

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Η κυτταρική αντίσταση στον προγραμματισμένο και ανοίκειο θάνατο ως αίτιο θεραπευτικής αποτυχίας στον καρκίνο του πνεύμονα

Κύτταρα απαλλαγμένα του υποστρώματός τους, εκτός των κυττάρων του αιμοποιητικού ιστού, έχουν την ικανότητα να ανθίστανται στον ανοίκειο θάνατο (anoikis, άστεγος). Ο ανοίκειος θάνατος αποτελεί υπότυπο του προγραμματισμένου θανάτου και παριστά πρόβλεψη αποφυγής εμφύτευσης αποκολλημένων κυττάρων σε ακατάλληλα υποστρώματα. Τα αποκολλημένα καρκινικά κύτταρα έχουν χαμηλότερους ρυθμούς αναπαραγωγής, μεγαλύτερη αντίσταση στη χημειοθεραπεία, αποτελούν το έναυσμα των μεταστάσεων, ενώ ανθίστανται στον ανοίκειο θάνατο. Αυτό εν μέρει ερμηνεύει την αδυναμία των σύγχρονων πρωτοκόλλων χημειοθεραπείας να εκριζώσουν τις μικρομεταστάσεις και τη συχνότητα των υποτροπών μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας. Η αποφυγή του ανοίκειου και προγραμματισμένου θανάτου αποτελεί ένα από τα χαρακτηριστικά της καρκινογένεσης, αλλά οι κυτταρικές διαδικασίες που οδηγούν σε αυτόν δεν έχουν διευκρινιστεί απόλυτα.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καρκίνος του πνεύμονα (ΚΠ) αριθμεί >1,4 εκατομμύρια θανάτους στον ανεπτυγμένο, ιδίως, κόσμο,¹⁻³ που αντιστοιχούν στο 18% των θανάτων από νεοπλασμάτα όλων των εντοπίσεων.⁴ Στην Ευρώπη, ο ΚΠ είναι ο συχνότερος θανατηφόρος καρκίνος (20,8%), προκαλώντας >266.000 θανάτους κατ' έτος.⁵ Η οριστική εξαίρεση, στα πρώιμα στάδια της πάθησης, εξακολουθεί να είναι η αποδοτικότερη μέθοδος θεραπείας, αλλά η πλειονότητα των ασθενών διαγιγνώσκεται στα όψιμα στάδια της πάθησης, όταν η χειρουργική θεραπεία δεν είναι πλέον εφικτή. Η πενταετής επιβίωση μειώνεται ανάλογα με το στάδιο της πάθησης από 50% στο στάδιο ΙΑ στο 43%, 36%, 25%, 19%, 7% και 2% για τα στάδια ΙΒ, ΙΙΑ, ΙΙΒ, ΙΙΑ, ΙΙΙΒ και ΙV, αντίστοιχα.⁶

Μείζον πρόβλημα αποτελεί η έλλειψη κλινικά αποδοτικής, μη παρεμβατικής μεθόδου πρώιμης διάγνωσης και προσυμπτωματικής εντόπισης των ατόμων σε υψηλό κίνδυνο. Στο παρελθόν, οι συχνότερες μέθοδοι προσυμπτωματικού ελέγχου, όπως η κυτταρολογική πτυέλων και η ακτινογραφία θώρακα, δεν υπήρξαν ικανές να μειώσουν

τη θνητότητα της πάθησης,⁷ αλλά τα αποτελέσματα από την ελικοειδή (χαμηλής έκθεσης σε ιονίζουσα ακτινοβολία) αξονική τομογραφία θεωρήθηκε ότι θα μπορούσαν να ανιχνεύσουν εξαιρεσίμους όγκους, με την προϋπόθεση ότι έχουν επιλεγεί προσεκτικά τα άτομα υπό υψηλό κίνδυνο και έχει διενεργηθεί λεπτομερής διαφορική διάγνωση.⁸ Στην πραγματικότητα, βέβαια, ακόμη και οι ασθενείς σταδίου Ι έχουν προσδόκιμο πενταετούς επιβίωσης μετά την εξαίρεση 60-70%, αν και ποσοστό >70% αναγνωρίζονται ενώ ήδη διατρέχουν στάδια ΙΙ-ΙV, όπου η εξαίρεση είναι πολύ περιορισμένης σημασίας.⁹

Ο ΚΠ είναι πάθηση η οποία χαρακτηρίζεται από πληθώρα γενετικών και μοριοβιολογικών μεταβολών που εισφέρουν στην καρκινογένεση, επάγοντας την ενεργοποίηση ογκογονιδίων ή καταστέλλοντας γονίδια με αποστολή την καταστολή του όγκου. Επομένως, η αναγνώριση νέων μοριακών μεθοδολογιών είναι αναγκαία προκειμένου να διευκολυνθεί η πρώιμη διάγνωση του ΚΠ. Ο ΚΠ συνδέεται με πληθώρα γενετικών μεταβολών, μεταξύ των οποίων οι μεταλλάξεις του *p53* και του *K-ras*,¹⁰ η αδρανοποίηση του γονιδίου της τριάδας της εύθραυστης ιστιδίνης¹¹ και η ανα-

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2016, 33(4):458-471
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2016, 33(4):458-471

Β. Χατζημαυρίδου-Γρηγοριάδου,^{1,2}
Α.Γ. Μαθιουδάκης,^{1,2}
Γ.Α. Μαθιουδάκης,¹
Ε. Ευαγγελοπούλου²

¹Πνευμονολογικό Κέντρο Αθηνών,
Αθήνα

²Πνευμονολογική Κλινική, Γενικό
Νοσοκομείο Νίκαιας «Άγιος
Παντελεήμων», Πειραιάς

Cellular resistance to anoikis and
programmed death as a cause of
treatment failure in lung cancer

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Ανοίκειος θάνατος
Καρκίνος πνεύμονα
Προγραμματισμένος θάνατος
Χημειοθεραπεία

Υποβλήθηκε 1.11.2015

Εγκρίθηκε 29.12.2015

τροπή της ισορροπίας αλληλίων σε πληθώρα χρωμοσωμιακών τόπων.^{12,13} Γενικά, πιστεύεται ότι ο ΚΠ είναι μια πάθηση σταδιακής γενετικής μετατροπής,¹⁴ που χαρακτηρίζεται ως παράκαμψη του προγραμματισμένου και ανοίκειου θανάτου των καρκινικών κυττάρων. Πρόσφατες μελέτες επιβεβαιώνουν ότι είναι δυνατή η εντόπιση γενετικών ανωμαλιών από DNA πλάσματος ασθενών με ΚΠ.

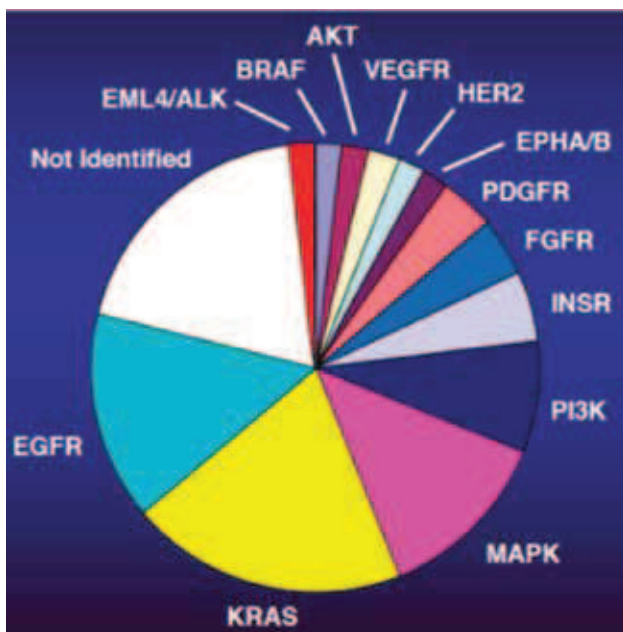
2. ΒΑΣΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Η κατανόηση της παθογένειας του καρκίνου του πνεύμονα προϋποθέτει επαρκή γνώση της Μοριακής Βιολογίας και της Γενετικής. Το δίκτυο Hanahan και Weinberg (εικ. 1) συμπυκνώνει τα κυριότερα γονίδια που έχουν βρεθεί έως τώρα να συνεισφέρουν στην παθογένεια του ΚΠ.¹⁵ Στον καρκίνο, γενικά, ο διεξοδικός έλεγχος της κυτταρικής ανάπτυξης έχει απολεσθεί, επιτρέποντας έτσι τον αέναο πολλαπλασιασμό των κυττάρων.¹⁶ Η ρυθμισμένη ομοιοστασία έχει καταρρεύσει, καθώς τα κύτταρα έχουν αποκτήσει την ικανότητα να παράγουν τους δικούς τους αυξητικούς παράγοντες, όσο και να αυξήσουν την ευαισθησία τους στους εξωγενείς. Κρίσιμοι παράγοντες της εν λόγω παρακρινούς και αυτοκρινούς συμπεριφοράς κωδικοποιούνται από τα πρωτοογκογονίδια, πολλά από τα οποία ενεργοποιούνται στον ΚΠ. Τα πρωτοογκογονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες κρίσιμης σημασίας για τη φυσιολογική ανάπτυξη των κυττάρων, αλλά ονομάζονται ογκογονίδια μόνο εφόσον έχουν μεταπέσει σε παθολογική ενεργοποίηση, που συνήθως είναι

αποτέλεσμα σημειακών μεταλλάξεων ή χρωμοσωμικών μετατοπίσεων, απολήγοντας στη λειτουργική ενεργοποίηση του κυττάρου.¹⁷

Όπως είναι γνωστό, ο κυτταρικός κύκλος αποτελείται από μια αλληλουχία γεγονότων, από τον διπλασιασμό του DNA, το RNA και τη διαδικασία της μεταγραφής, μέχρι τη σύμπληξη ειδικών πρωτεϊνών με τη διαδικασία της μετάφρασης. Στον ΚΠ παρατηρούνται μεταβολές στη δομή και στη μεταγραφή του DNA, με αποτέλεσμα αναστολή των κρίσιμων διαδικασιών που συνδέονται με τον κυτταρικό κύκλο. Το DNA είναι ένα γραμμικό πολυμερές τεσσάρων βάσεων (αδενίνης Α, γουανίνης Γ, κυτοσίνης Κ και θυμίνης Θ) επί του οποίου αναπτύσσεται ο γενετικός κώδικας. Οι βάσεις αυτές προσδέονται σε έναν αμετάβλητο σκελετό σακχάρων δεοξυριβόζης που συνδέονται με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Δύο δεσμίδες του DNA, μετά από υβριδισμό, σχηματίζουν μια διπλή έλικα, μέσω δεσμών υδρογόνου, μεταξύ των βάσεων Α με την Τ και της Γ με τη Θ.¹⁸ Η διπλή έλικα του DNA συνδεόμενη με βοηθητικές πρωτεΐνες, όπως οι ιστόνες, διαμορφώνουν τη χρωματίνη. Για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της μεταγραφής και του διπλασιασμού, το DNA πρέπει να αποσυμπλεχθεί προηγουμένως από τις ιστόνες του, προκειμένου να επιτραπεί η κατάλληλη μοριακή σύνδεση. Τα γονίδια αποτελούν τις βασικές μονάδες κληρονομικότητας και κωδικοποιούνται στο DNA. Η γραμμική αλληλουχία των βάσεων, σε ομάδες των τριών, ορίζει κάθε αμινοξύ που θα ενταχθεί στη σύνθεση μιας πρωτεΐνης. Μπορούν να διαμορφωθούν 3 δισεκατομμύρια ζεύγη στο ανθρώπινο γονιδίωμα,¹⁹ αλλά μόνο το 1–2% περίπου αυτών κωδικοποιούνται, με αποτέλεσμα τη διαμόρφωση 30.000–40.000 γονιδίων. Η δομή των γονιδίων αποτελείται από δύο βασικές συστατικές περιοχές: την κωδικεύουσα περιοχή και την προαγωγική. Η προαγωγική αποτελεί τμήμα του DNA, ανιόντως της κωδικεύουσας περιοχής, η οποία, σε συμφωνία με άλλες επαγωγικές ή σιωπούσες περιοχές του DNA και πολυάριθμες πρωτεΐνες, ελέγχουν τη μεταγραφή των γονιδίων. Η εν λόγω ρύθμιση εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως ο τύπος και οι καταπονήσεις των κυττάρων και τα εξωκυττάρια σήματα.²⁰

Μια ιδιαίτερα σημαντική μέθοδος μέσω της οποίας πραγματοποιείται μεταγραφή γονιδίων στον καρκίνο είναι η μεθυλίωση της επαγωγικής περιοχής, που οδηγεί στη μετατροπή του σε σιωπηρό γονίδιο. Κατά την εν λόγω διαδικασία, που είναι γνωστή και ως «επιγενετική», μεθυλιώνεται η κυτοσίνη που προηγείται της γουανωσίνης (CpG δινουκλεοτίδιο) στην αλληλουχία του DNA. Αν και αυτή είναι μια φυσιολογική διαδικασία, μέσω της οποίας το κύτταρο αναστέλλει τη μεταγραφή, έχουν παρατηρηθεί παθολογικές συγκεντρώσεις μεθυλιωμένης κυτοσίνης επί ΚΠ.²¹ Η συγκεκριμένη αναστολή, μέσω απόκλισης της



Εικόνα 1. Συχνότητα μοριακών διαταραχών σε καρκίνο του πνεύμονα.

