κάποιων που το αντιμετωπίζουν έτσι. Ωστόσο, υπάρχουν και οι κορυφαίες στιγμές της έβδομης τέχνης, εκεί που φθάνει σε πολύ υψηλές επιδόσεις.

Στα 1946, λίγο μετά τον πόλεμο, ο Γουίλιαμ Γουίλιερ γυρίζει τα “Καλύτερά μας χρόνια” που σαρώνουν τα Όσκαρ. Ένα απ' αυτά πηγαίνει στον Χάρολντ Ράσελ, που κάποιο τρόπο έπαιζε τον εαυτό του. Είχε χάσει τους δύο καρπούς του κατά τη διάρκεια του Β' Παγκόσμιου Πολέμου. Το φιλμ αφηγείται τα προβλήματα προσαρμογής των Αμερικανών βετεράνων που επιστρέφουν πίσω στην πατρίδα τώρα με βαριά αναπηρία. Παρατηρούμε τις συγκρούσεις, τις αντιπαραθέσεις, και την αξιοπρέπεια του ήρωα, που θέλει να εξυπηρετείται μόνος του. Μετά από πολλές συγκρούσεις όλα πάνε καλά, ακόμα και με την κοπέλα του. Όταν ο Ράσελ παρέλαβε το Όσκαρ του έγινε χαμός, ήταν μια σκηνή συγκλονιστική. Ο ηθοποιός ζει ακόμα και περνάει καλά.

Στα 1950 κάνει την πρώτη του εμφάνιση στο σινεμά ο μεγάλος μύθος, ο Μάρλον Μπράντο στο “Κορμί μου σου ανήκει” του Φρεντ Ζίνεμαν. Ο ήρωας είναι παραπληγικός, εξαιτίας του πολέμου. Τον μεταφέρουν πάντα σε καροτσάκι. Γυμνάζεται, προσπαθεί και συνδέεται με μια πανέμορφη κοπέλα την οποία τώρα αποφεύγει, επειδή πιστεύει πως θα γίνει δυστυχισμένη δίπλα του. Υπάρχει μια ολόκληρη σειρά δραματικών συγκρούσεων και ενστάσεων. Στο τέλος, ο άντρας αποφασίζει να ξαναπαλέψει, το ζευγάρι παντρεύεται.

Προβλήματα παραπληγικών εξαιτίας του πολέμου θίγει και η γνωστή αμερικανική ταινία του Χαλ Άσμπι “Ο γυρισμός”. Ο Γιον Βόιτ είναι ο τραγικός παραπληγικός ήρωας που επέστρεψε από το Βιετνάμ και επιχειρεί να ξαναζήσει και η Τζέιν Φόντα η σύζυγός του σε μια ταινία δραματική με ανοιχτό τέλος, που δείχνει ξεκάθαρα πόσο δύσκολα είναι τα θέματα προσαρμογής.

Τα χρόνια περνάνε. Οι πόλεμοι σωρεύουν νεκρούς και τραυματίες. Στα 1989 ένας βετεράνος του Βιετνάμ και τραυματισμένος εκεί, ο γνωστός σκηνοθέτης Όλιβερ Στόουν γυρίζει τον “Γεννημένο την 4<sup>η</sup> Ιουλίου”, με τον Τομ Κρουζ να παίζει εξαιρετικά το ρόλο του Ρον Κόβιτς. Έμεινε ανήλικος στον πόλεμο της ζούγκλας και τις εμπειρίες του τις μεταφέρει σ' αυτό το φιλμ. Ο Κόβιτς είναι ένα πραγματικό πρόσωπο, αντιμετώπισε κορυφαία προβλήματα προσαρμογής μετά το βαρύ τραυματισμό του. Για να εκτονωθεί, έγινε ένας

κορυφαίος ακτιβιστής, που ηγήθηκε πολλών αντιπολεμικών διαδηλώσεων ενάντια στο βρώμικο πόλεμο. Εν πάση περιπτώσει, βρήκε ένα στόχο στη ζωή του και αυτό ήταν σημαντικό για την ψυχολογική προσαρμογή.

### Σεξουαλικότητα και ευθανασία

Ωστόσο, το σινεμά έδωσε και άλλες εκδοχές που, αν δεν μπορούν να θεωρηθούν αμφιλεγόμενες, οπωσδήποτε ανοίγονται σε άλλες διαστάσεις. Διαθέτουν μεν ρεαλιστική εκδοχή, αλλά ταυτόχρονα τοποθετούνται και ερωτηματικά. Γνωρίζουμε πάνω απ' όλα τις περιφημες, τις μεγάλες ανάγκες της ζωής, που μέσα σ' αυτές κορυφαία είναι η σεξουαλικότητα. Το σινεμά έθιξε πολλές φορές αυτό το θέμα σε ό,τι αφορά τη σχέση με τη λίμπιντο στα άτομα με ειδικές ανάγκες. Όταν, λοιπόν, ο ήρωας δεν μπορεί να λειτουργήσει ερωτικά, τι συμβαίνει με το ή τη σύντροφό του / της; Πάνε για χωρισμό, για παράλληλες σχέσεις; Αυτοκτονία ή αποδοχή της πραγματικότητας, απάτη ή συντροφικότητα; Κορυφαία ερωτήματα, με τη ζωή πάντα να διεκδικεί τα δικαιώματά της.

Στο κλασικό ερωτογραφικό μυθιστόρημα του Λόρενς "Ο εραστής της λαίδης Τσάτερλι", που έγινε και ταινία, η πανέμορφη γυναίκα (Σίλβια Κριστέλ) είναι παντρεμένη με τον αριστοκράτη και ανάπηρο από τον πόλεμο σύζυγο. Το ερωτικό πάθος την οδηγεί σε ξέφρενη ερωτική σχέση με τον επιστάτη, έναν πολύ αισθησιακό τύπο. Ο σύζυγος ξεχνιέται οριστικά.

Στα μέσα της δεκαετίας του '90, ο Δανός Λαρς Φον Τρίερ γυρίζει το εντυπωσιακό, ερωτικό, κοινωνικό και βραβευμένο μελόδραμα "Δαμάζοντας τα κύματα". Ένας παραπληγικός υποχρεώνει τη σύζυγό του να πηγαίνει με διαφορετικούς άντρες και να του διηγείται τις ερωτικές περιπτώξεις που τον ηδονίζουν. Η θεοσεβούμενη γυναίκα το κάνει από αγάπη, γίνονται άλλα, το τέλος είναι τραγικά συγκλονιστικό.

Μια άλλη ταινία από τη Δανία, οι "Ανοιχτές καρδιές", περιγράφει την ακόλουθη κατάσταση: Σε ένα αυτοκινητικό ατύχημα μένει παράλυτος και ανίκανος κάποιος νέος άντρας. Η φίλη του σχετίζεται ερωτικά με το γιατρό του και εκείνος

αναγκάζεται να εγκαταλείψει την οικογένειά του. Δραματικές προεκτάσεις, ρεαλισμός, ερωτήματα για τις συμπεριφορές, ανάλυση της ειδικής διαμορφωμένης ψυχολογίας κατατίθενται και εκτίθενται αναλυτικά και ευαίσθητα.

Και, βεβαίως, το καλό σινεμά δεν μένει μόνον στα ερωτικά προβλήματα. Στα 1981 ο Τζον Μπάνταμ θα γυρίσει το "Επιτέλους είναι η ζωή μου", με τον Ρίτσαρντ Ντρέιφους εξαιρετικό στο ρόλο ενός γλύπτη, που παραμένει από κάταγμα της σπονδυλικής στήλης μόνιμα κλινήρης. Θέλει να τερματίσει τη ζωή του και ο σκηνοθέτης, με εξαιρετικά διεισδυτικό τρόπο, θέτει έναν καινούριο, ιδιαίτερα επίκαιρο στις μέρες μας προβληματισμό. Έχει ο πάσχων πλήρες δικαίωμα στη ζωή του, μπορεί να επιδιώξει ευθανασία αυτοκτονώντας, για να γλιτώσει απ' την καθήλωση;

Στα 1991 είχαμε μια εξαιρετική, ανεξάρτητη, αμερικανική ταινία, το βραβευμένο "Waterdance: Χορός σε παραγμένα νερά" των Νιλ Χιμένεθ και Μάικλ Στάινμπεκ. Ο πρώτος συγγραφέας του διβλίου, απ' όπου προήλθε το σενάριο, ήταν παραπληγικός. Άντεξε, επέζησε, δημιούργησε, η τέχνη τον βοήθησε να βρει κουράγιο και αυτοπεποίθηση. Η ιστορία αφηγείται την περίπτωση τριών παραπληγικών, που προσπαθούν να ενσωματωθούν και πάλι στην κανονική ζωή. Πώς είναι; Πώς θα βγουν από το σκοτάδι στο φως, με ποιο τρόπο θα βρουν θέση στον ήλιο;

Προσπαθώντας να θυμηθώ την πιο αξέχαστη φιγούρα ατόμου με ειδικές ανάγκες, η μνήμη μου κολλάει στον τραγικό Πορτορικανό Ρίκο, με εκπληκτικό ρόλο από τον Ντάστον Χόφμαν στον "Κάουμπόι του μεσονυχτίου" του Τζον Σλέσινγκερ. Ποτέ άλλοτε η περίπτωση ενός ατόμου με ειδικές ανάγκες δεν αντιστοιχίστηκε με την αναφορά στην κοινωνική κατάσταση, στο "ανάπηρο", αμερικανικό όνειρο και στην περιθωριοποίηση που συντελείται μέσω αυτού και της δήθεν ακτινοβολίας του.

Έτσι ή αλλιώς, το θέμα παραμένει ανεξάντλητο και είναι ένας φάκελος πάντα ανοιχτός προς συζήτηση.

**Αλέξης Ν. Δερμεντζόγλου**  
alex\_derm@freemail.gr

## 2-Μεθοξυοιστραδιόλη: Από τη βασική έρευνα στην κλινική εφαρμογή

Ε. Κωλέττας

### Εισαγωγή

Η 2-μεθοξυοιστραδιόλη (2-ME2) είναι ένας ενδογενής μεταβολίτης της 17β-οιστραδιόλης (E<sub>2</sub>), η οποία αναστέλλει την αγγειογένεση και την αύξηση διαφόρων τύπων καρκινικών κυττάρων in vitro και in vivo και επάγει την απόπτωση τους. Προκλινικές μελέτες σε ζώα με ξενομοσχεύματα, ορθοτοπικά και μεταστατικά μοντέλα έδειξαν ότι η δια στόματος χορήγηση της 2-ME2 ήταν αποτελεσματική, μειώνοντας το ρυθμό αύξησης των όγκων και μεταστάσεων στους πνεύμονες και οστά, απουσία τοξικότητας. Αυτές οι μελέτες οδήγησαν στην κλινική ανάπτυξη της 2-ME2 ως ενός μικρού μορίου-αναστολέα της αγγειογένεσης με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Κλινικές δοκιμές φάσης I και II έδειξαν ότι η 2-ME2 ή Panzem® (EntreMed, Inc.), είναι ανεκτή και αποτελεσματική σε πολλούς τύπους όγκων όπως ανιάτοι μεταστατικοί καρκίνοι, μαστού, προστάτη και πολλαπλού μυελώματος. Πρόσφατα εγκρίθηκε από τον οργανισμό τροφίμων και φαρμάκων των ΗΠΑ η κλινική χρήση της 2-ME2, για τον καρκίνο των ωοθηκών.

Όμως οι ακριβείς μηχανισμοί της αντι-μιτωτικής και αποπτωτικής δράσης της 2-ME2 δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Η 2-ME2 έχει χαμηλή συγγένεια πρόσδεσης στους οιστρογονικούς υποδοχείς ERα και ERβ και η δράση της δεν επηρεάζεται από αγωνιστές ή ανταγωνιστές των οιστρο-

γονικών υποδοχέων. Η 2-ME2 επηρεάζει τον πολυμερισμό της σωληνίνης και κατ' επέκταση την αύξηση της σταθερότητας των μικροσωληνίσκων και τη μείωση της δυναμικής της ατράκτου κατά τη μίτωση που τελικά οδηγούν στη διακοπή της κυτταρικής αύξησης. Η δέσμευση της 2-ME2 στους μικροσωληνίσκους έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της δράσης του επαγόμενου από υποξία παράγοντα-1α (HIF-1α; Hypoxia-inducible factor), ενός σημαντικού αγγειογενετικού μεταγραφικού παράγοντα. Η αντί-μιτωτική δράση της 2-ME2 οφείλεται επίσης στη μεταβολή της έκφρασης πρωτεϊνών που ελέγχουν την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου όπως κυκλίνες, κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες (CDK's) και αναστολείς των CDK's.

Η αποπτωτική δράση της 2-ME2 οφείλεται στην ενεργοποίηση είτε της ενδογενούς μιτοχονδριακής πορείας ή της εξωγενούς πορείας (πορεία των υποδοχέων θανάτου) απόπτωσης που εξαρτάται από τον κυτταρικό τύπο. Η αναστολή της αύξησης και η επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων υφίστανται με τρόπο εξαρτώμενο ή μη από την p53. Η 2-ME2 οδηγεί στην ενδοκυτταρική συνάθροιση δραστικών μορφών οξυγόνου, λόγω της αναστολής των δισμουτασών του υπεροξειδίου, οι οποίες προκαλούν βλάβες σε κυτταρικές δομές και στο DNA. Η 2-ME2 ενεργοποιεί επίσης μέσου φωσφορυλίωσης τη c-jun αμινοτελική κινάση (JNK) που οδηγεί στη φωσφορυλίωση και την απενεργοποίηση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2, μεταβάλλοντας έτσι το λόγο των προ- / αντί-αποπτωτικών μελών της υπεροικογένειας της Bcl-2 και ευαισθητοποιώντας τα καρκινικά κύτταρα στην απόπτωση. Παρ' όλες αυτές τις μελέτες οι μοριακοί στόχοι της 2-ME2

υπεύθυνοι για την αντί-αγγειογενετική, αντί-μυτωτική και αποπτωτική δράση της δεν έχουν αποσαφηνιστεί.

### Προέλευση και σχηματισμός της 2-μεθοξυιστραδιόλης

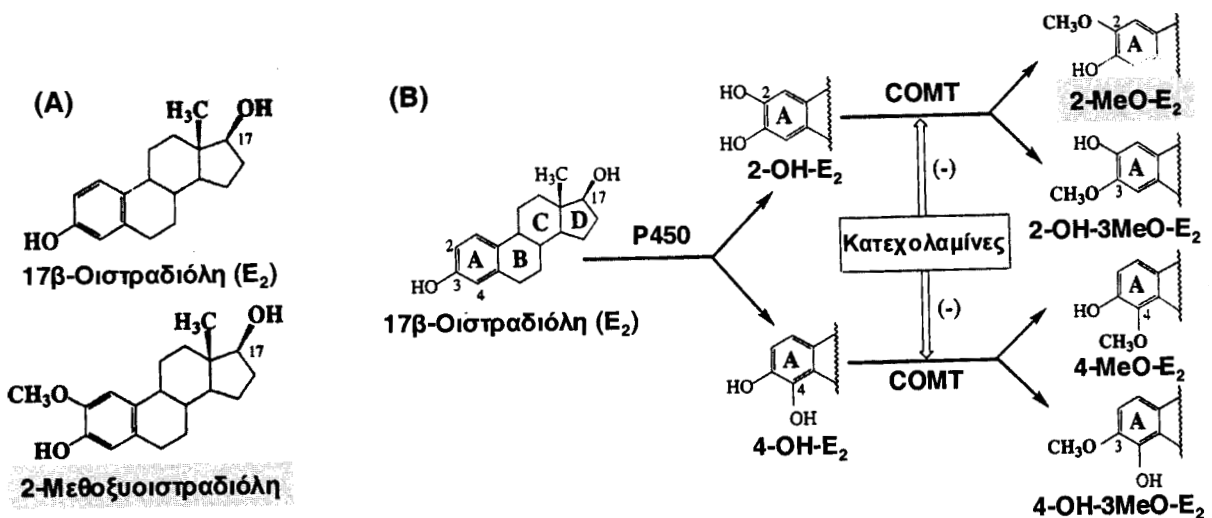
Η 2-ME2 είναι ενδογενής μεταβολίτης της 17β-οιστραδιόλης, ένα κατεχολικό οιστρογόνο που απαντάται στο ανθρώπινο αίμα και στα ούρα (Σχήμα 1A). Ειδικότερα, η οιστραδιόλη μπορεί να υδροξυλιωθεί σε διάφορες θέσεις, από το NADPH-εξαρτώμενο κυτόχρωμα P450 προς σχηματισμό των χημικώς ενεργών κατεχολικών οιστρογόνων 2- ή 4-υδροξυιστραδιόλη που με τη σειρά τους μπορούν να *O*-μεθυλιωθούν σε μονομεθυλαιθέρες από την κατεχολο-*O*-μεθυλομεταφοράση (COMT)<sup>1,2</sup> (Σχήμα 1B). Οι ποσότητες των μεθυλιωμένων μεταβολιτών των οιστρογόνων που παράγονται, όπως η 2-ME2, είναι μεγάλες και αυτό οφείλεται στην ύπαρξη δραστηρικής COMT σε πολλούς ιστούς θηλαστικών<sup>1,2</sup>.

Η 2-ME2 παρουσιάζει μοναδικές βιολογικές δράσεις, τις οποίες δεν συναντάμε στην οιστραδιόλη, 2-υδροξυ-οιστραδιόλη ή 4-μεθοξυιστραδιόλη.

### Δράσεις της 2- μεθοξυιστραδιόλης

Γενικά, η 2-ME2 δρα ανεξάρτητα από τους οιστρογονικούς υποδοχείς ERα και ERβ, αναστέλλει την αγγειογένεση και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και επάγει την απόπτωση τους *in vitro* και *in vivo*<sup>1,2</sup>. Η 2-ME2 έχει χαμηλή συγγένεια για τον οιστρογονικό υποδοχέα ERα (0.5%) και ακόμη χαμηλότερη συγγένεια για τον ERβ (0.05%), σε σχέση με την οιστραδιόλη, δεν απαιτεί την έκφραση των ER και δεν επηρεάζεται από ανταγωνιστές ή αγωνιστές των ER<sup>3,4</sup>.

Η 2-ME2 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων αιμοφόρων αγγείων και επομένως την αγγειογένεση, απαραίτητη προϋπόθεση για την αύξηση όγκων<sup>5-8</sup>. Η 2-ME2 επάγει επίσης την απόπτωση αρτηριακών ενδοθηλιακών κυττάρων κατά ένα χρόνο- και δόσο-εξαρτώμενο τρόπο και αναστέλλει τη μετανάστευση τους *in vitro*<sup>9,10</sup>. Επιπλέον, η χορήγηση 2-ME2 σε ζώα αναστέλλει την αγγειογένεση όγκων και καταστέλλει την αύξηση τους *in vivo*<sup>6-8</sup>. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η 2-ME2 είναι ο πιο ισχυρός μη πρωτεϊνικός αναστολέας της αγγειογένεσης *in vitro* και η αντί-αγγειογενετική της δράση είναι εξαιρετικά εξειδικευμένη και δεν εμφανίζεται σε



**Σχήμα 1.** Δομές των μεθυλιωμένων κατεχολικών μεταβολιτών της οιστραδιόλης και σχηματισμός της 2-μεθοξυιστραδιόλης. (A) Δομή της 17β-Οιστραδιόλης (E<sub>2</sub>) και της 2-μεθοξυιστραδιόλης (2MeO-E<sub>2</sub>). (B) Δομές των μονομεθυλιωμένων κατεχολικών μεταβολιτών της οιστραδιόλης. Η οιστραδιόλη υδροξυλιώνεται προς κατεχόλες (2- και 4-υδροξυιστραδιόλη) κυρίως από το κυτόχρωμα P450 που μεθυλιώνονται στο οξυγόνο της θέσης 2 από την κατεχολο-*O*-μεθυλομεταφοράση (COMT) προς σχηματισμό μεταβολιτών μονο-μεθοξυιστραδιόλης. Η 2- και η 4-μεθοξυιστραδιόλη είναι από τα πιο σημαντικά μεθυλιωμένα ισομερή, που σχηματίζονται από τις αντίστοιχες κατεχόλες. 2-OH-E<sub>2</sub>, 2-υδροξυιστραδιόλη; 4-OH-E<sub>2</sub>, 4-υδροξυιστραδιόλη; 2-MeO-E<sub>2</sub>, 2-μεθοξυιστραδιόλη; 2-OH-3-MeO-E<sub>2</sub>, 2-υδροξυιστραδιόλη-3-μεθυλαιθέρας; 4-MeO-E<sub>2</sub>, 4-μεθοξυιστραδιόλη; 4-OH-MeO-E<sub>2</sub>, 4-υδροξυιστραδιόλη-3-μεθυλαιθέρας.

άλλα δομικά ανάλογα της<sup>6</sup>. Η ισχυρή αντί-αγγειογενετική δράση της 2-ME2 καθώς και η έντονη κυτταροστατική δράση της στην ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων στην καλλιέργεια, συνεισφέρουν στις ανασταλτικές ιδιότητες της 2-ME2 στην αύξηση όγκων σε πειραματόζωα<sup>6-9</sup>.

