

**Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ  
Β' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΟΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

---

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΤΟΥ**

**ΘΕΟΦΑΝΗ ΒΑΣΙΛΕΙΑΔΗ**

**ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΙΑΤΡΟΥ**

**«Διερεύνηση των ορμονικών επιπέδων σε  
ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του  
νεφρού υπό στοχευμένες θεραπείες»**

**Αθήνα 2019**

**Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ  
Β' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΟΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

---

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΤΟΥ**

**ΘΕΟΦΑΝΗ ΒΑΣΙΛΕΙΑΔΗ**

**ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΙΑΤΡΟΥ**

**«Διερεύνηση των ορμονικών επιπέδων σε  
ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του  
νεφρού υπό στοχευμένες θεραπείες»**

**Αθήνα 2019**

Ημερομηνία ορισμού 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 30/06/2010

Μέλη 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

<b>Σαφιολέας Μιχαήλ</b>	Καθηγητής Χειρουργικής
<b>Χρυσόφοι Μιχαήλ</b>	Καθηγητής Ουρολογίας (Επιβλέπων μέλος)
<b>Κόντζογλου Κωνσταντίνος</b>	Καθηγητής Χειρουργικής

Ημερομηνία ορισμού του θέματος: 22/09/2010

Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής: 17/07/2019

ΕΘΜΙΚΟΝ ἤ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΔΘΗΝΩΝ



ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

## ΙΠΠΟΚΡΑΤΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΖΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ ΙΣΩΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΞΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΘΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΖΥΓΓΡΑΦΗΣ. ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΖΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ· ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΣΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΙΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΓΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗΖΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΣΕΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ· ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

## ΙΠΠΟΚΡΑΤΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΣΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΡΕΣΣΙΑ ΚΑΙ Σ' ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΘΕΕΣ, ΠΟΥ ΒΑΣΙΛΕΥΟΥΝ ΜΑΡΤΥΡΕΣ ΟΤΙ ΟΣ ΕΚΠΛΗΡΩΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΔΕΙΞΩ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΕΙΤΤΗ ΜΟΝΟΝ ΤΩ ΘΕΩΡΩ ΕΚΙΝΗΘΗΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗΝ ΟΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΝΩ ΚΟΙΝΩΝΟ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΘΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΩ ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΚΑ ΜΟΥ Ο,ΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΟΙΟΓΟΝΟΣ ΤΟΥ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΙΣ ΕΛΘΩ ΤΗ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ, ΑΝ ΕΠΙΘΥΜΟΥΝ ΝΑ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΜΙΣΟ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ ΣΥΜΦΩΝΙΑ. ΟΤΙ ΘΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΤΟΥΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΟΥΣ ΚΑΝΟΝΕΣ, ΤΑ ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΙΣ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΔΕΙΞΩ ΤΙΣ ΠΡΑΞΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΜΟΥ, ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΣΕ ΜΑΘΗΤΕΣ ΠΟΥ ΘΑ ΕΧΟΥΝ ΣΥΝΙΣΤΗΘΗ ΜΑΖΙ ΜΟΙ ΕΝ ΤΩ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ, ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΗΘΕΙΑ ΤΩ ΙΑΤΡΩΝ, ΚΑΙ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΕΠΙΘΥΜΩ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΟΝΟΝΟ ΓΙΑ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ ΟΣΟ ΕΞΑΡΧΩΝ ΑΠΟ ΤΗΣ ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ, ΚΑΙ (ΥΠΟΧΡΩΜΑΙ ΟΤΙ ΕΣΤΙΝ ΟΥΣ ΠΡΟΪΔΕΩ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΑ) ΔΕΝ ΘΑ ΧΟΡΗΓΗΣΩ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΟΥΔΕ ΦΕΡΩ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΣΟ ΚΑΙ ΑΝ ΠΑΡΑΚΛΗΘΩ ΟΥΔΕ ΑΝ ΑΠΟΔΕΙΧΘΩ ΟΥΔΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ. ΕΠΙΣΗΣ ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΣΕ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΡΓΑΤΕΙΑ ΕΤΡΩΤΙΚΟ. ΑΓΝΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΗ ΘΑ ΔΙΑΤΡΗΣΩ ΤΙΣ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ. ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΟΠΙΣΘΕΡΕΣ ΜΟΥ ΟΤΙ ΠΛΑΣΧΟΥΝ ΑΠΟ ΠΕΤΡΑ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΑΣΧΩ ΤΗΝ ΚΑΡΕΝΑ ΤΩΝ ΕΞΑΣΚΗΜΕΝΟΥΣ. ΣΕ ΟΣΑ ΣΠΙΤΙΑ ΠΡΟΣΚΑΛΟΥΜΕΝ ΘΑ ΑΠΙΣΤΡΟΦΩ ΤΟ ΚΑΛΟ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΚΡΑΤΗΝΑΣ ΤΩΣ ΕΣΤΙΝ ΜΟΙ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΘΕΛΗΜΑΤΙΚΗ ΑΔΙΚΙΑ Η ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΙΔΕΦΕΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟ ΠΑΝΤΩΝ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΑΦΡΟΔΙΣΙΑΚΕ ΠΡΑΞΕΙΣ ΣΩΜΑΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΘΑ ΔΩ Η ΘΑ ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΠΕΡΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΣΧΟΛΕΣ ΜΟΥ ΣΤΗΝ ΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ, ΟΣΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΛΟΓΟΥΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΕΞΩ, ΘΑ ΤΑ ΑΠΟΣΙΩΠΩ, ΥΠΟΛΟΓΙΖΟΝΤΑΣ ΟΤΙ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΠΕΡΑ ΜΥΣΤΙΚΑ. ΟΣΟ ΛΟΙΠΟΝ ΘΑ ΘΗΡΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΚΑΙ ΔΕΝ ΘΑ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΙΑΣΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΠΕΤΥΧΑΙΝΩ ΤΗΝ ΕΝΕΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΕΧΟΝΤΑΣ ΚΑΛΟ ΟΝΟΜΑ ΠΑΝΤΩΝ ΑΝΑΜΕΤΑ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ· ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΤΙΝΟ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

Εσους γονείς μου

και στη σύζυγο μου

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b>	1
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
A. ΝΕΦΡΟΣ – Συνοπτική Ανατομία, Εμβρυολογία και Ιστολογία	4
<b>B. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΝΕΦΡΟΥ</b>	
1. Εισαγωγή	6
2. Επιδημιολογία - Παράγοντες Κινδύνου	8
3. Παθολογική Ανατομία	12
4. Μοριακή Βιολογία του Καρκίνου του Νεφρού	21
5. Κλινική Εικόνα Αδενοκαρκινώματος του Νεφρού	46
6. Διάγνωση – Σταδιοποίηση – Διαφοροποίηση	47
7. Θεραπεία	48
Γ. ΟΡΜΟΝΙΚΕΣ ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΩΝ ΘΕΡΑΠΕΙΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	83
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	87
<b>B. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</b>	
1. Κριτήρια επιλογής ασθενών	88
2. Χορήγηση του φαρμάκου – δοσολογία	88
3. Εξετάσεις κατά τη διάρκεια της κλινικής μελέτης	89
4. Αξιολόγηση της λειτουργίας του θυρεοειδούς αδένος και μέτρηση λοιπών ορμονών	90
5. Βιολογικό υλικό και αναλύσεις	91
6. Χαρακτηριστικά των ασθενών	91
<b>Γ. ΚΛΙΝΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	
1. Δεδομένα επιβίωσης των ασθενών υπό σουνιτινίμη (sunitinib)	93
2. Επίπεδα ορμονών	95
<b>Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	100
<b>Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	106
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	108



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο νεφρικός καρκίνος αντιπροσωπεύει τον πιο θανατηφόρο καρκίνο του ουροποιητικού συστήματος. Βασικότερη αίτια αυτής της υψηλής θνητότητας είναι κυρίως η μη έγκαιρη διάγνωση της νόσου, η ιδιαίτερη επιθετικότητα του συγκεκριμένου νεοπλασματος αλλά και η μέχρι πρόσφατα απουσία αξιόλογων θεραπευτικών επιλογών.

Η θεραπευτική του νεφροκυτταρικού καρκίνου άλλαξε ριζικά από το 2006 και μετά με την είσοδο νέων, στοχευμένων θεραπειών, που στοχοποιούν συγκεκριμένους σηματοδοτικούς μηχανισμούς προσπαθώντας να εμποδίσουν την ανάπτυξη αλλά και την μεταστατική δυναμική του όγκου. Έτσι λοιπόν, από τη χρήση της ιντερφερόνης ως μόνης θεραπευτικής επιλογής, από το 2006 μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί σκευάσματα που χρησιμοποιούνται στον προχωρημένο ή μεταστατικό νεφροκυτταρικό καρκίνο και υπάρχουν πολλά ερευνητικά πρωτόκολλα.

Με τη χρήση βέβαια αυτών των νέων θεραπευτικών επιλογών προκύπτουν και νέα προβλήματα για τον ιατρό που έχουν να κάνουν τόσο με τις παρενέργειες που εμφανίζονται όσο και με τη χάραξη σωστής θεραπευτικής στρατηγικής ώστε να χρησιμοποιηθούν τα υπάρχοντα όπλα με τον καλύτερο δυνατό τρόπο. Ένα επιπλέον πρόβλημα που προκύπτει από τη χρήση αυτών των νέων παραγόντων είναι το ιδιαίτερα υψηλό κόστος τους.

Στη θεραπευτική του μεταστατικού καρκίνου του νεφρού εισήχθησαν δύο νέες ομάδες φαρμάκων: οι αναστολείς των πρωτεϊνικών τυροσινικών κινασών (TKIs) και οι αναστολείς του m-Tor (mammalian target of rapamycin). Η σουντινίμπη (sunitinib) είναι ανταγωνιστής πρωτεϊνικών τυροσινικών κινασών με ειδικότητα στις κινάσες των υποδοχέων VEGFR, c-kit και PDGFR. Επιτυχημένες μελέτες φάσης III καθιέρωσαν τη θεραπεία με sunitinib στο μεταστατικό καρκίνο του νεφρού (1ης γραμμής θεραπεία). Ένας ακόμη ανταγωνιστής πρωτεϊνικών τυροσινικών κινασών που χορηγείται στο μεταστατικό καρκίνο του νεφρού είναι η σοραφενίμπη (sorafenib). Τελευταία ξεκίνησε και η χορήγηση της παζοπανίμπης ( pazopanib).

Οι αναστολείς του m-Tor έχουν θεραπευτική ένδειξη είτε ως θεραπεία δεύτερης γραμμής (everolimus, temsirolimus) είτε ως πρώτης γραμμής σε ασθενείς υψηλού κινδύνου με βάση τα κριτήρια του MSKCC. Οι δράσεις τους συνοψίζονται στα εξής:

1. Μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού
2. Αναστολή της νεο-αγγειογένεσης
3. Αναστολή του κυτταρικού μεταβολισμού

Υπάρχουν αρκετά στοιχεία για ορμονικές διαταραχές στη θεραπεία με sunitinib, ενώ δεν υπάρχουν ανάλογα στοιχεία για τις υπόλοιπες θεραπείες. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται περιστατικά υποθυρεοειδισμού σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με sunitinib, καθώς και περιστατικά με αυξημένα επίπεδα παραθορμόνης. Ο υποθυρεοειδισμός φαίνεται να ευθύνεται κατά μεγάλο μέρος για την κόπωση που εμφανίζουν ως παρενέργεια οι ασθενείς και υπάρχουν αναφορές για συσχέτιση του με την ανταπόκριση στη θεραπεία. Αν και δεν υπάρχουν ακόμα επαρκείς επιστημονικές αποδείξεις, ο αποκλεισμός περισσότερων του ενός υποδοχέων τυροσινικών κινασών θα ήταν πιθανή αιτία έμμεσης επίδρασης των θεραπειών αυτών στις ενδοκρινικές διεργασίες, καθώς φαίνεται ότι το sunitinib αναστέλλει τη δράση μιας αντλίας ιόντων νατρίου-ιωδίου στο θυρεοειδικό ιστό. Από την άλλη πλευρά ελάχιστα είναι γνωστά για τις επιδράσεις των αναστολέων του m-Tor στις ορμονικές λειτουργίες, αν και φαίνεται να παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό των σακχάρων.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι:

- η διερεύνηση των διαταραχών του ορμονικού προφίλ στους ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του νεφρού που υποβάλλονται σε στοχευμένες θεραπείες
- η συσχέτιση των διαταραχών αυτών με την ανταπόκριση στη θεραπεία και την πρόγνωση των ασθενών.

Οι εξής ορμόνες μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια της έρευνας αυτής: η θυρεοτρόπος ορμόνη (TSH), η ελεύθερη θυροξίνη (fT4) καθώς και τα αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (TPOAb), τα αντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης (TgAb) και τα αντισώματα του υποδοχέα της TSH (TR-Ab). Επιπλέον, η φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη (ACTH), η ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH), η ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH), η οιστραδιόλη, η τεστοστερόνη, η προλακτίνη (PRL), η παραθορμόνη (PTH), η καλσιτονίνη (CT), η αυξητική ορμόνη (GH) και η πρωινή κορτιζόλη. Όλα τα δείγματα ορού αναλύθηκαν με την ανοσοραδιομετρική μέθοδο (IRMA) και διεξήχθησαν εις διπλούν.

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη (έπειτα από πλήρη ενημέρωση και ενυπόγραφη συγκατάθεση) ήταν διαγνωσμένοι με μεταστατικό καρκίνο του νεφρού και θα λάμβαναν πρώτης γραμμής θεραπεία με TKIs και δεύτερης γραμμής θεραπεία με αναστολείς m-Tor (ή σπανιότερα πρώτης γραμμής). Η συλλογή του βιολογικού υλικού λάμβανε χώρα σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές κατά την διάρκεια της θεραπείας που θεωρήθηκαν κομβικές για τον έλεγχο της πορείας των ασθενών.

Η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή δε θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί χωρίς την βοήθεια των τεχνολόγων του εργαστηρίου της Πυρηνικής Ιατρικής του Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης “Θεαγένειο” Κατερίνα, Γιώτα και Φανή καθώς και της ακτινοφυσικού Αθηνάς Σδρόλια.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή δε θα είχε καν γεννηθεί αν δεν μου έδινε την ευκαιρία και δεν πίστευε σε εμένα ο καθηγητής κος Μιχαήλ Χρυσοφός. Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής, τους καθηγητές κος Σαφιολέα και κος Κόντζογλου για την αμέριστη εμπιστοσύνη στο ερευνητικό μου έργο. Δε θα μπορούσα να παραλείψω σε αυτό το σημείο τον πρώην διευθυντή του τμήματος της Πυρηνικής Ιατρικής του Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης “Θεαγένειο” κος Νικόλαο Σαλέμ ο οποίος στήριξε τη μέτρηση των ορμονικών επιπέδων εξ ολοκλήρου στο τμήμα μας.

Καταλυτικό ρόλο σε αυτή τη διατριβή είχε ο μέντορας , φίλος και συνεργάτης Κωνσταντίνος Παπαζήσης ο οποίος είχε την αρχική ιδέα του όλου πονήματος και την ενορχήστρωση της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας. Ένα μεγάλο ευχαριστώ.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους ασθενείς που συμμετείχαν.

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## A. ΝΕΦΡΟΣ

### ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ, ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

Ο νεφρός συνιστά την ανώτερη μοίρα του ουροποιητικού συστήματος. Εδράζεται στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο, παρασπονδυλικά, έχει σχήμα δίκην φασολιού, ενδεικτικές διαστάσεις 10-12 εκ. (κεφαλουραία) x 5-6 εκ. (εγκάρσια) x 3 εκ. (προσθιοπίσθια) και βάρος 150-175 γρ. και 120-150 γρ. στον ενήλικα άνδρα και στην ενήλικη γυναίκα, αντίστοιχα [1]. Κυριότερες λειτουργίες του είναι η απομάκρυνση των άχρηστων μεταβολικών προϊόντων του οργανισμού και η ρύθμιση του ύδατος και των ηλεκτρολυτών στη διατήρηση της οξεοβασικής ισορροπίας [2]. Μακροσκοπικά ο νεφρός αποτελείται από δύο μοίρες: τη μυελώδη κεντρικά και τη φλοιώδη περιφερικά. Η μυελώδης μοίρα είναι ωχρή, φέρει γράμμωση και αποτελείται από 7-20 κωνοειδείς περιοχές, τις νεφρικές πυραμίδες (Malpighi). Αυτές είναι διατεταγμένες σε τρεις επιμήκεις και παράλληλες σειρές. Η βάση κάθε νεφρικής πυραμίδας στρέφεται προς το φλοιό και η κορυφή προς τη νεφρική πύελο. Οι κορυφές των νεφρικών πυραμίδων εισέρχονται μέσα στους μικρούς κάλυκες και αποτελούν τις θηλές των πυραμίδων. Κάθε θηλή εμφανίζει την ονομαζόμενη ηθμοειδή άλω (12-30 τρήματα). Από τα τρήματα αυτά, τα οποία αποτελούν τις εκβολές των ουροφόρων σωληναρίων, ρέει το ούρο προς τους μικρούς κάλυκες. Η φλοιώδης μοίρα είναι πιο ωχρή, έχει κοκκώδη όψη, και περιβάλλει τη μυελώδη ουσία. Εκπέμπει προσεκβολές ανάμεσα στις νεφρικές πυραμίδες, οι οποίες ονομάζονται νεφρικοί στύλοι (Bertini). Μέσα στη φλοιώδη ουσία, ανάμεσα στις μυελώδεις ακτίνες, βλέπουμε μικρά υπέρυθρα στίγματα τα οποία αντιστοιχούν στα νεφρικά ή μαλπιγιανά σωμάτια [3]. Ο νεφρός οριοθετείται από τα εξής περιβλήματα (από τα έξω προς τα έσω): (α) το περιτόναιο, (β) τη νεφρική περιτονία, (γ) το περινεφρικό λίπος και (δ) τον ίδιο τον ινώδη χιτώνα. Το περιτόναιο καλύπτει ατελώς το νεφρό προσθίως, ενώ λείπει τελείως κατά την οπίσθια επιφάνεια του. Η νεφρική περιτονία σχηματίζεται από πάχυνση του υποπεριτοναϊκού ιστού. Το περινεφρικό λίπος εισέρχεται από την πύλη μέσα στη νεφρική κοιλία, ενώ είναι ελάχιστο στην πρόσθια επιφάνεια του νεφρού. Ο ινώδης χιτώνας περιβάλλει ολόκληρο το νεφρό και αποτελείται από κολλαγόνες ελαστικές και λείες μυϊκές ίνες [4]. Η αγγείωση του νεφρού γίνεται από τη νεφρική αρτηρία, που είναι κύριος σπλαγγχνικός κλάδος της αορτής. Όλοι οι κλάδοι της νεφρικής αρτηρίας είναι τελικοί, χωρίς αναστομώσεις, ούτως ώστε ο νεφρός υποδιαιρείται σε επιμέρους τμήματα με ανεξάρτητη αγγείωση. Η νεφρική φλέβα αναδύεται από την πύλη και εκβάλλει στην κάτω κοίλη φλέβα. Τα λεμφαγγεία ακολουθούν την πορεία της νεφρικής αρτηρίας προς τα πλάγια αορτικά λεμφογάγγλια, τα οποία βρίσκονται γύρω από την έκφυση της νεφρικής αρτηρίας. Τα νεύρα του νεφρού

εκκινούν από το νεφρικό συμπαθητικό πλέγμα και διανέμονται με τους κλάδους των νεφρικών αγγείων. Οι κεντρομόλες νευρικές ίνες εισέρχονται στο νωτιαίο μυελό με το δέκατο, ενδέκατο και δωδέκατο θωρακικό νεύρο [1,5].

