



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Μετάσταση: Ο ρόλος του μικροπεριβάλλοντος, μηχανισμοί δημιουργίας  
μετάστασης από ορισμένους τύπους καρκίνου σε συγκεκριμένα όργανα  
(metastatic tropism)»**

**ΠΑΠΑΚΩΣΤΑ ΣΟΦΙΑ**  
**ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΑΠΘ**

**ΛΑΡΙΣΑ**  
**ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2014**

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ  
**ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Α. ΤΣΕΖΟΥ**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- |                       |                    |                  |
|-----------------------|--------------------|------------------|
| 1) ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ | ΕΠ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΘ   | (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)      |
| 2) ΓΚΡΕΤΣΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ   | ΕΡΕΥΝΗΤΡΙΑ Γ'ΕΚΕΤΑ | (ΣΥΝΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ) |
| 3) ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ     | ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΘ      | (ΜΕΛΟΣ)          |

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	<b>1</b>
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	<b>4</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup> : ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ</b> .....	<b>15</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup> :ΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΗΝ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΙΣΤΟΥ</b> .....	<b>18</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup>:ΜΕΤΑΣΤΑΣΗ</b> .....	<b>38</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> :ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟΣ ΤΡΟΠΙΣΜΟΣ</b> .....	<b>61</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup> :ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ</b> .....	<b>77</b>
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	<b>86</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	

**Μετάσταση: Ο ρόλος του μικροπεριβάλλοντος, μηχανισμοί δημιουργίας μετάστασης από ορισμένους τύπους καρκίνου σε συγκεκριμένα όργανα (metastatic tropism).**

## **Περίληψη**

Μετάσταση είναι η νεοπλασματική πορεία κατά την οποία τα καρκινικά κύτταρα διασπείρονται από την πρωτοπαθή εστία και δημιουργούν νέους όγκους σε απομακρυσμένα όργανα. Η διαδικασία της μετάστασης περιλαμβάνει πέντε σημαντικά βήματα. Αρχικά, τα κύτταρα του μεταστατικού όγκου πρέπει να αποκτούν την ικανότητα να μεταναστεύουν από τον πρωτογενή όγκο, να καθίστανται ευκίνητα, και να αποκτούν πλαστικότητα ώστε να κινούνται μηχανικά στο στρώμα του όγκου. Στη συνέχεια, πρέπει να αποκτήσουν επεμβατικές δυνατότητες, επιτρέποντάς τους να αποδομούν το εξωκυτταρικό περιβάλλον και να επιτρέπουν τη διαφυγή από την πρωτογενή μάζα όγκου. Επιπλέον, η επεμβατική ικανότητα πρέπει να είναι επαρκής ώστε να επιτρέπει την ενδοαγγείωση ή την υποβάθμιση της βασικής μεμβράνης και των ενδοθηλιακών φραγμάτων του ιστού, των αγγείων και / ή του λεμφικού καναλιού. Τέλος, αφού μεταναστεύσουν μέσω της αιματογένεσης ή του λεμφικού συστήματος, θα πρέπει να είναι σε θέση να εξαγγειώνονται, απαιτώντας ικανότητα προσκόλλησης στο μακρινό ενδοθήλιο με ικανότητα διείσδυσης στη βασική μεμβράνη, που οδηγεί σε δημιουργία μικρομεταστάσεων στη μακρινή θέση. Από τις απαιτήσεις αυτές, οι δύο πρώτες έχουν άμεση σχέση με τα χαρακτηριστικά και τις διαδικασίες που δραστηριοποιούνται στο μικροπεριβάλλον του πρωτογενούς όγκου. Αξίζει να σημειωθεί πως τα στρωματικά κύτταρα διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της μετάστασης.

Το μικροπεριβάλλον του πρωτογενούς όγκου παίζει πολύ σπουδαίο ρόλο στη μεταστατική διαδικασία. Το μικροπεριβάλλον των συμπαγών όγκων είναι ένα ετερογενές, περίπλοκο περιβάλλον για την ανάπτυξη και την επιβίωση του όγκου, το οποίο περιλαμβάνει χαρακτηριστικά γνωρίσματα, όπως το όξινο pH, τα χαμηλά διατροφικά επίπεδα, η αυξημένη πίεση της μεσοκυττάριας ουσίας και τα χρονίως αυξομειούμενα επίπεδα της

οξυγόνωσης, τα οποία σχετίζονται με το μη φυσιολογικό αγγειακό δίκτυο που υπάρχει στους όγκους. Στις παραπάνω αλλαγές που συμβαίνουν στην ομοιόσταση του ιστού κατά την ογκογένεση πρέπει να προστεθεί και η αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας του πρωτογενούς όγκου. Όλες αυτές οι μεταβολές επάγουν τη διαδικασία της μετάστασης.

Τα καρκινικά κύτταρα στους πρωτοπαθείς όγκους περιβάλλονται από ένα σύνθετο μικροπεριβάλλον που αποτελείται από πληθώρα κυττάρων μεταξύ των οποίων ενδοθηλιακά κύτταρα της αιματικής και της λεμφαγγειακής κυκλοφορίας, ινοβλάστες του στρώματος και μια ποικιλία από κύτταρα προερχόμενα από το μυελό των οστών. Σε αυτά τα στρωματικά κύτταρα περιλαμβάνονται τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα περικύτταρα, τα περιαγγειακά ανοσιακά κύτταρα που διηθούν και είναι οργανωμένα σε ειδικούς αγγειακούς χώρους στους αρχικούς όγκους, όπως και στις μεταστατικές εστίες, αλλά και μία υποκατηγορία των σχετιζόμενων με τον καρκίνο ινοβλαστικών κυττάρων, τα μυο-ινοβλαστικά / μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα.

Σε περίπτωση μετάστασης, ξεκινά τη λειτουργία του ένας μηχανισμός που ονομάζεται επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή, γνωστός και ως EMT, ο οποίος προκαλεί μοριακές διεργασίες και μεταβολές στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων, μετασχηματίζοντάς τα σε κύτταρα μεσεγχυματικού τύπου. Έχει αποδειχθεί ότι η υποξία, η φλεγμονή και το οξειδωτικό stress μπορούν να λειτουργήσουν ως διεγέρτες της EMT του όγκου. Μεγάλη είναι η πολυπλοκότητα των σηματοδοτικών μονοπατιών που ρυθμίζουν την EMT στο μικροπεριβάλλον του όγκου, στα οποία συμμετέχουν πολυάριθμοι μεταγραφικοί παράγοντες.

Ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό της μετάστασης είναι ο μεταστατικός τροπισμός. Μερικοί όγκοι υποτροπιάζουν σε ένα συγκεκριμένο όργανο, ενώ άλλοι υποτροπιάζουν σε πολλά. Τα πρότυπα κυκλοφορίας του αίματος, τα εμπόδια εξαγγείωσης και η επιβίωση των καρκινικών κυττάρων κατά την άφιξη στη νέα μεταστατική εστία είναι τρεις βασικοί παράγοντες που καθορίζουν την ικανότητα των συγκεκριμένων όγκων για την εγκατάσταση σε συγκεκριμένα όργανα. Η μεταστατική διασπορά των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων έχει αποδειχθεί σε ορισμένες περιπτώσεις ότι ενισχύεται

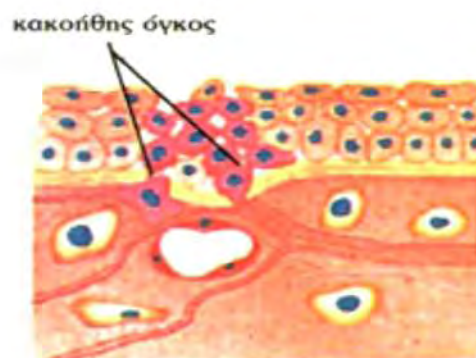
από τον πρωτογενή όγκο, του οποίου τα εκκρινόμενα προϊόντα δημιουργούν ένα περιβάλλον που ευνοεί την δημιουργία μεταστάσεων σε μοναδικές απομακρυσμένες περιοχές, που ονομάζονται προ-μεταστατικές θέσεις.

Καθώς η κλινική ογκολογία εξελίσσεται, νέα διαγνωστικά και θεραπευτικά σχήματα θα προκύπτουν για την αντιμετώπιση της μετάστασης. Σήμερα βρίσκονται στο προσκήνιο πολλές διαφορετικές αντιμεταστατικές θεραπείες. Η αγγειογένεση και ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF αποτελούν σημαντικούς θεραπευτικούς στόχους. Επίσης, κάποιες θεραπείες έχουν ως στόχο να εμποδίσουν τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων, ενώ άλλες επιτίθενται στα στρωματικά κύτταρα του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Τέλος τα miRNAs θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί δείκτες και θεραπευτικοί παράγοντες μελλοντικά.

## Εισαγωγή

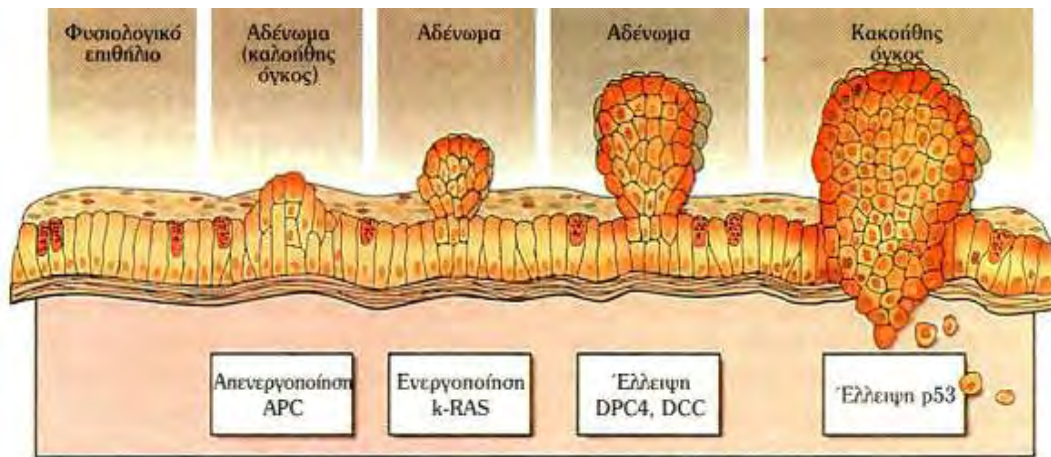
Με τον όρο «καρκίνος» περιγράφεται το σύνολο των ασθενειών ή διαταραχών που χαρακτηρίζονται κυρίως από ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα καρκινικά κύτταρα εξαπλώνονται είτε άμεσα στον παρακείμενο ιστό με «διήθηση», ή μεταφέρονται σε άλλες θέσεις του οργανισμού μέσω των αιμοφόρων αγγείων και των λεμφαγγείων (μετάσταση). Ο καρκίνος αντιπροσωπεύει μια από τις πιο ενδιαφέρουσες προκλήσεις της μοντέρνας ιατρικής. Ως αίτιο θνησιμότητας είναι δεύτερος, παγκοσμίως, μετά τις καρδιαγγειακές παθήσεις (Kardamakis, 2004). Κάθε χρόνο διαγιγνώσκεται η ύπαρξη καρκίνου σε έναν στους διακόσιους πενήντα άνδρες και σε μία στις τριακόσιες γυναίκες (Kardamakis, 2004). Η επίπτωση του καρκίνου παρουσιάζει αύξηση στην Ευρώπη. Σήμερα ο καρκίνος διαγιγνώσκεται σε περισσότερους από 1,2 εκατομμύρια ανθρώπους το χρόνο εντός των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Παντελάκος, 2005). Στις ανεπτυγμένες χώρες, οι πιο συχνά εμφανιζόμενες μορφές καρκίνου είναι πνεύμονα, μαστού, δέρματος, εντέρου και προστάτη.

Η πλειονότητα των θανάτων από καρκίνο οφείλεται περισσότερο στη μεταστατική διασπορά των καρκινικών κυττάρων σε ζωτικά όργανα και λιγότερο στην υπερβολική ανάπτυξη του πρωτοπαθούς όγκου. Κατά τη διάρκεια της κακοήθους μετάλλαξης, η γενετική τροποποίηση των κυττάρων επιφέρει εξαλλαγές στα πρωτο – ογκογονίδια και στα γονίδια καταστολής του όγκου, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία κλώνων του όγκου, οι οποίοι έχουν διαφορετικές ιδιότητες. Με αυτόν τον τρόπο τα κακοήθη κύτταρα αποκτούν χαρακτήρες που τους επιτρέπουν την αποσύνδεση από τους όγκους, την αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, την εισβολή, την προσκόλληση και τη μετάσταση σε απομακρυσμένα όργανα (Hauselmann & Borsig, 2014).



Εικόνα 1α: Στάδια ανάπτυξης καρκίνου



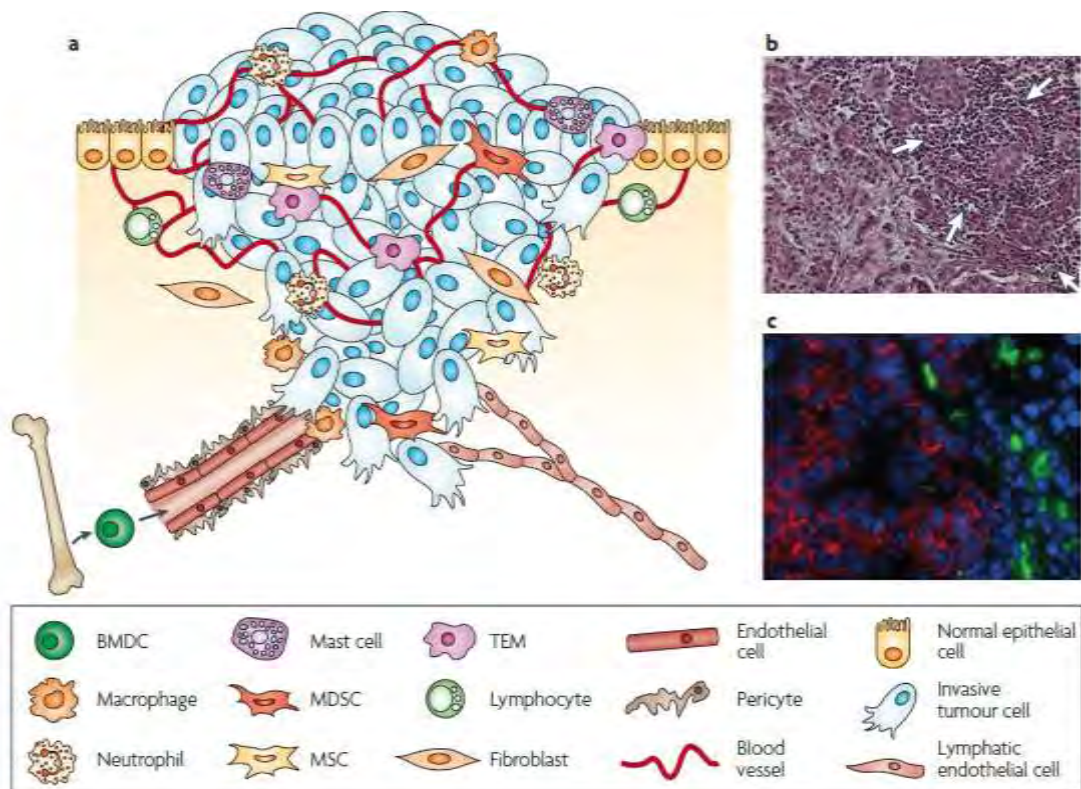


Εικόνα 1β: Διαδοχικά στάδια μετάβασης από το φυσιολογικό επιθήλιο του εντέρου σε κακοήγη όγκο

Οι ερευνητές μελετούν τη μετάσταση περισσότερο από 100 χρόνια και μόνο σχετικά πρόσφατα έχουν αποκτήσει κάποια επίγνωση σχετικά με τους μηχανισμούς με τους οποίους τα μεταστατικά κύτταρα αναπτύσσονται από τους πρωτοπαθείς όγκους και τις αιτίες που κάνουν συγκεκριμένους καρκινικούς τύπους να δίνουν μεταστάσεις σε συγκεκριμένα όργανα. Είναι πλέον γνωστό ότι η δυνατότητα ενός καρκινικού κυττάρου να δίνει μετάσταση εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις του με ομοιοστατικούς παράγοντες που προάγουν την ανάπτυξη, επιβίωση, αγγειογένεση, εισβολή και μετάσταση των κυττάρων του όγκου (Fidler, 2003).

Επιπλέον, πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της έρευνας του καρκίνου έχουν δείξει ότι το μικροπεριβάλλον παίζει πολύ σπουδαίο ρόλο στη μεταστατική διαδικασία. Το μικροπεριβάλλον των συμπαγών όγκων είναι ένα ετερογενές, περίπλοκο περιβάλλον για την ανάπτυξη και την επιβίωση του όγκου, το οποίο περιλαμβάνει χαρακτηριστικά γνωρίσματα, όπως το όξινο pH, τα χαμηλά διατροφικά επίπεδα, η αυξημένη πίεση της μεσοκυττάριας ουσίας και τα χρονίως αυξομειούμενα επίπεδα της οξυγόνωσης, τα οποία σχετίζονται με το μη φυσιολογικό αγγειακό δίκτυο που υπάρχει στους όγκους (Lunt et al, 2009).

Το μικροπεριβάλλον του πρωτογενούς όγκου έχει περιγραφεί καλύτερα από τους μεταστατικούς όγκους (Εικόνα 2). Αυτό το μικροπεριβάλλον αποτελείται από υποστηρικτικά κύτταρα του στρώματος, διαλυτούς παράγοντες, αγγειακό δίκτυο, θρεπτικά συστατικά και εξωκυττάρια ουσία με την συγκεκριμένη αρχιτεκτονική δομή της (Croker, 2008). Απαιτείται επίσης ανοσολογικό και φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον που να επιτρέπει την ανάπτυξη του όγκου (Johanna, 2009).



Εικόνα 2: Το μικροπεριβάλλον του πρωτογενούς όγκου: a) Τα καρκινικά κύτταρα στους πρωτοπαθείς όγκους περιβάλλονται από ένα σύνθετο μικροπεριβάλλον που αποτελείται από πληθώρα κυττάρων μεταξύ των οποίων ενδοθηλιακά κύτταρα της αιματικής και της λεμφαγγειακής κυκλοφορίας, ινοβλάστες του στρώματος και μια ποικιλία από κύτταρα προερχόμενα από το μυελό των οστών όπως μακροφάγα, κατασταλτικά κύτταρα (MDSCs), μονοκύτταρα που εκφράζουν το TIE2 (TEMs) και μεσεγχυματικά stem κύτταρα (MSCs). b) Διηθητικός καρκίνος του μαστού με

χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, στον οποίο είναι εμφανής διήθηση από λευκο κύτταρα (λευκά βέλη) στο όριο διήθησης. c) Μακροφάγα στο όριο διήθησης καρκίνου παγκρέατος εκφράζουν καθεψίνη B (πράσινο) που συνδέεται με την απώλεια της επιθηλιακής καντχερίνης (κόκκινο) στα γειτονικά καρκινικά κύτταρα. Οι πυρήνες των κυττάρων είναι ορατοί με DAPI (μπλε) (Johanna, 2009).

Σε αυτά τα στρωματικά κύτταρα περιλαμβάνονται, παραδείγματος χάρη, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα περικύτταρα, τα περιαγγειακά ανοσιακά κύτταρα που διηθούν και είναι οργανωμένα σε ειδικούς αγγειακούς χώρους στους αρχικούς όγκους, όπως και στις μεταστατικές εστίες, αλλά και σε μία υποκατηγορία των σχετιζόμενων με τον καρκίνο ινοβλαστικών κυττάρων, τα μυο-ινοβλαστικά / μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα. (Calabrese et al, 2007, Psaila & Lyden, 2009, Kaplan et al, 2005, Kidd et al, 2009, Korkaya et al, Coussens, 2012). Έχει, παραδείγματος χάρη, καταδειχθεί ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα αλληλεπιδρούν στενά με τα αυτο-ανανεούμενα κύτταρα των εγκεφαλικών όγκων και εκκρίνουν παράγοντες που διατηρούν αυτά τα κύτταρα σε κατάσταση βλαστικών κυττάρων. Αν αυξηθεί ο αριθμός των ενδοθηλιακών κυττάρων ή αγγείων σε ορθοτοπικά ξενομοσχεύματα εγκεφαλικών όγκων, αυξάνεται και το κλάσμα των αυτο-ανανεούμενων κυττάρων και επιταχύνεται η έναρξη και η ανάπτυξη των όγκων. Αντιθέτως, η αφαίρεση των αγγείων από τα ξενομοσχεύματα απομάκρυνε τα αυτο-ανανεούμενα κύτταρα από τους όγκους και ανέστειλε την ανάπτυξη τους (Calabrese et al, 2007).

Οι τρεις γενικές τάξεις των στρωματικών κυττάρων περιέχουν πολλούς κυτταρικούς και ύποκυτταρικούς τύπους που απεικονίζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Κυτταρικός τύπος	Υποτύπος	Λειτουργίες
Διηθούντα κύτταρα του	Th2- CD4 T κύτταρα,	Μιτογόνο

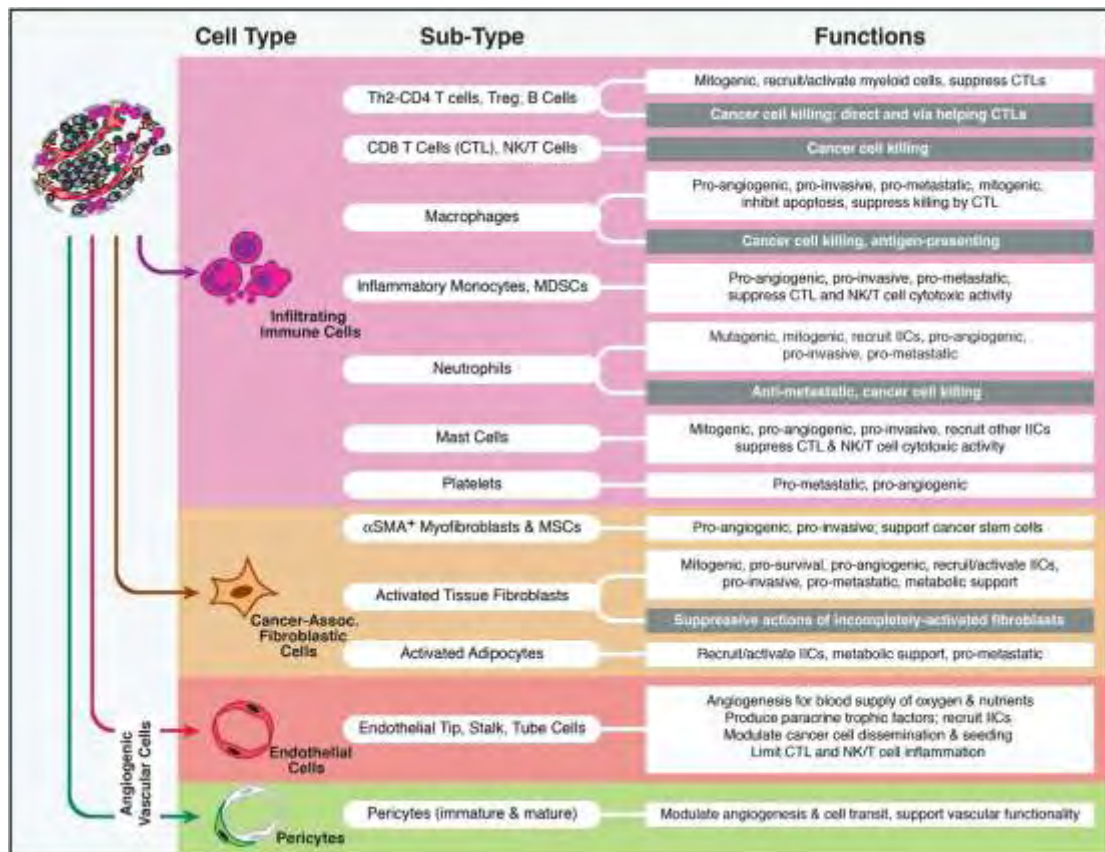
ανοσοποιητικού συστήματος (infiltrating immune cells)	Treg, B κύτταρα	δραστηριότητα, επιστρατεύουν / ενεργοποιούν μυελώδη κύτταρα, καταστέλλουν τα κυττοτοξικά T λεμφοκύτταρα. Σκοτώνουν άμεσα τα καρκινικά κύτταρα ή προσφέροντας αρωγή στα κυττοτοξικά T λεμφοκύτταρα.
	CD8 T κύτταρα, NK κύτταρα	Σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα
	Μακροφάγα	Βοηθούν την αγγειογένεση, τη διήθηση τις μεταστάσεις, εμφανίζουν μιτογόνο δραστηριότητα, αναστέλλουν την απόπτωση και καταστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο μέσω των κυττοτοξικών T λεμφοκυττάρων.
	Φλεγμονώδη μονοκύτταρα, κατασταλτικά κύτταρα μυελικής σειράς (MDSCs)	Βοηθούν την αγγειογένεση, τη διήθηση τις μεταστάσεις, καταστέλλουν τα κυττοτοξικά T λεμφοκύτταρα και την κυττοτοξική δραστηριότητα των NK

		κυττάρων.
	Ουδετερόφιλα	Έχουν μεταλλαξιογόνες ιδιότητες, εμφανίζουν μιτογόνο δραστηριότητα, βοηθούν την αγγειογένεση, τη διήθηση τις μεταστάσεις. Από την άλλη μεριά, μπορεί να εμφανίσουν αντιμεταστατική δραστηριότητα και να σκοτώσουν καρκινικά κύτταρα.
	Σιτευτικά κύτταρα (μαστοκύτταρα)	Έχουν μιτογόνο δραστηριότητα, βοηθούν την αγγειογένεση, τη διήθηση, επιστρατεύουν άλλα διηθητικά ανοσιακά κύτταρα, καταστέλλουν τα την κυτταροξική δραστηριότητα των κυττοτοξικών Τ λεμφοκυττάρων και των NK/T κυττάρων.
	Αιμοπετάλια	Βοηθούν τις μεταστάσεις και την αγγειογένεση.
Τα σχετιζόμενα με τον	A –ακίνη των λείων	Βοηθούν τις διηθήσεις

καρκίνο ίνοβλαστικά κύτταρα	μυϊκών ινών (αSMA), μυοινοβλάστες, μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs)	και την αγγειογένεση, υποστηρίζουν τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα.
	Ενεργοποιημένοι ιστικοί ινοβλάστες	Έχουν μιτογόνο δραστηριότητα, ευνοούν την επιβίωση, την αγγειογένεση, προσελκύουν / ενεργοποιούν διηθητικά ανοσιακά κύτταρα, τις διηθήσεις, τις μεταστάσεις και τη μεταβολική στήριξη του καρκίνου. Οι μη πλήρως ενεργοποιημένοι ινοβλάστες εμφανίζουν κατασταλτικές δράσεις κατά του όγκου
	Ενεργοποιημένα λιποκύτταρα	προσελκύουν / ενεργοποιούν διηθητικά ανοσιακά κύτταρα, τις μεταστάσεις και τη μεταβολική στήριξη του καρκίνου
Ενδοθηλιακά κύτταρα		Παρέχουν την αγγειογένεση για την παροχή στο αίμα οξυγόνου και θρεπτικών ουσιών. Παράγουν παρακρινικούς τροφικούς παράγοντες.

		<p>Προσελκύουν διηθητικά ανοσιακά κύτταρα. Ρυθμίζουν τη διασπορά και επικάθηση των καρκινικών κυττάρων. Περιορίζουν τη φλεγμονή από τα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα και τα NK κύτταρα</p>
Περικύτταρα (ανώριμα και ώριμα)		<p>Ρυθμίζουν την αγγειογένεση και την κυτταρική μεταφορά και στηρίζουν τη λειτουργικότητα των αγγείων.</p>

(Hanahan & Coussens, 2012)



Εικόνα 3: Πολλαπλοί τύποι στρωματικών κυττάρων και υποτύποι κυττάρων στο μικροπεριβάλλον του όγκου

Ο κακοήθης μετασχηματισμός είναι μια διαδικασία που περιλαμβάνει γενετικές και επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και το θάνατο των κυττάρων. Γενικά, ένας όγκος αποτελείται από έναν ετερογενή πληθυσμό κυττάρων που διαφέρουν ως προς το σχετικό στάδιο διαφοροποίησής τους. Το εξωτερικό ενός όγκου περιλαμβάνει πλήρως διαφοροποιημένα κύτταρα που είναι ευαίσθητα στην ακτινοβολία και τη χημειοθεραπεία. Η επόμενη προς το κέντρο του όγκου περιοχή περιλαμβάνει προγονικά κύτταρα που μπορούν να υποστούν έναν περιορισμένο αριθμό μιτωτικών διαιρέσεων για να σχηματίσουν αρκετά θυγατρικά κύτταρα. Αυτά τα θυγατρικά κύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν στη συνέχεια σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων βάσει των μικροπεριβαλλόντων τους. Στο κέντρο του όγκου βρίσκονται τα



καρκινικά βλαστικά κύτταρα (CSCs), που είναι τόσο δομικά όσο και λειτουργικά διακριτά από τα υπόλοιπα κύτταρα μέσα στον όγκο.

Κάθε CSCs έχει την ικανότητα να υφίσταται αυτο-ανανεωτική μίτωση, όπου το ένα ή και τα δύο από τα θυγατρικά κύτταρα διατηρούν την ταυτότητα του βλαστοκυττάρου. Το άλλο θυγατρικό κύτταρο μπορεί να γίνει προγονικό κύτταρο που υφίσταται ορισμένους μιτωτικούς κύκλους, μέχρι να καταστεί διαφοροποιημένο καρκινικό κύτταρο. Τα CSCs εμφανίζουν ταχύτατους ρυθμούς διαφοροποίησης όταν καλλιεργούνται. Έτσι, είναι δύσκολη η διατήρηση ενός πληθυσμού *in vitro* που να είναι εμπλουτισμένος σε CSCs. Τέτοιοι πληθυσμοί εμφανίζουν τρία χαρακτηριστικά *in vitro*: (α) Μπορούν να απομονωθούν με τη χρήση των προφίλ των δεικτών της κυτταρικής επιφάνειας, (β) σχηματίζουν σφαιρικές αποικίες σε υγρές καλλιέργειες (tumorspheres, ογκοσφαίρια) και (γ) έχουν αυξημένη αντίσταση τόσο σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες όσο και σε ιονίζουσα ακτινοβολία.

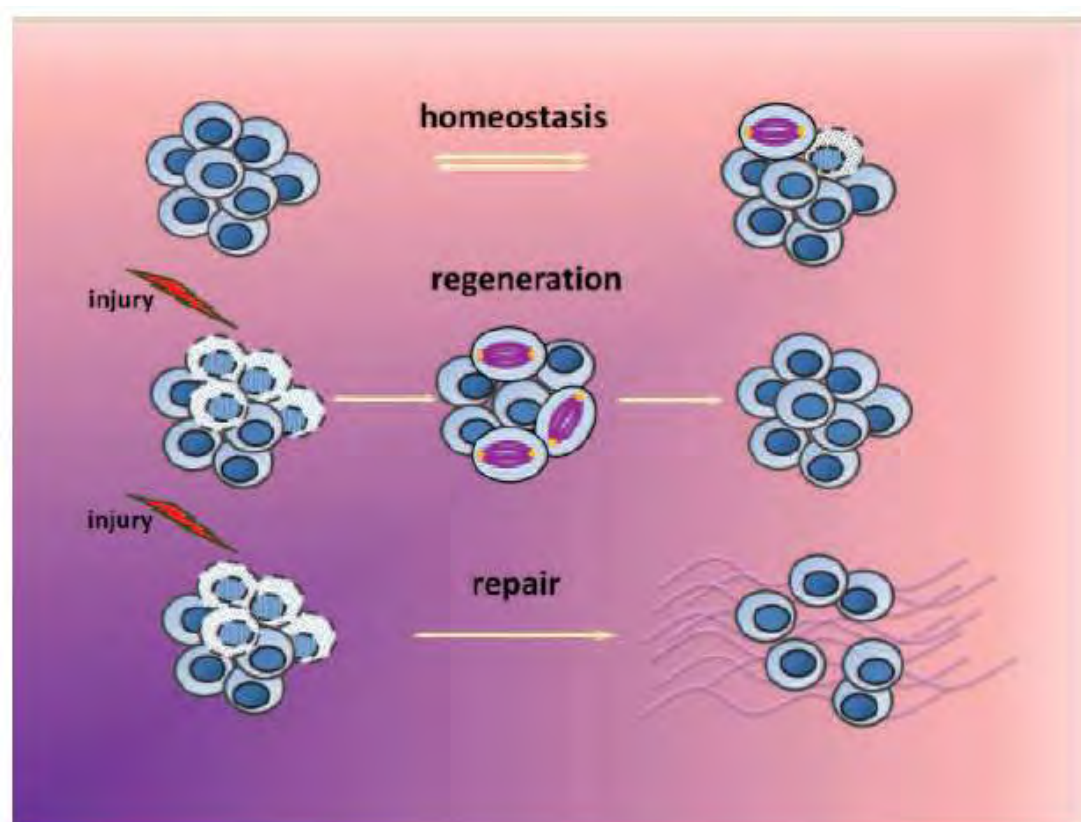
Τέλος, ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό της μετάστασης είναι ότι ο εντοπισμός της δεν συμβαίνει τυχαία, αλλά σε επιλεγμένες προτιμώμενες θέσεις. Το μοτίβο της κυκλοφορίας του αίματος παρέχει μόνο μια μερική εξήγηση για τον αποικισμό σε ειδικά όργανα με μεταστατικούς καρκίνους που παρατηρήθηκαν σε ασθενείς. Ο μεταστατικός τροπισμός συνεπάγεται ξεχωριστά προσαρμοστικά προγράμματα που καθορίζονται από το όργανο στο οποίο ο μεταστατικός αποικισμός και η έκφυση λαμβάνουν χώρα, όπως επίσης και από τον ιστό προέλευσης των μεταστατικών κυττάρων. Αυτή η διπλή-πολύπλευρη λειτουργία του μεταστατικού τροπισμού μπορεί να εξηγήσει γιατί τα καρκινικά κύτταρα του μαστού κάνουν μεταστάσεις σε διάφορα όργανα, όπως πνεύμονες, οστά, ήπαρ ή εγκέφαλο.