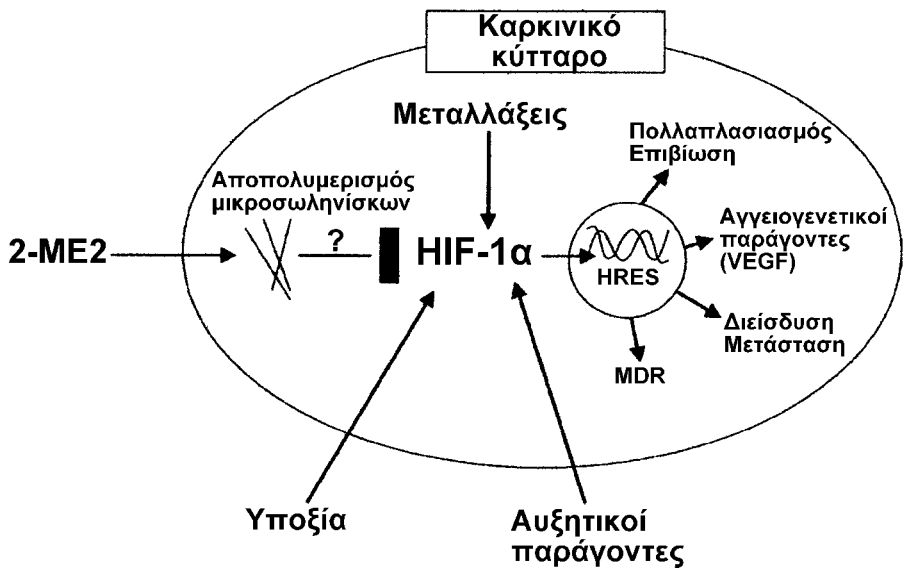
Μελέτες έδειξαν ότι η 2-ME2 αναστέλλει την αύξηση και επάγει την απόπτωση πολλών ανθρώπινων καρκινικών κυτταρικών σειρών *in vitro*<sup>1-6,9-27</sup>, χωρίς να επηρεάζει τη συμπεριφορά φυσιολογικών κυττάρων<sup>10-15</sup>, ειδικότερα αν βρίσκονται σε υψηλή κυτταρική πυκνότητα στην καλλιέργεια.

**Αντί-μιτωτικοί μηχανισμοί δράσης της 2-μεθοξυιστραδιόλης**

Οι αντί-μιτωτικοί μηχανισμοί δράσης της 2-ME2 δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Ένας από τους αντί-μιτωτικούς μηχανισμούς δράσης της 2-ME2 οφείλεται στην αναστολή του πολυμερισμού της σωληνίνης (τουμπουλίνης). Η 2-ME2 αλληλεπιδρά με τη θέση πρόσδεσης της κολχικίνης στη β-σωληνίνη και αναστέλλει τον πολυμερισμό των

μικροσωληνίσκων επάγοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την διακοπή της μίτωσης<sup>5</sup>. Η χορήγηση 2-ME2 σε κύτταρα Jurkat προκάλεσε τη διακοπή της μίτωσης στη G2/M φάση του κυτταρικού κύκλου, όμως τα χρωμοσώματα των κυττάρων παρέμειναν παραταγμένα στον ισημερινό της ατράκτου, υποδηλώνοντας ενδεχόμενη λειτουργική βλάβη της δυναμικής της μιτωτικής ατράκτου. Η διακοπή της αύξησης των κυττάρων στη G2/M φάση από την 2-ME2 συνοδεύτηκε από την αύξηση των επιπέδων της κυκλίνης B και της δραστηκότητας της κυκλινο-εξαρτώμενης κινάσης, *cdc2*<sup>16</sup>. Πρόσφατες, όμως μελέτες έδειξαν ότι η διάσπαση των μικροσωληνίσκων του κυτταροσκελετού από τη 2-ME2 οδήγησε στη μειορρύθμιση του HIF-1α και επομένως στην αναστολή της έκφρασης του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, VEGF, με αποτέλεσμα την αναστολή της αγγειογένεσης<sup>9</sup> (Σχήμα 2).

Περαιτέρω έρευνες έδειξαν ότι η χορήγηση 2-ME2 οδήγησε στη διακοπή της αύξησης στη G2/M φάση του κυτταρικού κύκλου διαφόρων καρκινικών κυττάρων, όπως μετασχηματισμένων ανθρώπινων ινοβλαστών<sup>15</sup>, καρκίνου του προστά-



**Σχήμα 2.** Μοντέλο των επιδράσεων της 2-ME2 στους κυτταρικούς μικροσωληνίσκους και στον HIF-1α σε καρκινικά κύτταρα. Η ρύθμιση της ενεργότητας του HIF-1α διατηρείται με τη γρήγορη αποικοδόμηση του. Τα κυτταρικά επίπεδα του HIF-1α αυξάνονται με την υποξία και σε μερικά κύτταρα σαν αποτέλεσμα της χορήγησης αυξητικών παραγόντων ή μεταλλάξεων. Η 2-ME2 αναστέλλει την κυτταρική συνάθροιση του HIF-1α κάτω από φυσιολογικές συνθήκες και συνθήκες υποξίας. Η αναστολή του HIF-1α ελαττώνει τη μετατόπιση του στον πυρήνα με αποτέλεσμα την αναστολή της μεταγραφής γονιδίων που φέρουν στοιχεία HRES (hypoxia response elements). Η 2-ME2 αναστέλλει επομένως τη μεταγραφή και την έκκριση του VEGF καθώς επίσης και άλλων γονιδίων που ελέγχονται από τον HIF-1α και εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση, τη μετάσταση και τη χημειοανθεκτικότητα καρκινικών κυττάρων. Οι επιδράσεις της 2-ME2 στον HIF-1α σχετίζονται με τον αποπολυμερισμό των μικροσωληνίσκων<sup>3,10</sup>.

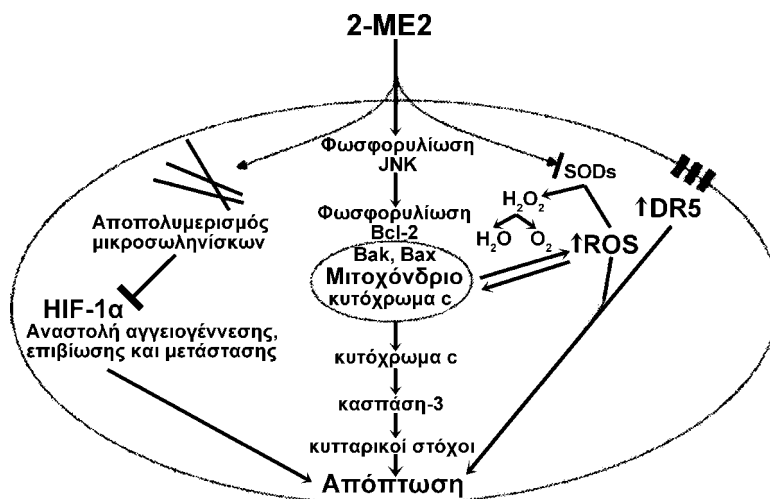
τη<sup>12,13,19</sup>, γαστρικού καρκινώματος<sup>20</sup>, πολλαπλού μυελώματος<sup>21</sup>, μελανώματος<sup>14</sup> και μυελοβλαστώματος<sup>17</sup>. Η διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη G2/M φάση χαρακτηρίστηκε από την επαγωγή της αύξησης των επιπέδων της κυκλίνης B και της έκφρασης και φωσφορυλίωσης της cdc2 κινάσης σε ορισμένους<sup>12,14,16</sup> αλλά όχι σε άλλους κυτταρικούς τύπους<sup>17,18</sup>.

Αντίθετα, η χορήγηση 2-ME2 σε καρκινικά κύτταρα παγκρέατος οδήγησε στην επιμήκυνση της S-φάσης<sup>22</sup>, ενώ σε καρκινικά κύτταρα μαστού προκάλεσε τη συσσώρευση τους στη G1 φάση<sup>23</sup>. Η 2-ME2 προκάλεσε επίσης τη διακοπή της κυτταρικής αύξησης οστεοσαρκωματικών κυττάρων στις G1/S και G2/M φάσεις του κυτταρικού κύκλου όταν χορηγήθηκε σε χαμηλές και υψηλές δόσεις, αντίστοιχα<sup>24</sup> καθώς επίσης και σε παγκρεατικές καρκινικές κυτταρικές σειρές<sup>25</sup>. Επιπλέον, η 2-ME2 ανέστειλε την αύξηση και επήγαγε την απόπτωση ανθρώπινων καρκινικών κυτταρικών σειρών πνεύμονα<sup>11,26</sup> και προστάτη<sup>13</sup>, χωρίς να επηρεάζει την πορεία του κυτταρικού κύκλου τους. Είναι φανερό ότι η 2-ME2 ακολουθεί ποικίλους μηχανισμούς αναστολής του πολλαπλασιασμού διαφόρων καρκινικών κυττάρων in vitro, επάγοντας τη διακοπή της αύξησης στις G1/S και G2/

M φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Όμως, οι μοριακοί στόχοι της 2-ME2 που εμπλέκονται στη διακοπή της προόδου του κυτταρικού κύκλου παραμένουν εν πολλοίς άγνωστοι.

### Αποπτωτικοί μηχανισμοί δράσης της 2-μεθοξυιστραδιόλης

Η 2-ME2 επάγει απόπτωση σε πολλούς διαφορετικούς τύπους καρκινικών κυττάρων μέσω διαφορετικών μοριακών μηχανισμών. Ένας από αυτούς τους μηχανισμούς είναι η αναστολή των δισμουτασών του σουπεροξειδίου (SOD's). Τα ένζυμα αυτά είναι απαραίτητα για τη μετατροπή του ανιόντος του σουπεροξειδίου ( $O_2^{\cdot-}$ ) σε υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και  $O_2$ , προστατεύοντας έτσι τα κύτταρα από βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου. Η αναστολή των SOD's από τη 2-ME2 προκαλεί την ενδοκυττάρια συσσώρευση του  $O_2^{\cdot-}$  και οδηγεί στην καταστροφή των μεμβρανών των μιτοχονδρίων από ελεύθερες ρίζες και την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια με αποτέλεσμα την επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων (Σχήμα 3). Επομένως η στόχευση των SOD's από τη 2-ME2 μπορεί να οδη-



**Σχήμα 3.** Σχηματική παρουσίαση των κυτταρικών μηχανισμών με τους οποίους η 2-ME2 ασκεί την αντί-καρκινογόνο και αντι-αγγειογενετική δράση της. Η 2-ME2 αποπυρηνώνει τους μικροσωληνίσκους και αναστέλλει την έκφραση και την πυρηνική μετατόπιση του HIF-1α με αποτέλεσμα την αναστολή της αγγειογένεσης, επιβίωσης και μετάστασης των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, η 2-ME2 οδηγεί στη φωσφορυλίωση (άμεση ή έμμεση) της JNK και της αντί-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2 με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση της που οδηγεί στην απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια και στην ενεργοποίηση της μιτοχονδριακής αποπτωτικής πορείας. Η 2-ME2 ενεργοποιεί επίσης σε ορισμένους κυτταρικούς τύπους την εξωτερική πορεία απόπτωσης διαμέσου της ενεργοποίησης των υποδοχέων θανάτου DR5. Σε λευχαιμικά κύτταρα, η 2-ME2 αναστέλλει τις δισμουτάσες του υπεροξειδίου (SODs; Cu-Zn SOD και Mn-SOD) με αποτέλεσμα την ενδοκυττάρια συσσώρευση δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) που οδηγούν σε κυτταρικές βλάβες και βλάβες στο DNA.

γήσει στην επιλεκτική θανάτωση των καρκινικών κυττάρων<sup>10,27</sup>.

Μεταξύ των πρωτεϊνών που ρυθμίζουν την απόπτωση και τη λειτουργία των μιτοχονδρίων είναι τα μέλη της υπεροικογένειας της Bcl-2, που περιλαμβάνει δυο κύριες ανταγωνιστικές ομάδες πρωτεϊνών: τις αντί-αποπτωτικές πρωτεΐνες όπως Bcl-2 και Bcl-X<sub>L</sub> και τις προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες όπως Bak και Bax. Οι πρώτες προάγουν, ενώ οι δεύτερες μειώνουν την επιβίωση των κυττάρων που εκθέτονται σε διάφορους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Η ισορροπία μεταξύ αυτών των δυο λειτουργικών ομάδων πρωτεϊνών παίζει καθοριστικό ρόλο στην απόκριση των κυττάρων σε αποπτωτικά ερεθίσματα. Ο λόγος, δηλαδή, αντί-προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών καθορίζει τη σχετική ευαισθησία ή ανθεκτικότητα των κυττάρων σε ένα ευρύ φάσμα αποπτωτικών διεγερτών<sup>28,29</sup>.

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα αντί-αποπτωτικά μέλη της υπεροικογένειας της Bcl-2 εμπλέκονται στην απόπτωση που επάγεται από τη 2-ME2<sup>13,30-32</sup> (Σχήμα 3). Οι αντί-αποπτωτικές πρωτεΐνες Bcl-2<sup>13,30,31</sup> και Bcl-X<sub>L</sub><sup>32</sup> μπορούν να απενεργοποιηθούν με φωσφορυλίωση στα κατάλοιπα σερίνων Ser70 και Ser62, αντίστοιχα. Η φωσφορυλιωμένη Bcl-2 δεν έχει πλέον την ικανότητα να προστατεύει τα κύτταρα από την απόπτωση<sup>33</sup>. Η φωσφορυλίωση της Bcl-2 μπορεί να επαχθεί από φάρμακα που επιδρούν στην ακεραιότητα/σταθερότητα των μικροσωληνίσκων, όπως η ταξόλη ή 2-ME2 παρεμποδίζοντας την πρόσδεση της στη Bax και επομένως την απενεργοποίηση της δεύτερης, με αποτέλεσμα να οδηγούνται προς απόπτωση<sup>13,30-34</sup> (Σχήμα 3). Βλάβες των μικροσωληνίσκων οδηγούν στη φωσφορυλίωση και την απενεργοποίηση της Bcl-2<sup>35</sup>. Η φωσφορυλίωση και ακόλουθα η απενεργοποίηση της Bcl-2 μετά τη χορήγηση 2-ME2 πιθανά να διεξάγεται από τη JNK (Σχήμα 3) και συσχετίζεται με την απόπτωση λευχαιμικών ερυθρομυελικών<sup>30</sup> και προστατικών καρκινικών κυττάρων<sup>13,31</sup>. Η χορήγηση της 2-ME2 σ' αυτές τις κυτταρικές σειρές, οδηγεί στη φωσφορυλίωση της Bcl-2 και της JNK, η χρονική στιγμή όμως της τροποποίησης αυτής είναι διαφορετική για τις δυο πρωτεΐνες, που υποδηλώνει ότι η JNK δεν είναι άμεσα υπεύθυνη για την φωσφορυλίωση της Bcl-2<sup>30</sup>. Ανεξάρτητα όμως απ' αυτό το γεγονός, η χορήγηση 2-ME2 προκαλεί την ενεργοποίηση της JNK και τη φωσφορυλίωση της Bcl-2 με αποτέλεσμα την απόπτωση καρκινικών κυττάρων προστάτη<sup>13,31</sup>. Επιπλέον, σε κύτταρα πολλαπλού μυελώματος, η

αναστολή της ενεργοποίησης της JNK από τη 2-ME2 δεν ανέστειλε πλήρως την απόπτωση των κυττάρων μέσω της μιτοχονδριακής πορείας<sup>36</sup>, το οποίο δείχνει ότι η 2-ME2 ενεργοποιεί διαφορετικές πορείες απόπτωσης που εξαρτάται από τον κυτταρικό τύπο, όπως την εξωτερική πορεία απόπτωσης διαμέσου των υποδοχέων θανάτου<sup>1,2</sup>.

### In vivo πειράματα

Η αντί-αγγειογενετική και αντί-καρκινογόνος δράση της 2-ME2 in vitro και in vivo χαρακτηρίστηκε περίπου εδώ και 12 χρόνια<sup>6</sup>. Fotsis et al. (1994)<sup>6</sup> έδειξαν ότι η δια στόματος χορήγηση της 2-ME2 (100mg/kg βάρους) σε ποντίκια στα οποία είχαν ενέσιμα εισαχθεί υποδόρια MethA κύτταρα σαρκώματος ή B16 κύτταρα μελανώματος ανέστειλε την νέο-αγγείωση και την αύξηση των όγκων, μελέτες που επιβεβαιώθηκαν αργότερα με ενδοθηλιακά καρκινικά κύτταρα<sup>8</sup> και καρκινικά κύτταρα μαστού<sup>7,37,38</sup> χρησιμοποιώντας 5 mg/kg βάρους ημερησίως<sup>38</sup>. Όμοια αποτελέσματα έδωσαν μελέτες με ζωικά μοντέλα μεταστατικού καρκίνου πνεύμονα<sup>39</sup> και παγκρέατος<sup>22</sup> χρησιμοποιώντας 75mg/kg βάρους 2-ME2. Σε αντίθεση, σε ένα ορθοτοπικό μοντέλο καρκίνου του παγκρέατος, η 2-ME2 ήταν μη αποτελεσματική και δεν είχε αντί-καρκινογόνο και αντί-αγγειογενετική δράση<sup>40</sup>. Να σημειωθεί ότι τα παγκρεατικά καρκινικά κύτταρα είναι ανθεκτικά σε πολλά χημειοθεραπευτικά και οι όγκοι του παγκρέατος δύσκολα αντιμετωπίζονται. Η 2-ME2 είναι αποτελεσματική σε μερικές καρκινικές σειρές παγκρέατος αλλά όχι σε όλες<sup>25</sup>. Η 2-ME2 ήταν επίσης αποτελεσματική σε ένα μοντέλου καρκίνου του προστάτη αρουραίου όταν χορηγήθηκε σε δόση 12.5 mg/kg βάρους ημερησίως για 12 ημέρες<sup>13</sup>. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν επίσης ότι η 2-ME2 ανέστειλε την αύξηση όγκων και την αγγειογένεση όταν χορηγήθηκε σε συγκεντρώσεις που επιφέρουν θλάβες στους μικροσωληνίσκους, πιθανά διαμέσου της μετά-μεταγραφικής μιορρύθμισης του HIF-1α και επομένως του VEGF που επάγεται από τον HIF-1α<sup>9</sup>.

Σε σχέση με την τοξικότητα της 2-ME2 μελέτες σε αρουραίους και σκύλους έδειξαν ότι σε υψηλή συγκέντρωση 300 mg 2-ME2/kg βάρους ημερησίως για 29 ημέρες παρατηρήθηκαν ιστοπαθολογικές μεταβολές στο ήπαρ και στο αναπαραγωγικό σύστημα των αρουραίων, ενώ η χορήγηση 90 mg 2-ME2/kg βάρους σε σκύλους δεν επήγαγε τοξικότητα ή μεταβολές των κλινικών παραμέτρων<sup>23</sup>. Συνολικά οι παραπάνω μελέτες

έδειξαν ότι η 2-ME2 είναι αποτελεσματική για την αντιμετώπιση διαφορετικών τύπων καρκίνων χωρίς να επιφέρει σημαντική τοξικότητα στα ζώα.

### Κλινικές δοκιμές

Δύο θαυμάσια άρθρα ανασκόπησης καλύπτουν τα αποτελέσματα των κλινικών δοκιμών φάσης I και II που πραγματοποιήθηκαν ως το 2003<sup>41,42</sup>. Οι πολλαπλές κλινικές δοκιμές φάσης I και II σε καρκίνους μαστού και προστάτη έδειξαν ότι η 2-ME2 είναι ανεκτή και αποτελεσματική στοχεύοντας τόσο τα καρκινικά κύτταρα όσο και το ενδοθήλιο του όγκου επάγοντας την απόπτωση των ενεργά πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων και αναστέλλοντας την αγγειογένεση, μειώνοντας ή παρεμποδίζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο τη μεταστατική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων<sup>41,42</sup>. Ειδικότερα μια κλινική δοκιμή φάσης I της 2-ME2 που πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο της Indiana σε 31 ασθενείς με ανιάτο μεταστατικό καρκίνο του μαστού στις οποίες χορηγήθηκαν 200-1000 mg 2-ME2 ημερησίως ή 200-8000 mg 2-ME2 ανά 12 ώρες για 28 ημέρες έδειξε σημαντική μείωση πόνου των οστών και σε μικρότερο ποσοστό πλήρη αναλγησία χωρίς σημαντικές ενδείξεις τοξικότητας<sup>41,42</sup>. Άλλη μια κλινική δοκιμή φάσης I της 2-ME2, στα Πανεπιστήμια της Indiana και Purdue που χορηγήθηκε σε δόσεις 200 – 1000 mg ημερησίως σε συνδυασμό με ταξόλη (35 mg/m<sup>2</sup> εβδομαδιαίως) για 28 ημέρες σε 15 ασθενείς με ανιάτο μεταστατικό καρκίνο μαστού δεν έδειξε σημαντική τοξικότητα<sup>43</sup>. Σε μια κλινική δοκιμή φάσης II στα Πανεπιστήμια του Wisconsin και της Indiana με 33 ασθενείς με μη ορμονο-εξαρτώμενο μεταστατικό καρκίνο του προστάτη (HRPC; Hormone-refractory prostate cancer) στους οποίους χορηγήθηκαν 400 ή 1200 mg 2-ME2 ημερησίως για 28 ημέρες έδειξε ότι η 2-ME2 ήταν ανεκτή με ενδείξεις αντί-καρκινογόνου και αντί-αγγειογενετικής δράσης και το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) σταθεροποιήθηκε και μειώθηκε σταδιακά<sup>43</sup>. Μια δεύτερη κλινική δοκιμή φάσης II στην κλινική Mayo και στο Αντικαρκινικό Ινστιτούτο Dana Farber, με 51 ασθενείς ανιάτου πολλαπλού μυελώματος στους οποίους χορηγήθηκαν 1000 mg 2-ME2 ημερησίως ή 800 mg δύο φορές την ημέρα έδειξε ότι η 2-ME2 ήταν ανεκτή αλλά δεν υπήρχε σημαντική απόκριση μολονότι η νόσος σταθεροποιήθηκε και η επιβίωση αυξήθηκε κατά 24% για ένα χρόνο<sup>43</sup>. Πρόσφατα ο οργανισμός τροφίμων και φαρμάκων (Food and Drug Administration; FDA) των ΗΠΑ

ενέκρινε την αίτηση της εταιρείας EntreMed, Inc., βασισμένη σε in vitro και προκλινικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο Εθνικό Αντικαρκινικό Ινστιτούτο (National Cancer Institute) των ΗΠΑ, για τη χρήση της 2-ME2 (Panzem® capsules), που χαρακτηρίστηκε ως 'ορφανό φάρμακο', στη θεραπεία καρκίνου των ωοθηκών<sup>43</sup>.