Η εμβρυογένεση του νεφρού ξεκινά περί την 3η εβδομάδα ανάπτυξης από τμήμα της μεσοδερμικής μάζας. Η ανάπτυξη των νεφρών είναι σταδιακή και γίνεται από τον πρόνεφρο, το μεσόνεφρο και το μετάνεφρο. Ο πρόνεφρος εμφανίζεται μεταξύ 23ης και 24ης ημέρας, ενώ ο μετάνεφρος εμφανίζεται περίπου την 6η εβδομάδα και ολοκληρώνεται την 34η εβδομάδα. Λειτουργικά νεφρικά σωμάτια πρωτοεμφανίζονται στην ζώνη της φλοιώδους μοίρας του εμβρυϊκού νεφρού περί την 22<sup>η</sup> εβδομάδα. Τότε είναι και ο χρόνος κατά τον οποίο αρχίζει να γίνεται και η σπειραματική διήθηση. Η ολοκλήρωση της διάπλασης του νεφρού γίνεται μέχρι την 36η εβδομάδα, ενώ η σπειραματική διήθηση αυξάνει προς το τέλος της κύησης, όσο αυξάνει ο αριθμός των σπειραμάτων ενώ ταυτόχρονα αυξάνει και η εμβρυϊκή αρτηριακή πίεση [6].

Η ανατομική και λειτουργική μονάδα του νεφρού είναι ο νεφρώνας, ο οποίος αποτελείται από το αγγειώδες σπείραμα με την κάψα του Bowman που το περιβάλλει, το εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο, την αγκύλη του Henle, το άπω εσπειραμένο σωληνάριο, την παρασπειραματική συσκευή και το αθροιστικό σωληνάριο. Οι νεφρώνες χρησιμεύουν για την απέκκριση του ούρου και μέσω των αθροιστικών σωληναρίων χρησιμεύουν για την αποχέτευση του ούρου [7].

## **B. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΝΕΦΡΟΥ**

### **1. Εισαγωγή**

Ο νεφρικός καρκίνος αντιστοιχεί περίπου στο 3% όλων των νεοπλασμάτων και αντιπροσωπεύει την 6<sup>η</sup> αιτία θανάτου στις ΗΠΑ. Για το 2010 οι νέες διαγνώσεις καρκίνου του νεφρού ήταν 58.240. Οι 35.370 από αυτές αφορούσαν άνδρες ενώ οι 22.870 γυναίκες. Για την ίδια περίοδο, οι θάνατοι από το εν λόγω νεόπλασμα ήταν συνολικά και για τα δύο φύλα 13.040 και αφορούσαν 8.210 άνδρες και 4.830 γυναίκες. Η ηλικία κατά την αρχική διάγνωση έχει εύρος από τα 40 έως τα 70 έτη και είναι μια νόσος που συναντάται σχετικά πιο συχνά στους άνδρες απ' ό,τι στις γυναίκες με μια αναλογία της τάξης του 1,6:1 [8].

Ο νεφρικός καρκίνος, περίπου στο 85% των περιπτώσεων, αντιπροσωπεύεται από το νεφροκυτταρικό καρκίνο προερχόμενο από το νεφρικό επιθήλιο ενώ το 35% των ασθενών διαγιγνώσκεται με τοπικά προχωρημένα ή ακόμα και μεταστατική νεοπλασματική νόσο [9]. Υπάρχει όμως και ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών, που κυμαίνεται από 20-40% και που περιλαμβάνει ασθενείς που θα χειρουργηθούν από την πρωτοπαθή νόσο τους και παρ' όλα αυτά θα υποτροπιάσουν [10].

Από ιστολογικής απόψεως, ο καρκίνος του νεφρού αντιπροσωπεύεται από μια ομάδα ιστολογικών υποτύπων με ιδιαίτερα και ξεχωριστά μορφολογικά αλλά και γενετικά χαρακτηριστικά. Το διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα του νεφρού με προέλευση από τα εγγύς εσπειρωμένα σωληνάρια, αποτελεί τον κύριο ιστολογικό εκφραστή αυτής της νόσου και αντιπροσωπεύει το 70% των νεοπλασμάτων του νεφρού. Τα κύτταρα αυτά έχουν ιδιαίτερα και σαφή χαρακτηριστικά, με κυριότερο αυτό του διαυγούς και ενίοτε ηωσινοφιλικού κυτταροπλάσματος, αλλά και μια ιδιαίτερη γενετική ιδιομορφία - στο 60% των περιπτώσεων του καρκίνου του νεφρού σποραδικού τύπου υπάρχουν δυσλειτουργίες του γονιδίου του VHL (vonHippel-LIndau) [11]. Ο θηλώδης νεφρικός καρκίνος είναι ο δεύτερος πιο συχνά εμφανιζόμενος και αποτελεί περίπου το 15% του συνόλου των καρκίνων του νεφρού.

Την τελευταία δεκαετία έχουν γίνει ταχύτερα βήματα πρόοδου στην θεραπευτική του καρκίνου του νεφρού και αυτό έχει να κάνει κυρίως με την πρόοδο της βιολογίας στις γνώσεις μας σχετικά με αυτό το σχετικά σπάνιο αλλά αρκετά ιδιαίτερο νεόπλασμα. Συντόμως θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ότι στον σποραδικό καρκίνο του νεφρού και τα δύο VHL αλληλόμορφα είναι απενεργοποιημένα από γενετικές βλάβες που έχουν συμβεί. Η VHL πρωτεΐνη, προϊόν της έκφρασης του VHL γονιδίου, έχει ογκοκατασταλτική λειτουργία η οποία επιτυγχάνεται μέσα από την διαδικασία της ομπικουϊνίνωσης και πρωτεασωμικής αποδόμησης του επαγόμενου από την υποξία παράγοντα (hypoxia inducible factor, HIF). Ο HIF-1α αποτελεί μόριο κλειδί στην υποξική απάντηση και κατέχει έναν ιδιαίτερα οργανωτικό

ρόλο στην διαδικασία της αγγειογένεσης, καθιστώντας τον καρκίνο του νεφρού έναν ιδιαίτερα αγγειοβριθή όγκο [12].

Μέχρι πρόσφατα ο μόνος τρόπος αντιμετώπισης αυτών των ασθενών που έπασχαν από ανεγχείρητο καρκίνο του νεφρού, είτε λόγω έκτασης της πρωτοπαθούς νόσου είτε λόγω παρουσίας απομακρυσμένων μεταστατικών εστιών, ήταν η χορήγηση ανοσοθεραπείας με την χρήση ενδοφλέβιας ή υποδόριας χορήγησης ιντερλευκίνης 2 (IL-2) είτε ιντερφερόνης-α (IFN-α) χωρίς όμως ιδιαίτερα αποτελέσματα και με μονοψήφια ποσοστά ανταπόκρισης [13,14].

Οι αναδρομικές μελέτες μεγάλων σειρών ασθενών που είχαν (ή δεν είχαν) θεραπευθεί με τους μέχρι τότε βιολογικούς παράγοντες (IL-2 & IFN-α) ανέδειξαν μια ομάδα κλινικών κυρίως χαρακτηριστικών που θα μπορούσαν να κατηγοριοποιήσουν τους ασθενείς σε διαφορετικές κατηγορίες, τόσο για πρόγνωση της νόσου όσο και ως πρόβλεψη για απάντηση στη θεραπεία. Το προγνωστικό-προβλεπτικό μοντέλο των κριτηρίων του Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC criteria) χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα, παρόλο που είναι κοινή διαπίστωση ότι πιθανόν δεν έχει θέση ή, τουλάχιστον, χρειάζεται αναπροσαρμογή σε σχέση με τις νέες και σύγχρονες βιολογικές στοχευτικές θεραπείες [15]. Στην σύγχρονη εποχή υπάρχουν αρκετά φάρμακα νέας γενιάς που έχουν ως ένδειξη τον προχωρημένο καρκίνο του νεφρού. Από το sorafenib και sunitinib που ήταν και τα πρώτα που μελετήθηκαν, μέχρι το bevacizumab και τους αναστολείς του m-TOR (mammalian target of rapamycin), τα κύρια προβλήματα που αντιμετωπίζουμε παραμένουν τα τελευταία χρόνια ακριβώς τα ίδια:

- Μη αποτελεσματικότητα της θεραπείας σε όλες τις υποκατηγορίες των ασθενών
- Διαφορετικό προφίλ παρενεργειών στις διάφορες κατηγορίες ασθενών ακόμα και όταν η θεραπεία δεν είναι καθόλου αποτελεσματική
- Πολύ υψηλό κόστος θεραπειών ακόμα και για τις υποκατηγορίες των ασθενών που δεν πρόκειται να ωφεληθούν από την επιλεγθείσα θεραπεία
- Δυσκολία στην εκτίμηση της ανταπόκρισης της νόσου, μιας και σε πολλές περιπτώσεις έχουμε αλλαγή στην σύσταση του όγκου αλλά όχι διαφορετική ογκομετρική απεικόνιση.
- Μέχρι τότε θα πρέπει να θεραπεύει κάποιος την μεταστατική νόσο του νεφρού;

Όλα αυτά τα ζητήματα συνάδουν πλήρως με την δήλωση του πατέρα της αγγειογένεσης Judah Folkmann ο οποίος το 2007 υποστήριξε πως όσο δεν υπάρχουν βιοδείκτες να μας κατευθύνουν για την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων μας, η πρόοδος στην αγγειογενετική θεραπεία θα σταματήσει. Και παρότι αυτή η στασιμότητα στην πρόοδο των αντιαγγειογενετικών θεραπειών να μην έχει ακόμα επέλθει, όλοι κατανοούν την ανάγκη

ταυτοποίησης κάποιων βιοδεικτών, που θα συνδέονται άμεσα με τον ασθενή και το είδος της ασθένειάς του, με την πρόγνωση, την επιλογή θεραπείας, την απάντηση σε αυτή, και όλα αυτά αν είναι δυνατόν εύκολα, γρήγορα, οικονομικά και αποτελεσματικά. Δεν είναι καθόλου τυχαίο λοιπόν που οι περισσότεροι ερευνητές επικεντρώνονται στην έρευνα στοιχείων που θα μπορούσαν να συλλεχθούν από το αίμα των ασθενών μιας και είναι ένα εύκολα προσβάσιμο βιολογικό υλικό και βέβαια προσφέρεται για επαναληψιμότητα του δείγματος και κατ' επέκταση του αποτελέσματος.

Ο κύριος όγκος της σύγχρονης έρευνας στο πεδίο των βιοδεικτών αφορά κυρίως:

- Κυτοκίνες [συμπεριλαμβανομένων και όλων των αυξητικών παραγόντων όπως ο VEGF (vascular endothelial growth factor) για παράδειγμα]
- Κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα (CECs-circulating endothelial cells) και την υποκατηγορία τους, τα κυκλοφορούντα προγονικά κύτταρα (CEPs-circulating endothelial progenitors).

Κλινικά χαρακτηριστικά όπως η υπέρταση, η καρδιοτοξικότητα, ο υπερθυρεοειδισμός, τα οποία αν και αποτελούν παρενέργειες αυτής της νέας κατηγορίας φαρμάκων, διαφαίνεται ότι σε κάποιες περιπτώσεις αυτό συνδυάζεται και με θετική έκβαση του θεραπευτικού αποτελέσματος.

## **2. Επιδημιολογία - Παράγοντες Κινδύνου**

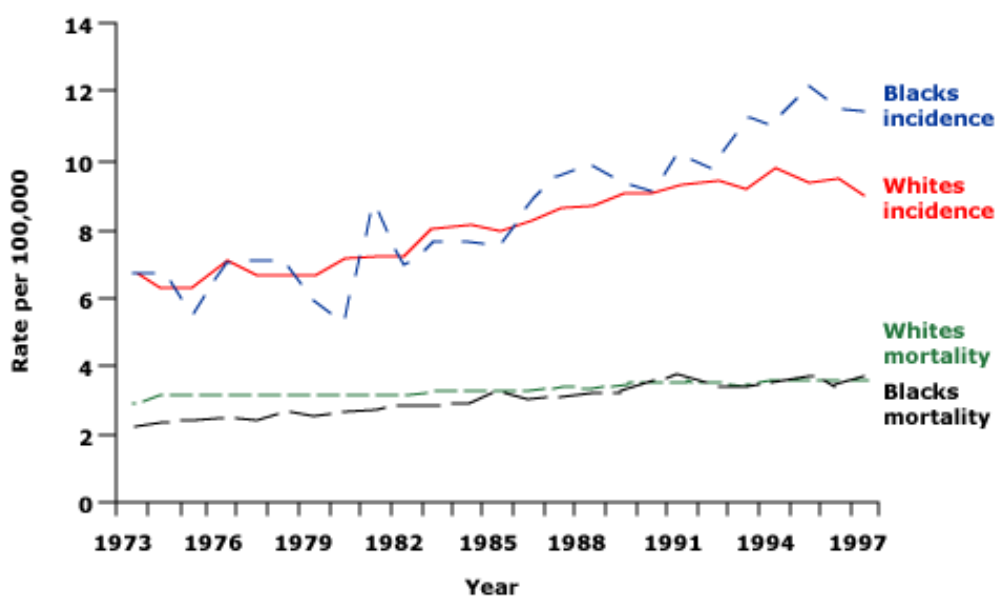
Τα καρκινώματα του νεφρού από καρκινικά νεφρικά κύτταρα (renal cell carcinomas RCCs) προέρχονται, στο μεγαλύτερο μέρος των περιπτώσεων, από τον φλοιό του οργάνου και αποτελούν το 80-85% συνολικά των καρκίνων του νεφρού. Τα επόμενα πιο συχνά νεοπλάσματα είναι αυτά της νεφρικής πυέλου που αποτελούν περίπου το 8% των νεφρικών καρκινωμάτων. Άλλα πιο σπάνια νεοπλάσματα είναι αυτά των αθροιστικών σωληναρίων, το ογκοκύτωμα και τα νεφρικά σαρκώματα. Το νεφροβλάστωμα ή όγκος του Wilms εμφανίζεται πιο συχνά σε παιδιά και αποτελεί περίπου το 5-6% των καρκίνων του νεφρού, ενώ τα νεοπλάσματα της μυελώδους μοίρας είναι εξαιρετικά σπάνια.

Το 2010, περίπου 58.000 άνθρωποι στις ΗΠΑ διαγνώστηκαν με καρκίνο του νεφρού, ενώ περίπου 13.000 πέθαναν από τη νόσο [8]. Σε παγκόσμιο επίπεδο οι διαγνώσεις του νεφρικού καρκινώματος έφτασαν περίπου τις 270.000 με ένα αριθμό θανάτων που άγγιξε τις 116.000.

Η επίπτωση της νόσου διαφέρει από ήπειρο σε ήπειρο και από χώρα σε χώρα. Τα υψηλότερα ποσοστά στην Ευρώπη εμφανίζονται στην περιοχή των Σκανδιναβικών χωρών, ενώ στην Αμερικανική ήπειρο εμφανίζονται στις βόρειες περιοχές [16].



Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μια διαρκής αύξηση της επίπτωσης του νεφρικού καρκινώματος στις ΗΠΑ (εικόνα 1) και κυρίως στους έγχρωμους πληθυσμούς. Από το 1997 μέχρι και το 2007 η ετήσια επίπτωση του νεφρικού καρκινώματος σταθεροποιήθηκε στο 2,6%. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό που παρατηρήθηκε την ίδια περίοδο είναι η μείωση των διαστάσεων των όγκων που διαγιγνώσκονται αρχικά αφού η πλειονότητα των όγκων είναι πλέον σταδίου I [17,18].



Διάγραμμα 1: Επίπτωση της νόσου ετησίως στις ΗΠΑ καθώς και η θνητότητα σε σχέση και με τα φύλα

Η κύρια εξήγηση για την αύξηση της πρώιμης διάγνωσης του καρκίνου του νεφρού είναι οι σύγχρονες απεικονιστικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται σε σχέση με το παρελθόν. Έτσι εξηγείται και το γεγονός πως στις μέρες μας ο καρκίνος του νεφρού είναι τυχαίο εύρημα στο 60% των περιπτώσεων σε σχέση με την δεκαετία του '70, όταν το ποσοστό μετά βίας έφτανε το 10% [19].

#### Φύλο και Ηλικία

Σε παλαιότερες δημοσιεύσεις το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα είχε την διπλάσια επίπτωση στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες. Τα νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι αυτή η αναλογία έχει αλλάξει [20].

Η συνηθέστερη ηλικία εμφάνισης του νεφρικού καρκίνου είναι η 6<sup>η</sup> έως 8<sup>η</sup> δεκαετία με μέσο όρο εμφάνισης τα 64 έτη. Δεν είναι ιδιαίτερα συνηθισμένος σε νέους ηλικίας έως 40 ετών, ενώ είναι εξαιρετικά σπάνιος σε παιδιά [21,22].

## Θνητότητα

Η πενταετής επιβίωση των ασθενών με καρκίνο του νεφρού έχει διπλασιαστεί τα τελευταία 50 χρόνια από το 34%, που ήταν το 1954, στο σχεδόν 64% που σήμερα [23]. Είναι πολύ σημαντικό το γεγονός ότι υπάρχει αυτή η βελτίωση στην επιβίωση καθώς η επίπτωση της νόσου έχει τριπλασιαστεί [διάγραμμα 1]. Η αύξηση της επιβίωσης οφείλεται κατά κύριο λόγο στην πρόωπη διάγνωση με την ανάπτυξη και την χρήση σύγχρονων απεικονιστικών τεχνικών αλλά και την εξέλιξη των χειρουργικών τεχνικών όπως και στην χρήσης νέων φαρμάκων [24].

## Παράγοντες Κινδύνου

Υπάρχουν αρκετοί περιβαλλοντολογικοί αλλά και κλινικοί παράγοντες που έχουν συνδεθεί με το καρκίνο του νεφρού:

- Κάπνισμα: Το κάπνισμα φαίνεται να διπλασιάζει την πιθανότητα για εκδήλωση καρκίνου του νεφρού, ενώ φαίνεται πως το 1/3 των περιστατικών καρκίνου του νεφρού εμφανίζεται σε καπνιστές [25].
- Αρτηριακή Υπέρταση (Α.Υ.): Η Α.Υ. φαίνεται να είναι άμεσα συνδεδεμένη με την εμφάνιση του νεφρικού καρκίνου χωρίς όμως να υπάρχει σαφής παθογενετικός μηχανισμός που να συνδέει τις δύο νοσολογικές οντότητες. Φαίνεται όμως να μην υπάρχει άμεσος συσχετισμός με την παχυσαρκία ή την αντι-υπερτασική αγωγή, παράγοντες που αμφότεροι συνδέονται με την εκδήλωση της υπέρτασης [26].
- Σακχαρώδης Διαβήτης: Φαίνεται να υπάρχει αύξηση της πιθανότητας του νεφρικού καρκίνου χωρίς όμως να είναι άμεσα συνδεδεμένος με αυτό. Το πιο πιθανόν είναι να υπάρχει έμμεσος συσχετισμός μέσω του μηχανισμού της υπέρτασης που είναι συνδεδεμένος με τη νόσο του σακχαρώδους διαβήτη [27].
- Εργασιακοί παράγοντες κινδύνου: Υπάρχουν αρκετοί παράγοντες κινδύνου στον εργασιακό χώρο που έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση νεφρικού καρκίνου. Οι πιο χαρακτηριστικές και καλύτερα μελετημένες περιπτώσεις είναι αυτές του αμιάντου, του καδμίου και διαφόρων παραγώγων του πετρελαίου. Είναι ιδιαίτερα χαρακτηριστική η αύξηση της πιθανότητας κινδύνου σε εργαζόμενους με αμιάντο ή κάδμιο οι οποίοι είναι παράλληλα και καπνιστές [28].
- Παχυσαρκία: Είναι ιδιαίτερα σημαντικός ο ρόλος της παχυσαρκίας όχι μόνον για τον νεφρικό καρκίνο αλλά και για έναν άλλο σημαντικό αριθμό νεοπλασμάτων [29].
- Επίκτητη κυστική νόσος του νεφρού: Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση εκδηλώνουν σε ένα ποσοστό της τάξης του 30-50% επίκτητη πολυκυστική νόσο του νεφρού η οποία αυξάνει τον κίνδυνο εκδήλωσης καρκίνου του νεφρού κατά τριάντα

φορές. Οι ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση εμφανίζουν νεφρικό καρκίνο κατά την διάρκεια της ζωής τους σε ποσοστό μεγαλύτερο του 6% [30].