## Κυρίως θέμα

### Κεφάλαιο 1ο

#### Ομοιόσταση φυσιολογικού ιστού

Όλοι οι ιστοί πρέπει συνεχώς να αντικαθιστούν τα κατεστραμμένα ή νεκρά κύτταρα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του οργανισμού. Αυτή η διαδικασία της συνεχούς αντικατάστασης κυττάρων που είναι κρίσιμη για την διατήρηση των ενήλικων ιστών, καλείται ομοιόσταση των ιστών. Η ομοιόσταση θα μπορούσε να ορισθεί και ως: η αρμονική λειτουργία των συστημάτων μεταξύ τους ώστε να διατηρηθούν οι φυσιολογικές συνθήκες μέσα στις οποίες λειτουργούν τα κύτταρα (Εικόνα 3) (Πρινιανάκης, 2008).



Εικόνα 4: Φυσιολογική ομοιόσταση. Στην φυσιολογική ομοιόσταση μια ισορροπία μεταξύ πολλαπλασιασμού και κυτταρικού θανάτου διατηρεί τη

δομή των ιστών και τη λειτουργία τους. Θεραπεία μετά από οξεία βλάβη μπορεί να προκύψει από την αναγέννηση, όταν αποκαθίσταται η κανονική δομή των ιστών, ή από την επισκευή με εναπόθεση των ινών κολλαγόνου και σχηματισμό ουλής.

Η ομοιοστατική αντικατάσταση των κυττάρων ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων ιστών. Το επιθήλιο του εντέρου είναι ένας από τους πιο γρήγορα αυτο-ανανεώσιμους ιστούς στους ενήλικους οργανισμούς (van der Flier & Clevers, 2009). Αντίθετα, τα ενδοθυλακικά επιδερμικά κάνουν 4 εβδομάδες για να ανανεωθούν (Blairpain & Fuchs, 2009), ενώ το επιθήλιο του πνεύμονα μπορεί να διαρκέσει έως και 6 μήνες να αντικατασταθεί (Rawlins & Hogan, 2006). Επιπλέον, εκτός από τη διατήρηση της ομοιόστασης των ιστών, η ASC είναι αφιερωμένη στην αναγέννηση και την επισκευή των άκρως εξειδικευμένων ιστών. Η αναγέννηση αναφέρεται στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων για την αντικατάσταση χαμένων δομών.

Τα παραδοσιακά ομοιοστατικά μοντέλα ορίζουν την υγεία ως εκείνη την κατάσταση κατά την οποία όλες οι φυσιολογικές παράμετροι λειτουργούν μέσα στα όρια των φυσιολογικών τιμών, ενώ αυτές που ξεφεύγουν, χρειάζονται για την επαναφορά τους φαρμακευτική παρέμβαση. (Sterling, 2004).

Για τη διατήρηση της ομοιόστασης του οργανισμού συνεργάζονται το αυτόνομο νευρικό σύστημα, οι ενδοκρινείς αδένες, το αναπνευστικό, το καρδιαγγειακό, το γαστρεντερικό και το ουροποιητικό σύστημα. Πρόκειται για αυτορυθμιζόμενους μηχανισμούς, οι οποίοι κινητοποιούνται αυτόματα και αποσκοπούν στη διόρθωση παθολογικών καταστάσεων. (Ζυγά, 2012)

Η ομοιόσταση στους φυσιολογικούς ιστούς απαιτεί μία εξαιρετικά ελεγχόμενη ισορροπία ανάμεσα στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τον θάνατο, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της διακυτταρικής επικοινωνίας. Ένας σημαντικός ρυθμιστής της φυσιολογικής κυτταρικής συμπεριφοράς και της ιστικής ομοιόστασης είναι η εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Η εξωκυττάρια θεμέλια ουσία επιτελεί πολλές λειτουργίες, στις οποίες περιλαμβάνεται και η

δράση της ως φυσικού ικριώματος, διευκολύνοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφορετικών κυτταρικών τύπων και παρέχοντας σινιάλα για την επιβίωση και τη διαφοροποίηση. Η διατήρηση της ομοιόστασης των οργάνων μπορεί να προλάβει τη νεοπλαστική μετατροπή στους φυσιολογικούς ιστούς διασφαλίζοντας τη σταθερή ιστική δομή οποία διαμεσολαβείται με τις πρωτεΐνες των αποφρακτικών συνδέσεων και τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης, όπως η β1 ιντεγκρίνες και η επιθηλιακή (E) καδερίνη (E-cadherin).

## Κεφάλαιο 2ο

### Αλλαγές κατά την ογκογένεση στην ομοιόσταση του ιστού

Είναι αποδεδειγμένο ότι οι πρωταρχικοί όγκοι αποτελούνται από πολλαπλούς τύπους στρωματικών κυττάρων και από καρκινικά κύτταρα. Μεταξύ των στρωματικών κυττάρων που έχουν εμπλακεί στην προαγωγή των όγκων είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα περικύτταρα, οι ινοβλάστες, δενδριτικά κύτταρα που προέρχονται από το μυελό των οστών, τα σιτευτικά (μαστικά) κύτταρα, τα προερχόμενα από το μυελό κατασταλτικά κύτταρα, τα μεσεγχυματικά και τα βλαστικά κύτταρα (Kitajima, 2006).

Κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας έχει καταστεί εμφανές ότι οι περισσότερες, αν όχι όλες οι νεοπλασίες εμπεριέχουν έναν ετερογενή υποπληθυσμό καρκινικών κυττάρων με ιδιότητες βλαστικών κυττάρων, τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα, τα οποία είναι σημαντικά κατά την παθολογική εκδήλωση του καρκίνου, επηρεάζοντας την έναρξη, την επιμονή μπροστά σε ενδογενή εμπόδια στον επεκτατικό πολλαπλασιασμό του, τη μεταστατική εξέλιξη και την ικανότητα να επανεμφανίζονται ακόμη και μετά από την πιο αποτελεσματική θεραπεία. Αυτή η εξαιρετικά σημαντική διάσταση του καρκινικού κυττάρου δεν είναι αυτόνομη, καθώς έχει καταδειχθεί ότι τα στρωματικά κύτταρα υποστηρίζουν τα βλαστικά καρκινικά κύτταρα.

Είναι πλέον γνωστό πως οι όγκοι αποτελούνται από ετερογενή πληθυσμό κυττάρων όσον αφορά το φαινότυπο και το δυναμικό τους να πολλαπλασιάζονται ενώ μόνο ένα μικρό κυτταρικό κλάσμα έχει την ικανότητα να δημιουργεί τον όγκο, να συντηρεί την αύξησή του και να δίνει μεταστάσεις. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται καρκινικά βλαστικά κύτταρα και όπως τα φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα διαθέτουν την ικανότητα αυτο-ανανέωσης και διαφοροποίησης σε άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς. Η θεωρία των καρκινικών βλαστικών κυττάρων εισήγαγε το ιεραρχικό μοντέλο της ογκογένεσης στο οποίο οι ετερογενείς όγκοι προέρχονται από έναν μικρό πληθυσμό καρκινικών βλαστικών κυττάρων τα οποία δίνουν γένεση, μέσω

κάποιου βαθμού διαφοροποίησης, σε όλα τα καρκινικά κύτταρα του όγκου καθώς επίσης και στις μεταστάσεις.

Το ιεραρχικό μοντέλο έρχεται σε αντιδιαστολή με το στοχαστικό μοντέλο ογκογένεσης σύμφωνα με το οποίο οποιοδήποτε κύτταρο του ανομοιογενούς πληθυσμού του όγκου είναι δυνητικά ικανό να οδηγεί στο σχηματισμό νέων όγκων και να δίνει μεταστάσεις. Η ετερογένεια των όγκων θεωρείτο αποτέλεσμα μεταβολών του καρκινικού μικροπεριβάλλοντος σε συνδυασμό με τη συσσώρευση ανεξάρτητων σωματικών μεταλλαγών που οδηγούν στη δημιουργία γενετικών υποκλώνων. Σύμφωνα με τη θεωρία των καρκινικών βλαστικών κυττάρων οι όγκοι δεν θεωρούνται απλές μονοκλωνικές προεκτάσεις μετασχηματισμένων κυττάρων αλλά σύνθετοι τρισδιάστατοι ιστοί στους οποίους τα καρκινικά κύτταρα καθίστανται λειτουργικά ετερογενή ως αποτέλεσμα διαφοροποίησης.

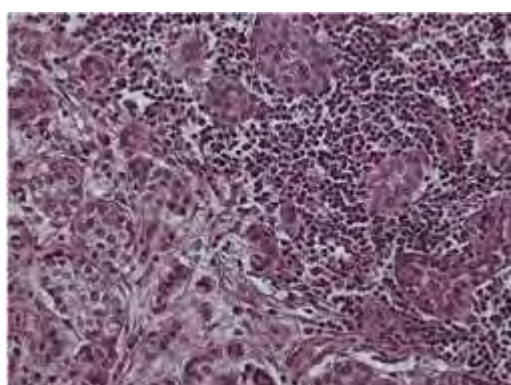
Η πολύ σημαντική συνεισφορά των δενδριτικών κυττάρων που προέρχονται από το μυελό των οστών στην κακοήθη ακολουθία έχει γίνει, κατά τη διάρκεια των προσφάτων ετών, ολοένα και πιο φανερή. Κατά το παρελθόν, η παρουσία των λευκοκυττάρων στους όγκους θεωρούνταν ότι ήταν επακόλουθο της αποτυχημένης προσπάθειας για την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων. Οι όγκοι δεν είναι μόνο αποτελεσματικοί στο να διαφεύγουν την ανοσολογική απόρριψη, αλλά μπορούν και να τροποποιούν συγκεκριμένους τύπους φλεγμονωδών κυττάρων, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να προάγουν τον όγκο, αντί να τον καταστέλλουν.

Αυτό είναι ιδιαίτερα ορατό στους καρκίνους που σχετίζονται με χρόνια φλεγμονή, όπου η αρχική φλεγμονώδης απάντηση δεν έχει ξεκαθαριστεί. Μία χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση μπορεί να θέσει σε εφαρμογή μία σειρά αντιδράσεων, στις οποίες οι επιδράσεις των ανοσολογικών κυττάρων που προάγουν τον όγκο ενισχύονται σταδιακά, συχνά σαν παράγωγο των φυσιολογικών τους ρόλων στην επιδιόρθωση των τραυμάτων ή την ανάπτυξη.

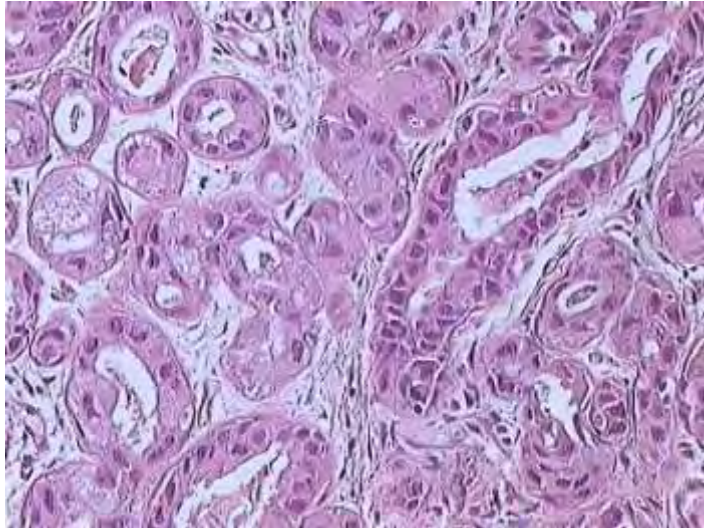
Η επιπλοκή, όμως, έγκειται στο γεγονός ότι δεν υπάρχει καθαρός συσχετισμός ανάμεσα στην παρουσία οποιουδήποτε μεμονωμένα προσαρμοσμένου ή συγγενή ανοσοκυττάρου και μία ξεκάθαρη έκβαση όσον

αφορά την κακοήθεια ή την πρόγνωση σε διαφορετικά μικροπεριβάλλοντα όγκων. Ακόμη και μέσα σε μεμονωμένους κυτταρικούς τύπους υπάρχουν αντικρουόμενες λειτουργίες. Παραδείγματος χάρη, τα  $CD4^+$  T κύτταρα, τα μακροφάγα και τα NK/T κύτταρα, παρουσιάζουν είτε κατασταλτικό ή προωθητικό ρόλο απέναντι στον όγκο, ανάλογα με το περιεχόμενο του ιστού και την κυτταρική διέγερση.

Η ταξινόμηση αυτών των ανοσοκυττάρων σε διαφορετικές κυτταρικές καταστάσεις ή υποτύπους βοήθησε στην παροχή βαθιάς γνώσης σχετικά με τις ετερόκλητες λειτουργίες τους. Παραδείγματος χάρη, τα τύπου 1  $CD4^+$  T κύτταρα βοηθούν  $CD8^+$  T στην απόρριψη του όγκου, ενώ τα τύπου 2  $CD4^+$  T κύτταρα και τα  $CD4^+$  T ρυθμιστικά κύτταρα μπλοκάρουν την ενεργοποίηση των  $CD8^+$  T κυττάρων. Όπως τα  $CD4^+$  T, έτσι και τα μακροφάγα μπορούν είτε να εμποδίζουν είτε να προάγουν την ανάπτυξη του όγκου, κάτι που εξαρτάται από την λειτουργική τους κατάσταση. Αρκετές πρόσφατες έρευνες έχουν βρει ότι υπάρχουν συσχετισμοί ανάμεσα σε συγκεκριμένες διηθήσεις των ανοσιακών κυττάρων στους πρωτοπαθείς όγκους και την πρόγνωση του ασθενή. Παραδείγματος χάρη, η διήθηση των  $CD8^+$  T κυττάρων και των ώριμων δένδριτικών κυττάρων σχετίζεται με μία ευνοϊκή πρόγνωση του ορθοκολικού καρκίνου και του καρκίνου της κεφαλής και του τραχήλου.



Εικόνα 5α: Επιθετικός καρκίνος μαστού με χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης, στον οποίο φαίνεται μία σημαντική διήθηση λευκοκυττάρων (λευκά τόξα). (Joyce & Pollard, 2009)



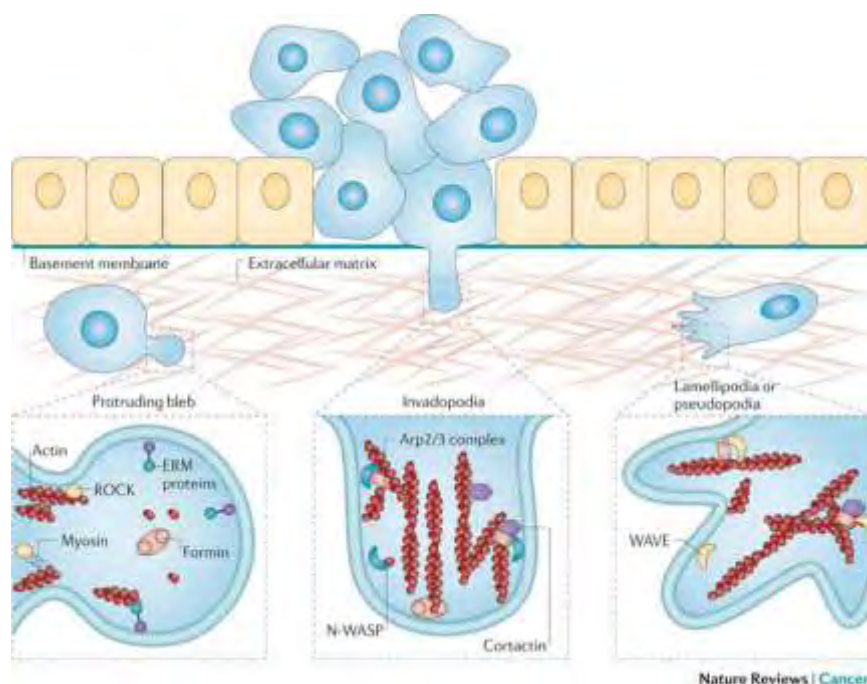
Εικόνα 5β: Καρκίνος μαστού.

### **Ρόλος των πρωτεασών και των διεισδυτοποδίων**

Κατά τη διάρκεια της μεταστατικής διασποράς, η αποδόμηση των εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και της βασικής μεμβράνης μπορεί να διευκολύνει τη μετανάστευση των κυττάρων του όγκου μέσα από το στρώμα και μέσα/ έξω από τα αγγεία. (Lunt et al, 2009). Σε αυτό το στάδιο σημαντικό ρόλο παίζουν τα διεισδυτοπόδια (invadopodia). Τα διεισδυτοπόδια είναι κυτταρικές προεξοχές πλούσιες σε ακτίνη και ο σχηματισμός τους εξαρτάται από την, παρακινούμενη από την ακτίνη, συγκέντρωση N-WASP–Arp2/3, ενώ απαιτείται και η κορτακτίνη (cortactin) για την αρχική εμφάνιση και τη σταθεροποίησή τους (Nurnberg et al, 2011). Είναι γνωστό ότι αποικοδομούν την εξωκυττάρια ουσία και είναι παρόντα σε επιθετικά καρκινικά κύτταρα. Αποικοδομούν τα συστατικά της εξωκυττάριας ουσίας αποσκοπώντας σε διήθηση του παρακείμενου ιστού. Τα διεισδυτοπόδια έχουν αναγνωρισθεί σε διάφορες κυτταρικές σειρές συμπαγών όγκων, όπως ο καρκίνος του μαστού, της κεφαλής και του τραχήλου, του στομάχου, του προστάτη, στο ινοσάρκωμα και το μελάνωμα. Πρόσφατα δεδομένα έχουν καταδείξει ότι υπάρχει άμεση μοριακή σύνδεση ανάμεσα στον αριθμό των σχηματιζόμενων διεισδυτοποδίων και τη μετάσταση, τόσο σε πειραματικά μοντέλα ποντικών, όσο και σε ασθενείς. (Murphy & Courtneidge, 2011). Linder, 2007, Gligorijevic et al, 2012, Eckert et al, 2011, Bergman et al, 2014). Είναι σημαντικό να



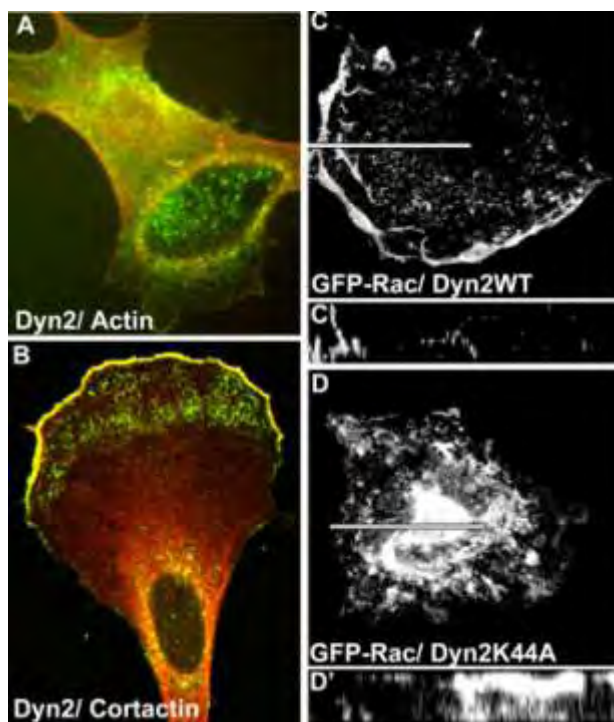
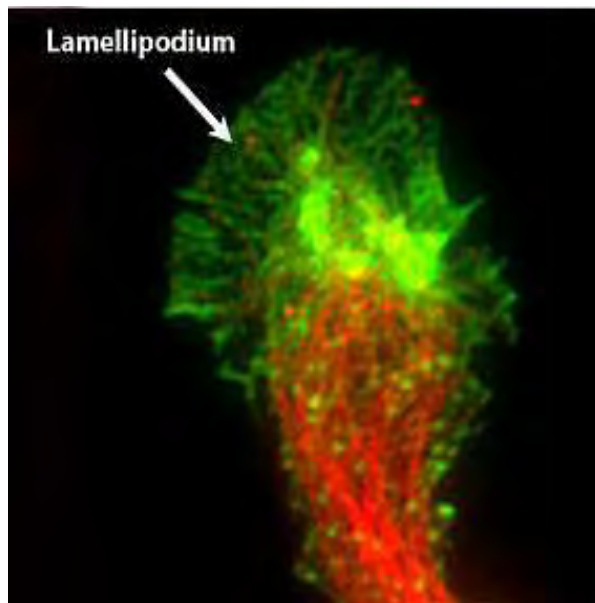
Τονιστεί ότι τα διεισδυτοπόδια υφίστανται συνεχείς αλλαγές και δεν αποτελούν μόνιμο φαινόμενο μέσα σε κάποιο κύτταρο.



Εικόνα 6: Διεισδυτοπόδια. (Nurnberg et al, 2011)

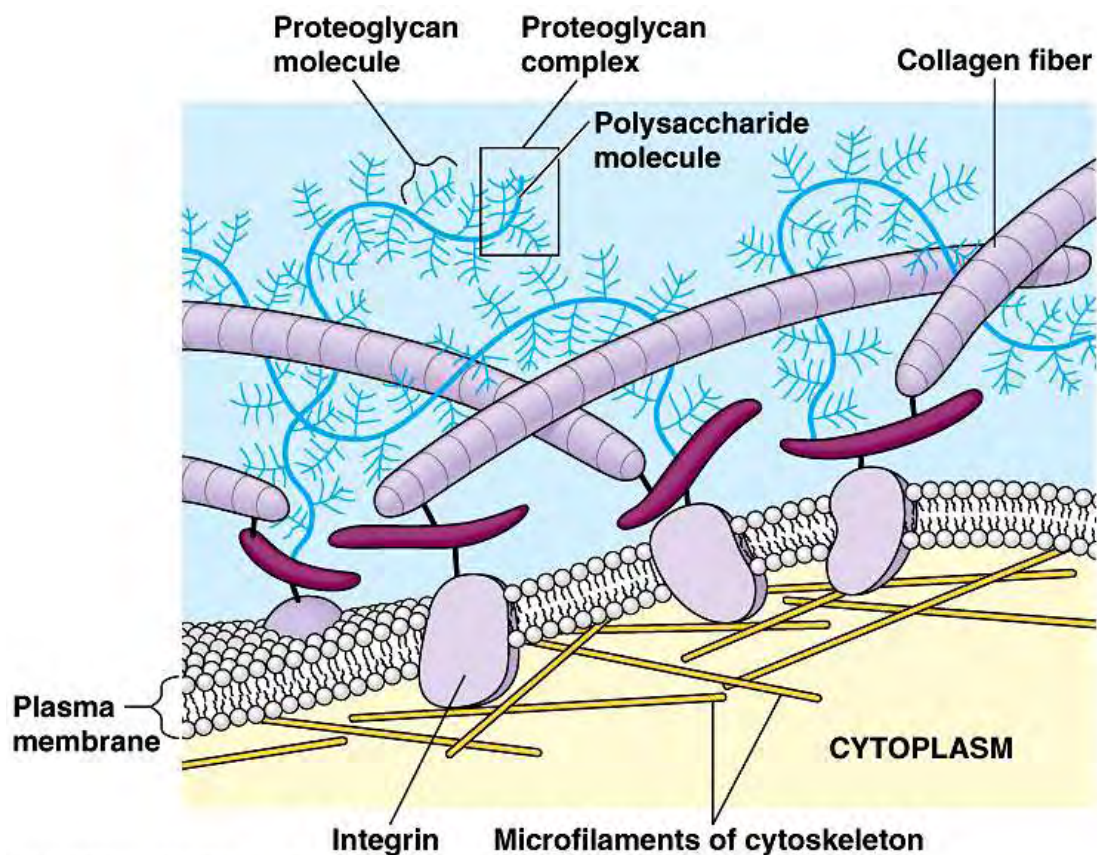
Με βάση αυτό το σκεπτικό, η μεταβολή του φαινοτύπου μπορεί να οδηγήσει το κύτταρο να σταματήσει την κινητικότητα και να ακολουθήσει φαινοτύπους της μίτωσης, της απόπτωσης ή γήρατος. (Chan et al, 2009, Sarmiento et al, 2008, Gil-Henn et al, 2013, Bergman et al, 2014)

Τώρα πλέον είναι γνωστό ότι τα διεισδυτοπόδια δεν είναι τα μοναδικά που έχουν λειτουργία αποδόμησης της εξωκυττάριας ουσίας ή εμπλουτισμού σε δομικές πρωτεΐνες. Η κοντρακτίνη, μία δομική πρωτεΐνη, εμπλουτισμένη με διεισδυτοπόδια, είναι, επίσης, εμπλουτισμένη μέσα στα ελασματοπόδια και μέσα στα ενδοσωματικά κοκκία, καθιστώντας την απαραίτητο, αλλά όχι και εξειδικευμένο δείκτη για τα διεισδυτοπόδια. (Bergman et al, 2014)



Εικόνα 7: Απεικονίσεις λαμελιποδίων

Επιπρόσθετα, η αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας δεν μπορεί, ούτε αυτή, να χρησιμοποιηθεί ως μοναδικός δείκτης καθώς οι εστιακές προσκολλήσεις στα καρκινικά κύτταρα αποδομούν και αυτές την εξωκυττάρια ουσία, αν και σε μικρότερο βαθμό. Έχει αποδειχθεί ότι η συγκέντρωση των ελασματοπόδιων είναι μία αναστρέψιμη διαδικασία και ακόμη και όταν όλα τα δομικά συστατικά είναι στη θέση τους, δεν θα έχουν όλα τα διεισδυτοπόδια την ίδια διάρκεια ζωής και ούτε θα αποκτήσουν όλα το πλήρες λειτουργικό στάδιο. Ως αποτέλεσμα αυτού δεν ωριμάζουν όλα τα διεισδυτοπόδια πλήρως ώστε να αποδομήσουν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Για να γίνει ο διαχωρισμός μεταξύ των ώριμων, πλήρως λειτουργικών διεισδυτοπόδιων και αυτών που αποσυναρμολογούνται πριν φθάσουν το λειτουργικό στάδιο, τα τελευταία ονομάστηκαν πρόδρομα διεισδυτοπόδια. Αντιθέτως, τα διεισδυτοπόδια που ωριμάζουν και αποδομούν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία είναι πιθανό να αποσυναρμολογούνται μετά την αποδόμηση. (Murphy et al, 2011, Oser et al, 2009, Bergman et al, 2014)



Εικόνα 8: Εξωκυττάρια θεμέλια ουσία

Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης και ο υποδοχέας του ρυθμίζουν την έκφραση της σερινικής πρωτεάσης, της πλασμίνης. Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης είναι ένα προ – ένζυμο το οποίο μετατρέπεται στην ενεργή του μορφή όταν συνδέεται με τον υποδοχέα του, κάνοντας εφικτή τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη, κάτι που με τη σειρά του επιτρέπει την επιτόπια αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Επιπρόσθετα, η πλασμίνη μπορεί να ενεργοποιεί λανθάνουσες μορφές της μεταλλοπρωτεϊνάσης (MMP) MMP–2 και MMP–9, διευκολύνοντας ακόμα περισσότερο την αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Έχει καταδειχθεί ότι η υποξία επάγει την έκφραση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης και του υποδοχέα του, όπως και των MMP–2 και MMP–9 σε διάφορες κυτταρικές σειρές. Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι αυτή η έκφραση που μεσολαβείται από την υποξία επιφέρει αύξηση της μεταστατικής εισβολής, τόσο in vitro, όσο και in vivo. (Lunt et al, 2009)

Στις μεταλλοπρωτεϊνάσες περιλαμβάνονται οι μεταλλοπρωτεϊνάσες εξωκυττάριας δικτύου (MMPs), μία δισιντεγρίνη και μία μεταλλοπρωτεϊνάσες (A Disintegrin And Metalloproteinase - ADAMs) και ADAMs με μοτίβα θρομβοσποντίνης. Είναι ένζυμα τα οποία έχουν ένα υπόλειμμα μεθειονίνης χωρίς κενά στην ακολουθία στοίχισης στα ενεργό πεδίο και εξαρτώνται από τα ιόντα ψευδαργύρου για τις ενζυματικές αντιδράσεις. Οι MMPs, 24 στον άνθρωπο και 23 στα ποντίκια, αρχικά ταξινομήθηκαν με βάση την ειδικότητα τους για συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Τώρα, πλέον, ταξινομούνται λαμβάνοντας υπόψη και τα δομικά τους χαρακτηριστικά. (Egeblad & Werb, 2002, Lopez-Otin et al, 2009).

### **Σημασία της υποξίας**

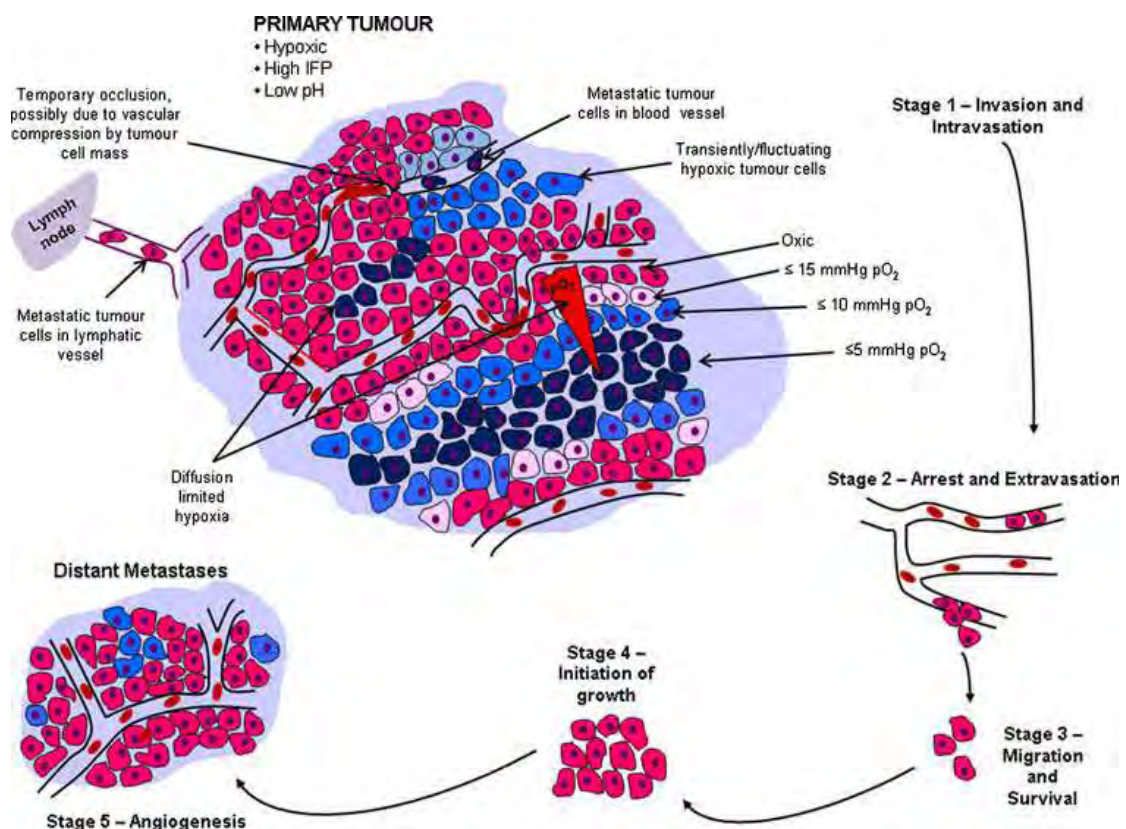
Είναι γνωστό ότι η υποξία επηρεάζει την ακτινοευαισθησία των όγκων εδώ και 50 χρόνια, αλλά μόνο τη τελευταία δεκαετία διευκρινίστηκε ότι η υποξία ενός όγκου παίζει σημαντικό ρόλο και στην εξέλιξη του και σε ένα πιο επιθετικό φαινότυπο. Υπάρχουν μελέτες, σε πειραματόζωα, που έχουν άμεσα καταδείξει ότι η αύξηση της υποξίας ενός όγκου, με την έκθεση των



πειραματόζωνων σε υποξία διά ποδηλασίας in vivo αύξησε τη μεταστατική διασπορά στους πνεύμονες και τους λεμφαδένες (Cairns et al, 2001).

Οι μηχανισμοί με τους οποίους η υποξία του όγκου μπορεί να αυξήσει τις πιθανότητες εμφάνισης μετάστασης δεν είναι απολύτως γνωστοί, αλλά φαίνεται ότι περιλαμβάνουν την επαγωγή μεταλλαξιγόνων συμβάντων, γενετική αστάθεια και αυξημένη επιγενετική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. (Cairns et al, 2001, Cairns et al, 2004, Lunt et al, 2009).

Για να λάβει χώρα η μετάσταση θα πρέπει το καρκινικό κύτταρο που βρίσκεται μέσα στα αγγεία να επιβιώσει μέσα στην κυκλοφορία, να φθάσει στο όργανο στόχος, να εξαγγειωθεί μέσα στο παρέγχυμα και να επιδείξει σταθερή ανάπτυξη. (Joyce & Pollard, 2009)



Εικόνα 9: Η υποξία στον πρωτογενή όγκο και η μεταστατική διαδικασία

Η εικόνα 9 δείχνει τη μεταστατική διεργασία διαιρεμένη σε 5 στάδια (Lunt et al, 2009):

1. Εισβολή και είσοδος μέσα στα αγγεία
2. Στάση και εξαγγείωση
3. Μετανάστευση και επιβίωση
4. Έναρξη της ανάπτυξης
5. Αγγειογένεση. (Lunt et al, 2009)

Κάθε ένα από αυτά τα στάδια είναι ανεπαρκές, ενώ μερικά εξαρτώνται από τον ρυθμό με τον οποίο συμβαίνουν. Παραδείγματος χάρη, η γήρανση ή η απόπτωση των καρκινικών κυττάρων κατά το στάδιο της εισόδου τους στο σημείο της μετάστασης εμποδίζει την εξάπλωση της πλειονότητας των κυκλοφορούντων κυττάρων. Η άφιξη τους σε απομακρυσμένα σημεία μπορεί να αφορά πολλά και διαφορετικά όργανα, αλλά μεταστατικοί καρκίνοι αναπτύσσονται μόνο σε ένα ή σε μερικά. Υπάρχουν, επίσης, ολόένα και περισσότερες αποδείξεις ότι, σε μερικές περιπτώσεις, τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να υπάρχουν σε λανθάνουσα κατάσταση για πολλά χρόνια και ότι η εγκατάστασή τους στα απομακρυσμένα όργανα μπορεί να έχει γίνει αρκετά χρόνια πριν τη διάγνωση του πρωταρχικού όγκου. (Joyce & Pollard, 2009)

Ο πρωτοπαθής όγκος της εικόνας εμφανίζει την ανώμαλη αγγείωση, όπως αυτή διαμορφώθηκε κατά τη διάρκεια της αγγειογένεσης. Παρατηρείται μία πρόσκαιρη απόφραξη, πιθανώς εξαιτίας της συμπίεσης των αγγείων από την κυτταρική μάζα του όγκου, η οποίας θα μπορούσε να οδηγήσει σε παροδική υποξία των, παρακείμενων στην αγγείωση, κυττάρων του όγκου (απεικονίζονται με ανοικτό μπλε χρώμα), όπως και να συνεισφέρει στην αυξημένη αντίσταση των αγγείων, και, επομένως, σε αυξημένη πίεση του μεσοκυττάρου υγρού.