### Συμπεράσματα κα Μελλοντικές κατευθύνσεις

Η 2-ME2 είναι ένας μη-τοξικός φυσιολογικός μεταβολίτης των ενδογενών ιστρογόνων κυρίως της 17β-ιστραδιόλης που απαντάται στο ανθρώπινο αίμα και στα ούρα. Οι συγκεντρώσεις της 2-ME2 στον ορό κυμαίνονται από 10,3 pg/ml στους άνδρες ως 3,768 pg/ml στα νεογνήνητα και στις εγκύους<sup>23</sup>. Η 2-ME2 έχει αντί-μιτωτική, αποπτωτική και αντί-αγγειογενετική δράση σε καρκινικά αλλά όχι σε φυσιολογικά κύτταρα και αυτές οι επιδράσεις της σε συνάρτηση με την απουσία τοξικότητας την καθιστούν έναν πολύ υποσχόμενο και αποτελεσματικό αντί-νεοπλασματικό παράγοντα<sup>41-43</sup>. Η δυνατότητα της ως χημειοθεραπευτικός παράγοντας έχει αναφερθεί in vitro σε διάφορες καρκινικές σειρές αλλά και in vivo τόσο σε ζωικά μοντέλα καρκίνου του μαστού, του πνεύμονα και του παγκρέατος<sup>34</sup>, όσο και σε κλινικές δοκιμές σε μεταστατικούς καρκίνους μαστού και προστάτη με ενθαρρυντικά αποτελέσματα, χαμηλή τοξικότητα και χωρίς σημαντικές παρενέργειες<sup>41-43</sup>.

Παρ' όλες τις in vitro και in vivo μελέτες και τις επιδράσεις της στον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων, οι ακριβείς μηχανισμοί δράσης της 2-ME2 δεν έχουν αποσαφηνιστεί. Καθίσταται επομένως προφανές ότι η ανάπτυξη χημειοθεραπευτικών φαρμάκων 2-μεθοξυιστραδιόλης θα πρέπει να συνοδεύεται και από την κατανόηση των μηχανισμών δράσης της ώστε να δύναται να χρησιμοποιηθεί σε συνάρτηση και με άλλα χημειοθεραπευτικά για τη θεραπεία διαφόρων τύπων και μορφών καρκίνου. Η κατανόηση της ενεργοποίησης της πορείας μεταγωγής σήματος από τη 2-ME2 που οδηγεί στη μεταβολή της έκφρασης/σταθερότητας πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης καθώς επίσης και ο χαρακτηρισμός των μοριακών στόχων της θα συμβάλλει στην αποσαφήνιση του μηχανισμού δράσης της. Ιδιαίτερης σημασίας είναι επίσης η αξιολόγηση τόσο των αποκρίσεων όσον και των επιδράσεων της 2-ME2 μακροχρόνια καθώς επίσης και το ερώτημα που τίθεται αν

οι ασθενείς θα εμφανίσουν χημειοανθεκτικότητα στο Panzem®.

### Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας στο πλαίσιο Διακρατικής Συμφωνίας μεταξύ Ελλάδας και Κύπρου (ΑΠ: 12897/03/11-2-3004).

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Mooberry SL. (2003). New insights into 2-methoxyestradiol, a promising antiangiogenic and antitumor agent. *Curr. Op. Oncol.* 15, 425-430.
- Mooberry SL. (2003). Mechanism of action of 2-methoxyestradiol: new developments. *Drug Resistance Updates* 6, 355-361.
- Carothers AM, Hughes SA, Ortega D, Bertagnolli MM. (2002). 2-methoxyestradiol induces p53-associated apoptosis of colorectal cancer cells. *Cancer Lett.* 187, 77-86.
- La Vallee TM, Zhan XH, Herbstritt CJ, Kough FC, Green SJ, Pribluda VS. (2002). 2-methoxyestradiol inhibits proliferation and induces apoptosis independently of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Cancer Res.* 62, 3691-3697.
- D'Amato RJ, Lin CM, Flynn E, Folkman J and Hamel E. (1994). 2-methoxyestradiol, an endogenous mammalian metabolite, inhibits tubulin polymerization by interacting at the colchicine site. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 3964-3968.
- Fotsis T, Zhang Y, Pepper MS, Adlercreutz H, Montesano R, Nawroth PP, Schweigerer L. (1994). The endogenous oestrogen metabolite 2-methoxyestradiol inhibits angiogenesis and suppress tumour growth. *Nature* 368, 237-239.
- Klauber N, Parangi S, Flynn E, Hamel E, D'Amato RJ. (1997). Inhibition of angiogenesis and breast cancer in mice by microtubule inhibitors 2-methoxyestradiol and taxol. *Cancer Res.* 57, 81-86.
- Yue TL, Wang X, Loudon CS, Gupta S, Pillarsetti K, Gu JL, Hart TK, Lysko PG, Feuerstein GZ. (1997). 2-methoxyestradiol, an endogenous estrogen metabolite, induces apoptosis in endothelial cells and inhibits angiogenesis: possible role for stress-activated signaling pathway and Fas expression. *Mol. Pharmacol.* 51, 951-962.
- Mabjeesh NJ, Escuin D, LaValle TM, Pribluda VS, Stewart GM, Johnson MS, Willard MT, Zhong H, Simons JW, Giannakakou P. (2003). 2-ME2 inhibits tumor growth and angiogenesis by disrupting microtubules and dysregulating HIF. *Cancer Cell* 3, 363-375.
- Huang P, Feng L, Oldham EA, Keating MJ, Plunkett W. (2000). Superoxide dismutase as a target for killing of cancer cells. *Nature* 407, 390-395.
- Mukhopadhyay T, Roth JA. (1997). Induction of apoptosis in human cancer cells after wild-type p53 activation by methoxyestradiol. *Oncogene* 14, 379-384.
- Kumar AP, Garcia GE, Slaga TJ. (2001). 2-methoxyestradiol blocks cell cycle progression at G2/M phase and inhibits growth of human prostate cancer cells. *Mol. Carcinog.* 31, 111-124.
- Bu S, Blaukat A, Fu X, Heldin N-E, Landström M. (2002). Mechanisms for 2-methoxyestradiol-induced apoptosis of prostate cancer cells. *FEBS Lett.* 531, 141-151.
- Ghosh R, Ott AM, Seetharam D, Slaga TJ, Kumar AP. (2003). Cell cycle block and apoptosis induction in a human melanoma cell line following treatment with 2-methoxyestradiol: therapeutic implications. *Melanoma Res.* 13, 119-127.
- Seegers JC, Lottering ML, Grobler CJ, van Papendorp DH, Habbersett RC, Shou Y, Lehnert BE. (1997). The mammalian metabolite, 2-methoxyestradiol, affects p53 levels and apoptosis induction in transformed cells but not in normal cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 62, 253-267.
- Attalla H, Mðkelð TP, Adlercreutz H, Andersson LC. (1996). 2-methoxyestradiol arrests cells in mitosis without depolymerising tubulin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 228, 467-473.
- Kumar AP, Garcia GE, Orsborn J, Levin VA, Slaga TJ. (2003). 2-methoxyestradiol interferes with NF- $\kappa$ B transcriptional activity in primitive neuroectodermal brain tumours: implications for management. *Mol. Carcinog.* 24, 209-216.
- Zoubine MN, Weston AP, Johnson DC, Campbell DR, Banerjee SK. (1999). 2-methoxyestradiol-induced growth suppression and lethality in estrogen responsive MCF-7 cells may be mediated by downregulation of p34<sup>cdc2</sup> and cyclin B1 expression. *Int. J. Oncol.* 15, 639-646.
- Qadan LR, Perez-Stable CM, Abderson C, D'Ippolito G, Herron A, Howard GA, Roos BA. (2001). 2-methoxyestradiol induces G2/M arrest and apoptosis in prostate cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 285, 1259-1266.
- Lin HL, Liu TY, Wu VW, Chi CW. (2001). 2-methoxyestradiol-induced caspase-3 activation and apoptosis occurs through G2/M arrest dependent and independent pathways in gastric carcinoma cells. *Cancer* 92, 500-509.
- Dingli D, Timm M, Russell SJ, Witzig TE, Rajkumar SV. (2002). Promising preclinical activity of

- 2-methoxyestradiol in multiple myeloma. *Clin. Cancer Res.* 8, 3948-3954.
22. Schumacher G, Kataoka M, Roth JA, Mukhopadhyay T. (1999). Potent antitumor activity of 2-methoxyestradiol in human pancreatic cancer cell lines. *Clin. Cancer Res.* 5, 493-499.
23. Schumacher G, Neuhaus P. (2001). The physiological estrogen metabolite 2-methoxyestradiol reduces tumour growth and induces apoptosis in human solid tumors. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 127, 405-410.
24. Golebiewska J, Rozwadowski P, Spodnik JH, Knap N, Wakabayashi Y, Wozniak M. (2002). Dual effect of 2-methoxyestradiol on cell cycle events in human osteosarcoma 143b cells. *Acta Biochim. Pol.* 49, 59-65.
25. Qanungo S, Basu A, Das M, Haldar S. (2002). 2-methoxyestradiol induces mitochondrial dependent apoptotic signalling in pancreatic cancer cells. *Oncogene* 21, 4149-4157.
26. Mukhopadhyay T, Roth JA. (1998). Superinduction of wild-type p53 protein after 2-methoxyestradiol treatment of Adp53-transduced cells induces tumor cell apoptosis. *Oncogene* 16, 241-246.
27. Chauhan D, Li G, Sattler M, Podar K, Mitsiades C, Mitsiades N, Munshi N, Hideshima T, Anderson KC. (2003). Superoxide-dependent and independent mitochondrial signalling during apoptosis in multiple myeloma. *Oncogene* 22, 6296-6300.
28. Hengartner MO. (2000). The biochemistry of apoptosis. *Nature* 407, 770-776.
29. Cory S, Adams JM. (2002). The Bcl-2 protein family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat. Rev. Cancer* 2, 647-656.
30. Attalla H, Westberg JA, Andersson LC, Adlercreutz H, Møkelø TP. (1998). 2-methoxyestradiol-induced phosphorylation of Bcl-2: Uncoupling from JNK/SAPK activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 247, 616-619.
31. Shimada K, Nakamura M, Ishida E, Kishi M, Konishi N. (2003). Roles of p38- and c-jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase-mediated pathways in 2-methoxyestradiol-induced p53 induction and apoptosis. *Carcinogenesis* 24, 1067-1075.
32. Basu A, Haldar S. (2003). Identification of a novel Bcl-X<sub>L</sub> phosphorylation site regulating the sensitivity of taxol- or 2-methoxyestradiol-induced apoptosis. *FEBS Lett.* 538, 41-47.
33. Haldar S, Jena N, Croce CM. (1995). Inactivation of Bcl-2 by phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 4507-4511.
34. Haldar S, Chintapalli J, Croce CM. (1996). Taxol induces bcl-2 phosphorylation and death of prostate cancer cells. *Cancer Res.* 56, 1253-1255.
35. Blagosklonny MV, Giannakakou P, El-Deiry WS, Kingston DG, Higgs PI, Neckers LM, Fojo T. (1997). Raf/Bcl-2 phosphorylation: a step from microtubule damage to cell death. *Cancer Res.* 57, 130-135.
36. Chauhan D, Li G, Hideshima T, et al. (2003). JNK-dependent release of mitochondrial protein Smac, during apoptosis in multiple myeloma [MM] cells. *J. Biol. Chem.* 278, 17593-17596.
37. Zhu BT, Conney AH. (1998). Is 2-methoxyestradiol an endogenous estrogen metabolite that inhibits mammary carcinogenesis. *Cancer Res.* 58, 2269-2277.
38. Lippert TH, Adlercreutz H, Berger MR, Seeger H, Elger W, Mueck AO. (2003). Effect of 2-methoxyestradiol on the growth of methyl-nitroso-urea (MNU)-induced rat mammary carcinoma. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 84, 51-56.
39. Kataoka M, Schumacher G, Cristiano RJ, Atkinson EN, Roth JA, Mukhopadhyay T. (1999). An agent that increases tumor suppressor transgene product coupled with systemic transgene delivery inhibits growth of metastatic lung cancer in vivo. *Cancer Res.* 58, 4761-4765.
40. Ryschich E, Werner J, Gebhard MM, Klar E, Schmidt J. (2003). Angiogenesis inhibition with TNP-470, 2-methoxyestradiol, and paclitaxel in experimental pancreatic carcinoma. *Pancreas* 26, 166-172.
41. Pribluda VS, Gubish ER Jr, LaVallee TM, Treston A, Swartz GM, Green SJ. (2000). 2-methoxyestradiol: an endogenous antiangiogenic and antiproliferative drug candidate. *Cancer Metastasis Rev.* 19, 173-179.
42. Lakhani NJ, Sarkar MA, Venitz J, Figg WD. (2003). 2-methoxyestradiol, a promising anticancer agent. *Pharmacotherapy* 23, 165-172.
43. www.entremed.com

# Μοριακή τοπογραφική ανάλυση καρκινικού πεδίου

Δ. Ηλιόπουλος<sup>1,3,\*</sup>, Γ. Πουλτοΐδης<sup>2</sup>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Κακοήθεις συμπαγείς όγκοι υποτροπιάζουν μετά από χειρουργική αφαίρεση με μικροσκοπικά καθαρά όρια σε ποσοστό που ανέρχεται στο 50%. Τοπική υποτροπή ενός όγκου θεωρείται μη θεραπεύσιμη στην πλειονότητα των περιπτώσεων. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί υποτροπής δεν είναι αποσαφηνισμένοι και είναι απαραίτητη η διαλεύκανσή τους. Στοιχεία από κλινικές και μοριακές μελέτες δείχνουν ότι υπάρχουν κυρίως δύο διαφορετικοί μηχανισμοί υποτροπής. Αρχικά έχουμε την υποτροπή *in situ* η οποία εμφανίζεται στον υπολοιπόμενο ιστό μετά την πρωτογενή χειρουργική εκτομή. Επίσης υπάρχει η υποτροπή στην χειρουργική ουλή, ή όποια εμφανίζεται στο ίδιο σημείο. Το καρκινικό πεδίο, το οποίο χαρακτηρίζεται από την πολυκλωνική αντικατάσταση φυσιολογικού από γενετικά διαφοροποιημένο περιβάλλον επιθήλιο, είναι πιθανόν η αιτία προέλευσης της *in situ* υποτροπής. Από την άλλη πλευρά, η αιτία προέλευσης της υποτροπής ουλής είναι το αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης του ελάχιστου υπολοιπόμενου καρκινικού ιστού με το περιβάλλον του χειρουργικού τραύματος. Είναι απαραίτητη η ανάπτυξη ενός νέου τομέα, αυτού της μοριακής τοπογραφικής ανάλυσης έτσι ώστε να μπορούμε να διακρίνουμε τα διαφορετικά μοτίβα γονιδιακής έκφρασης μεταξύ καρκινικών κυττάρων και του παρακείμενου θεωρητικά “φυσιολογικού” ιστού. Επίσης, είναι αναγκαίο να ερευνηθούν οι μηχανισμοί αλληλεπίδρασης των καρκινικών κυττάρων με το περιβάλλον του τραύματος (ύστερα από χειρουργική αφαίρεση του όγκου). Η έρευνα σε αυτούς τους τομείς θα συμβάλει στην μείωση των καρκινικών υποτροπών. **Λέξεις ευρητηρίου:** καρκινικό πεδίο, υποτροπή, μοριακή τοπογραφική ανατομία. **Βήμα Κλινικής Ογκολογίας 2005, 4 (1-2):180-184.**

## Εισαγωγή

Σύμφωνα με στοιχεία της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (WHO), ο καρκίνος συνεχίζει να

είναι η δεύτερη πιο σημαντική αιτία θανάτου στις ανεπτυγμένες χώρες<sup>1</sup>. Στις περισσότερες μορφές καρκίνου, όπως στον καρκίνο του μαστού και του προστάτη, η αυξημένη θνησιμότητα οφείλεται κυρίως στην ύπαρξη μεταστάσεων. Παρόλο που πραγματοποιείται έντονη έρευνα για την εξεύρεση των παθολογικών μηχανισμών που οδηγούν στην επανεμφάνιση του καρκίνου, δυστυχώς μέχρι σήμερα πολύ λίγα πράγματα έχουν διαλευκανθεί. Η πλειοψηφία των συμπαγών κακοήθων όγκων αντιμετωπίζεται χειρουργικά στοχεύοντας σε μικροσκοπικώς αρνητικά χειρουργικά όρια εκτομής. Παρόλαυτα, όγκοι υποτροπιάζουν ύστερα από χειρουργική αφαίρεση με αρνητικά όρια εκτομής, σε ποσοστό 20-50%<sup>2,3,4</sup>. Συ-

<sup>1</sup>Comprehensive Cancer Center, School of Medicine, Ohio State University, Columbus, OH, USA; <sup>2</sup> Department of Surgery, University of Connecticut School of Medicine, Farmington, CT, USA. <sup>3</sup>Correspondence: 410 W. 12<sup>th</sup> Ave, Rm 463, Wiseman Hall, Ohio State University, Columbus, OH, USA. Phone: +1-614-688-3317; fax: +1-614-292-3312; email: [dimiliopou@yahoo.com](mailto:dimiliopou@yahoo.com).

\* Ο Δ.Η έλαβε βραβείο καλύτερου νέου ερευνητή στην έρευνα κατά του καρκίνου του μαστού από το Υπουργείο Εθνικής Αμύνης των ΗΠΑ (Breast Cancer Program, US Department of Defense) (2005).

μπληρωματική θεραπεία, όπως ακτινοβολία και χημειοθεραπεία συμβάλλουν στην μείωση της πιθανότητας υποτροπής.

Υπάρχουν δύο κυρίως μορφές υποτροπής, η *in situ* υποτροπή που εμφανίζεται σε ορισμένη απόσταση από υπολοιπόμενο όργανο μετά την χειρουργική επέμβαση και η υποτροπή ουλής που αναπτύσσεται ακριβώς στα όρια αφαίρεσης του όγκου. Είναι σημαντικός ο διαχωρισμός των δύο διαφορετικών τρόπων υποτροπής ενός όγκου καθώς γιατί έχουν διαφορετική προγνωστική αξία και εξέλιξη.

### Καρκινικό πεδίο και *in situ* υποτροπή ενός όγκου

Η παθογένεση της *in situ* υποτροπής μπορεί να ερμηνευτεί με βάση το φαινόμενο του “καρκινικού πεδίου” Η έννοια του καρκινικού πεδίου δεν είναι καινούργια. Η πρώτη αναφορά έγινε από τον Slaughter και συν<sup>5</sup> το 1953, ο οποίος καθόρισε το καρκινικό πεδίο στον καρκίνο του στόματος, ως αφανείς εστιακές προ-καρκινικές αλλοιώσεις του επιθηλίου που εκτέθηκαν στο ίδιο καρκινογόνο (π.χ καπνός). Αυτές οι αλλοιώσεις δεν είναι ανιχνεύσιμες με ιστοπαθολογική ανάλυση, αλλά μπορούν να ανιχνευτούν με μοριακή εξέταση γενετικών αλλαγών που σχετίζονται με την καρκινογένεση, όπως η ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο p53, ενσωμάτωση ιικού DNA, έλλειψη ετεροζυγωτίας (LOH), ή ακόμη και επιγενετικών αλλαγών, όπως είναι η μεθυλίωση διαφόρων ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Καρκινικό πεδίο έχει περιγραφεί για κακοήθεις όγκους του πνεύμονα, οισοφάγου, παχέως εντέρου, μαστού, ουροδόχου κύστης και στόματος<sup>6,7</sup>. Οι αλλοιώσεις αυτές προέρχονται από ένα ή και περισσότερους κλώνους. Ένα μονοκλωνικό πεδίο προέρχεται από ένα γενετικά διαφοροποιημένο αρχέγονο κύτταρο, το οποίο είχε συγκριτικό πλεονέκτημα ανάπτυξης σε σύγκριση με τα γειτονικά αρχέγονα κύτταρα, ενώ το πολυκλωνικό πεδίο μπορεί να προέρχεται από την ύπαρξη πολλαπλών ανεξάρτητων γενετικών αλλαγών στο ίδιο καρκινικό περιβάλλον.

Ύστερα από τη τοπική αφαίρεση ενός όγκου οι παραμένοντες παρακείμενοι ιστοί μπορεί να είναι φυσιολογικοί μικροσκοπικά, αλλά διαφοροποιημένοι γενετικά. Η συσσώρευση περαιτέρω γενετικών αλλαγών, όπως μεταλλάξεων ή επιγενετικών αλλαγών οδηγεί στην υποτροπή του όγκου. Αν τα όρια χειρουργικής αφαίρεσης του πρωτογενούς όγκου είναι σε περιοχή επιθηλίου

με γενετικές ή επιγενετικές αλλαγές, η υποτροπή είναι δυνητικά αποτέλεσμα του καρκινικού πεδίου.

Η ύπαρξη καρκινικού πεδίου μπορεί να ανιχνευθεί με διαφορές σύγχρονες τεχνικές βασισμένες στην αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR). Η ύπαρξη μεταλλάξεων στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 σε ασθενείς με καρκίνο κεφαλής-τραχήλου, ανίχνευσε την παρουσία γενετικών αλλαγών στα όρια της χειρουργικής εκτομής, τα οποία ήταν ελεύθερα κακοήθειας ιστοπαθολογικά<sup>8</sup>. Επίσης μικροσκοπικά μη ανιχνεύσιμος καρκίνος του τραχήλου της μήτρας μπορεί να εντοπιστεί με βάση την ύπαρξη ανάλυσης ακολουθίας ενσωματωμένου HPV DNA<sup>9</sup>. Όπως αναφέραμε και παραπάνω, εκτός από την ανίχνευση γενετικών αλλαγών, η ύπαρξη καρκινικού πεδίου μπορεί να διαπιστωθεί με την ανίχνευση επιγενετικών αλλαγών. Ο όρος “επιγενετικές αλλαγές” αφορά όλες τις κληρονομησιμες αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων που δεν κωδικοποιούνται από την ακολουθία του DNA<sup>10</sup>. Η μεθυλίωση πραγματοποιείται στο πέμπτο μόριο άνθρακα της αζωτούχου βάσης του DNA, κυτοσίνη, η οποία όμως βρίσκεται μπροστά από την βάση γουανίνη. Δινουκλεοτίδια κυτοσίνης-γουανίνης (CG sites) βρίσκονται σε μεγάλη συχνότητα στην ρυθμιστική περιοχή ενός γονιδίου. Τα περισσότερα ογκοκατασταλτικά γονίδια έχουν μεγάλη συχνότητα δινουκλεοτιδίων κυτοσίνης-γουανίνης. Σε ένα φυσιολογικό κύτταρο, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια εκφράζονται κανονικά και τα CG δινουκλεοτίδια στην ρυθμιστική τους περιοχή δεν είναι μεθυλιωμένα. Αντιθέτως, σε ένα καρκινικό κύτταρο αρκετά ογκοκατασταλτικά γονίδια δεν εκφράζονται επειδή τα CG δινουκλεοτίδια είναι μεθυλιωμένα και οι παράγοντες μεταγραφής δεν μπορεί να συνδεθούν στο DNA<sup>11</sup>. Αρκετές έρευνες αποδεικνύουν ότι η μεθυλίωση του DNA μπορεί να διαφοροποιήσει καρκινικό ιστό από προ-καρκινικό αλλά και φυσιολογικό ιστό με αρκετά μεγάλη ακρίβεια<sup>12,13,14</sup>.