μεταγραφής, φαίνεται ότι διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη διάσπαση των κατασταλτικών ογκογονιδίων. Πρακτικά, η αναστολή της μεταγραφής παρατηρείται ως αποτέλεσμα της πολύπλοκης αλληλεπίδρασης των ιστονών και των πρωτεϊνών που συνδέονται με τα μόρια της μεθυλιωμένης κυτοσίνης.

3. ΛΟΙΠΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ

Άλλοι μηχανισμοί γονιδιακής μεταβολής είναι οι σύμφυτες ή *de novo* μεταλλάξεις του κώδικα του DNA. Όπως είναι γνωστό, το DNA βλάπτεται από ποικιλία επιδράσεων, μεταξύ των οποίων η σύμφυτη αστάθεια, η έκθεση σε περιβαλλοντικές ή τοξικές καταπονήσεις, αλλά και ένας φυσικός περιορισμός στην ακρίβεια του διπλασιασμού του, για τον οποίο απαιτούνται μηχανισμοί επιδιόρθωσης προκειμένου να διατηρηθεί η γενετική ακεραιότητα. Επί ΚΠ παρατηρείται πληθώρα μεταβολών στον κυτταρικό κύκλο, που είναι διακριτή διαδικασία, υποχρεωτική για τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και σε φυσιολογικές συνθήκες ελέγχεται διεξοδικά από εξωτερικά και εσωτερικά σήματα. Τα πνευμονικά κύτταρα, συχνά, επιδέχονται απορρύθμιση του κυτταρικού τους κύκλου, ως απόρροια ανατροπής της φυσιολογικής ισορροπίας αρνητικών και θετικών σημάτων, με αποτέλεσμα την πρόκληση σωρείας διαταραχών ανάπτυξης και με τον τρόπο αυτόν αποκλίνουν από τον φυσιολογικό τους φαινότυπο.

Στον ΚΠ έχουν ταυτοποιηθεί διάφορες οικογένειες ογκογονιδίων, όπως τα *Ras*, τα *Myc*, τα *ERB-B* και ο *EGFR*, τα οποία με τον έναν ή τον άλλο τρόπο εμπλέκονται στις διαδικασίες της κυτταρικής ανάπτυξης, την ωρίμανσή τους και τον κυτταρικό θάνατο. Οι μεταλλάξεις τους αποτελούν δείκτες καρκινικής εξαλλαγής.

3.1. *Ras*

Η οικογένεια ογκογονιδίων *Ras*, *H-*, *K-* και *N-ras* κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη 2 kDa, που δρα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, συνδεδεμένη με κινάσες της τυροσίνης για τη μεταφορά εξωκυττάρων σημάτων σε πολυάριθμα αυξητικά συστήματα. Γενικά, είναι από τα συχνότερα ογκογονίδια, ανιχνεύονται στο 30% των ανθρώπινων νεοπλασμάτων και εμπλέκονται στην κυτταρική αύξηση, στη διαφοροποίηση και στην επιβίωση.²² Τα *Ras* ενεργοποιούνται δεσμεύοντας το γουανιλοτριφωσφορικό οξύ, η υδρόλυση του οποίου απολήγει στην αδρανοποίηση του *Ras*. Μετά την ενεργοποίησή του το *Ras* ενεργοποιεί διάφορους μοριακούς παράγοντες.^{23,24} Το *K-Ras* μεταλλάσσεται στο 25% του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (ΜΜΚΠ),

συχνότερα στο αδενοκαρκίνωμα (30–39%) και ελάχιστα στο επιδερμοειδές καρκίνωμα (0–5%).¹⁶ Οι μεταλλάξεις εντοπίζονται στα κωδικόνια 12, 13 και 61 και έχουν συσχετιστεί με συχνούς μετασχηματισμούς G-T, που συνδέονται με τους πολυκυκλικούς υδρογονάνθρακες του καπνού των τσιγάρων.²⁵ Παρ' ότι πρόκειται για κοινό εύρημα στον ΜΜΚΠ, του οποίου χαρακτηρίζει την πρόγνωση,²⁶ μεταλλάξεις του *Ras* δεν απαντούν στον μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα (ΜΚΠ).²⁷ Ενώ μεταγενέστερα δεν επιβεβαιώθηκε αυτή η σχέση, σε μια μετα-ανάλυση βρέθηκε επιδείνωση της διετούς επιβίωσης,²⁸ γεγονός που αποκαλύπτει την επιβολή αντίστασης στην ακτινοχημειοθεραπεία, επί ΜΜΚΠ.²⁹ Πράγματι, σε *in vitro* μελέτες³⁰ έχει βρεθεί ότι ο μηχανισμός μέσω του οποίου εγκαθίσταται η αναφερόμενη

Πίνακας 1. Μοριακές διαταραχές στον καρκίνο του πνεύμονα.

	Συχνότητα διαταραχών	
	ΜΜΚΠ	ΜΚΠ
<i>Σήματα ανάπτυξης</i>		
Ras	25	<1
Akt	70–90	65
Myc	20–60	20–30
EGFR	50	0–50
HER 2/neu	30	30
c-Kit	30–40	50
Νευροπεπτίδια	-50	-50
IGP	-90	-90
<i>Κατασταλτικά ογκογονίδια</i>		
RB	15–30	>90
p16 αδρανοποίηση	50–70	0–20
Διαγραφές 3p	70	90
Απενεργοποίηση FHIT	40–70	70
Αποσιώπηση RASSF1A	50	90
<i>Απόπτωση</i>		
p53	40–50	60–75
Bcl-2	20–35	71
<i>Δυνατότητα διπλασιασμού</i>		
Τελομεράση	80–100	80–100
<i>Αγγειογένεση</i>		
VEGF	75	75
COX-2	>70	-
<i>Μετάσταση</i>		
n-CAM, μη προσκολλητικός	-	90
Απενεργοποίηση λαμίνινης -5	20–60	65–85

RB: Ρετινοβλάστωμα, ΜΜΚΠ: Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, ΜΚΠ: Μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα

αντίσταση στην ακτινοθεραπεία οφείλεται στο γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα έχουν καταστεί απρόσβλητα από τον προγραμματισμένο θάνατο και έχουν εισαχθεί θεραπευτικοί παράγοντες που αναστέλλουν την ενεργοποίηση του *Ras* και επιφέρουν αναστροφή της σχετικής αντίστασης, πιθανόν μέσω εμπλοκής της κινάσης της 3-φωσφατιδυλ-ινοσιτόλης.³¹

3.2. Akt

Η κινάση αυτή ενεργοποιείται από πολλά αυξητικά σήματα, όπως τον ινσουλινομορφο αυξητικό παράγοντα (IGF) και την ενεργοποίηση του *Ras*. Μετά από την ενεργοποίησή της, η Akt διαδραματίζει ευοδωτικό ρόλο στις διαδικασίες επιβίωσης και στον κυτταρικό κύκλο.³¹ Βρίσκεται αυξημένη σε ΜΜΚΠ (70–90%) και σε ΜΚΠ (65%), ενώ σχετίζεται με την αντοχή στη χημειοακτινοθεραπεία των κυττάρων ΜΜΚΠ. Αδρανοποιείται από την PTEN,³² μια πρωτεΐνη που μεταλλάσσεται συχνά ή αναστέλλεται επιγενετικά στον ΚΠ.

3.3. Myc

Τα ογκογονίδια *C-*, *N-* και *L-* κωδικοποιούν δεσμευτικές πρωτεΐνες του DNA,¹⁹ που καθορίζουν τη μεταγραφή και επάγουν τον πολλαπλασιασμό.³³ Το πρωτοογκογονίδιο *C-Myc* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 8, όπου κωδικοποιείται ένας μεταγραφικός παράγοντας και ρυθμίζεται το 15% όλων των γονιδίων. Η ενεργοποίησή του οφείλεται στην απορρύθμιση του φυσιολογικού γονιδίου και η υπερέκφρασή του παρατηρείται σε ποσοστό 20–60% του ΜΜΚΠ και σε 30% του ΜΚΠ. Επί ΜΜΚΠ, η υπερέκφραση του *Myc* συνδέεται με την ευαισθησία στη χημειοθεραπεία, δηλωτική ενός απαντητικού μηχανισμού, αλλά επίσης συνδέεται με επιδείνωση του ΜΚΠ, όχι όμως του ΜΜΚΠ. Η υπερέκφραση του *Myc* έχει συνδεθεί με καρκινικά κύτταρα ευαίσθητα στη χημειοθεραπεία, και έτσι βελτιώνει την πρόγνωση του ΜΜΚΠ. Φαίνεται ότι η παρουσία του δεν επηρεάζει την ανθεκτικότητα στην ακτινοθεραπεία, αλλά η συνύπαρξη *N-Myc* και *H-Ras* επιφέρει συνεργητική αύξηση της αντίστασης στην ακτινοθεραπεία, συγκριτικά με την έκφραση του *Ras*.

3.4. Υποδοχείς της κινάσης της τυροσίνης

Η οικογένεια ERB-B των διαμεμβρανικών υποδοχέων της κινάσης της τυροσίνης (RTK) περιλαμβάνει τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGFR ή ERB-B1) και το Her2/neu (ERB-B2). Συνδεόμενες με λιγανδίνες οι εν λόγω πρωτεΐνες υφίστανται ομο- ή ετεροδιμερισμό και έτσι ενεργοποιούνται και επιφέρουν τον σχηματισμό *Ras* και MARK (mitogen activation protein kinase), που, με τη σειρά τους, επάγουν διάφορες εξελίξεις, μεταξύ των οποίων ο πολλαπλασιασμός και η ανάπτυξη κυτταρικών σειρών.

Οι λιγανδίνες παράγονται εξωκυττάρια, αλλά και από τα ίδια τα καρκινικά κύτταρα, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη αυτοπυροδοτούμενων αυξητικών εξελίξεων. Η υπερέκφραση του EGFR αναγνωρίζεται στο 50% του ΜΜΚΠ, με την υψηλότερη συχνότητα (80%) στον επιδερμοειδή καρκίνο, και φαίνεται ότι προβλέπει επιδείνωση της επιβίωσης για τους ασθενείς με ΜΜΚΠ.³⁴ Αυξημένη έκφραση του HER2/neu αναγνωρίζεται στο 30% του ΜΜΚΠ και του ΜΚΠ, ενώ φαίνεται ότι προβλέπει χειρότερους δείκτες επιβίωσης και στους δύο τύπους ΚΠ, που ενδέχεται να οφείλεται σε αντίσταση στη χημειοθεραπεία. Επί πλέον, όμως, ο EGFR –όπως και το HER2/neu– φαίνεται ότι είναι ανιοτικός ρυθμιστής του PI3K-Akt, ενδεχομένως μέσω *Ras* και έτσι διαδραματίζουν έναν ρόλο στην ακτινοανθεκτικότητά τους.