Απεικονίζεται, επίσης, και η υποξία που οφείλεται σε περιορισμό της διάχυσης του οξυγόνου, στα κύτταρα που βρίσκονται σε απόσταση από τα αγγεία. Σε αυτήν την περίπτωση είναι κύτταρα τα οποία βρίσκονται σε ενδιάμεσα στάδια της υποξίας, καθώς προχωρά η κατανάλωση του οξυγόνου.

Οι αριθμοί που αναφέρονται είναι μόνο για τον σκοπό της απεικόνισης, οι πραγματικές τιμές εξαρτώνται από πολλές παραμέτρους, όπως ο ρυθμός κατανάλωσης του οξυγόνου και το αν τα κύτταρα βρίσκονται κοντά στο αρτηριακό ή το φλεβικό άκρο του αγγείου. Τα κύτταρα του όγκου απεικονίζονται μέσα στα λεμφικά και τα αιμοφόρα αγγεία, που αποτελούν και τον τρόπο μεταφοράς στο δευτεροπαθές πεδίο. (Lunt et al, 2009)

Είναι κάπως παράδοξο ότι οι όγκοι είναι υποξικοί εξαιτίας της ανώμαλης αγγείωσης, που παράγεται από μία αγγειογενετική διαδικασία που ελέγχεται από up-regulated γονίδια, ως αποτέλεσμα της υποξίας. Στην ουσία, η αγγειογένεση αποτελεί προαπαιτούμενο για την ανάπτυξη του όγκου, καθώς χωρίς μία επαρκή τροφοδοσία σε οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά η μάζα του όγκου δεν μπορεί να επεκταθεί. Αυτό ισχύει τόσο για την ανάπτυξη του πρωτογενούς όγκου, όσο και για την εγκατάσταση της δευτερογενούς μάζας. Ένα βασικό γονίδιο που ευνοεί την αγγειογένεση είναι ο ανταποκρινόμενος στην υποξία αγγειακός ενδοθηλιακός παράγοντας αύξησης (VEGF), η έκφραση του οποίου ρυθμίζεται από τον επαγόμενο από την υποξία παράγοντα 1(HIF-1), ο οποίος σταθεροποιείται κάτω από υποξικές συνθήκες. Ο επαγόμενος από την υποξία παράγοντας 1 θεωρείται ως ο κυρίαρχος ρυθμιστής και οδηγεί την έκφραση πολλαπλών γονιδίων που σχετίζονται με τη μεταστατική διεργασία, αν και θα πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν και άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες που απαντούν σε ένα υποξικό περιβάλλον, όπως οι NF- $\kappa$ B, p53, AP-1, C/EBP $\beta$ , Egr-1 και SP-1.

Ο επαγόμενος από την υποξία παράγοντας 1 αποτελεί βασικό μεσολαβητικό παράγοντα για την έκφραση της ερυθροποιητίνης μετά από υποξία. Ο επαγόμενος από την υποξία παράγοντας 1 είναι ένα ετεροδιμερικό σύμπλεγμα που αποτελείται από μία  $\alpha$  και μία  $\beta$  υπομονάδα, το οποίο ανήκει σε μία οικογένεια που χαρακτηρίζεται από την παρουσία της περιοχής του βασικού παράγοντα έλικας – θηλειάς – έλικας. Υπάρχουν τρία ανθρώπινα γονίδια για τον επαγόμενο από την υποξία παράγοντα 1, τα HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  και τον HIF-3 $\alpha$  τα οποία είναι ευαίσθητα στο οξυγόνο. Από τις τρεις HIF- $\alpha$  υπομονάδες, η HIF-1 $\alpha$  είναι η πιο καλά μελετημένη μέχρι τώρα, η πιο διαδεδομένη, όσον αφορά την έκφραση της και λειτουργεί ως κύριος ρυθμιστής της ομοιόστασης του οξυγόνου σε πολλούς κυτταρικούς τύπους.

Παρουσία οξυγόνου η HIF-1a υδροξυλιώνεται σε κατάλοιπα prolyl μέσα στο εξαρτώμενο από το οξυγόνο πεδίο αποδόμησης από prolyl υδροξυλάσες και συνδέεται με τον Hippel-Lindau πρωτεΐνη, η οποία με τη σειρά της το σημαδεύει για να αποδομηθεί μέσω του μονοπατιού της ubiquitin-proteasome. Οι HIF prolyl υδροξυλάσες είναι ευαίσθητα ένζυμα που ρυθμίζουν την σταθερότητα των HIF και, επομένως, επάγουν τις κυτταρικές προσαρμογές, ως απάντηση στην υποξία. Όταν, όμως, οι συνθήκες είναι υποξικές η prolyl είναι αδρανής, με αποτέλεσμα την σταθερότητα του HIF-1a. (Lunt et al, 2009)

Οι προχωρημένοι συμπαγείς όγκοι εμφανίζουν περιοχές οξείας και χρόνιας υποξίας, οι οποίες μπορούν να επιλεγθούν και να επάγουν μεταβολικές τροποποιήσεις στα κύτταρα. Κύτταρα που εκτίθενται σε χρόνια ή διακοπτόμενη υποξία μπορεί, παροδικά, να εκφράσει ένα γλυκολυτικό φαινότυπο. Ο γρήγορος ρυθμός της γλυκόλυσης, σε συνδυασμό με την πτωχή αιμάτωση του όγκου, οδηγεί σε οξειδωση του μικροπεριβάλλοντος της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας του όγκου. Τόσο η υποξία, όσο και η το όξινο περιβάλλον μπορεί να είναι κυτταροτοξικά. Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων με τη χρήση fluorodeoxyglucose, ένας δείκτης ανάλογος της γλυκόζης, έχει δείξει τόσο οι πρωτοπαθείς όσο και οι κακοήθεις βλάβες καταναλώνουν γλυκόζη με υψηλούς ρυθμούς, άσχετα από την κατάσταση του οξυγόνου.

Η διατήρηση του γλυκολυτικού φαινοτύπου συμβάλλει στην ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να επιβιώνουν κατά την διάρκεια περιοδικών περιόδων υποξίας και χαμηλής γλυκόζης. Μία, όμως, συνέπεια της αυξημένης γλυκόλυσης στους πρωτοπαθείς και δευτεροπαθείς όγκους είναι η αυξημένη παραγωγή οργανικών οξέων, τα οποία μειώνουν το pH του μικροπεριβάλλοντος της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και του περιβάλλοντος στρώματος. Αν και οι περίοδοι της υποξίας μπορεί να είναι παροδικές, η οξειδωση του περιβάλλοντος της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, μάλλον, παραμένει σταθερή, εξαιτίας της αεροβικής γλυκόλυσης, υποδηλώνοντας ότι θα πρέπει να γίνονται κυτταρικές προσαρμογές των κυττάρων του όγκου, για να επιβιώσουν την χρόνια οξέωση.



## **Η σημασία του pH**

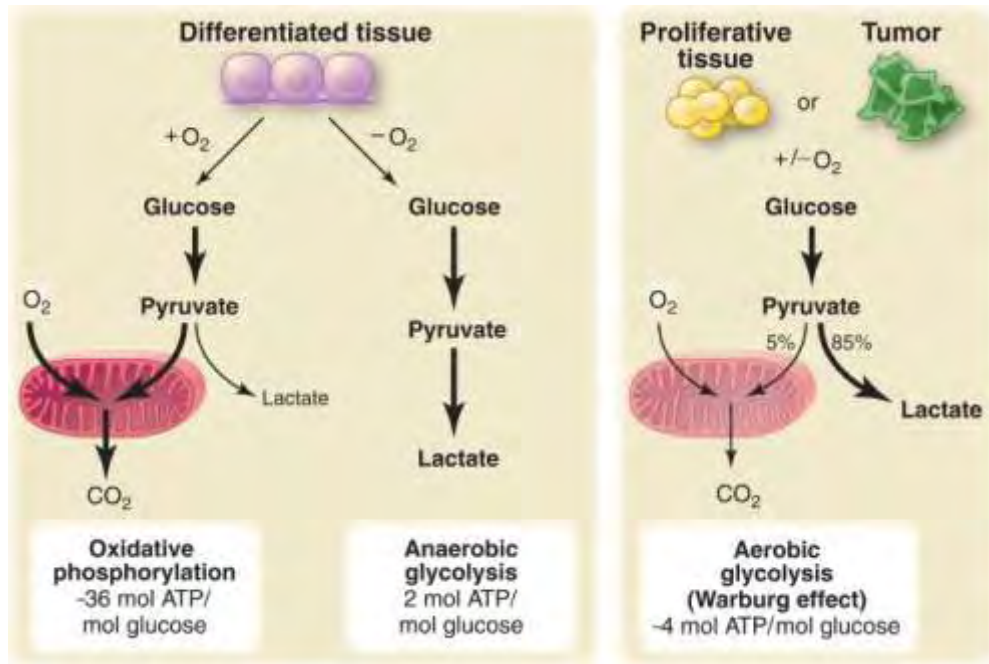
Οι μηχανισμοί επιβίωσης κάτω από όξινες συνθήκες δεν είναι καλά χαρακτηρισμένες. Έχει αποδειχθεί ότι η οξειδωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας είναι μεταλλαξιόγόνος και διασπά τα μιτοχόνδρια *in vitro* και, επίσης, μεταβάλλει τα προφίλ της έκφρασης των γονιδίων, οδηγώντας σε φαινοτύπους που είναι προσαρμοσμένοι να επιβιώνουν και να αναπτύσσονται σε χαμηλές συνθήκες pH.

Η μακροαυτοφαγία είναι μία καταβολική διαδικασία μέσω της οποίας πρωτεΐνες και οργανίδια του κυτταροπλάσματος αυτό – πέπτονται, διατηρώντας τον κυτταρικό μεταβολισμό, μέσω της ανακύκλωσης των αποδομούμενων συστατικών. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες η αυτοφαγική δραστηριότητα διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα, πιθανώς διατηρώντας τη φυσιολογική κυτταρική ομοιόσταση. Τα εξωκυττάρια stresses, όπως η στέρηση θρεπτικών συστατικών, τα μειωμένα επίπεδα των παραγόντων αύξησης και η υποξία αυξάνουν παροδικά την αυτοφαγική δραστηριότητα, για να προαχθεί η επιβίωση των κυττάρων του όγκου.

Οι παράγοντες που επηρεάζονται από την υποξία (HIFs) είναι μεταγραφικοί παράγοντες, που ελέγχουν την έκφραση πολλών γονιδίων που ρυθμίζουν την πρόσληψη της γλυκόζης, την αγγειογένεση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και την αυτοφαγία.

Ο HIF 1α αυξάνει την αυτοφαγία με ένα τρόπο που εξαρτάται από την επιβίωση, ανεβάζοντας την έκφραση του BNIP3/BNIP3L, το οποίο διακόπτει το ανασταλτικό σύμπλεγμα της αυτοφαγίας του Bcl-2/Beclin1. Το χαμηλό pH αυξάνει την σταθερότητα και τη δραστηριότητα του BNIP3 *in vitro*. (Wojtkowiak et al, 2012)

Το αποτέλεσμα Warburg είναι μία καλά αποδεκτή θεωρία η οποία λέει ότι οι όγκοι έχουν την τάση να παράγουν γαλακτικό χρησιμοποιώντας, για την παραγωγή ενέργειας, το αναερόβιο γλυκολυτικό μονοπάτι, ακόμη και όταν υπάρχει επαρκές οξυγόνο και όχι αυτό της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. (Kato et al, 2013)



Εικόνα 10: Το αποτέλεσμα Warburg

Υψηλά επίπεδα γαλακτικού υποδεικνύουν μεταστάσεις και επανεμφάνιση του όγκου σε μερικούς ασθενείς. Υψηλά επίπεδα έκκρισης από τα κύτταρα του όγκου αναστέλλει την έκδοση του από τα Τ κύτταρα, διαταράσσοντας το μεταβολισμό και την λειτουργία. Το γαλακτικό που προέρχεται από τον όγκο επηρεάζει την φλεγμονή και την ανοσολογική ανεπάρκεια των κυττάρων του όγκου. Το γαλακτικό λειτουργεί ως εγγενής μεσολαβητής της φλεγμονής που αυξάνει την παραγωγή της ιντερλευκίνης IL – 17A από τα Τ κύτταρα και τα μακροφάγα, με αποτέλεσμα την προαγωγή της χρόνιας φλεγμονής στα μικροπεριβάλλοντα του όγκου. Το γαλακτικό αναστέλλει τη δραστηριότητα των δενδριτικών κυττάρων και τη διάρκεια της διέγερσης των ειδικών για τα αντιγόνα αυτόλογα Τ κύτταρα. Αυξάνει, επίσης, την κινητικότητα των κυττάρων του όγκου και αναστέλλει τη μετανάστευση των μονοκυττάρων και την απελευθέρωση κυτοκίνης. Μπορεί να συνεισφέρει στην αγγειογένεση μέσω της επαγωγής της IL- 8 via του πυρηνικού παράγοντα κB και την επαγωγή τους αγγειακού ενδοθηλιακού παράγοντα

αύξησης μέσω του επαγόμενου από την υποξία μεταγραφικού παράγοντα HIF-1. Επιπρόσθετα, η παραγωγή γαλακτικού συμβάλλει στην αντίσταση στην ακτινοθεραπεία λόγω των αντιοξειδωτικών του ιδιοτήτων. (Kato et al, 2013)

Εξαιτίας του αυξημένου μεταβολισμού της γλυκόζης, η παραγωγή ιόντων υδρογόνου και η απέκκριση τους είναι γενικά αυξημένη στους καρκίνους. Αυτό, σε συνδυασμό με την πτωχή αιμάτωση, επιφέρει όξινο εξωκυτταρικό pH στους κακοήθεις όγκους (pH = 6.5-6.9), σε σύγκριση με αυτό του φυσιολογικού ιστού, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες (εξωκυτταρικό pH=7.2-7.4). Το όξινο εξωκυττάριο pH μπορεί να προκαλέσει την απελευθέρωση της δραστηριότητας της (cysteine ή aspartyl) πρωτεϊνάση της καθεψίνης *in vitro*.

Επιπλέον, τα κύτταρα που εκτίθενται σε *in vitro* χαμηλό pH επιδεικνύουν αυξημένη εισβολή τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* (Yadav & ShivakumarIn 2012). Αυτές οι παρατηρήσεις γίνονται μέσα στα πλαίσια της «μεσολαβούμενης από το οξύ εισβολής», σύμφωνα με την οποία τα ιόντα υδρογόνου ρέουν από τον όγκο στον παρακείμενο φυσιολογικό ιστό, προάγοντας την ιστική ανακατασκευή στην επιφάνεια επαφής του όγκου με το στρώμα. Το όξινο περιβάλλον που προκύπτει είναι τοξικό για τα φυσιολογικά κύτταρα και προάγει την αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας από τις πρωτεϊνάσες, αυξάνει την αγγειογένεση μέσω της απελευθέρωσης του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντας και αναστέλλει την ανοσολογική απάντηση στα αντιγόνα του όγκου. Τα καρκινικά κύτταρα, εξαιτίας της αυξημένης εξελικτικής τους ικανότητας, αναπτύσσουν προσαρμοστικούς μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να επιβιώνουν, ακόμη και να πολλαπλασιάζονται σε όξινα περιβάλλοντα.

Αυτές οι προσαρμογές μπορούν να αφορούν, μεταξύ άλλων, την αυξημένη ρύθμιση της ανταλλαγής νατρίου – υδρογόνου ή της καρβονικής ανυδράσης. Καθώς τα φυσιολογικά κύτταρα πεθαίνουν και η εξωκυττάρια θεμέλια ουσία αποδομείται, τα καρκινικά κύτταρα συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται και εισβάλλουν σε αυτόν τον ανοικτό χώρο (Estrella et al, 2013).

## Αγγειογένεση

Η αγγειογένεση του όγκου, στην τυπική της μορφή, αφορά στον σχηματισμό νέων αγγείων από ήδη υπάρχοντα αγγεία σε μία διαδικασία που είναι γνωστή ως αγγειογένεση με εκβλαστήσεις. Πρόκειται για μία πολύ καλά ρυθμιζόμενη, περίπλοκη διαδικασία η οποία ελέγχεται από διάφορα μονοπάτια που διασταυρώνονται, στα οποία περιλαμβάνονται ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), οι αγγειοποιητίνες, ο Notch και οι ιντεγκρίνες. (Sun, 2012)

Ο VEGF στον καρκίνο δεν περιορίζεται στην αγγειογένεση και την αγγειακή διαπερατότητα. Το σηματοδοτικό μονοπάτι αυτού του αυξητικού παράγοντα λαμβάνει χώρα στα κύτταρα του όγκου και αυτή η σηματοδότηση συνεισφέρει σε σημαντικές πλευρές της δημιουργίας των όγκων, όπως η λειτουργικότητα των καρκινικών βλαστικών κυττάρων και η έναρξη σχηματισμού του όγκου. Εκτός από τις κινάσες της τυροσίνης του υποδοχέα του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα τα ουδετερόφιλα είναι, εξίσου, σημαντικά για τη διαμεσολάβηση των επιδράσεων του παράγοντα στα κύτταρα του όγκου, πρωταρχικά λόγω της ικανότητας τους να ρυθμίζουν τη λειτουργία και την κινητικότητα των υποδοχέων των αυξητικών παραγόντων και των ιντεγκρινών. (Goel & Mercurio, 2013)

Τα κερατινοκύτταρα μπορούν να απαντούν άμεσα στον αυξητικό παράγοντα, κάτι που θα μπορούσε να επηρεάσει την καρκινογένεση του δέρματος, μεταβάλλοντας τον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση και τη βλαστικότητα (stemness). In vivo μελέτες έχουν δείξει ότι η απώλεια του υποδοχέα του παράγοντα (VEGFR-1) ή η νευροπιλίνη-1 αναστέλλει την καρκινογένεση, υποδεικνύοντας ότι ο ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας μπορεί να επηρεάσει με άμεσο τρόπο τα καρκινικά κύτταρα. Επιπρόσθετα, ο ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας προάγει την ανάπτυξη στρατολογώντας μακροφάγα στους δερματικούς όγκους, κάτι που γίνεται μέσω του υποδοχέα VEGFR-1. (Johnson & Wilgus, 2012)

Το σηματοδοτικό μονοπάτι angiopoietin-Tie αναγνωρίστηκε ως ένα μονοπάτι εξαιρετικά σημαντικό για την ανάπτυξη νέων αγγείων. Οι υποδοχείς Tie (Tie1 και Tie2, ή Tek) εκφράζονται εκλεκτικά από ενδοθηλιακά κύτταρα,

κάτι που έχει βρεθεί να ισχύει με τους υποδοχείς του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα. Η σηματοδότηση από τους υποδοχείς Tie φαίνεται να συμπληρώνει το μονοπάτι του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα συνεισφέροντας σε μεταγενέστερα στάδια της αγγειακής ανάπτυξης. Έτσι, ενώ τα σήματα του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα προάγουν τα αρχικά στάδια της αγγειογένεσης, όπως η εκβλάστηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, το μονοπάτι *angiopoietin-Tie* φαίνεται να προάγει την επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειακή συγκέντρωση, σταθερότητα και ωρίμανση.

Τα βασικά συστατικά μέρη αυτού του σηματοδοτικού συστήματος φαίνεται να είναι η αγγειοποιητίνη – 1 και το Tie2, με την πρώτη να είναι δραστήριος αγωνιστής του μονοπατιού και το δεύτερο να αποτελεί τον υποδοχέα. (Thurston & Daly, 2012)

Οι ιντεγκρίνες είναι α/β ετεροδιμερείς υποδοχείς της μεμβράνης, οι οποίες διαμεσολαβούν στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων και στην κυτταρική προσκόλληση στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Εκτός από τον ρόλο τους ως μόρια κυτταρικής προσκόλλησης, η πρόσδεση των ιντεγκρινών με τους προσδέτες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας επάγει μία ποικιλία ενδοκυτταρικών σημάτων και ρυθμίζουν αρκετές κυτταρικές απαντήσεις, στις οποίες περιλαμβάνονται η μετανάστευση, η διαφοροποίηση και ο πολλαπλασιασμός. Αρκετοί τύποι φυσιολογικών κυττάρων είναι κυριολεκτικά εξαρτημένοι από τη σωστή πρόσδεση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας με τις ιντεγκρίνες. Σε πειράματα με κυτταρικές καλλιέργειες, η έλλειψη της πρόσδεσης των ενδοθηλιακών και επιθηλιακών κυττάρων στη σωστή πρωτεΐνη της θεμέλιας ουσίας έχει αποδειχθεί ότι επάγει μία μορφή απόπτωσης, η οποία ονομάστηκε ανοικία (Aoudjit & Vuori, 2012).

Τα γονίδια Notch κωδικοποιούν διαμεμβρανικούς υποδοχείς. Τα Notch μεσολαβούμενα σήματα ρυθμίζουν αποφάσεις που σχετίζονται με τη μοίρα του κυττάρου σε ένα σημαντικό αριθμό αναπτυξιακών συστημάτων. Τέτοια σήματα μεταδίδονται κυρίως μέσω της άμεσης επαφής ανάμεσα στα γειτονικά κύτταρα εκφράζοντας τους υποδοχείς Notch και τους προσδέτες τους. Οι υποδοχείς Notch δρουν απαντώντας στους προσδέτες που εκφράζονται από

τα γειτονικά κύτταρα για να ρυθμίζουν την εξειδικευμένη τύχη του κυττάρου, τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση.

Το σηματοδοτικό μονοπάτι Notch συχνά απορυθμίζεται σε αρκετές κακοήθειες του ανθρώπου. Αυξημένη έκφραση των Notch υποδοχέων και των προσδετών τους έχει παρατηρηθεί στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, του εντέρου, της κεφαλής και του τραχήλου, των νεφρών, του παγκρέατος, στα λεμφώματα Hodgkin και μεγαλοκυτταρικά, όπως και στον καρκίνο του στήθους. Η ενεργοποίηση του Notch προκαλεί μαστικό καρκίνωμα στα ποντίκια. (Guo et al, 2011)

Στους φυσιολογικούς ιστούς υπάρχει ισορροπία ανάμεσα στους παράγοντες που προάγουν την αγγειογένεση και σε αυτούς που την ανταγωνίζονται. Κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής αγγειογένεσης στους ενήλικες υφίσταται μία παροδική μετατόπιση προς την κατεύθυνση των παραγόντων που προάγουν την αγγειογένεση, η οποία ελέγχεται από ανασταλτικούς μηχανισμούς. Σε αντίθεση με τη φυσιολογική αγγειογένεση, η αγγειογένεση των όγκων δεν ελέγχεται από τους φυσιολογικούς ανασταλτικούς μηχανισμούς και παρατηρείται μία ανισορροπία ανάμεσα στους παράγοντες που προάγουν την αγγειογένεση και σε αυτούς που την σταματούν. Η ποικιλομορφία των μονοπατιών και μορίων που εμπλέκονται στην αγγειογένεση μπορεί να ανοίξει νέες οδούς θεραπευτικής αντιμετώπισης. Συγκρινόμενα με τα φυσιολογικά αιμοφόρα αγγεία, τα αγγεία του όγκου διαφέρουν ως προς τα εξής:

A) Υπάρχει απώλεια της φυσιολογικής ιεραρχίας των αγγείων σε αρτηρίδια, τριχοειδή και φλεβίδια.

B) Το ενδοθηλιακό στρώμα είναι ανώμαλο και περιλαμβάνει χώρους που συνεισφέρουν στη διαρροή των αγγείων του όγκου

Γ) ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων του όγκου προκαλεί συμπίεση των αγγείων και η πίεση του διάμεσου υγρού αυξάνεται. Με αυτόν τον τρόπο η ικανότητα των αγγείων του όγκου να παρέχουν οξυγόνο και να απομακρύνουν τα προϊόντα του μεταβολισμού χάνεται, με αποτέλεσμα την υποξία και την οξειδωση στο μικροπεριβάλλον του όγκου.

Δ) Τα περικύτταρα έχουν ανώμαλα αδύναμη προσκόλληση με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και εμφανίζουν κυτταροπλασματικές προεξοχές που εκτείνονται πέρα από το τοίχωμα του αγγείου.

Ε) Το πάχος της βασικής μεμβράνης ποικίλλει, έχει αδύναμη συσχέτιση με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα περικύτταρα και εμφανίζουν προεξοχές μακριά από το τοίχωμα του αγγείου.

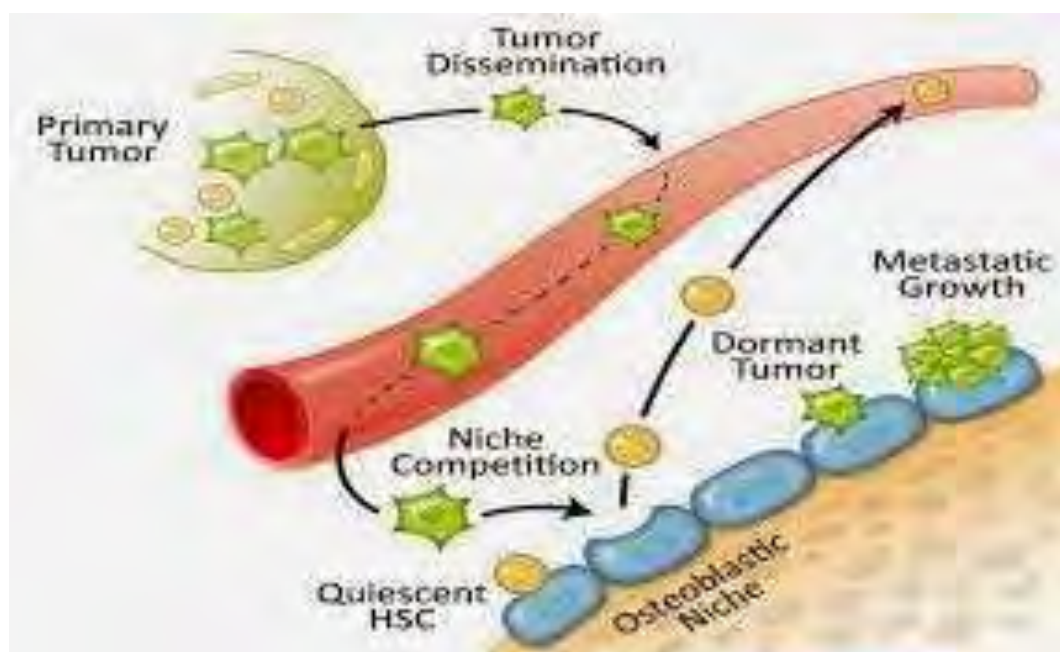
ΣΤ) Τα ενδοθηλιακά κύτταρα στα αγγεία του όγκου, εμφανίζουν τροποποιημένη γονιδιακή έκφραση και κυτταρογενετικές ανωμαλίες, όπως η ανευπλοειδία. (Sun, 2012)

## Κεφάλαιο 3ο

### Μετάσταση

#### Ο μηχανισμός των μεταστάσεων

Ο καρκίνος είναι μία ομάδα ασθενειών που προκαλούνται από τον άναρχο πολλαπλασιασμό παθολογικών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά διαιρούνται ανεξέλεγκτα σχηματίζοντας νέους ιστούς οι οποίοι επιδρούν βλαπτικά στη γενικότερη λειτουργία του σώματος. Ο παραγόμενος ιστός διαμορφώνει έναν όγκο ο οποίος επικαλύπτεται εξωτερικά από μία λεπτή κυτταρική στρώση που ονομάζεται επιθήλιο. Τα κύτταρα που σχηματίζουν τους υμένες του επιθηλίου χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερη δομή που εξυπηρετεί τη λειτουργία τους.



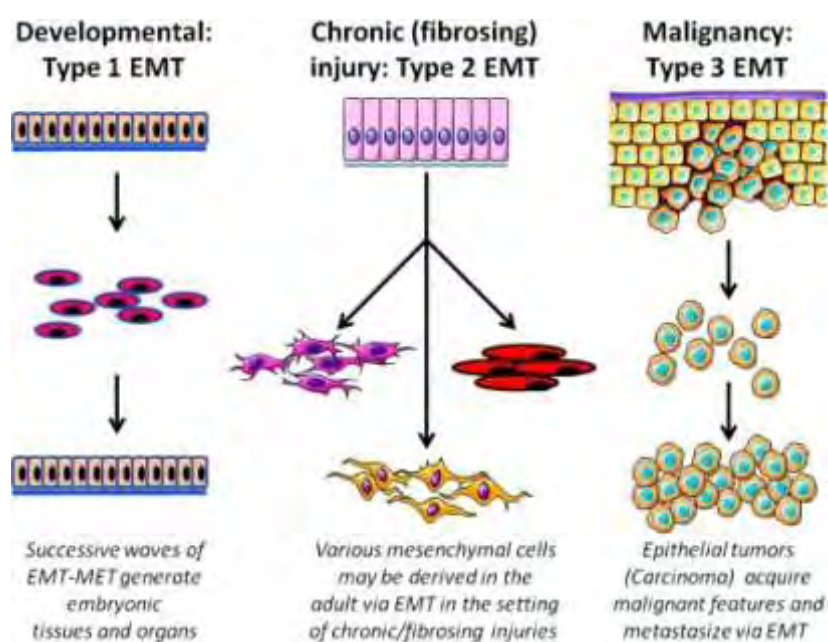
Εικόνα 11: Διαδικασία μετάστασης

Σε περίπτωση μετάστασης, ξεκινά τη λειτουργία του ένας μηχανισμός που ονομάζεται επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή, γνωστός και ως EMT (αρκτικόλεξο παραγόμενο από τον αγγλικό όρο epithelial-mesenchymal



transition). Αυτός ο μηχανισμός επιφέρει μοριακές διεργασίες και μεταβολές στην επιφάνεια των επιθηλίων κυττάρων, μετασχηματίζοντάς τα σε κύτταρα μεσεγχυματικού τύπου. Τα νέα αυτά κύτταρα έχουν τη δυνατότητα διήθησης σε άλλους ιστούς. Το κύτταρο δέχεται δομικές και λειτουργικές αλλαγές που του επιτρέπουν να αποσπαστεί από το επιθήλιο και να μετεγκατασταθεί σε άλλη περιοχή του οργανισμού μέσω του αίματος ή της λέμφου.

Η επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή αντιπροσωπεύει μία εξαιρετικά σημαντική εξεργασία η οποία συντελεί στη διασπορά του όγκου. (Wells et al, 2011, Yao et al, 2011)



Εικόνα 12: Οι τρεις διαφορετικές μορφές της επιθηλιακής προς μεσεγχυματική μετατροπής: αναπτυξιακή, χρόνιας φλεγμονής και η μεταστατική (τύπος 3)

Όπως αναφέρθηκε πιο πάνω τα επιθηλιακά κύτταρα μπορούν να μετατραπούν σε μεσεγχυματικά μέσω της EMT. Ο όρος EMT περιγράφει μια σειρά από φαινόμενα τα οποία συμβαίνουν και έχουν ως αποτέλεσμα τα επιθηλιακά κύτταρα να χάσουν τα χαρακτηριστικά τους και να αποκτήσουν ιδιότητες ενός τυπικού μεσεγχυματικού κυττάρου μέσα από ένα σύμπλεγμα

αλλαγών τόσο στην κυτταρική αρχιτεκτονική όσο και στη συμπεριφορά. Αυτή η μετατροπή από επιθηλιακό σε μεσεγχυματικό κύτταρο εμπεριέχει ένα ευρύ φάσμα από ενδο- και διακυτταρικές αλλαγές στην επιθηλιακή πλαστικότητα.

Τα επιθηλιακά κύτταρα που υπόκεινται στην EMT, χάνουν την βασικοκορυφαία πολικότητα που τα χαρακτηρίζει, ενώ παράλληλα οι διακυττάρειες συνδέσεις όπως οι ζώνες πρόσφυσης, οι στενές συνδέσεις, οι χασματικές συνάψεις και τα δεσμοσώματα παύουν να υφίστανται (Radisky et al, 2007). Χαρακτηριστική είναι η μείωση της E-καντχερίνης και η αύξηση της N-καντχερίνης (χαρακτηριστικό των μεσεγχυματικών κυττάρων). Επίσης σημαντικές είναι οι αλλαγές στον κυτταροσκελετό όπου πλέον οι κυτταροκερατίνες αλλάζουν υπότυπο, ενώ τα ινίδια βιμεντίνης κάνουν την εμφάνισή τους.

Επίσης κατά την EMT ο συνδυασμός της παραγωγής των πρωτεολυτικών ενζύμων όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες και η αυξημένη κυτταρική κινητικότητα, λόγω της αναδιαμόρφωσης του κυτταροσκελετού (σχηματισμός λαμελλιποδίων και φιλοποδίων), εξηγούν την αυξημένη ικανότητα για διείσδυση και μετανάστευση των κυττάρων που υπόκεινται την EMT.

Η EMT συμμετέχει εξίσου σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές διεργασίες του οργανισμού, συνεπώς ο ρόλος της είναι πολύ σημαντικός κατά την εμβρυογένεση/μορφογένεση. Η διαδικασία EMT μετά την εμβρυογένεση ενεργοποιείται ξανά μετά από την επίδραση διαφόρων ενδογενών και εξωγενών παραγόντων σε μια σειρά παθολογικών καταστάσεων, όπως είναι η ίνωση, η επούλωση τραύματος και φυσικά η εξέλιξη της καρκινογένεσης και η μετάσταση. Αυτή η συμμετοχή της στις ασθένειες έχει οδηγήσει στην έντονη ερευνητική δραστηριότητα γύρω από αυτό το φαινόμενο (Radisky et al, 2007).