Πρόσφατη έρευνα στο εργαστήριο μας<sup>15</sup> έδειξε ότι η μεθυλίωση ενός καινούργιου ογκοκατασταλτικού γονιδίου (WFOX) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης καθορισμού του καρκινικού πεδίου σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού αλλά και του πνεύμονα, αλλά και να διακρίνει καρκινικό από προ-καρκινικό και φυσιολογικό ιστό. Συγκεκριμένα, για τον καρκίνο του μαστού ανιχνεύσαμε μεθυλίωση του γονιδίου WFOX σε καρκινικό ιστό, αλλά και σε μη-καρκινικό παρακείμενο ιστό (ο

οποίος ήταν φυσιολογικός με βάση την ιστολογική ανάλυση), ενώ δεν ανιχνεύτηκε μεθυσίωση σε φυσιολογικό ιστό, ο οποίος βρισκόταν σε απόσταση σε σχέση με τον καρκινικό ιστό<sup>15</sup>. Με βάση τα στοιχεία αυτά αλλά και νέα δεδομένα μπορούσαμε να καθορίσουμε το καρκινικό πεδίο σε κάθε ασθενή και να ορίσουμε τοπογραφικά έναν επιγενετικό χάρτη μεταβολών (Εικόνα 1).

Παράλληλα με τον επιγενετικό χάρτη είναι απαραίτητο να καθοριστεί και ένας γενετικός χάρτης μεταβολών κυρίως με τη βοήθεια των μικροσυστοιχιών του DNA (DNA microarrays). Η ανίχνευση διαφορετικής γονιδιακής έκφρασης πολλαπλών δεικτών σε σχέση με την τοπογραφία του ιστού δημιουργεί το νέο και μελλοντικό πεδίο έρευνας, που ονομάζεται **μοριακή τοπογραφική ανατομία**. Το κυρίως ερώτημα που πρέπει να τεθεί είναι το εξής: Ποιά είναι η ακριβής τοπογραφική κατανομή των μη ιστολογικά ανιχνεύσιμων καρκινικών αλλαγών σε σχέση με τον όγκο και τα χειρουργικά όρια εκτομής; Η μοριακή τοπογραφική ανατομία θα πρέπει να αποτελέσει έναν σημαντικό παράγοντα καθορισμού συμπληρωματικής αγωγής, ευρύτερη χειρουργική εκτομή, χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας.

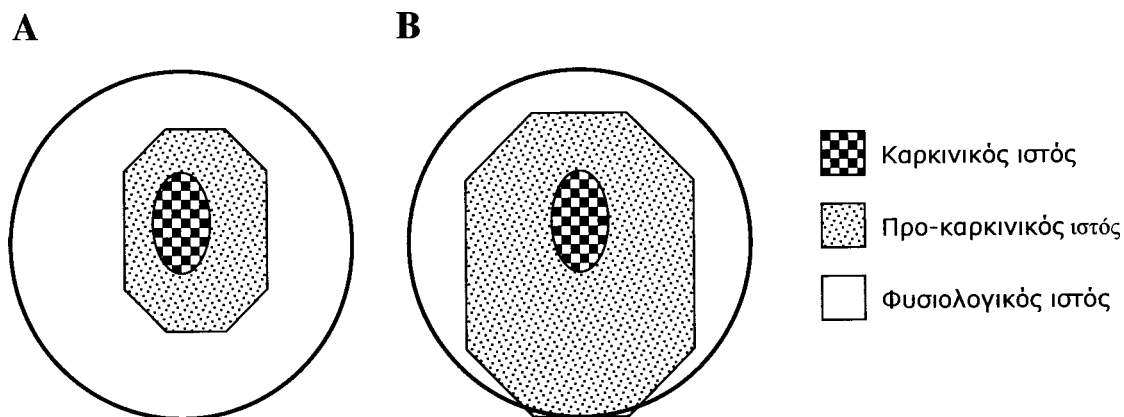
### Χειρουργικό τραύμα και υποτροπή

Η αλληλεπίδραση καρκινικών κυττάρων και

χειρουργικού τραύματος αποτελεί πιθανή αιτία υποτροπής. Η ύπαρξη τραύματος και επούλωσης ύστερα από χειρουργική αφαίρεση ενός όγκου συνδέεται με την αγγειογένεση που ίσως ευνοεί την επανείσοδο των αρχέγονων καρκινικών κυττάρων που βρίσκονται στην κυκλοφορία, αυξάνοντας σημαντικά την πιθανότητα επανεμφάνισης καρκίνου<sup>16</sup>. Υποτροπή ύστερα από χειρουργική αφαίρεση όγκου (με μικροσκοπικά καθαρά όρια) εμφανίζεται σε ποσοστό ως και 50%, σε αντίθεση με την υποτροπή σε σημεία μακριά από τα χειρουργικά όρια που εμφανίζεται σπάνια (2-3%)<sup>17</sup>. Η περιοχή του τραύματος αποτελεί περιβάλλον, όπου τα εναπομείναντα καρκινικά κύτταρα δέχονται αρκετά σήματα από διάφορες κυτοκίνες και παράγοντες αγγειογένεσης, που προωθούν την καρκινογένεση<sup>18,19</sup>.

### Συμπεράσματα

Με βάση τα παραπάνω είναι φανερό ότι μέσα στα επόμενα χρόνια είναι απαραίτητη η συνεργασία διαφόρων ειδικοτήτων για την πρόωπη διάγνωση και αντιμετώπιση του καρκίνου. Η μοριακή τοπογραφική ανάλυση δεν αποτελεί απλά μία καινούργια μέθοδο ανάλυσης. Για την ακριβή και έγκυρη ανάλυση θα χρειαστεί η συνδρομή και η συνεργασία μεταξύ διαφόρων ειδικοτήτων (ογκολόγων, χειρουργών, αντινοθεραπευτών και μο-



**Εικόνα 1.** Μοριακή τομογραφία καρκινικού πεδίου στον μαστό. Α. Τοπογραφική ανάλυση βασισμένη σε ιστολογικούς δείκτες. Β. Τοπογραφική ανάλυση βασισμένη σε επιγενετικούς δείκτες. Φυσικά, η ιστολογική και επιγενετική ανάλυση συμπίπτουν σχετικά με την ύπαρξη καρκινικού ιστού. Η ιστολογική ανάλυση κατέδειξε προ-καρκινικό ή μη φυσιολογικό ιστό σε απόσταση περίπου 2-3 cm από τον όγκο. Η ανάλυση αυτή είναι σωστή και επιβεβαιώνεται από την επιγενετική ανάλυση, αλλά οι επιγενετικοί δείκτες ανιχνεύσαν μεταβολές σε αποσταση μέχρι και τα όρια χειρουργικής εκτομής. Πιθανόν υπάρχουν μεταβολές και πέρα του σημείου αυτού. Η πλήρης τοπογραφία του όγκου και του περιβάλλοντος ιστού διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στον καθορισμό συμπληρωματικής αγωγής. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες ώστε να καθορίσουν αν η πιστοποίηση της μοριακής τοπογραφίας του καρκινικού πεδίου συμβάλλει στην καθυστέρηση ή εξάλειψη υποτροπής.

ριακών βιολόγων). Με βάση τα αποτελέσματα και τις αναλύσεις όλων των παραπάνω παραμέτρων θα καθορίζεται και θα εξατομικεύεται το πλάνο

θεραπείας και παρακολούθησης κάθε συγκεκριμένου καρκινοπαθούς ασθενούς.

### ABSTRACT

#### D. ILIOPOULOS, G. POULTSIDIS: **Molecular topography of cancer field**

Solid malignant tumors recur locally up to 50% after surgical resection with microscopically clear margins. Usually a local recurrence indicates incurability in the majority of cases. The mechanisms responsible of local tumor spread and relapse formation are not clear, however their elucidation is important. Data from different clinical and molecular studies suggest two different local relapse types. *In situ* recurrences that arise in the residual organ not involved in the surgery of the primary tumor and scar recurrences that develop at the site of previous tumor resection. Field of cancerization, which is the mono- or polyclonal displacement of normal epithelium by a genetically altered homologue, may explain the origin of *in situ* recurrences while the origin of scar recurrences can be the result of interaction between the minimal residual cancer with the surgical wound environment. Development of the new field of molecular topographical anatomy seems important in order to discriminate the transcriptional pattern of cancer cells from adjacent compartments. In addition, research focused on the mechanisms of cancer cells interaction with the wound environment may translate into significant clinical progress. **Key words:** field of cancerization, recurrence, molecular topographical anatomy. **Forum of Clinical Oncology 4 (1-2):180-184, 2005.**

### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Steward BW, Kleihues P. World Cancer Report. Lyon: IARC Press, 2003.
2. Veronesi U, Marubini E, Mariani L et al. Radiotherapy after breast-conserving surgery in small breast carcinoma: long-term results of a randomized trial. *Ann Oncol* (2001) 12: 997-1003.
3. Kockerling F, Reymond MA, Altendorf-Hofmann A et al. Influence of surgery on metachronous distant metastases and survival in rectal cancer. *J Clin Oncol* (1998) 16: 324-9.
4. Slootweg PJ, Hordijk GJ, Schade Y et al. Treatment failure and margin status in head and neck cancer. A critical view on the potential value of molecular pathology. *Oral Oncology* 2002 38: 500-3.
5. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium. *Cancer* 1953 6:963-8.
6. Garcia SB, Park HS, Novelli M et al. Field of cancerization, clonality and epithelium stem cells: the spread of mutated clones in epithelial sheets. *J Pathol* 1999 187:61-81.
7. Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA et al. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 2003 63:1727-30
8. Brennan JA, Mao L, Hruban RH et al. Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 1995 332:429-35.
9. Luft M, Klaes R, Nees M et al. Detection of integrated papillomavirus sequences by ligation-mediated PCR (DIPS-PCR) and molecular characterization in cervical cancer cells. *Int J Cancer* 2001; 92:9-17.
10. Egger G, Liang G, Aparicio A et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*. 2004;429:457-63.
11. Ηλιόπουλος Δ. Επιγενετικοί δείκτες: Καρκινικοί δείκτες του 21<sup>ου</sup> αιώνα. *Ιατρική του Σήμερα*. 2005 16-22.
12. Fiegl H, Millinger S, Mueller-Holzner E. Circulating tumor-specific DNA: a marker for monitoring efficacy of adjuvant therapy in cancer patients. *Cancer Res*. 2005 65:1141-5.
13. Petko Z, Ghiassi M, Shuber A, Aberrantly methylated CDKN2A, MGMT, and MLH1 in colon polyps and in fecal DNA from patients with colorectal polyps. *Clin Cancer Res*. 2005 11:1203-9.
14. Tsou JA, Shen LY, Siegmund KD. Distinct DNA methylation profiles in malignant mesothelioma, lung adenocarcinoma, and non-tumor lung. *Lung Cancer*. 2005 47:193-204.
15. Iliopoulos D, Guler G, Han SY. Fragile genes as

- biomarkers: epigenetic control of WWOX and FHIT in lung, breast and bladder cancer *Oncogene*. 2005 24:1625-33.
16. Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med* 10: 858-64.
17. Tannapfel A, Wittekind C. Definition of port-site and wound recurrences in cancer surgery. Springer 2000 p1-5.
18. Balkwill F. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer* 2004 4:540-50.
19. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357:539-45.

## ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΣΤΗΝ ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ

# Αδενώματα υποφύσεως: ακτινοθεραπευτική αντιμετώπιση

*Δ. Δημόπουλος, Ν. Μπορονικολός, Δ. Βόμβας, Ζ. Μαλαταρά, Δ. Καρδαμάκης*

### Εισαγωγή

Τα αδενώματα της υποφύσεως αποτελούν το 10 – 12% όλων των ενδοκρανιακών όγκων – ποσοστό που φθάνει το 20% σε νεκροτομικό υλικό. Εμφανίζονται συνήθως σε ενήλικες γυναίκες με αιχμή συχνότητας εμφάνισης από την τρίτη ως την έκτη δεκαετία της ζωής. Συνήθως εμφανίζονται σαν μεμονωμένες κλινικές οντότητες, αλλά σε ποσοστό περίπου 30% των περιπτώσεων τα αδενώματα αποτελούν μέρος της πολλαπλής ενδοκρινικής νεοπλασίας τύπου I (MEN I, νεοπλασμάτα υπόφυσης, παραθυρεοειδών και ενδοκρινούς μοίρας παγκρέατος). Η διάμετρος αποτελεί τον κυριότερο προγνωστικό παράγοντα. Τα υποφυσεϊκά αδενώματα χαρακτηρίζονται σαν “μακροαδενώματα” αν η διάμετρος τους υπερβαίνει τα 10 χιλιοστά και σαν “μικροαδενώματα” αν η διάμετρος τους είναι μικρότερη των 10 χιλιοστών. Αρκετές πρόοδοι έχουν σημειωθεί τα τελευταία χρόνια στην μελέτη της παθογένεσης των όγκων αυτών, με αποτέλεσμα να διαφαίνεται η πιθανότητα εφαρμογής της γονιδιακής θεραπείας.

Τα αδενώματα της υποφύσεως διακρίνονται σε λειτουργικά και μη λειτουργικά. Δυνατόν να προκαλέσουν υπο-ύποφυσεϊσμό σε ποσοστό 30% των περιπτώσεων, καθώς καταστρέφουν λόγω πίεσης το παρακείμενο παρέγχυμα της πρόσθιας υπόφυσης ή το αντίθετο, να προκαλέσουν υπρέκ-

κριση κάποιας υποφυσιακής ορμόνης. Τα μη λειτουργικά αδενώματα είναι ενδεχόμενο να δώσουν κλινικά συμπτώματα σε ένα πλέον όψιμο στάδιο από αυτά που συνοδεύονται από εμφανείς ενδοκρινικές ανωμαλίες και γι’ αυτό είναι πιθανότερο να είναι μακροαδενώματα. Συνεπώς, τα συμπτώματα και κλινικά σημεία που προκαλούν τα αδενώματα της υπόφυσης οφείλονται τόσο στις ενδοκρινικές διαταραχές όσο και στις επιδράσεις του όγκου σε παρακείμενες ανατομικές δομές. Μεταξύ των πρωιμότερων αλλοιώσεων, αναφορικά με την επίδραση του όγκου είναι ανωμαλίες του τουρκικού εφιππίου, που περιλαμβάνουν διάταση του εφιππίου, οστική διάθρωση και διάσπαση του διαφράγματός του. Λόγω της μεγάλης εγγύτητας των οπτικών νεύρων και του χιάσματος με το εφιπίπιο, όγκοι της υπόφυσης συχνά πιέζουν χιαζόμενες ίνες στο οπτικό χιάσμα. Αυτό προκαλεί ανωμαλίες του οπτικού πεδίου, κλασικά με τη μορφή ελαττωμάτων στα πλάγια (κροταφικά) οπτικά πεδία - η ονομαζόμενη αμφικροταφική ημιανοψία. Τα μακροαδενώματα δυνατόν να επεκταθούν πλαγίως προς τον σφραγγώδη κόλπο και να προκαλέσουν συμπτώματα από πίεση των εγκεφαλικών συζυγίων III, IV, Va και VI και οφθαλμοπληγία. Όπως στην περίπτωση οποιουδήποτε αυξανόμενου ενδοκράνιου όγκου, τα αδενώματα της υπόφυσης μπορεί να προκαλέσουν σημεία και συμπτώματα αυξημένης ενδοκρανιακής πίεσης, όπως κεφαλαλγία, ναυτία και έμετο. Τελικά, τα αδενώματα της υπόφυσης μπορεί να πιέσουν την υπόλοιπη πρόσθια υπόφυση, με αποτέλεσμα την έκπτωση της λειτουργίας της με αποτέλεσμα

υπούποφουσεϊσμό. Εμφάνιση οξείας αιμορραγίας μέσα σε αδένωμα μερικές φορές συνοδεύεται από θορυβώδη συμπτώματα.

Διαγνωστική μέθοδος εκλογής θεωρείται σήμερα η μαγνητική τομογραφία, η οποία αναδεικνύει το αδένωμα και τις σχέσεις του με τις γύρω ανατομικές δομές. Ο λοιπός εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει πλάγια ακτινογραφία κρανίου, αξονική τομογραφία υποφύσεως, οπτικά πεδία και μέτρηση οπτικής οξύτητας και διερεύνηση της βασικής υποφυσιακής λειτουργίας.

Κύριες θεραπείες των αδενωμάτων της υποφύσεως είναι η χειρουργική, η ακτινοθεραπεία και η ειδική φαρμακευτική αγωγή, ή ο συνδυασμός τους. Επομένως είναι εμφανές ότι ο χειρισμός των ασθενών αυτών θα πρέπει να γίνεται σε ειδικά κέντρα από ομάδα ειδικών. Στόχοι των όποιων θεραπευτικών μας παρεμβάσεων είναι: Μείωση ή εξάλειψη του βραδέως πολλαπλασιαζόμενου όγκου, περιορισμός και πρόληψη των βλαβών στις περιβάλλουσες ανατομικές δομές, ομαλοποίηση της ενδοκρινικής λειτουργίας. Η χειρουργική επέμβαση με διασφηνοειδική προσπέλαση είναι η θεραπεία εκλογής για τα περισσότερα αδενώματα της υπόφυσης (ιδιαίτερα τα μικροαδενώματα). Για τα μικροαδενώματα, η διασφηνοειδική χειρουργική επέμβαση είναι επιτυχής σε ποσοστό 70–90% των περιπτώσεων. Εντούτοις, τα μεγαλύτερα αδενώματα θεραπεύονται σπάνια από τη χειρουργική επέμβαση μόνο. Φαρμακοθεραπείες είναι διαθέσιμες για τους επιλεγμένους τύπους όγκων της υπόφυσης. Παραδείγματος χάριν, η θεραπεία αγωνιστών ντοπαμίνης για τα προλακτινώματα μειώνει αποτελεσματικά την έκκριση ορμονών και το μέγεθος των όγκων στους περισσότερους ασθενείς, και είναι η θεραπεία της επιλογής για αυτόν τον τύπο όγκων.

Στην παρούσα ανασκόπηση, θα αναφερθούμε ιδιαίτερα στην θέση της ακτινοθεραπείας στην αντιμετώπιση των αδενωμάτων αυτών. Οι ενδείξεις της ακτινοθεραπείας είναι για α) υφολική αφαίρεση ενδοκρινικά ανενεργού μακροαδενώματος, β) μετά ολική μακροσκοπικά αφαίρεση αλλά με αυξημένη έκκριση ορμόνης, γ) αφαίρεση μακροαδενώματος που προκαλούσε συμπτώματα λόγω του όγκου του ή διηθούσε παρακείμενες δομές και δ) μετά υποτροπή του αδενώματος (μετεγχειρητικά). Βασικό κριτήριο για την εφαρμογή της ακτινοθεραπείας αποτελεί ο λόγος “όφελους – κινδύνου”, μια που γνωρίζουμε ότι ακτινοθεραπεία ασθενών με καλοήθεις παθήσεις θα πρέπει να αποφεύγεται λόγω της καρκινογόνου δράσης της ιοντίζουσας ακτινοβολίας.

## **Κλασσική ακτινοθεραπεία (ακτινοθεραπεία σταθερών πεδίων)**

Η ακτινοθεραπεία των αδενωμάτων της υποφύσεως αποτελεί κλασσικό παράδειγμα στην σύγχρονη ιατρική όπου οι κανόνες διασφάλισης ποιότητας που διέπουν μια ιατρική πράξη, θα πρέπει να ακολουθούνται πιστά.

### *Ακίνητοποίηση του ασθενή και εντοπισμός του πεδίου ακτινοβολήσης*

Ο ασθενής τοποθετείται ύπτια με το κεφάλι του σε ειδικό προσκέφαλο, που επιτρέπει αφ' ενός μεν την στερέωση πάνω σε αυτό ειδικού ακινητοποιητικού πλέγματος, αφ' ετέρου δε την μέγιστη κάμψη της κεφαλής (“το πηγούνι στο στέρνο”), ώστε να είναι δυνατή αφ' ενός μεν η ακτινοβολία της υποφύσεως με συνδυασμό τριών δεσμών, δηλ. δύο πλαγίων και ενός προσθίου με είσοδο την μεσόφρυο χώρα, αφ' ετέρου δε η καθημερινή τοποθέτηση του ασθενή στην ίδια θέση. Τα ειδικά ακινητοποιητικά πλέγματα είναι κατασκευασμένα από ΥΛΙΚΟ και είναι ευρέως διαθέσιμα στο εμπόριο, σε διάφορους τύπους, ανάλογα με την πρακτική το κάθε Ακτινοθεραπευτικού Τμήματος. Ο καθορισμός του ακτινοβόλου όγκου πρέπει να γίνεται απαραίτητα με την βοήθεια εξομοιωτή θεραπείας και να στηρίζεται σε δεδομένα του πρακτικού της νευροχειρουργικής επεμβάσεως, της παθολογοανατομικής έκθεσης, των προ- και μετ-εγχειρητικών αξονικών τομογραφιών και εικόνων μαγνητικού συντονισμού. Ένας ασφαλής κανόνας για τον ακτινοθεραπευτή είναι να ορίζει ένα περίγραμμα ασφαλείας 1 εκ. γύρω από τον κλινικό όγκο, όπως αυτός ορίζεται από τις απεικονιστικές μεθόδους. Ο ακτινοθεραπευτής θα πρέπει επίσης να καθορίζει το περίγραμμα των φακών, του οπτικού χιάσματος και του εγκεφαλικού στελέχους και να ζητά από τον ακτινοφυσικό να του παρουσιάζει την απορροφούμενη δόση σε αυτούς τους σχηματισμούς. Ως οδηγιά σημεία των ορίων των πεδίων χρησιμοποιούμε τα οστά της βάσεως του κρανίου και ιδιαίτερα τα οστά του τουρκικού επιπέδου. Μετά το πέρας της διαδικασίας αυτής ακολουθεί λήψη ακτινογραφίας εντοπισμού.