3.5. p53

Είναι κρίσιμης σημασίας παράγοντας στις εσωτερικές και στις εξωτερικές καταπονήσεις, επί ΚΠ.³⁵ Ασκήει τη δράση του μέσω ποικιλίας μηχανισμών, όπως της ενεργοποίησης της μεταγραφής, αντεπιδράσεων με άλλες διαδρομές και της διαδικασίας της επιδιόρθωσης του DNA. Η πρωτεΐνη HDM2, η οποία τελεί υπό μεταγραφικό έλεγχο του *p53*, ρυθμίζει τη δράση του μέσω της αποδόμησής του, αναπτύσσοντας έτσι έναν αυτορρυθμιζόμενο βρόγχο. Η αναστολή επέρχεται μετά από φωσφορυλίωση του *p53* από κινάσες ή πρωτεΐνες, όπως το p14 (ARF) που αναβαθμίζεται από ογκογονίδια και τα *MYc*, *Ras* και *E2F*.³⁶ Έχει συγκεντρωθεί πληθώρα παρατηρήσεων που επιβεβαιώνουν την εμπλοκή του *p53*, κάτω από δυσπροσδιόριστους όρους, στην απόκτηση αντίστασης έναντι του ανοίγειου θανάτου των καρκινικών κυττάρων. Μετά την ενεργοποίησή του το *p53* ομοτετραμερίζεται, επιτρέποντας μεταγραφικές δράσεις των γονιδίων και επιδιόρθωση του DNA. Αποτελεί το πρωιμότερο και καλύτερο μελετηθέν κατασταλτικό ογκογονίδιο με κρίσιμο ρόλο στον κυτταρικό κύκλο, την απόπτωση και τις καταπονήσεις του DNA και γι' αυτόν τον λόγο θεωρείται «ο φύλακας του γονιδιώματος». Αρχικά, ταυτοποιήθηκε σε πειραματικές διατάξεις, όπου εξετάστηκαν οι φυσικές του ιδιότητες και διευκρινίστηκε ότι πρόκειται για πρωτεΐνη μοριακού βάρους 53 kDa,³⁷ η οποία υπερεκφράζεται στα μετασχηματισθέντα κύτταρα από τη δράση χημικών καρκινογόνων ή την υπεριώδη ακτινοβολία.³⁸ Μεταλλάξεις του *p53* αναγνωρίζονται σε πληθώρα νεοπλασιών. Εκτός από την επαγωγή της απόπτωσης, μέσω ενεργοποίησης γονιδίων, όπως το *BAX*, το *p53* μπορεί να αντεπιδρά απ' ευθείας με τις δεσμευτικές πρωτεΐνες του DNA που επάγουν την απόπτωση. Η επιδιόρθωση του DNA ελέγχεται καθ' όμοιο τρόπο με την έκφραση διαφόρων γονιδίων, όπως τα *GADD45* και *p48(DDB2)*, μεταξύ άλλων, ή τις απ' ευθείας διαντιδράσεις με υπάρχουσες πρωτεΐνες. Τελικά, ο θάνατος του κυττάρου

στη φάση G1 συμβαίνει ως αποτέλεσμα της επαγωγής από το *p53* της μεταγραφής του γονιδίου *p21* (*ARF*), το οποίο κωδικοποιεί μια ανασταλτική πρωτεΐνη της κυκλίνης. Μέσω αυτών των διακλαδιζόμενων διαδρομών, το *TP53* (tumour protein 53) δρα ως ογκοκατασταλτικό, που αποκρίνεται σε διάφορα σήματα, προκειμένου να ενεργοποιήσει διαδικασίες επιδιόρθωσης, αναστολής του πολλαπλασιασμού ή της απόπτωσης.

Το *TP53* έχει μεταλλαχθεί, τόσο επί ΜΚΠ, όσο και επί ΜΜΚΠ. Για τις συγκεκριμένες μεταλλάξεις το κάπνισμα θεωρείται ότι εισφέρει αιτιολογικά, επειδή πρόκειται για G-T μετασχηματισμό, που έχει συνδεθεί με αυτό. Η εν λόγω υπόθεση υποστηρίζεται από το γεγονός ότι οι περισσότεροι τύποι βρογχογενούς καρκίνου που συνδέονται με το κάπνισμα, όπως το επιδερμοειδές καρκίνωμα και ο ΜΚΠ, εμφανίζουν υψηλότερους ρυθμούς μεταλλάξεων του *TP53*, 50% και 60–70%, αντίστοιχα, συγκριτικά με το αδενοκαρκίνωμα (35%).^{39,40} Η μετάλλαξη ή η υπερέκφραση του *p53* συνδέεται με επιδείνωση της επιβίωσης ασθενών με ΜΜΚΠ,⁴¹ αλλά ο υπεύθυνος μηχανισμός παραμένει αδιευκρίνιστος, καθώς ο ρόλος του *p53* στην ανθεκτικότητα έναντι της χημειοακτινοθεραπείας τελεί υπό αξιολόγηση. *In vitro* μελέτες επί καρκινικών κυττάρων καταλήγουν σε αντικρουόμενα αποτελέσματα ότι μεταλλάξεις σε ειδικές περιοχές του *p53* συνεπάγονται αντίσταση στην ακτινοθεραπεία.⁴²

3.6. Bit1

Η Bit1 είναι μια μιτοχονδριακή πρωτεΐνη, η οποία αποτελεί μέρος της οδού απόπτωσης που ρυθμίζεται ενιαία από την επαγόμενη από τις ιντεγκρίνες προσήλωση των κυττάρων.⁴³ Μετά την απώλεια της προσήλωσης, απελευθερώνεται Bit1 στο κυτοσόλιο, προς επαγωγή μιας μορφής απόπτωσης, που είναι ανεξάρτητη από την κασπάση και μπορεί να ανασταλεί μόνο από τη διαμεσολαβούμενη από την ιντεγκρίνη επανασυγκόλληση. Πιστεύεται ότι η επανασυγκόλληση του κυττάρου στο εξωκυττάριο δίκτυο είναι η μόνη θεραπευτική παρέμβαση που μπορεί να αναστείλει αποδοτικά την απόπτωση και έτσι η Bit1 διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στον ανοίκειο θάνατο, όπως έχει αποδειχθεί σε πολλές κυτταρικές σειρές.^{43,44}

3.7. Bcl-2 πρωτεΐνη των β-κυττάρων του λεμφώματος

Είναι οικογένεια γονιδίων στην οποία εμπεριέχονται προ- και αντι-αποπτωτικοί παράγοντες. Η Bcl-2 αναστέλλει την απόπτωση και επιμηκύνει τη ζωή των κυττάρων, αντίθετα με τις Bax, Bad και Bak, μεταξύ άλλων, που την επιταχύνουν. Ο ακριβής μηχανισμός μέσω του οποίου ασκούν τις δράσεις τους παραμένει αδιευκρίνιστος, αλλά έχει δειχθεί

ότι η επιβαλλόμενη ρύθμιση βασίζεται στον ετερο- και ομο-διμερισμό μελών της συγκεκριμένης οικογένειας. Η σχέση των προ- και αντιαποπτωτικών σημάτων καθορίζει την απάντηση του κυττάρου στα αποπτωτικά σήματα. Η Bcl-2 έχει εντοπιστεί στις επιφάνειες διαφόρων κυτταρικών οργανυλίων, όπως τα μιτοχόνδρια, που εμπλέκονται στους μηχανισμούς απόπτωσης, όπως παρατίθεται παρακάτω.⁴⁵ Η Bcl-2 υπερεκφράζεται στην πλειονότητα των περιπτώσεων με ΜΚΠ (71%) και, σε μικρότερη συχνότητα (35%), στον ΜΜΚΠ. Ο ρυθμός έκφρασής της επί ΚΠ ποικίλλει από 32% στο επιδερμοειδές καρκίνωμα στο 61% στο αδενοκαρκίνωμα⁴⁶ και η συμβολή της στην πρόγνωση του ΚΠ είναι ασαφής, αν και μια μετα-ανάλυση έχει καταλήξει ότι προκαλεί επιδείνωση στον ΜΜΚΠ, αλλά παραμένει αδιάφορη στον ΜΚΠ. Επίσης, έχει βρεθεί αυξημένη αντίσταση στη χημειο- και στην ακτινο-θεραπεία ασθενών με ΚΠ, τα κύτταρα των οποίων υπερεκφράζουν την Bcl-2,⁴³ γεγονός το οποίο αποδίδεται στην αναστολή της απόπτωσης και στην παράταση της επιβίωσης των κυττάρων. Ο λόγος των προαποπτωτικών προς τα αντιαποπτωτικά μέλη της οικογένειας καθορίζει την κυτταρική απάντηση στα σήματα απόπτωσης.⁴⁷

3.8. Ρετινοβλάστωμα

Το γονίδιο *RB1*, που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 13q14.11, αναγνωρίστηκε αρχικά στο ρετινοβλάστωμα (*RB*), αλλά έχει ήδη ταυτοποιηθεί σε πολλούς όγκους, όπως και στον ΚΠ. Η *RB* πρωτεΐνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αναστολή της φάσης G1/S μέσω της οικογένειας των παραγόντων E2F. Το *RB* αναστέλλει τη μεταγραφή, δεσμεύοντας το E2F. Καθώς το κύτταρο μεταπίπτει από τη φάση G1 στη φάση S, το *RB* φωσφορυλιώνεται ολοένα και περισσότερο, με ευθύνη ανεξαρτήτων της κυκλίνης κινασών D και αποδεσμεύεται από το E2F. Μετά την αποδεσμευσή του, το E2F επάγει τη μεταγραφή γονιδίων αναγκαίων για τη φυσιολογική σύνθεση DNA.⁴⁸ Το σύμπλεγμα Cdk4/5:κυκλίνης D, στο οποίο εμπλέκεται η φωσφορυλίωση του *RB*, αναστέλλεται από την πρωτεΐνη p16 (INK4A) που κωδικοποιείται στο γονίδιο *CDKN2A* στο 9p21. Μετά την απενεργοποίηση του *p16*, αίρεται η αναστολή της επαγόμενης από το E2F μεταγραφής κυττάρων μέσω *RB*.⁴⁹ Απουσία έκφρασης του *p16* έχει επισημανθεί στο 50–70% του ΜΜΚΠ και σπανιότερα στον ΜΚΠ (20%).