Η επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετάβαση αντιπροσωπεύει την αλλαγή του φαινότυπου των επιθηλιακών κυττάρων προς κύτταρα μεσεγχυματικού τύπου. Οι περισσότεροι ιστοί, προέρχονται από κύτταρα που έχουν υποστεί είτε επιθηλιακή προς μεσεγχυματική ή μεσεγχυματική προς επιθηλιακή μετάβαση (MET). Τα επιθηλιακά κύτταρα εμφανίζουν πολικότητα στα άκρα και

διατηρούν στενές διακυττάρειες συνδέσεις με γειτονικά τους κύτταρα μέσω μορίων προσκόλησης (cell adhesion molecules, CAMs), ο σημαντικότερος εκπρόσωπος των οποίων είναι η E-καντχερίνη. Η ανταλλαγή πληροφοριών επιτελείται μέσω ειδικών διακυτταρικών χασματικών συνδέσεων (gap junctions). Τα μεσεγχυματικά κύτταρα εμφανίζουν διακλαδώσεις με αποφυάδες και χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να διαπερνούν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται μέσω διακυττάριας επαφής που προκαλεί έκκριση ειδικών ενζύμων, που διασπών τις πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας. Τα μεσεγχυματικά κύτταρα εμφανίζουν χαλαρή οργάνωση μέσα στην τρισδιάστατη εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Τόσο τα επιθηλιακά κύτταρα έχουν την ικανότητα κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες να αλλάζουν φαινότυπο και να μετατρέπονται σε μεσεγχυματικά (EMT) όσο και τα μεσεγχυματικά κύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε επιθηλιακά (MET) (Kalluri, 2009).

Μελέτες έχουν δείξει ότι πολλές μεταστατικές αλλοιώσεις και ο πρωτοπαθής τους όγκος μοιράζονται παρόμοια επιθηλιακή φύση. Προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι μερικές μεταστάσεις από μερικά καρκινώματα, όπως ο καρκίνος του προστάτη, του μαστού, ο ορθοκολικός, ο καρκίνος του πνεύμονα και του ήπατος, μοιάζουν λιγότερο μη διαφοροποιημένα, από τους αντίστοιχους πρωτοπαθείς όγκους. Αυτά τα ευρήματα δεν είναι συμβατά με τη θεωρία της επιθηλιακής προς μεσεγχυματική μετατροπής. Για να αντιμετωπιστεί αυτή η παραδοξότητα, θεωρείται ότι η μεσεγχυματική προς επιθηλιακή μετατροπή στα μεταστατικά σημεία, αποτελεί τμήμα της διαδικασίας σχηματισμού του μεταστατικού όγκου. Η εξέλιξη των συμπαγών όγκων σχετίζεται με χωρικές και χρονικές εμφανίσεις της επιθηλιακής προς μεσεγχυματική μετατροπής, όπου τα κύτταρα των όγκων απαιτούν έναν πιο επιθηλιακό και μεταστατικό φαινότυπο.

Ακολούθως, τα διασπαρμένα μεσεγχυματικά κύτταρα του όγκου υφίστανται την αντίστροφη διαδικασία, τη μεσεγχυματική προς επιθηλιακή μετατροπή, στα σημεία των μεταστάσεων, καθώς οι μεταστάσεις αντιγράφουν την παθολογία των αντίστοιχων πρωτοπαθών όγκων. Η επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή πιστεύεται ότι είναι σημαντική για την αρχική μεταμόρφωση από καλόηθες σε επιθετικό καρκίνωμα, ενώ η μεσεγχυματική

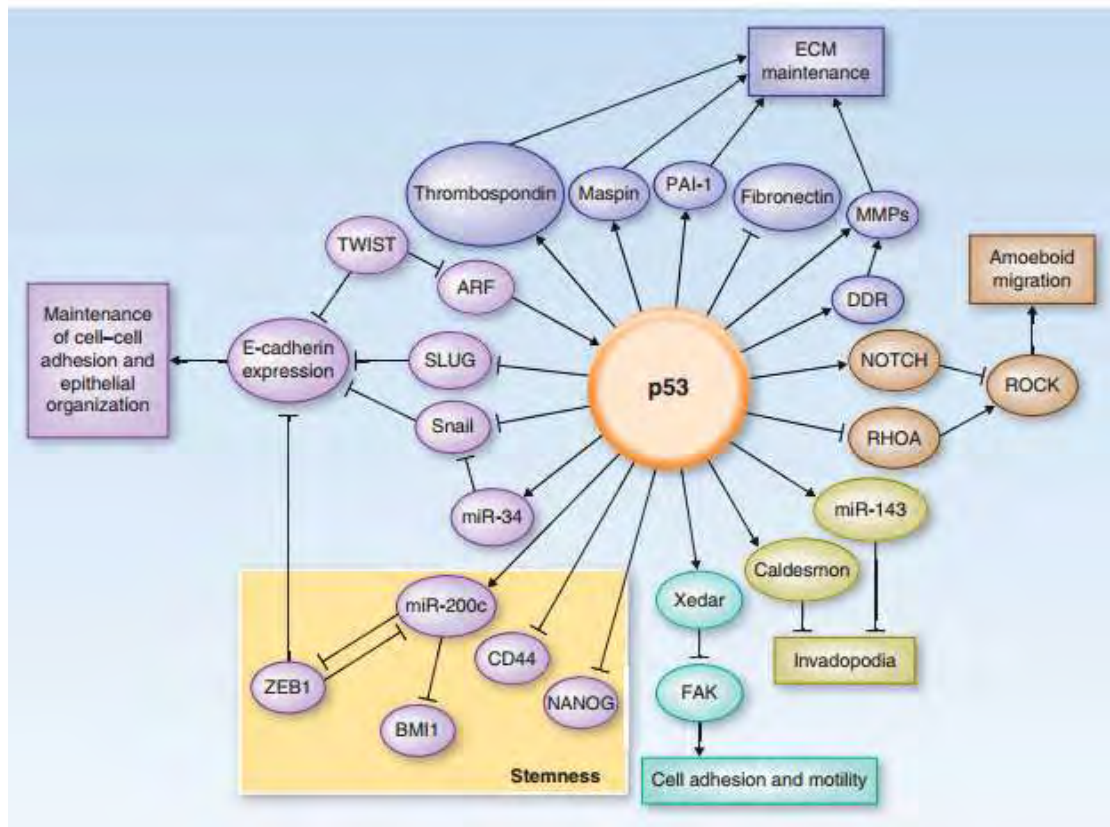
προς επιθηλιακή μετατροπή, είναι σημαντική για τα επόμενα στάδια της μετάστασης (Wells et al, 2011, Chao et al, 2010, Aokage et al, 2011, Yao et al, 2011).

Η διαδικασία μετεγκατάστασης κρύβει πολλούς κινδύνους για το κύτταρο –μετανάστη: αφού αποσπαστεί από τον πρωτοπαθή όγκο, θα πρέπει να εισβάλει σε διπλανούς ιστούς, να εισέλθει στην κυκλοφορία του αίματος ή της λέμφου, να εγκλωβιστεί στα τριχοειδή αγγεία ενός άλλου οργάνου, να εξαγγειωθεί από την κυκλοφορία και να αρχίσει να πολλαπλασιάζεται, δημιουργώντας έτσι έναν νέο όγκο.

Ένας μηχανισμός που συμβάλει στην εξάπλωση μεταστατικών όγκων είναι η παθολογική αγγειογένεση. Το κλειδί στη μετακίνηση των καρκινικών κυττάρων από τον τόπο «γέννησής» τους είναι η πρωτεΐνη JAK, που τα εφοδιάζει με την απαραίτητη ενέργεια ώστε να μπορούν να διατρέξουν τόσο μεγάλες αποστάσεις. Τα καρκινικά κύτταρα αποκολλώνται από τους όγκους και είναι απαραίτητο να κάνουν κάποιες κινήσεις «απεγκλωβισμού» οπότε χρειάζονται ενέργεια που τους τροφοδοτεί η πρωτεΐνη JAK.

Παρά τις άφθονες αποδείξεις ότι το γονίδιο p53 καταστέλλει τις μεταστατικές διαδικασίες, ωστόσο στους όγκους ποντικών, που δεν έχουν το γονίδιο αυτό, δεν γίνονται μεταστάσεις συχνά ή δεν εμφανίζουν φυσιολογικά χαρακτηριστικά (Muller, 2011), γεγονός που υποδηλώνει ότι η απώλεια p53 είναι η μόνη που μπορεί να οδηγήσει στην επεμβατική κυτταρική μετανάστευση ή νίνο. Οι περισσότερες αλλαγές του TP53 είναι παρανοηματικές μεταλλάξεις στα εξόνια 4-9, τα οποία κωδικοποιούν τον δεσμευτικό τομέα του DNA της πρωτεΐνης. Από τις μεταλλάξεις σε αυτόν τον τομέα, υπάρχει περίπου 30% πτώση εντός έξι κατάλοιπων: R175, G245, R248, R249, R273 και R282. Η εισαγωγή του TP53 μετάλλαξης (R175H ή R273H) αυξάνει τη συχνότητα εμφάνισης των άκρως μεταστατικών καρκινωμάτων σε μοντέλα ποντικού (Lang et al, 2004; Olive et al, 2004). Σε πολλούς ανθρώπινους όγκους, το p53 είναι μεταλλαγμένο έτσι ώστε να χάνει την ικανότητά του να δεσμεύει DNA και να λειτουργεί ως καταστολέας όγκου (Iwakuma et al, 2007). Ωστόσο, στοιχεία δείχνουν ότι αυτές οι μεταλλάξεις δίνουν στο p53 ένα ρόλο κέρδους-από-λειτουργία στο πλαίσιο της

ογκογένεσης, της εισβολής και της μετάστασης (Muller, 2011). Σε αντίθεση με την ικανότητα της WT p53 να καταστέλλει τους μεσολαβητές της EMT, οι μεταλλάξεις του p53 μπορεί να πράξουν μέσω TWIST ή SLUG και να προκαλέσουν μερική EMT μετατροπές, οι οποίες υποδεικνύονται από της καταστολής E-καντχερίνης (Muller, 2011; Wang et al, 2009). Οι μεταλλάξεις p53 έχει βρεθεί για τους φορείς της στόχευση γονιδίων, περιλαμβανομένων των EGR1 και MSP, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτοί μπορούν να λειτουργήσουν ως παράγοντες μεταγραφής (μέσω του N-τερματικού τομέα διενεργοποίησης) με τη δική τους σειρά των γονιδίων στόχων (Matas et al, 2001; Weisz et al, 2004; Zalcenstein et al, 2006). Ωστόσο, επειδή οι περισσότεροι p53 "hotspot" μεταλλάξεις συμβαίνουν στον τομέα δέσμωσης του DNA και εκτέμνει δέσμωσης του DNA, το συμπέρασμα αυτό πιθανόν δεν δείχνουν άμεση πρόσδεση DNA με αυτές τις μεταλλάξεις. Οι επιδράσεις του μεταλλαγμένου p53 στον μετασχηματισμό μπορεί να οφείλεται σε επιδράσεις μη μεταγραφικές. Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει ότι απαιτείται μια μεταγραφική περιοχή p53 για αυτά τα αποτελέσματα (Suad et al, 2009), και ως εκ τούτου είναι δυνατόν το μεταλλαγμένο p53 να μετατοπίζεται από μη υποστηρικτές p53. Αυτές οι μεταλλάξεις μπορούν επίσης να ασκούν τις επιδράσεις τους τροποποιώντας την λειτουργία των άλλων πρωτεϊνών, περιλαμβανομένων των μελών της p53 οικογένειας, p63 και p73 (Muller, 2011).

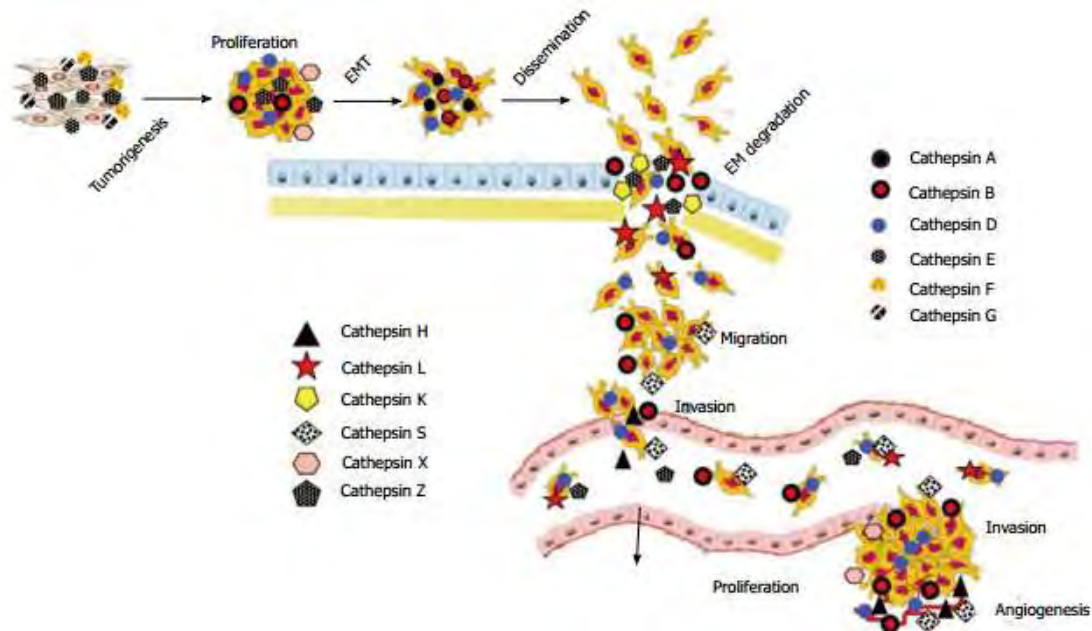


Εικόνα 13: Σηματοδοτικά μονοπάτια μετάστασης και ο ρόλος του γονιδίου p53

Η συμβολή των καθεψινών στη διαδικασία εισβολής σε ανθρώπινους καρκίνους είναι καλά τεκμηριωμένη, αν και οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους οι καθεψίνες ασκούν τη δράση τους είναι ακόμη υπό έρευνα. Κάθε μέλος καθεψίνης ασκεί διαφορετικές λειτουργίες στη διαδικασία της μετάστασης των όγκων:

1. Καθεψίνες που μπορούν να ενεργοποιήσουν άλλες πρωτεάσες, με τον τρόπο αυτό έμμεσα επηρεάζουν την εισβολή
2. Καθεψίνες που διασπούν άμεσα συστατικά του ΒΜ / ECM, όπως η λαμίνη, η ινωδονεκτίνη, η τενασκίνη-Ο και το κολλαγόνο τύπου IV, που οδηγεί σε περιορισμένη πρωτεόλυση της ECM
3. Καθεψίνες που μπορούν να απενεργοποιήσουν τις πρωτεΐνες κυτταρικής πρόσφυσης με διάσπαση της πρωτεΐνης της επιφανείας του κυττάρου E-καδερίνης, η οποία είναι το κύριο συστατικό των κόμβων adherens.

4. Καθεψίνες που μεσολαβούν στην αγγειογένεση
5. Καθεψίνες που προκαλούν EMT (Mai et al, 2002).



Εικόνα 14: Ο ρόλος των καθεψινών στη μεταστατική διαδικασία

### Φλεγμονή ως διεγέρτης EMT όγκου

Το φλεγμονώδες συστατικό είναι ένα ουσιαστικό μέρος του κακοήθους μικροπεριβάλλοντος (Mantovani, 2008). Οι Cordon-Cardo & Prives έχουν δημιουργήσει ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ χρόνιων φλεγμονώδων καταστάσεων και ογκογένεσης για δεκαετίες. Τα καρκινώματα που εμφανίζονται στο παχύ έντερο, το στομάχι, το ήπαρ και το πάγκρεας, όλα συνδέονται στενά με την ελκώδη κολίτιδα, τη χρόνια γαστρίτιδα, την ηπατίτιδα και την χρόνια παγκρεατίτιδα, αντίστοιχα, οι οποίες επεξηγούν τη στενή σχέση μεταξύ φλεγμονής και την εμφάνιση του όγκου. Στην προώθηση της καρκινογένεσης, οι όγκοι που σχετίζονται με μακροφάγα (tumor associated macrophages TAMs) και οι παράγοντες απελευθέρωσής τους (πχ IL-1, TNF-

a) είναι γνωστό ότι υποστηρίζουν όλες τις φάσεις της εισβολής και της μετάστασης.

### **Ο ρόλος της υποξίας και το οξειδωτικό στρες στην EMT**

Με βάση τις πρόσφατες εκθέσεις, η υποξία μπορεί να προταθεί ως δεύτερος παράγοντας για την έναρξη της EMT. Όταν οι όγκοι αναπτύσσονται σε ένα ορισμένο μέγεθος και τα καρκινικά κύτταρα διαιρούνται ανεξέλεγκτα, δημιουργούν μεγαλύτερους όγκους. Κατά συνέπεια, υπάρχει περιορισμένη διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου στο μικροπεριβάλλον και τα καρκινικά κύτταρα εκτίθενται σε διαλείπουσες υποξικές συνθήκες. Οι Higgins et al. έχουν αποδείξει ότι η υποξία στην EMT σε νεφρικά επιθηλιακά κύτταρα εξαρτάται από τους παράγοντες σηματοδότησης υποξίας (HIF) εν μέρει.

### **Η σχέση μεταξύ της EMT και τον φαινότυπο καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSCs)**

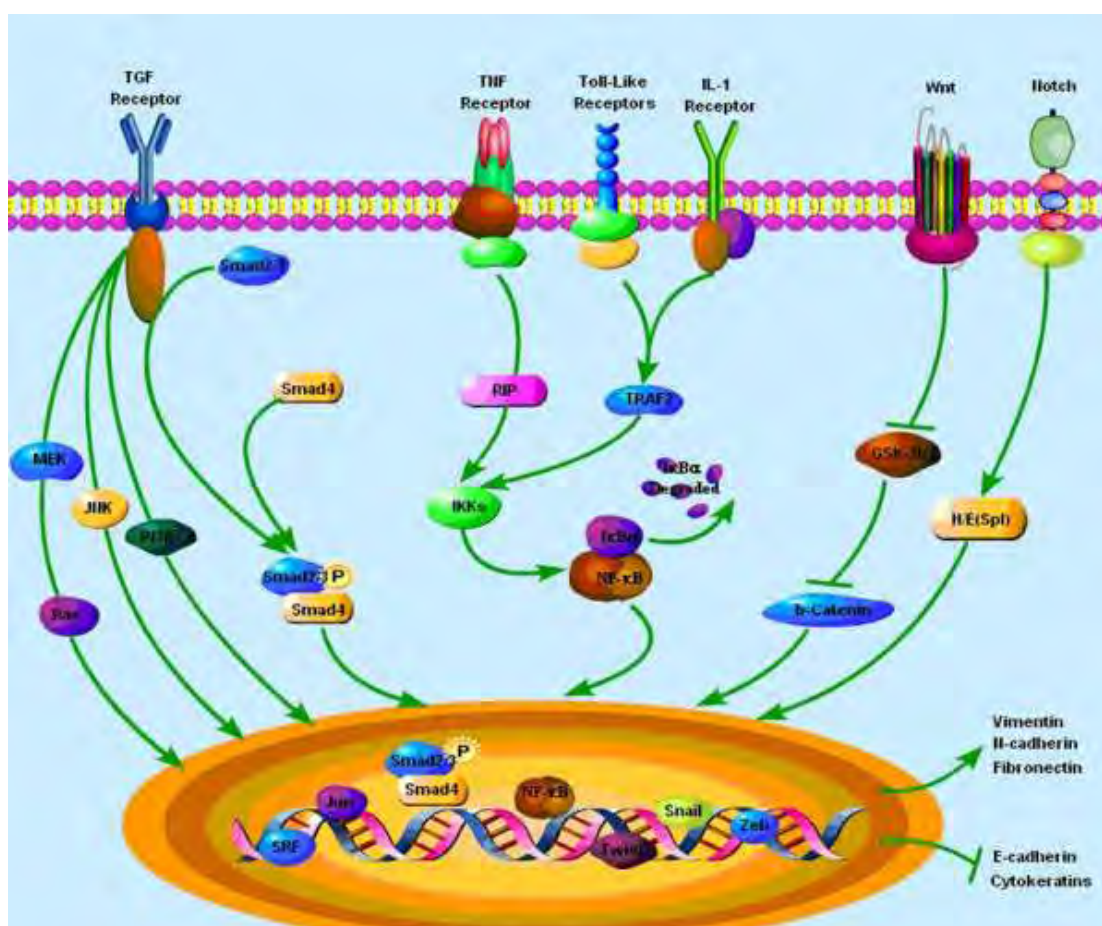
Η ύπαρξη CSCs ή κινούμενων κυττάρων όγκου με την ικανότητα να αυτοανανεώνονται και να προκαλούν διαφοροποιημένα κύτταρα όγκου, αναφέρθηκαν για πρώτη φορά από τους Dick et al. Στη συνέχεια, οι ερευνητές έχουν εντοπίσει CSCs σε πολλούς συμπαγείς όγκους που προέρχονται από το στήθος, το παχύ έντερο και τον εγκέφαλο (Al-Hajj et al, 2003; O'Brien et al, 2007; Singh et al, 2004).

### **Πολυπλοκότητα των EMT μονοπατιών σηματοδότησης στο μικροπεριβάλλον του όγκου**

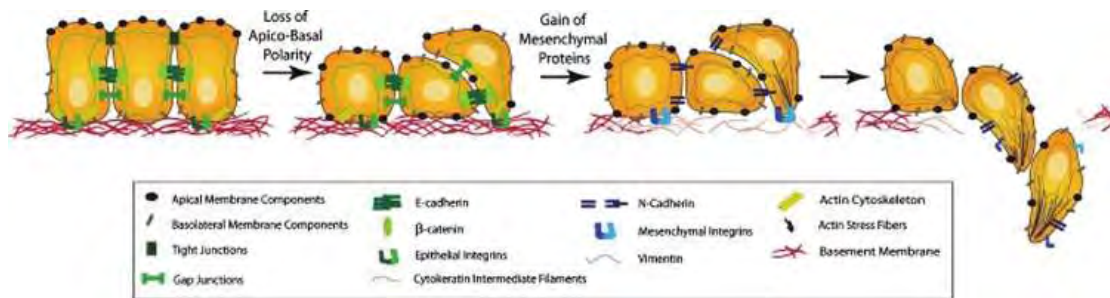
Η EMT περιγράφεται ως ένα συμβάν πολλαπλών σταδίων όπου τα επιθηλιακά κύτταρα χάνουν πολυάριθμα επιθηλιακά χαρακτηριστικά για να αναλάβουν ιδιότητες των μεσεγχυματικών κυττάρων, και οι επαγωγείς της



EMT είναι πολύπλοκοι στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Ως εκ τούτου, τα EMT μονοπάτια σηματοδότησης είναι διάφορα, συμπεριλαμβανομένων των TGF- $\beta$ , NP- $\kappa$ B, Wnt, Notch, και άλλα (Ouyang, 2010). Το σηματοδοτικό μονοπάτι της TGF- $\beta$  είναι ένας παίκτης-κλειδί στην προώθηση της εξέλιξης και μετάστασης. Ο TGF- $\beta$  επάγει τον EMT όγκο μέσω ενός Smad-εξαρτώμενου μονοπατιού μεταγραφής και ένα Smad-ανεξάρτητο μονοπάτι μεταγραφής. Σε Smad-εξαρτώμενη οδό, η σύνδεση του TGF- $\beta$  έχει αποτελέσματα ο οι TGF- $\beta$  υποδοχείς τύπου I και II να οδηγούν σε φωσφορυλίωση των Smad2 και Smad3. Πέραν των Smad οδών σηματοδότησης, ο TGF- $\beta$  ενεργοποιεί άμεσα διάφορους τύπους μη-Smad σηματοδότησης σε ορισμένους τύπους κυττάρων.



Εικόνα 15: Σηματοδοτικά μονοπάτια που ρυθμίζουν την EMT στο μικροπεριβάλλον του όγκου.



Εικόνα 16: Εννοιολογικό διάγραμμα των μεταβάσεων των κυττάρων που υποβάλλονται σε EMT

## Σημαντικοί παράγοντες μεταγραφής

### 1. Snail/Slug

Ο Snail έχει την ικανότητα να αλληλεπιδρά με έναν αριθμό οδών. Ο Yook το 2005 κατέδειξε τις β-κατενίνες σαν κανονικά μοτίβα του Snail, που έχουν ως αποτέλεσμα την GSK-3β εξαρτώμενη φωσφορυλίωση και την β-TRCP κατευθυνόμενη ουβικιτίνωση. Η Wnt σηματοδότηση βρέθηκε να αναστέλλει την φωσφορυλίωση Snail, την ουβικιτίνωση, και μετέπειτα την αποικοδόμηση, επιτρέποντάς της να συσσωρεύεται και να οδηγεί την EMT.

### 2. Twist

Οι Yang et al περιέγραψαν έναν κρίσιμο ρόλο για την έκφραση Twist στο μεταστατικό καρκίνο του μαστού, αναφέροντας ότι η αναστολή του Twist κατέληξε σε αναστολή της ικανότητας του να πραγματοποιεί μεταστάσεις στους πνεύμονες των ποντικών. Η έκτοπη έκφραση της Twist οδήγησε σε απώλεια της E-καδερίνης και σε ενεργοποίηση των δεικτών μεσεγχυματικών κυττάρων και της κινητικότητας, υποδεικνύοντας ενεργοποίηση της EMT. Τα κλινικά αυτά αποτελέσματα επαληθεύθηκαν μετά την εύρεση υψηλών επιπέδων έκφρασης Twist σε επεμβατικό λοβιακό καρκίνωμα.

### 3. Smads

Τα Smads είναι ενδιαφέροντα θέματα της έρευνας σε EMT, επειδή φαίνεται να έχουν λειτουργίες ανεξάρτητες από την TGF-β σηματοδότηση. Ο σχηματισμός των Smad συμπλοκών που αλληλεπιδρούν στο μεταγραφικό επίπεδο με παράγοντες που παραδοσιακά θεωρούνται ως μέρος άλλων οδών σηματοδότησης, είναι ένας κύριος μηχανισμός EMT ενδυνάμωσης, και επίσης μπορεί να εξηγήσει τα υψηλά μεταβλητά αποτελέσματα της TGF-β σηματοδότησης στην ογκογένεση (Fuxe et al, 2010).

#### 4. Zeb1 / 2

Παρόμοια με το διπλό αρνητικό βρόχο ανάδρασης μεταξύ Snail και miR-34 τα μέλη της οικογένειας που περιγράφονται από τη Siemens, ένας διπλός βρόχος αρνητικής ανάδρασης έχει περιγραφεί μεταξύ των ZEB1 / 2 παραγόντων μεταγραφής και των μελών της οικογένειας miR-200. Αυτό περιγράφηκε για πρώτη φορά το 2008 σε νεφρικά κύτταρα σκύλου (Bracken et al, 2008; Gregory et al, 2008).

Η οικογένεια miR-200 καταστέλλει τη ZEB1 / 2 μετάφραση, και αντιστρόφως οι πρωτεΐνες ZEB έχουν την ικανότητα να δεσμεύονται στις miR-200 τοποθεσίες, αποτρέποντας την μεταγραφή τους. Η οικογένεια miR-200 έχει περιγραφεί ότι στοχεύει άμεσα στις ZEB1 και ZEB2. Οι Korpal et al ανέφεραν ότι η έκφραση της οικογένειας miR-200 καταστέλλει την επαγόμενη TGF-β στην EMT, σε μυϊκά μαστικά επιθηλιακά κύτταρα. Η υπερέκφραση των miRNAs ως συστάδες οδήγησε σε αυξημένη έκφραση E-cadherin μέσω της άμεσης στόχευσης των ZEB1 / 2.

### **Τοπική και απομακρυσμένη μετάσταση**

Συχνά, τα καρκινικά κύτταρα διήθουν αρχικά στους εγγύτερους στον πρωτοπαθή όγκο λεμφαδένες. Οι λεμφαδένες είναι μια ομάδα οργάνων που διοχετεύουν στο κυκλοφορικό σύστημα διάφορα υγρά και, κυρίως, λεμφοκύτταρα (λευκά αιμοσφαίρια), τα οποία καταπολεμούν λοιμώξεις,

προστατεύοντας την υγιή λειτουργία του σώματος. Όταν ο πρωτοπαθής όγκος προσβάλλει γειτονικούς λεμφαδένες και όμορους ιστούς, η μετάσταση χαρακτηρίζεται τοπική (ή τοπική νόσος). Αντίθετα, όταν προσβάλλονται απομακρυσμένοι ιστοί και όργανα, η μετάσταση καλείται απομακρυσμένη και ενέχει πολύ σοβαρούς κινδύνους για την επιβίωση του ασθενή. Υπολογίζεται πως περίπου το 90% της θνησιμότητας εξαιτίας καρκίνου σχετίζεται με την ανάπτυξη απομακρυσμένης μετάστασης.

Μολονότι κάθε μορφή καρκίνου τείνει να προκαλεί μεταστάσεις σε συγκεκριμένα σημεία του σώματος (π.χ. ο καρκίνος στον προστάτη συνήθως χορηγεί μετάσταση στα οστά, και ο καρκίνος στο κόλον στο συκώτι), τα καρκινικά κύτταρα είναι σε θέση να μετεγκατασταθούν σε οποιοδήποτε σημείο του οργανισμού. Παρά ταύτα, συνήθως προσβάλλονται από μεταστατικούς όγκους τα οστά, ο εγκέφαλος, το ήπαρ (συκώτι) και οι πνεύμονες.

Περίπου 25% των καρκίνων του μαστού κάνουν μεταστάσεις αρχικά στα οστά. Οι συνηθέστερες θέσεις οστικών μεταστάσεων βρίσκονται στην σπονδυλική στήλη, τις πλευρές, το κρανίο και τη λεκάνη. Διακρίνονται δύο τύποι οστικών μεταστάσεων: οστεολυτικές και οστεοβλαστικές. Στις οστεολυτικές μεταστάσεις, η εγκατάσταση των καρκινικών κυττάρων στο οστό προκαλεί καταστροφή του ιστού και δημιουργία οπών. Συνήθως παρατηρούνται στα οστά των άκρων και της λεκάνης. Οι οστεοβλαστικές μεταστάσεις χαρακτηρίζονται από αύξηση της πυκνότητας του οστού. Ο κίνδυνος κατάγματος είναι σημαντικός τόσο στις οστεολυτικές όσο και στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις. Ο πόνος είναι κοινό και συνηθισμένο σύμπτωμα των οστικών μεταστάσεων, που επηρεάζει σημαντικά τις καθημερινές δραστηριότητες και την ποιότητα ζωής των ασθενών. Άλλες επιπλοκές είναι η υπερασβεστιαμία και η πίεση του νωτιαίου σωλήνα, που οφείλεται σε μάζες, που αναπτύσσονται στις θέσεις των μεταστάσεων των σπονδύλων. Η πίεση του νωτιαίου σωλήνα μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα κινητικές διαταραχές έως παράλυση.

Σε σημαντικό ποσοστό, που μπορεί να φθάνει το 60-70%, διαγιγνώσκονται πνευμονικές μεταστάσεις, ενώ σε ποσοστό περίπου 20% οι πνευμονικές μεταστάσεις αποτελούν την μοναδική μεταστατική εστία. Τα

βασικά συμπτώματα είναι η δύσπνοια και ο ξηρός βήχας. Η δύσπνοια συνήθως οφείλεται στην πλευριτική συλλογή υγρού, που παρατηρείται συχνά. Αρκετά συχνά οι πνευμονικές μεταστάσεις, κυρίως οι μικροζώδεις, είναι ασυμπτωματικές και διαγιγνώσκονται σε τακτικό ή τυχαίο έλεγχο με ακτινογραφία θώρακα ή με αξονική τομογραφία θώρακος.

Περίπου τα 2/3 των γυναικών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού παρουσιάζουν ηπατικές μεταστάσεις. Στην αρχή οι ασθενείς δεν παρουσιάζουν συμπτώματα. Με την πρόοδο όμως της ηπατικής νόσου, οι ασθενείς γίνονται συμπτωματικοί, με κυριότερα συμπτώματα την ανορεξία, την απώλεια βάρους, τον πυρετό και τα γαστρεντερικά ενοχλήματα. Στα πιο προχωρημένα στάδια, μπορεί να παρουσιαστεί ασκητική συλλογή και ίκτερος. Η βιοψία των ηπατικών μεταστάσεων είναι απαραίτητη τόσο για την διάγνωση όσο και για την διερεύνηση ενδεχόμενης αλλαγής του φαινότυπου (των χαρακτηριστικών του καρκίνου, όπως π.χ. οι ορμονικοί υποδοχείς), που μπορεί να παρατηρηθεί στον μεταστατικό καρκίνο.