### *Ενέργεια φωτονίων και χορηγούμενη δόση*

Επιλέγονται πρωτίστως φωτόνια υψηλής ενέργειας (μεγαλύτερης των 10 MV), ώστε να περιορισθεί στο μέγιστο η σκεδαζόμενη ακτινοβολία

και να επιτευχθεί η βέλτιστη κατανομή της δόσης και να περιορισθεί η δόση στον υποθάλαμο και τους κροταφικούς λοβούς. Η πλέον δημοφιλής ακτινοθεραπευτική τεχνική είναι η δόση να χορηγείται μέσω τριών στατικών πεδίων. Έχουν περιγραφεί και τεχνικές με περιστρεφόμενα πεδία

Η ελάχιστη χορηγούμενη δόση πρέπει να είναι 45 Gy σε ημερήσιες συνεδρίες των 1.8 Gy (5 συνεδρίες ανά εβδομάδα). Η δόση θα πρέπει να αυξάνεται έως 54 Gy για ασθενείς με ορμονικά ενεργή αδενώματα, με μακροαδενώματα, με υπολική χειρουργική αφαίρεση και με αδενώματα που διηθούν τους περίξ ιστούς.

#### *Αποτελεσματικότητα της ακτινοθεραπείας*

Ανασκοπώντας την βιβλιογραφία που είναι διαθέσιμη στο διαδίκτυο, επιγραμματικά θα μπορούσαμε να αξιολογήσουμε την αποτελεσματικότητα της κλασσικής ακτινοθεραπείας ως εξής:

#### **Ορμονικά ανενεργείς όγκοι**

Τα αδενώματα αυτά, όταν αντιμετωπίζονται μόνο χειρουργικά έχουν πιθανότητα 32% να υποτροπιάσουν στην 20ετία. Όταν η ακτινοθεραπεία εφαρμοσθεί σαν μονοθεραπεία, η πιθανότητα τοπικής υποτροπής κυμαίνεται από 7 έως 50%, ενώ το ποσοστό ελεύθερο επιδείνωσης στην 10ετία είναι 84% (progression-free survival rate). Η μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία μειώνει το ποσοστό τοπικής υποτροπής στο 11%, δίνοντας ποσοστά ασθενών ελεύθερων επιδείνωσης στην 10ετία και 20ετία 89 και 79% αντίστοιχα.

#### **Ορμονικά ενεργείς όγκοι**

Για την ακρομεγαλία, η χειρουργική επιτυγχάνει πλήρη “ενδοκρινική – βιοχημική” ύφεση σε ποσοστό 61% των ασθενών με μεγαλακρία. Η ακτινοθεραπεία ενδείκνυται σαν μονοθεραπεία σε ασθενείς με τιμές αυξητικής ορμόνης 30 – 45 ng/ml. Με την προσθήκη της μετεγχειρητικής ακτινοθεραπείας επιτυγχάνετε τοπικός έλεγχος της νόσου στην 10ετία στο 76 έως 82% των ασθενών. Πρέπει να τονισθεί ότι η μείωση των τιμών της αυξητικής ορμόνης είναι της τάξεως του 10 έως 30% ανά έτος.

Τα προλακτινώματα αποτελούν το 50% των αδενωμάτων της υποφύσεως. Για τους ασθενείς αυτούς, η ακτινοθεραπεία ενδείκνυται μόνο σε περιπτώσεις με μακροαδένωμα όταν η έκκριση της προλακτίνης δεν ελέγχεται είτε φαρμακευτικά ή χειρουργικά. Μείωση των επιπέδων της προ-

λακτίνης επιτυγχάνεται σε ποσοστό 44 έως 70% των ασθενών.

Οι σειρές ασθενών με νόσο Cushing δείχνουν ποσοστά “ενδοκρινικής” ύφεσης κυμαινόμενα από 50% έως 70% μετά από ακτινοθεραπεία ή συνδυασμένη χειρουργική – ακτινοθεραπεία. Λόγω όμως του μικρού αριθμού ασθενών τα δεδομένα αυτά δεν είναι αξιόπιστα.

#### *Οξείες και απότερες παρενέργειες*

Οι ασθενείς με αδενώματα υποφύσεως που υποβάλλονται σε ακτινοθεραπεία θα πρέπει να ευρίσκονται υπό ιατρική παρακολούθηση εφ’ όρου ζωής όχι μόνο από τον ακτινοθεραπευτή – ογκολόγο, αλλά και από ενδοκρινολόγο.

Οι οξείες παρενέργειες εμφανίζονται κατά την διάρκεια της ακτινοθεραπείας ή έως έξι εβδομάδες μετά και κατά κανόνα υφίστανται αυτόματα ημέρες ή εβδομάδες μετά το πέρας της ακτινοθεραπείας. Δυνατόν να εμφανισθεί αίσθημα κόπωσης, ιδιαίτερα τις απογευματινές ώρες, κεφαλαλγία που αποδίδεται σε περιορισμένης έκτασης οίδημα του εγκεφάλου (ακτινικής αιτιολογίας) το οποίο αντιμετωπίζεται με στεροειδή ή διαταραχές γεύσης και όσφρησης. Δυνατόν επίσης να εμφανισθεί αλωπεκία στις κροταφικές χώρες.

Απότερες παρενέργειες της ακτινοθεραπείας δυνατόν να εμφανισθούν ακόμα και μετά παρέλευση δεκαετιών από το πέρας της θεραπείας και κατά κανόνα είναι μη αναστρέψιμες. Σε αυτές συγκαταλέγονται η δευτερογενής ενδοκρινική δυσλειτουργία της υποφύσεως (σε ποσοστό 13 έως 56% των περιπτώσεων) ή του άξονα υποθαλάμου – υπόφυσης ιδιαίτερα στα παιδιά, η εμφάνιση κακοήθους όγκου εγκεφάλου (γλιώματος) στην ακτινοβοληθείσα περιοχή (κίνδυνος καρκινογένεσης 1-2 % στα 20 χρόνια), θλάβη του οπτικού νεύρου ή του οπτικού χιάσματος (κίνδυνος από 0.53 έως 1.7%) και σπάνια (κίνδυνος 0.2%) η μετακτινική νέκρωση της εγκεφαλικής ουσίας (ακτινική εγκεφαλοπάθεια) η οποία αν δεν αποβεί μοιραία, επηρεάζει δραματικά την ποιότητα ζωής του ασθενή και επίσης στα παιδιά, αναστολή της φυσιολογικής ανάπτυξης των οστών της βάσεως του κρανίου που περιλαμβάνονται στο πεδίο ακτινοβολίας. Έχει επίσης αναφερθεί αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική αφαίρεση και ακτινοθεραπεία. Ο ρόλος της ακτινοθεραπείας στην εμφάνιση γνωστικών ή συναισθηματικών διαταραχών στους ασθενείς αυτούς δεν έχει τεκμηριωθεί επαρκώς.

Πρέπει να τονισθεί ότι η πιθανότητα εμφάνισης των απώτερων παρενεργειών που αναφέρθηκαν είναι συνάρτηση τόσο της ημερήσιας δόσης (η δόση ανά συνεδρία δεν πρέπει να υπερβαίνει ποτέ τα 2 Gy), όσο και της συνολικής δόσης που δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 60 Gy στην περιοχή της υπόφυσης και τα 50 Gy στην περιοχή του οπτικού χιάσματος.

#### *Ακτινοθεραπεία “δεύτερης” γραμμής*

Η βιβλιογραφία στο θέμα αυτό είναι πτωχή, ώστε να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα για την ασφάλεια της ακτινοβολίας για δεύτερη ή τρίτη φορά ενός αδενώματος που υποτροπιάζει. Η απόφαση αυτή θα πρέπει να λαμβάνεται από κοινού με τον νευροχειρουργό και προϋποθέτει έμπειρο ακτινοθεραπευτή και ακτινοφυσικό.

#### **Στερεοτακτική ακτινοθεραπεία και στερεοτακτική ακτινοχειρουργική (ακτινοθεραπεία πολλαπλών τόξων)**

Στην τεχνική της στερεοτακτικής ακτινοχειρουργικής είτε με ακτίνες γ ή με δέσμη πρωτονίων δεν θα αναφερθούμε ιδιαίτερα, μια που οι συγγραφείς δεν διαθέτουν ανάλογη εμπειρία. Η μέθοδος με ακτίνες γ (gamma knife) εφαρμόζεται στη χώρα μας σε ένα μόνο ιδιωτικό θεραπευτήριο των Αθηνών. Η συσκευή ακτινοβολίας αποτελείται από πολλές πηγές κοβαλτίου 60 που εκπέμπουν ακτίνες γ, τοποθετημένες σφαιρικά στην κεφαλή του μηχανήματος. Οι πηγές εστιάζουν την ακτινοβολία τους σε ένα σημείο, στο κέντρο του μηχανήματος (ισόκεντρο). Ο ασθενής τοποθετείται έτσι ώστε το κέντρο του όγκου που πρέπει να ακτινοβοληθεί να συμπίπτει με το σημείο αυτό. Έτσι, η υψηλή δόση επικεντρώνεται στην καθορισμένη περιοχή.

Συγκρίνοντας τις κατανομές της δόσης που οι τρεις μέθοδοι επιτυγχάνουν στην περίπτωση ενός τυπικού αδενώματος της υποφύσεως (διάμετρος 2 εκ. σε βάθος 7 εκ.) παρατηρούμε ότι διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους. Για όγκους όμως μεγαλύτερης διαμέτρου, η αποτελεσματικότητα της μονάδας γ-knife μειώνεται έναντι των άλλων μεθόδων. Ο μεγάλος αριθμός πολλαπλών ισοκέντρων που χρειάζεται για την κάλυψη μεγαλύτερων όγκων μεταφράζεται σε απαγορευτικούς χρόνους θεραπείας και σε μεγαλύτερη επιβάρυνση των υγιών ιστών.

Θα πρέπει εδώ να τονισθεί, ότι αναφορικά με την σύγκριση των μεθόδων στερεοτακτικής θε-

ραπείας που γίνεται στην βιβλιογραφία, πολλές συγκριτικές μελέτες ακτινοχειρουργικής και ακτινοθεραπείας δεν συνυπολογίζουν τις νέες εξελίξεις των συστημάτων γραμμικών επιταχυντών, όπως τη χρήση κατευθυντήρων πολλαπλών φύλλων για την αντιμετώπιση μη σφαιρικών στόχων ή την δυνατότητα σχεδιασμού επιλεγμένων τόξων σε κάθε περιστατικό αντί των κλασικών σχεδίων θεραπείας με 5-9 τόξα. Δεν λαμβάνεται επίσης υπόψη ότι η χρήση πολλαπλών ισοκέντρων έχει απλοποιηθεί σημαντικά και στα συστήματα ακτινοθεραπείας με την ανάπτυξη νέων λογισμικών εργαλείων σχεδιασμού θεραπείας.

Ανεξάρτητα όμως από τις διαφορές των δύο μεθόδων ως προς την ακτινοβολία διαφορετικών στόχων, κοινό χαρακτηριστικό τους παραμένει η υψηλή γεωμετρική ακρίβεια. Ο στερεοτακτικός εξοπλισμός εξασφαλίζει την άριστη ακινητοποίηση του ασθενούς και την υψηλή γεωμετρική ακρίβεια κατά τον σχεδιασμό αλλά και την εφαρμογή της θεραπείας. Όσα αναφέρθηκαν μέχρι τώρα καλύπτουν την βασική αρχή της ακτινοχειρουργικής που είναι η χορήγηση αυξημένης δόσης στον στόχο με ελάχιστη επιβάρυνση των υγιών ιστών.

Εξίσου σημαντικό όμως θέμα είναι και ο καθορισμός των ενδείξεων για χορήγηση υψηλής εφ'άπαξ δόσης με βάση τα ακτινοβιολογικά δεδομένα των ακτινοβιολογούμενων ιστών. Όπως γνωρίζουμε για τον νευρικό ιστό, που είναι ιστός οψίμως αντιδρών στην ακτινοβολία (ο λόγος α/β ισούται με 2), η εφ'άπαξ δόση των 15 Gy ισοδυναμεί ακτινοβιολογικά με 60 Gy κλασματοποιημένης θεραπείας σε 30 συνεδρίες, που θεωρείται η δόση ανοχής του εγκεφάλου. Στην περίπτωση των αδενωμάτων, ο στόχος περιλαμβάνει μόνο παθολογικό ιστό που περιβάλλεται από υγιή ιστό. Αυτή η κατηγορία είναι πολύ κατάλληλη για στερεοτακτική ακτινοχειρουργική αφού ο οψίμως αντιδρών υγιής ιστός δεν περιλαμβάνεται στην περιοχή υψηλής δόσης.

#### *Περιγραφή της τεχνικής*

Στο Τμήμα μας εφαρμόσαμε το 1995, για πρώτη φορά στην Ελλάδα, την τεχνική της στερεοτακτικής ακτινοθεραπείας (X-knife) σε ασθενείς με καλοήθεις ή κακοήθεις χωροκατακτητικές εξεργασίες εγκεφάλου που η διάμετρός τους δεν υπερβαίνει τα 3 εκ. Η τεχνική αυτή είναι ιδανική για αδενώματα υποφύσεως για ποικίλους λόγους: η θέση των αδενωμάτων είναι κεντρική, το σχήμα τους είναι κατά κανόνα σφαιρικό και τέλος,

εκμεταλλευόμαστε το μοναδικό χαρακτηριστικό της τεχνικής αυτής που είναι ότι η χορηγούμενη δόση κυριολεκτικά περιβάλλει τον όγκο - αδένωμα, με αποτέλεσμα οι γύρω φυσιολογικοί ιστοί να απορροφούν αρκετά μικρότερη δόση.

Θα επιχειρήσουμε μια συνοπτική περιγραφή της τεχνικής ακινητοποίησης, της μεθόδου εντοπισμού του αδενώματος και του σχεδιασμού του ακτινοβολούμενου όγκου.

Το ακινητοποιητικό σύστημα – πλαίσιο σχεδιάστηκε στο Τμήμα μας και εφαρμόζει στο κεφάλι του ασθενούς αναίμακτα, επιτρέποντας την κλασματικοποιημένη στερεοτακτική ακτινοθεραπεία. Στερεώνεται στο κεφάλι του ασθενούς από τρία σημεία: Ινιακή χώρα, ρίζα της ρινός και άνω – κάτω γνάθο και στο τραπέζι θεραπείας με ειδικό εξάρτημα. Μοναδικό μειονέκτημά του αποτελεί το γεγονός ότι μπορούμε να αντιμετωπίσουμε αδενώματα που αναδεικνύονται μόνο στην αξονική τομογραφία. Το υλικό κατασκευής του συστήματος αυτού (duraluminium) δεν επιτρέπει τη λήψη τομών με μαγνητικό συντονισμό. Επίσης, απόλυτη αντένδειξη εφαρμογής του είναι η μη συνεργασία του ασθενούς.

Ο ασθενής υποβάλλεται σε αξονική τομογραφία εγκεφάλου με τομές πάχους 2 χιλιοστών, μετά τη χορήγηση σκιαγραφικής ουσίας και ενώ ήδη φέρει το ακινητοποιητικό σύστημα. Στη συνέχεια, ο ακτινοθεραπευτής ορίζει στις ανάλογες τομές της αξονικής το όριο του αδενώματος, που θα αποτελέσει και τον ακτινοβολούμενο όγκο. Κατόπιν, σε συνεργασία με τον ακτινοφυσικό και με την υποστήριξη ειδικών υπολογιστών με προγράμματα τρισδιάστατης απεικόνισης και σύμμορφης ακτινοθεραπείας, ορίζουν τα πεδία ακτινοβολήσης και το κέντρο σύγκλισης όλων των πεδίων, που κατά κανόνα βρίσκεται “εντός” της υπόφυσης, αλλά δεν συμπίπτει με το γεωμετρικό της κέντρο. Όταν επιλεγεί το πλέον κατάλληλο σχέδιο θεραπείας, ο ασθενής φορώντας το ακινητοποιητικό πλαίσιο οδηγείται αρχικά στον εξομοιωτή θεραπείας όπου επαληθεύεται ή τροποποιείται το σχέδιο θεραπείας και στην συνέχεια στο γραμμικό επιταχυντή, όπου εκτελείται η θεραπεία. Στο Τμήμα μας η θεραπεία εκτελείται με την βοήθεια γραμμικού επιταχυντή φωτονίων 6 MV (Philips SL75, 6 MV), αφού προηγουμένως στην έξοδο της δέσμης φωτονίων προσαρμοσθεί ειδικός κύλινδρος από μόλυβδο, διαμέτρου ανάλογης του μεγέθους του αδενώματος που θέλουμε να ακτινοβολήσουμε.

Στην διαδικασία που περιγράψαμε, βασική συνιστώσα αποτελεί η επαναληψιμότητα της ακινη-

τοποίησης της κεφαλής, δηλ. η (επανα)τοποθέτηση του ασθενή με τέτοιο τρόπο ώστε καθημερινά να ακτινοβολείται ο ίδιος όγκος. Επανειλημένες μετρήσεις έδειξαν ότι η μέγιστη απόκλιση μεταξύ δύο τοποθετήσεων του πλαισίου στο κεφάλι ήταν μικρότερη των 2 χιλιοστών.

### *Δόση - Αποτελεσματικότητα - Παρενέργειες*

Λόγω του ότι η χορήγηση της απαιτούμενης δόσης σε μία μόνο συνεδρία έχει σαν αποτέλεσμα της εμφάνιση σοβαρών παρενεργειών (μείωση οπτικής οξύτητας και ακτινική εγκεφαλοπάθεια), σήμερα ενδείκνυται η κλασματικοποιημένη στερεοτακτική ακτινοθεραπεία, παρά την διαπίστωση ότι ασθενείς που υποβάλλονται σε εφ' άπαξ θεραπεία παρουσιάζουν ενδοκρινική/βιοχημική ύφεση σε ποσοστό 44 έως 50% στο πρώτο έτος. Φαίνεται ότι αυτό που κερδίζεται με την κλασματικοποιημένη στερεοτακτική ακτινοθεραπεία είναι η μείωση της πιθανότητας πρόκλησης ακτινικής βλάβης και όχι η αύξηση του θεραπευτικού αποτελέσματος.

Στην εφ' άπαξ στερεοτακτική θεραπεία η δόση κυμαίνεται από 10 έως 27 Gy στην ισοδοσιακή καμπύλη 65 – 80%, ενώ η δόση στο οπτικό χίασμα δεν υπερβαίνει τα 8 Gy. Η εφ' άπαξ χορήγηση ενδείκνυται μόνο σε περιπτώσεις που το αδένωμα απέχει τουλάχιστον 2 χιλιοστά από το οπτικό χίασμα. Στην κλασματικοποιημένη στερεοτακτική θεραπεία η δόση είναι η ίδια με την κλασική ακτινοθεραπεία.

Οι παρενέργειες είναι παρόμοιες με εκείνες που περιγράφονται σε ασθενείς που υποβάλλονται σε κλασική ακτινοθεραπεία.

### **Συμπεράσματα**

Η ακτινοθεραπεία αποτελεί πλέον μία από τις βασικές θεραπευτικές προσεγγίσεις για ασθενείς με αδενώματα υποφύσεως, με σαφείς ενδείξεις και ακριβή δοσολογικά σχήματα. Τοπικός έλεγχος της νόσου επιτυγχάνεται σε ποσοστό 80-98% των ασθενών με ενδοκρινικά ανενεργές αδένωμα και σε ποσοστό 67-89% των ασθενών με ενδοκρινικά ενεργές αδένωμα. Οι σύγχρονες απεικονιστικές μέθοδοι και η σύγχρονη τεχνολογία που συνοδεύει τα ακτινοθεραπευτικά μηχανήματα είναι σίγουρο ότι θα μειώσουν ακόμα περισσότερο τις πιθανότητες (μόνιμων) ακτινικών βλαβών στους γύρω φυσιολογικούς ιστούς και θα ενισχύσουν ακόμα περισσότερο την θέση της ακτινοθεραπείας και ιδιαίτερα εκείνη της στερεοτακτικής ακτινοθεραπείας.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ**

- C.Kappas, K.Theodorou, D.Kardamakis et al. Design, construction and installation of a new stereotactic system for single dose and fractionated radiotherapy. *Physica Medica* 1997;13 (3): 123-128
- M.N. Tsao,W.M. Wara, and David A.Larson. Radiation therapy of benign central nervous system disease. *Seminars in Radiation Oncology* 1999;9(2):120-133
- K.J. Stelzer. Acute and long-term complications of therapeutic radiation for skull base tumors. *Neurosurg Clin N Am* 2000; 11(4): 597-604
- B.M. Arafah & M.P. Nasrallah. Pituitary tumors: pathophysiology, clinical manifestations and management. *Endocrine-Related Cancer* 2001;8:287-305
- K. Boelaert & N.J. Gittoes. Radiotherapy for non-functioning pituitary adenomas. *European Journal of Endocrinology* 2001;144:569-575
- G. Faglia & A. Spada. Genesis of pituitary adenomas: state of the art. *J Neurooncol* 2001; 54(2): 95-110
- M. Shin. Gamma knife radiosurgery for pituitary adenoma. *Biomed Pharmacother* 2002;56 (s1):178-181
- G. Becker, M. Kocher, R-D. Kortmann et al. Radiation therapy in the multimodal treatment approach of pituitary adenomas. *Strahlenther Onkol* 2002; 178: 173 186
- Z. Petrovich, G. Jozsef, C. Yu et al. Radiotherapy and stereotactic radiosurgery for pituitary tumors. *Neurosurg Clin N Am.* 2003;14(1):147-66.
- R.Y. Osamura, N. Egashira, S. Miyai et al. Molecular pathology of the pituitary. Development and functional differentiation of pituitary adenomas. *Front Horm Res* 2004;32:20-33
- A.C. van den Bergh, M.A. Schoorl, R.P. Dullaart et al. Lack of radiation optic neuropathy in 72 patients treated for pituitary adenoma. *J Neuroophthalmol* 2004;24(3):200-205
- J.P. Sheehan, A. Niranjana, J.M. Sheehan et al. Stereotactic radiosurgery for pituitary adenomas: an intermediate review of its safety, efficacy and role in the neurosurgical treatment armamentarium. *J Neurosurg* 2005;102(4):678-691

## Νόσος von Hippel-Lindau: Περιγραφή μιας περίπτωσης

Χ. Μελεξοπούλου<sup>1</sup>, Σ. Ρηγάτος<sup>1</sup>, Γ. Αραβαντινός<sup>1</sup>, Κ. Παπανικήτας<sup>1</sup>, Μ. Τριανταφύλης<sup>1</sup>, Γ. Καραγιαννίδης<sup>1</sup>, Γ. Κουτσουράκης<sup>1</sup>, Σ. Δαμηλάκη<sup>1</sup>, Ε. Σαμαντάς<sup>1</sup>

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η νόσος von Hippel-Lindau (VHL) είναι ένα κληρονομικό καρκινικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη όγκων σε πολλαπλά όργανα. Περιγράφουμε την περίπτωση μιας γυναίκας 57 ετών, με νόσο VHL που υποβάλλεται σε χημειοθεραπεία και ανοσοθεραπεία, λόγω πνευμονικών μεταστάσεων από διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα νεφρού. **Λέξεις κλειδιά:** νόσος von Hippel-Lindau, νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, χημειοθεραπεία, ανοσοθεραπεία. **Βήμα Κλινικής Ογκολογίας 2005, 4 (1-2):191-193.**

### Εισαγωγή

Η νόσος VHL είναι μια κληρονομική αυτόσωμη επικρατούσα διαταραχή με συχνότητα 1 στις 36.000 γεννήσεις<sup>1</sup>. Συνδέεται με μεταλλάξεις του ογκοκατασταλτικού γονιδίου VHL που εντοπίζονται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 3<sup>2</sup>.

Χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη ποικίλων καλοήθων και κακοήθων όγκων, καθώς και κύστεων σε πολλά όργανα. Προσβάλλονται εξίσου και τα δύο φύλα. Τα νοσούντα άτομα μπορεί να αναπτύξουν αγγειώματα αμφιβληστροειδούς, αιμαγγειοβλαστώματα εγκεφάλου και νωτιαίου μυελού, νεφροκυτταρικά καρκινώματα, όγκους των ενδολεμφικών θυλάκων, φαιοχρωμοκυττώματα, θηλοειδή κυσταδενώματα της επιδιδυμίδας, αγγειώματα ήπατος και νεφρού, καθώς και κύστεις παγκρέατος, νεφρού και ήπατος.

Στην παρούσα δημοσίευση παρουσιάζουμε μια ενδιαφέρουσα περίπτωση γυναίκας με νόσο VHL που μετά από ανάπτυξη νεφροκυτταρικού καρκι-

νώματος και χειρουργική αντιμετώπισή του, παρουσίασε υποτροπή με πνευμονικές μεταστάσεις.

### Περιγραφή του περιστατικού

Γυναίκα 57 ετών με νόσο VHL προσήλθε στα εξωτερικά ιατρεία του νοσοκομείου μας στα πλαίσια παρακολούθησης της νόσου της. Από το ατομικό ιστορικό της, η ασθενής το 1981 είχε υποβληθεί σε ογκεκτομή δεξιάς παρεγκεφαλίδας λόγω αστροκυτώματος, ενώ το 1996 στα πλαίσια υπαραχνοειδούς αιμορραγίας από αρτηριοφλεβώδη δυσπλασία του νωτιαίου μυελού διενεργήθηκε ενδαγγειακός εμβολισμός και έλαβε ακτινοθεραπεία. Το 1999 διαπιστώθηκε θυρεοειδίτιδα Hashimoto και έκτοτε είναι σε αγωγή υποκατάστασης με θυρεοειδική ορμόνη. Τον Ιούλιο του 2003 η ασθενής υποβλήθηκε σε εκτομή όγκου του δεξιού παρεγκεφαλδικού ημισφαιρίου με χαρακτηρισες τριχοειδικού αιμαγγειοβλαστώματος, grade 1 κατά WHO, ενώ το Νοέμβριο του 2003 στα πλαίσια επανελέγχου διαπιστώθηκε ευμεγέθους χωροκατακτητική εξεργασία στον άνω πόλο του αριστερού νεφρού. Η ασθενής υποβλήθηκε σε αριστερή νεφρεκτομή και η ιστολογική εξέταση ανέδειξε νεφροκυτταρικό καρκίνωμα με διαυγή κύτ-

<sup>1</sup> Γ' Παθολογική-Ογκολογική Κλινική Γ.Ο.Ν.Κ. "Αγ.Ανάργυροι", Αθήνα. Υπεύθυνος αλληλογραφίας: Ε. Σαμαντάς, Διευθυντής Γ' Ογκολογικής Κλινικής Γ.Ο.Ν.Κ. "Αγ.Ανάργυροι", 9<sup>η</sup> Στάση Λ. Χασιάς, Ίλιον, Τ.Κ.131 22, Τηλ./ FAX: 2102388798, E-mail: hecogaga@otenet.gr

ταρα πυρηνικού grade IV κατά Furhman. Από το κληρονομικό ιστορικό της ασθενούς προέκυψε ότι ο υιός της απεβίωσε το 2003 από φακωμάτωση σε ηλικία 31 ετών.

Με βάση το ατομικό και κληρονομικό ιστορικό της ασθενούς τέθηκε η διάγνωση της νόσου του VHL. Έκτοτε η ασθενής υποβαλλόταν σε τακτικούς επανελέγχους με κλινική και παρακλινική εκτίμηση. Τον Απρίλιο του 2005 σε αξονική τομογραφία θώρακος παρατηρήθηκαν πολλαπλές οζώδεις αλλοιώσεις στο δεξιό πνεύμονα και ένα υπέρπυκνο μórφωμα στον αριστερό πνεύμονα, ευρήματα συμβατά με δευτεροπαθείς εντοπίσεις. Ο υπόλοιπος απεικονιστικός έλεγχος απέβη αρνητικός για δευτεροπαθείς εντοπίσεις σε άλλα όργανα. Η φυσική κατάσταση της ασθενούς κατά την επίσκεψή της στα εξωτερικά ιατρεία ήταν πολύ καλή (performance status= 0), ενώ από την αντικειμενική της εξέταση αναδείχθηκε μείωση του αναπνευστικού ψιθυρίσματος δεξιά.

Η ασθενής εισήχθη τον Μάιο του 2005 στο νοσοκομείο μας για έναρξη χημειοθεραπείας με βινβλαστίνη και ανοσοθεραπείας με ιντερφερόνη άλφα.

## Συζήτηση

Η νόσος VHL κληρονομείται με τον αυτόσωμο επικρατούντα τύπο και η διεισδυτικότητα της φτάνει το 90% στην ηλικία των 65 ετών<sup>3</sup>. Η συχνότητα εμφάνισης των ποικίλων όγκων και κύστεων στην πορεία της νόσου, καθώς και ο μέσος όρος ηλικίας εμφάνισης αυτών παρουσιάζεται στον πίνακα 1.

Δύο είναι οι κύριοι τύποι της νόσου VHL<sup>4</sup>. Ο τύπος 1 περιλαμβάνει τους ασθενείς χωρίς φαιοχρωμοκύττωμα που μπορεί να αναπτύξουν όλες τις άλλες εκδηλώσεις της νόσου. Ο τύπος 2 περιλαμβάνει τους ασθενείς με φαιοχρωμοκύττωμα. Ο τύπος 2 υποδιαιρείται σε τρεις υπότυπους: τον τύπο 2A, που περιλαμβάνει ασθενείς με φαιο-

χρωμοκύττωμα, αγγείωματα αμφιβληστροειδούς και αιμαγγειοβλαστώματα του ΚΝΣ, τον τύπο 2B, με ασθενείς που έχουν επιπλέον του τύπου 2A νεφροκυτταρικό καρκίνωμα και κύστεις ή όγκους παγκρέατος και τον τύπο 2C, που περιλαμβάνει τους ασθενείς μόνο με φαιοχρωμοκύττωμα. Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου ποικίλλουν και σχετίζονται με την υποκείμενη κάθε φορά βλάβη.

Η διάγνωση στοιχειοθετείται όταν ασθενείς χωρίς οικογενειακό ιστορικό αναπτύξουν πάνω από δύο αιμαγγειοβλαστώματα στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), συμπεριλαμβανομένων των αγγειωμάτων του αμφιβληστροειδούς, ή όταν εκδηλώσουν ένα αιμαγγειοβλάστωμα του ΚΝΣ και ένα σπλαγγνικό όγκο<sup>5</sup>. Στους ασθενείς με κληρονομικό ιστορικό της νόσου αρκεί η παρουσία ενός μόνο αιμαγγειοβλαστώματος του ΚΝΣ ή ενός νεφροκυτταρικού καρκινώματος ή ενός φαιοχρωμοκυτώματος για να τεθεί η διάγνωση<sup>6</sup>. Ωστόσο η νόσος σήμερα μπορεί να ταυτοποιηθεί και γενετικά με ανάλυση των βάσεων του DNA<sup>7</sup>. Στην περίπτωση της ασθενούς μας, η παρουσία του παρεγκεφαλιδικού αιμαγγειοβλαστώματος, του νεφροκυτταρικού καρκινώματος και ο θάνατος του υιού της από νευροδερματικό σύνδρομο έθεσε τη διάγνωση της νόσου VHL.

Όσον αφορά στην παρακολούθηση της νόσου είναι σημαντικό να τονιστεί ότι εξ' αιτίας της υψηλής συχνότητας διαφόρων όγκων και μάλιστα σε ποικίλα οργανικά συστήματα είναι αναγκαία η συστηματική παρακολούθηση (screening) των ασθενών με νόσο VHL, καθώς και των συγγενών αυτών<sup>3</sup>. Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται τα προτεινόμενα μέσα παρακολούθησης των ασθενών υψηλού κινδύνου.

Η θεραπεία της νόσου VHL είναι συμπτωματική. Οι όγκοι του αμφιβληστροειδούς αντιμετωπίζονται με θεραπεία laser. Οι μεγάλοι όγκοι του εγκεφάλου, τα νεφροκυτταρικά καρκινώματα, τα φαιοχρωμοκυτώματα, οι όγκοι της επιδιδυμίδας και οι όγκοι των ενδολεμφικών θυλάκων αντιμε-

**Πίνακας 1.** Συχνότητα εμφάνισης και ηλικία έναρξης των κυριότερων εκδηλώσεων της νόσου VHL

Συνηθέστερες εκδηλώσεις της νόσου VHL	Μέσος όρος ηλικίας εμφάνισης (έτη)	Συχνότητα εμφάνισης (%)
Αγγείωματα αμφιβληστροειδούς	25 (1-67)	25-60
Αιμαγγειοβλαστώματα ΚΝΣ	33 (9-78)	10-72
Νεφροκυτταρικά καρκινώματα	39 (16-67)	25-45
Φαιοχρωμοκυτώματα	30 (5-58)	10-20
Κύστεις παγκρέατος	36 (5-70)	35-70
Κυσταδενώματα επιδιδυμίδας	άγνωστη	25-60
Όγκοι ενδολεμφικών θυλάκων	22 (12-50)	10

**Πίνακας 2.** Προτεινόμενα μέσα παρακολούθησης (screening) των ασθενών υψηλού κινδύνου για νόσο VHL

<i>Test</i>	<i>Ηλικία έναρξης (συχνότητα)</i>
Οφθαλμοσκόπηση	1 έτους (ετησίως)
Κατεχολαμίνες και μετανεφρίνες πλάσματος ή ούρων 24ώρου	2 ετών (ετησίως και κάθε φορά που υπάρχει αύξηση αρτηριακής πίεσης)
MRI εγκεφάλου	11 ετών (ετησίως)
U/S κοιλίας	8 ετών (ετησίως)
CT κοιλίας	18 ετών ή νωρίτερα αν υπάρχουν κλινικές ενδείξεις (ετησίως)

τωπίζονται χειρουργικά.

Στην περίπτωση της ασθενούς μας είχαμε ανάπτυξη νεφροκυτταρικού καρκινώματος που αντιμετωπίστηκε με νεφρεκτομή. Δεκαέξι μήνες μετά το χειρουργείο ακολούθησε πρόοδος της νόσου με ανάπτυξη δευτεροπαθών εντοπίσεων στους πνεύμονες. Λόγω του προχωρημένου σταδίου της νόσου η συστηματική θεραπεία κρίθηκε απαραίτητη. Για το σκοπό αυτό έγινε έναρξη χημειοθεραπείας και ανοσοθεραπείας. Ο συνδυασμός βινβλαστίνης και ιντερφερόνης άλφα αυξάνει την ανταπόκριση των ασθενών με μεταστατικό νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, ενώ οι συνηθέστερες παρενέργειες αυτής της συνδυασμένης θεραπείας είναι το “γριππώδες σύνδρομο” (95%), η κόπωση (70%), οι γαστρεντερικές διαταραχές (68%) και η λευκοπενία (53%)<sup>8,9</sup>.

Σε εξέλιξη βρίσκονται τα τελευταία χρόνια μελέτες για τη θεραπεία της νόσου VHL με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων<sup>10</sup> που ίσως αλλάξουν μελλοντικά την πρόγνωση της νόσου<sup>11</sup>.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Richard S, Graff J, Lindau J, Resche F. Von Hippel-Lindau disease. *Lancet* 2004; 363:1231-1234
2. Linehan M, Cordon-Cardo C, Isaacs W. Cancers of the genitourinary system. In: *Cancer Principles & Practice of Oncology*, ed, De Vita V. Lippincott-Raven, Philadelphia 1997
3. Lonsler R, Glenn G, Walther C et al. Von Hippel-Lindau disease. *Lancet* 2003;361:2059-67
4. Singer A. Von Hippel-Lindau disease, renal tumor and bilateral epididymal masses. *Infect Urol* 2000;13(4):106-109
5. Friedrich C. Von Hippel-Lindau Syndrome. *Cancer* 1999;86:2478-82
6. Sessa A, Battini G, Meroni M et al. *J Nephrol* 2005;18:209-212
7. Sgambati M, Stolle C, Choyke P et al. *J. Hum. Genet* 2000;66 :84-91
8. Fossa SD, Martinelli G, Otto U et al. Recombinant interferon alfa-2a with or without vinblastine in metastatic renal cell carcinoma: results of a European multi-center phase III study. *Ann Oncol* 1992;3(4):301-5
9. Motzer R, Bander N, Nanus D. Renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 1996;335:865-875
10. Yang J, Haworth L, Sherry R et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 2003;349:427-34
11. George D, Kaelin W. The von Hippel-Lindau protein, vascular endothelial growth factor, and kidney cancer. *N Engl J Med* 2003;349:419-421

# Σύγχρονα ενδομητριοειδη νεοπλάσματα ωοθηκών και ενδομήτριου μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση

A. Αρδαβάνης, M.B. Καραμούζης, A. Αλεξόπουλος, Γ. Ρηγάτος

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρουσία σύγχρονων νεοπλασμάτων ωοθηκών και ενδομητρίου είναι σχετικά ασυνήθης, ενώ η πιθανή σχέση μεταξύ των παραγόντων υποβοηθούμενης γονιμοποίησης και καρκινογένεσης παραμένει αμφιλεγόμενη. Παρουσιάζουμε την περίπτωση μίας γυναίκας 40 ετών με ταυτόχρονη εμφάνιση ενδομητριοειδών καρκινωμάτων ωοθηκών και ενδομητρίου μετά από έξι αποτυχημένες προσπάθειες υποβοηθούμενης γονιμοποίησης. Η ασθενής είχε εξαρχής πνευμονική νόσο. Υπεβλήθη σε χειρουργική αφαίρεση της μήτρας και των εξαρτημάτων και στη συνέχεια έλαβε χημειοθεραπεία με πακλιταξέλη και καρβοπλατίνη. Λίγο μετά από μία σημαντική κλινική ανταπόκριση εμφανίστηκε διάχυτη μεταστατική νόσος στα γειτονικά οστά, στο υποδόριο και στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Κ.Ν.Σ.), η οποία αντιμετωπίστηκε ανεπιτυχώς με χημειοθεραπεία δεύτερης γραμμής. Η επιθετική κλινική πορεία της ασθενούς μας μπορεί να οφείλεται σε ένα ποσοστό στην εξαρχής ύπαρξη γενικευμένης νόσου. Οριστικά συμπεράσματα σχετικά με την πιθανή σχέση με τις προηγηθείσες προσπάθειες υποβοηθούμενης γονιμοποίησης δεν μπορούν να δοθούν, αλλά εντατική κλινική παρακολούθηση συνιστάται σε τέτοιους ασθενείς πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από θεραπεία υπογονιμότητας. **Λέξεις ευρετηρίου:** ενδομητριοειδές καρκίνωμα, καρκίνος ωοθηκών, καρκίνος ενδομητρίου, υποβοηθούμενη γονιμοποίηση. **Βήμα Κλινικής Ογκολογίας 2005, 4 (1-2):194-198.**

## Εισαγωγή

Η παρουσία ταυτόχρονων καρκινωμάτων στις ωοθήκες και στο ενδομήτριο είναι σχετικά ασυνήθης και συμβαίνει σε περίπου 10% των ασθενών με επιθηλιακό καρκίνο μήτρας ή ωοθηκών<sup>1</sup>. Αυτά τα σύγχρονα νεοπλάσματα αποτελούν διαγνωστική και θεραπευτική πρόκληση, ειδικά εάν έχουν την ίδια ιστολογική εικόνα.

Η πιθανή σχέση μεταξύ των παραγόντων υποβοηθούμενης γονιμοποίησης (ΥΓ) και καρκινογέ-

νεσης παραμένει αμφιλεγόμενη καθώς οι περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες που έχουν γίνει έως τώρα είχαν σημαντικούς μεθοδολογικούς περιορισμούς, όπως μικρό αριθμό ασθενών, μικρό διάστημα παρακολούθησης των ασθενών και απουσία πληροφοριών σχετικά με άλλες παραμέτρους που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου<sup>2,3</sup>.

Στην παρούσα αναφορά περιγράφουμε την περίπτωση μίας ασθενούς που εμφανίστηκε με μεταστατικό ενδομητριοειδές καρκίνο ωοθηκών και ενδομητρίου μετά από έξι αποτυχημένες προσπάθειες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Η ασθενής εμφάνισε μία πολύ επιθετική κλινική πορεία η οποία συζητείται αναλυτικά.

Α' Παθολογική Ογκολογική Κλινική, Α.Ο.Γ.Ν.Α. "Ο Άγιος Σάββας".

Αλληλογραφία: Αλέξανδρος Αρδαβάνης, Λ. Αλεξάνδρας 171, Αθήνα 11522, email: [ardavanis@yahoo.com](mailto:ardavanis@yahoo.com)

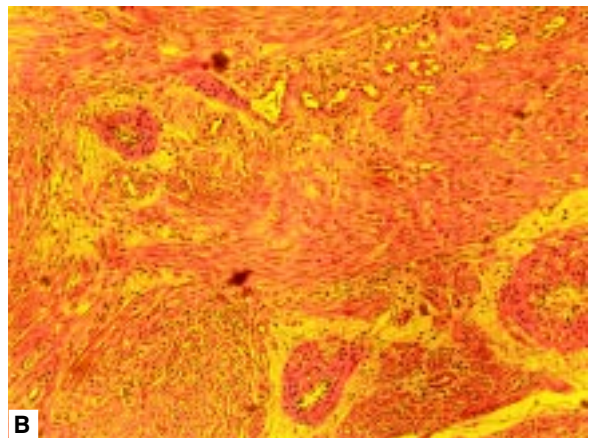
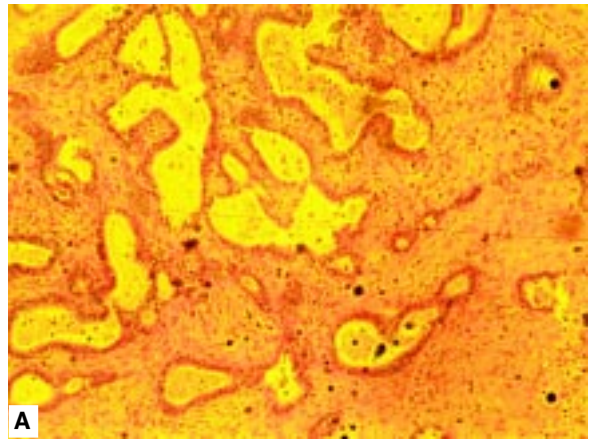
## Παρουσίαση περιστατικού

Ασθενής ηλικίας 40 ετών απευθύνθηκε στο γυναικολόγο της τον Ιούλιο του 2003 με αναφερόμενη απώλεια αίματος από τον κόλπο και δυσουρικά ενοχλήματα τους τελευταίους δύο μήνες. Από το οικογενειακό και ατομικό ιστορικό το μόνο αξιοσημείωτο ήταν υπογονιμότητα που είχε αποδοθεί σε απλή διάχυτη υπερπλασία του ενδομητρίου χωρίς παρουσία ατυπίας. Μεταξύ 2000 και 2002 η ασθενής υποβλήθηκε σε έξι αποτυχημένες προσπάθειες ΥΓ με χρήση αναλόγων γοναδοτροφινών. Η κλινική και εργαστηριακή αξιολόγηση πριν από την έναρξη της ΥΓ ήταν φυσιολογική ενώ και ο υστεροσκοπικός έλεγχος στα μεσοδιάστημα δεν ανέδειξε παθολογικά ευρήματα.