- Νεφροπάθεια από κατάχρηση αναλγητικών: Η παρατεταμένη μακροχρόνια χρήση διαφόρων τύπων αναλγητικών αλλά κυρίως αυτά που περιέχουν παρακεταμόλη και ασπιρίνη μπορούν να προκαλέσουν διάφορες νεφροπάθειες αλλά και νεφρική ανεπάρκεια, ενώ έχουν συνδεθεί με νεοπλασίες κυρίως της νεφρικής πυέλου. Παρ' όλα αυτά δεν υπάρχει αποδεδειγμένος συσχετισμός με την προδιάθεση για νεφρικού τύπου καρκίνωμα, σε αντίθεση με τα άτομα που λαμβάνουν μακροχρόνια μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη (ΜΣΑΦ) [31].
- Γενετικοί παράγοντες: Ο κίνδυνος για έναν ασθενή, ο οποίος πάσχει από νεφροκυτταρικό καρκίνο, να εκδηλώσει ένα δεύτερο μετάχρονο νεφρικού τύπου καρκίνωμα είναι αυξημένος, ιδιαίτερα αν η εμφάνιση της νόσου είναι σε σχετικά νεαρή ηλικία. Αν και στις περισσότερες περιπτώσεις το νεφρικό καρκίνωμα είναι σποραδική νόσος, υπάρχουν αρκετά γενετικά σύνδρομα που έχουν συσχετιστεί με αυτό. Παράγοντες που συμβάλλουν στο γενετικό κομμάτι εκδήλωσης της νόσου είναι η ύπαρξη πρώτου βαθμού συγγενούς με RCC, η εμφάνιση της νόσου πριν τα 40 έτη και η πολυεστιακή ή αμφοτερόπλευρη νόσος. Το γονιδιακό υπόβαθρο του νεφρικού καρκίνου θα συζητηθεί σε ξεχωριστό κομμάτι αυτής της διατριβής [32].
- Πολυκυστική νόσος: Στην περίπτωση εμφάνισης του RRC στο πλαίσιο εκδήλωσης της πολυκυστικής νόσου παρατηρούνται ιδιαίτερα κλινικά χαρακτηριστικά, όπως η αμφοτερόπλευρη εντόπιση της νόσου, η πολυκεντρικότητα αλλά και ο σαρκωματοειδής ιστολογικός χαρακτήρας του RCC. Παρ' όλα αυτά αξίζει να αναφέρουμε πως δεν φαίνεται να υπάρχει υψηλότερη επίπτωση του νεφρικού καρκίνου σε αυτή την κατηγορία των ανθρώπων σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό [33].
- Χημειοθεραπεία: Η χρήση της στην παιδική ηλικία, κυρίως για παιδιατρικές κακοήθειες, έχει συνδυαστεί με την ανάπτυξη κυρίως καρκινώματος με τη διαμετάθεση Xp11.2 [34].
- Αλκοόλ: Φαίνεται να έχει έναν προστατευτικό ρόλο στην εκδήλωση του νεφρικού καρκίνου και μάλιστα το όφελος είναι ανάλογο με την ποσότητα που καταναλώνεται, ενώ είναι ανεξάρτητο από τους άλλους παράγοντες κινδύνου, όπως η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης ή η αρτηριακή υπέρταση [35].
- Άλλοι παράγοντες κινδύνου: Υπάρχουν αρκετοί ακόμα παράγοντες που έχουν συσχετιστεί με την εκδήλωση του νεφρικού καρκινώματος αλλά που δεν έχουν μελετηθεί σε τόσο βάθος όπως οι προαναφερθέντες. Μερικοί από αυτούς είναι η

ηπατίτιδα C, η προηγούμενη ακτινοβολία, η δρεπανοκυτταρική αναιμία και η ορμονοθεραπεία με οιστρογόνα μόνο (χωρίς προγεστερόνη) [36,37].

### 3. Παθολογική Ανατομία

Η ιστολογική ταξινόμηση του νεφρικού καρκίνου έχει πάρα πολλές χρησιμότητες επειδή συνδέει τον ιστολογικό της τύπο με συγκεκριμένο παθογενετικό μηχανισμό, μας δίνει πληροφορίες σχετικά με την πρόγνωση της νόσου, ενώ στις μέρες μας με τις στοχευόμενες θεραπείες μας βοηθάει να επιλέξουμε το καλύτερο θεραπευτικό σχήμα για τις ανάγκες του συγκεκριμένου ασθενή. Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται οι ιστολογικοί τύποι του νεφροκυτταρικού καρκίνου, όπως αυτοί προσδιορίστηκαν από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας το 2004 και κατά κύριο λόγο βασίζονται σε μορφολογικά χαρακτηριστικά χωρίς όμως να αποσυνδέονται από τις μοριακές ιδιαιτερότητες κάθε ιστολογικού υπότυπου.

Στην συνέχεια θα αναφέρουμε κάθε ιστολογικό τύπο ξεχωριστά καθώς και τις πιο σημαντικές μοριακές μεταβολές που τους χαρακτηρίζουν.

<b>Κακοήθη νεοπλάσματα</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Διαγοκυτταρικού τύπου</li><li>• Πολύχωρο κυστικό διαγοκυτταρικό</li><li>• Θηλώδες</li><li>• Χρωμόφοβο</li><li>• Συλλεκτικών αγωγών του Bellini</li><li>• Μυελοειδές</li><li>• Καρκίνωμα με διαμετάθεση Χp11.2</li><li>• Καρκίνωμα από νευροβλάστωμα</li><li>• Βλεννώδες και ακανθοκυτταρικό</li><li>• Αταξινόμητου τύπου</li></ul>
<b>Καλοήθη τύπου</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Θηλώδες αδένωμα</li><li>• Ογκοκύτωμα</li></ul>

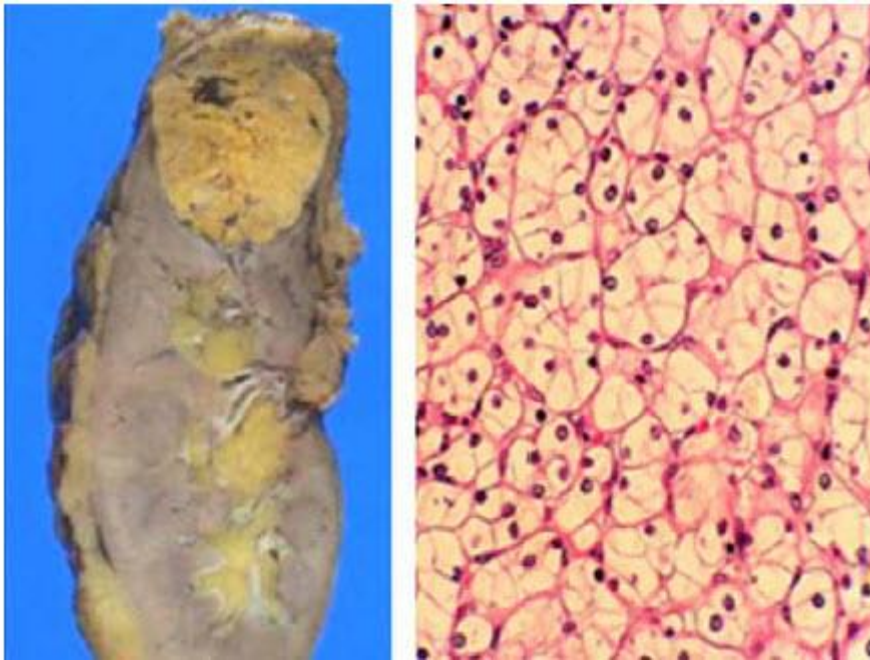
**Πίνακας 1: Ταξινόμηση των νεφροκυτταρικών νεοπλασμάτων κατά WHO 2004**

#### *Νεφρικό καρκίνωμα διαγοκυτταρικού τύπου*

Είναι ο πιο συχνός ιστολογικός τύπος του νεφρικού καρκίνου και αντιστοιχεί περίπου στο 60-70% του συνόλου. Εμφανίζεται πιο συχνά στην 6η-7η δεκαετία, ενώ στις μέρες μας αυτή η αναλογία έχει διαμορφωθεί στους άντρες σε σχέση με τις γυναίκες σε 2:1. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων εκδηλώνεται σποραδικά καθώς μόνο το 5% αντιστοιχεί σε κάποιο κληρονομούμενο σύνδρομο όπως το von Hippel-Lindau ή το Birt-Hogg-Dube σύνδρομο. Σαν

έναν άτυπο κανόνα θα μπορούσαμε να αναφέρουμε το γεγονός πως το οικογενές καρκίνωμα διαυγοκυτταρικού τύπου εμφανίζεται σε σχετικά νεαρές ηλικίες, είναι πολυκεντρικό και πάρα πολύ συχνά αμφοτερόπλευρο.

Μορφολογικά παρουσιάζεται ως ένας στρογγυλός καλά περιγραμμένος χωρίς κάψα όγκος, κιτρινωπού χρώματος με αρκετά αιμορραγικά στοιχεία, κυστική εκφύλιση και πολλαπλές επασβεστώσεις (εικόνα 1).



**Εικόνα 1: Μακροσκοπική και μικροσκοπική εικόνα του διαυγοκυτταρικού καρκινώματος**

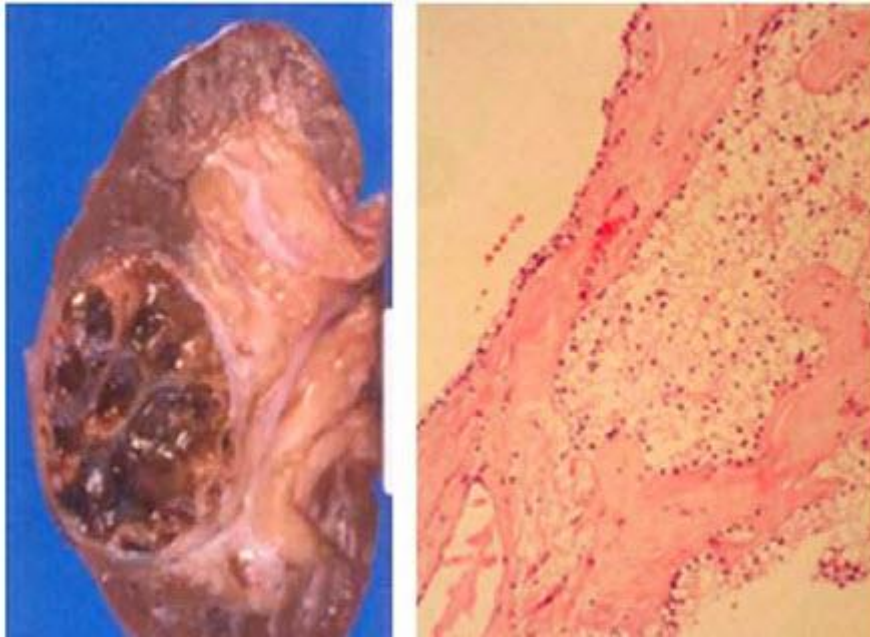
Σε λιγότερο από το 5% των περιπτώσεων παρουσιάζεται αμφοτερόπλευρα ή πολυεστιακά, αφού αυτή η μορφολογία παρατηρείται κατά κύριο λόγο στα κληρονομούμενου τύπου σύνδρομα.

Μικροσκοπικά τα καρκινικά κύτταρα εμφανίζουν διαυγές κυτταρόπλασμα κυρίως γιατί χάνουν το λίπος και το γλυκογόνο του κυτταροπλάσματος κατά την προετοιμασία των ιστοπαθολογικών δειγμάτων.

Η σαρκωματοειδής διαφοροποίηση του διαυγοκυτταρικού καρκινώματος παρατηρείται σε ποσοστό μικρότερο του 5% και συνδυάζεται με πτωχή πρόγνωση.

### *Πολύχωρο κυστικό νεφρικό καρκίνωμα*

Πρόκειται για μια σπάνια σχετικά ιστολογική οντότητα και αποτελεί υπότυπο του διαυγοκυτταρικού καρκινώματος σε ποσοστό περίπου 5%. Πρόκειται για μια καλά περιγεγραμμένη στρογγυλή κυστική μάζα χωρίς ιδιαίτερα στερεά στοιχεία. Σε μικροσκοπικό επίπεδο παρατηρούνται πολλαπλές μικρές κύστες και σχεδόν πάντα είναι χαμηλού βαθμού κακοήθειας, τοποθετώντας αυτόν τον όγκο στα νεοπλάσματα εξαιρετικά καλής πρόγνωσης στην περίπτωση που πραγματοποιηθεί πλήρης χειρουργική εκτομή του όγκου (εικόνα 2).

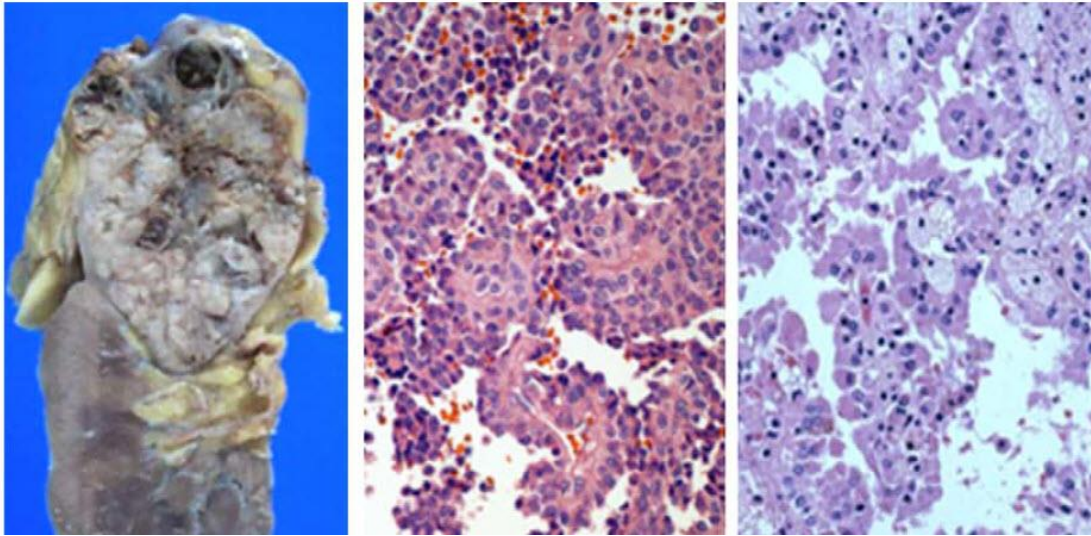


**Εικόνα 2: Μακροσκοπική (αριστερά) και μικροσκοπική (δεξιά) απεικόνιση του πολύχωρου κυστικού νεφρικού καρκινώματος**

### *Θηλώδες νεφρικό καρκίνωμα*

Ο συγκεκριμένος τύπος καρκινώματος (εικόνα 3) έχει λιγότερο επιθετική κλινική εξέλιξη σε σχέση με το κλασικό διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα. Μπορεί να έχει διαφορετικά ποσοστά θηλώδους μορφολογίας, μπορεί να είναι αμφοτερόπλευρο ή πολυεστιακό με συχνές αιμορραγίες, νεκρώσεις και κυστικούς εκφυλισμούς. Μέχρι πρόσφατα διαχωριζόταν σε ηωσινόφιλα και βασεόφιλα θηλώδη καρκινώματα αλλά στην πρόσφατη κατηγοριοποίηση κατά WHO ο διαχωρισμός έγινε βάσει κυτταρολογικών χαρακτηριστικών. Έτσι τα θηλώδη καρκινώματα διαχωρίζονται σε κυτταρικού τύπου I & II με τον κυτταρικό τύπο II να χαρακτηρίζεται από σχετικά καλύτερη πρόγνωση σε σχέση με τον τύπο I. Η σαρκωματοειδής διαφοροποίηση είναι αρκετά σπάνια σε αυτό τον τύπο όγκου. Η τρισωμία ή η τετρασωμία του

χρωμοσώματος 7, η τρισωμία 17 καθώς και η απώλεια του Y χρωμοσώματος αποτελούν τις πιο πρώιμες καρυοτυπικές αλλαγές.



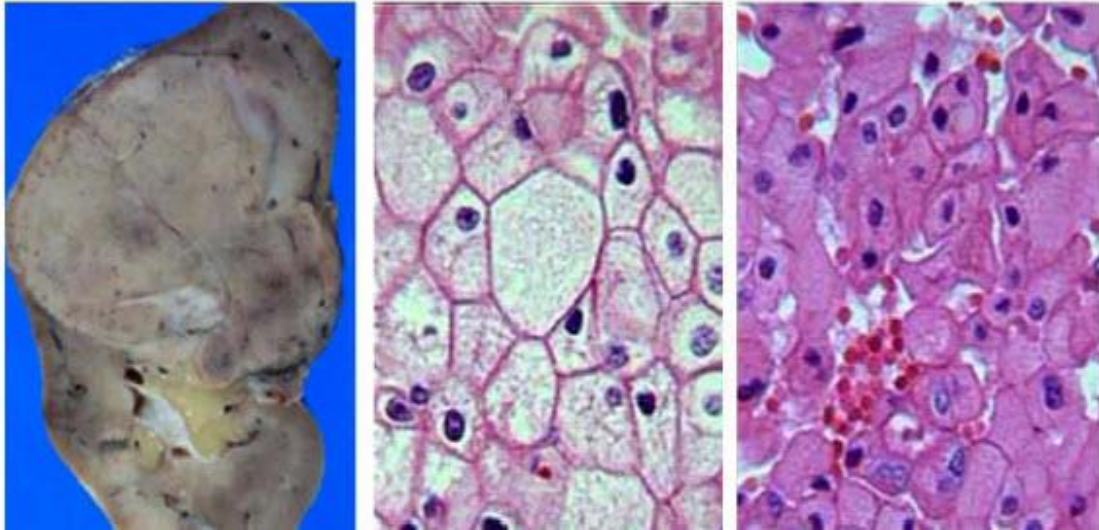
**Εικόνα 3: Μακροσκοπική (αριστερά) και μικροσκοπική (μέση και δεξιά) εικόνα του θηλώδους νεφρικού καρκινώματος καθώς και των δύο διαφορετικών κυτταρολογικών κατηγοριών**

Ο βαθμός διαφοροποίησης (grade) κατά Fuhrman, το στάδιο, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η σαρκωματοειδής διαφοροποίηση έχουν συνδεθεί με την πρόγνωση ενώ η κατανομή της συγκεκριμένης ιστολογικής υποκατηγορίας στα δύο φύλα είναι όμοια με αυτή του διαυγοκυτταρικού καρκινώματος [38].