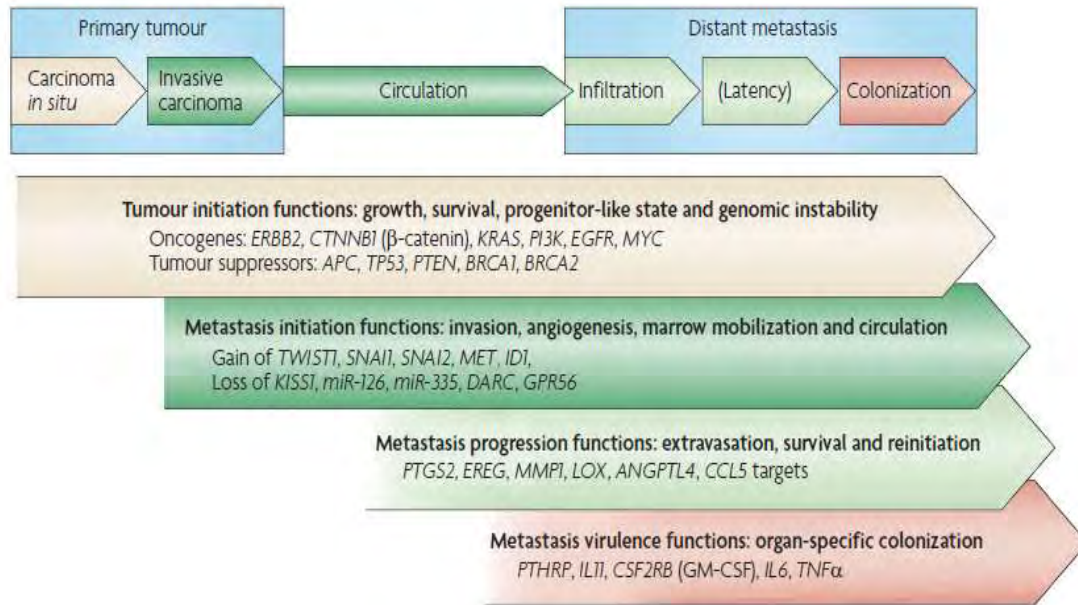
Σε περίπτωση μετάστασης και διαμόρφωσης μεταστατικού όγκου, το δευτερογενές νεόπλασμα (κακοήθης όγκος) προσδιορίζεται βάσει του πρωτοπαθούς όγκου, και όχι βάσει του σημείου που εμφανίστηκε η μετάσταση. Αν, λόγου χάρη, ένας πρωτοπαθής καρκίνος στο μαστό προκαλέσει μετάσταση στον πνεύμονα, ο νέος όγκος δε θεωρείται καρκίνος του πνεύμονα, αλλά μεταστατικός καρκίνος του μαστού στον πνεύμονα (Τζωρτζάτου, 2009).

Η διήθηση και μετάσταση στον καρκίνο είναι τα πλέον σοβαρά γεγονότα του καρκίνου. Αν έλειπε η διήθηση και η μετάσταση, ο καρκίνος θα ήταν ένα καλόηθες νόσημα. Η πορεία της διήθησης και μετάστασης είναι πολυσταδιακή, με διαδοχικά στάδια πολλαπλών αλληλεπιδράσεων μεταξύ όγκου και ξενιστή. Ο μηχανισμός που εμπλέκεται είναι πολύπλοκος. Ένα κύτταρο ή ομάδα κυττάρων πρέπει να είναι ικανά να αφήσουν τον πρωτοπαθή όγκο και να εισβάλλουν στον παρακείμενο ιστό, να επιβιώσουν σε δεύτερες θέσεις, για όσο χρόνο είναι υπό διακίνηση, να εισέλθουν στην αιματική ή λεμφική κυκλοφορία, να εγκλωβιστούν στα τριχοειδή του νέου οργάνου, να εξαγγειωθούν από την κυκλοφορία και τελικά να

πολλαπλασιαστούν και να σχηματίσουν όγκους στις απομακρυσμένες θέσεις. Η επίτευξη κάθε σταδίου μετάστασης απαιτεί συντονισμένες δράσεις ποικίλων οδών και γονιδίων σχετιζόμενων με τη μετάσταση συμπεριλαμβανομένων και των πρωτεϊνικών τυροσινικών φωσφατασών. Η ανάπτυξη νέων αγγείων συμβάλλει στην αύξηση της μετάστασης και αποτελεί σημαντικό στόχο για αντιαγγειογενετικές θεραπείες. Πρόσφατα μερικές πρωτεϊνικές τυροσινικές φωσφατάσες έχει βρεθεί να παίζουν ένα αιτιολογικό παράγοντα στη μετάσταση του καρκίνου και να προσφέρουν ένα έξοχο στόχο για θεραπευτική-ιατρική παρέμβαση (Τζωρτζάτου, 2009).

### **Χρονική πορεία της μετάστασης – διαδοχικά βήματα**

Οι νεοπλασματικοί όγκοι πρώτα περνούν από μία μη αγγειακή φάση ανάπτυξης μέχρι το μέγεθος μερικών χιλιοστών σε διάμετρο κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης, και το ίδιο έχει αναφερθεί και τους μεταστατικούς όγκους. Η μη αγγειακή φάση ανάπτυξης περιλαμβάνει μία διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα του όγκου μεταναστεύουν στους περιβάλλοντες ιστούς και αποικίζουν, χωρίς αγγειογένεση, ένα μακρινό σημείο. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, ένας μικρός αριθμός καρκινικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των προγονικών κυττάρων, που επιβιώνουν, εξέρχονται των αγγείων και αποικίζουν αλληλεπιδρώντας με τα στρωματικά κύτταρα στο συνδετικό ιστό ο οποίος περιβάλλει τα αγγεία. Τα αγγεία του όγκου, στη συνέχεια, εισβάλουν στο παρέγχυμα του οργάνου – στόχου, ακολουθούμενα από την ανάπτυξη μεταστάσεων. (Aokage et al, 2011)



Εικόνα 17: Τα βασικά βήματα της μετάστασης και οι υποθετικές κλάσεις των μεταστατικών γονιδίων

Τα βασικά στάδια της διήθησης και της μετάστασης περιλαμβάνουν τα εξής: 1) αποκόλληση των καρκινικών κυττάρων από την υπόλοιπη μάζα του όγκου αλλά και την αποσύνδεσή τους από την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία

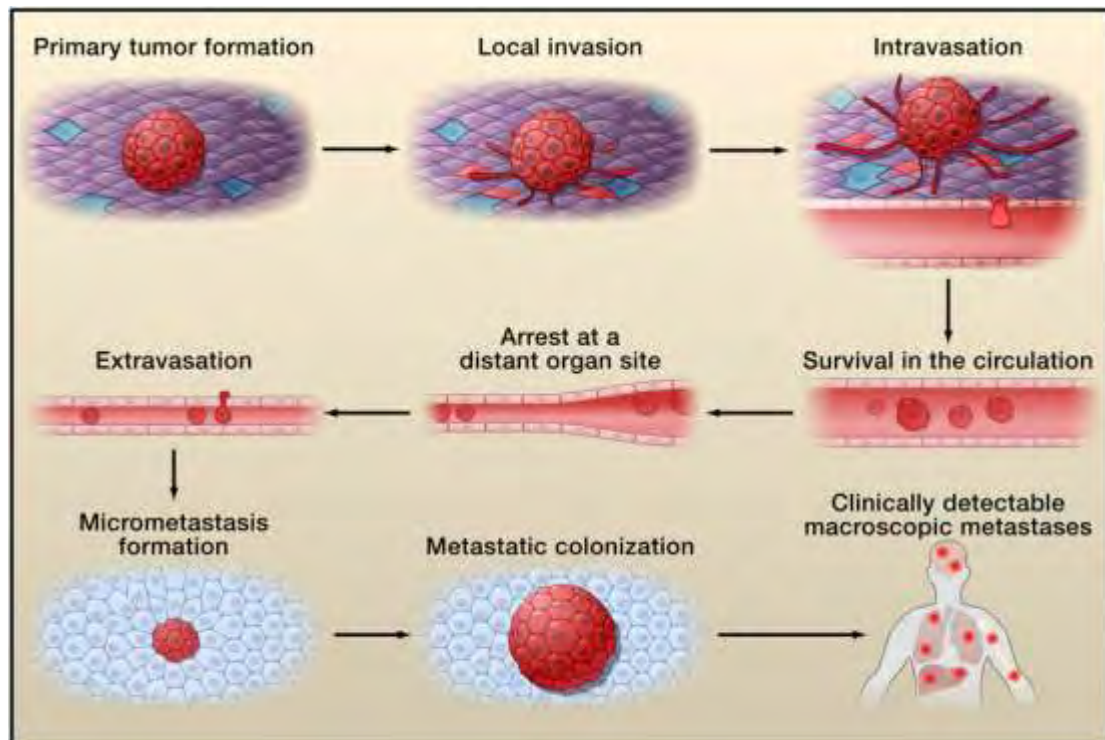
2) διήθηση στους περιβάλλοντες ιστούς και τη βασική μεμβράνη

3) είσοδος μέσα στα αιμοφόρα αγγεία, επιβίωση και μεταφορά μέσω της αιματικής κυκλοφορίας σε άλλες περιοχές του σώματος

4) μετακίνηση και έξοδος από τα αιμοφόρα αγγεία σε ένα απομακρυσμένο σημείο και

5) σχηματισμός της μεταστατικής αλλοίωσης και ανάπτυξη του μεταστατικού όγκου.





Εικόνα 18: Εισβολή- μεταστατικός καταρράκτης

Αυτά τα στάδια απαιτούν μερικούς βασικούς μηχανισμούς, όπως η αγγειογένεση, αποδόμηση των ορίων της θεμέλιας ουσίας, διάρρηξη της πρόσκολλησης κυττάρου – κυττάρου και κυττάρου θεμέλιας ουσίας και επηρεασμός της κυτταρικής κινητικότητας. Από τα γεγονότα που προαναφέρθηκαν η επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή (epithelial to mesenchymal transition) και η μεσεγχυματική προς επιθηλιακή μετατροπή θεωρούνται ως κριτικά γεγονότα για τη μετάσταση των καρκινωμάτων. Η πρόσφατη περιοχή εστίασης είναι η ιστοπαθολογική ομοιότητα μεταξύ της πρωτοπαθούς και των μεταστατικών όγκων και η μεσεγχυματική προς επιθηλιακή μετατροπή στο σημείο της μετάστασης θεωρείται ότι αποτελεί τμήμα της διαδικασίας σχηματισμού του μεταστατικού όγκου.



## Μόρια προσκόλλησης

- Ιντεγκρίνες(ανβ3= vitronectin receptor)

Οι ιντεγκρίνες είναι γλυκοπρωτεϊνικά διαμεμβρανικά μόρια τα οποία σχηματίζουν ετεροδιμερή τύπου αβ. Οι υποδοχείς αυτοί εξασφαλίζουν ετεροφιλική διασύνδεση μεταξύ κυττάρων ή κυττάρων και συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας, ενώ επιδρούν σε ποικίλα ενδοκυττάρια μηνυματοδοτικά μόρια και μονοπάτια (π.χ. μονοπάτι Ras/Map κινάσης, FAK, PTEN, AKT, Bcl-2 ), επάγοντας την κυτταρική μετανάστευση, τη διαφοροποίηση και την απόπτωση. Η συγγένεια και η ειδικότητα της σύνδεσης καθορίζεται αφενός από τον συνδυασμό διαφόρων τύπων α και β υπομονάδων και αφετέρου από την ύπαρξη ιόντων  $Ca^{+2}$  ή  $Mg^{+2}$  (Fornaro, Manes, and Languino, 2001; Tantivejkul, Kalikin, and Pienta, 2004). Ο ρόλος των ιντεγκρινών στη μεταστατική διαδικασία είναι σημαντικός σε όλα σχεδόν τα στάδια της, ανεξαρτήτως από το είδος της μετάστασης. Μέσω των ιντεγκρινών καθίστανται, εν μέρει, εφικτές διεργασίες όπως η διείσδυση των καρκινικών κυττάρων στην εξωκυττάρια ουσία, το πέρασμα διαμέσου των αγγειακών τοιχωμάτων και η προσάραξη στο ενδοθήλιο . Στις οστικές μεταστάσεις ειδικότερα μέσω των ιντεγκρινών επιτυγχάνεται η διασυνομιλία των καρκινικών κυττάρων με το οστικό μικροπεριβάλλον.

- Καντχερίνες

Οι καντχερίνες είναι διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες που συμμετέχουν σε διεργασίες όπως η κυτταρική διασύνδεση, η σηματοδότηση και η κυτταροσκελετική αγκυροβόληση. Το ενδοκυττάριο τμήμα τους, με τη συμβολή αγκυροβόλων πρωτεϊνών όπως οι κατενίνες, συνδέεται με μόρια ακτίνης του κυτταροσκελετού (Behrens, 1999). Η E καντχερίνη αποτελεί τον πιο λεπτομερώς μελετημένο τύπο καντχερίνης που έχει πρωταγωνιστικό ρόλο στην καρκινογένεση (Van Aken, and De Wever, et al, 2001).

Μελέτες έχουν επισημάνει αφενός μείωση της έκφρασής της στα στάδια αποκοπής και μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων από τον πρωτοπαθή όγκο (Braun, and Pantel, 1999; Bussemakers, and van Moorselaar, et al, 1992; Frixen, and Behrens, et al, 1991; Hashimoto, and

Niwa, et al, 1989; Mareel, and Behrens, et al, 1991) και αφετέρου επανέκφρασή της στην μεταστατική εστία (Bryden, and Freemont, et al, 1999; Bukholm, Nesland, and Borresen-Dale, 2000). Οι καρκινικές κυτταρικές σειρές οι οποίες εκφράζουν ισχυρά την E-καντχερίνη εμφανίζουν χαμηλό μεταστατικό δυναμικό ενώ το αντίθετο ισχύει για αυτές που εμφανίζουν ασθενή έκφρασή της. Επιπλέον η επαγόμενη έκφραση E-καντχερίνης στις τελευταίες οδηγεί σε αυξημένη μεταστατική ικανότητα (Choong, 2003; Mbalaviele, and Dunstan, et al, 1996). Ωστόσο πρέπει να αναφερθεί και η ύπαρξη μελετών οι οποίες δεν επιβεβαιώνουν τα παραπάνω αποτελέσματα αλλά αντίθετα υποστηρίζουν ότι όγκοι υψηλής κακοήθειας διατηρούν σε προχωρημένα στάδια την έκφραση της E-καντχερίνης (Gillett, and Miles, et al, 2001; Howard, and Lau, et al, 2005).

- CD44

Το γλυκοπρωτεϊνικό μόριο CD44 αποτελεί επιφανειακό υποδοχέα και για το υαλουρονικό οξύ (Υ.Α.) και για ποικιλία πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας, όπως η οστεοποντίνη. Όπως και άλλα προσκολλητικά μόρια, το CD44 συμμετέχει σε διάφορες διεργασίες του κυττάρου, όπως είναι η ενδοκυττάρια σηματοδότηση και η ρύθμιση του κυτταροσκελετού.

- Σελεκτίνες

Οι σελεκτίνες είναι μια μικρή ομάδα πολυπεπτιδικών μορίων προσκόλλησης, που αποτελείται από τις E-, P- και L- σελεκτίνες. Έχουν επαγόμενη, παροδική έκφραση και επιτρέπουν ασθενή διασύνδεση. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζεται κυρίως η E-σελεκτίνη και υπό φυσιολογικές συνθήκες κατέχει κεντρικό ρόλο στην αλληλεπίδραση λευκοκυττάρων κ.α. κύτταρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η σύνθεσή της εξαρτάται από παράγοντες όπως ο TNF-α και η IL1-β και οι κυριότεροι συνδέτες της είναι οι ολιγοσακχαρίτες (Gassmann et al, 2004)

- Λαμνίνη

Η λαμινίνη αποτελείται από 11 ισομορφές από ετεροτριμερή μόρια αλυσίδων  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (Burgeson, and Chiquet, et al, 1994) . Η λαμινίνη 5 συμμετέχει στην πρόσφυση των κερατινοκυττάρων στη βασική μεμβράνη εντός της δερμο-επιδερμικής σύναψης αλληλεπιδρώντας με τις ιντεγκρίνες  $\alpha 3 \beta 1$  και  $\alpha 6 \beta 4$ . Με αυτό τον τρόπο συμβάλλουν στην επιθήλιο – μεσεγγυματική διασύνδεση.

- CXCR4 και SDF-1

Οι χημοκίνες της ομάδας CXC χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη στο αμινοτελικό τους άκρο δύο καταλοίπων κυστίνης μεταξύ των οποίων παρεμβάλλεται ένα αμινοξύ. Σχετικά με τις οστικές μεταστάσεις ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχει επικεντρωθεί στον υποδοχέα CXCR4 και τον συνδέτη του SDF-1 (CXCL12), ο οποίος ενέχεται φυσιολογικά σε ένα σύνολο διεργασιών με κοινό χαρακτηριστικό την καθοδήγηση κυττάρων σε συγκεκριμένα όργανα. Μέσω της ενεργοποίησης ενδοκυττάρων μονοπατιών συνεισφέρουν μεταξύ άλλων στην μετανάστευση των HPC στον μυελό των οστών. Ο SDF-1 εκκρίνεται από τους οστεοβλάστες, το ενδοθήλιο και τους ινοβλάστες του μυελού των οστών (Ponopaygon T., et al, 2000), ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι το ενδοθήλιο του μυελού των οστών είναι το μόνο ενδοθήλιο που τον εκκρίνει (Imai, and Kobayashi, et al, 1999).

- IL-8

Η IL-8 είναι μια χημοκίνη η οποία παράγεται από ποικιλία κυττάρων και απελευθερώνεται κατά την κυτταρική βλάβη, τη φλεγμονή και άλλες παθολογικές καταστάσεις (Sozzani, and Locati, et al, 1996).

- IL-6

Η IL-6 είναι μια πλειοτροπική κυτταροκίνη η οποία ρυθμίζει τις ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αντιδράσεις, τη σύνθεση πρωτεϊνών οξείας φάσης από το ήπαρ και τον μεταβολισμό των οστών.

## **Ο ρόλος των κυτταροκινών**

Οι κυτταροκίνες είναι μικρού μοριακού βάρους, συχνά γλυκοζυλιωμένες πρωτεΐνες. Αν και δομικά παρουσιάζουν εξαιρετική ποικιλία μοιράζονται ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά:

α) συμμετέχουν στην εκτελεστική φάση τόσο της ειδικής όσο και της επίκτητης ανοσίας,

β) κάθε κυτταροκίνη παράγεται από πολλαπλούς κυτταρικούς τύπους,

γ) οι δράσεις τους είναι συχνά πλειοτροπικές και μη αποκλειστικές (με τον όρο πλειοτροπισμός, αναφέρεται η ικανότητα κάθε κυτταροκίνης να δρα σε ποικίλους διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους προκαλώντας διαφορετικές βιολογικές δράσεις),

δ) δρουν ανταγωνιστικά, προσθετικά ή συνεργικά και

ε) η δράση τους είναι αυτοκρινής, ενδοκρινής ή παρακρινής (Abbas & Lichtman, 2003).

## **miRNAs και καρκίνος**

Τα μικροRNA (miRNA) είναι μικρά ενδογενώς εκφραζόμενα μη κωδικοποιητικά RNAs, αποτελούμενα από 20-22 νουκλεοτίδια, τα οποία ρυθμίζουν πολλαπλούς στόχους μετά την αντιγραφή. Τα miRNA ρυθμίζουν τις περισσότερες φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες, τις οποίες περιλαμβάνεται η εξέλιξη του μεταστατικού όγκου. Αυτό το πετυχαίνουν, εν μέρει, ελέγχοντας μία αναστρέψιμη διεργασία, η οποία ονομάζεται επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή, η ενεργοποίηση της οποίας αυξάνει τις μεταναστευτικές και επιθετικές ιδιότητες για τη διασπορά των καρκινικών κυττάρων. Από την άλλη μεριά η αντίστροφη διαδικασία, η μεσεγχυματική προς επιθηλιακή μετατροπή, είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του

μεταστατικού όγκου. Η ενεργοποίηση της επιθηλιακής προς μεσεγχυματικής μετατροπής οδηγεί στην ενεργοποίηση παραγόντων αντιγραφής της (SNAIL1/SNAIL2, bHLH (E47, E2-2, and TWIST1/TWIST2) και ZEB1/ZEB2), που δρουν ως καταστολείς της επιθηλιακής καντερίνης (E-cadherin) και, εν τέλει ρυθμίζουν την όλη μετατροπή. Πρόσφατη έρευνα κατέδειξε ότι αρκετά miRNAs ρυθμίζουν την επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή. (Díaz-Lopez et al, 2014)

Τα miRNAs είναι πολύ σημαντικά τόσο για την ανάπτυξη των βλαστοκυττάρων, όσο και για την παθογένεση του καρκίνου. Έτσι, εντατικές έρευνες που λαμβάνουν χώρα τα τελευταία χρόνια αφορούν στο ρυθμιστικό ρόλο τους στην αυτο-ανανέωση, στον πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων. Τα miRNAs δρουν τόσο ως ογκοκατασταλτικά γονίδια, όσο και ως ογκογονίδια. Συγκεκριμένα πρότυπα έκφρασης miRNAs έχουν περιγραφεί σε αρκετούς τύπους καρκίνου. Παρά το γεγονός ότι δεν είναι απολύτως σαφές αν η απορρυθμισμένη έκφραση των miRNAs είναι μια αιτία ή ένα αποτέλεσμα της καρκινικής κατάστασης, η σημασία των ρυθμιστικών αυτών μορίων στον καρκίνο είναι πλέον εμφανής.

Για τα miRNAs που δρουν ως ογκοκατασταλτικά γονίδια, ελαττωμένη έκφρασή τους στα καρκινικά βλαστοκύτταρα οδηγεί σε ενίσχυση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Αυτά τα miRNAs φυσιολογικά ρυθμίζουν την απόπτωση, τη διαφοροποίηση και την αυτο-ανανέωση.

Η EMT ενεργοποίηση οδηγεί στην ενεργοποίηση ενός πυρήνα των παραγόντων μεταγραφής (EMT-TP) - SNAIL1 / SNAIL2, bHLH (E47, E2-2, και TWIST1 / TWIST2), και ZEB1 / ZEB2 - που δρουν ως καταστολείς E-καδερίνης και, τελικά, συντονίζει την EMT. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι αρκετά miRNAs ρυθμίζουν την έκφραση της EMT-TP ενεργοποιώντας οδούς σηματοδότησης. Είναι ενδιαφέρον ότι ορισμένα miRNAs και κάποιες μορφές EMT-TFs είναι άρρηκτα συνδεδεμένα με αρνητικούς βρόχους ανάδρασης που ελέγχουν την πλαστικότητα των επιθηλιακών κυττάρων, παρέχοντας αυτοτροφοδοτούμενα σήματα και ευρωστία για να διατηρηθεί το καθεστώς των επιθηλιακών κυττάρων. Μεταξύ των πιο σημαντικών βρόχων ανάδρασης,

έχουμε επικεντρωθεί στην ZEB / miR-200 και τα SNAIL1 / miR-34 δίκτυα που κατέχουν μια σαφή επίδραση στη ρύθμιση του επιθηλίου.

Μερικά miRNAs δεν εμπλέκονται άμεσα στη ρύθμιση του EMT-TF, αλλά είναι σημαντικά για τη μεταστατική διάδοση, την καταστολή ή την προώθηση της μετάστασης. Ένα σημαντικό κατασταλτικό miRNA είναι το miR-335, το οποίο στοχεύει στην προώθηση της μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων, την εισβολή και τη μετάσταση. Η προς τα κάτω ρύθμιση των miR-206 και miR-126 βρέθηκε να συσχετίζεται με την μεταστατική υποτροπή σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού (Zhang et al, 2011).

Πολυάριθμες πρόσφατες αναφορές υπογραμμίζουν μια σύνδεση μεταξύ p53 και EMT μέσω της διαφοροποίησης ορισμένων miRNAs που ρυθμίζουν το EMT-TP σε διαφορετικά μοντέλα όγκου. Η p53 έχει αναφερθεί για τη διατήρηση του επιθηλιακού φαινοτύπου ενισχύοντας τη miR-34 έκφραση και ακολούθως καταστέλλοντας το SNAIL1. Μια μεταλλαγμένη μορφή του p53 είναι σε θέση να αυξήσει την miR-34 έκφραση. Μια παρόμοια κατάσταση παρουσιάζεται στα καρκινώματα του ενδομητρίου. Τέλος, είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα miR-130b ζουν περισσότερο (Kim et al, 2011).

Δεδομένου ότι η έκφραση EMT-TF θα πρέπει να ρυθμίζεται από διαφορετικά miRNAs με δυναμικό τρόπο κατά τη διάρκεια της μεταστατικής διαδικασίας, η miRNA CpG υπερμεθυλίωση προαγωγέα έχει αναδειχθεί ως ένας νέος μηχανισμός για την αύξηση των χαρακτηριστικών των μεσεγχυματικών κυττάρων όγκου λόγω των ειδικών καταστολέων miRNA (Zhang et al, 2011).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο

### Μεταστατικός τροπισμός

#### Εισαγωγή

Ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό της μετάστασης είναι ότι ο εντοπισμός της δεν συμβαίνει τυχαία, αλλά σε επιλεγμένες προτιμώμενες θέσεις. Το μοτίβο της κυκλοφορίας του αίματος παρέχει μόνο μια μερική εξήγηση για τον αποικισμό σε ειδικά όργανα με μεταστατικούς καρκίνους που παρατηρήθηκαν σε ασθενείς (Sethi et al, 2011). Για παράδειγμα, ο καρκίνος του μαστού συχνά κάνει μετάσταση στους πνεύμονες, στα οστά, το ήπαρ και τον εγκέφαλο, δηλαδή σε όλες τις θέσεις που δεν έχουν άμεσες αγγειακές συνδέσεις με τον ιστό του μαστικού αδένου.

Αντίθετα, η μεταστατική έκφυση απαιτεί ένα σωστό μικροπεριβάλλον όπου τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να επιβιώσουν, να ξεκινήσουν τον πολλαπλασιασμό τους και να δημιουργήσουν μια νέα μάζα όγκου. Αυτή η ιδέα δεν είναι καινούργια, δεδομένου ότι ο Stephen Paget την πρότεινε ήδη το 1889 ως την υπόθεση «ο σπόρος και το έδαφος». Αυτός υπέθεσε ότι ένας επιτυχής αποικισμός στο δευτερεύον όργανο εξαρτάται από τις εγγενείς ιδιότητες του ίδιου του κυττάρου του όγκου («σπόρος») και έναν ανεκτικό και υποστηρικτικό ρόλο του περιβάλλοντος («έδαφος»), τα οποία συνεργάζονται για να επιτρέψουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό (Shibue et al, 2011). Η πρώτη πειραματική απόδειξη κάτω από την ιδέα ότι ο καρκίνος δεν εξαπλώνεται τυχαία δόθηκε πολύ αργότερα από τον Isaiah Fidler το 1973, ο οποίος έδειξε ότι διαφορετικοί υποπληθυσμοί των καρκινικών κυττάρων απομονώθηκαν από δείγματα του ίδιου ασθενούς με καρκίνο και εγχύθηκαν σε ποντίκια με την ίδια διαδρομή, εμφάνισαν διακριτικά μοτίβα αποικισμού στο όργανο.

Τέσσερις δεκαετίες μεταγενέστερων μελετών, αποκάλυψαν αρκετές μοριακές πτυχές που διέπουν τον μεταστατικό τροπισμό και τον εντοπισμό μεσολαβητών της απόφυσης συγκεκριμένου χώρου. Ειδικότερα, έχουν αναγνωρισθεί τα γονίδια των οποίων η έκφραση μεσολαβεί συγκεκριμένα στον μεταστατικό αποικισμό του καρκίνου του μαστού προς τα οστά, τον πνεύμονα

και τον εγκέφαλο (Bos et al, 2009). Αυτά τα γονίδια ενορχηστρώνουν το συγκεκριμένο πρότυπο οργάνου της μεταστατικής εξάπλωσης ξεπερνώντας τις ασυμβατότητες μεταξύ των εγγενών χαρακτηριστικών των καρκινικών κυττάρων και τα "εμπόδια" που επιβάλλονται από το ξένο μικροπεριβάλλον.

Ο μεταστατικός τροπισμός συνεπάγεται ξεχωριστά προσαρμοστικά προγράμματα που καθορίζονται από το όργανο στο οποίο ο μεταστατικός αποικισμός και η έκφυση λαμβάνουν χώρα, όπως επίσης και από τον ιστό προέλευσης των μεταστατικών κυττάρων. Αυτή η διπλή-πολύπλευρη λειτουργία του μεταστατικού τροπισμού μπορεί να εξηγήσει γιατί τα καρκινικά κύτταρα του μαστού κάνουν μεταστάσεις σε διάφορα όργανα, όπως πνεύμονες, οστά, ήπαρ ή εγκέφαλο.

Ωστόσο, οι μηχανισμοί μετάστασης σε ειδικά όργανα δεν είναι καθολικοί. Διαφορετικοί καρκίνοι, όπως του μαστού, του προστάτη ή του πνεύμονα, μπορεί να υφίστανται μετάσταση στο ίδιο όργανο-στόχο για την ανάπτυξη διαφόρων μοριακών προγραμμάτων και την ενεργοποίηση διακριτών οδών σηματοδότησης. Οι πλειοτροπικοί μηχανισμοί του μεταστατικού αποικισμού μπορεί να ερμηνευθούν ως το αποτέλεσμα του προτύπου των συσσωρευμένων γενετικών τροποποιήσεων στα καρκινικά κύτταρα που απαιτούνται για την πρωτογενή ανάπτυξη και διάδοση του όγκου και τις συμπληρωματικές τροποποιήσεις που απαιτούνται για την επιτυχή επιβίωση και ανάπτυξη σε ξένο περιβάλλον.

Λειτουργίες που έχουν ήδη αποκτηθεί κατά την πρωτογενή ανάπτυξη του όγκου δεν θα χρειαστεί να αποκτώνται και πάλι κατά τη διάρκεια της μετάστασης και μπορεί συνεπώς να αποφύγουν τον εντοπισμό και τα προ-μεταστατικά γονίδια, αν και αυτά είναι λειτουργικά. Αυτή η πολλαπλότητα περιπλέκεται περαιτέρω εξαιτίας διαφορετικών χρονικών μοτίβων της μετάστασης. Για παράδειγμα, ορισμένα τέτοια καρκινώματα όπως του πνεύμονα ή του παγκρέατος, μπορούν να σχηματίσουν μεταστάσεις σε μια σχετικά σύντομη χρονική περίοδο, ενώ άλλα καρκίνωμα, όπως του μαστού, συχνά χρειάζονται χρόνια για να δημιουργήσουν μεταστάσεις. Αυτό υποδηλώνει ότι κάποιοι τύποι καρκινικών κυττάρων, όπως πάγκρεας, μπορεί να προσαρμοστούν ταχέως στο ξένο μικροπεριβάλλον, ενώ άλλοι τύποι



καρκινικών κυττάρων, όπως του μαστού, απαιτούν περισσότερο χρόνο για την ενεργοποίηση των προγραμμάτων για την επίτευξη του ίδιου αποτελέσματος (Yachida et al, 2010).

Λαμβάνοντας υπόψη τη γενετική αστάθεια των καρκινικών κυττάρων, και το γεγονός ότι μόνον ένας μικρός υπο-πληθυσμός είναι σε θέση να ξεπεράσει τα πολλαπλά εμπόδια στην διαδρομή προς τη μετάσταση, είναι πιθανό ότι σε κάθε στάδιο της διαδικασίας ορισμένα κρίσιμα γονίδια τροποποιούνται είτε μέσω μεταλλάξεων (π.χ. ενίσχυση, μετατόπιση ή απώλεια της ετεροζυγωτίας), ή μέσω μεταγραφικής ρύθμισης, συμπεριλαμβανομένων των επιγενετικών τροποποιήσεων (Nguyen et al, 2009).

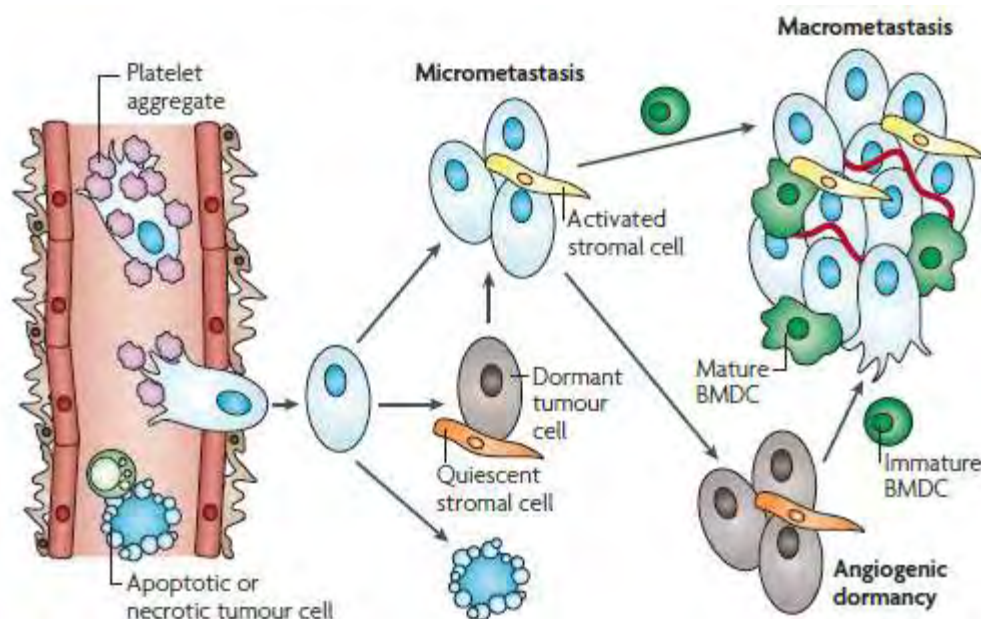
### **Οι λεμφαδένες και ο μυελός των οστών στην διάδοση των καρκινικών κυττάρων**

Όταν τα καρκινικά κύτταρα αφήνουν το κύριο όγκο, δεν μπορούν αμέσως να εγκατασταθούν σε άλλες περιοχές για μελλοντική μετάσταση. Αντιθέτως, διαδίδονται σε άλλα μικροπεριβάλλοντα, δηλαδή στους λεμφαδένες και το μυελό των οστών. Παρά το γεγονός ότι η παρουσία των κυττάρων όγκου στους περιφερειακούς λεμφαδένες κόμβων είναι ένα από τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του σταδίου πολλών κοινών μορφών καρκίνου, ωστόσο παραμένει αμφιλεγόμενη ως προς το αν τα καρκινικά κύτταρα στην πραγματικότητα κάνουν μεταστάσεις σε άλλα όργανα από τους λεμφαδένες ή αν η παρουσία των κυττάρων όγκου σε λεμφαγγεία αντανακλά απλώς την εγγενή τους εισβολή (Das et al, 2008).

Η διαδικασία εισβολής των καρκινικών κυττάρων στα λεμφαγγεία είναι διαφορετική από εκείνη που απαιτείται για την έναρξη της κυκλοφορίας του αίματος, καθώς δεν υπάρχουν μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων στενές συνδέσεις, ούτε κάποια ανέπαφη βασική μεμβράνη για να διασχίσουν (Saharinen et al, 2004), και γι' αυτό έχουν θεωρηθεί ως κάτι περισσότερο από έναν παθητικό μηχανισμό.