Κατά τη φυσική εξέταση η ασθενής δεν είχε όψη πάσχοντος. Η γυναικολογική εξέταση ανέδειξε σκληρό ψηλαφητό ενδοκολπικό μόρφωμα 2x3 εκατοστά. Η ιστολογική εξέταση του μορφώματος έδειξε κολπικό επιθήλιο με διάχυτη διήθηση από αδενοκαρκίνωμα μέτριας προς χαμηλής διαφοροποίησης. Η γενική αίματος, ο βιοχημικός έλεγχος και ο έλεγχος πήξης ήταν φυσιολογικά, ενώ το CA125 ήταν 85U/ml. Ο κοιλιακός και ο διακολπικός υπέρηχος έδειξαν συμπαγή μάζα δεξιάς ωθήκης μέγιστης διαμέτρου 8 εκατοστά. Η ακτινογραφία θώρακος ήταν φυσιολογική, ενώ η αξονική τομογραφία (CT) θώρακος ανέδειξε πολλαπλές μικρού μεγέθους οζώδεις βλάβες και στους δύο πνεύμονες που ήταν ύποπτες για δευτεροπαθείς εντοπίσεις.

Η ασθενής υποβλήθηκε σε ολική υστερεκτομή μετά των εξαρτημάτων και δείγματα ιστών ελήφθησαν από το περιτόναιο και το διάφραγμα, ενώ και περιτοναϊκό υγρό εστάλη για κυτταρολογική εξέταση. Η ιστολογική εξέταση έδειξε μέτριας διαφοροποίησης ενδομητριοειδές καρκίνωμα δεξιάς ωθήκης με καρκινωμάτωδη έμβολα αιμοφόρων και λεμφικών αγγείων (Εικόνα 1Α), ενδομητριοειδές καρκίνωμα σώματος μήτρας σε έδαφος άτυπης υπερπλασίας με επιφανειακή διήθηση μυομητρίου (Εικόνα 1Β), ενώ το περιτόναιο, το διάφραγμα και η κυτταρολογική του περιτοναϊκού υγρού ήταν φυσιολογικά.

Μετά το χειρουργείο, η ασθενής απευθύνθηκε στο Νοσοκομείο μας όπου και υπόβληθηκε σε 6 κύκλους χημειοθεραπείας – ανά 3 εβδομάδες – με πακλιταξέλη 175 mg/m<sup>2</sup> και καρβοπλατίνη AUC 5 με καλά ανεκτή τοξικότητα και μερική κλινική ανταπόκριση. Ο κλινικός, εργαστηριακός και απεικονιστικός επανέλεγχος μετά το τέλος της χημειοθεραπείας έδειξε πλήρη εξαφάνιση του εν-



**Εικόνα 1. Α** Ενδομητριοειδές καρκίνωμα μέσης διαφοροποίησης στη δεξιά ωθήκη με καρκινωμάτωδη έμβολα στα αιμοφόρα και λεμφικά αγγεία.

**Β** Ενδομητριοειδές καρκίνωμα σώματος μήτρας σε έδαφος άτυπης υπερπλασίας ενδομητρίου με επιφανειακή διήθηση του μυομητρίου.

δοκολπικού μορφώματος, CA125=7.5U/ml, ενώ η CT θώρακος εμφάνισε μόνο δύο υπολειπόμενες βλάβες (7mm και 3mm) στο δεξιό άνω λοβό.

Για να ληφθούν αποφάσεις σχετικά με το παραπέρα θεραπευτικό πλάνο της, υποβλήθηκε σε Positron Emission Tomography (PET) scan και σε spiral CT. Οι εξετάσεις ανέδειξαν παθολογική πρόσληψη του ραδιοφαρμάκου στη ηβική σύμφυση στο δεξιό ηβικό οστό. Ακολούθησε βιοψία υπό CT της βλάβης, η οποία φάνηκε πως ήταν καρκίνωμα ίδιο με τον πρωτοπαθή όγκο.

Η ασθενής έλαβε 30 Gy σε 3 Gy κλάσματα στη συγκεκριμένη περιοχή και ξεκίνησε μονοθεραπεία με πακλιταξέλη 175 mg/m<sup>2</sup>. Λίγο μετά το δεύτερο κύκλο χημειοθεραπείας η ασθενής εισήχθη επειγόντως στο Νοσοκομείο με κεφαλαλγία, δυσαρθρία, νευρολογικά ελλείμματα, αστάθεια και διατα-

ραχές επιπέδου συνείδησης. Επιπλέον, στη φυσική εξέταση βρέθηκε μία υποδόρια μάζα 2 εκατοστών στο αριστερό άνω άκρο. Η CT εγκεφάλου ανέδειξε πολλαπλές δευτεροπαθείς εντοπίσεις και η βιοψία με λεπτή βελόνα της υποδόριας μάζας ήταν θετική για αδενοκαρκίνωμα. Φαρμακευτική αγωγή με κορτικοειδή ξεκίνησε άμεσα, ενώ παράλληλα η ασθενής έλαβε ολοκρανική ακτινοθεραπεία εγκεφάλου (30 Gy σε 10 – 3Gy κλάσματα), με ταχεία βελτίωση της νευρολογικής εικόνας.

Μερικές ημέρες αργότερα η ασθενής ξεκίνησε χημειοθεραπεία δεύτερης γραμμής με τοποτεκάνη. Μετά το δεύτερο κύκλο χημειοθεραπείας η ασθενής εισήχθη ξανά στο Νοσοκομείο με έντονη δύσπνοια και βήχα. Η ακτινογραφία θώρακος έδειξε διάχυτες πνευμονικές βλάβες, ενώ η υποδόρια μάζα ήταν σχεδόν διπλάσια σε μέγεθος. Στο θεραπευτικό της σχήμα προστέθηκε και πεγκυλιωμένη λιπιδωμιακή δοξορουβικίνη (PLD, Caelyx®). Μετά τον πρώτο κύκλο όμως του συνδυασμού τοποτεκάνης/PLD η ασθενής εμφάνισε επιδείνωση της αναπνευστικής λειτουργίας της. Η ακτινογραφία έδειξε μεγαλύτερη επιδείνωση της πνευμονικής νόσου. Η χημειοθεραπεία διακόπηκε. Η ασθενής απεβίωσε από αναπνευστική ανεπάρκεια δύο βδομάδες αργότερα, οκτώ μήνες συνολικά από την αρχική διάγνωση.

## Συζήτηση

Ο καρκίνος ωθηκών αποτελεί περίπου το 4% των καρκίνων στις γυναίκες. Τα επιθηλιακά νεοπλασμάτα των ωθηκών περιλαμβάνουν 4 κυρίως ιστολογικούς τύπους (ορώδη, βλεννώδη, εκ διαυγών κυττάρων και ενδομητριοειδή), ενώ γίνεται πλέον κατανοητό ότι τα αναπτυξιακά μονοπάτια αυτών των υποτύπων είναι διαφορετικά<sup>4</sup>. Οι ενδομητριοειδείς όγκοι αντιπροσωπεύουν περίπου το 20% των επιθηλιακών όγκων των ωθηκών. Σε περίπου 20% των περιπτώσεων τα νεοπλασμάτα αυτά συνδυάζονται και με καρκινώματα του ενδομητρίου. Τα ενδομητριοειδή καρκινώματα των ωθηκών πιθανά προέρχονται από κακοήγη μετασχηματισμό έκτοπων ενδομητρικών εμφυτεύσεων, οι οποίες αποτελούν την ενδομητρίωση, και όχι σε επιφανειακό ωθηκικό επιθήλιο<sup>5</sup>. Η πλειοψηφία (περίπου 80%) αυτών των όγκων είναι κακοήθεις, ενώ οι υπόλοιποι (περίπου 20%) συνήθως είναι όγκοι οριακής κακοήθειας. Οι ενδομητριοειδείς όγκοι εμφανίζονται κυρίως σε γυναίκες ηλικίας 50-70 ετών<sup>6</sup>.

Η ταυτόχρονη παρουσία καρκινώματος στο ενδομήτριο και τις ωθήκες μπορεί να σημαίνει

μεταστατική νόσο ή ανεξάρτητα αναπτυσσόμενα πρωτοπαθή νεοπλασμάτα<sup>7</sup>. Η ταξινόμηση αυτών των βλαβών σαν δύο ανεξάρτητα πρωτοπαθή νεοπλασμάτα ή σαν μονήρες μεταστατικό πρωτοπαθές νεόπλασμα έχει ιδιαίτερη σημασία αναφορικά με την πρόγνωση και το θεραπευτικό πλάνο. Μερικοί ερευνητές έχουν προτείνει ότι η συνύπαρξη ενδομητριοειδούς ιστολογικής βλάβης στις ωθήκες και τη μήτρα αντιπροσωπεύει δύο διαφορετικές κλινικές οντότητες και αυτοί οι ασθενείς πιθανά έχουν σχετικά καλή κλινική έκβαση<sup>8</sup>. Οι ασθενείς με σύγχρονα ενδομητριοειδή νεοπλασμάτα ωθηκών και ενδομητρίου είναι γενικά μικρότερης ηλικίας σε σχέση με αυτούς με ενδομητριοειδή ή ωθηκικά αδενοκαρκινώματα. Οι όγκοι αυτοί έχουν τη τάση να είναι χαμηλότερης διαφοροποίησης, εμφανίζονται σε αρχικά στάδια, ενώ συχνά σχετίζονται με ενδομητρίωση. Υπάρχουν όμως δημοσιευμένα στοιχεία που προτείνουν ότι η επιβίωση των ασθενών με σύγχρονα πρωτοπαθή νεοπλασμάτα σχετίζεται άμεσα με το στάδιο των δύο πρωτοπαθών και ότι ένα δεύτερο σύγχρονο νεόπλασμα δεν επηρεάζει αρνητικά την πρόγνωση των ασθενών<sup>9</sup>. Η διάκριση μεταξύ δύο πρωτοπαθών και ενός μεταστατικού πρωτοπαθούς σε ασθενείς με σύγχρονα ενδομητριοειδή καρκινώματα της μήτρας και των ωθηκών είναι δύσκολη. Η ιστοπαθολογική ανάλυση από μόνη της φαίνεται να είναι ανεπαρκής και μερικές φορές παραπλανητική.

Πρόσφατα προτάθηκε ότι η μοριακή ανάλυση μπορεί να είναι χρήσιμη στη διερεύνηση σύγχρονων ενδομητριοειδών νεοπλασμάτων ωθηκών και μήτρας. Απώλεια ετεροζυγωτίας της χρωμοσωμικής περιοχής 10q23.3 και σημειακή μετάλλαξη του ογκοκατασταλτικού γονιδίου PTEN συμβαίνουν συχνά σε ενδομητριοειδή καρκινώματα και των ωθηκών και της μήτρας<sup>10</sup>. Το γονίδιο PTEN/MMAC στο χρωμόσωμα 10q23 είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο που εμπλέκεται στην παθογένεση μίας μεγάλης ποικιλίας κακοηθειών, αλλά έως τώρα σωματικές μεταλλάξεις του PTEN δεν έχουν βρεθεί σε μελέτες με ορώδη καρκινώματα των ωθηκών. Στα καρκινώματα του ενδομητρίου, μεταλλάξεις του PTEN είναι πολύ συχνές σε ενδομητριοειδείς όγκους αλλά σπάνια ανευρίσκονται σε ορώδεις όγκους. Η συχνή ταυτοποίηση μεταλλάξεων του PTEN σε ενδομητριοειδή νεοπλασμάτα των ωθηκών δείχνει ότι αυτό παίζει ιδιαίτερα σημαντικό αιτιολογικό ρόλο σε αυτόν τον ιστολογικό υπότυπο. Η απουσία μεταλλάξεων σε άλλους ιστολογικούς υπότυπους είναι σε ακολούθια με την υπόθεση ότι τα επιθηλιακά νεο-

πλάσματα της ωθήκης προέρχονται από διαφορετικά αναπτυξιακά μονοπάτια.

Το περιστατικό που περιγράψαμε είχε τρεις διαφορετικές νεοπλασματικές μάζες με παρόμοια ιστολογία σε τρεις περιοχές που σχετίζονται άμεσα με τη τεχνική της ΥΓ. Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι καρκινικά κύτταρα από ένα πρωτοπαθές νεόπλασμα ωθηκών εμφυτεύθηκαν στον κόλπο και στην κοιλότητα της μήτρας ή από την κοιλότητα της μήτρας στην ωθήκη και τον κόλπο. Η παρουσία, όμως, της προφανώς προϋπάρχουσας άτυπης υπερπλασίας του ενδομητρίου καθιστά πιθανό το σενάριο των δύο σύγχρονων πρωτοπαθών όγκων, ενός στην ωθήκη και ενός στο ενδομήτριο,<sup>11</sup> ενώ τα καρκινικά κύτταρα πιθανό εμφυτεύθηκαν στον κόλπο κατά τη διάρκεια της ΥΓ. Η γενετική ανάλυση των ιστών θα μπορούσε να δώσει πολλές απαντήσεις, αλλά δεν ήταν δυνατή.

Το περιστατικό που περιγράψαμε επαναφέρει το κρίσιμο ερώτημα της πιθανής σχέσης μεταξύ ΥΓ και καρκινογένεσης. Υπάρχουν αρκετές θεωρίες σχετικά με τους παράγοντες που μπορεί να συμμετέχουν στην ανάπτυξη των καρκινωμάτων των ωθηκών. Δύο από αυτές ανάγκασαν τους ερευνητές να αξιολογήσουν τους παράγοντες ΥΓ σαν πιθανό παράγοντα κινδύνου. Η πρώτη θεωρία είναι ότι ένας αυξημένος αριθμός μη-διακοπτόμενων ωορρηκτικών κύκλων στη ζωή της γυναίκας αυξάνει την πιθανότητα που έχει αυτή η γυναίκα να αναπτύξει καρκίνο ωθηκών. Αυτή η θεωρία εξηγεί και το γεγονός ότι διάφοροι παράγοντες που διακόπτουν τη σταθερή ωορρηξία, όπως είναι η κύηση, η γαλουχία, και τα αντισυλληπτικά, σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου

ωθηκών. Η δεύτερη θεωρία είναι ότι τα αυξημένα επίπεδα συγκεκριμένων ορμονών που σχετίζονται με την ωορρηξία, όπως η χοριακή γοναδοτροπίνη, αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου ωθηκών. Οι παράγοντες ΥΓ μπορούν να αυξήσουν τον αριθμό των ωορρηξιών και τα επίπεδα των ορμονών που σχετίζονται με αυτή.

Οι παράγοντες που επάγουν την ωορρηξία είναι κλινικά διαθέσιμοι τα τελευταία τριάντα χρόνια και έχουν βοηθήσει πολλά ζευγάρια που δεν θα μπορούσαν να τεκνοποιήσουν με άλλο τρόπο. Έως τώρα δεν υπάρχει οριστική και επαρκής απάντηση στον προβληματισμό που έχει αναπτυχθεί σχετικά με την πιθανή αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου ωθηκών από τη χρήση τους. Αν και υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν την ύπαρξη σχέσης μεταξύ φαρμακευτικών παραγόντων ΥΓ και καρκίνου ωθηκών, υπάρχουν εξίσου αρκετά στοιχεία που υποστηρίζουν το ακριβώς αντίθετο<sup>3,4,12-16</sup>.

Συμπερασματικά, η ασθενής μας εμφάνισε ταυτόχρονα ενδομητριοειδή καρκινώματα ωθηκών και ενδομητρίου χωρίς κλινικό ή ιστολογικό στοιχείο ύπαρξης ενδομητρίωσης. Η περιγραφείσα επιθετική κλινική πορεία της νόσου μπορεί μερικώς να αποδοθεί στη de novo ύπαρξη μεταστατικής νόσου, ενώ η παρουσία πνευμονικής νόσου πιθανά εξηγεί την προσβολή του Κ.Ν.Σ. Πάντως, οι έξι αποτυχημένες προσπάθειες ΥΓ δεν αποκλείουν το ενδεχόμενο επαγωγής ενός τέτοιου επιθετικού φαινοτύπου. Οριστικά συμπεράσματα δεν μπορούν να βγουν αλλά η στενή κλινική παρακολούθηση τέτοιων ασθενών πριν, κατά τη διάρκεια, και μετά από ΥΓ θα πρέπει πάντοτε να γίνεται.

## ABSTRACT

### A. ARDAVANIS, M.V. KARAMOUZIS, A. ALEXOPOULOS, G. RIGATOS: **Endometrioid ovarian and uterine carcinoma presented in a 40 years-old female after in-vitro fertilization procedure**

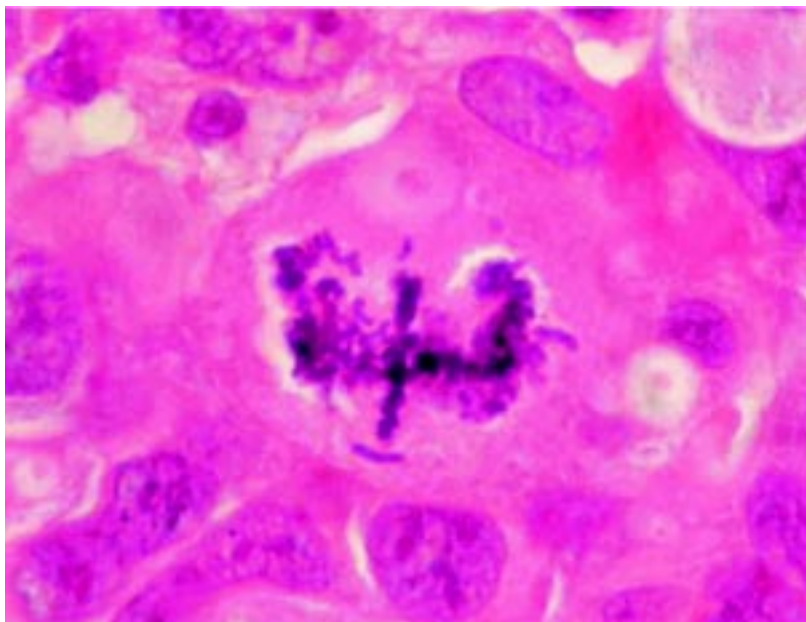
The case of a 40 years-old patient with simultaneous aggressive endometrioid carcinoma of the ovary and uterus a few months after the sixth attempt of in-vitro fertilization is presented. The patient had de novo lung disease at surgery and diffuse metastatic spread to adjacent bone, subcutaneous tissue and the central nervous system (CNS) soon after a spectacular response to the primary Paclitaxel/Carboplatinum chemotherapy and while on maintenance and second-line chemotherapy, respectively. The fulminating course of our patient might in part be attributed to the existence of the advanced disease at presentation. Definite conclusions about the possible association with the previously performed assisted reproduction cannot be drawn but close clinical surveillance of such patients before, during and after infertility treatment is strongly warranted. **Forum of Clinical Oncology 4 (1-2):194-198, 2005.**

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Zaino R, et al. Simultaneously detected endometrial and ovarian carcinomas—a prospective clinicopathologic study of 74 cases: a gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol* 2001, 83: 355-362.
2. Venn A, et al. Cancer risks associated with the diagnosis of infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003, 17: 343-367.
3. Brinton LA, et al. Ovarian cancer risk after the use of ovulation-stimulating drugs. *Obstet Gynecol* 2004, 103: 1194-1203.
4. Horiuchi A, et al. Toward understanding the natural history of ovarian carcinoma development: a clinicopathological approach. *Gynecol Oncol* 2003, 88: 309-317.
5. Ness RB. Endometriosis and ovarian cancer: thoughts on shared pathophysiology. *Am J Obstet Gynecol* 2003, 189: 280-294.
6. Kline RC, et al. Endometrioid carcinoma of the ovary: retrospective review of 145 cases. *Gynecol Oncol* 1990, 39: 337-346.
7. Falkenberry SS, et al. Synchronous endometrioid tumors of the ovary and endometrium. A clinicopathologic study of 22 cases. *J Reprod Med* 1996, 41: 713-718.
8. Soliman PT, et al. Synchronous primary cancers of the endometrium and ovary: a single institution review of 84 cases. *Gynecol Oncol* 2004, 94: 456-462.
9. Ayhan A, et al. Survival and prognostic factors in patients with synchronous ovarian and endometrial cancers and endometrial cancers metastatic to the ovaries. *Eur J Gynaecol Oncol* 2003, 24: 171-174.
10. Ricci R, et al. PTEN as a molecular marker to distinguish metastatic from primary synchronous endometrioid carcinomas of the ovary and uterus. *Diagn Mol Pathol* 2003, 12: 71-78.
11. Gotoh T, et al. Synchronous mucinous adenocarcinoma of the endometrium and mucinous cystadenoma of bilateral ovaries presenting during fertility therapy. *Int J Gynecol Cancer* 2004, 14: 169-171.
12. Whittemore AS, et al. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 U.S. case-control studies. IV. The pathogenesis of epithelial ovarian cancer. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol* 1992, 136: 1212-1220.
13. Rossing MA, et al. Ovarian tumors in a cohort of infertile women. *N Engl J Med* 1994, 331: 771-776.
14. Kashyap S, et al. Assisted reproductive technology and the incidence of ovarian cancer: A meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2004, 103: 785-794.
15. Dor J, et al. Cancer incidence in a cohort of infertile women who underwent in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002, 77: 324-327.
16. Venn A, et al. Risk of cancer after use of fertility drugs with in-vitro fertilization. *Lancet* 1999, 354: 1586-1590.

# “Άγγελος του θανάτου” -στο στόχο μιας νέας γενιάς αντινεοπλασματικών φαρμάκων-

*A. Μπατιστάτου*



**Εικόνα 1.** Άτυπη μίτωση σε ένα καρκίνωμα εκ μεταβατικού επιθηλίου ουροδόχου κύστεως.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Garber K. Divide and conquer:New generation of drugs targets mitosis. J Natl Cancer Inst 2005;97:874-6.