3.9. Άλλοι παράγοντες

Τα νευροπεπίδια⁵⁰ δρουν τόσο ως νευροδιαβιβαστές, στους νευρικούς ιστούς, όσο και ως ενδοκρινικοί παράγοντες σε μη νευρικούς ιστούς. Η οικογένεια των τύπου βομβεσίνης πεπτιδίων περιλαμβάνει τη μέσω γαστρίνης

απελευθέρωση πεπτιδίου (GRP) και τη νευρομεδίνη Β (NMB). Έχει δειχθεί η ικανότητα των ΜΚΠ να συνθέτουν και να απελευθερώνουν τα πεπτίδια αυτά που εμπλέκονται σε ένα πολύπλοκο σύστημα νευροπεπτιδίων, μέσω του οποίου επάγεται η κυτταρική ανάπτυξη. Διάφοροι αυξητικοί παράγοντες, οι οποίοι έχουν βρεθεί αυξημένοι τόσο επί ΜΚΠ όσο και επί ΜΜΚΠ, διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην καρκινογένεση και συνδέονται με επίταση του κινδύνου προσβολής από ΚΠ. Η υπερέκφραση, π.χ., του IGF επιφέρει αύξηση της ακτινοανθεκτικότητας. Εκτός από αυτά, το *BMI1*, μέλος της οικογένειας Polycomb, εμπλέκεται στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, στη διαφοροποίηση και στη συντήρηση των αρχέγονων κυττάρων, ενώ δρα ως ογκογονίδιο που υπερεκφράζεται σε ποικιλία νεοπλασμάτων, όπως ο ΚΠ. Το FoxF1 ανήκει στην υπεροικογένεια η οποία ρυθμίζει την κυτταρική ομοιοστασία, τον πολλαπλασιασμό και την ιστική επαναδιόρθωση, ενώ εμπλέκεται στην καρκινογένεση πολλών καρκινικών τύπων, περιλαμβανομένου του ΜΜΚΠ.⁵¹

4. Ο ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΕΝΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ

Ο κυτταρικός θάνατος που ονομάζεται νέκρωση και οι επακόλουθες αλλοιώσεις αποτελούν ολοκληρωμένες διεργασίες της κυτταρικής ανάπτυξης και του κύκλου κυτταρικής ωρίμανσης. Παρά τη σπουδαιότητα των συγκεκριμένων διεργασιών, οι μηχανισμοί που αφορούν στον κυτταρικό θάνατο είναι ακόμη δυσδιάκριτοι.⁵² Είναι γνωστοί διάφοροι μοριαβιολογικά διακριτοί τύποι κυτταρικού θανάτου, όπως ο προγραμματισμένος θάνατος, η απόπτωση, ο ανοίκειος θάνατος και η νεκρόπτωση.⁵³ Γενικά, η κυτταρική νέκρωση είναι «απρογραμματίστος» κυτταρικός θάνατος που επάγεται από ξеноβιοτικούς παράγοντες ή από παθολογική εκτροπή, όπως η κάκωση ή η λοίμωξη, και συνιστά βλαπτική εξέλιξη για τον οργανισμό, ενώ η «απόπτωση» είναι μορφή κυτταρικού θανάτου η οποία οδηγείται από φυσιολογικές διαδικασίες και μπορεί να εκδηλωθεί ως αμυντικός μηχανισμός ενεργητικός –εξαρτώμενη από το ATP– και είναι ωφέλιμη για την ομοιοστασία του οργανισμού. Ειδικότερα, η απόπτωση και η νέκρωση αποτελούν τα άκρα μιας συνεχούς κυτταρικής καταστροφής: Η νέκρωση αποτελεί ανεπιθύμητο, ατυχηματικό κυτταρικό θάνατο, καταλείπει ιστικές αλλοιώσεις, απότοκες απελευθέρωσης μεσολαβητών φλεγμονής, που προκαλούν αγγειοδιαστολή, τοπική αύξηση της αιματικής ροής, αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας, διά της οποίας προσελκύονται μακροφάγα για τη φαγοκυττάρωση των υπολειμμάτων του θνήσκοντος κυττάρου. Αντίθετα, η απόπτωση είναι η οργανωμένη και ενεργητική εκφύλιση του κυττάρου – ο ατραυματικός του θάνατος, μέσω ενεργοποίησης κασπασών. Παρομοιάστηκε με τη ρίψη των φύλλων, το φθινόπωρο.

4.1. Απόπτωση

Η απόπτωση είναι ο επικρατητικός τύπος προγραμματισμένου θανάτου που επέρχεται σε απάντηση ανεπίστρεπτης βλάβης του DNA (καρυόλυση)⁵⁴ ή σε απάντηση επαγωγής, επιβαλλόμενης από κύτταρα της φλεγμονής.⁵⁵ Τον όρο «απόπτωση» εισηγήθηκε αρχικά ο Glucksmann⁵⁶ (1951) και χρησιμοποιήθηκε στο κλασικό πλέον άρθρο των Kerr, Wyllie και Currie, το 1972,⁵⁷ για την περιγραφή μορφολογικά ειδικού τύπου κυτταρικού θανάτου, παρ'όλο ότι διάφορα χαρακτηριστικά του είχαν περιγραφεί,⁵⁸ ήδη από το 1884, από τον C. Vogt.⁵⁹ Η απόπτωση παρατηρείται κατά τις αναπτυξιακές διαδικασίες και την ηλικίωση, ως ένας ομοιοστατικός μηχανισμός για τη διατήρηση της ομοιογένειας των κυττάρων που συνθέτουν τους εκάστοτε ιστούς. Είναι τόσο αναγκαίος για την ανάπτυξη του οργανισμού όσο είναι και η μίτωση και αναλαμβάνει προκειμένου να λυθούν κύτταρα, τα οποία αποτελούν απειλή για την ακεραιότητα του οργανισμού. Επί πλέον, αποτελεί αμυντικό μηχανισμό, καθώς αναφέρεται στις ανοσοαντιδράσεις ή επί κυτταρικής βλάβης, απότοκης παθολογικής εκτροπής ή δράσης τοξικών παραγόντων.^{60,61} Το 1992, ο Raff είχε προτείνει ότι «...όπως τα κύτταρα χρειάζονται σήματα από άλλα κύτταρα, προκειμένου να πολλαπλασιαστούν, έτσι φαίνεται ότι απαιτούνται ανάλογα σήματα προκειμένου να επιβιώσουν. Απουσία των εν λόγω σημάτων, τα κύτταρα ενεργοποιούν ένα ενδογενές πρόγραμμα αυτοκτονίας».⁴⁵ Παρ'όλο ότι περιγράφεται πληθώρα ερεθισμάτων, φυσιολογικών και παθολογικών καταστάσεων, που έχουν την ικανότητα να πυροδοτήσουν μηχανισμούς απόπτωσης, όλα τα κύτταρα δεν υποκύπτουν σε απάντηση του εν λόγω ερεθίσματος. Η ακτινοβολία και η χημειοθεραπεία απολήγουν στην καταστροφή του DNA μερικών ειδών κυττάρων που, ακολούθως, οδηγούνται σε αποπτωτικό θάνατο, ιδίως μέσω μιας εξαρτώμενης από το p53 διαδρομής.

Σήματα επιβίωσης έχουν επιβεβαιωθεί για διάφορες κυτταρικές σειρές, όπως –μεταξύ πολλών– η IL-2 για τα T-λεμφοκύτταρα, ο αυξητικός παράγοντας για τους νευρώνες κ.λπ. Το εξωκυττάριο δίκτυο ρυθμίζει πολλούς από τους χαρακτήρες του κυττάρου που προσκολλάται σε αυτό, όπως τη γονιδιακή του έκφραση, τον βαθμό διαφοροποίησης και τον ρυθμό πολλαπλασιασμού του. Το εξωκυττάριο δίκτυο έχει κρίσιμη σημασία για τη σταθερότητα και την ανάπτυξη του επ'αυτού εξαρτώμενου κυττάρου και αποτελεί παράγοντα επιβίωσης και πολλαπλασιασμού του. Η αποκόλληση του κυττάρου από τη βασική του μεμβράνη συνεπάγεται τον δι' αποπτώσεως θάνατό του. Ο πολλαπλασιασμός του κυττάρου περιορίζεται στα προσηλωμένα στο δίκτυό τους κύτταρα, έτσι ώστε να προστατεύονται από τον κίνδυνο δυσπλασίας. Εν τούτοις, τα κύτταρα που

έχουν αποκολληθεί μπορεί να επανασυγκολληθούν σε ακατάλληλο υπόστρωμα, αλλά και στην ίδια τους βασική μεμβράνη. Η απόπτωση αποτελεί έναν αυστηρό έλεγχο των «αποκολλημένων» κυττάρων.⁶²

Περιγράφονται δύο τύποι προγραμματισμένου θανάτου-απόπτωσης, για τον έλεγχο του ανοίκειου θανάτου.

4.1.1. Ο μιτοχονδριακός (ενδογενής) και ο υποδοχέας του κυτταρικού θανάτου (εξωγενής). Μετά τα επαγόμενα από την αποκόλληση του κυττάρου σήματα επιβίωσης, που μεσολαβούνται από την ιντεγκρίνη, ενεργοποιείται η ενδογενής οδός απόπτωσης από τα αποπτωτικά μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών Bcl. Οι πρωτεΐνες αυτές αυξάνουν τη διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων, απολήγοντας στην απελευθέρωση κυτοσόλης από το κυτόχρωμα c και την κατιούσα ενεργοποίηση ενζύμων κασπάσης.^{44,45} Η διαδικασία αυτή οδηγεί, τελικά, στον κατακερματισμό του DNA και στον θάνατο του κυττάρου. Τα «προς αυτοκτονία κύτταρα» μετατρέπονται σε θραύσματα κυττάρων, περιβαλλόμενα από μεμβρανώδες περίβλημα, που, ακολούθως, φαγοκυτταρώνονται από μακροφάγα. Μεταξύ των σημάτων που επάγουν τον προγραμματισμένο θάνατο περιλαμβάνονται τα ογκογονίδια, η βλάβη του DNA, η απουσία αντεπιδράσεων μεταξύ στρώματος-κυττάρου και κυττάρου-κυττάρου και η υποξία.

4.1.2. Η οδός μέσω του εξωγενούς υποδοχέα βασίζεται στη δέσμευση ειδικών λιγανδινών προς σχηματισμό ειδικού σήματος (DISC), στη διαμόρφωση του οποίου εμπλέκεται η κασπάση-8. Ο κυτταρικός αυτός θάνατος οφείλεται σε τοξικές ή μηχανικές επιδράσεις. Κάτω από τις εν λόγω συνθήκες το κύτταρο καθίσταται υδρωπικό και κατακερματίζεται, ενώ το περιεχόμενό του διαρρέει προκαλώντας φλεγμονή στους παρακείμενους ιστούς. Σε μελέτες υπό το κοινό ή το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έχουν ταυτοποιηθεί οι μορφολογικές μεταβολές που επισυμβαίνουν κατά τη διάρκεια της απόπτωσης, όπως η αρχική ρίκνωση και η πύκνωση του κυττάρου, καθώς και η συμπίεση των οργανυλίων του.⁵⁴

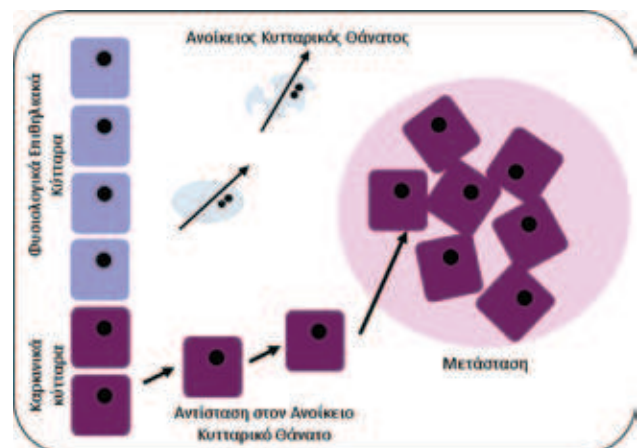
Στη στερεοτυπική διαδικασία του προγραμματισμένου θανάτου, γνωστή ως απόπτωση,⁶³ που παρατηρείται σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού, ως απάντηση σειράς ερεθισμάτων,⁶⁴ εμπλέκονται διάφορα σήματα από τους υποδοχείς των κυτταρικών επιφανειών και τις εσωτερικές ελεγκτικές διαδικασίες σε ενεργές πρωτεΐνες, οι οποίες δρουν επί των μιτοχονδρίων, που απολήγουν στον θάνατο του κυττάρου. Η απόπτωση είναι κρίσιμης σημασίας στην καρκινογένεση, επειδή ο ρυθμός ανάπτυξης του κυττάρου καθορίζεται όχι μόνο από τη σύμφυτη ικανότητά του να πολλαπλασιάζεται, αλλά επίσης από τον ρυθμό φθοράς του. Επί πλέον, το τελικό αποτέλεσμα πολλών χημειοθεραπειών είναι η επιβολή απόπτωσης, ενώ τα ανθεκτικά στη θεραπεία κύτταρα

έχουν αναπτύξει μηχανισμούς αποφυγής της. Εκτός από το p53, την απόπτωση οδηγούν διάφορα άλλα γονίδια που περιλαμβάνονται, αλλά όχι αποκλειστικά, όπως η Bcl-2 και η αυτοσυνδεόμενη πρωτεΐνη X (BAX), και εκείνα τα οποία κωδικοποιούν την κασπάση 3, 6, 8 και 9,⁶⁵ που παριστούν τους εκτελεστές του κυτταρικού θανάτου⁶⁶ ή εμπλέκονται στις ανοσοαπαντήσεις και στη σύμφυτη άμυνα.^{52,67}

4.2. Μεταστάσεις

Το κύριο αίτιο θανάτου επί ΚΠ είναι οι μεταστάσεις,⁶⁸ οι οποίες διευκολύνονται με την αποκόλληση των καρκινικών κυττάρων από τη βασική τους μεμβράνη και την αποφυγή του ανοίκειου θανάτου, που αποτελεί τη μοίρα των αποκολλημένων φυσιολογικών κυττάρων. Η μετάσταση των καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένες θέσεις είναι μια πολυβηματική διαδικασία που εμπλέκει την αποκόλληση του καρκινικού κυττάρου από την αρχική του θέση, την ενδαγγείωση και την επιβίωσή του στην κυκλοφορία, την εξαγγείωσή του, καθώς και την εγκατάσταση και ανάπτυξη σε μια απομακρυσμένη θέση (εικ. 2). Η εξέλιξη των μεταστάσεων προϋποθέτει πληθώρα βημάτων, από την αγγειογένεση, τη διήθηση στον εμβολισμό, την προσκόλληση, την εξαγγείωση και, τελικά, τον πολλαπλασιασμό και την περαιτέρω αγγειογένεση.