#### *Χρωμόφοβο νεφρικό καρκίνωμα*

Είναι σαφώς λιγότερο επιθετικό από άλλα νεφρικά καρκινώματα και χαρακτηρίζεται από την παρουσία ωχρών και αυξημένων διαστάσεων κυττάρων, ενώ αποτελεί το 5% του συνόλου των επιθηλιακών όγκων του νεφρού. Είναι αρκετά συμπαγής όγκος με συνήθως πορτοκαλί χρώμα το οποίο γίνεται συνήθως γκρι μετά την μονιμοποίηση (εικόνα 4). Προσοχή χρειάζεται στην ηωσινοφιλική παραλλαγή του νεοπλάσματος που εύκολα μπορεί να μπερδευτεί με το ογκοκύτωμα. Στις περιπτώσεις που υπάρχει σαρκωματοειδής εξαλλαγή έχουμε και μετατροπή της νόσου σε μια σαφώς πιο επιθετική συμπεριφορά.





**Εικόνα 4: Μακροσκοπική και μικροσκοπική απεικόνιση του χρωμόφοβου νεφρικού καρκινώματος. Απεικονίζεται ο συνήθης όσο και ο ηωσινοφιλικός τύπος.**

Φαίνεται να υπάρχει κάποιος συσχετισμός μεταξύ του χρωμόφοβου νεφρικού καρκινώματος και του ογκοκυτώματος, ο οποίος βέβαια προς το παρόν δεν έχει πλήρως αποδειχθεί. Από την άλλη, δεν μπορούν να αγνοηθούν ενδείξεις που υπάρχουν για αυτή την πιθανή συσχέτιση, όπως για παράδειγμα ότι και τα δύο πιθανόν προέρχονται από τα κύτταρα που περιβάλλουν τα αθροιστικά σωληνάρια ή ότι και τα δύο εμφανίζουν αλλαγές στα μιτοχόνδρια και κυρίως στο μιτοχονδρικό DNA. Επίσης υπάρχουν σαφείς βιβλιογραφικές αναφορές που περιγράφουν υβριδικού τύπου μορφώματα με χαρακτηριστικά τόσο του ογκοκυτώματος όσο και του χρωμόφοβου νεφρικού καρκινώματος. Αρχίζει λοιπόν να εδραιώνεται η άποψη ότι το ογκοκύττωμα είναι η καλοήθης εκδοχή του χρωμόφοβου νεφρικού καρκινώματος, καθιστώντας το μέλος της ίδιας ιστολογικής οικογένειας [39,40].

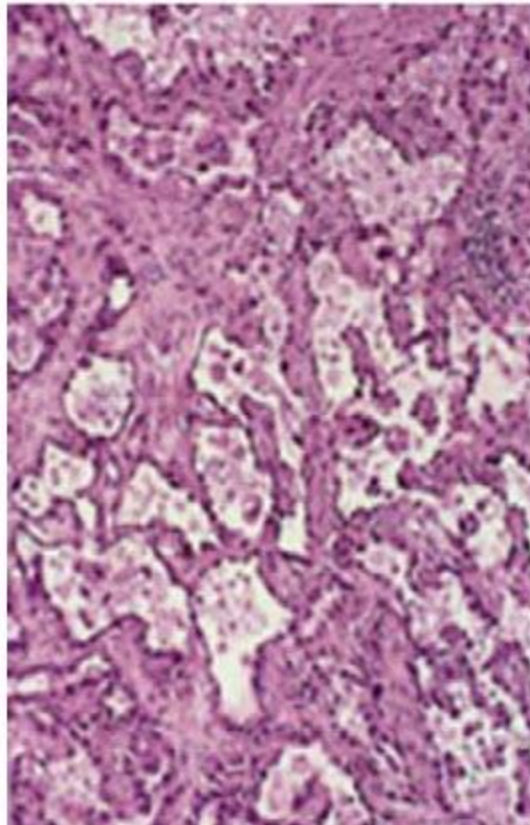
Υπάρχει ένα πλήθος χρωμοσωμικών αλλαγών που έχουν παρατηρηθεί στο χρωμόφοβο νεφρικό καρκίνωμα με κυριότερες τις απώλειες χρωμοσωμάτων 1, 2, 6, 10, 17, 21. Κατά κύριο λόγο, αυτός ο ιστολογικός τύπος απαντάται στην 6<sup>η</sup> δεκαετία και έχει όμοια κατανομή στα δύο φύλα [41].

#### *Καρκίνωμα των συλλεκτικών σωληνίσκων του Bellini*

Πρόκειται για ένα λευκόφαιο όγκο, συνήθως με κεντρική νεφρική εντόπιση ο οποίος διαγιγνώσκεται κυρίως σε μεταστατικό στάδιο (εικόνα 5). Η κυτταρική ατυπία είναι κατά κύριο λόγο Fuhrman 3 & 4 grade. Ανοσοϊστοχημικά πρόκειται για έναν όγκο θετικό στις κερατίνες χαμηλού αλλά και υψηλού μοριακού βάρους καθώς και στην βιμεντίνη.



Το κύριο διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα (ιστοπαθολογικά τουλάχιστον) είναι με το θηλώδες νεφρικό καρκίνωμα τύπου II ή το καρκίνωμα νεφρικής πυέλου. Το καρκίνωμα του Bellini αντιπροσωπεύει ένα πολύ μικρό ποσοστό των νεφρικών καρκινωμάτων, αφού απαντάται σε ποσοστό μικρότερο του 1% του συνόλου. Η μέση ηλικία εμφάνισης της νόσου είναι τα 55 έτη, ενώ υπάρχει μια πολύ μικρή υπεροχή της εμφάνισης στους άνδρες. Πολλές φορές αυτοί οι ασθενείς εμφανίζουν θετική για κακοήθεια κυτταρολογική σύρων [42,43].

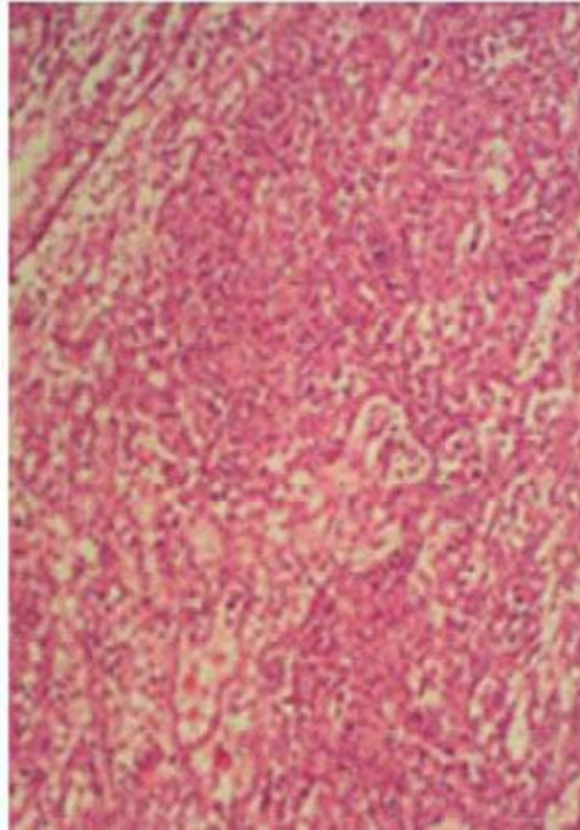


**Εικόνα 5: Καρκίνωμα του Bellini**

#### *Μυελοειδές νεφρικό καρκίνωμα*

Πρόκειται για ένα σπάνιο αλλά ταχέως αναπτυσσόμενο νεόπλασμα και πιθανόν είναι μια πιο επιθετική παραλλαγή του καρκινώματος του Bellini (εικόνα 6). Μέχρι το 1998 εθεωρείτο ότι είναι μια παραλλαγή των καρκινωμάτων της νεφρικής πυέλου (κάτι που άλλαξε με την προσφατη κατά WHO κατηγοριοποίηση).

Κατά κύριο λόγο είναι ένα καρκίνωμα που εμφανίζεται σε νεαρούς άνδρες της μαύρης φυλής, ήδη μεταστατικό εξ αρχής και με πολύ πτωχή πρόγνωση [44].



**Εικόνα 6: Μυελοειδές νεφρικό καρκίνωμα**

*Νεφρικό καρκίνωμα Χρ11.2 μετάθεσης/TFE3 γονιδιακής σύντηξης*

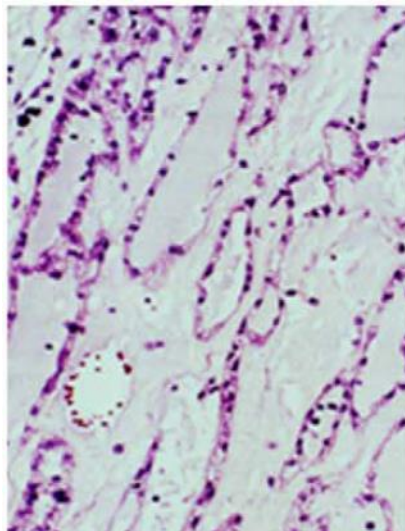
Αυτός ο τύπος νεφρικού καρκίνου σχετίζεται με διαφόρων ειδών μεταθέσεις που αφορούν το χρωμόσωμα Χρ11.2 και που ουσιαστικά οδηγούν σε γονιδιακές συντήξεις που αφορούν το γονίδιο TFE3. Εμφανίζεται σχεδόν αποκλειστικά σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες. Τα καρκινώματα που χαρακτηρίζονται από την ASPL-TFE3 μετάθεση εμφανίζονται κατά κύριο λόγο σχεδόν πάντα με λεμφαδενικές μεταστάσεις, προσομοιάζοντας μακροσκοπικά ως προς τη μορφολογία το διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα αλλά σε μικροσκοπικό επίπεδο εμφανίζουν ένα συνδυασμό ιστολογικών χαρακτηριστικών τόσο του μυελοειδούς καρκινώματος όσο και του καρκινώματος από διαυγή κύτταρα [45].

*Νεφρικό καρκίνωμα συσχετιζόμενο με νευροβλάστωμα*

Λίγες περιπτώσεις νεφροκυτταρικού καρκινώματος εμφανίζονται σε επιζήσαντες από νευροβλάστωμα παιδικής ηλικίας. Αυτή η ετερογενής ομάδα νεοπλασμάτων έχει ογκοκυτταρική χαρακτηριστικά και δεν αποτελούσε ξεχωριστή οντότητα στην προηγούμενη κατηγοριοποίηση κατά WHO. Η πρόγνωση είναι ίδια με αυτή των υπολοίπων νεφροκυτταρικών καρκινωμάτων, με όμοια εκδήλωση και στα δύο φύλα και μέση ηλικία εκδήλωσης τα 13,5 έτη [46].

### *Βλεννώδες, κυλινδρικό και ακανθοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα*

Πρόκειται για μια νέα ιστολογική κατηγορία και είναι η πρώτη φορά που συμπεριλαμβάνεται στην παγκόσμια κατηγοριοποίηση κατά WHO. Πρόκειται κατά κύριο λόγο για ένα καρκίνωμα χαμηλού βαθμού κακοήθειας που συνδυάζει και τα τρία αυτά κυτταρικά χαρακτηριστικά: κυλινδρικό και ακανθοκυτταρικό στοιχείο με ενδιάμεσο βλεννώδες υπόστρωμα (εικόνα 7). Εμφανίζεται πιο συχνά στις γυναίκες και με μέση ηλικία εμφάνισης τα 53 έτη [47].

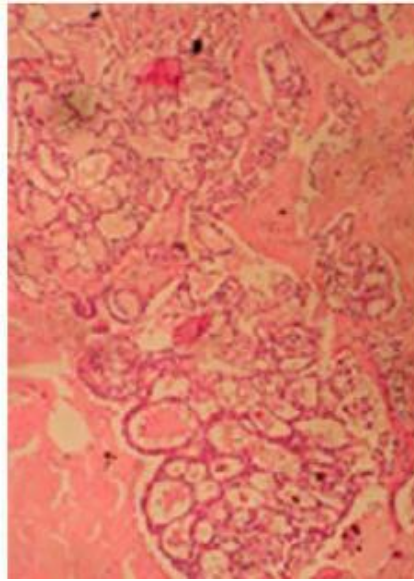


**Εικόνα 7: Βλεννώδες, κυλινδρικό και ακανθοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα**

### *Αδιαφοροποίητο νεφρικό καρκίνωμα*

Στις περισσότερες χειρουργικές αναφορές, το αδιαφοροποίητο νεφρικό καρκίνωμα (εικόνα 8) αποτελεί το 4-6% των περιπτώσεων νεφρικού καρκίνου και συνήθως πρόκειται για όγκους υψηλού βαθμού κακοήθειας και υψηλού σταδίου με πολύ πτωχή πρόγνωση.

Στην πλειονότητα των περιπτώσεων πρόκειται για ενδιαφέρουσες παθολογοανατομικά περιπτώσεις είτε με την παρουσία αποκλειστικά σαρκοματωδών στοιχείων είτε και την βλεννώδη παραγωγή, την ανάμιξη διαφόρων κυτταρολογικών πληθυσμών ή την αδυναμία ταυτοποίησης και αναγωγής σε οποιαδήποτε κυτταρική προέλευση.



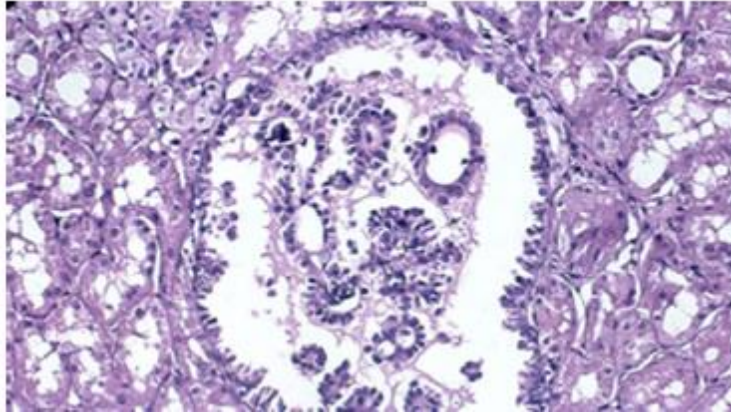
**Εικόνα 8: Αδιαφοροποίητο νεφρικό καρκίνωμα**

#### *Καλοήγη νεοπλάσματα*

Υπάρχουν διάφορα καλοήγη νεοπλάσματα στην ιστοπαθολογία του νεφρού τα οποία σύντομα θα περιγράψουμε χωρίς όμως να κάνουμε ιδιαίτερα εκτενή αναφορά σε καθένα από αυτά χωριστά.

Το πιο κοινό καλόηθες νεόπλασμα του νεφρού (σε ποσοστό 10-40%) είναι το θηλώδες αδένωμα (συνήθως <0,5 εκ), μονήρες, καλά περιγεγραμμένο, λευκόφαιο, συνήθως στον φλοιό του νεφρού. Μοιάζει μορφολογικά αλλά και γενετικά με το θηλώδες καρκίνωμα, οι ομοιότητες όμως σταματούν εδώ. Θα άξιζε να αναφέρουμε ότι χρησιμοποιείται ευρέως και ο όρος νεφρικής αδενώματωσης όταν υπάρχουν πολλαπλές και αμφοτερόπλευρες βλάβες [48].

Ο δεύτερος πιο συχνός όγκος επιθηλιακής προέλευσης του νεφρού είναι το ογκοκύτωμα (εικόνα 9). Ως καλόηθες νεόπλασμα εμφανίζει χαμηλή μιτωτική δραστηριότητα ενώ απουσιάζουν οι νεκρώσεις.



Εικόνα 9: Ογκοκύτωμα

#### 4. Μοριακή Βιολογία του Καρκίνου του Νεφρού

Το 40 έως 80% των διαυγοκυτταρικών νεφρικών καρκινωμάτων συνδέονται με απενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου von Hippel-Lindau (VHL) είτε λόγω μεταλλάξεων είτε λόγω υπερμεθυλίωσης. Όλη αυτή η γνώση σχετικά με την σημαντικότητα του συγκεκριμένου γονιδίου στην παθογένεια προήλθε από την μελέτη της νόσου von Hippel-Lindau, η οποία προκαλείται από μεταλλάξεις του εν λόγω γονιδίου και προκαλεί μια σειρά νεοπλασιών που μεταξύ αυτών είναι και ο διαυγοκυτταρικός νεφρικός καρκίνος. Η εξέλιξη της μοριακής βιολογίας καθώς και η πρόοδος στις εργαστηριακές τεχνικές οδήγησε σε μία, στην κυριολεξία, μηχανιστική γνώση σχετικά με την παθογένεση του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος.

##### *Νόσος von Hippel-Lindau*

Η VHL νόσος είναι ένα κληρονομικό καρκινικό σύνδρομο που περιγράφηκε για πρώτη φορά περίπου πριν από 100 χρόνια και έχει επίπτωση 1:35.000. Η νόσος είναι κληρονομούμενη με επικρατή τρόπο. Τα κύρια κλινικά χαρακτηριστικά αυτού του συνδρόμου είναι η παρουσία πολλαπλών κυστών σε όλα σχεδόν τα σπλαχνικά όργανα αλλά και στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι κύριες αιτίες θανάτου σε αυτή την κατηγορία ασθενών είναι τα νεφρικά καρκινώματα και τα αιμαγγειοβλαστώματα [49].

Στην πραγματικότητα όλοι οι ασθενείς που διαγιγνώσκονται με VHL νόσο έχουν κληρονομήσει ένα ελαττωματικό VHL γονίδιο (που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3p25) από έναν γονέα. Οι παθολογικές φαινοτυπικές αλλαγές όμως παρατηρούνται όταν το άλλο αλληλίο υπόκειται είτε σε απενεργοποίηση, είτε σε απώλεια, καθιστώντας ανύπαρκτο το τελικό παράγωγο του συγκεκριμένου γονιδίου, την πρωτεΐνη VHL (pVHL). Ο κίνδυνος

εμφάνισης νεοπλασματικής νόσου σε κάθε όργανο επηρεάζεται άμεσα από τον τύπο και το είδος της μετάλλαξης που υφίσταται το VHL γονίδιο. Έτσι, κάποιες VHL μεταλλάξεις προκαλούν την VHL νόσο τύπου 1 (χαμηλός κίνδυνος ανάπτυξης φαιοχρωμοκυτώματος), ενώ άλλες προκαλούν VHL νόσους τύπου 2. Χρησιμοποιούμε τον όρο νόσους διότι αυτή η κατηγορία έχει διαχωριστεί σε δύο ακόμα υποκατηγορίες, ανάλογα με το αν υπάρχει χαμηλός ή υψηλός κίνδυνος ανάπτυξης νεφροκυτταρικού καρκίνου ή εκδήλωση φαιοχρωμοκυτώματος (νόσος τύπου 2A, 2B και 2C αντίστοιχα). Το VHL παραμένει ακόμα και σήμερα ένα μυστηριώδες γονίδιο. Ενώ εκφράζεται εκτενώς στον οργανισμό, δεν υπάρχει σαφής αιτιολόγηση του γεγονότος ότι δημιουργεί νεοπλασίες σε συγκεκριμένα όργανα ενώ επηρεάζει άλλα [50].