Υπεύθυνη στήλης: Έλενα Λινάρδου

### ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2005

30 Σεπτεμβρίου-4 Οκτωβρίου 2005

#### 4th Annual Scientific Meeting of the International Society for the Prevention of Tobacco Induced Diseases

Αθήνα

Info: E-mail: [zavras@hms.harvard.edu](mailto:zavras@hms.harvard.edu) ; <http://isptid.globalink.org>

2-5 Οκτωβρίου 2005

#### Annual NCRI Cancer Conference [NCRI]

International Conference Centre, Birmingham, UK  
Info: NCRI Conference Secretariat PO Box 49709  
London WC2A 3WZ United Kingdom tel: +44 (0)20 7269 3420

email: [ncriconference@ncri.org.uk](mailto:ncriconference@ncri.org.uk)  
<http://www.ncri.org.uk> ; <http://www.ecrmforum.org/>

13-15 Οκτωβρίου 2005

#### 4<sup>ο</sup> Σεμινάριο Κλινικής Ογκολογίας

Θεσσαλονίκη

Info: [cchemo@otenet.gr](mailto:cchemo@otenet.gr)

13-15 Οκτωβρίου 2005

#### 10th World Congress on Advances in Oncology & 8th International Symposium on Molecular Medicine

Χερσόνησος, Κρήτη

Info: e-mail: [spandidos@spandidos.gr](mailto:spandidos@spandidos.gr) ; <http://www.spandidos.gr>

21-23 Οκτωβρίου 2005

#### 4th Symposium on New Molecules in Cancer Therapeutics

Ξενοδοχείο Divani

Αθήνα

info: [basilikh@horg.gr](mailto:basilikh@horg.gr)

Ίατρολόγος Ογκολόγος, Επιμελήτρια Α', Ογκολογική Κλινική Νοσοκομείου Metropolitan, Νέο Φάληρο, Αθήνα

30 Οκτωβρίου-3 Νοεμβρίου 2005

#### ECCO 13, The European Cancer Conference Paris, France

Organizers: Federation of European Cancer Societies (FECS)

Secretariat: ECCO 13 Secretariat, FECS, Avenue E. Mounier 83, B-1200 Brussels, Belgium. Telephone: +32 (0) 2 775 02 01, Fax: +32 (0) 2 775 02 00  
e-mail: [ECCO13@fecsb.be](mailto:ECCO13@fecsb.be)

### ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2005

9-12 Νοεμβρίου 2005

#### 13<sup>ο</sup> Μετεκπαιδευτικό Συνέδριον Κλινικής Ογκολογίας

Ξενοδοχείο Terra Maris, χερσόνησος Κρήτη

Info: <http://oncology.med.uoc.gr>

14-18 Νοεμβρίου 2005

#### AACR-NCI-EORTC International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics: Discovery, Biology, and Clinical Applications

Pennsylvania Convention Center, Philadelphia, Pennsylvania

Info: [meetings@aacr.org](mailto:meetings@aacr.org) ; <http://www.aacr.org>

### ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2005

8-11 Δεκεμβρίου 2005

#### 28th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium

Location: Henry B. Gonzalez Convention Center, San Antonio, TX.

info: <http://www.sabcs.org/>

10-11 Δεκεμβρίου 2005

#### 2η ΧΕΙΜΕΡΙΝΗ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΓΗΡΙΑΤΡΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ

info: Email [ets@events.gr](mailto:ets@events.gr) ; <http://www.events.gr>

---

**ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ 2006**

*12-14 Ιανουαρίου 2006*

**2<sup>ο</sup> ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΜΕΛΑΝΩΜΑΤΟΣ**

Αίγλη Ζαπείου, Αθήνα

Info: Email: [info@era.gr](mailto:info@era.gr) <http://www.era.gr>

*25-28 Ιανουαρίου 2006*

**Cell Signaling World Signal Transduction Pathways  
as therapeutic targets**

European Conference Center (Luxembourg)

info: Email: [marc.diederich@lbmcc.lu](mailto:marc.diederich@lbmcc.lu) ; <http://www.transduction-meeting.lu>.

---

**ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2006**

*20 Ιανουαρίου – 2 Φεβρουαρίου*

**17th ICACT**

Palais des Congrès/Paris-France

Info: Email: [info@icact.com](mailto:info@icact.com) ; <http://www.icact.com>

---

**ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2006**

*6-9 Απριλίου 2006*

**13<sup>ο</sup> ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΟΓΚΟ-  
ΛΟΓΙΑΣ**

Ιωάννινα

Info : ΕΟΠΕ. Λεωφ. Αλεξάνδρας 105, 114 75 Αθήνα  
Τηλ/Fax 210-6457971. email:[hesmo@otenet.gr](mailto:hesmo@otenet.gr) web:  
[www.hesmo.gr](http://www.hesmo.gr)

# ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

Στις οδηγίες που ακολουθούν ελήφθησαν υπόψη οι πρόσφατες υποδείξεις (1997) της Διεθνούς Επιτροπής των Εκδοτών Ιατρικών Περιοδικών (International Committee of Medical Journals Editors - ICM - JE): Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals.

## 1. ΕΙΔΗ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

Στο "ΒΗΜΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ" γίνονται δεκτές προς δημοσίευση εργασίες με θέματα ογκολογικού ενδιαφέροντος υπό τη μορφή:

**Ανασκοπήσεων** από τρεις το πολύ συγγραφείς και σε έκταση που να μη ξεπερνά τις 28 δακτυλογραφημένες σελίδες, σε διπλό διάστημα και μέχρι 100 παραπομπές.

**Πρωτότυπων εργασιών** βασικής ή κλινικής έρευνας που μπορούν να παρουσιαστούν ως πλήρεις ή βραχείες αναφορές.

**Ενδιαφερόντων περιστατικών** για σύντομη (8-10 σελίδες σε διπλό διάστημα) παρουσίαση σπάνιας νόσου ή εκδήλωσης ή ασυνήθους κλινικής πορείας και συζήτηση όσο είναι απαραίτητο για την παρουσίαση.

**Πρακτικά σεμιναρίων, γραπτών συμποσίων, στρωγγυλών τραπεζιών και κλινικοπαθολογο-ανατομικών συζητήσεων**, κατά την κρίση της Σύσταξης.

**Ειδικά θέματα:** γενικού ογκολογικού ενδιαφέροντος, εργασίες που δεν κατατάσσονται σε άλλη κατηγορία εργασιών, έκτασης μέχρι 20-25 σελίδες διπλού διαστήματος.

**Γράμματα αναγνωστών**, έκτασης 2-3 σελίδων διπλού διαστήματος, με κρίσεις για δημοσιεύσιμη εργασία ή γενικότερες γνώμες, σύντομες παρατηρήσεις, πρόδρομα αποτελέσματα σε συντομία κ.λ.π. Αν αφορούν κρίσεις δημοσιεύσιμης εργασίας, τίθενται υπόψη του συγγραφέα της εργασίας, που μπορεί να απαντήσει.

## 2. ΑΛΛΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- Η γλώσσα των εργασιών είναι η Ελληνική. Η Συντακτική Επιτροπή διατηρεί το δικαίωμα να αποδέχεται εργασίες στην Αγγλική γλώσσα, εφ' όσον υπάρχει αποχρών λόγος (π.χ. ξενόγλωσσοι συγγραφείς, κ.ά.).
- Η Συντακτική Επιτροπή αποδέχεται προ- ή μετά-δημοσιεύσεις κλινικών ή εργαστηριακών εργασιών υπό τη μορφή σύντομων αναφορών (short reports) ή εκτεταμένων περιλήψεων, στις οποίες θα αναφέρονται περιληπτικώς (μέχρι 8 σελίδες διπλού διαστήματος) οι βασικοί στόχοι, το υλικό, οι μέθοδοι, τα αποτελέσματα και η συζήτηση της εργασίας. Στις μετά-δημοσιεύσεις θα αναφέρεται υποχρεωτικώς στη σελίδα του τίτλου το περιοδικό που πρωτοδημοσιεύτηκε η πρωτότυπη εργασία.
- Εάν η εργασία έχει ανακοινωθεί προφορικά ή έχει δημοσιευτεί σε περίληψη (π.χ. πρακτικά συνεδρίων), αυτό υποσημαίνεται στη σελίδα του τίτλου.
- Οι αναφερόμενες ουσίες πρέπει να αναγράφονται με την κοινόχρηστη ονομασία ή το χημικό όνομα.
- Η Σύσταξη του περιοδικού θεωρεί δεδομένο, ότι η εργασία είναι σε γνώση και έχει την έγκριση όλων των συγγραφέων και του διευθυντού του τμήματος από το οποίο προέρχεται.
- Οι εργασίες υποβάλλονται δακτυλογραφημένες σε διπλό διάστημα σε τρία (3) αντίτυπα και σε δισκέτα 3,51. Αποστέλλονται ταχυδρομικώς στη διεύθυνση: **προς Εταιρεία Παθολόγων Ογκολόγων Ελλάδος, (υπόψη Συντακτικής Επιτροπής), Λεωφόρος Αλεξάνδρας 105, 114 75, ΑΘΗΝΑ**, ή ηλεκτρονικώς με e-mail στην ηλεκτρονική διεύθυνση: [hemo@otenet.gr](mailto:hemo@otenet.gr)

## ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Το χειρόγραφο πρέπει να έχει:

1. Σελίδα τίτλου, με τον τίτλο της εργασίας, τα ονόματα των συγγρα-

φών και σε υποσημείωση το τμήμα από το οποίο προέρχεται, τη θέση ή τον ανώτερο ακαδημαϊκό τίτλο κάθε συγγραφέα και τυχόν υποσημείωση για το εάν η εργασία έχει ανακοινωθεί ή έχει δημοσιευτεί σε περίληψη αλλού ή (εφ' όσον είναι μετά-δημοσίευση) έχει πρωτοδημοσιευτεί σε άλλο περιοδικό (βλέπε παραπάνω). Να σημειώνεται ο υπεύθυνος της αλληλογραφίας και η διεύθυνσή του, τηλέφωνα, fax και e-mail (αν υπάρχουν).

2. Σελίδα περίληψης στα ελληνικά με τις λέξεις ευρετηρίου (key words).
3. Σελίδα περίληψης στα αγγλικά με τις λέξεις ευρετηρίου (key words) στα αγγλικά.
4. Το κείμενο της εργασίας με κατάλληλο χωρισμό σε διάφορα κεφάλαια.
5. Βιβλιογραφία με το σύστημα Vancouver: Ο κατάλογος δεν είναι αλφαβητικός αλλά με τη σειρά που οι παραπομπές εντοίζονται στο κείμενο. Στο κείμενο αναφέρονται με τον αριθμό του καταλόγου και όχι με το όνομα του συγγραφέα. Για άρθρα περιοδικών, τα επώνυμα των συγγραφέων (με τα αρχικά χωρίς τελείες), γράφονται μέχρι και τρία - τα επιπλέον γράφονται et al ή κ.ά. ο τίτλος του άρθρου, το περιοδικό γραμμένο με τη διεθνή μορφή σύντμησης όπως στο Index Medicus, η χρονολογία, ο αριθμός τόμου και η πρώτη και τελευταία σελίδα του άρθρου. (π.χ. Smith A: Intestinal bleeding. JAMA 1988, 215:101 - 103). Για μονογραφία, το όνομα, ο τίτλος, ο εκδότης ο τόπος και το έτος έκδοσης (π.χ. Smith A: Intestinal bleeding. Saunders Co, London. 1988). Για κεφάλαιο βιβλίου, τα ονόματα, ο τίτλος του κεφαλαίου, ο τίτλος του βιβλίου, ο διευθυντής σύσταξης (editor), ο εκδότης, ο τόπος και το έτος έκδοσης (π.χ. Smith A: Intestinal bleeding. In: Practice of Surgery, H. Kim, ed, Saunders Co, London 1988). Οι βιβλιογραφικές παραπομπές θα πρέπει να μπορούν να ελεγχθούν από τον κριτή και - κυρίως - από τον αναγνώστη. Έτσι, εάν η βιβλιογραφική αναφορά εντοίζεται σε άρθρο, βιβλίο κ.λ.π. που δεν συμβουλευθήκε άμεσα ο συγγραφέας αλλά αναφέρεται αλλού, ιδιαίτερα για παλιά ή δύσ ευρετα στοιχεία, τότε δεν αναγράφεται σαν ξεχωριστή αναφορά διογκώνοντας άσκοπα και τεχνητά το βιβλιογραφικό πίνακα, αλλά αποδίδεται στο στοιχείο που άμεσα μελέτησε ο συγγραφέας (π.χ. "ο Crohn το 1932 ανέφερε10" - όπου 10 είναι το άρθρο του Smith που πράγματι συμβουλευθήκε ο συγγραφέας). Ιδιαίτερη σύσταση γίνεται για τη χρησιμοποίηση και της ελληνικής βιβλιογραφίας που είναι ήδη αρκετά πλούσια.
6. Πίνακες και σχήματα σε ξεχωριστή σελίδα το καθένα, σε τρία αντίτυπα, με διαδοχική αρίθμηση και σύντομη επεξήγηση. Πίνακες δακτυλογραφημένοι σε διπλό διάστημα χωρίς διαχωριστικές γραμμές, σχήματα με σινική μελάνη.
7. Φωτογραφίες καλής ποιότητας σε στιλπνό χαρτί. Πίσω από τη φωτογραφία σημειώνεται με μαλακό μολύβι βέλος που δείχνει το πάνω μέρος και ο αύξων αριθμός και σε αυτοκόλλητο τα ονόματα των συγγραφέων της εργασίας. Σε ξεχωριστή σελίδα, γράφονται οι υπότιτλοι των φωτογραφιών, το μέγεθος των οποίων στην τελική εκτύπωση ανήκει στην κρίση του υπεύθυνου έκδοσης. Σημειώνεται ότι, κατά τη δημοσίευση φωτογραφίας ασθενούς, θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα ώστε να μην αποκαλύπτεται η ταυτότητα του ατόμου. Το ονοματεπώνυμο σε καμμία περίπτωση δεν πρέπει να αναγράφεται (π.χ. σε ακτινογραφίες, κ.λ.π.), ενώ στις δημοσιεύσιμες φωτογραφίες η απλή επικάλυψη των οφθαλμών δεν αποτελεί επαρκή διαφύλαξη της ανωνυμίας του εικονιζόμενου προσώπου.

## Το Temodal πήρε έγκριση από την Ευρωπαϊκή Ένωση για την θεραπεία σε νεοδιαγνωσθέν πολύμορφο γλοιοβλάστωμα

KENILWORTH, NJ, 10 Ιουνίου 2005- Η εταιρία Schering Plough ανακοίνωσε σήμερα ότι η Ευρωπαϊκή Ένωση ενέκρινε τη χορήγηση του Temodal για τη χρήση του ως θεραπεία πρώτης γραμμής σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθέν πολύμορφο γλοιοβλάστωμα, η οποία είναι η πιο συχνά εμφανιζόμενη και επιθετική μορφή των πρωτοπαθών όγκων του εγκεφάλου.

Η έγκριση ακολουθεί την πρώτη θετική εισήγηση η οποία χορηγήθηκε στις 21 Απριλίου 2005 από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Ιατρικών Προϊόντων.

Η έγκριση του Temodal σε συνδυασμό με την ακτινοθεραπεία, ακολουθούμενη από έξι κύκλους μονοθεραπείας με Temodal, ισχύει για τις 25 χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης όπως επίσης την Ισλανδία και τη Νορβηγία. Η έγκριση βασίζεται στα δεδομένα της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας σύμφωνα με τη μελέτη φάσης III, η οποία διεξήχθη από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό για την Έρευνα και τη Θεραπεία του Καρκίνου (EORTC) καθώς και την Ερευνητική Ομάδα του Εθνικού Ινστιτούτου Καρκίνου του Καναδά (NCIC).

Τα δεδομένα της μελέτης δημοσιεύθηκαν στο τεύχος του περιοδικού *New England Journal of Medicine* στις 10 Μαρτίου 2005. Η πολυκεντρική αυτή μελέτη συμπεριέλαβε 573 ασθενείς με νεοδιαγνωσθέν πολύμορφο γλοιοβλάστωμα, από 85 κέντρα της Ευρώπης, της Αυστραλίας και του Καναδά. Όλοι οι ασθενείς είχαν ιστολογικά επιβεβαιωμένο πολύμορφο γλοιοβλάστωμα και όλοι έλαβαν ολική ακτινοθεραπεία εγκεφάλου σε δόση 60 Gy για έξι εβδομάδες. Οι μισοί ασθενείς έλαβαν ταυτόχρονα και τεμοζολομίδη από το στόμα σε δόση 75mg/m<sup>2</sup> για έξι εβδομάδες. Το σχήμα αυτό ακολουθήθηκε από τεμοζολομίδη σε δόση 200mg/m<sup>2</sup> για πέντε ημέρες σε κύκλους 28 ημερών για έξι κύκλους θεραπείας.

Το ποσοστό της διетуός επιβίωσης ήταν σχεδόν τριπλάσιο, δηλαδή 26% στην ομάδα του συνδυασμού ακτινοθεραπείας και τεμοζολομίδης, έναντι 10% για την ομάδα της ακτινοθεραπείας μόνο. Η διάμεση επιβίωση των ασθενών που ακολούθησαν το ταυτόχρονο σχήμα ακτινοθεραπείας και τεμοζολομίδης και στη συνέχεια μονοθεραπεία με τεμοζολομίδη ήταν 14,6 μήνες, σε σύγκριση με 12,1 μήνες για την ομάδα που έλαβε μόνο ακτινοθεραπεία (95% confidence interval, 0,52 to 0,75,  $p < 0,001$ ). Η χρήση της τεμοζολομίδης παρουσίασε ελάχιστη προσθετική τοξικότητα. Οι πιο συχνά συναντούμενες ανεπιθύμητες ενέργειες (σε ποσοστό  $\geq 10\%$ ) ήταν: μειωμένη όρεξη, πονοκέφαλος, δυσκοιλιότητα, ναυτία, έμετος, αλωπεκία, εξάνθημα, επιληψία, κόπωση, διάρροια, στοματίτιδα και διπλωπία.

Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που δείχνει ότι η προσθήκη στην ακτινοθεραπεία ενός χημειοθεραπευτικού παράγοντα της τεμοζολομίδης, με υψηλή διεισδυτικότητα μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, αυξάνει την επιβίωση σε ασθενείς με πολύμορφο γλοιοβλάστωμα, προσφέροντας σημαντικό όφελος σε αυτή τη νόσο.

Όπως σχολίασε ο Roger Stupp, M.D., από το Ογκολογικό Κέντρο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λωζάνης στην Ελβετία, και συντονιστής της μελέτης (EORTC/NCIC) αυτής: «Οι ασθε-

νείς με νεοδιαγνωσθέν πολύμορφο γλοιοβλάστωμα, καθώς και οι θεράποντες ιατροί τους, έχουν τώρα τη δυνατότητα να πολεμήσουν την πιο επιθετική μορφή του καρκίνου του εγκεφάλου στα πρώτα του στάδια. Όπως αποδείχθηκε από τη μελέτη μας, το Temodal προσδίδει σημαντική βελτίωση στην επιβίωση συγκρινόμενη με την καθιερωμένη θεραπεία».

«Είναι σημαντικό για τους ασθενείς της Ευρωπαϊκής Ένωσης να έχουν πρόσβαση στο πλεονέκτημα αυτής της σημαντικής θεραπείας για την καταστροφική αυτή ασθένεια», σχολίασε ο Robert J. Spiegel, M.D., επικεφαλής και αντιπρόεδρος των ιατρικών υποθέσεων του Ερευνητικού Ινστιτούτου της Schering-Plough.

### **Περί Γλοιωμάτων**

Το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (GBM) είναι ένας ταχέως αναπτυσσόμενος όγκος των νευρογλοιακών κυττάρων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, εντοπισμένος πιο συχνά στον εγκεφαλό. Είναι ο πιο κοινά εμφανιζόμενος και θανατηφόρος τύπος μεταξύ των πρωτοπαθών όγκων του εγκεφάλου. Το GBM συναντάται πιο συχνά στους άνδρες και συγκεκριμένα στην Καυκάσια φυλή. Η μέση ηλικία στην οποία γίνεται η διάγνωση για GBM, περιλαμβάνει ασθενείς μεταξύ 50 -60 ετών. Στην Ευρώπη έχει υπολογισθεί ότι περίπου 10.000 ασθενείς το χρόνο, διαγιγνώσκονται με πολύμορφο γλοιοβλάστωμα.

### **Σχετικά με το Temodal**

Το Temodal είναι ένας από του στόματος αλκυλιωτικός παράγοντας. Οι κυτταροτοξικοί παράγοντες έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε, να εμποδίζουν το διπλασιασμό των κυττάρων, τα οποία διαιρούνται ταχέως, περιλαμβάνοντας και αυτά που ανήκουν στους όγκους. Η ανάπτυξη της τεμοζολαμίδης για ένα εύρος ενδείξεων εντάσσεται στα πλαίσια του στρατηγικού πλάνου της Schering-Plough, για μία ευρεία γκάμα φαρμάκων στην ογκολογία και συμβαδίζει με τα σχέδια ενίσχυσης της παγκόσμιας θέσης της στις θεραπευτικές κατηγορίες που δραστηριοποιείται, τόσο μέσα από δική της έρευνα, καθώς και με εξωτερικές συνεργασίες.

Το Temodal εγκρίθηκε για πρώτη φορά από την Ευρωπαϊκή Ένωση το 1999 για τη θεραπεία ασθενών με πολύμορφο γλοιοβλάστωμα μετά από υποτροπή, ή πρόοδο της νόσου μετά από την καθιερωμένη θεραπεία. Στη συνέχεια το Temodal εγκρίθηκε για τη θεραπεία των ασθενών με κακόηθες γλοίωμα, όπως το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα ή το αναπλαστικό αστροκύτωμα, στην υποτροπή ή στη πρόοδο της νόσου μετά τη καθιερωμένη θεραπεία. Η Schering-Plough πήρε την έγκριση για το Temodal από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) το Μάρτιο του 2005 για τη θεραπεία ασθενών με νεοδιαγνωσθέν πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (GBM) σε συνδυασμό με την ακτινοθεραπεία και στη συνέχεια ως θεραπεία συντήρησης.

Η Schering-Plough είναι μία παγκόσμια εταιρία προσανατολισμένη στη μέριμνα των θεμάτων υγείας. Μέσα από δική της έρευνα και συνεργασίες, η Schering-Plough ανακαλύπτει, αναπτύσσει, παρασκευάζει και παρέχει στην αγορά εξελιγμένες φαρμακευτικές θεραπείες με σκοπό να καλύψει σημαντικές ιατρικές ανάγκες. Το όραμα της Schering-Plough είναι να κερδίσει την εμπιστοσύνη των ιατρών, των ασθενών και των πελατών της, οι οποίοι εξυπηρετούνται από περισσότερους από 30.000 εργαζόμενους παγκοσμίως. Η εταιρία εδρεύει στο Kenilworth, N.J., USA και ο δικτυακός της τόπος είναι: [www.schering-plough.com](http://www.schering-plough.com).