Οι μικρομεταστάσεις αναφέρονται στην παρουσία κλινικά αφανών νεοπλασματικών κυττάρων, μετά την εφαρμογή θεραπείας για την εκρίζωση ενός νεοπλάσματος. Τα κυκλοφορούντα νεοπλασματικά κύτταρα που ευρίσκονται στο περιφερικό αίμα των καρκινοπαθών ασθενών και τα διασπειρόμενα, με το περιφερικό αίμα, καρκινικά κύτταρα



Εικόνα 2. Ο ανοίκειος θάνατος αποτελεί υπότυπο του προγραμματισμένου θανάτου και παριστά πρόβλεψη αποφυγής εμφύτευσης αποκολλημένων κυττάρων σε ακατάλληλα υποστρώματα. Η αντίσταση στον ανοίκειο κυτταρικό θάνατο από καρκινικά κύτταρα μπορεί να οδηγήσει στη μετάσταση.

θεωρούνται ως αρχή της μεταστατικής νόσου, ενώ ένας από τους θεραπευτικούς στόχους της χημειοθεραπείας είναι η εκρίζωσή τους. Σε πολλές κλινικές μελέτες συμπαγών όγκων έχει δείχθει ότι η παρουσία καρκινικών κυττάρων στον μυελό των οστών ή στο περιφερικό αίμα συνδέεται με επιδείνωση της πρόγνωσης.⁶⁹ Σε μια αναλογία ασθενών, τα κυκλοφορούντα και τα διασπειρόμενα καρκινικά κύτταρα είναι ανθεκτικά στη χημειοθεραπεία και η παρουσία τους μετά από συμπληρωματική χημειοθεραπεία αποτελεί εξαιρετικά δυσοίωνα παράγοντα.⁷⁰ Νεοπλασματικά κύτταρα, με διηθητικό φαινότυπο, μεταναστεύουν μέσω της βασικής τους μεμβράνης. Διάφορα γονίδια εμπλέκονται στην προαγωγή του διηθητικού φαινότυπου και στην έναρξη της διαδικασίας της μετανάστευσης (εικ. 2), στα οποία περιλαμβάνονται το *snail*, το *twist* και, πρόσφατα, το *YB-1*, που δρουν από κοινού για την αποκόλληση του καρκινικού κυττάρου και τη μετακίνησή του.⁷¹⁻⁷³

Ελλείμματα στη ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου αποτελούν κρίσιμα αίτια για την ανάπτυξή τους και την αντίσταση στη θεραπεία των κακοήθων κυττάρων. Η ειδική ενεργοποίηση του θανάτου του καρκινικού κυττάρου διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην αναχαίτιση των μεταστάσεων. Από τα αποτελέσματα πρόσφατων εργασιών μπορεί να προκύψει το συμπέρασμα ότι διάφοροι τύποι κυτταρικού θανάτου εμπλέκονται στις διαδικασίες της αναστολής των μεταστάσεων.^{74,75} Δεν εμφανίζουν μεταστάσεις όλοι οι ασθενείς με μικρομεταστάσεις, οπότε η βιολογία των μικρομεταστάσεων δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως. Δεδομένα από πειραματικές εργασίες συνηγορούν υπέρ της άποψης ότι μια σημαντική αναλογία των εν λόγω κυττάρων μπορεί να πεθάνουν ή να παραμείνουν σε κατάσταση λαθροβίωσης, και δεν έχουν διευκρινιστεί οι συνθήκες υπό τις οποίες τα κύτταρα αυτά μεταπίπτουν από τη λαθροβίωση στην ενεργό φάση της μετάστασης. Η μακρά περίοδος που καταγράφεται σε μερικούς ασθενείς, από την πρώτη θεραπεία μέχρι τις κλινικές εκδηλώσεις της υποτροπής, αντιστοιχεί στη συγκεκριμένη περίοδο σιωπής. Η πλειονότητα των ασθενών που προσέρχονται με εντοπισμένη πάθηση, η οποία αντιμετωπίστηκε χειρουργικά, θα καταλήξουν από την πάθηση, συνήθως ως αποτέλεσμα μεταστάσεων.⁷⁶

4.3. Η αντίσταση στον προγραμματισμένο θάνατο ως αίτιο θεραπευτικής αποτυχίας

Όπως προαναφέρθηκε, οι μεταστάσεις αποτελούν κύριο αίτιο θνητότητας επί ΚΠ και επάγονται με την αναστολή του προγραμματισμένου θανάτου, ως αποτέλεσμα αποκόλλησής τους από το εξωκυττάριο δίκτυο, όπως θα αναμενόταν φυσιολογικά. Έχει βρεθεί ότι η χημειοθεραπεία

είναι τόσο περισσότερο αποδοτική, σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα, μετά από χειρουργική εξαίρεση του όγκου, όσο αποτελεσματικότερα αναστέλλεται η ικανότητα αποφυγής του ανοίκειου θανάτου των καρκινικών κυττάρων που συνιστούν τις μικρομεταστάσεις.⁷⁷ Η αντίσταση στον ανοίκειο θάνατο (βλέπε παρακάτω) και στην επιθηλιομεσεγγυματική μετάπτωση⁷⁸ αποτελούν κρίσιμους παράγοντες για την επιτυχή διασπορά των καρκινικών κυττάρων.

5. Ο ΑΝΟΙΚΕΙΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ

Αφ' ότου τα καρκινικά κύτταρα εισέρχονται στην κυκλοφορία χάνουν την κατάλληλη στήριξή τους από το εξωκυττάριο δίκτυο όπου, στα φυσιολογικά κύτταρα εκτός αιμοποιητικού ιστού, απολήγουν σε μια μορφή κυτταρικού θανάτου, που ονομάζεται *apoptosis* (από την ελληνική λέξη «ανοίκειος: άστεγος».)⁷⁹ Η έναρξη και η ολοκλήρωση του ανοίκειου θανάτου μεσολαβείται από τον (από την κασπάση εξαρτώμενο) προγραμματισμένο θάνατο (απόπτωση) και ο ρόλος του είναι η παρεμπόδιση έκτοπης ανάπτυξης φυσιολογικών κυττάρων,⁸⁰ που θα συνιστούσε δυνητικό κίνδυνο στη λειτουργική ακεραιότητα των ιστών υποδοχής. Ο ανοίκειος θάνατος είναι υπότυπος της απόπτωσης που παρατηρείται στα επιθηλιακά κύτταρα σε απάντηση της αποκόλλησής τους από το υποστηρικτικό εξωκυττάριο δίκτυο, επί του οποίου ερείδονται. Πρόκειται για υπότυπο του προγραμματισμένου θανάτου, με μεγάλο ενδιαφέρον στην καρκινογένεση και την αντίσταση στη χημειοθεραπεία και είναι αποπτωτική μορφή κυτταρικού θανάτου,⁴⁹ σε απάντηση της αποκόλλησης παρεγγυματικών καρκινικών κυττάρων από το εξωκυττάριο πλέγμα τους, με εμπλοκή, επομένως, στην παθογένεια των μεταστάσεων και την αντίσταση στη χημειοθεραπεία.⁷⁵ Συνεπώς, αποτελεί κρίσιμο ζήτημα στην έρευνα του καρκίνου.⁸¹

Ένα κρίσιμης σημασίας χαρακτηριστικό του κακοήθους επιθηλιακού φαινότυπου είναι η απαλλαγή του από την υποχρέωση της προσκόλλησης στη βασική του μεμβράνη. Η απαλλαγή των καρκινικών κυττάρων από την υποχρέωση εξάρτησης προσκόλλησης στο εξωκυττάριο δίκτυο τα καθιστά ικανά να αυξάνονται –χωρίς την προϋπόθεση της συγκόλλησης– σε τρισδιάστατη δομή, να διηθούν παρακείμενους ιστούς και να μεθίστανται σε απομακρυσμένα όργανα.^{82,83} Ο μοριακός μηχανισμός και οι κυτταρικές διεργασίες που οδηγούν στην απαλλαγή από τη συγκόλληση των επιθηλιακών καρκινικών κυττάρων έχουν μελετηθεί διεξοδικά.⁸⁰ Ο μετασχηματισμός των κυττάρων σε ανεξάρτητα της προσκόλλησης κύτταρα τα εκθέτουν στον ανοίκειο θάνατο, από τον οποίο διαφεύγουν τα κακοήθη κύτταρα. Αντίθετα, φυσιολογικά κύτταρα, όπως π.χ. οι ινοβλάστες, που διαθέτουν παράγοντες κινητικότητας,

εμφανίζουν αντίσταση στον ανοίκειο θάνατο. Η αποφυγή του ανοίκειου θανάτου αποτελεί ένα από τα χαρακτηριστικά της καρκινογένεσης, αλλά οι κυτταρικές διαδικασίες οι οποίες οδηγούν σε αυτόν δεν έχουν διευκρινιστεί απόλυτα.

Ο ανοίκειος κυτταρικός θάνατος⁸⁴ αποτελεί κρίσιμο μηχανισμό για την ανεξάρτητη προσκόλληση αύξηση των κυττάρων και, επίσης, ασκεί καίρια δράση κατά την ανάπτυξη, την ιστική αναδιαμόρφωση και τη λύση των μηχανισμών επούλωσης, τον επιθηλιο-μεσεγγυματικό μετασχηματισμό,⁸⁵ τη «μεταστέγηση» σε ένα ακατάλληλο υπόστρωμα εμποδίζοντας, έτσι, την εποίκισή τους σε απομακρυσμένα όργανα, καθώς ενδέχεται να διαταράζουν τη λειτουργική ακεραιότητα. Αντίθετα, τα μετασχηματισθέντα και τα νεοπλασματικά κύτταρα επιδεικνύουν αντίσταση στον ανοίκειο θάνατο, κατά την ανάπτυξή τους, σε απομακρυσμένες από τη βασική τους μεμβράνη θέσεις, όπου επιβιώνουν, ανεξάρτητα από την απουσία υποστρώματος. Ο μετασχηματισμός των καρκινικών κυττάρων από διάφορα ογκογονίδια, μεταξύ των οποίων εκείνα που κωδικοποιούν την ενεργοποίηση της κινάσης 3 της φωσφοϊνοσιτιδίνης (PI3K),⁸⁶ τον κατιόντα ενεργοποιητή Akt⁸⁷ και την ενεργοποιημένη κινάση εστιακής προσκόλλησης,⁸⁸ καθώς και την απώλεια των κατασταλτικών ογκογονιδίων τους, καθιστά δυνατή τη μετατροπή τους σε ανθεκτικά στον ανοίκειο θάνατο κύτταρα, ικανά να αναπτυχθούν ανεξάρτητα από την προσκόλλησή τους σε ένα υπόστρωμα.^{80,89} Επίσης, η υπερέκφραση του υποδοχέα α2 της IL13 προάγει τη μετανάστευση, τη διήθηση και τον ανοίκειο θάνατο κυττάρων ΚΠ και η αποσιώπηση των IL13Ra2 μειώνει τη διήθηση *in vitro* και τις μεταστάσεις του ΚΠ *in vivo*.⁹⁰