#### *VHL μεταλλάξεις σε σποραδικούς καρκίνους*

Η απενεργοποίηση των δύο αλληλίων (πατρικό και μητρικό) ως αποτέλεσμα σωματικών μεταλλάξεων είναι ένα αρκετά κοινό γεγονός στα μη κληρονομικά αιμαγγειοβλαστώματα και στα διαυγοκυτταρικά νεφρικά καρκινώματα, ακολουθώντας το γνωστό μοντέλο των δύο χτυπημάτων κατά Hudson (two hit model) [51]. Η συχνότητα απώλειας της ετεροζυγωτίας στην θέση 3p25 στον σποραδικό νεφρικό καρκίνο είναι της τάξης του 90%, ποσοστό σαφώς μεγαλύτερο ακόμα και από αυτή καθεαυτή την συχνότητα μεταλλάξεων VHL, η οποία κυμαίνεται περίπου στο 50%. Αυτό καθιστά πιθανό το γεγονός ότι στη θέση 3p βρίσκονται επιπλέον ογκοκατασταλτικά γονίδια σχετιζόμενα με τον νεφρικό καρκίνο [52].

Σε αντίθεση με το αιμαγγειοβλάστωμα και το νεφρικό καρκίνωμα, οι μεταλλάξεις του VHL είναι σπάνιες στο φαιοχρωμοκύτωμα, εκτός αν υπάρχει ήδη μία μη εντοπισμένη VHL μετάλλαξη προγενέστερα.

Γενικότερα οι μεταλλάξεις του VHL είναι σπάνιες σε άλλα καρκινώματα, αν και έχουν παρατηρηθεί σποραδικά σε περιπτώσεις καρκίνου του παχέος εντέρου [53]. Υπάρχουν σχετικά πρόσφατες δημοσιεύσεις που υποστηρίζουν το γεγονός της αλληλεπίδρασης μεταξύ του pVHL και του Wnt μονοπατιού στον κολοορθικό καρκίνο και, κατά συνέπεια, γενετικές αλλαγές που με οποιονδήποτε τρόπο επηρεάζουν την pVHL, μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη καρκινογένεσως στον κατώτερο πεπτικό σωλήνα [54].

#### *Η VHL πρωτεΐνη*

Πρόκειται για μια πρωτεΐνη η οποία απαντάται σε δύο μορφές όπου πιθανότατα η πιο λειτουργική είναι η μικρότερη [55]. Παρ' όλα αυτά συνήθως αναφέρονται και στις δύο ισομορφές με τον γενικότερο όρο pVHL [56].



Η pVHL βρίσκεται τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα και συνεχώς μετακινείται μεταξύ αυτών [57]. Επιπλέον κάποιες pVHL συνδέονται τόσο με τα μιτοχόνδρια όσο και με το ενδοπλασματικό δίκτυο. Πιθανόν αυτές οι μετακινήσεις της pVHL αλλά και συνολικά η ποσότητα που παράγεται να οφείλονται σε διαφορές του pH αλλά και της πυκνότητας του κυττάρου.

Η pVHL δημιουργεί ένα σύμπλοκο με την elongin B, elongin C, Rbx1 και Cul2. Αυτό το σύμπλοκο ουσιαστικά έχει την ικανότητα να συμπικουϊτινώνει την  $\alpha$ -υπομονάδα ενός ετεροδιμερούς μεταγραφικού παράγοντα που ονομάζεται HIF (hypoxia inducible factor) και που σε περιπτώσεις επάρκειας οξυγόνου στο μικροπεριβάλλον κατευθύνεται προς το πρωτεάσωμα για αποδόμηση [49].

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η pVHL εμφανίζει δύο περιοχές όπου εμφανίζονται συχνά μεταλλάξεις, που ονομάζονται  $\alpha$  και  $\beta$  περιοχή. Η  $\alpha$  περιοχή ενώνεται απευθείας με την elongin C και δημιουργεί τον βασικό σχηματισμό του προαναφερθέντος συμπλόκου [58]. Η  $\beta$  περιοχή είναι κατά κύριο λόγο σημείο πρόσδεσης και ενώνεται απευθείας με τα μέλη της οικογένειας HIF $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$ , HIF3 $\alpha$ ) [59].

Η αλληλεπίδραση μεταξύ pVHL και HIF1 $\alpha$  είναι οξυγονοεξαρτώμενη γιατί ο HIF1 $\alpha$  πρέπει να προλλυλ-υδροξυλιωθεί, η οποία είναι μια οξυγονοεξαρτώμενη διαδικασία, ώστε να μπορέσει να αναγνωριστεί από την Pvh [60]. Αυτή η μετατροπή (που μπορεί να γίνει σε οποιαδήποτε από τα δύο ελεύθερα τμήματα προλίνης) καταλύεται από μέλη της οικογένειας Eg1N. Η Eg1N φαίνεται να είναι η κύρια προλλυλ-υδροξυλάση σε κανονικές συνθήκες και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε μεταβολές του οξυγόνου [61]. Σε χαμηλές συνθήκες οξυγόνου ή όταν δεν υπάρχει φυσιολογική pVHL λειτουργία, οι υπομονάδες HIF1 $\alpha$  δεν αποδομούνται αλλά συγκεντρώνονται και σχηματίζουν ετεροδιμερή με την υποομάδα HIF1 $\beta$ . Αυτά τα ετεροδιμερή προσδένονται σε ειδικές DNA ακολουθίες (hypoxia response elements) και μεταγραφικά ενεργοποιούν μια ολόκληρη ομάδα γονιδίων που ουσιαστικά εμπλέκονται στην συνολική κυτταρική προσαρμογή σε συνθήκες υποξίας περιλαμβάνοντας και βέβαια γονίδια που ελέγχουν την ερυθροποίηση, την αγγειογένεση, την πρόσληψη γλυκόζης και γενικότερα τον μεταβολισμό. Εικάζεται ότι ο HIF ελέγχει από 100 έως 200 γονίδια που σχετίζονται με αλλαγές στα επίπεδα οξυγόνωσης [62,63].

Η pVHL μπορεί να αλληλεπιδράσει και με άλλες κυτταρικές πρωτεΐνες όπως η fibronectin, Rpb1, Rpb7 και VDU-1. Βιοχημικά και γενετικά δεδομένα προτείνουν έναν μηχανισμό κατά τον οποίο η pVHL ρυθμίζει τον σχηματισμό ενός σταθερού εξωκυτταρικού στρώματος με μηχανισμούς τόσο HIF-εξαρτώμενους αλλά και μη-εξαρτώμενους [64].

### *VHL και Βιολογία του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος*

Οι ασθενείς με VHL νόσο (είτε τύπου 1 είτε 2B) αναπτύσσουν πολλές προκαρκινικές νεφρικές κύστεις. Ανοσοϊστοχημικά φαίνεται πως τα κύτταρα που σχηματίζουν αυτούς τους κυστικούς σχηματισμούς έχουν χάσει το έτερο VHL αλληλίο και κατ' επέκταση υπερπαράγουν HIF-εξαρτώμενα γονιδιακά προϊόντα [65]. Υποθέτει κανείς ότι συμβαίνουν και περαιτέρω μεταλλάξεις σε άλλα γενετικά σημεία που ουσιαστικά μετατρέπουν αυτούς τους κυστικούς σχηματισμούς σε νεφροκυτταρικά καρκινώματα.

Η αποκατάσταση της pVHL λειτουργικότητας σε VHL<sup>-/-</sup> διαυγοκυτταρικά καρκινώματα (γονιδιακή αποκατάσταση) μπορεί να μην επηρεάζει τον ρυθμό πολλαπλασιασμού σε επίπεδο κυτταρικών καλλιιεργειών, αλλά σαφώς καταστέλλει την ικανότητα σχηματισμού όγκων σε μοσχέυματα. Σε ειδικές εργαστηριακές συνθήκες η εκ νέου παραχθείσα pVHL (μετά την γονιδιακή επανεισαγωγή του VHL) μπορεί και να σταματήσει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό αλλά και να επαγάγει την διαφοροποίηση ενός RCC [66].

#### ο ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ VEGF ΣΤΟ RCC

Η συνεχώς αυξανόμενη γνώση της μοριακής βιολογίας του νεφροκυτταρικού καρκίνου οδήγησε στην αναγνώριση ειδικών σηματοδοτικών μονοπατιών με ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του διαυγοκυτταρικού κυρίως νεφρικού καρκίνου. Η ενεργοποίηση των μονοπατιών που εξαρτώνται από την νορμοξία/υποξία (ως αποτέλεσμα των μεταλλάξεων του VHL γονιδίου) προκαλεί την ενεργοποίηση διαφόρων σημαντικών γονιδίων για την περαιτέρω ανάπτυξη του καρκίνου. Ένας από αυτούς τους παράγοντες που ενεργοποιούνται με αυτό τον τρόπο και που παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο είναι ο VEGF (vascular endothelial growth factor).

#### *VEGF: βασικές αρχές*

Οι πρώτες παρατηρήσεις για την ύπαρξη ενός βιολογικού παράγοντα ο οποίος μπορούσε να οδηγήσει στην περαιτέρω ανάπτυξη υπαρχόντων αγγειακών συστημάτων ή στην δημιουργία νέων έγιναν το 1948 από τον Michaelson ο οποίος ονόμασε αυτόν τον νέο παράγοντα angiogenic factor X [67]. Στα επόμενα πενήντα χρόνια, μεγάλο πεδίο της έρευνας επικεντρώθηκε στο φαινόμενο της αγγειογένεσης καθώς και όλων των πιθανώς εμπλεκόμενων παραγόντων. Αυτός ο πρώτος παράγοντας που ανακαλύφθηκε πριν από 60 χρόνια αποτελεί έναν από τους θεμελιώδεις λίθους στην αγγειογενετική διαδικασία.

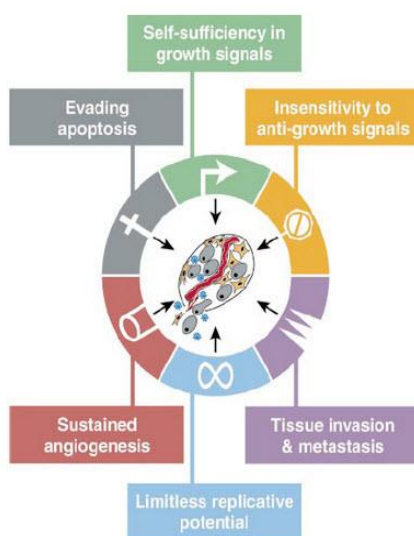
Το 1989 ο VEGF ταυτοποιήθηκε ως παράγοντας που έπαιξε πολύ σημαντικό ρόλο στην φυσιολογία των ενδοθηλιακών κυττάρων, αφού η έκκρισή του προκαλούσε την ανάπτυξη του ενδοθηλίου [68]. Ο ρόλος του λοιπόν τόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις όσο και στα



νεοπλάσματα άρχισε να θεωρείται δεδομένος και σημαντικός. Σύντομα διαπιστώθηκε ότι η δράση του VEGF στην συντριπτική πλειονότητα δεν εφαρμόζεται πάνω στα καρκινικά κύτταρα αλλά στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, υποκινώντας τόσο τον πολλαπλασιασμό τους όσο και τον σχηματισμό νέων αγγείων .

Αυτή η επί της ουσίας μιτογόνος διαδικασία χρησιμοποιείται τόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις, όπου χρειάζεται αυξημένη παροχή αίματος και θρεπτικών ουσιών (όπως είναι για παράδειγμα η ανάπτυξη, η επούλωση τραυμάτων, ο σχηματισμός του πλακούντα) όσο και σε παθολογικές περιπτώσεις (όπως για παράδειγμα διαβητική αμφιφληστροειδοπάθεια, επούλωση των ιστών από ισχαιμία, καρκίνος). Στην περίπτωση της καρκινικής ανάπτυξης, λόγω του ότι πέραν του 1 mm πάει να είναι δυνατή η διάχυση ουσιών, τα καρκινικά κύτταρα πρέπει να βρουν άλλο τρόπο να προμηθεύονται οξυγόνο και διάφορες θρεπτικές ουσίες. Η διαδικασία της νεοπλασματικής αγγειογένεσης εξαρτάται από την έκκριση VEGF (όπως άλλωστε και οι φυσιολογικές διεργασίες που εμπλέκουν την επέκταση δομών του ενδοθηλιακού δικτύου). Έτσι λοιπόν ο καρκινικός ιστός καταφέρνει από μόνος του να προωθεί την αγγειογένεση προσδίδοντάς του ένα ακόμα ξεχωριστό χαρακτηριστικό μαζί με τα υπόλοιπα που τον καθιστούν μια ιδιαίτερη βιολογική οντότητα (ενισχυμένος κυτταρικός πολλαπλασιασμός, αποφυγή απόπτωσης, ανεξαρτητοποίηση αυξητικών παραγόντων, μη ευαισθησία σε αντιαυξητικά μηνύματα, ικανότητα διήθησης ιστών – εικόνα 10) [69].

Ακριβώς λόγω του ιδιαίτερα σημαντικού ρόλου που κατέχει ο VEGF στην καρκινική ανάπτυξη, είναι λογικό ότι θα είχε και πρωταγωνιστικό ρόλο στην ανάπτυξη φαρμάκων που θα στόχευαν την νεοαγγειογένεση και την καρκινική ανάπτυξη. Το ίδιο βέβαια συνέβη και στην περίπτωση του καρκίνου του νεφρού.



**Εικόνα 10: Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του καρκίνου**

### *Μοριακά χαρακτηριστικά του VEGF και ισομορφές*

Μία από τις αρχικές ονομασίες που δόθηκε στον VEGF ήταν VPF (vascular permeability factor) και στην πραγματικότητα περιλαμβάνει μια οικογένεια συγγενών πεπτιδίων που το καθένα εκφράζεται σε συγκεκριμένους ιστούς και χρησιμοποιεί συγκεκριμένους υποδοχείς. Ο VEGF-A σχετίζεται δομικά με την οικογένεια PDGF (platelet derived growth factor), τόσο με τον PDGF-A όσο και με τον PDGF-B. Ο VEGF-A απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Ferrara και Henzel ως μια πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 45-kDa [70]. Το ενεργό κομμάτι της πρωτεΐνης είναι μια ακολουθία 26 αμινοξέων στο αμινοτελικό άκρο των διαφόρων ισομορφών. Το VEGF-A γονίδιο βρίσκεται στο 6p21.3 χρωμόσωμα [71]. Ένα προϊόν μεταγραφής του συγκεκριμένου γονιδίου κλωνοποιήθηκε από τους Leung et al., ταυτοποιώντας μία από τις πρώτες ισομορφές (VEGF165) [68]. Ο ανθρώπινος VEGF-A εμφανίζει τουλάχιστον 9 υποτύπους λόγω splicing του γονιδίου [72]. Εκτός από τον VEGF165 υπάρχουν και άλλες ισομορφές των 121 (VEGF121) και 189 (VEGF189) αμινοξέων αντίστοιχα και προκύπτουν από εξάλειψη 44 αμινοξέων και ένθεση άλλων 24 στο υπόλειμμα 116 αντιστοίχως. Σε καρκινικές σειρές απομονώθηκε από τον Poltorak και συν. ακόμα μια ισομορφή των 145 αμινοξέων (VEGF145) με απώλεια του εξωνίου 7 [73].

Όλες αυτές οι VEGF ισομορφές προκύπτουν με εναλλακτικό μάτισμα από γονίδιο 8 εξωνίων και η ισομορφή VEGF189 αντιπροσωπεύει το πλήρες μετάγραφο [74]. Κατά συνέπεια στον VEGF165 λείπει το εξώνιο 6, στον 145 το 7 ενώ στον VEGF 165 (που είναι και η κυρίαρχη ισομορφή) λείπει και το εξώνιο 6 αλλά και το 7 .

Η δραστηριότητα των διαφόρων ισομορφών του VEGF αποτελεί ακόμα ένα ανοικτό ερευνητικό πεδίο. Για παράδειγμα η ισομορφή VEGF165b, παρόλο που συνδέεται με την ίδια ισχύ με τον VEGFR-2 σε σχέση με τον VEGF165, δεν καταφέρνει να ενεργοποιήσει την διαδικασία μεταγωγής σήματος στο εσωτερικό του κυττάρου [75].

Στην ίδια οικογένεια με τον VEGF-A βρίσκονται ο VEGF-B, C και D που όμως προσδέονται σε διαφορετικούς προσδέτες απ' ό,τι ο VEGF-A και φαίνεται να παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη και ωρίμανση των λεμφαγγείων. Παρ' όλα αυτά δεν φαίνεται να έχουν κάποια ιδιαίτερη εμπλοκή με το RCC [76].

### *Ρύθμιση του VEGF: κύτταρο*

Ο VEGF παράγοντας παράγεται και εκκρίνεται κυρίως από τους ινοβλάστες. Η πρώτη απόδειξη γι' αυτόν τον συσχετισμό προήλθε από μια ερευνητική εργασία του 1998 όπου αφενός μεν παρατηρήθηκαν υψηλά επίπεδα πράσινης φωσφορίζουσας πρωτεΐνης (green

fluorescent protein-GFP) σε δοκιμασία επούλωσης έπειτα από την χρήση VEGF-επαγωγέα, ενώ από την άλλη η εμφύτευση όγκων σε ξενομοσχεύματα οδήγησε στην παρατήρηση ότι περιμετρικά του όγκου συγκεντρώνονταν υψηλά επίπεδα GFP. Ήταν ιδιαίτερα σημαντικό το γεγονός ότι αυτή η υπερσυγκέντρωση GFP ήταν το αποτέλεσμα της επίδρασης του VEGF του ξενιστή στον εμφυτευμένο όγκο. Βέβαια ακόμα πιο σημαντικό ήταν το γεγονός ότι στο εσωτερικό του όγκου παρατηρήθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις GFP. Αυτή ήταν και η πρώτη παρατήρηση που πραγματοποιήθηκε και μας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι αυτά τα ίδια τα κύτταρα του ξενιστή είχαν ξεκινήσει και προωθήσει μια διαδικασία σχηματισμού μικρών αγγείων στο εσωτερικό του εμφυτευμένου όγκου [77].

#### *Λειτουργίες του VEGF*

Ο VEGF αποτελεί ίσως μια από τις πιο ισχυρά μιτογόνες πρωτεΐνες του οργανισμού, ιδιαίτερα όσον αφορά τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των τριχοειδών αγγείων αλλά και των ενδοθηλιακών κυττάρων [70]. Πρόκειται ίσως για τον μόνο αυξητικό παράγοντα με απευθείας επίδραση στον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων χρησιμοποιώντας κυτταρικούς υποδοχείς επιφανείας για αυτή την διεργασία.

Οι υποδοχείς FLT1 (VEGFR1) και KDR/FLK1 (VEGFR2) αποτελούν το κύριο μέρος των υποδοχέων που δεσμεύουν τον VEGF-A. Αυτοί οι υποδοχείς υπάρχουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα και υπάρχουν ενδείξεις ότι οι διάφορες ισομορφές ανταγωνίζονται την συνδεσιμότητα σε αυτούς τους υποδοχείς. Πιο συγκεκριμένα η ισομορφή VEGF145 (η κυριότερη ισομορφή που συνδέεται με νεοπλασίες) ανταγωνίζεται την σύνδεση της ισομορφής VEGF165 στον υποδοχέα KDR/FLK1. Παράλληλα τόσο η ισομορφή VEGF145 όσο και η VEGF189 μπορούν να συνδεθούν με το εξωκυττάριο στρώμα διαδραματίζοντας έναν ενορχηστρωτικό ρόλο στην νεοαγγειογένεση. Όταν μη-πολλαπλασιαζόμενα ενδοθηλιακά κύτταρα σε καλλιέργεια στερούνται οξυγόνου και θρεπτικών παραγόντων, τότε ο VEGF δρα ανεξάρτητα από τον μιτογόνο ρόλο του προκαλώντας την επιμήκυνση και διακλάδωση του υπάρχοντος αγγειακού δικτύου. Ο Helmlinger ήταν από τους πρώτους που πρότεινε έναν αυτοκρινή ενδοθηλιακό μηχανισμό παραγωγής VEGF σε όγκους που βρίσκονταν συχνά σε υποξικό ή σχετικά υποξικό περιβάλλον. Με αυτόν τον τρόπο θα διασφαλιζόνταν η δημιουργία συνεχώς νέων αγγείων και θα διετηρείτο η «ευμάρεια» του νεοπλάσματος [78]. Στην ίδια δημοσίευση διαπιστώθηκε από τους ερευνητές ότι υπάρχει μια διαβάθμιση της κυτταρικής υποξίας που μπορεί να επάγει τον VEGF, μια εξίσου σημαντική διαβάθμιση στην αποτελεσματικότητα των επιπέδων του VEGF και βέβαια, το σημαντικότερο, που αφορούσε την εξουδετέρωση αυτού του φαινομένου χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον του VEGF.