Οι λεμφαδένες έχουν προταθεί για να λειτουργήσουν ως γέφυρες, ή ως ένας ενδιάμεσος τύπος, όπου τα καρκινικά κύτταρα διηθούνται και συμπυκνώνονται σε ένα περιορισμένο χώρο που τους αναγκάζει να συσσωματώνονται, και, κατά συνέπεια, αυξάνει την επιβίωση (Sleeman et al, 2000). Η λεμφαδένας μπορεί έτσι να παρέχουν ένα υποστηρικτικό περιβάλλον στο οποίο τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν πρόσθετες μεταλλάξεις που αυξάνουν τη μεταστατική τάση τους.

Ομοίως, έχει προταθεί ότι το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών μπορεί να εξυπηρετεί μια παρόμοια λειτουργία για να επιλέξει και να εμπλουτίσει τα καρκινικά κύτταρα, τα οποία στη συνέχεια αναπτύσσουν την ικανότητα να εγκαθίστανται και σε άλλα όργανα (Pantel et al, 2004. Klein et al, 2006). Ο μυελός των οστών, ειδικότερα, μπορεί να παρέχει ένα μοναδικό υποστηρικτικό περιβάλλον στρωματικά, δεδομένης της κρίσιμης σημασίας των κογχών του μυελού των οστών σε αιμοποιητική συντήρηση 57 βλαστικών κυττάρων. Αυτά είναι ελκυστικά σε υποθέσεις ότι θα μπορούσαν να προσφέρουν μια εξήγηση για αρκετές γονιδιωματικές μελέτες που δείχνουν περιορισμένες ομοιότητες μεταξύ των πρωτογενών όγκων και τη διάδοση των κυττάρων (Klein et al, 2002). Ωστόσο, μέχρι σήμερα υπάρχουν λίγα πειραματικά στοιχεία που να υποστηρίζουν έναν απαιτούμενο ρόλο για μεταβατικά στρωματικά μικροπεριβάλλοντα του μεταστατικού καταρράκτη.



Εικόνα 19: Η τύχη των κυττάρων του όγκου στο μεταστατικό μικροπεριβάλλον. Μετά την ενδοαγγείωση των κυττάρων του καρκίνου, μια σειρά από βήματα περιορισμού του ρυθμού μπορούν να επηρεάσουν την ικανότητα αυτών των κυττάρων για δημιουργία δευτερογενών όγκων. Σε κάθε στάδιο, τα κύτταρα όγκου μπορούν να ικανοποιούν πολλές διαφορετικές τύχες (όπως θάνατο, λήθαργο ή επιβίωση), οι οποίες μπορούν να διαμορφωθούν από τους παράγοντες του μικροπεριβάλλοντος, συμπεριλαμβανομένων της θωράκισης από συσσωματώσεις αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία, της ενεργοποίησης των στρωματικών κύτταρων, και της πρόσληψης και διαφοροποίησης των κύτταρων που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BMDCs).

### **Μετάσταση στα οστά: ένα εξειδικευμένο μικροπεριβάλλον**

Η πυκνότητα στο φυσιολογικό οστό ρυθμίζεται δυναμικά από τις συντονισμένες ενέργειες των οστεοβλαστών που καθορίζουν τα οστά, και τους οστεοκλάστες που υποβαθμίζουν τα οστά (Bussard et al, 2008). Οι μεταστατικές βλάβες στα οστά συνήθως κατατάσσονται ως οστεολυτικές ή οστεοβλαστικές (Bussard et al, 2008. Mundy & Edwards, 2007). Ωστόσο, αυτό είναι πιθανώς μία υπερβολικά άκαμπτη ταξινόμηση, καθώς περίπου το 25% των καρκίνων προκαλούν τον αντίθετο τύπο βλάβης (Mundy, 2002). Η οστεοκλαστική καταγωγή ρυθμίζεται από τον παράγοντα διέγερσης αποικιών 1 (CSF1) που ενεργεί για οστεοκλαστικά-μυελοειδή προγονικά κύτταρα στο μυελό των οστών που διαφοροποιούνται περαιτέρω σε ώριμους οστεοκλάστες υπό την επίδραση του υποδοχέα ενεργοποιητή του NP-KB συνδέτη (RANKL, επίσης γνωστό ως TNFSF11) που εκφράζεται σε οστεοβλάστες (Bussard et al, 2008 . Mundy, 2007. Leibbrandt & Penninger, 2008)

Ο CSF1 παράγεται επίσης από οστεοβλάστες και η δράση του RANKL αναστέλλεται από το οστεοπροτεγερίνη διαλυτού υποδοχέα RANKL (επίσης γνωστό ως TNFRSF11B), ο οποίος συντίθεται από το ίδιο κύτταρο, εξασφαλίζοντας έτσι τη σφιχτή ρύθμιση της γενεαλογίας (Leibbrandt & Penninger, 2008. )

Η μήτρα των οστών είναι πλούσια από απορροφητικούς παράγοντες ανάπτυξης. Αυτοί οι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων του αυξητικού παράγοντα 1 της ινσουλίνης, του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα-β (TOPβ) και τις οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες που μπορούν να δράσουν κατά των μεταστατικών κυττάρων, ενισχύουν την επιβίωση και την ανάπτυξη τους, τονώνοντας παράλληλα την περαιτέρω σύνθεση PTHrP (Parathyroid hormone-related protein- Παραθυρεοειδή πρωτεΐνη που σχετίζεται με ορμόνη) (Mundy, 2002. Mundy , 2007). Αυτό δημιουργεί ένα θετικό κύκλο ανάδρασης αυξημένης απώλειας οστικής μάζας και αυξημένης ανάπτυξης των μεταστατικών κυττάρων (Mundy, 2002). Επιλέγοντας τα κύτταρα του καρκίνου του μαστού που εγκαθίστανται στα οστά αποκαλύπτεται μια μορφή έκφρασης του γονιδίου που ορίζει αυτόν τον τροπισμό, η οποία περιλαμβάνει τη ρύθμιση του υποδοχέα χημειοκίνης CXCR4 (CXCR4), την οστεοποντίνη, τη μήτρα μεταλλοπρωτεΐνωση 1 και τις μεταγραφές της ιντερλευκίνης 11 (IL-11) (Kang, 2003).

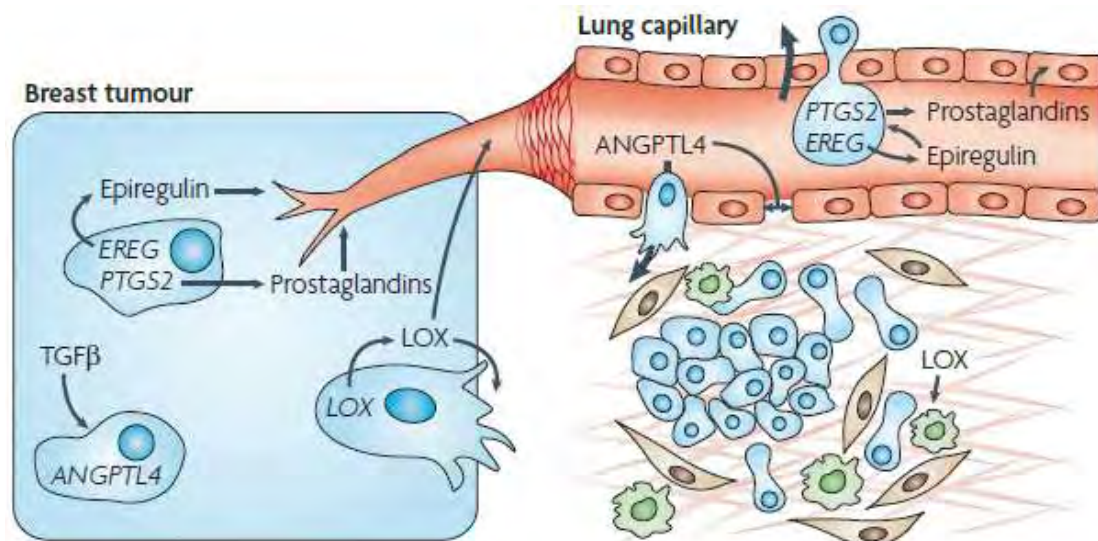
Το στρώμα του μυελού των οστών είναι μια πλούσια πηγή από τον στρωματικό παράγοντα κύτταρων 1 (SDF1, επίσης γνωστό και ως CXCL12) που μπορεί να συμβάλει σε αυτόν τον τροπισμό με σηματοδότηση μέσω CXCR4 και, μόλις τα μεταστατικά κύτταρα φθάσουν, η σύνθεση IL-11 θα ενεργοποιήσει τους οστεοκλάστες (Mundy, 2002) και η μήτρα μεταλλοπρωτεϊνών θα οδηγήσει σε περαιτέρω απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων που προκαλούν έναν παρόμοιο μηχανισμό θετικής ανάδρασης για την προώθηση της μεταστατικής ανάπτυξης.

### **Μεσολαβητές μετάστασης στον πρωτογενή όγκο**

Η έκφραση των γονιδίων του πρωτογενούς όγκου που μεσολαβούν στις μεταστατικές δραστηριότητες φαίνεται παράδοξη. Πώς θα μπορούσε ένα γονίδιο που έχει μια συγκεκριμένη λειτουργία σε ένα μακρινό όργανο να επιλεγεί πριν τα πρωτογενή κύτταρα όγκου εκτεθούν στις επιλεκτικές πιέσεις του μοναδικού μικροπεριβάλλοντος;

Η έκφραση των γονιδίων έναρξης της μετάστασης σε πρωτοπαθείς όγκους οδηγείται από την ανάγκη για κινητικότητα των κυττάρων, για εισβολή και για αγγειογένεση κατά την απόφυση πρωτογενών όγκων, καθώς και την επακόλουθη έκφυση των μακρινών μεταστάσεων. Ωστόσο, η χαρακτηριστική έκφραση της εξέλιξης των γονιδίων μετάστασης σε πρωτογενείς όγκους έχει πιο σύνθετη βάση. Όταν εκφράζεται σε καρκινικά κύτταρα που εισέρχονται στην κυκλοφορία, αυτό το σύνολο των γονιδίων επίσης αυξάνει την ικανότητα των κυττάρων να διαδίδονται μέσα στο πνευμονικό παρέγχυμα (Gupta, 2007). Αυτά τα γονίδια της προόδου της μετάστασης εκφράζονται σε ένα πρωτογενή όγκο επειδή υποστηρίζουν την ανάπτυξη του όγκου μέσα από μια ιδιαίτερη επίδραση, ενώ ενισχύουν τη μακρινή μετάσταση μέσω άλλου αποτελέσματος.

Σε άλλες περιπτώσεις, η έκφραση των προ-μεταστατικών γονιδίων σε πρωτογενή όγκο μπορούσε να είναι ένα από τα πολλά γεγονότα που δεν συμβάλλουν στην πρωτογενή ογκογένεση. Για παράδειγμα, η έκφραση αυτών των γονιδίων θα μπορούσε να είναι μέρος μιας συνολικής απάντησης στις κυτοκίνες στο μικροπεριβάλλον του όγκου (Σχήμα 2).



Εικόνα 20: Εξέλιξη μεταστατικών γονιδίων που εκφράζονται στον πρωτογενή όγκο. Οι μεσολαβητές της μετάστασης μπορούν να έχουν διπλή λειτουργία που παρέχει τόσο ένα τοπικό πλεονέκτημα για κακοήγη εξέλιξη στον πρωτογενή όγκο και ένα απώτατο πλεονέκτημα για διείσδυση σε ένα συγκεκριμένο όργανο, όπως του πνεύμονα σε έναν ασθενή με καρκίνο του μαστού. Η έκφραση των γονιδίων όπως επιρεγουλίνη (ereg) και

προσταγλανδίνη G/H συνθάση 2 (PTGS2) προάγει τριχοειδή συναρμολόγηση από ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα στο μαστικό όγκο. Ωστόσο, αυτά τα γονίδια αυξάνουν την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων του μαστού να περάσουν μέσω του ενδοθηλιακού, μια λειτουργία που αυξάνει την εξαγγείωση των καρκινικών κυττάρων στους πνεύμονες. Η λυσιλική οξειδάση (LOX) επάγεται σε πρωτογενείς όγκους που ανταποκρίνονται σε hypoxic σήματα για την ενίσχυση της εισβολής καρκινικών κυττάρων. Ωστόσο, η συστηματική έκκριση του LOX οδηγεί σε συσσώρευση στον πνεύμονα.

### **Μεταστατικός τροπισμός οργάνων**

Οι στερεοί όγκοι εμφανίζουν δραματική μεταβολή στον τρόπο διεξαγωγής της μετάστασης. Μερικοί κυρίως υποτροπιάζουν σε ένα συγκεκριμένο όργανο (π.χ., καρκίνος του προστάτη στα οστά, σαρκώματα στους πνεύμονες), ενώ άλλοι υποτροπιάζουν σε πολλαπλά όργανα (π.χ., τριπλοί καρκίνοι του μαστού, μελανώματα δέρματος, καρκίνος του πνεύμονα, καρκινώματα νεφρών). Τα μοτίβα κυκλοφορίας του αίματος μπορούν να κατευθύνουν τα καρκινικά κύτταρα σε ένα συγκεκριμένο όργανο. Ωστόσο, οι περισσότεροι συμπαγείς όγκοι απελευθερώνουν κύτταρα στη γενική κυκλοφορία φθάνοντας σε πολλά όργανα. Η ικανότητα των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων να περνούν μέσα από ενδοθηλιακά τοιχώματα μπορεί, ως εκ τούτου, να επηρεάσει τον τροπισμό των όγκων του οργάνου. Επιπλέον, επειδή η μεγάλη πλειοψηφία των καρκινικών κυττάρων που διεισδύει σε ένα μακρινό όργανο, πεθαίνει, η ικανότητα των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων να αντισταθούν στον αποδεκατισμό σε συγκεκριμένα μικροπεριβάλλοντα οργάνων είναι ένας άλλος καθοριστικός παράγοντας μετάστασης (Nguyen et al., 2009a) (εικόνα 2A).

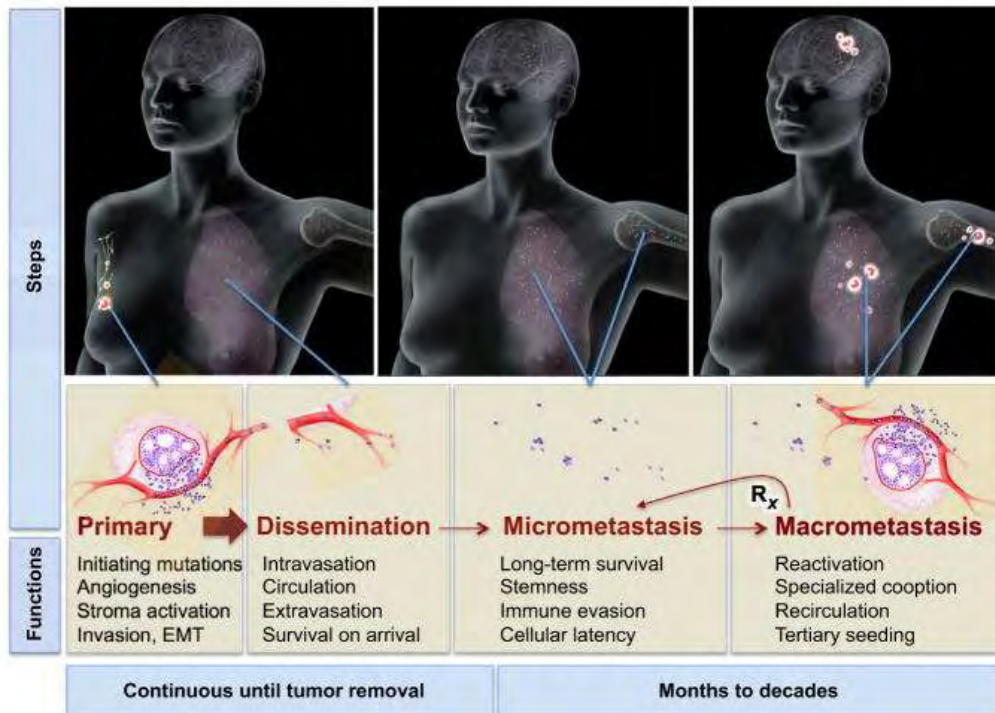
Οι μεσολαβητές της εξαγγείωσης έχουν εντοπιστεί (Bos et al, 2009, Clark et al, 2000, Gupta et al, 2007, Padua et al, 2008, Weis et al, 2004, Wolf et al, 2012). Η έκφραση αυτών των γονιδίων σε καρκινικά κύτταρα αυξάνει την συσσώρευση τους, καθώς διαδίδονται σε ευαίσθητα όργανα, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα ενδεχόμενης υποτροπής σε αυτά τα όργανα. Το ίδιο ισχύει και για τους διαμεσολαβητές της επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων σε

απομακρυσμένα όργανα (Chen et al, 2011, Valastyan et al, 2009, Zhang et al, 2009.). Η έκφραση αυτών των μεσολαβητών σε ευρεία τμήματα του πληθυσμού των καρκινικών κυττάρων σε πρωτογενείς όγκους αντικατοπτρίζεται στις υπογραφές μετάστασης που προβλέπουν υποτροπή σε διάφορα όργανα (Bos et al, 2009, Cheung et al, 2013, Minn et al., 2005, Nguyen et al, 2009b, Padua et al, 2008, Tavazoie et al, 2008, Valastyan et al, 2009, Vanharanta et al, 2013, Zhang et al, 2009). Αυτά τα ευρήματα έχουν παράσχει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη βιολογία της μεταστατικής διάδοσης και των πρωτεϊνών και των microRNAs που μεσολαβούν σε αυτή.

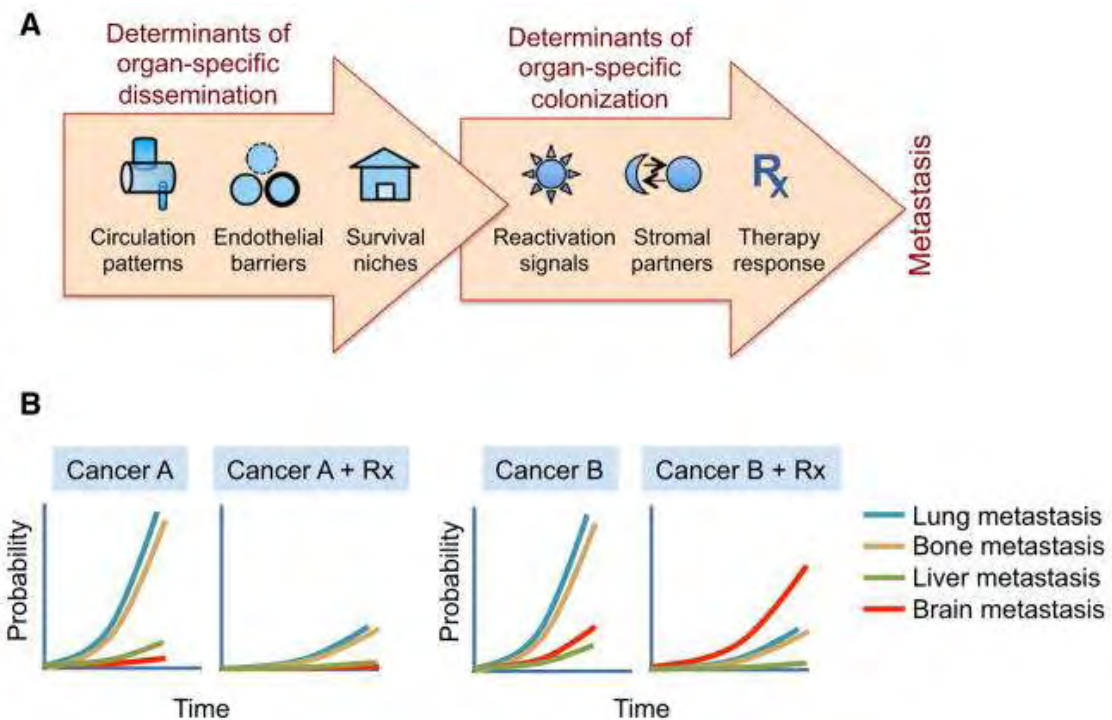
Αν και τα πρότυπα κυκλοφορίας, τα εμπόδια εξαγγελίωσης, και η επιβίωση κατά την άφιξη είναι τρεις βασικοί παράγοντες που καθορίζουν την ικανότητα των συγκεκριμένων όγκων για την εγκατάσταση σε συγκεκριμένα όργανα, ένα διαφορετικό σύνολο προϋποθέσεων καθορίζει την ικανότητα των μικρομεταστατικών όγκων να εξελιχθούν σε μακρομεταστατικούς (εικόνα 22A).

Τόσο οι καθοριστικοί παράγοντες της μετάστασης καθώς και εκείνοι του αποικισμού στα διάφορα όργανα, διέπουν τα πρότυπα του μεταστατικού τροπισμού του οργάνου από κάθε τύπο καρκίνου (εικόνα 22A), δηλαδή, την πιθανότητα ότι ένας συγκεκριμένος καρκίνος θα υποτροπιάσει σε συγκεκριμένες θέσεις οργάνων. Είναι πιθανό ότι σε απουσία αποτελεσματικής θεραπείας, και αν δοθεί αρκετός χρόνος, η μετάσταση θα απλωθεί σε όλα τα όργανα σε κάθε περίπτωση. Πράγματι, οι εξελίξεις στην διαχείριση της νόσου είναι η παράταση της ζωής των ασθενών με μεταστάσεις, (εικόνα 22B). Έτσι, οι διαφορές στην ευαισθησία προς τη θεραπεία καρκινικών κυττάρων σε διαφορετικά όργανα συνιστούν ένα ακόμη καθοριστικό παράγοντα των προτύπων μετάστασης.





Εικόνα 21: Βήματα μετάστασης και συμφόρηση



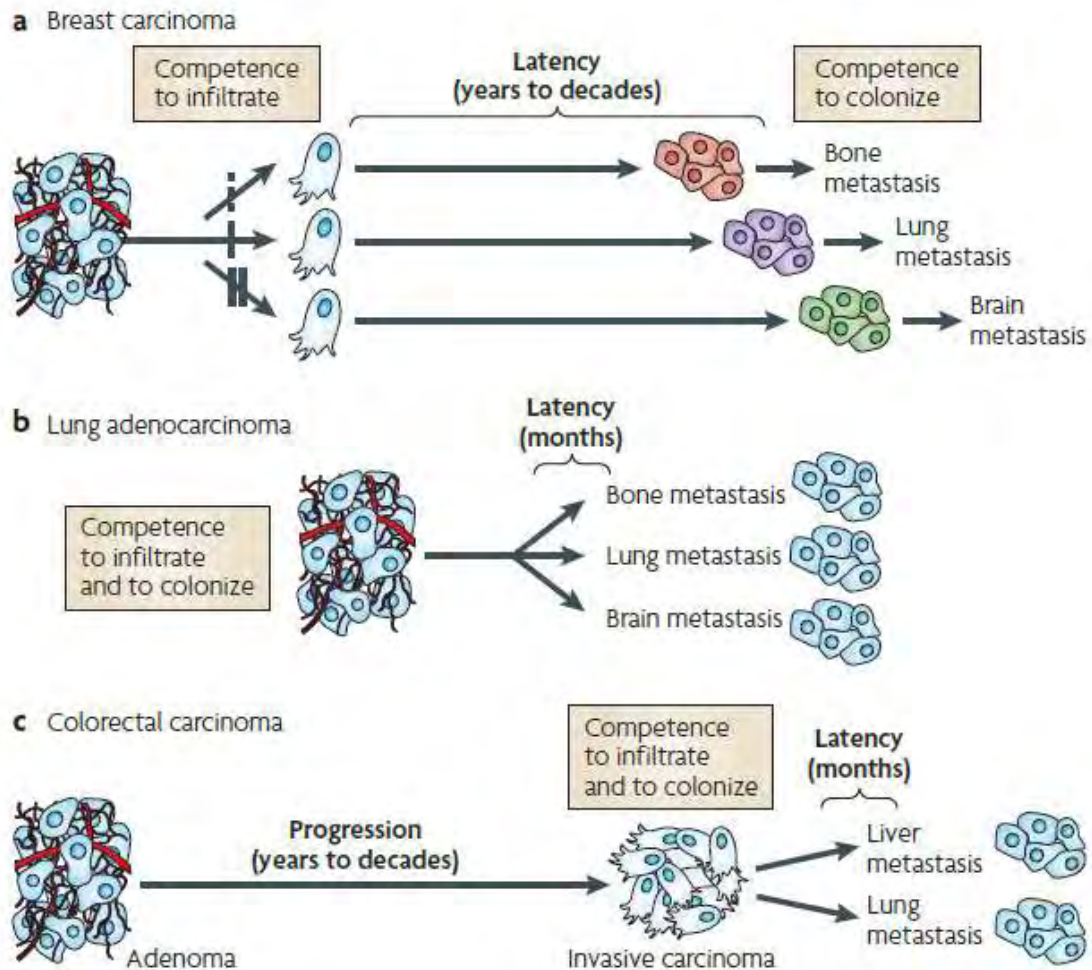
Εικόνα 22: Καθοριστικοί παράγοντες μεταστατικού τροπισμού οργάνου



## Η χρονική πορεία της μετάστασης

Η πορεία της μετάστασης μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τον τύπο του όγκου.

1. Σε όγκους του μαστού με θετικούς υποδοχείς οιστρογόνων, τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να είναι αρμόδια για να διαλύσουν και να διεισδύσουν σε απομακρυσμένα όργανα σε πρώιμα στάδια, αλλά συχνά εισέρχονται σε μια παρατεταμένη περίοδο λανθάνουσας κατάστασης. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, η διάδοση των καρκινικών κυττάρων μπορεί να παραμείνει αδρανής ή να εισάγει μια πολλαπλασιαστική κατάσταση που αντισταθμίζεται από το κύτταρο θανάτου. Μέσω άγνωστων μηχανισμών, ένα υποσύνολο αυτών των λανθανόντων καρκινικών κυττάρων (ή του μικροπεριβάλλοντος) μπορεί να συσσωρεύει το σύνολο των λειτουργιών που απαιτούνται για τον αποικισμό. Σε αυτό το μοντέλο, διάχυτα καρκινικά κύτταρα του μαστού ολοκληρώνουν την εξέλιξή τους σε μεταστατικές οντότητες κάτω από την επιλογή ενός συγκεκριμένου μικροπεριβάλλοντος υποδοχής, και την παραγωγή συγκεκριμένων οργάνων μετάστασης.
2. Τα κύτταρα αδenoκαρκινώματος του πνεύμονα στοχεύουν επίσης τον εγκέφαλο, τα οστά και τον ετερόπλευρο πνεύμονα, αλλά το κάνουν χωρίς να μεσολαβεί καμία παρέμβαση μεταξύ διείσδυσης και αποικισμού. Αυτή η πορεία της μετάστασης συνεπάγεται την ύπαρξη μηχανισμών που καθιστούν τα κύτταρα αδenoκαρκινώματος του πνεύμονα αρμόδια για τη διείσδυση και αποικία πολλαπλών οργάνων.
3. Τα αδενώματα του παχέος εντέρου μπορούν να χρειαστούν δεκαετίες για να αναπτύξουν τοπικά διηθητικά καρκινώματα αλλά, μόλις επιτευχθεί αυτό το στάδιο, η διάδοση και ο αποικισμός του ήπατος και, λιγότερο συχνά, των πνευμόνων μπορούν να προκύψουν ταχέως. Ως εκ τούτου, διαφορετικά μαθήματα μεταστάσεων σε αυτούς τους τύπους καρκίνου συνεπάγονται διαφορετικούς μηχανισμούς για την απόκτηση της διείσδυσης, την επιβίωση και τις λειτουργίες αποικισμού.



Εικόνα 23: Η χρονική πορεία της μετάστασης. Ένα μοντέλο που απεικονίζει τη λειτουργία της μεταστατικής εξέλιξη ως συνάρτηση του χώρου και του χρόνου.

### Αλληλεπιδράσεις μεταξύ του πρωτογενούς όγκου και των μεταστατικών περιοχών

Η μεταστατική διασπορά των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων έχει αποδειχθεί σε ορισμένες περιπτώσεις ότι ενισχύεται από τον πρωτογενή όγκο, του οποίου τα εκκρινόμενα προϊόντα δημιουργούν ένα περιβάλλον που ευνοεί την δημιουργία μεταστάσεων σε μοναδικές απομακρυσμένες περιοχές, που ονομάζονται προ-μεταστατικές θέσεις (Kaplan et al, 2005; Rafii, 2006; Welse et al, 2008). Για παράδειγμα, τα κύτταρα του μελανώματος μπορούν να προκαλέσουν αυτές τις θέσεις σε πολλαπλές περιοχές σε σύγκριση με το

καρκίνωμα του πνεύμονα (LLC), το οποίο επάγει μόνο μια θέση στον πνεύμονα και το ήπαρ. Εντυπωσιακά, τα κύτταρα LLC μπορούν να κατευθυνθούν σε πολλαπλές και διαφορετικές μεταστατικές θέσεις με επανειλημμένη ενδοπεριτοναϊκή ένεση.

Αρκετά άλλα μόρια που έχουν αναγνωρισθεί ως σημαντικά στη δημιουργία των θέσεων, συμπεριλαμβανομένων των χημειοελκτικών S100A8 και S100A9 και της μεταλλοπρωτεϊνάσης MMP9. Επιπλέον, οι Weinberg et al (McAllister, 2008) έχουν δείξει ότι ορισμένοι όγκοι, που ονομάζονται υποκινητές, μπορεί να κινητοποιήσουν πρόδρομους του μυελού των οστών μέσω αλλά άγνωστου μηχανισμού μεσολάβησης οστεοποντίνης. Ο μηχανισμός αυτός απαιτεί διάσπαρτα μεταστατικά κύτταρα και μεγάλες περιόδους επώασης, και έτσι είναι λειτουργικά διακριτός από την εξειδικευμένη προ-μεταστατική έννοια.

## **Κυτταρικοί αυξητικοί παράγοντες**

### **Εισαγωγή**

Οι κυτταρικοί αυξητικοί παράγοντες (ΚΑΠ) είναι πρωτεΐνες που λειτουργούν ως διαβιβαστές στις διαδικασίες της κυτταρικής διαίρεσης. Ακόμα δρουν στη διαφοροποίηση, την επιβίωση και τη λύση των κυττάρων. Σε πολλές παθολογικές καταστάσεις όπως είναι ο καρκίνος συμβαίνουν ανωμαλίες κατά την παραγωγή των αυξητικών παραγόντων, οι οποίοι δρουν με τη βοήθεια υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης.

Μερικοί αυξητικοί παράγοντες λαμβάνουν μέρος σε διαδικασίες όπου δημιουργείται η νεοπλασία. Με άλλα λόγια, συμμετέχουν στο μετασχηματισμό ενός φυσιολογικού κυττάρου σε καρκινικό, στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και τη δημιουργία καρκινικού υποστρώματος.

## **ΚΑΠ και Πολλαπλασιασμός των Καρκινικών Κυττάρων**

Τα φυσιολογικά κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να πολλαπλασιάζονται μόνο όταν υπάρχουν ορισμένα ΚΑΠ. Για παράδειγμα, για τη διαίρεση των ινοβλαστών είναι αναγκαίο τα κύτταρα να λάβουν δύο διακεκριμένα και διαδοχικά σήματα: Το πρώτο σήμα είναι αυτό που αναγκάζει το κύτταρο να μεταβεί από την κατάσταση ηρεμίας στη φάση G1, στο πρώτο στάδιο της μίτωσης. Το δεύτερο σήμα επιτρέπει τη συνέχιση του κυτταρικού κύκλου η οποία καταλήγει σε κυτταρική διαίρεση. Η απουσία ενός σήματος ή η αντιστροφή στη σειρά εμφάνισης των σημάτων ακυρώνουν την κυτταρική διαίρεση. Τα κύτταρα που μετασχηματίζονται έχουν τη δυνατότητα να πολλαπλασιάζονται και χωρίς την ύπαρξη ορισμένων ΚΑΠ.

## **ΚΑΠ και Ανάπτυξη του Καρκινικού Υποστρώματος**

Ένα κύτταρο που έχει ολοκληρώσει τον κύκλο του κυτταρικού μετασχηματισμού καθίσταται καρκινικό. Η ανάπτυξή του είναι ταχύτερη από αυτή των φυσιολογικών κυττάρων απ' όπου προήλθε. Ωστόσο, αυτός ο τοπικός πολλαπλασιασμός, πέραν ενός ορισμένου αριθμού καρκινικών κυττάρων (όγκος μερικών mm<sup>3</sup>), δε μπορεί να συνεχιστεί εάν δε δημιουργηθεί ένα καρκινικό υπόστρωμα που περιλαμβάνει κυρίως φλεγμονώδη κύτταρα (μεσεγχυματικά κύτταρα και εξωκυττάρια ουσία) και νεοαγγείωση απαραίτητη για την επέκταση του όγκου. Αυτή η τοπική συσσώρευση μεσεγχυματικών και ενδοθηλιακών κυττάρων προαπαιτεί τη διαίρεσή τους, η οποία με τη σειρά της εξαρτάται από τους ΚΑΠ (FGF, EGF, PDGF κ.λπ.). Οι παράγοντες αυτοί εκκρίνονται από τα καρκινικά αλλά και από τα φλεγμονώδη κύτταρα του μικροπεριβάλλοντος. Οι ΚΑΠ, λοιπόν, έχουν ένα ρόλο στην ανάπτυξη του καρκινικού υποστρώματος.

## **Συμπέρασμα**

Οι ΚΑΠ έχουν ένα θεμελιώδη ρόλο στη διαδικασία της καρκινογένεσης και στην εξάπλωση του καρκίνου στον ανθρώπινο οργανισμό. Προς τούτο,

πολλές θεραπευτικές προσεγγίσεις βρίσκονται αυτή τη στιγμή σε εξέλιξη, με στόχο να τροποποιήσουν φαρμακευτικά τη δράση των παραγόντων αυτών.