Ως ανεξάρτητη προσκόλλησης ανάπτυξη, δύο φαινόμενα συνδεδεμένα με τον ανοίκειο θάνατο αποτελούν ζωτικά βήματα για την εξέλιξη της καρκινογένεσης και της μεταστατικής εποίκισης:⁹¹ η αποκόλληση του κυττάρου από τη βασική του μεμβράνη και η μετανάστευσή του με την αιματική οδό. Ακολουθεί η εξαγγείωσή τους και η εγκαθίδρυση των μικρο- και μακρο-μεταστάσεων. Η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να αποφεύγουν τον «ανοίκειο θάνατο» έχει προσελκύσει από μακρού την προσοχή της επιστημονικής κοινότητας. Η καταστολή του –εξαρτώμενου από την αποκόλληση από τη βασική τους μεμβράνη– κυτταρικού θανάτου φαίνεται ότι είναι κρίσιμο φαινόμενο για την εμφάνιση μεταστάσεων του ΚΠ.⁷⁷ Διάφοροι βιοχημικοί παράγοντες, όπως τα λιποφιλικά άλατα του ιμιδαζολίου,⁹² η δεξαμεθαζόνη,⁹³ τα παράγωγα της γινσενοσίδης⁹⁴ και οι παράγοντες μεταγραφής, όπως ο KLF12,⁷⁷ έχουν την ικανότητα να επάγουν την ανασταλείσα απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα. Προκειμένου να μετακινηθούν και να αναπτυχθούν σε απομακρυσμένες θέσεις, τα νεοπλασματικά κύτταρα πρέπει να αποκτήσουν την ικανότητα αποφυγής

του ανοίκειου θανάτου και να επιβιώσουν απουσία της υποστήριξής τους από το οικείο τους εξωκυττάριο δίκτυο. Το σχετιζόμενο με το καρκινοεμβρυικό αντιγόνο μόριο συγκόλλησης-6 (CEACAM6) διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην ογκογένεση του ΚΠ, παρ'όλο ότι η θεραπευτική αξία των μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι του εν λόγω μορίου συγκόλλησης δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά.⁹⁵

Τα καρκινικά κύτταρα αναπτύσσουν αντίσταση στον ανοίκειο θάνατο μέσω πληθώρας μηχανισμών, μεταξύ των οποίων μεταβολές των ταμιευτήρων ιντεγκρινών,⁹⁶ επιτρέποντας σε αυτούς να αναπτύσσονται σε διαφορετικά υποστρώματα και να ενεργοποιούν πληθώρα σημάτων που επάγουν την ενεργοποίηση των ογκογονιδίων, την υπερέκφραση των αυξητικών παραγόντων ή τη μετάλλαξη κρίσιμων ενζύμων, εμπλεκόμενων στη σήμανση των υποδοχέων αυξητικών παραγόντων και προεπιβιωτικών πρωτεϊνών.⁹⁷ Η αντίσταση στον ανοίκειο θάνατο, που επιδεικνύουν τα καρκινικά κύτταρα, εισφέρει σημαντικά στον κακοήγη μετασχηματισμό των διαφόρων νεοπλασμάτων και στην ευόδωση των μεταστάσεων, ενώ η προστασία από τον ανοίκειο θάνατο διευκολύνει την επιβίωση και την επέκταση του όγκου.⁹⁸ Η μιτοχονδριακή πρωτεΐνη Bit1 (*Bcl-2* αναστολέας 1 της μεταγραφής) αποτελεί μέτρο της διαδρομής απόπτωσης, που ρυθμίζεται ενιαία από τη διαμεσολαβούμενη μέσω ιντεγκρίνης προσκόλλησης. Ως ένας παράγοντας που προάγει τον ανοίκειο θάνατο, η Bit1 (βλέπε 3.6) απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα, μετά την απώλεια της προσκόλλησης του κυττάρου, και επάγει μια ανεξάρτητη της κασπάσης μορφή απόπτωσης. Θεωρώντας ότι ο ανοίκειος θάνατος είναι κρίσιμο χαρακτηριστικό μετασχηματισμού, έχει υποθεθεί ότι τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να καταστρατηγούν την αποπτωτική διαδρομή, μέσω του Bit1, προς απαλλαγή της προσκόλλησης και της νεοπλασματικής δυναμικής.⁹⁹ Επί πλέον, το μικροπεριβάλλον των όγκων εισφέρει στην αντίσταση στον ανοίκειο θάνατο των «έκτοπων» κυττάρων με την τροποποίηση της σκληρότητας του δικτύου, την ενίσχυση του οξειδωτικού stress, την παραγωγή διαλυτών παραγόντων που εμπλέκονται στην επιβίωση, την πυροδότηση της επιθηλιομεσεγγυματικής μετάπτωσης, την ικανότητα αυτοανανέωσης και την αναρρύθμιση του μεταβολισμού των καρκινικών κυττάρων. Όλες οι σχετικές δράσεις υποβοηθούν τα καρκινικά κύτταρα να παρακάμπτουν τους μηχανισμούς απόπτωσης και να συντηρούν σήματα επιβίωσης μετά την αποκόλλησή τους, που θα τα οδηγούσε στον ανοίκειο θάνατο. Για παράδειγμα, η καβεολίνη-1, μια πρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης, ρυθμίζει τη μεταστατική ικανότητα των ανθεκτικών στον ανοίκειο θάνατο καρκινικών κυττάρων.¹⁰⁰ Ταυτόχρονα, όμως, οι ανωτέρω δράσεις αποτελούν θεραπευτικούς στόχους για τη θεραπεία των μεταστάσεων. Από μακρού

έχει κατανοηθεί η σημασία της νεοαγγειογένεσης στην ανάπτυξη του καρκινικού ιστού και η αναστολή της αποτελεί στόχο της χημειοθεραπείας, όπως και η επανένταξη του ανοίκειου θανάτου στη βιολογία των καρκινικών κυττάρων.¹⁰¹ Η διάθεση αντίστασης στον ανοίκειο θάνατο καθορίζει την επιθετικότητα των καρκινικών κυττάρων.⁴⁴ Καθώς είναι γνωστός ο ρόλος της κασπάσης στην επαγωγή του ανοίκειου θανάτου, η έλλειψή της ή η δομική αλλοίωση της μπορεί να αποτελεί ισχυρό παράγοντα στην ανάδυση ανθεκτικότητας των κακοήθων κυττάρων και, πράγματι, έχει βρεθεί ότι η ανθεκτικότητα στον ανοίκειο θάνατο βασίζεται στη μιτοχονδριακή έκλυση κυτοχρώματος c ή στην αδρανοποίηση της κασπάσης.

5.1. Ρυθμιστικές πρωτεΐνες

Για την ολοκλήρωση της απόπτωσης ενεργοποιούνται σχετικοί υποδοχείς (υποδοχείς του θανάτου, DAP3⁵²) και εξελίξεις στα μιτοχόνδρια. Ο εξωγενής υποδοχέας ενεργοποιείται όταν οι ειδικές λιγανδίνες, όπως η Fas και ο TNF-α, συνδεθούν μαζί του και σχηματιστεί το σύμπλεγμα που επάγει τον κυτταρικό θάνατο (DISC). Ο σχηματισμός του DISC, με τη σειρά του, ενεργοποιεί τις εναρκτήριες κασπάσες 8 και 10, που και αυτές ενεργοποιούν άλλες (3, 6 και 7), οδηγώντας στην απώλεια του κυτταρικού υποστρώματος, επάγοντας έτσι την απόπτωση.¹⁰² Αυτός είναι ο τρόπος με τον οποίο λειτουργικά λύνονται τα εκπεσόντα κύτταρα. Οι ενδογενείς μιτοχονδριακές εξελίξεις προς τον κυτταρικό θάνατο ενεργοποιούνται ως αποτέλεσμα σειράς σημάτων που προκαλούν απόπτωση των μιτοχονδρίων, ελεγχόμενη από την ισορροπία των πρωτεϊνών της οικογένειας Bcl-2 (με ογκογενετικές ιδιότητες¹⁰³), οι οποίες αναστέλλουν τις αντι-αποπτωτικές και τις προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c που δεσμεύει κατάλληλα προσαρμοστικά μόρια και αποδομεί την προκασπασίνη-9 προς σχηματισμό ενός συμπλέγματος, το οποίο καλείται «αποπτωσώμιο». Τα τελευταία επάγουν την απόπτωση.

5.2. Αναισθησία στα αντιαιζητικά σήματα

Η αύξηση των φυσιολογικών κυττάρων παραμένει ενεργός από τα αντιαιζητικά σήματα, πολλά από τα οποία κωδικοποιούνται από τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Η απώλεια του ενός αλληλίου είτε μέσω σύμφυτων διεργασιών είτε μέσω τυχαίων βλαπτικών επιδράσεων και του άλλου μέσω μετάλλαξης ή επιγενετικής αλλοίωσης συνεπάγεται ολοσχερή απώλεια του ελέγχου των παραγόντων αυτών. Επί άθικτου μηχανισμού, πολλές από τις πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται ασκούν έλεγχο μέσω ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου. Η ικανότητα αποφυγής των σημείων

ελέγχου του συστήματος καθιστά το κύτταρο ικανό να αναπτύσσεται αενάως. Παρ' όλο ότι διάφοροι διαθέσιμοι τρόποι αναστολής της ανάπτυξης έχουν μελετηθεί επαρκώς, όπως το p16 (INK4A)-RB, άλλα κατασταλτικά ογκογονίδια τελούν ήδη υπό εντατική διερεύνηση.

5.3. Απεριόριστο δυναμικό αντιγραφής

Τα φυσιολογικά κύτταρα έχουν περιορισμένες δυνατότητες αντιγράφων, ανεξάρτητα των ευοδωτικών σημάτων που ελέγχουν την αύξηση και την απόπτωσή τους. Η περικοπή μέρους του χρωμοσωμιακού πέρατος, του τελομεριδίου, μετά από την κάθε αντιγραφή του, αποτελεί τον μηχανισμό μέσω του οποίου καθορίζεται το εν λόγω όριο. Επανειλημμένες αντιγραφές οδηγούν προφανώς στην απώλεια του προστατευτικού μέρους του τελομερούς DNA, προκαλώντας γενετική αστάθεια και, τελικά, θάνατο.¹⁰⁴ Τα καρκινικά κύτταρα έχουν καταστεί σχεδόν αθάνατα μέσω μηχανισμών με τους οποίους προστίθεται DNA στο τελομερίδιό τους, είτε μέσω υπερέκφρασης του ενζύμου τελομεράσης είτε μέσω αύξησης της χρωμοσωμιακής ανταλλαγής στην περιοχή αυτή. Περίπου 80–100% των ΜΚΠ και των ΜΜΚΠ εκφράζουν το ένζυμο τελομεράση,¹⁰⁵ αν και η τελομεράση δεν φαίνεται να αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα. Η αναστολή του ενζύμου συνδέεται με ενίσχυση της εκ της χημειοθεραπείας εξαρτώμενης απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων.¹⁰⁶

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο ΚΠ αποτελεί κύριο αίτιο θανάτων από καρκίνο σε όλες τις ανεπτυγμένες χώρες, καθώς η επίπτωσή του προσεγγίζει το 1.000.000 θανάτων ετήσια. Εν τούτοις, η πρόγνωση παραμένει πτωχή, καθώς μόνο σε ποσοστό 15% των ασθενών αναμένεται επιβίωση πέραν της πρώτης πενταετίας.¹⁰⁷ Η μεγάλη επίπτωση των θεραπευτικών αποτυχιών οφείλεται στο γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα, τα οποία έχουν το πλεονέκτημα του αέναου πολλαπλασιασμού τους, διαφεύγουν, επίσης, κάθε μορφής κυτταρικού θανάτου, του προγραμματισμένου και του ανοίκειου, επιτρέποντας την ανάπτυξη μεταστάσεων. Έχει συγκεντρωθεί πληθώρα παρατηρήσεων που επιβεβαιώνουν την εμπλοκή του p53 και άλλων ογκογονιδίων, κάτω από ακόμη δυσπροσδιόριστους όρους, στην απόκτηση αντίστασης έναντι του ανοίκειου θανάτου των καρκινικών κυττάρων, αλλά και, ταυτόχρονα, έναντι της χημειοθεραπείας. Τα νεοπλασματικά κύτταρα επιδεικνύουν αντίσταση σε πλείονες μηχανισμούς που οδηγούν στον ανοίκειο θάνατο κυττάρων τα οποία εξέφυγαν από την προσήλωση στην αρχική τους βασική μεμβράνη και έχουν καταστεί, έτσι, ευεπίφορα μεταστάσεων. Ελλείμματα

στη ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου αποτελούν κρίσιμα αίτια για την ανάπτυξη των κακοήθων κυττάρων και την αντίστασή τους στη θεραπεία. Επομένως, είναι προφανές

ότι το αποδοτικότερο χημειοθεραπευτικό σχήμα θα ήταν εκείνο που θα ευόδωνε τη μετάπτωση των καρκινικών κυττάρων σε θνητές μορφές.