Παρόλα αυτά, ο VEGF παράγοντας δεν περιορίζεται στα μιτογόνα και χημειοκινητικά χαρακτηριστικά του, αφού η οικογένεια των VEGF μπορεί να ρυθμίζει την αγγειακή διαπερατότητα τόσο των ώριμων αλλά και ανώριμων αγγείων [79]. Ο VEGF μπορεί να αυξήσει την διαπερατότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων με δόσοεξαρτώμενο τρόπο μέσω της αλληλεπίδρασης του με τους υποδοχείς FLT1 και KDR/FLK1. Η ενεργοποίηση αλλά και η μεταγωγή σήματος για την αύξηση της διαπερατότητας φάνηκε να πραγματοποιείται μέσω του δρόμου της PI3K (phosphoinositol-3-kinase), αφού αναστολείς της PI3K αλλά και της MAP κινάσης μπορούν να σταματήσουν αυτή τη διεργασία [80]. Η μικροαγγειακή διαπερατότητα είναι ένα πολύ σημαντικό σημείο στην νεοπλασματική ανάπτυξη (και πιθανόν και στο μηχανισμό της μετάστασης), διότι με αυτό τον τρόπο πραγματοποιείται ουσιαστική μεταφορά ουσιών και κυττάρων μέσω των αγγείων [81].

Ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του VEGF είναι η συμμετοχή του στην διατήρηση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού διευκολύνοντας το πέρασμα γλυκόζης σε ιδιαίτερες περιπτώσεις στρες. Ερευνητές απέδειξαν ότι προκαλώντας μια ινσουλινο-εξαρτώμενη υπογλυκαιμία, μπορούσαν να προκαλέσουν μια απότομη αύξηση στα επίπεδα του VEGF. Σε περιόδους υπογλυκαιμίας, τα επίπεδα του VEGF βρίσκονταν σε άμεσο συσχετισμό με τα νευρο-γνωστικά επίπεδα (σε αντίθεση με μια πληθώρα άλλων παραγόντων που μελετήθηκαν) [82].

Είναι αλήθεια ότι σε πάρα πολλές εργασίες ο VEGF έχει τον ιδιαίτερα τιμητικό τίτλο του ενορχηστρωτή της αγγειογένεσης. Αυτό βέβαια δεν είναι απλά μια υπερβολή αφού και ο VEGF για να μπορέσει να επιτελέσει το σύνολο των πολύπλοκων εργασιών στις οποίες συμμετέχει συνεργάζεται με ένα σημαντικό αριθμό άλλων μορίων. Οι αγγειοποιητίνες είναι μία ομάδα μορίων που αποτελούν ιδιαίτερα σημαντικούς συνεργάτες του VEGF κατά την διάρκεια της αγγειογένεσης, όπως για παράδειγμα η αγγειοποιητίνη I η οποία έχει αντι-αποπτωτικό ρόλο στην αγγειακή ανάπτυξη. Στα περισσότερα μοντέλα συμπαγών όγκων, ο VEGF παρουσιάζει υψηλά επίπεδα παραγωγής/έκκρισης στις περιφερικές υποξικές περιοχές των όγκων. Η αγγειοποιητίνη II ανταγωνίζεται την I και η έκφρασή της στα ελάχιστα εναπομείναντα εσωτερικά αγγεία αλλά και στα πιο εξωτερικά αγγεία που βρίσκονται στις παρυφές του όγκου, έχει ως κύριο σκοπό την αποσταθεροποίηση αυτών των περιοχών ώστε να υπάρχει υποκίνηση και δημιουργία νέων ολοκαίνουργιων αγγείων κάτω από την εποπτεία του VEGF [83]. Ένα χαρακτηριστικό πείραμα των ερευνητών για να αποδειχθεί η αλήθεια ήταν η εμφύτευση καρκινικών κυττάρων από καρκίνο του μαστού στον εγκεφαλικό ιστό ενός ποντικού. Παρατηρήθηκε ότι ενώ στην αρχή τα καρκινικά κύτταρα χρησιμοποιούσαν τα ήδη υπάρχοντα αγγεία (γεγονός που επαληθευόταν και από τα ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα VEGF), στην συνέχεια παρατηρείτο μια υποχώρηση και εκφύλιση αυτού του τύπου των αγγείων προς όφελος των νέων αγγείων που δημιουργείτο υπό την δράση του VEGF.

## *Καρκίνος και VEGF*

Ο πρώτος ερευνητής που παρατήρησε την σημασία του VEGF και των υποδοχέων του στην αγγείωση των νεοπλασμάτων αλλά και τον εν δυνάμει θεραπευτικό ρόλο που θα μπορούσε να έχει ο αποκλεισμός του συγκεκριμένου παράγοντα, ήταν ο Judah Folkman [84]. Από τότε πραγματοποιήθηκε στην κυριολεξία μια επανάσταση στην θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου και κυρίως σε μηχανισμούς αποκλεισμού του VEGF παράγοντα. Ακριβώς λοιπόν λόγω του γεγονότος ότι ο HIF αποτελεί ένα μόριο με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και τον VEGF να έχει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο σε ορισμένα νεοπλάσματα, ο διαυγοκυτταρικός καρκίνος του νεφρού ήταν ίσως το πλέον ιδανικό σύστημα για την μελέτη όλων αυτών των θεωρητικών γνώσεων αλλά και η προσπάθεια εφαρμογής αυτών, από το αποστειρωμένο περιβάλλον του εργαστηρίου, στην καθημερινή κλινική πράξη με ασθενείς.

Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον το γεγονός πως η αγγειογένεση είναι ένας εξαιρετικά διαφορούμενος στόχος. Και αυτό διότι από την μια η δημιουργία ενός νέου αγγείου είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την διαδικασία της ανάπτυξης των οργανισμών αλλά και της επούλωσης των τραυμάτων, ενώ από την άλλη είναι μια διεργασία που είναι απαραίτητη σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις (και όχι πάντοτε ογκολογικού χαρακτήρα). Παρ' όλα αυτά οφείλουμε να αναγνωρίσουμε ότι σε καμία άλλη νόσο, εκτός της νεοπλασματικής, δεν θα μπορούσε να βρει καλύτερη εφαρμογή η στρατηγική της αντι-αγγειογένεσης, αν αναλογιστεί κανείς τον τρόπο με τον οποίο ευημερεί ένα νεόπλασμα και τον τρόπο με τον οποίο μεθίσταται. Τα καρκινικά κύτταρα μέσα σε έναν όγκο θέλουν πρόσβαση σε αγγεία για να μπορέσουν να συνεισφέρουν τόσο στην ανάπτυξη όσο και στην μεταστατική δυναμική ενός όγκου. Είναι λογικό λοιπόν να σκεφτεί κανείς πως αναστέλλοντας την δημιουργία νεοαγγείων, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την εξέλιξη της νόσου. Αυτό το ιδιαίτερο αγγειακό δίκτυο του νεοπλασματικού περιβάλλοντος αποτελείται τόσο από το ήδη υπάρχον φυσιολογικό αγγειακό δίκτυο αλλά και από εντελώς νέα αγγεία τα οποία κατά κύριο λόγο αποτελούνται από ενδοθηλιακά κύτταρα, επίγονους κυττάρων που στρατολογούνται από τον μυελό των οστών [85]. Το άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αυτού του δικτύου έγκειται στο γεγονός ότι είναι μη ομαλό τόσο λειτουργικά όσο και δομικά και ιδιαίτερα διαπερατό. Επειδή λοιπόν είναι ένα ιδιαιτέρως διαφορετικό δίκτυο, πιθανόν να αποτελεί και έναν στόχο για πιο εξελιγμένες θεραπείες [86].

Υπάρχουν πολλά βιβλιογραφικά δεδομένα που υπογραμμίζουν την σημαντικότητα του VEGF αλλά και των υποδοχέων του. Ο VEGF δεν είναι ο μοναδικός παράγοντας που εμπλέκεται σε αυτή την τόσο περίπλοκη διαδικασία. Υπάρχουν πολλές δημοσιεύσεις που αποδεικνύουν την εμπλοκή και άλλων αγγειογενετικών παραγόντων, όπως για παράδειγμα μέλη της οικογένειας FGF αλλά και άλλες κυτοκίνες, όπως TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta), TNF- $\alpha$

(tumor necrosis factor alpha) και HGF (hepatic growth factor). Όλοι αυτοί οι παράγοντες έχουν παρατηρηθεί στον ορό καρκινοπαθών-κυρίως bFGF που είναι ιδιαίτερα αυξημένος σε ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο του νεφρού, μαστού, προστάτη αλλά και σε διάφορες αιματολογικές κακοήθειες [87].

Τα τελευταία χρόνια βέβαια το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει σαφώς στραφεί στον VEGF μιας και αποτελεί τον πιο ισχυρό επαγωγικό παράγοντα της αγγειογένεσης. Υπάρχουν πολλά επιστημονικά δεδομένα που έχουν παρουσιάσει τις μεταβολές αυτού του αυξητικού παράγοντα στο πλάσμα νεοπλασματικών ασθενών, όπως για παράδειγμα σε πάσχοντες από μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, καρκίνο του μαστού, κολοορθικό καρκίνο, καρκίνο των ωοθηκών αλλά και καρκίνο του νεφρού.

Παρόλο που ο μηχανισμός επαγωγής του VEGF από τους HIF1 και HIF2 είναι σχετικά γνωστός και αναφέρθηκε αλλά και θα αναφερθεί αρκετές φορές κατά την διάρκεια αυτής της διατριβής, μέχρι τώρα δεν έχει καταφέρει να αξιοποιηθεί επαρκώς ως προβλεπτικός παράγοντας. Και αυτό διότι μπορούν να υπάρξουν πάρα πολλές παθολογικές ή φλεγμονώδεις καταστάσεις που θα μπορούσαν να μεταβάλλουν τα επίπεδα πλάσματος του VEGF. Ένα κλασικό πρόβλημα που θα μπορούσε να προκύψει με τις μετρήσεις του VEGF στο πλάσμα μάλλον σχετίζεται με τα υψηλά επίπεδα αυτού του παράγοντα που βρίσκονται στα αιμοπετάλια. Αυτό το υψηλό επίπεδο του αυξητικού παράγοντα θα μπορούσε να απελευθερωθεί κατά την διαδικασία λήψης των δειγμάτων πλάσματος, προκαλώντας κατ' επέκταση ψευδώς υψηλές τιμές. Έγιναν προσπάθειες εξουδετέρωσης αυτών των τεχνικών κυρίως θεμάτων, όπως για παράδειγμα η χρήση κιτρικού άλατος στα φιαλίδια συλλογής ώστε να αποφευχθεί η αποκοκκίωση των αιμοπεταλίων. Επίσης η χρήση περισσότερων του ενός παραγόντων μπορεί να διορθώσει τυχόν στατιστικά λάθη. Για παράδειγμα ο συνδυασμός μέτρησης VEGF και HGF μπόρεσε παλαιότερα να βοηθήσει στο διαχωρισμό ασθενών με ή χωρίς νεοπλασίες [88].

Ο διαυγοκυτταρικός νεφρικός καρκίνος είναι μια ιδιαίτερη νόσος, αφού καταφέρνει να εκμεταλλεύεται στο έπακρο ουσιαστικά τους φυσιολογικούς και μη μηχανισμούς που σχετίζονται με την αγγειογένεση. Με VHL μεταλλάξεις (ή άλλα γονιδιακά συμβάντα) ουσιαστικά προκύπτει μια σχεδόν πλήρης απορρύθμιση των προαναφερθέντων παραγόντων HIF1α/HIF2α που οδηγούν στην καταγιστική έκφραση μιας σειράς αυξητικών παραγόντων με κυριότερο αυτών τον VEGF [89].

ο ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΟΥ VEGF (ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ VEGFRs ΚΑΙ ΟΧΙ ΜΟΝΟ)

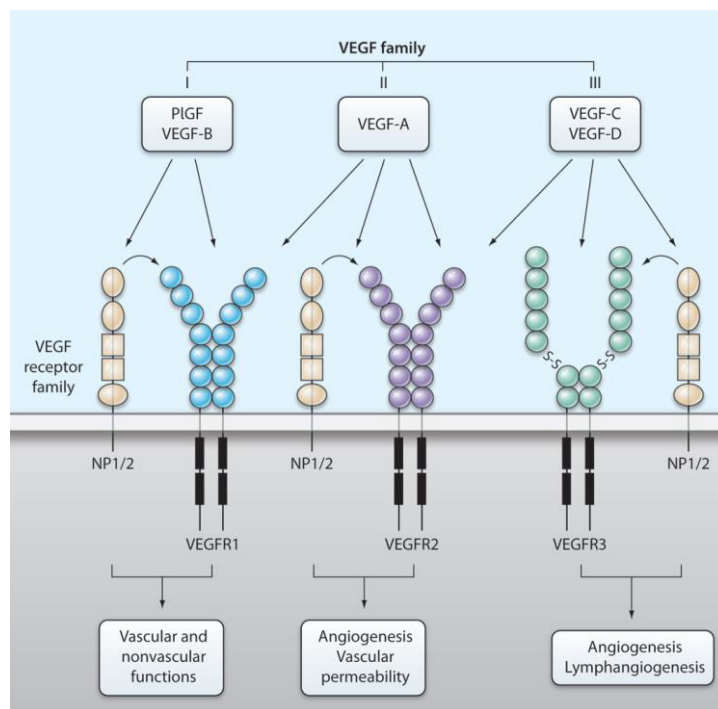
Μέχρι τώρα ήδη αναλύσαμε την σημασία που έχει για την νεοπλασματική ανάπτυξη ένα ολοκαίνουργιο αγγειακό δίκτυο βοηθώντας σε συγκεκριμένα σημεία-κλειδιά που οδηγούν στην «ευημερία» του όγκου. Ενδεικτικά αναφέρεται ξανά η δυνατότητα αναπλήρωσης των προμηθειών σε οξυγόνο, θρεπτικά υλικά, αυξητικούς παράγοντες και ορμόνες, πρωτεολυτικά ένζυμα, δρόμους διασποράς και μετάστασης. Όλος αυτός ο πολύπλοκος μηχανισμός επιβίωσης ενορχηστρώνεται - αρχικά τουλάχιστον - από τον VEGF. Ο βασικός τρόπος μετάδοσης αυτών των σημάτων «ζωής» για τον καρκίνο είναι οι VEGF υποδοχείς (VEGF receptors). Στις επόμενες παραγράφους θα αναλύσουμε την βιολογία αυτών των ιδιαίτερα σημαντικών υποδοχέων, αλλά θα διερευνήσουμε και δευτερεύοντες υποδοχείς που όμως παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο σε φαινομενικά υποδεέστερες μοριακές διεργασίες [90].

Η «πεντάδα» που αποτελεί την οικογένεια του VEGF ενώνεται με τρεις διαφορετικούς υποδοχείς (VEGFR1, 2 και 3) με έναν επικαλυπτόμενο κατά μία έννοια τρόπο αλλά και με τους δευτερεύοντες υποδοχείς HSPG (heparine sulfate proteoglycan) και NRP (neuropilin) (εικόνα 11). Οι VEGFRs μοιράζονται πολλούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς με μια σειρά άλλων υποδοχέων τυροσινικής κινάσης, όπως είναι ο PDGF υποδοχέας (PDGFR) αλλά και ο EGFR (epidermal growth factor receptor). Τέτοιου είδους μηχανισμοί είναι ο διμερισμός των υποδοχέων, η ενεργοποίηση των τυροσινικών κινασών αλλά και σημεία υποδοχής μεταφραστικών σημάτων με σκοπό την τροποποίηση των κυτταρικών λειτουργιών, όπως για παράδειγμα την κυτταρική μετανάστευση, την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό [90]. Όλες οι σημαντικές λειτουργίες που σχετίζονται με την δράση του VEGF, από την εμβρυϊκή κυτταρική ανάπτυξη και κυτταρική διαφοροποίηση μέχρι τις διάφορες δομικές αλλαγές στους ιστούς των ενηλίκων, πραγματοποιούνται με την μεσολάβηση τόσο από τους υποδοχείς τυροσινικής κινάσης VEGFRs όσο και από υποδοχείς μη τυροσινικής κινάσης (π.χ. : NRP-1 και NRP-2).

Η οικογένεια των VEGFR υποδοχέων απαριθμεί τρία μέλη: τον VEGFR-1 (ή Flt-1), τον VEGFR-2 (ή Flk-1 στα ποντίκια και KDR στον άνθρωπο) και τον VEGFR3 (ή αλλιώς Flt-4). Και οι τρεις αυτοί υποδοχείς ανήκουν σε μια ευρύτερη οικογένεια υποδοχέων τυροσινικής κινάσης που αποτελείται από ένα εξωκυττάριο και ένα ενδοκυττάριο τμήμα.

Καθένας από τους τρεις VEGFR είναι εφοδιασμένος με μια εξωκυττάρια υπομονάδα αποτελούμενη από περίπου 750 αμινοξέα που είναι δομημένη σε 7 πτυχώσεις προσομοιώνοντας την δομή μιας ανοσοσφαιρίνης [91].

Η λειτουργία του υποδοχέα της τυροσινικής κινάσης αλλά ακόμα και η ίδια η έκφρασή του ρυθμίζεται από την διαθεσιμότητα των καταλλήλων συνδετών [92]. Παρακάτω θα μελετήσουμε λεπτομερέστερα αυτούς τους υποδοχείς.



**Εικόνα 11: η οικογένεια του VEGF και των VEGFRs μαζί με τους πιο ανεξάρτητους υποδοχείς neuropilins**

### *Vascular Endothelial Growth Receptor 2 (VEGFR-1)*

Ο VEGFR-1 είναι ένας υποδοχέας των 180-kDa με υψηλή συγγένεια για τους VEGF-A, VEGF-B και PlGF. Εκφράζεται κατά κύριο λόγο στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά και σε μερικές κατηγορίες μη ενδοθηλιακών κυττάρων. Πειράματα σε έμβρυα ποντικών έδειξαν ότι όταν αυτά είχαν έλλειψη του VEGFR-1 πέθαιναν πρόωρα (περίπου την 9<sup>η</sup> ημέρα) λόγω απόφραξης των αγγείων από υπερανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων, αφού δεν υπήρχε ο πορόμορφος σχηματισμός των αγγείων και κατ' επέκταση αυτά δεν ήταν λειτουργικά [93]. Η αύξηση λοιπόν των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά την απουσία του VEGFR-1 προφανώς σημαίνει ότι αυτός επιδρά μέσω ενός αρνητικού μηχανισμού ανάδρασης πάνω στην ανάπτυξη αυτών των κυττάρων. Αυτός ο ιδιαίτερος ρόλος του VEGFR-1 φαίνεται επίσης να εξασκείται από το διαλυτό του κομμάτι (sVEGFR-1) το οποίο έχει χάσει το διαμεμβρανικό και ενδοκυττάριο κομμάτι του υποδοχέα [94]. Κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης ο sVEGFR-1 εκφράζεται σε σημαντικά επίπεδα στον πλακούντα και έχει συσχετιστεί με την παθογένεση της προεκλαμψίας, αφού φαίνεται πως μειώνει τα επίπεδα του VEGF και PlGF και κατ' επέκταση προκαλεί δυσλειτουργία.