### **Οστεοποντίνη (OPN)**

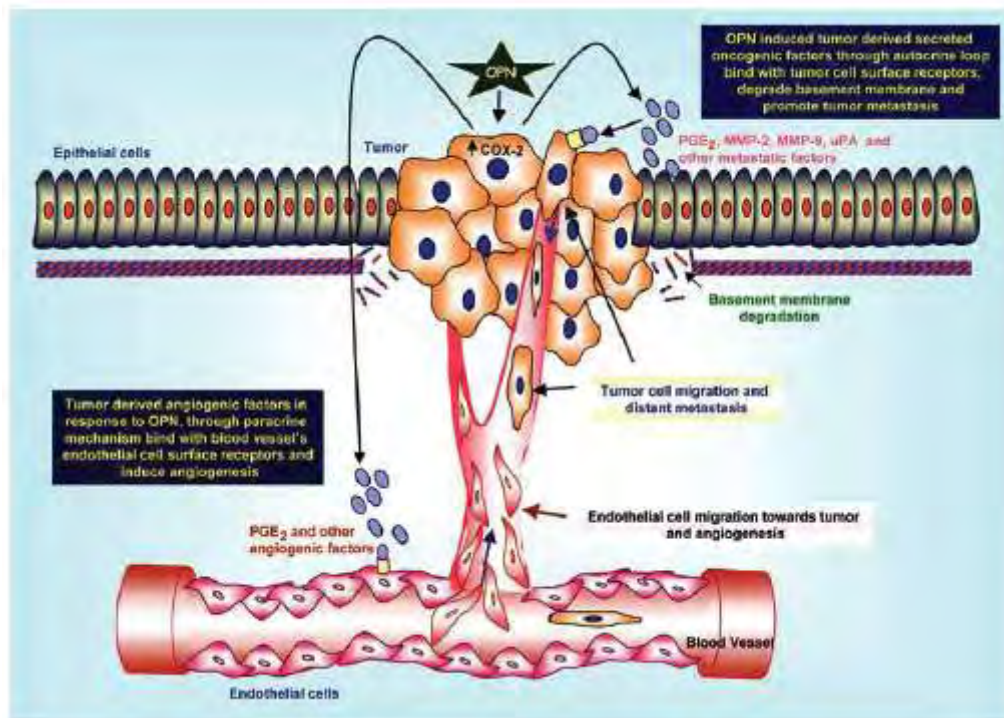
Η οστεοποντίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που εκκρίνεται από ινοβλάστες, οστεοβλάστες, οστεοκύτταρα, μακροφάγα και ενδοθηλιακά κύτταρα και αποτελείται από 298 αμινοξέα. Η σύνθεσή της προάγεται από την καλσιπριόλη. Η οστεοποντίνη συνδέεται με ασβέστιο και ιντεγκρίνες και συμμετέχει στην αντίδραση του οργανισμού σε στρεσογόνα ερεθίσματα, στη φλεγμονή, στην επούλωση τραυμάτων και στην ανοσιακή απάντηση. Συμμετέχει ακόμη στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης, της επασβεστώσης της αορτικής βαλβίδας, στην επούλωση του μυοκαρδίου μετά από έμφρακτο, στην προσκόλληση και μετανάστευση κυττάρων και στην ανάπτυξη νεοπλασιών και εμφάνιση μεταστάσεων (Tang et al, 2007).

Η σύνδεση της οστεοποντίνη με τις ιντεγκρίνες δικαιολογεί το ρόλο της στην μεταστατική ικανότητα του όγκου, εξαιτίας της μεταγωγής σήματος μέσω των ιντεγκρινών, της αύξησης της προσκόλλησης και της μετανάστευσης των κυττάρων που προκαλείται. Κύριος υποδοχέας της OPN είναι η ιντεγκρίνη ανβ3, ενώ αλληλεπιδρά και με τις ιντεγκρίνες α4β1, α8β1 και α9β1 (Rodrigues et al, 2007). Η OPN εκφράζεται σε περιορισμένο αριθμό φυσιολογικών ιστών, ενώ αποτελεί προγνωστικό παράγοντα στον καρκίνο του μαστού (Mirza et al, 2008, Wang et al, 2008, Bramwell et al, 2009).

Η OPN έχει επιπλέον τη δυνατότητα να λειτουργεί ως κυτταροκίνη και ως μόριο του εξωκυττάρου δικτύου. Εκφράζεται σε διάφορα είδη κυττάρων, όπως λευκοκύτταρα, οστεοβλάστες, λεία μυϊκά κύτταρα, ενώ δρα και ως ισχυρός προαγγειογενετικός παράγοντας, δρώντας αντιαποπρωτικά και προάγοντας τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων (Mirza et al, 2008, Wang et al, 2008, Bramwell et al, 2009) (Σχήμα 4).

Ο ρόλος της οστεοποντίνης στην καρκινογένεση είναι πολλαπλός και γίνεται με τη βοήθεια διάφορων πρωτεάσεων, όπως η πλασμίνη και άλλες μεταλλοπρωτεϊνάσες (Tang et al, 2007, Rodrigues et al, 2007). Η OPN, σε

συνεργασία με τον VEGF, ενισχύει και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων.



Εικόνα 24: Μοντέλο που δείχνει το ρόλο της OPN στη ρύθμιση της ανάπτυξης του όγκου και της νεοαγγείωσης (Chakraborty et al, 2008).

## Κεφάλαιο 5ο

### Προοπτικές Θεραπείας

Καθώς η κλινική ογκολογία εξελίσσεται προς το προσωποποιημένο φάρμακο του καρκίνου, η ανάγκη να κατανοήσουμε τη βιολογία της μετάστασης γίνεται όλο και πιο οξεία. Τα τελευταία χρόνια, έχουμε δει μια αναζωογόνηση του εν λόγω τομέα, συνοδευόμενη από τις τεχνολογικές εξελίξεις που ενισχύουν την κατανόηση του τρόπου ανάπτυξης της μετάστασης και πώς αυτή θα μπορούσε να δεχτεί θεραπεία. Τρεις σημαντικές ανάγκες θα μπορούσαν να αντιμετωπιστούν σε αυτό το σημείο. Η πρώτη είναι η ενσωμάτωση της κλινικής γνώσης στα βήματα, στα σημεία και στη χρονική διάρκεια της μετάστασης σε πειραματικά μοντέλα της νόσου. Η δεύτερη είναι η ανατομία της μετάστασης σε κλινικά κυτταρικά και μοριακά συστατικά που οδηγούν αυτή τη διαδικασία σε μοτίβα συγκεκριμένων οργάνων. Το τρίτο είναι η μετάφραση των πληροφοριών σε μια καλύτερη ταξινόμηση των όγκων με βάση τους μοριακούς δείκτες του μεταστατικού δυναμικού και της θεραπευτικής παρέμβασης.

Μια αναδυόμενη έννοια στην αντικαρκινική θεραπεία περιλαμβάνει την κινητοποίηση των διαφόρων τύπων BMDC ακολουθώντας θεραπείες με παραδοσιακά χημειοθεραπευτικά ή στοχευμένες θεραπείες, οι οποίες μπορεί να συμβάλουν είτε σε έλλειψη ανταπόκρισης ή σε επίκτητη αντίσταση των φαρμάκων. Τα BMDCs (Bone Marrow-Derived Cells) μπορεί επίσης να παρέχουν ανθεκτικότητα στη θεραπεία, όπως στην περίπτωση των MDSCs (Myeloid-Derived-Suppressor Cells) (Shojaei et al, 2007).

Μεταξύ των τύπων των στρωματικών κυττάρων σημαντικά φάρμακα για μεταστατική διάδοση και απόφυση, στοχεύουν σε ενδοθηλιακά κύτταρα. Αρκετοί ανταγωνιστές του VEGF έχουν εγκριθεί από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων αυξάνοντας την επιβίωση σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού και του μεταστατικού καρκίνου του παχέος εντέρου όταν συνδυάζεται με χημειοθεραπεία. Η μεταφραστική υπόσχεση αυτής της πρώτης στοχευμένης θεραπείας ενάντια στο μικροπεριβάλλον του όγκου, ωστόσο, κάπως μετριάζεται από τις αναδυόμενες περιπτώσεις αντίστασης σε αντι-αγγειογόνες θεραπείες και παραδείγματα στρωματικών

κυττάρων που στοχεύουν σε ζωικά μοντέλα όπου προέκυψε απροσδόκητα εισβολή ή μετάσταση. Τα δεδομένα αυτά ενισχύουν τη σημασία της πλήρους κατανόησης της περιπλοκής από κυτταρικές αλληλεπιδράσεις στο μικροπεριβάλλον του όγκου, προκειμένου να απομονωθούν τα καρκινικά κύτταρα και αποτελεσματικά να καταστραφούν (Stockmann, 2008).

Τα κύτταρα CAFs (Cancer-Associated Fibroblastic) εμπλέκονται στη διαδικασία της αγγειογένεσης των όγκων. Πρώτον, τα CAFs σε διαφορετικές TMEs μπορεί να παράγουν μια σειρά από προαγγειογονικές πρωτεΐνες σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων των VEGF, FGF2 και άλλα FGFs, IL-8 / CXCL8 και PDGF-C (Crawford et al., 2009). Επιπλέον, τα CAFs καθώς και οι φυσιολογικοί ινοβλάστες συνδετικού ιστού είναι μείζονες πηγές βιοσυνθετικών πρωτεϊνών ECM, στην αγγειογένεση. Σε αντίθεση με τους τυπικούς κανονικούς ινοβλάστες, τα CAFs μπορεί επίσης να παράγουν μια ποικιλία από ECM ένζυμα που απελευθερώνουν αγγειογενετικούς παράγοντες (bFGF, VEGF, TOP-β), καθιστώντας τους βιοδιαθέσιμους σε υποδοχείς στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Kalluri και Zeisberg, 2006? Pietras και Ostman, 2010? RA nen A.E. και Vaheri, 2010). Τέλος, τα CAFs μπορεί παράγουν χημειοελκτικές για προαγγειογονικά μακροφάγα, ουδετερόφιλα, και άλλα μυελοειδή κύτταρα. Με τον τρόπο αυτό έμμεσα ενορχηστρώνουν την αγγειογένεση των όγκων και θα μπορούσαν να αποτελούν στόχους αντικαρκινικών θεραπειών (Ra A.E. nen και Vaheri, 2010; Vong και Kalluri, 2011).

Επίσης, τα Διηθητικά κύτταρα του ανοσοποιητικού IIC<sub>s</sub> (Infiltrating Immune Cells) έχει αποδειχτεί σε πρόσφατες μελέτες ότι προωθούν τη μετάσταση. Τα μαστοκύτταρα και τα μακροφάγα στον πρωτογενή όγκο παρέχουν ένα ευρύ φάσμα πρωτεασών, συμπεριλαμβανομένων της σερίνης, της κυστεΐνης και των μεταλλοπρωτεασών (Kessenbrock et al, 2010.? van Kempren et al., 2006) για την προώθηση της εισβολής στους ιστούς.



## Η Αγγειογένεση σαν θεραπευτικός στόχος

Όλοι οι όγκοι χρειάζονται ένα σύνολο αγγείων το οποίο τους τροφοδοτεί με αίμα και τους βοηθά να αναπτυχθούν και να επεκταθούν. Η διαδικασία της δημιουργίας αυτού του δικτύου ονομάζεται αγγειογένεση. Παρόλο που, όπως αναφέρθηκε, η αγγειογένεση είναι απαραίτητη για κάθε όγκο, στην περίπτωση του καρκίνου του νεφρού, είναι πολύ πιο σημαντική, καθώς συντελεί τόσο στη δημιουργία του αρχικού όγκου, όσο και για την μετέπειτα εξέλιξή του.

Πρόσφατα έχουν δημιουργηθεί φάρμακα που αναστέλλουν την αγγειογένεση. Αυτά τα φάρμακα δρουν και αναστέλλουν την ανάπτυξη του αγγειακού δικτύου του όγκου. Τέτοια φάρμακα χρησιμοποιούνται σήμερα σε πολλά νεοπλάσματα. Ωστόσο, η περίπτωση του καρκίνου του νεφρού αποτελεί μια από τις πιο επιτυχημένες εφαρμογές τους.

Η διαδικασία της αγγειογένεσης περιλαμβάνει διάφορα στάδια τα οποία ρυθμίζονται από πολλά διαφορετικά μόρια. Τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν αγγειογενετικούς παράγοντες, π.χ VEGF, οι οποίοι δεσμεύονται σε ειδικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων των προϋπαρχόντων αγγείων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούνται και παράγουν ένζυμα (πρωτεϊνάσες) που αποικοδομούν τη βασική μεμβράνη και το υποκείμενο εξωκυτταρικό υλικό των προϋπαρχόντων αγγείων που περιβάλλουν τον όγκο. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα αρχίζουν επιπλέον να μεταναστεύουν προς το αγγειογενετικό ερέθισμα και να πολλαπλασιάζονται, οδηγώντας στο σχηματισμό νέων αγγείων. Τα αγγεία που δημιουργούνται σταθεροποιούνται μέσω υποστηρικτικών κυττάρων και στη συνέχεια ωριμάζουν με την έναρξη ροής αίματος. Αναστολή οποιουδήποτε από τα παραπάνω στάδια μπορεί να προκαλέσει αναστολή της αγγειογένεσης σε κάποιο βάθος.

Οι μοντέρνες κλινικές εφαρμογές των αρχών της αγγειογένεσης μπορεί να διααιρεθούν σε δύο κύριες περιοχές:

- αντι-αγγειογενετικές θεραπείες
- προ-αγγειογενετικές θεραπείες.

Οι αντι-αγγειογενετικές θεραπείες έχουν στόχο την καταπολέμηση του καρκίνου και των κακοηθειών, που απαιτούν μεγάλη ποσότητα οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών για τον πολλαπλασιασμό τους. Οι προ-αγγειογενετικές θεραπείες είναι αυτές που βελτιώνουν τις επιλογές για θεραπεία καρδιαγγειακών παθήσεων, τη συνηθέστερη αιτία θανάτου στον δυτικό κόσμο.

### **Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (Vascular Endothelial Growth Factor - VEGF)**

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας - vascular endothelial growth factor (VEGF ή VEGF-A), γνωστός και ως παράγοντας αγγειακής διαπερατότητας - vascular permeability factor (VPF), είναι μια κυτταροκίνη με πρωταγωνιστικό ρόλο στην ανάπτυξη τόσο της φυσιολογικής, όσο και της παθολογικής αγγειογένεσης. Το 1983, βρέθηκε ένας παράγοντας ο οποίος συντελούσε στην αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων και ονομάστηκε vascular permeability factor (VPF) (Senger et al., 1983). Αργότερα, το 1989, αναφέρθηκε η απομόνωση και η ταυτοποίηση της αμινοτελικής αμινοξικής αλληλουχίας ενός ειδικού μιτογόνου, που ονομάστηκε VEGF και Vasculotropin, αντίστοιχα (Ferrara and Henzel, 1989.; Connolly et al., 1989). Η μοριακή κλωνοποίηση των VEGF και VPF έδειξε ότι πρόκειται για το ίδιο μόριο (Ribatti et al., 2002).

Για την ανάπτυξη συμπαγών όγκων απαιτείται η δημιουργία αγγειογενετικών παραγόντων από τα καρκινικά κύτταρα. Η αύξηση της έκφρασης του mRNA του VEGF έχει αποδειχθεί σε πολλά είδη ανθρώπινου καρκίνου, όπως:

- μαστού (Ferrara et al., 2005),
- πνεύμονα (Ferrara et al., 2005),
- ωοθηκών (Spannuth et al., 2009),
- γλοιωμάτων του νευρικού συστήματος (Machein and Plate, 2000),

- παγκρέατος (Wey et al., 2005; Chung et al., 2006),
- μελανώματος (Geng et al., 2001),
- μελανώματος της ίριδας του οφθαλμού (Missotten et al., 2006),
- ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (Chiang et al., 2009),
- καρκινώματος του παχέος εντέρου (Jubb et al., 2003),
- γαστρικού καρκινώματος (Wang et al., 2007),
- non-Hodgkin λεμφωμάτων (Jørgensen et al., 2009)
- οστεοσαρκώματος (Kamei et al., 2009).

Σε πολλούς όγκους καρκίνου, τα καρκινικά κύτταρα που είναι τοποθετημένα στην περιφέρεια του όγκου, παράγουν μεγάλες ποσότητες VEGF. Η έκφραση του mRNA του VEGF γίνεται από ενεργοποιημένα ογκογονίδια του μονοπατιού Ras (Neufeld et al., 1999) ή ύστερα από απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών μορίων, όπως είναι η p53 και η θρομβοσπονδίνη-1 (Hanahan and Weinberg, 2000).

Το 1993 αποδείχτηκε ότι αντισώματα ενάντια στον VEGF είχαν ως επακόλουθο αναστολή της ανάπτυξης του όγκου, με βάση πειράματα που έγιναν σε αρουραίους (Kim et al., 1993). Αν και τα καρκινικά κύτταρα θεωρούνται κύρια πηγή του VEGF, ωστόσο το στρώμα που σχετίζεται με τον όγκο είναι πιθανό να αποτελεί άλλο ένα σημείο παραγωγής VEGF (Ferrara et al., 2003).

Ανάλογα με τον τύπο του νεοπλασματος είναι πιθανό να διαφέρουν και οι μηχανισμοί της αγγειογένεσης. Κάποιοι ερευνητές πιστεύουν ότι ο VEGF μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο μόνο στα αρχικά στάδια της νόσου (Ferrara et al., 2003).

## **Ιντεγκρίνες**

Οι ιντεγκρίνες είναι υποδοχείς κυτταρικής προσκόλλησης απαραίτητες για την εμβρυϊκή ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση, την απόπτωση, την προσκόλληση, τη διαφοροποίηση και τη μετανάστευση των κυττάρων (Brakebusch and Fassler, 2003). Είναι ετεροδιμερείς διαμεμβρανικές

γλυκοπρωτεΐνες, που αποτελούνται από μη ομοιοπολικά συνδεόμενες α και β υπομονάδες (Hynes, 2002). Στα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζονται 10 διαφορετικές ιντεγκρίνες. Πολλές διαφορετικές ιντεγκρίνες έχει βρεθεί ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση καθοδηγούμενη από τον VEGF-A (Friedlander et al., 1995; Kim et al., 2000; Senger et al., 1997).

Οι θεραπευτικοί στόχοι είναι υποδοχείς των ιντεγκρινών κυρίως. Ανταγωνιστές του ανβ3 όπως είναι το μονοκλωνικό αντίσωμα LM 609 προκαλεί απόπτωση και δρα σαν αντιαγγειογενετικός παράγοντας.

### **Το σηματοδοτικό μονοπάτι Ras**

Γενικώς δυο διαφορετικές προσεγγίσεις έχουν ακολουθηθεί προκειμένου να διακοπεί η μετάδοση του σήματος μέσω των Ras πρωτεϊνών.

- Η πρώτη έχει να κάνει με την παρεμβολή σε αλληλεπιδράσεις των Ras με μόρια ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού ή με αναστολή της σύζευξης τους με μεμβρανικές πλασματικές πρωτεΐνες. Επιπλέον στόχους συνιστούν τα ενεργοποιούμενα μόρια από τις Ras, και ειδικά αυτά που βρίσκονται στο μονοπάτι των MAP κινασών.
- Η δεύτερη σχετίζεται με αναστολή της έκφρασης της Ras πρωτεΐνης (Sebolt-Leopold, 2000).

Η ενδοκυττάρια ομοίωση του Ca είναι κοινός ρυθμιστής των διαμεμβρανικών σηματοδοτικών οδών και της πορείας της διήθησης, της μετάστασης και της αγγειογένεσης. Η ουσία CAI-( carboxyamino-triazole) έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την είσοδο του ασβεστίου και τις σηματοδοτικές οδούς τις εξαρτώμενες από την διείσδυση του ασβεστίου.

### **Προγνωστικοί βιοδείκτες**

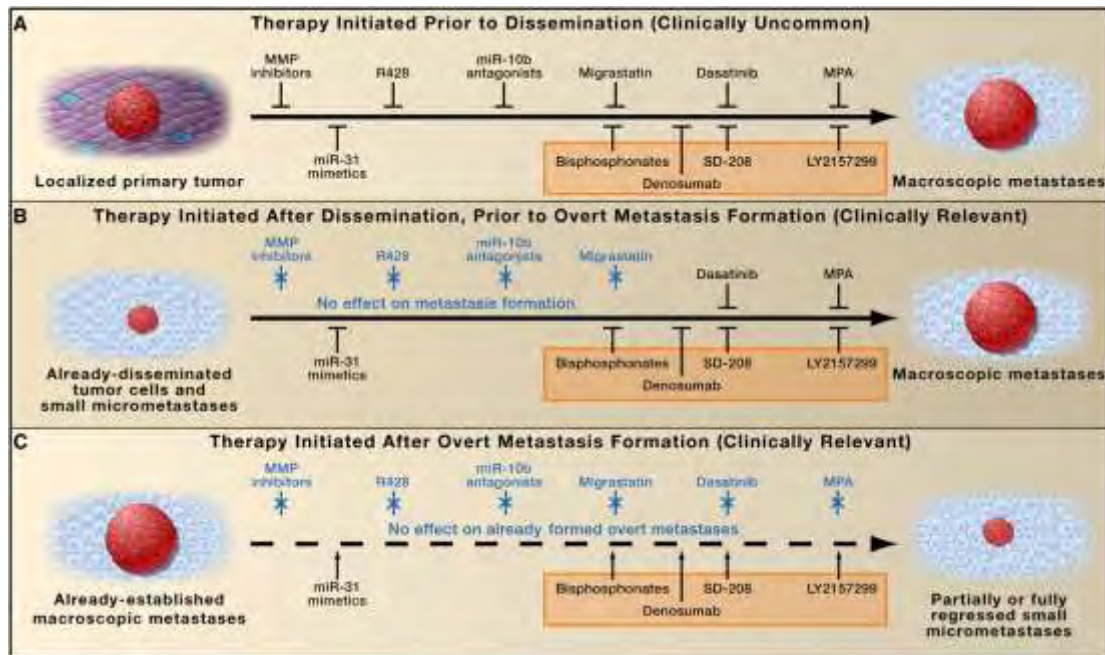
Η έρευνα που διεξάγεται κατά την τελευταία δεκαετία έχει καταφέρει να προσδιορίσει μια σειρά βιοδεικτών. Μερικοί από αυτούς τους βιοδείκτες υποβάλλονται σε εκτενή ανεξάρτητη επικύρωση και έχουν εισέλθει σε κλινική χρήση, για παράδειγμα, το MammaPrint και οι Oncotype Δοκιμασίες DX (van

't Veer et al, 2002; Paik et al, 2004). Αυτές οι δοκιμασίες χρησιμοποιούν υπογραφές έκφραση πολυγονιδίου για να υπολογίσουν την πιθανότητα της εξέλιξης της νόσου και στη συνέχεια να χρησιμοποιούν την πληροφορία αυτή για να κατευθύνουν επικουρικές επιλογές θεραπείας.

### **Θεραπευτικοί Παράγοντες**

Ένας καθοριστικός παράγοντας στο σχεδιασμό των αντιμεταστατικών θεραπευτικών παραγόντων, είναι το γεγονός ότι οι ασθενείς με καρκίνωμα συχνά φιλοξενούν σημαντικούς αριθμούς κύτταρων όγκου που διαδίδονται με το αίμα (Braun et al, 2005; Nagrath et al, 2007; Pantel et al., 2008). Ως εκ τούτου, είναι πραγματικά αποτελεσματική η αντιμεταστατική θεραπεία, η οποία θα πρέπει να είναι ικανή να εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων καρκινώματος που διαδίδονται. (Εικόνα 25)

Δυστυχώς, η λογική πίσω από πολλούς παράγοντες στόχους που είχαν σχεδιαστεί για να βλάψουν τα μεταστατικά καρκινώματα, όπως αναστολείς MMP, ο αναστολέας R428, οι ανταγωνιστές miR-10b και ο αναστολέας Migrastatin είναι ασυμβίβαστη με τις κλινικές παρατηρήσεις. Το περιορισμένο όφελος και οι σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατηρήθηκαν σε κλινικές δοκιμές που περιελάμβαναν αναστολείς MMP δεν είναι ενθαρρυντικά (Kessenbrock et al, 2010). Επιπλέον, προκλινικές δοκιμές δείχνουν ότι οι ανταγωνιστές R428, miR-10b και Migrastatin δεν επηρεάζουν τις τύχες των ήδη διασπειρόμενων καρκινικών κυττάρων. Αυτή η έλλειψη αποτελεσματικότητας θα μπορούσε να αντικατοπτρίζει φυσικούς περιορισμούς που σχετίζονται με την χορήγηση των φαρμάκων (Carmeliet and Jain, 2011).



Εικόνα 25: Λογικά σχεδιασμένοι θεραπευτικοί παράγοντες για τη θεραπεία μεταστατικής νόσου

Τόσο η απώλεια του WT p53 όσο και η έκφραση των μεταλλαγμένων μορφών p53 συνδέονται με τη ρύθμιση της μετάστασης. Η διάκριση μεταξύ των όγκων με απώλεια p53 και εκείνων με ένα μεταλλαγμένο φαινότυπο μπορεί να βοηθήσει στην πρόβλεψη της συμπεριφοράς του όγκου και την παροχή βοήθειας στους γιατρούς και τις αποφάσεις για τη θεραπεία. Όγκοι με απώλεια p53 μπορεί να είναι πιο πιθανό να αποκτήσουν την ικανότητα να υφίστανται μετάσταση στοχαστικά μέσω ταχύτερης ανάπτυξης, εξέλιξης και επακόλουθης απόκτησης μεταλλάξεων και με αλλαγές έκφρασης γονιδίου το οποίο διευκολύνει τη μετάσταση. Αντίθετα, οι όγκοι με μεταλλαγμένο φαινότυπο μπορεί να κάνουν μεταστάσεις ως άμεση συνέπεια της μετάλλαξης. Στο μέλλον, μπορεί να είναι δυνατόν να αποκατασταθεί η οδός WT p53 με θεραπευτικά μεταλλαγμένες πρωτεΐνες p53 σε όγκους με μεταλλάξεις TP53. Η διαφοροποίηση μεταξύ αυτών των δύο τύπων των διαταραχών p53 στον ανθρώπινο καρκίνο θα μπορούσαν επομένως να παρέχουν περισσότερο ακριβείς προβλέψεις και θεραπευτικές αγωγές.

## **Τα miRNAs ως προγνωστικοί δείκτες και θεραπευτικοί παράγοντες**

Τα miRNAs μπορεί να βρεθούν σε βιολογικά υγρά, όπως: το αίμα, τα ούρα, τα δάκρυα, το μητρικό γάλα, το βρογχικό έκπλυμα, το σπέρμα, το αμνιακό και τα εγκεφαλονωτιαία υγρά. Επιπλέον, τα miRNAs του ενδογενούς ορού είναι πολύ σταθερά, ακόμη και μετά το βρασμό, τον κύκλο ψύξης-απόψυξης, ή συνθήκες χαμηλού ή υψηλού pH, παρέχοντας έτσι ένα εύκολο υπόστρωμα για ανίχνευση και ανάλυση. Η ποσοτική ανίχνευση πολυμεράσης είναι η πιο εφικτή και οικονομικώς αποδοτική μέθοδος για την ανίχνευση της έκφρασης miRNA. Ωστόσο, ο προσδιορισμός αλληλουχίας επόμενης γενιάς θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μια εναλλακτική μέθοδος, ξεπερνώντας τη χρήση ομαλοποίησης των επιπέδων έκφρασης miRNA.

Τα miRNAs θα μπορούσαν ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικά εργαλεία στον καρκίνο. Ανάλογα με τις προκαρκινικές ή αντικαρκινικές ιδιότητες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές στρατηγικές που βασίζονται στην παρεμπόδιση της λειτουργίας των miRNA ή στην ειδική παράδοση miRNA με τα καρκινικά κύτταρα. Επί του παρόντος, διαφορετικές προκλινικές προσεγγίσεις κατευθύνονται για να εμποδίσουν τα miRNAs να αναπτύσσονται, οι οποίες περιλαμβάνουν αντι-miRNA ολιγονουκλεοτιδίων, miRNA σφουγγάρια, miRNA μάσκες (προστάτες στόχου), και μικρά μόρια αναστολείς (Garzon et al, 2010).

## **Μελλοντικές Προοπτικές**

Παρά το γεγονός ότι μια σειρά από θεμελιώδη ερωτήματα σχετικά με τη φύση του καρκινώματος της μετάστασης παραμένουν ημιτελώς κατανοητές, η πρόσφατη έρευνα έχει καταφέρει να εμπλέξει ειδικά μόρια στη ρύθμιση της κυτταρικής εισβολής-μετάσταση. Επιπλέον, ο ρόλος των στρωματικών κύτταρων κατά τη διάρκεια κάθε σταδίου της μεταστατικής διαδικασία αρχίζουν γρήγορα να εκτιμώνται. Σε πολλές περιπτώσεις, το έργο αυτό έχει αποκαλύψει απρόβλεπτες περιπλοκές και ανάγκασε την αναθεώρηση των καθιερωμένων εννοιολογικών πλαισίων. Κοιτώντας προς το μέλλον, οραματιζόμαστε ότι οι τεχνολογικές πρόοδοι θα συνεχίζουν να φέρουν

επανάσταση στη βιολογία του καρκίνου και στη μελέτη των μεταστάσεων. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 5 ετών, η κατανόηση για τα μονοπάτια της εισβολής-μετάστασης έχει εξελιχθεί από την σχεδόν πλήρη άγνοια σε ένα λεπτομερές μοριακό διάγραμμα κυκλώματος με σαφείς κεντρικούς κόμβους ελέγχου. Κατά συνέπεια, οραματιζόμαστε ότι μεταστατική συμπεριφορά θα είναι όλο και περισσότερο κατανοητή (Ricci-Vitiani et al., 2010; Wang et al., 2010).

Ένα αντικαρκινικό φάρμακο, που ακόμα βρίσκεται σε πειραματικό στάδιο, παρουσιάζει θετικές προοπτικές για τον περιορισμό της επέκτασης του καρκίνου του προστάτη στα οστά. Το εν λόγω φάρμακο ονομάζεται Doninitib και αναστέλλει τον αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών (FGF), ο οποίος επιτρέπει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. Οι ερευνητές, αφού πραγματοποίησαν πειράματα σε ποντίκια, δοκίμασαν το νέο φάρμακο σε έναν μικρό πληθυσμό αποτελούμενο από άνδρες καρκινοπαθείς. Η θεραπεία είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των μεταστάσεων στα οστά και τη βελτίωση της ποιότητάς τους. Επίσης, οι ασθενείς υποστήριξαν ότι πονούσαν λιγότερο. Οι ερευνητές σχεδιάζουν σε επόμενο στάδιο να αναζητήσουν νέα φάρμακα, που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με το Doninitib, για να βελτιώσουν περισσότερο την αποτελεσματικότητα της θεραπείας (Ra A.E. nen και Vaheri, 2010? Vong και Kalluri, 2011).

Ερευνητές του Πανεπιστημίου Στάνφορντ, προσπαθούν να μπλοκάρουν την εξάπλωση του καρκίνου από το αρχικό στάδιο. Ο τρόπος για να επιτευχθεί αυτό είναι να εμποδιστεί η βιοχημική αλληλεπίδραση δύο πρωτεϊνών - κλειδιά (της Ax1 και της Gas6) (Young-Pearse, 2010). Για να το πετύχουν αυτό, δημιούργησαν μέσω βιοτεχνολογίας μια αβλαβή πρωτεΐνη Ax1, που παρεμβαίνει και αλληλεπιδρά στη θέση της κανονικής πρωτεΐνης Ax1 με την Gas6. Η τροποποιημένη πρωτεΐνη Ax1 χορηγήθηκε ενδοφλέβια σε ποντίκια σε προχωρημένο στάδιο καρκίνου του μαστού ή ωθηκών. Μετά την θεραπεία, τα ποντίκια με καρκίνο του μαστού είχαν 78% λιγότερες μεταστάσεις σε σχέση με αυτά που δεν είχαν δεχτεί την ίδια θεραπεία, ενώ τα ποντίκια με καρκίνο των ωθηκών εμφάνιζαν μείωση 90%.



## Συμπεράσματα

Ο καρκίνος είναι μια σύνθετη και πολυπαραγοντική ασθένεια. Η διήθηση και η μετάσταση είναι τα πιο κρίσιμα γεγονότα του καρκίνου και είναι υπεύθυνα για τους θανάτους που οφείλονται σε αυτόν. Είναι γεγονός ότι εάν δεν υπήρχε η διήθηση του παρακείμενου ιστού και η μετάσταση, ο καρκίνος θα ήταν μια καλοήθης νόσος, διότι ο πρωτοπαθής όγκος συνήθως αφαιρείται.

Οι μεταστάσεις αντιπροσωπεύουν τα τελικά προϊόντα από μια κύτταρο-βιολογική διαδικασία πολλαπλών βημάτων η οποία περιλαμβάνει τη διάδοση των καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένες θέσεις οργάνων και την επακόλουθη προσαρμογή τους στο μικροπεριβάλλον του ξένου ιστού. Κάθε ένα από αυτά τα γεγονότα οδηγείται από την απόκτηση γενετικών ή / και επιγενετικών μεταβολών εντός καρκινικών κυττάρων και από την συν-επιλογή των μη-νεοπλαστικών στρωματικών κύτταρων, τα οποία μαζί προσδίδουν τα αρχόμενα μεταστατικά κύτταρα με τα χαρακτηριστικά που απαιτούνται για να παράγουν μακροσκοπικές μεταστάσεις. Πρόσφατες πρόοδοι έχουν παράσχει προκλητικές ιδέες σχετικά με αυτές τις κύτταρο-βιολογικές και μοριακές μεταβολές, οι οποίες φέρουν συνέπειες που σχετίζονται με την παθογένεση της μεταστατικής εξέλιξης και τα στάδια της εισβολής.

Ενώ η χειρουργική εκτομή και η επικουρική θεραπεία μπορούν να θεραπεύσουν και να περιορίσουν τους πρωτογενείς όγκους, η μεταστατική νόσος είναι σε μεγάλο βαθμό ανίατη λόγω της συστημικής φύσης της και της αντίστασης των κυττάρων όγκου που διαδίδονται με υφιστάμενους θεραπευτικούς παράγοντες. Αυτό εξηγεί γιατί πάνω από το 90% της θνησιμότητας από καρκίνο οφείλεται σε μεταστάσεις (Gupta et al, 2006; Steeg, 2006). Ως εκ τούτου, η ικανότητά μας για την αποτελεσματική αντιμετώπιση του καρκίνου εξαρτάται από την ικανότητά μας να απαγορευθεί σε μεγάλο βαθμό, και ίσως ακόμη και να αντιστραφεί, η διαδικασία της μετάστασης.