ABSTRACT

Cellular resistance to anoikis and programmed death as a cause of treatment failure in lung cancer

V. CHATZIMAΥΡΙΔΟΥ-GRIGORIADOU,^{1,2} A.G. MATHIOUDAKIS,^{1,2} G.A. MATHIOUDAKIS,¹ E. EVANGELOPOULOU²

¹Athens Breath Center, Athens, ²Respiratory Department, "Aghios Panteleimon" General Hospital of Nikea, Pireus, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2016, 33(4):458–471

Certain cells that are detached from the supportive extracellular matrix (ECM), other than those of the hematopoietic tissues, are able to escape from "anoikis". Anoikis is a form of programmed cell death which ensures that cells detached from the surrounding ECM will not invade other organs. Detached cancer cells have a lower rate of reproduction and a higher resistance to chemotherapy and they signify the onset of metastasis by overriding anoikis. This partly explains the low potential of current chemotherapy protocols to eradicate micrometastases and reduce the frequency of recurrence after completion of chemotherapy. The avoidance of anoikis and programmed cell death constitutes one of the characteristic features of carcinogenesis but the mechanisms at the cellular level leading this phenomenon have not yet been clearly identified.

Key words: Anoikis, Chemotherapy, Lung cancer, Programmed death

Βιβλιογραφία

1. SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012, 62:10–29
2. PARKIN DM, BRAY F, FERLAY J, PISANI P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001, 94:153–156
3. JORGE SE, KOBAYASHI SS, COSTA DB. Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in lung cancer: Preclinical and clinical data. *Braz J Med Biol Res* 2014, 47:929–939
4. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cancer. Fact sheet number 297, WHO, 2011
5. EUROSTAT PRESS OFFICE. 1 in 4 deaths caused by cancer in the EU28. 179/2014, 2014. Available at: <http://ec.europa.eu/eurostat/documents/2995521/6131615/3-25112>
6. GOLDSTRAW P, CROWLEY J, CHANSKY K, GIROUX DJ, GROOME PA, RAMI-PORTA R ET AL. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol* 2007, 2:706–714
7. BERLIN NI, BUNCHER CR, FONTANA RS, FROST JK, MELAMED MR. The National Cancer Institute Cooperative Early Lung Cancer Detection Program: Results of the initial screen (prevalence). Early lung cancer detection: Introduction. *Am Rev Respir Dis* 1984, 130:545–549
8. HENSCHKE CI, McCAULEY DI, YANKELEVITZ DF, NAIDICH DP, McGUINNESS G, MIETTINEN OS ET AL. Early Lung Cancer Action Project: Overall design and findings from baseline screening. *Lancet* 1999, 354:99–105
9. MOUNTAIN CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* 1997, 111:1710–1717
10. RODENHUIS S, SLEBOS RJ, BOOT AJ, EVERS SG, MOOI WJ, WAGENAAR SS ET AL. Incidence and possible clinical significance of *K-ras* oncogene activation in adenocarcinoma of the human lung. *Cancer Res* 1988, 48:5738–5741
11. SOZZI G, VERONESE ML, NEGRINI M, BAFFA R, COTTICELLI MG, INOUE H ET AL. The *FHIT* gene 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell* 1996, 85:17–26
12. HUNG J, KISHIMOTO Y, SUGIO K, VIRMANI A, McINTIRE DD, MINNA JD ET AL. Allele-specific chromosome 3p deletions occur at an early stage in the pathogenesis of lung carcinoma. *JAMA* 1995, 273:558–563
13. THIBERVILLE L, PAYNE P, VIELKINDS J, LeRICHE J, HORSMAN D, NOUVET G ET AL. Evidence of cumulative gene losses with progression of premalignant epithelial lesions to carcinoma of the bronchus. *Cancer Res* 1995, 55:5133–5139
14. D'AMICO TA. Molecular biologic substaging of non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002, 123:409–410
15. D'AMICO TA, MASSEY M, HERNDON JE 2nd, MOORE MB, HARPOLE DH Jr. A biologic risk model for stage I lung cancer: Immunohistochemical analysis of 408 patients with the use of ten molecular markers. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999, 117:736–743
16. GRAZIANO SL, GAMBLE GP, NEWMAN NB, ABBOTT LZ, ROONEY M, MOOKHERJEE S ET AL. Prognostic significance of *K-ras* codon 12 mutations in patients with resected stage I and II non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1999, 17:668–675
17. GREATENS TM, NIEHANS GA, RUBINS JB, JESSURUN J, KRATZKE RA,

- MADDAUS MA ET AL. Do molecular markers predict survival in non-small-cell lung cancer? *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157:1093–1097
18. WATSON JD, CRICK FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953, 171:737–738
 19. KRYSAL G, BIRNER M, WAY J, NAU M, SAUSVILLE E, THOMPSON C ET AL. Multiple mechanisms for transcriptional regulation of the *myc* gene family in small-cell lung cancer. *Mol Cell Biol* 1988, 8:3373–3381
 20. CRICK FH. On protein synthesis. *Symp Soc Exp Biol* 1958, 12:138–163
 21. RONEN A, GLICKMAN BW. Human DNA repair genes. *Environ Mol Mutagen* 2001, 37:241–283
 22. CAMPBELL PM, DER CJ. Oncogenic *Ras* and its role in tumor cell invasion and metastasis. *Semin Cancer Biol* 2004, 14:105–114
 23. VOLM M, DRINGS P, WODRICH W, VAN KAICK G. Expression of oncoproteins in primary human non-small cell lung cancer and incidence of metastases. *Clin Exp Metastasis* 1993, 11:325–329
 24. SHIELDS JM, PRUITT K, McFALL A, SHAUB A, DER CJ. Understanding *Ras*: “It ain’t over ‘til it’s over”. *Trends Cell Biol* 2000, 10:147–154
 25. RODENHUIS S, SLEBOS RJ. Clinical significance of *ras* oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res* 1992, 52(Suppl 9):2665s–2669s
 26. SLEBOS RJ, KIBBELAAR RE, DALESIO O, KOOISTRA A, STAM J, MEIJER CJ ET AL. *K-ras* oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med* 1990, 323:561–565
 27. PROTOPOPOV AI, LI J, WINBERG G, GIZATULLIN RZ, KASHUBA VI, KLEIN G ET AL. Human cell lines engineered for tetracycline-regulated expression of tumor suppressor candidate genes from a frequently affected chromosomal region, 3p21. *J Gene Med* 2002, 4:397–406
 28. HUNCHAREK M, MUSCAT J, GESCHWIND JF. *K-ras* oncogene mutation as a prognostic marker in non-small cell lung cancer: A combined analysis of 881 cases. *Carcinogenesis* 1999, 20:1507–1510
 29. UEKITA T, FUJII S, MIYAZAWA Y, IWAKAWA R, NARISAWA-SAITO M, NAKASHIMA K ET AL. Oncogenic *Ras/ERK* signaling activates CDCP1 to promote tumor invasion and metastasis. *Mol Cancer Res* 2014, 12:1449–1459
 30. SKLAR MD. The *ras* oncogenes increase the intrinsic resistance of NIH 3T3 cells to ionizing radiation. *Science* 1998, 239:645–647
 31. LEBOWITZ PF, PRENDERGAST GC. Non-*Ras* targets of farnesyltransferase inhibitors: Focus on Rho. *Oncogene* 1998, 17:1439–1445
 32. SORIA JC, LEE HY, LEE JI, WANG L, ISSA JP, KEMP BL ET AL. Lack of PTEN expression in non-small cell lung cancer could be related to promoter methylation. *Clin Cancer Res* 2002, 8:1178–1184
 33. HENRIKSSON M, LÜSCHER B. Proteins of the *Myc* network: Essential regulators of cell growth and differentiation. *Adv Cancer Res* 1996, 68:109–182
 34. SRIDHAR SS, SEYMOUR L, SHEPHERD FA. Inhibitors of epidermal-growth-factor receptors: A review of clinical research with a focus on non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol* 2003, 4:397–406
 35. ROBLES AI, LINKE SP, HARRIS CC. The *p53* network in lung carcinogenesis. *Oncogene* 2002, 21:6898–6907
 36. GADEPALLI VS, DEB SP, DEB S, RAO RR. Lung cancer stem cells, *p53* mutations and MDM2. *Subcell Biochem* 2014, 85:359–370
 37. KRESS M, MAY E, CASSINGENA R, MAY P. Simian virus 40-transformed cells express new species of proteins precipitable by anti-simian virus 40 tumor serum. *J Virol* 1979, 31:472–483
 38. MAY P, MAY E. Twenty years of *p53* research: Structural and functional aspects of the *p53* protein. *Oncogene* 1999, 18:7621–7636
 39. OLIVIER M, EELES R, HOLLSTEIN M, KHAN MA, HARRIS CC, HAINAUT P. The IARC TP53 database: New online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat* 2002, 19:607–614
 40. OSADA H, TAKAHASHI T. Genetic alterations of multiple tumor suppressors and oncogenes in the carcinogenesis and progression of lung cancer. *Oncogene* 2002, 21:7421–7434
 41. MITSUDOMI T, HAMAJIMA N, OGAWA M, TAKAHASHI T. Prognostic significance of *p53* alterations in patients with non-small cell lung cancer: A meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2000, 6:4055–4063
 42. BERGQVIST M, BRATTSTRÖM D, GULLBO J, HESSELIUS P, BRODIN O, WAGENIUS G. *p53* status and its *in vitro* relationship to radiosensitivity and chemosensitivity in lung cancer. *Anticancer Res* 2003, 23:1207–1212
 43. JAN Y, MATTER M, PAI JT, CHEN YL, PILCH J, KOMATSU M ET AL. A mitochondrial protein, Bit1, mediates apoptosis regulated by integrins and Groucho/TLE corepressors. *Cell* 2004, 116:751–762
 44. KAIROUZ-WAHBE R, BILIRAN H, LUO X, KHOR I, WANKELL M, BESCHWILLIFORD C ET AL. Anokis effector Bit1 negatively regulates Erk activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:1528–1532
 45. KROEMER G. The proto-oncogene *Bcl-2* and its role in regulating apoptosis. *Nat Med* 1997, 3:614–620
 46. MARTIN B, PAESMANS M, BERGHMANS T, BRANLE F, GHISDAL L, MASCAUX C ET AL. Role of *Bcl-2* as a prognostic factor for survival in lung cancer: A systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer* 2003, 89:55–64
 47. CHAO DT, KORSMEYER SJ. *BCL-2* family: Regulators of cell death. *Annu Rev Immunol* 1998, 16:395–419
 48. BEIER R, BÜRGIN A, KIERMAIER A, FERRO M, KARSUNKY H, SAFFRICH R ET AL. Induction of cyclin E-cdk2 kinase activity, E2F-dependent transcription and cell growth by *Myc* are genetically separable events. *EMBO J* 2000, 19:5813–5823
 49. KAYE FJ. RB and cyclin dependent kinase pathways: Defining a distinction between RB and p16 loss in lung cancer. *Oncogene* 2002, 21:6908–6914
 50. HEASLEY LE. Autocrine and paracrine signaling through neuropeptide receptors in human cancer. *Oncogene* 2001, 20:1563–1569
 51. GIALMANIDIS IP, BRAVOU V, PETROU E, KOUREA E, MATHIOUDAKIS A, LILIS I ET AL. Expression of *Bmi1*, *FoxF1*, *Nanog*, and γ -catenin in relation to hedgehog signaling pathway in human non-small-cell lung cancer. *Lung* 2013, 191:511–521
 52. KANDUC D, MITTELMAN A, SERPICO R, SINIGAGLIA E, SINHA AA, NATALE C ET AL. Cell death: Apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol* 2002, 21:165–170
 53. DENECKER G, VERCAMMEN D, DECLERCQ W, VANDENABEELE P. Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain re-