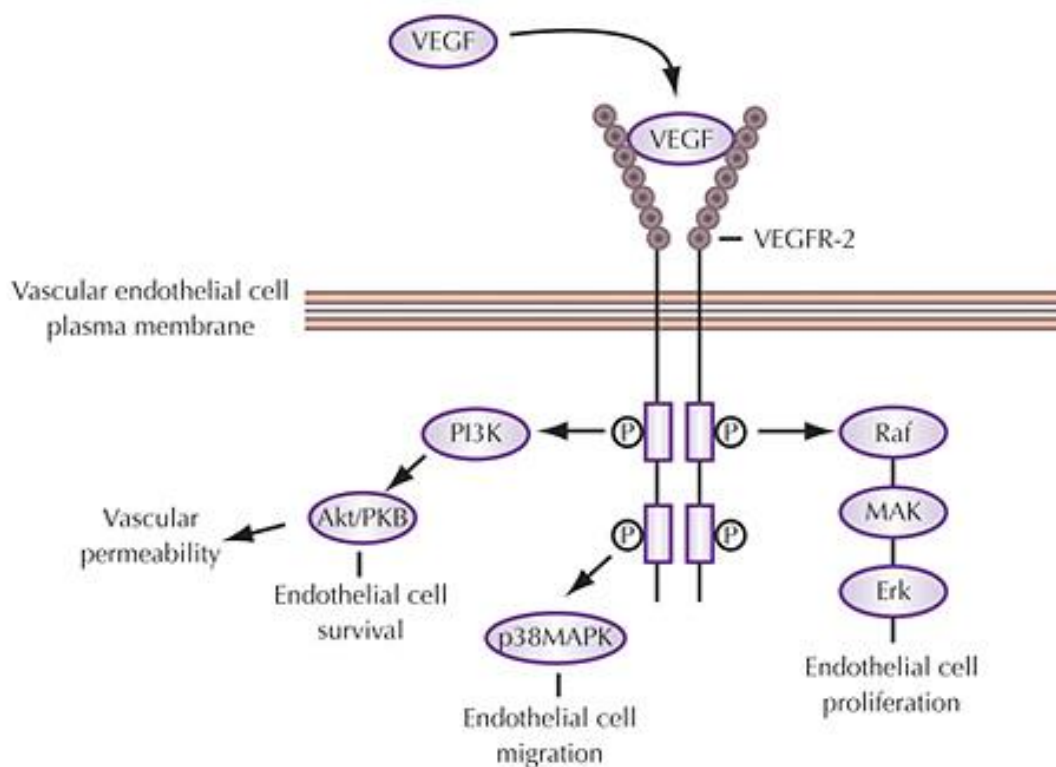


Από την διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν ενδείξεις ότι ο VEGFR1 ρυθμίζει τον σχηματισμό αγγείων τόσο στο έμβρυο όσο και στον ενήλικα. Όταν υπάρχει απώλεια του ενδοκυττάρου κομματιού του υποδοχέα, αυτό δεν φαίνεται να επηρεάζει καθόλου την φυσιολογική αγγειακή ανάπτυξη. Αυτό μάλλον μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πιθανόν ο φυσιολογικός ρόλος του VEGFR1 είναι να δεσμεύει την υπερβολική ποσότητα VEGF στο πλάσμα [95,96]. Τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα καθώς και τα κυκλοφορούντα CD97<sup>+</sup> μονοκύτταρα ή μακροφάγα, εκφράζουν VEGFR1 που φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντικός για την μετανάστευσή τους [97,98]. Είναι άλλωστε γνωστό ότι υπάρχει μια πληθώρα αιμοποιητικών κυττάρων στην περιοχή ανάπτυξης του όγκου και τα οποία πιθανόν να βοηθούν σημαντικά στην διαδικασία νεοαγγείωσης του νεοπλάσματος [99].

Αυτό που φαίνεται ιδιαίτερα σύνθετο είναι ο τρόπος μεταγωγής σήματος μετά την ενεργοποίηση του VEGFR1 από τον συνδέτη. Και αυτό γιατί υπάρχουν τουλάχιστον τρεις γνωστοί συνδέτες του VEGFR1 (VEGF-A-VEGFB-PlGF) με διαφορετικά αποτελέσματα. Αυτό είναι πιθανόν να συμβαίνει λόγω των διαφορετικών μοτίβων φωσφορυλίωσης του υποδοχέα [100]. Ένας δεύτερος παράγοντας που μπορεί να εμπλέκεται σε αυτή την διαφοροποίηση της απάντησης είναι η επικοινωνία του VEGFR1 με τον VEGFR2 (crosstalk), κυρίως στο πλαίσιο του ετεροδιμερισμού τους. Και αυτό γιατί φαίνεται ότι τα μεταδιδόμενα σήματα από τον VEGFR1 μπορούν είτε να μπλοκάρουν είτε να υπερισχύουν των σημάτων του VEGFR2 [95].

#### *Vascular Endothelial Growth Receptor 2 (VEGFR-1)*

Ο VEGFR2 (γνωστός και ως KDR ή Flk-1) είναι ο πρώτος ενδοθηλιακός υποδοχέας που ενεργοποιείται στο πρώιμο έμβρυο και εκφράζεται τόσο στα αγγειακά όσο και στα λεμφαγγειακά ενδοθήλια (αλλά και σε πολλούς άλλους μη ενδοθηλιακούς κυτταρικούς τύπους) [101]. Πειράματα σε ποντίκια έχουν δείξει ότι η απενεργοποίηση του VEGFR2 στα αρχικά στάδια της ζωής προκαλεί εμβρυικό θάνατο την 8<sup>η</sup> ημέρα λόγω της μη ανάπτυξης αιματοποιητικών και ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων. Αυτό σαφώς υπογραμμίζει την σημασία του VEGFR2 στην αγγειακή ανάπτυξη [102]. Άλλωστε πιθανόν να είναι ο πιο σημαντικός διαμεσολαβητής των φυσιολογικών και παθολογικών επιδράσεων του VEGF-A στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων μιας και αποτελεί την αρχή ενός από τα πιο σημαντικά σηματοδοτικά μονοπάτια στην ογκολογία, αυτό των Ras-Raf-MEK-MAPK (εικόνα 12) που σχετίζεται με την αγγειακή διαπερατότητα, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την επιβίωση αλλά και την μετανάστευση [103].



**Εικόνα 22: Σηματοδοτικό μονοπάτι του VEGFR2 (Ras= rat sarcoma, Raf= rapidly accelerated fibrosarcoma, MAPK= mitogen activated protein kinase)**

Όλη αυτή η πολυπλοκότητα των ρυθμίσεων του VEGFR2 πραγματοποιείται και με την βοήθεια συνυποδοχέων (ένας από τους βασικούς είναι ο HSPG, heparine sulfate proteoglycan) που αλληλεπιδρούν τόσο με τα διάφορα μόρια συνδέτες όσο και με τον ίδιο τον βασικό υποδοχέα. Βασικά βοηθητικά μόρια είναι και οι νευροπιλίνες (NRPs) στις οποίες θα αναφερθούμε εκτενέστερα στη συνέχεια.

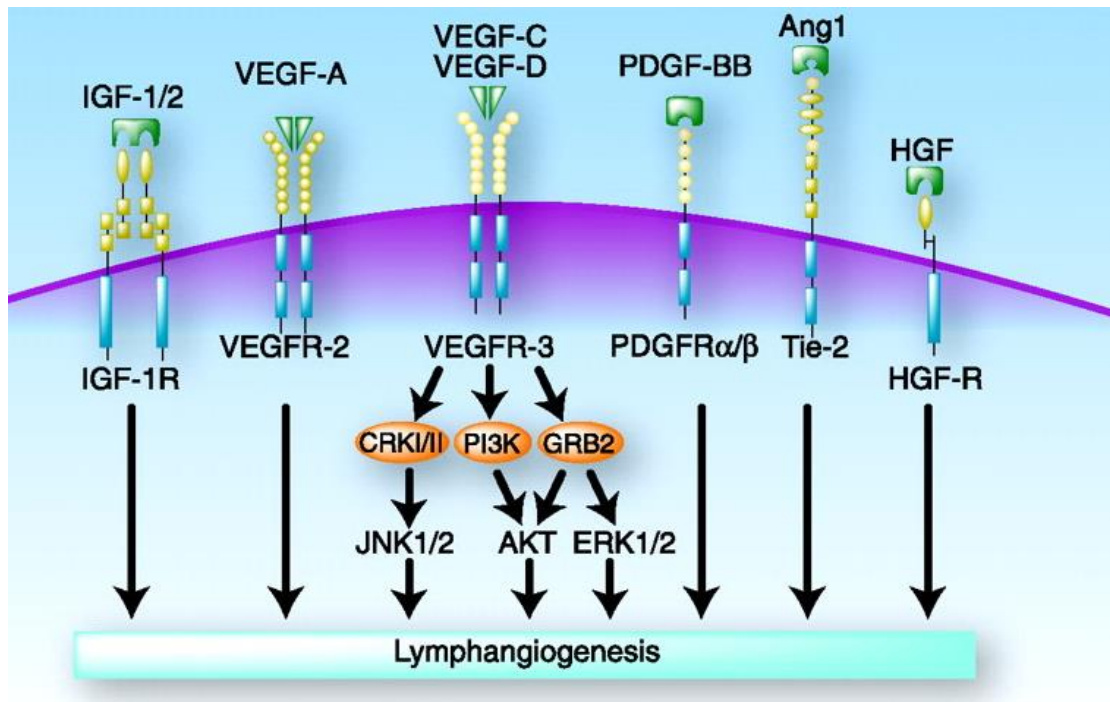
### *Vascular Endothelial Growth Receptor 3 (VEGFR-3)*

Ο VEGFR-3 είναι ένας υψηλής συγγένειας υποδοχέας για τους VEGF-C και VEGF-D. Πειράματα σε ποντίκια με έλλειψη του VEGFR-3 απέδειξαν ότι αυτά πεθαίνουν την 9<sup>η</sup> ημέρα της εμβρυϊκής ζωής τους λόγω σοβαρών προβλημάτων στον φυσιολογικό σχηματισμό και την σωστή λειτουργικότητα των αγγείων, καθιστώντας αυτόν τον υποδοχέα ζωτικής σημασίας για τον σχηματισμό του καρδιαγγειακού συστήματος [104]. Παρ' όλα αυτά, δεν γνωρίζουμε αν έχει απευθείας συσχέτιση με την ανάπτυξη του καρδιαγγειακού συστήματος ή απλώς η απώλεια του συνεπάγεται υψηλές συγκεντρώσεις σε VEGF-C και VEGF-D και διαφορετική ενεργοποίηση του VEGFR-2 [105]. Ο VEGFR-3, στην εμβρυϊκή φάση ανάπτυξης, εκφράζεται σε όλα τα αγγεία. Όμως κατά την περαιτέρω ανάπτυξη του οργανισμού μειώνεται η έκφραση στα αγγεία και περιορίζεται κυρίως στην λεμφαγγειακή

ανάπτυξη. Στον ώριμο ενήλικα, η έκφρασή του περιορίζεται αποκλειστικά στα λεμφαγγεία, με εξαίρεση τις νεοπλασματικές καταστάσεις οπότε και εκφράζεται και στα νεοπλασματικά νεοαγγεία [106].

Αναστέλλοντας την λειτουργία του VEGFR-3 με υπερέκφραση μιας διαλυτής ανασυνδυασμένης μορφής VEGFR-3 σε ένα γενετικά τροποποιημένο ποντίκι, θα παρατηρήσουμε την υποχώρηση του λεμφαγγειακού δικτύου και την εμφάνιση λεμφοιδήματος χωρίς να επηρεαστεί το κλασικό αγγειακό δίκτυο. Ο διαλυτός VEGFR-3 επίσης καταστέλλει την νεοπλασματική λεμφαγγειογένεση και μειώνει την νεοπλασματική μεταστατική δυναμική (σε λεμφαδενικό επίπεδο τουλάχιστον) [107]. Αντίθετα, η υπερενίσχυση του VEGFR-3 με υπερέκφραση από το νεοπλασματικό περιβάλλον VEGF-C και VEGF-D καταφέρνει σε διάφορα πειραματικά μοντέλα να αυξήσει την λεμφαγγειογένεση και την μεταστατική δυναμική του όγκου, ουσιαστικά δρώντας επαγωγικά για τον πολλαπλασιασμό, την μετανάστευση και την επιβίωση των λεμφικών ενδοθηλιακών κυττάρων [108,109].

Ο υποδοχέας VEGFR-3 φαίνεται να ενεργοποιεί τις ERK1/2 αλλά και το μονοπάτι PI3K-AKT/PKB το οποίο φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την επιβίωση των αγγειακών και λεμφαγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων (εικόνα 13). Αυτά τα μονοπάτια φαίνονται να είναι ιδιαίτερος σημαντικά κατά την εμβρυακή ανάπτυξη, με τον VEGF-C να οργανώνει την μετανάστευση και εκβλάστηση λεμφοενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων [110].



Εικόνα 13: Ενεργοποίηση των μοριακών μονοπατιών από τον VEGFR-3

Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του VEGFR-3 είναι το γεγονός πως μπορεί να δεσμεύει τόσο τις πλήρεις μορφές των VEGF-C και VEGF-D όσο και αυτές που είναι πρωτεολυτικά επεξεργασμένες (σε αντίθεση με τους υπόλοιπους υποδοχείς της οικογένειας) [111].

Θα έπρεπε επίσης να υπογραμμιστεί το γεγονός πως ο VEGFR-3 αποτελεί τον μοναδικό VEGFR για τον οποίο έχουν περιγραφεί φυσικές μεταλλάξεις. Για τον λόγο αυτό δυσλειτουργίες των λεμφαγγείων μπορούν να προέρχονται από εκ γενετής μεταλλάξεις απενεργοποίησης του VEGFR-3 [112].

#### Νευροπιλίνες

Πρόκειται για δύο υποδοχείς για τους VEGF που βρίσκονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων (NRP-1 και NRP-2) αλλά και των νευρώνων με κύρια λειτουργία την κατ' άξονα καθοδήγηση και την ρύθμιση της αγγειογένεσης. Και οι δύο αυτοί υποδοχείς δεσμεύουν συγκεκριμένες ισομορφές των VEGF-A, VEGF-B, PlGF και VEGF-E και δεν συνδέονται με δράση τυροσινικής κινάσης [113,114,115,116].

Η NRP-1 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη επιφανείας (130-140 kDa) η οποία χρησιμεύει ως υποδοχέας διαφόρων σημάτων κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη κυρίως στο νευρικό, καρδιαγγειακό και σκελετικό σύστημα του αναπτυσσόμενου οργανισμού [117]. Στον ενήλικα εκφράζεται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα, καρκινικά κύτταρα, πνεύμονα, καρδιά, ήπαρ,

νεφρό, πάγκρεας, πλακούντα, οστεοβλάστες και στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών [118]. Ανάλογη έκφραση υπάρχει και για την NRP-2.

Ο ρόλος της NRP-1 στην ανάπτυξη του αγγειακού συστήματος ερευνήθηκε με την χρήση γενετικά τροποποιημένων ποντικών. Σε αυτά λοιπόν τα έμβρυα στα οποία είχε αφαιρεθεί η NRP-1 λειτουργικότητα επήλθε θάνατος λόγω δυσλειτουργίας της VEGF-αγγειογένεσης ή λόγω καρδιακής ανεπάρκειας [119]. Από την άλλη μεριά, η υπερέκφραση της NRP-1 οδηγεί στην υπερβολική διάταση των αγγείων και σε αιμορραγικά φαινόμενα αλλά και σε νευρολογικές ανωμαλίες, όλα οφειλόμενα κυρίως σε υπερδραστηριότητα του VEGF-A [120].

Η NRP-2 αποδείχτηκε ότι μπορεί να δεσμεύει τον VEGF-C και εκφράζεται μαζί με τον VEGFR-3 στα ενδοθηλιακά κύτταρα των λεμφαγγείων. Ποντίκια χωρίς NRP-2 μπορεί να ήταν βιώσιμα αλλά είχαν σοβαρά προβλήματα στο λεμφαγγειακό τους δίκτυο [121,122].

Όπως συμβαίνει και με τον VEGFR-1, υπάρχει μια φυσική διαλυτή ισομορφή της NRP-1 (sNRP-1) η οποία δρα ανταγωνιστικά, εμποδίζοντας την δέσμευση του VEGF-A<sub>165</sub> στα ενδοθηλιακά και νεοπλασματικά κύτταρα καθώς και στην επαγόμενη από τον VEGF-A<sub>165</sub> φωσφορυλίωση του VEGFR-2. Για παράδειγμα, καρκινικά κύτταρα προστάτη ποντικού που εξέφραζαν ανασυνδυασμένη sNRP-1, χαρακτηρίζονταν από εκτενείς αιμορραγίες, κατεστραμμένα αγγεία και αποπτωτικά νεοπλασματικά κύτταρα [123].

Η αλήθεια είναι ότι η NRP-1 διαφέρει σημαντικά από τους VEGFRs, μια και δεν έχει ενδοκυττάριο σηματογωγό τμήμα και κατά πάσα πιθανότητα η δραστηριότητά της πραγματοποιείται μέσω της λειτουργίας της ως συνυποδοχέας των VEGFR-1 & 2, ενισχύοντας ουσιαστικά την ικανότητα δέσμευσης των συνδετών στους υποδοχείς τους [124]. Η δέσμευση βέβαια των ισομορφών του VEGF-A και των υπολοίπων μελών της οικογένειας των VEGF είναι αρκετά ειδική και μάλιστα σε τέτοιο βαθμό ώστε, για παράδειγμα, η NRP-1 να μπορεί να συνδεθεί με τον VEGF-A<sub>165</sub> και τον PlGF-2 αλλά όχι τον VEGF-A<sub>121</sub> κ.ο.κ. [114].

Αν και όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι ειδικές λειτουργίες των NRPs στην ανάπτυξη των αγγείων και εν γένει στην αγγειογένεση δεν είναι πλήρως κατανοητές, πειραματικά δεδομένα με αναστολή της διαδικασίας δέσμευσης του VEGF-A<sub>165</sub> στην NRP-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα ουσιαστικά μείωσε σε σημαντικό βαθμό την δέσμευση πάνω στον κύριο υποδοχέα VEGFR-2 και την επακόλουθη μιτωτική δραστηριότητα. Από την άλλη μεριά βέβαια, διάφορα πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν πως ούτε οι NRPs από μόνες τους μπορούν να έχουν ουσιαστικό ρόλο αποκλειστικού υποδοχέα αλλά πάντα λειτουργούν βοηθητικά με τους VEGFRs. Το σίγουρο είναι πως αν και βοηθητικά μόρια, μεμονωμένα φαίνεται να έχουν ιδιαίτερη σημασία, τόσο ώστε να αποτελούν πιθανό στόχο μικρών μορίων που στοχεύουν την προ- και νεοαγγειογένεση [125].