Παρόλο που η χειρουργική ικανότητα έχει βελτιωθεί, ωστόσο συνεχίζει να προκύπτει μεγάλη θνησιμότητα των ασθενών με καρκίνο εξαιτίας της παρουσίας απομακρυσμένων μεταστάσεων, μετατρέποντας αυτό το φαινόμενο από μια τοπική διαδικασία σε μια συστηματική νόσο. Ως εκ τούτου,

ένα μεγάλο μέρος της τρέχουσας προσπάθειας μας στην κατανόηση της βιολογίας του καρκίνου εστιάζεται στους μηχανισμούς της μετάστασης με απώτερο στόχο τη θεραπεία. Ενώ οι προκλήσεις της μετανάστευσης από την πρωτοβάθμια έως την απομακρυσμένη θέση και οι μηχανισμοί που επιτρέπουν τη δημιουργία μιας μικρομετάστασης είναι ακόμα νεφελώδεις, η κατανόηση της EMT και η απόκτηση των φαινοτύπων από τα καρκινικά κύτταρα έχει υποστεί μια έκρηξη την τελευταία δεκαετία. Η επεξεργασία των πολυάριθμων μονοπατιών σηματοδότησης που εμπλέκονται στην EMT μας έχει εφοδιάσει με ένα εκτεταμένο αριθμό πιθανών θεραπευτικών στόχων. Σε συνδυασμό με τη χειρουργική αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου και άλλων τρόπων θεραπείας, αυτοί οι πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι παρέχουν κάποια ελπίδα ότι μια συστηματική προσέγγιση για τη μείωση ή την ανατροπή των αλλαγών EMT και η στοχοθέτηση των συστατικών του μικροπεριβάλλοντος του όγκου μπορούν να μας επιτρέψουν να συνεχίσουμε την πορεία προς την αποτελεσματική πρόληψη και τη θεραπεία της μετάστασης του καρκίνου.

Η θνησιμότητα από τον καρκίνο οφείλεται στη μετάσταση κυττάρων του πρωτοπαθούς όγκου. Ταυτόχρονα η μετάσταση και η διήθηση είναι τα βασικότερα σημεία διάκρισης μεταξύ καλοήθους και κακοήθους νεοπλασίας. Ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό της μετάστασης είναι ότι ο εντοπισμός της δεν συμβαίνει τυχαία, αλλά σε επιλεγμένες προτιμώμενες θέσεις. Επιπλέον, πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της έρευνας του καρκίνου έχουν δείξει ότι το μικροπεριβάλλον παίζει πολύ σπουδαίο ρόλο στη μεταστατική διαδικασία. Η μεταστατική έκφυση απαιτεί ένα σωστό μικροπεριβάλλον όπου τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να επιβιώσουν, να ξεκινήσουν τον πολλαπλασιασμό τους και να δημιουργήσουν μια νέα μάζα όγκου.

Το μικροπεριβάλλον των στερεών όγκων είναι ένα ετερογενές, πολύπλοκη περιβάλλον για την ανάπτυξη του όγκου και την επιβίωσή του που περιλαμβάνει παθοφυσιολογικά χαρακτηριστικά, όπως η υποξία, το χαμηλό pH και η αυξημένη IFP λόγω κακώς δομημένης αγγειακής παροχής. Οι μηχανισμοί της μετάστασης συνεπάγονται μια πολύπλοκη συστοιχία γενετικών και επιγενετικών μεταβολών πολλές από τις οποίες φαίνεται να είναι ειδικές τόσο για διαφορετικούς τύπους όγκων όσο και για διαφορετικές θέσεις μετάστασης. Πρόσφατες μελέτες των βλαστικών κυττάρων σε όγκους

(Hill, 2007; Craig et al, 2006; Clarke et al, 2006) έχουν προτείνει ότι οι όγκοι μπορεί να περιέχουν μόνο ένα μικρό κλάσμα κυττάρων που είναι σε θέση να αναπαράγουν έναν όγκο και πιθανώς αυτά τα κύτταρα να έχουν μεταστατική ικανότητα.

Πιο συγκεκριμένα, έχουν αναγνωριστεί τα γονίδια των οποίων η έκφραση μεσολαβεί συγκεκριμένα στον μεταστατικό αποικισμό του καρκίνου του μαστού προς τα οστά, τον πνεύμονα και τον εγκέφαλο. Αυτά τα γονίδια ενορχηστρώνουν το συγκεκριμένο πρότυπο οργάνου της μεταστατικής εξάπλωσης ξεπερνώντας τις ασυμβατότητες μεταξύ των εγγενών χαρακτηριστικών των καρκινικών κυττάρων και τα "εμπόδια" που επιβάλλονται από το ξένο μικροπεριβάλλον. Ωστόσο, οι μηχανισμοί μετάστασης σε ειδικά όργανα δεν είναι καθολικοί.

Η έρευνα της μετάστασης έχει εισέλθει σε ένα στάδιο αξιοσημείωτης προόδου. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων πέντε ετών, η κατανόηση μας για τις οδούς που ενορχηστρώνουν τη μετάσταση έχει εξελιχθεί από σχεδόν πλήρη άγνοια σε ένα αναλυτικό διάγραμμα μοριακού κυκλώματος προικισμένο με σαφή κεντρικούς κόμβους ελέγχου. Κατά συνέπεια, οραματιζόμαστε ότι η μεταστατική συμπεριφορά θα γίνεται ολοένα και κατανοητή. Υπό το φως των τρομερών κλινικών πραγματικοτήτων που σχετίζονται με τη μεταστατική νόσο, δεν μπορούμε να υπερεκτιμήσουμε τη σημασία της διασφάλισης ότι αυτός ο εντυπωσιακός ρυθμός ανακάλυψης συνεχίζεται και, επιπλέον, συνοδεύεται από την ταχεία μετάφραση αυτών των βασικών ευρημάτων της έρευνας στην κλινική ογκολογία.

Ωστόσο, κοιτώντας προς το μέλλον, οραματιζόμαστε ότι οι τεχνολογικές εξελίξεις θα συνεχίσουν να φέρουν επανάσταση στη βιολογία του καρκίνου και στη μελέτη των μεταστάσεων. Ο ρόλος του μικροπεριβάλλοντος του όγκου προσδιορίζει τομείς για μελλοντική έρευνα και προτείνει πιθανές νέες θεραπευτικές οδούς. Στόχος είναι η αποκρυπτογράφηση του ρόλου του μικροπεριβάλλοντος τόσο στον πρωτογενή όγκο όσο και στη μεταστατική εξέλιξη.

## **Βιβλιογραφία**

Nguyen DX, Bos PD, Massague J. Metastasis from dissemination to organspecific colonization. *Nature Reviews Cancer* 2009;9(4):274–84.

Shibue T, Weinberg RA. Metastatic colonization: settlement, adaptation and propagation of tumor cells in a foreign tissue environment. *Seminars in Cancer Biology* 2011;21(2):99–106.

Sethi N, Kang Y. Unravelling the complexity of metastasis – molecular understanding and targeted therapies. *Nature Reviews Cancer* 2011;11(10):735–48.

Bos PD, Zhang XH, Nadal C, Shu W, Gomis RR, Nguyen DX, et al. Genes that mediate breast cancer metastasis to the brain. *Nature* 2009;459(7249):1005–9.

Yachida S, Jones S, Bozic I, Antal T, Leary R, Fu B, et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature* 2010;467(7319):1114–7.

Das, S. & Skobe, M. Lymphatic vessel activation in cancer. *Ann. NY Acad. Sci.* 1131, 235–241 (2008).

Saharinen, P., Tammela, T., Karkkainen, M. J. & Alitalo, K. Lymphatic vasculature: development, molecular regulation and role in tumor metastasis and inflammation. *Trends Immunol.* 25, 387–395 (2004).

Sleeman, J. P. The lymph node as a bridgehead in the metastatic dissemination of tumors. *Recent Results Cancer Res.* 157, 55–81 (2000).

Pantel, K. & Brakenhoff, R. H. Dissecting the metastatic cascade. *Nature Rev. Cancer* 4, 448–456 (2004).

Klein, C. A. & Holzel, D. Systemic cancer progression and tumor dormancy: mathematical models meet single cell genomics. *Cell Cycle* 5, 1788–1798 (2006).

Klein, C. A. et al. Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer. *Lancet* 360, 683–689 (2002).

Bussard, K. M., Gay, C. V. & Mastro, A. M. The bone microenvironment in metastasis; what is special about bone? *Cancer Metastasis Rev.* 27, 41–55 (2008).

Mundy, G. R. & Edwards, J. R. The osteoclast — not always guilty. *Cell. Metab.* 6, 157–159 (2007).

Mundy, G. R. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nature Rev. Cancer* 2, 584–593 (2002).

Mundy, G. R. Osteoporosis and inflammation. *Nutr. Rev.* 65, S147–151 (2007).

Leibbrandt, A. & Penninger, J. M. RANK/RANKL: regulators of immune responses and bone physiology. *Ann. NY Acad. Sci.* 1143, 123–150 (2008).

Kang, Y. et al. A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. *Cancer Cell* 3, 537–549 (2003).

Gupta, G. P. et al. Mediators of vascular remodeling co-opted for sequential steps in lung metastasis. *Nature* 446, 765–770 (2007).

Tang H, Wang J, Bai F, et al. Inhibition of Osteopontin would suppress angiogenesis in gastric cancer. *Biochem. Cell Biol.* 85; 2007: 103-110.

Rodrigues LR, Teixeira JA, Schmitt FL, et al. The Role of Osteopontin in Tumor Progression and Metastasis in Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16 (6): 1087-1097.

Mirza M, Shaughnessy E, Hurley JK, et al. Osteopontin-c is a selective marker of breast cancer. *Int J. Cancer* 122, 2008: 889-897.

Wang X, Chao L, Ma G, et al. Increased expression of osteopontin in patients with triple-negative breast cancer. *European Journal of Clinical Investigation*, Vol38, 2008: 438-446.

Bramwell VHC, Doig GS, Tuck AB, et al. Changes over time of extracellular domain of HER2 (ECD/HER2) serum levels have prognostic value in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* (2009) 114: 503-511.

Cui R, Takahashi F, Ohashi R, Yoshioka M, et al. Osteopontin is involved in the formation of malignant pleural effusion in lung cancer. *Lung Cancer* 2009; 63 (3): 368-374. 168

Chakraborty G, Jain S, Kundu GC. Osteopontin promotes vascular endothelial growth factor-dependent breast tumor growth and angiogenesis via autocrine and paracrine mechanisms. *Cancer Res* 2008; 68: 152–161.

Bos PD, Zhang XH, Nadal C, Shu W, Gomis RR, Nguyen DX, Minn AJ, van de Vijver MJ, Gerald WL, Foekens JA, Massagué J. Genes that mediate breast cancer metastasis to the brain. *Nature*. 2009;459:1005–1009.

Clark EA, Golub TR, Lander ES, Hynes RO. Genomic analysis of metastasis reveals an essential role for RhoC. *Nature*. 2000;406:532–535.

Cheung WK, Zhao M, Liu Z, Stevens LE, Cao PD, Fang JE, Westbrook TF, Nguyen DX. Control of alveolar differentiation by the lineage transcription factors GATA6 and HOPX inhibits lung adenocarcinoma metastasis. *Cancer Cell*. 2013;23:725–738.

Chen Q, Zhang XH, Massagué J. Macrophage binding to receptor VCAM-1 transmits survival signals in breast cancer cells that invade the lungs. *Cancer Cell*. 2011;20:538–549.

Gupta GP, Nguyen DX, Chiang AC, Bos PD, Kim JY, Nadal C, Gomis RR, Manova-Todorova K, Massagué J. Mediators of vascular remodelling co-opted for sequential steps in lung metastasis. *Nature*. 2007;446:765–770.

Weis S, Cui J, Barnes L, Cheresh D. Endothelial barrier disruption by VEGF-mediated Src activity potentiates tumor cell extravasation and metastasis. *J Cell Biol*. 2004;167:223–229.

Wolf MJ, Hoos A, Bauer J, Boettcher S, Knust M, Weber A, Simonavicius N, Schneider C, Lang M, Stürzl M, et al. Endothelial CCR2 signaling induced by

colon carcinoma cells enables extravasation via the JAK2-Stat5 and p38MAPK pathway. *Cancer Cell*. 2012;22:91–105.

Padua D, Zhang XH, Wang Q, Nadal C, Gerald WL, Gomis RR, Massagué J. TGFbeta primes breast tumors for lung metastasis seeding through angiopoietin-like 4. *Cell*. 2008;133:66–77.

Valastyan S, Reinhardt F, Benaich N, Calogrias D, Szász AM, Wang ZC, Brock JE, Richardson AL, Weinberg RA. A pleiotropically acting microRNA, miR-31, inhibits breast cancer metastasis. *Cell*. 2009;137:1032–1046.

Vanharanta S, Shu W, Brenet F, Hakimi AA, Heguy A, Viale A, Reuter VE, Hsieh JJ, Scandura JM, Massagué J. Epigenetic expansion of VHL-HIF signal output drives multiorgan metastasis in renal cancer. *Nat Med*. 2013;19:50–56.

Zhang XH, Wang Q, Gerald W, Hudis CA, Norton L, Smid M, Foekens JA, Massagué J. Latent bone metastasis in breast cancer tied to Src-dependent survival signals. *Cancer Cell*. 2009;16:67–78.

Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer*. 2009a;9:274–284.

Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM, Bos PD, Shu W, Giri DD, Viale A, Olshen AB, Gerald WL, Massagué J. Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. *Nature*. 2005;436:518–524.

Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD, Gerald WL, Massagué J. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature*. 2008;451:147–152.

Kardamakis D. Πανεπιστημιακές παραδόσεις ακτινοβιολογίας, ακτινοπροστασίας και ακτινοθεραπείας. Πάτρα 2004.

Παντελάκος Σ. Παναγιώτης. Διασφάλιση ποιότητας στην Ακτινοθεραπεία. 2οΔιαιτητικό Αντικαρκινικό Συνέδριο (2005) 364-375.

Johanna, A. Joyce, Jeffrey W. Pollard. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nature reviews | cancer*. volume 9 | april 2009 | 239-252.

A. K. Croker, A. L. Allan. Cancer stem cells: implications for the progression and treatment of metastatic disease. *J. Cell. Mol. Med.* Vol 12, No 2, 2008 pp. 374-390.

Rawlins, E.L. & Hogan, B.L. (2006) Epithelial stem cells of the lung: privileged few or opportunities for many? *Development*, Vol.133, No.13, (July 2006), pp. 2455-2465, ISSN 1011-6370.

Blanpain C, Fuchs E. (2009) Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin, *Nat Rev Mol Cell Biol*, Vol.10, No.3, (March 2009), pp. 207-217, ISSN 1471-0072.

Snippert, H.J. van der Flier, L.G. Sato, T. van Es, J.H. van den Born, M. Kroon-Veenboer, C. Barker, N. Klein, A.M. van Rheenen, J. Simons, B.D. Clevers, H. (2010). Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells. *Cell*, Vol.143, No.1, (October 2010), pp. 134-144, ISSN 0092- 8674.

Ide T, Kitajima Y, Miyoshi A et al (2006) Tumor-stromal cell interaction under hypoxia increases the invasiveness of pancreatic cancer cells through the hepatocyte growth factor/c-Met pathway. *Int J Cancer* 119(12):2750–2759. doi:10.1002/ijc.22178.

H. Yadav and H. G. ShivakumarIn (2012), Vitro and In Vivo Evaluation of pH-Sensitive Hydrogels of Carboxymethyl Chitosan for Intestinal Delivery of Theophylline, Department of Pharmaceutics, JSS College of Pharmacy, JSS University, Sri Shivarathreeshwara Nagar, Karnataka, Mysore 570 015, India.

Radisky DC, Kenny PA, Bissell MJ *J Cell Biochem* (2007), Fibrosis and cancer: Do myofibroblasts come also from epithelial cells via EMT?

Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008;454:436–44. doi: 10.1038/nature07205.

Cordon-Cardo C, Prives C. At the crossroads of inflammation and tumorigenesis. *J Exp Med*. 1999;190:1367–70. doi: 10.1084/jem.190.10.1367.



Higgins DF, Kimura K, Bernhardt WM, Shrimanker N, Akai Y, Hohenstein B, Saito Y, Johnson RS, Kretzler M, Cohen CD, Eckardt KU, Iwano M, Haase VH. Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Clin Invest*. 2007;117:3810–20.

Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:3983–8. doi: 10.1073/pnas.0530291100.

O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*. 2007;445:106–10. doi: 10.1038/nature05372.

Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD, Dirks PB. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*. 2004;432:396–401. doi: 10.1038/nature03128.

Ouyang G, Wang Z, Fang X, Liu J, Yang CJ. Molecular signaling of the epithelial to mesenchymal transition in generating and maintaining cancer stem cells. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67:2605–18. doi: 10.1007/s00018-010-0338-2.

Yook JI, Li XY, Ota I, Fearon ER, Weiss SJ. Wnt-dependent regulation of the E-cadherin repressor snail. *J Biol Chem*. 2005;280:11740–11748.

Yang J, Mani SA, Donaher JL, Ramaswamy S, Itzykson RA, Come C, Savagner P, Gitelman I, Richardson A, Weinberg RA. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell*. 2004;117:927–939.

Fuxe J, Vincent T, Garcia de Herreros A. Transcriptional crosstalk between TGF-beta and stem cell pathways in tumor cell invasion: role of EMT promoting Smad complexes. *Cell Cycle*. 2010;9:2363–2374.

Bracken CP, Gregory PA, Kolesnikoff N, Bert AG, Wang J, Shannon MF, Goodall GJ. A double-negative feedback loop between ZEB1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res*. 2008;68:7846–7854.

Gregory PA, Bracken CP, Bert AG, Goodall GJ. MicroRNAs as regulators of epithelial-mesenchymal transition. *Cell Cycle*. 2008;7:3112–3118.

Muller PA , Vousden KH , Norman JC . p53 and its mutants in tumor cell migration and invasion . *J Cell Biol* 2011 ; 192 : 209 – 18 .

Lang GA , Iwakuma T , Suh YA , Liu G , Rao VA , Parant JM , et al. Gain of function of a p53 hot spot mutation in a mouse model of Li- Fraumeni syndrome . *Cell* 2004 ; 119 : 861 – 72 .

Olive KP , Tuveson DA , Ruhe ZC , Yin B , Willis NA , Bronson RT , et al. Mutant p53 gain of function in two mouse models of Li-Fraumeni syndrome . *Cell* 2004 ; 119 : 847 – 60 .

Iwakuma T , Lozano G . Crippling p53 activities via knock-in mutations in mouse models . *Oncogene* 2007 ; 26 : 2177 – 84 .

Matas D , Sigal A , Stambolsky P , Milyavsky M , Weisz L , Schwartz D , et al. Integrity of the N-terminal transcription domain of p53 is required for mutant p53 interference with drug-induced apoptosis. *EMBO J* 2001 ; 20 : 4163 – 72 .

Weisz L , Zalcenstein A , Stambolsky P , Cohen Y , Goldfinger N , Oren M , et al. Transactivation of the EGR1 gene contributes to mutant p53 gain of function . *Cancer Res* 2004 ; 64 : 8318 – 27 .

Zalcenstein A , Weisz L , Stambolsky P , Bar J , Rotter V , Oren M . Repression of the MSP/MST-1 gene contributes to the antiapoptotic gain of function of mutant p53 . *Oncogene* 2006 ; 25 : 359 – 69 .

Suad O , Rozenberg H , Brosh R , Diskin-Posner Y , Kessler N , Shimon LJ , et al. Structural basis of restoring sequence-specific DNA binding and transactivation to mutant p53 by suppressor mutations . *J Mol Biol* 2009 ; 385 : 249 – 65 .

Wang SP , Wang WL , Chang YL , Wu CT , Chao YC , Kao SH , et al. p53 controls cancer cell invasion by inducing the MDM2-mediated degradation of Slug . *Nat Cell Biol* 2009 ; 11 : 694 – 704 .

Zhang Z, Zhang B, Li W, et al. Epigenetic Silencing of miR-203 Upregulates SNAI2 and Contributes to the Invasiveness of Malignant Breast Cancer Cells. *Genes Cancer*. 2011;2(8):782–791.

Kim NH, Kim HS, Li XY, et al. A p53/miRNA-34 axis regulates Snail1-dependent cancer cell epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Biol*. 2011;195(3):417–433.

Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature*. 2008;451(7175):147–152.

Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9(10): 775–789.

Hill RP, Perris R (2007) “Destemming” cancer stem cells. *J Natl Cancer Inst* 99(19):1435–1440. doi:10.1093/jnci/djm136

Craig T, Jordan MLG, Noble M (2006) Cancer stem cells. *N Engl J Med* 355(12):1253–1261. doi:10.1056/NEJMra061808

Clarke MF, Dick JE, Dirks PB et al (2006) Cancer stem cells– perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells. *Cancer Res* 66(19):9339–9344

Gupta GP, Massagué J *Cell*. 2006 Nov 17; 127(4):679-95.

Steege PS *Nat Med*. 2006 Aug; 12(8):895-904.

Kaplan, R. N. et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* 438, 820–827 (2005). This study first defined the concept of the pre-metastatic niche and identified VEGFR1+ bone marrow-derived progenitors as key cells in establishing the niche, a process mediated in part through integrin  $\alpha 4$  and fibronectin.

Rafii, S. & Lyden, D. S100 chemokines mediate bookmarking of premetastatic niches. *Nature Cell Biol*. 8, 1321–1323 (2006).

Wels, J., Kaplan, R. N., Rafii, S. & Lyden, D. Migratory neighbors and distant invaders: tumor-associated niche cells. *Genes Dev*. 22, 559–574 (2008).

McAllister, S. S. et al. Systemic endocrine instigation of indolent tumor growth requires osteopontin. *Cell* 133, 994–1005 (2008). This paper showed that human breast carcinomas instigate the growth of otherwise indolent cancer cells, through a phenomenon involving BMDC recruitment and osteopontin signalling.

Mai J, Sameni M, Mikkelsen T, Sloane BF. Degradation of extracellular matrix protein tenascin-C by cathepsin B: an interaction involved in the progression of gliomas. *Biol Chem.* 2002;383:1407–1413

Alvarez RH. (2010). Present and future evolution of advanced breast cancer therapy. *Breast Cancer Res*, 12 (suppl 2):S1.

Aokage K, Ishii G, Ohtaki Y, Yamaguchi Y, Hishida T, Yoshida J, Nishimura M., Nagai K., Ochiai A. (2011). Dynamic molecular changes associated with epithelial-mesenchymal transition and subsequent mesenchymal-epithelial transition in the early phase of metastatic tumor formation. *Int J Cancer*,128:1585–95.

Aoudjit F., Vuori K. (2012). Integrin Signaling in Cancer Cell Survival and Chemoresistance. *Chemotherapy Research and Practice*, Volume 2012, Article ID 283181, 16 pages, doi:10.1155/2012/283181.

Bergman A., Condeelis JS., Gligorijevic B. (2014). Invadopodia in context. *Cell Adhesion & Migration*, 8(3):1-7.

Cairns RA, Kalliomaki T, Hill RP. (2001). Acute (cyclic) hypoxia enhances spontaneous metastasis of KHT murine tumors. *Cancer Res*, 61(24):8903–8908.

Cairns RA, Hill RP. (2004). Acute hypoxia enhances spontaneous lymph node metastasis in an orthotopic murine model of human cervical carcinoma. *Cancer Res*, 64(6):2054–2061. doi:10.1158/0008-5472.CAN-03-3196.

Calabrese, C., Poppleton, H., Kocak, M., Hogg, TL., Fuller, C., Hamner, B., Oh, EY., Gaber, MW., Finklestein, D., Allen, M., Frank A., Bayazitov IT., Zakharenko SS., Gajjar A., Davidoff A., Gilberston RJ. (2007). A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell*, 11, 69–82.

Chan KT, Cortesio CL, Huttenlocher A. (2009). FAK alters invadopodia and focal adhesion composition and dynamics to regulate breast cancer invasion. *J Cell Biol*, 185:357-70.

Chao YL, Shepard CR, Wells A. (2010). Breast carcinoma cells re-express E-cadherin during mesenchymal to epithelial reverting transition. *Mol Cancer*, 9:179.

Chu JE., Allan AL. (2012). The Role of Cancer Stem Cells in the Organ Tropism of Breast Cancer Metastasis: A Mechanistic Balance between the “Seed” and the “Soil”? *International Journal of Breast Cancer* Volume 2012 , Article ID 209748, 12 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2012/209748>

Diaz – Lopez A., Moreno – Bueno G., Cano A. (2014). Role of microRNA in epithelial to mesenchymal transition and metastasis and clinical perspectives. *Cancer Management and Research*, 6: 205–216.

Eckert MA, Lwin TM, Chang AT, Kim J, Danis E, Ohno-Machado L, Yang J. (2011). Twist1-induced invadopodia formation promotes tumor metastasis. *Cancer Cell*, 19:372-86.

Egeblad M., Werb Z. (2002). New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat. Rev. Cancer*, 2: 161–174.

Estrella V., Chen T., Lloyd M., Wojtkowiak J., Cornell HH., Ibrahim-Hashim A., Bailey K., Balagurunathan Y., Rothberg JM., Sloane BF., Johnson J., Gatenby RA., Gillies RJ. (2013). Acidity generated by the tumor microenvironment drives local invasion. *Cancer Res.*, 73(5): 1524–1535.

Gil-Henn H, Patsialou A, Wang Y, Warren MS, Condeelis JS, Koleske AJ. (2013). Arg/Abl2 promotes invasion and attenuates proliferation of breast cancer in vivo. *Oncogene*, 32:2622-30.

Gligorijevic B, Wyckoff J, Yamaguchi H, Wang Y, Roussos ET, Condeelis J. (2012). N-WASP-mediated invadopodium formation is involved in

intravasation and lung metastasis of mammary tumors. *J Cell Sci*, 125:724-34.

Goel HL., Mercurio AM. (2013). VEGF targets the tumour cell. *Nature Reviews Cancer*, 13: 871–882.

Guo S., Liu M., Gonzalez – Perez RR. (2011). Role of Notch and its oncogenic signaling crosstalk in breast cancer. *Biochim Biophys Acta.*, 1815(2): 197–213.

Hanahan D., Coussens LM. (2012). Accessories to the Crime: Functions of Cells Recruited to the Tumor Microenvironment. *Cancer Cell*, 21: 309 – 322.

Hauselmann I., Borsig L. (2014). Altered tumor-cell glycosylation promotes metastasis. *Front. Oncol*, 4: 28, doi: 10.3389/fonc.2014.00028.

Hompland T., Ellingsen C., Ovrebo KM., Rofstad EK. (2012). Interstitial Fluid Pressure and Associated Lymph Node Metastasis Revealed in Tumors by Dynamic Contrast-Enhanced MRI. *Cancer Res*, 72(19):4899-908.

Johnson KE., Wilgus TA. (2012). Multiple Roles for VEGF in Non-Melanoma Skin Cancer: Angiogenesis and Beyond. *Journal of Skin Cancer* Volume 2012 (2012), Article ID 483439, 6 pages

<http://dx.doi.org/10.1155/2012/483439>

Joyce JA., Pollard JW. (2009). Microenvironmental regulation of metastasis. *Nature reviews/ Cancer*, 9: 239-252.

Kamar G F, Posner B J. (2010).Cerebral metastases. *Seminars in Neurology*, 30(3): 15 – 40.

Kaplan RN., Riba R.D., Zacharoulis S., Bramley AH., Vincent L., Costa C., MacDonald DD., Jin DK., Shido K., Kerns SA., Zhu Z., Hicklin D., Wu Y., Port JL., Altorki N., Port ER., Ruggero D., Shmelkov SV., Jensen KK., Rafii S., Lyden D. (2005). VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature*, 438: 820–827.

Kato Y., Ozawa S., Miyamoto C., Maehata Y., Suzuki A., Maeda T., Baba Y. (2013). Acidic extracellular microenvironment and cancer. *Cancer Cell International*, 13:89 Page 2 of 8 <http://www.cancer-ci.com/content/13/1/89>

Kidd S., Spaeth E., Dembinski JL., Dietrich M., Watson K., Klopp A., Battula VL., Weil M., Andreeff M., Marini FC. (2009). Direct evidence of mesenchymal stem cell tropism for tumor and wounding microenvironments using in vivo bioluminescent imaging. *Stem Cells*, 27: 2614–2623.

Killian PH., Kronski E., Michalik KM, Barbieri O., Astigiano S., Sommerhoff CP., Pfeffer U., Nerlich AG., Bachmeier BE. (2012). Curcumin inhibits prostate cancer metastasis in vivo by targeting the inflammatory cytokines CXCL1 and -2. *Carcinogenesis*, 33 (12): 2507-2519.

Korkaya H., Liu S., Wicha MS. (2011). Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. *J. Clin. Invest*, 121: 3804–3809.

Linder S. (2007). The matrix corroded: podosomes and invadopodia in extracellular matrix degradation. *Trends Cell Biol*, 17:107-17.

**Liu S**, Ginestier C, Ou SJ, Clouthier SG, Patel SH, Monville F, Korkaya H, Heath A, Dutcher J, Kleer CG, Jung Y, Dontu G, Taichman R, Wicha MS. (2011). Breast cancer stem cells are regulated by mesenchymal stem cells through cytokine networks. *Cancer Res*, 71(2):614-624.

Lopez-Otin C., Palavalli LH., Samuels Y. (2009). Protective roles of matrix metallo-proteinases: from mouse models to human cancer. *Cell Cycle*, 8: 3657–3662.

Lunt JS., Chaudary N., Hill RP. (2009). The tumor microenvironment and metastatic disease. *Clin Exp Metastasis*, 26:19–34. DOI 10.1007/s10585-008-9182-2.

Minn AJ., Kang Y., Serganova I., Gupta GP., Giri DD., Doubrovin M., Ponomarev V., Gerald WL. (2005). Distinct organ-specific metastatic potential of individual breast cancer cells and primary tumors. *J Clin Invest.*, 115(1):44–55.

Minn AJ, Gupta GP., Padua D., Bos P., Nguyen DX., Nuyten D., Kreike B., Zhang Y., Wang Y., Ishwaran H., Foekens JA., van de Vijver M., Massague J. (2007) Lung metastasis genes couple breast tumor size and metastatic spread. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104:6740–6745.

Moro N., Mauch C., Zigrino P. (2014). Metalloproteinases in melanoma. *European Journal of Cell Biology*, 93 : 23–29.

Murphy DA, Courtneidge SA. (2011). The ‘ins’ and ‘outs’ of podosomes and invadopodia: characteristics, formation and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 12:413-26.

Nurnberg A., Kitzing T., Grosse R. (2011). Nucleating actin for invasion. *Nature Reviews Cancer* 11: 177-187.

Oser M, Yamaguchi H, Mader CC, Bravo-Cordero JJ, Arias M, Chen X, Desmarais V, van Rheenen J, Koleske AJ, Condeelis J. (2009). Cortactin regulates cofilin and N-WASp activities to control the stages of invadopodium assembly and maturation. *J Cell Biol*, 186:571-87.

Perlikos F., Harrington KJ., Syrigos KN. (2013). Key molecular mechanisms in lung cancer invasion and metastasis: A comprehensive review. *Critical Reviews in Oncology / Hematology*, 87(1): 1-11.

Psaila B., Lyden D. (2009). The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat. Rev. Cancer*, 9: 285–293.

Sarmiento C, Wang W, Dovas A, Yamaguchi H, Sidani M, El-Sibai M, Desmarais V, Holman HA, Kitchen S, Backer JM, Alberts A, Condeelis J. (2008). WASP family members and formin proteins coordinate regulation of cell protrusions in carcinoma cells. *J Cell Biol*, 180:1245-60.

Spaeth E, Klopp A, Dembinski J, Andreeff M, Marini F. (2008). Inflammation and tumor microenvironments: defining the migratory itinerary of mesenchymal stem cells. *Gene Ther.*, 15 : 730–738.

Spaeth EL, Dembinski JL, Sasser AK, Watson K, Klopp A, Hall B, Andreeff M, Marini F. (2009). Mesenchymal stem cell transition to tumor-associated



fibroblasts contributes to fibrovascular network expansion and tumor progression. *PLoS ONE* 4, e4992.

Sterling, P. (2004). Principles of allostasis: optimal design, predictive regulation, pathophysiology and rational therapeutics. In: Schulkin, J. (Ed.), *Allostasis, Homeostasis, and the Costs of Adaptation*. Cambridge University Press, Cambridge.

Suzuki, M., Mose, E. S., Montel, V., Tarin, D. (2006). Dormant cancer cells retrieved from metastasis-free organs regain tumorigenic and metastatic potency. *Am. J. Pathol.*, 169: 673–681.

.Thurston G., Daly C. (2012). The complex role of angiopoietin – 2 in the angiopoietin – Tie signalling pathway. *Cold Spring Harb Perspect Med*, <http://perspectivesinmedicine.org/content/early/2012/04/10/cshperspect.a006650.full.pdf>

Wells A, Chao YL, Grahovac J, Wu Q, Lauffenburger DA. (2011). Epithelial and mesenchymal phenotypic switchings modulate cell motility in metastasis. *Front Biosci*, 16:815–37.

Wojtkowiak JW., Rothberg JM., Kumar V., Schramm KJ., Haller E., Proemsey JB., Lloyd MC., Sloane BF., Gillies RJ. (2012). Chronic Autophagy Is a Cellular Adaptation to Tumor Acidic pH Microenvironments. *Cancer Res*, 72(16):3938-47.

Yao D., Dai C., Peng S. (2011). Mechanism of the Mesenchymal–Epithelial Transition and Its Relationship with Metastatic Tumor Formation. *Mol Cancer Res*, 9:1608-1620.

#### Ελληνική βιβλιογραφία

Βαλερή PM.(2011). Εξελίξεις στην κυτταρολογική διάγνωση του καρκίνου του μαστού. Πρακτικά 9ου Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Κυτταρολογίας, Βουλιαγμένη.

Ζαφράκας Μ., Λαμπρόπουλος Α., Ταρλατζής Β. (2009α). Μοριακή Βιολογία και καρκίνος του μαστού: από τη βασική έρευνα στην κλινική πράξη. *Ελληνική Μαιευτική και Γυναικολογία*, 21(2):155-163.

Ζυγά Σ. (2012). Προσαρμογή στο Στρες. Τμήμα Νοσηλευτικής, Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου, Σπάρτη. Επαγγελματών Υγείας και Πρόνοιας, Α.Τ.Ε.Ι Κρήτης, Ηράκλειο.