- ceptors. *Cell Mol Life Sci* 2001, 58:356–370
54. HÄCKER G. The morphology of apoptosis. *Cell Tissue Res* 2000, 301:5–17
 55. WAZIR U, ORAKZAI MM, KHANZADA ZS, JIANG WG, SHARMA AK, KASEM A ET AL. The role of death-associated protein 3 in apoptosis, anoikis and human cancer. *Cancer Cell Int* 2015, 15:39
 56. GLUCKSMANN A. Cell deaths in normal vertebrate ontogeny. *Biol Rev Camb Philos Soc* 1991, 26:59–86
 57. KERR JF, WYLLIE AH, CURRIE AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972, 26:239–257
 58. KERR JF. History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology* 2002, 181-182:471–474
 59. ΜΑΘΙΟΥΔΑΚΗΣ ΑΓ, ΜΑΘΙΟΥΔΑΚΗΣ ΓΑ. Απόπτωση. Στο: Μαθιουδάκης ΓΑ, Μαθιουδάκης ΑΓ, Ευαγγελοπούλου Ε (Συντ.) *Θεματολόγιο Πνευμονολογίας*. Αθήνα, 2014. Διαθέσιμο στο: <http://respi-gam.net/node/3216>
 60. NORBURY CJ, HICKSON ID. Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001, 41:367–401
 61. BAROUCHOS N, PAPAZAFIROPOULOU A, IACOVIDOU N, VRACHNIS N, BAROUCHOS N, ARMENIAKOU E ET AL. Comparison of tumor markers and inflammatory biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) exacerbations. *Scand J Clin Lab Invest* 2015, 75:126–132
 62. STOKER ME, GHERARDI M, PERRYMAN M, GRAY J. Scatter factor is a fibroblast-derived modulator of epithelial cell mobility. *Nature* 1987, 327:239–242
 63. MONIER B, SUZANNE M. The morphogenetic role of apoptosis. *Curr Top Dev Biol* 2015, 114:335–362
 64. FRIDLANSKY I, ALEKSEENKO L, NIKOLSKY N. Senescence as a general cellular response to stress: A mini-review. *Exp Gerontol* 2015, 72:124–128
 65. COHEN GM. Caspases: The executioners of apoptosis. *Biochem J* 1997, 326:1–16
 66. DAGENAIS M, SKELDON A, SALEH M. The inflammasome: In memory of Dr Jurg Tschopp. *Cell Death Differ* 2012, 19:5–12
 67. VIGANÒ E, MORTELLARO A. Caspase-11: The driving factor for noncanonical inflammasomes. *Eur J Immunol* 2013, 43:2240–2245
 68. SPORN MB. The war on cancer. *Lancet* 1996, 347:1377–1381
 69. RIETHDORF S, WIKMAN H, PANTEL K. Review: Biological relevance of disseminated tumor cells in cancer patients. *Int J Cancer* 2008, 123:1991–2006
 70. BRAUN S, KENTENICH C, JANNI W, HEPP F, DE WAAL J, WILLGEROTH F ET AL. Lack of effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high-risk breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2000, 18:80–86
 71. EVDOKIMOVA V, TOGNON C, NG T, RUZANOV P, MELNYK N, FINK D ET AL. Translational activation of snail1 and other developmentally regulated transcription factors by YB-1 promotes an epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Cell* 2009, 15:402–415
 72. NGUYEN DX, BOS PD, MASSAGUÉ J. Metastasis: From dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer* 2009, 9:274–284
 73. NGUYEN DX, MASSAGUÉ J. Genetic determinants of cancer metastasis. *Nat Rev Genet* 2007, 8:341–352
 74. ROTHW. Cell death in malignant tumors: Relevance of cell death regulation for metastasis. *Pathologe* 2015 [Epub ahead of print]
 75. PACHMANN K, CAMARA O, KAVALLARIS A, KRAUSPE S, MALARSKI N, GAJDA M ET AL. Monitoring the response of circulating epithelial tumor cells to adjuvant chemotherapy in breast cancer allows detection of patients at risk of early relapse. *J Clin Oncol* 2008, 26:1208–1215
 76. RAMI-PORTA R, ASAMURA H, GOLDSTRAW P. Predicting the prognosis of lung cancer: The evolution of tumor, node and metastasis in the molecular age-challenges and opportunities. *Transl Lung Cancer Res* 2015, 4:415–423
 77. GODIN-HEYMANN N, BRABETZ S, MURILLO MM, SAPONARO M, SANTOS CR, LOBLEY A ET AL. Tumour-suppression function of KLF12 through regulation of anoikis. *Oncogene* 2015, doi: 10.1038/onc.2015.394 [Epub ahead of print]
 78. ΜΑΘΙΟΥΔΑΚΗΣ ΑΓ, ΜΑΘΙΟΥΔΑΚΗΣ ΓΑ. Επιθηλιομεσεγχυματική μετάπτωση. Στο: Μαθιουδάκης ΓΑ, Μαθιουδάκης ΑΓ, Ευαγγελοπούλου Ε (Συντ.) *Θεματολόγιο Πνευμονολογίας*. Αθήνα, 2014. Διαθέσιμο στο: <http://respi-gam.net/node/5225>
 79. FRISCH SM, SREATON RA. Anoikis mechanisms. *Curr Opin Cell Biol* 2001, 13:555–562
 80. FRISCH SM, FRANCIS H. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis. *J Cell Biol* 1994, 124:619–626
 81. SAKAMOTO S, KYPRIANOU N. Targeting anoikis resistance in prostate cancer metastasis. *Mol Aspects Med* 2010, 31:205–214
 82. RUOSLAHTI E. Fibronectin and its integrin receptors in cancer. *Adv Cancer Res* 1999, 76:1–20
 83. HOOD JD, CHERESH DA. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat Rev Cancer* 2002, 2:91–100
 84. GILMORE AP. Anoikis. *Cell Death Differ* 2005, 12(Suppl 2):1473–1477
 85. WINITTHANA T, LAWANPRASERT S, CHANVORACHOTE P. Triclosan potentiates epithelial-to-mesenchymal transition in anoikis-resistant human lung cancer cells. *PLoS One* 2014, 9:e110851
 86. SHAW LM, RABINOVITZ I, WANG HH, TOKER A, MERCURIO AM. Activation of phosphoinositide 3-OH kinase by the alpha6beta4 integrin promotes carcinoma invasion. *Cell* 1997, 91:949–960
 87. DUFOUR G, DEMERS MJ, GAGNÉ D, DYDENSBERG AB, TELLER IC, BOUCHARD V ET AL. Human intestinal epithelial cell survival and anoikis. Differentiation state-distinct regulation and roles of protein kinase B/Akt isoforms. *J Biol Chem* 2004, 279:44113–44122
 88. VAN NIMWEGEN MJ, VAN DE WATER B. Focal adhesion kinase: A potential target in cancer therapy. *Biochem Pharmacol* 2007, 73:597–609
 89. MEREDITH JE Jr, FAZELI B, SCHWARTZ MA. The extracellular matrix as a cell survival factor. *Mol Biol Cell* 1993, 4:953–961
 90. XIE M, WU XJ, ZHANG JJ, HE CS. IL-13 receptor $\alpha 2$ is a negative prognostic factor in human lung cancer and stimulates lung cancer growth in mice. *Oncotarget* 2015, 6:32902–32913
 91. JOHNSON RM, VU NT, GRIFFIN BP, GENTRY AE, ARCHER KJ, CHALFANT CE ET AL. The alternative splicing of cytoplasmic polyadenylation element binding protein 2 drives anoikis resistance and the metastasis of triple negative breast cancer. *J Biol Chem* 2015, 290:25717–25727
 92. WRIGHT BD, DEBLOCK MC, WAGERS PO, DUAH E, ROBISHAW NK,

- SHELTON KL ET AL. Anti-tumor activity of lipophilic imidazolium salts on select NSCLC cell lines. *Med Chem Res* 2015, 24:2838–2861
93. CAO F, ZHANG Z. The inhibitory effects of dexamethasone on cisplatin induced apoptosis of human lung adenocarcinoma cell SPC-A1 and its molecular mechanism. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi* 2014, 31:652–666
94. BI X, XIA X, MOU T, JIANG B, FAN D, WANG P ET AL. Anti-tumor activity of three ginsenoside derivatives in lung cancer is associated with Wnt/ β -catenin signaling inhibition. *Eur J Pharmacol* 2014, 742:145–152
95. HONG KP, SHIN MH, YOON S, JI GY, MOON YR, LEE OJ ET AL. Therapeutic effect of anti CEACAM6 monoclonal antibody against lung adenocarcinoma by enhancing anoikis sensitivity. *Bio-materials* 2015, 67:32–41
96. RUOSLAHTI E, REED JC. Anchorage dependence, integrins, and apoptosis. *Cell* 1994, 77:477–478
97. AUSAWASAMRIT A, ITTHIWARAPORNKUL N, CHAOTHAM C, SUK-RONG S, CHANVORACHOTE P. Lupalbigenin from *Derris scandens* sensitizes detachment-induced cell death in human lung cancer cells. *Anticancer Res* 2015, 35:2827–2834
98. YAWATA A, ADACHI M, OKUDA H, NAISHIRO Y, TAKAMURA T, HAREYAMA M ET AL. Prolonged cell survival enhances peritoneal dissemination of gastric cancer cells. *Oncogene* 1998, 16:2681–2686
99. YAO X, JENNINGS S, IRELAND SK, PHAM T, TEMPLE B, DAVIS M ET AL. The anoikis effector Bit1 displays tumor suppressive function in lung cancer cells. *PLoS One* 2014, 9:e101564
100. CHANVORACHOTE P, PONGRAKHANANON V, HALIM H. Caveolin-1 regulates metastatic behaviors of anoikis resistant lung cancer cells. *Mol Cell Biochem* 2015, 399:291–302
101. SUGIYAMA S, YOSHINO Y, KURIYAMA S, INOUE M, KOMINE K, OTSUKA K ET AL. A curcumin analog, GO-Y078, effectively inhibits angiogenesis through actin disorganization. *Anticancer Agents Med Chem* 2015 [Epub ahead of print]
102. GUICCIARDI ME, GORES GJ. Life and death by death receptors. *FASEB J* 2009, 23:1625–1637
103. IYER AK, AZAD N, WANG L, ROJANASAKUL Y. Role of S-nitrosylation in apoptosis resistance and carcinogenesis. *Nitric Oxide* 2008, 19:146–151
104. WONG JM, COLLINS K. Telomere maintenance and disease. *Lancet* 2003, 362:983–988
105. HIYAMA K, HIYAMA E, ISHIOKA S, YAMAKIDO M, INAI K, GAZDAR AF ET AL. Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 1995, 87:895–902
106. MISAWA M, TAUCHI T, SASHIDA G, NAKAJIMA A, ABE K, OHYASHIKI JH ET AL. Inhibition of human telomerase enhances the effect of chemotherapeutic agents in lung cancer cells. *Int J Oncol* 2002, 21:1087–1092
107. JEMAL A, MURRAY T, SAMUELS A, GHAFOR A, WARD E, THUN MJ. Cancer statistics, 2003. *CA Cancer J Clin* 2003, 53:5–26

Corresponding author:

A.G. Mathioudakis, Athens Breath Centre, 209 Alexandras Ave., GR-115 23 Athens, Greece
e-mail: Mathioudakisag@gmail.com