### *Συνυποδοχείς των VEGFRs*

Είναι κατανοητό μέχρι τώρα ότι η σηματοδότηση μέσω VEGF είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη και αυτό γιατί οι συνδέτες αλληλεπιδρούν και με πρόσθετα μόρια της κυτταρικής μεμβράνης όπως NRPs, HSPG, ιντεγκρίνη και καντχερίνη. Όλες αυτές οι αλληλεπιδράσεις είναι ιδιαίτερα σημαντικές, αφού καθορίζουν την ισχύ, την διάρκεια αλλά και την ειδικότητα του μεταγωγικού σήματος, το οποίο μπορεί να ξεκινά από ειδικούς συνδέτες, καθώς και αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορετικών τύπων κυττάρων ή μεταξύ κυττάρων και στρώματος.

Οι ιντεγκρίνες παίζουν έναν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο, καθώς αποτελούν έναν χαρακτηριστικό δίαυλο επικοινωνίας για τα κύτταρα ή γενικότερα το στρωματικό μικροπεριβάλλον. Υπάρχουν ειδικές ιντεγκρίνες που συνδέονται στο εξωκυττάριο κομμάτι του VEGFR2 και ενισχύουν την ισχύ του σήματος του υποδοχέα [126]. Ιδιαίτερα οι ιντεγκρίνες της β3 οικογένειας συνδεόμενες στο εξωκυττάριο τμήμα του VEGFR2 ενισχύουν σημαντικά το σήμα που ενάγεται από την ενεργοποίηση του VEGF. Η άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ της β3 ιντεγκρίνης και του VEGFR-2 περιορίζεται στην ανβ3 ιντεγκρίνη και μπορεί να είναι εξαρτώμενη ή ανεξάρτητη από την παρουσία συνδέτη [127].

Πειραματικά δεδομένα σε ζώα που δεν εξέφραζαν αυτές τις ιντεγκρίνες έδειξαν υψηλή δραστηριότητα του VEGFR-2 και νεοπλασματική αγγειογένεση. Όλα αυτά τα πειραματικά δεδομένα υπονοούν πως πιθανόν οι ιντεγκρίνες αποτρέπουν την υπερβολική ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων (σε μη παθολογικές καταστάσεις) ή διευκολύνουν την αγγειογένεση σε περιπτώσεις επιδιόρθωσης ιστών [128].

Μια δεύτερη κατηγορία συνυποδοχέων των VEGFRs είναι οι καντχερίνες οι οποίες σχετίζονται με τον σχηματισμό συνδέσεων μεταξύ των επιθηλιακών και ενδοθηλιακών κυττάρων και παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην VEGF μεταγωγή σήματος [129].

### *Προγνωστική αξία της έκφρασης του VEGF και του VEGFR στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα*

Με τα μέχρι τώρα δεδομένα είναι απόλυτα κατανοητό το γεγονός πως η εμφάνιση αυτών των πολύπλοκων μοριακών μηχανισμών μπορεί να μας βοηθήσει στην επιλογή ασθενών για πιο στοχευμένες θεραπείες που αφορούν αυτούς ακριβώς τους μοριακούς μηχανισμούς, πιθανόν αποκομίζοντας το μέγιστο κλινικό όφελος. Διαφορετικά πρότυπα mRNA έκφρασης του VEGF και VEGFR έχει αποδειχτεί ότι υπάρχουν στους διάφορους ιστολογικούς υποτύπους του νεφροκυτταρικού καρκινώματος και μάλιστα φαίνεται να συνδέονται άμεσα με το στάδιο του όγκου αλλά και με την συνολική επιβίωση. Φαίνεται ότι σε ασθενείς με διαυγοκυτταρικό νεφροκυτταρικό καρκίνωμα χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης mRNA VEGF σε σχέση με την μέση τιμή συνδυάζονται με σημαντικότερα ποσοστά επιβίωσης σε σχέση με αυτούς που εκφράζουν υψηλότερα ποσοστά mRNA VEGF. Ομοίως, σε ασθενείς με θηλώδες

νεφρικό καρκίνωμα τα επίπεδα mRNA των VEGF, VEGFR-1 και VEGFR-2 που βρίσκονται πάνω από τον μέσο όρο συνδυάζονται με αρνητικές προοπτικές επιβίωσης [130].

Μικροσυστοιχίες ιστού από κύβους παραφίνης από δείγματα νεφρεκτομής (για διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα και θηλώδες νεφρικό καρκίνωμα) βοήθησαν στο να αξιολογηθεί ακόμα καλύτερα ο ρόλος της οικογένειας VEGF-VEGFR στον καρκίνο του νεφρού. Ουσιαστικά χρησιμοποιήθηκαν αντισώματα για VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGFR-1, VEGFR-2 και VEGFR-3 και αξιολογήθηκε τόσο η πρωτεϊνική έκφραση όσο και η έκφραση των VEGFRs. Στο μονοπάτι της VEGF αγγειογένεσης λοιπόν παρατηρήθηκε μια υψηλότερη μέση έκφραση του VEGF-A στο θηλώδες καρκίνωμα (57% vs. 37%) καθώς και του VEGFR-2 (49% vs. 37%) σε σχέση με το κλασικό νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, ενώ φάνηκε να μην παρατηρείται καμία ουσιαστική διαφορά στην έκφραση του VEGFR-1. Όσον αφορά το μονοπάτι της λεμφαγγειογένεσης, στο διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα παρατηρήθηκε μια αυξημένη έκφραση του VEGF-D, ενώ από την άλλη στο θηλώδες καρκίνωμα παρατηρήθηκε μια αύξηση της έκφρασης του VEGFR-3 [131].

Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το γεγονός πως VEGFRs ταυτοποιήθηκαν στην επιφάνεια των κυττάρων νεφρικού καρκινώματος, υπονοώντας προφανώς ότι ο VEGF προκαλεί ανάπτυξη του πρωτοπαθούς όγκου (και όχι μόνο) με έναν αυτοκρινή μηχανισμό τύπου βρόγχου. Όλα αυτά τα δεδομένα αποκαλύπτουν ένα πιθανό παράδρομο μονοπάτι που οδηγεί στην παραγωγή VEGF (και όχι μόνο από τον VHL) και προφανώς οδηγούν στο συμπέρασμα πως η αντι-VEGF θεραπεία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και σε νεφρικά καρκινώματα μη διαυγοκυτταρικού τύπου, όπως π.χ. στο θηλώδες.

#### ο PDGF-ΣΥΝΔΕΤΕΣ

Οι PDGFs αποτελούν μια οικογένεια αυξητικών παραγόντων στην οποία μπορεί να έχουν μια από τις τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες: PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C και PDGF-D. Καθεμία από τις αλυσίδες κωδικοποιείται από ένα ξεχωριστό γονίδιο που βρίσκεται στα αντίστοιχα γονίδια 7, 22, 4 και 11 [132,133,134]. Όλες αυτές οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες συνδέονται με ένα δισουλφιδικό δεσμό σχηματίζοντας ομοδιμερή ή ετεροδιμερή: PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC, PDGF-DD. Αυτοί οι αυξητικοί παράγοντες ασκούν την δράση τους πάνω στα κύτταρα και το στρώμα μέσω δυο υποδοχέων τυροσινικής κινάσης: PDGFR-α και PDGFR-β. Ο πρώτος υποδοχέας ενεργοποιείται από τους PDGF-AA, PDGF-AB, και PDGF-CC ενώ ο δεύτερος υποδοχέας από τους PDGF-BB και PDGF-DD. Υπάρχει και ένα ετεροδιμερές σύμπλοκο PDGFR α/β το οποίο ενεργοποιείται από τους συνδέτες PDGF-AB, PDGF-BB και PDGF-CC [135]. Η ένωση ενός συνδέτη στον υποδοχέα του, και σε αυτή την περίπτωση, προκαλεί διμερισμό του υποδοχέα, ενεργοποίηση και αυτοφωσφορύλιωση του επιτόπου της τυροσινικής κινάσης. Αυτό το μοριακό γεγονός οδηγεί

στην ενεργοποίηση του σηματοδοτικού καταρράκτη Src-PI3K-PCL- $\gamma$ 1 [135]. Καλλιέργειες ιστών μας έδωσαν αποτελέσματα που πιθανολογούν την ύπαρξη διαφορετικών σηματοδοτικών μονοπατιών που ξεκινούν από τους υποδοχείς PDGFR- $\alpha$  και PDGFR- $\beta$ . Αυτά τα μονοπάτια ουσιαστικά προάγουν την κυτταρική μετανάστευση, πολλαπλασιασμό και επιβίωση [136]. Όλα αυτά τα δεδομένα οδήγησαν σε προσπάθειες θεραπευτικών παρεμβάσεων σε επίπεδο PDGF όπως θα δούμε και στη συνέχεια.

#### ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ PDGF ΣΥΝΔΕΤΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

Ο ρόλος του PDGF στην αγγειογένεση και στην εμβρυϊκή ανάπτυξη του νεφρού, εγκεφάλου, καρδιοαγγειακού και αναπνευστικού συστήματος έχει ήδη αποδειχθεί στο παρελθόν με διάφορα πειράματα γονιδιακών αδραννοποιήσεων (knockout genes).

Η έκφραση των PDGFRs έχει επίσης τεκμηριωθεί όσον αφορά την πρόδρομη λευκή και ερυθρά σειρά στον μυελό, όπως και στα μονοκύτταρα, μεγακαρυοκύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, οστεοβλάστες και κύτταρα της νευρογλοίας. Υπερβολική παρουσία ή υπερέκφραση του PDGFR συνδέεται με διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως η αρτηριοσκλήρυνση, η ινοκυστική νόσος αλλά και κακοήθειες [137,138,139]. Η έκφραση του PDGF έχει αποδειχθεί σε ένα μεγάλο αριθμό νεοπλασμάτων. Το σύμπλοκο PDGF-PDGFR παίζει ένα σημαντικό ρόλο σε πολλές διαδικασίες που μπορούν εν δυνάμει να οδηγήσουν στην ανάπτυξη ενός όγκου. Τα κύρια στάδια που φαίνεται να εμπλέκονται είναι η αυτοκρινής ενεργοποίηση των καρκινικών κυττάρων, η ανάπτυξη της αγγειογένεσης, η στρατολόγηση των καρκινικών ινοβλαστών αλλά και παρέμβαση στον έλεγχο της ενδιάμεσης τριχοειδούς πίεσης σε επίπεδο όγκου [140].

#### *Αυτοκρινές PDGFR σήμα*

Μία από τις πρώτες ενδείξεις αυτοκρινούς PDGFR σηματοδότησης (σαν μηχανισμός καρκινικού μετασχηματισμού) προήλθε από μία σημαντική ανακάλυψη, την ομολογία μεταξύ του ιού των σαρκωμάτων των πιθήκων (simian sarcoma virus) v-sis και της αλύσου PDGF-B [141,142]. Παρόμοιες μελέτες απέδειξαν ότι η έκφραση των PDGF-AA, -CC, ή -DD, στους ινοβλάστες NIH-T3 οδηγεί στην δημιουργία ενός διαφορετικού φαινοτύπου [143]. Όλα αυτά τα πρώιμα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν περαιτέρω στη συνέχεια από μια σειρά μελετών αποδεικνύοντας στην ουσία πως η συνέκφραση PDGF και PDGFR σε διάφορες κακοήθειες προέκυπτε από κύτταρα ευαίσθητα στον παράγοντα PDGF [144,145]. Υπάρχουν σαφείς αποδείξεις για αυτοκρινή PDGF δράση σε διάφορα καρκινώματα όπως για παράδειγμα των ωοθηκών και του προστάτη ή στα νευροβλαστώματα [146,147,148]. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως υπάρχουν αρκετά πρόσφατα στοιχεία που υπογραμμίζουν τον ιδιαίτερα



σημαντικό ρόλο του PDGF και των αυτοκρινών χαρακτηριστικών του στην διαδικασία της μετάστασης [149].

#### *Ο ρόλος των συνδετών του PDGF και των υποδοχέων του στην Αγγειογένεση*

Ήδη αναφερθήκαμε μέχρι τώρα πως υπάρχουν περισσότερο από ισχυρές ενδείξεις πως υπάρχει ιδιαίτερα ενεργός ρόλος του PDGFR στην νεο-αγγειογένεση. Είναι γεγονός πως ο PDGF διεγείρει την *in vivo* αγγειογένεση, ενώ πολύ σημαντικός είναι ο ρόλος του στη στρατολόγηση νεοπλασματικών περικυττάρων σε πειραματικά μοντέλα με ποντίκια [150]. Η έκταση αλλά και τα χαρακτηριστικά αυτού του «περιτυλίγματος» περικυττάρων παραμένει ακόμα αρκετά μυστηριώδης χωρίς να έχει πλήρως αναλυθεί. Με την βοήθεια της υψηλής ευκρίνειας μικροσκοπιών νέας γενιάς, παρατηρήθηκε ότι τοιχωματικά αγγειακά κύτταρα μπορούσαν ουσιαστικά να δημιουργήσουν συνδέσεις με τα νεοπλασματικά τριχοειδή αγγεία αλλά η ποιότητα των νεοπλασματικών περικυττάρων στα νεοαγγεία ήταν σαφώς διαφορετική [151]. Και αυτό ήταν σχετικά εύκολο να αξιολογηθεί άμα παρατηρούσε κανείς πόσο διαφορετικά ήταν τα περικύτταρα που περιέβαλαν τα φυσιολογικά τριχοειδή αγγεία: καλά οργανωμένα, με στενές συνδέσεις με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτή η εικόνα «ποιοτικής» κατασκευής δεν υπήρχε στις νεοπλασματικές δομές: μικρότερη πυκνότητα των περικυττάρων, πιο χαλαρή σύνδεση με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και κυτταροπλασματικές εκβολές των κυττάρων που σε τίποτα δεν θυμίζουν την καλά οργανωμένη και υγιή εικόνα του φυσιολογικού αγγειακού δικτύου [152].

Η στρατολόγηση των περικυττάρων είναι μια φυσιολογική διαδικασία η οποία είναι άμεσα συνδεδεμένη με την ανάπτυξη και εξέλιξη του φυσιολογικού αγγειακού δικτύου. Τα περικύτταρα φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την μικροαγγειακή σταθερότητα. Πειραματικά μοντέλα ποντικών με τεχνητή ανεπάρκεια σε περικύτταρα εμφανίζουν πολλές φορές θεαματικά δομικά προβλήματα στα αγγεία τους [153].

#### *Στρατολόγηση νεοπλασματικών ινοβλαστών*

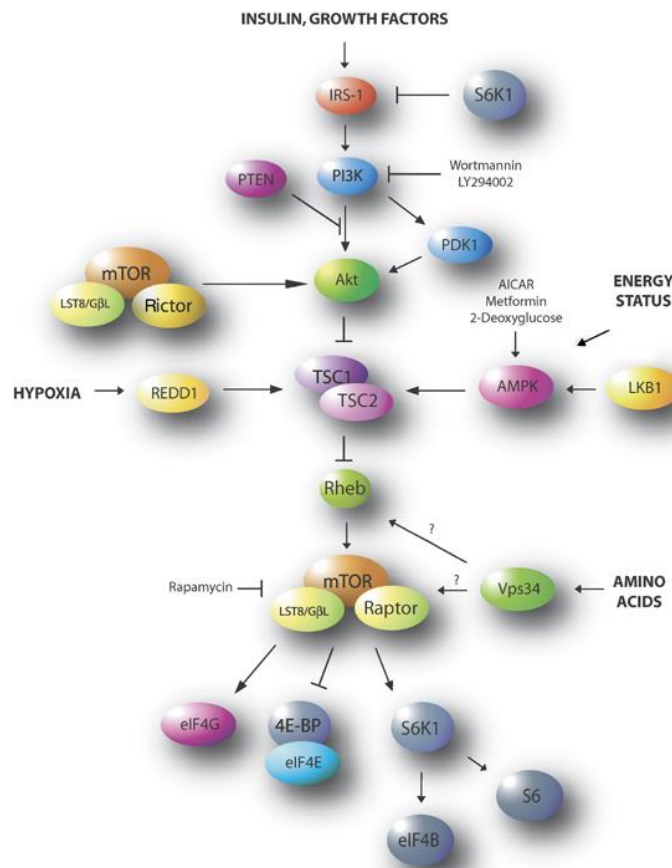
Στους περισσότερους συμπαγείς όγκους υπάρχει ένα πλούσιο σε ινοβλάστες στρώμα το οποίο φαίνεται να παίζει έναν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και την διατήρηση του όγκου [154]. Υπάρχουν πολλές μελέτες που έχουν δείξει την έντονη έκφραση PDGF-β στο στρώμα ενός μεγάλου αριθμού καρκινωμάτων. Αναλύσεις σε καρκινικά κύτταρα χωρίς PDGFR, παρουσία PDGF, οδηγούν στο συμπέρασμα πως ο PDGFR φαίνεται να έχει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην μεταβολή του νεοπλασματικού μικροπεριβάλλοντος.

ο ΤΟ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ PI3K/Akt/mTOR

*Ενεργοποίηση PI3K-Akt*

Το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K είναι ένα από τα πιο συχνά «διαβρωμένα» μονοπάτια στον καρκίνο. Οι μεταλλάξεις σε επιμέρους στοιχεία του άξονά του σε περιπτώσεις νεοπλασμάτων φαίνεται να αγγίζουν ποσοστά της τάξεως του 30% [155].

Η PI3K δρα κυρίως μέσω του εκτελεστικού μορίου της (που είναι η Akt) και φαίνεται πως εμπλέκεται σε ένα μεγάλο αριθμό αναβολικών διεργασιών που είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου. Όπως φαίνεται και στην εικόνα 14 η PI3K ενεργοποιείται από διάφορους αυξητικούς παράγοντες με ενεργοποίηση υποδοχέα τυροσινικής κινάσης, αλλά μπορεί να ενεργοποιηθεί και με διαφορετικούς τρόπους.



Εικόνα 14: PI3K/Akt/mTOR σηματοδοτικό μονοπάτι

Τέτοιοι είναι για παράδειγμα η μικρή G-πρωτεΐνη *ras* ή οι συζευγμένοι υποδοχείς CXCR4. Με όποιο τρόπο όμως και αν γίνει το βήμα 1, αυτό που ακολουθεί είναι η δημιουργία τριφωσφορικής φωσφατιδυλ-ινοσιτόλης (phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate - PIP3), η οποία συνδέεται απευθείας με το επιτόπιο PH της Akt και προκαλεί την μετάβαση της στην κυτταρική μεμβράνη. Εκεί γίνεται η ενεργοποίησή της σε δυο σημεία, θρεϊονίνη 308 και σερίνη 473. Υπάρχουν αρκετές θεωρίες σχετικά με τους τύπους φωσφορυλίωσης, αλλά αυτό που παραμένει σημαντικό είναι η φωσφορυλίωση και στα δυο σημεία για να μπορέσει να γίνει σωστή ενεργοποίηση της Akt [156].

#### *Υπερενεργοποίηση PI3K/Akt στους όγκους*

Η υπερενεργοποίηση της Akt και των στοιχείων που ακολουθούν αυτή την διαδικασία έχει διαπιστωθεί σε μια πλειάδα νεοπλασμάτων και βέβαια και στο RCC.

Υπάρχουν αρκετοί μηχανισμοί που έχουν προταθεί για να εξηγήσουν αυτή την διαδικασία υπερενεργοποίησης. Μερικές από αυτές τις θεωρίες είναι οι εξής [157,158,159]:

- i. Αυτοκρινής ή παρακρινής ενεργοποίηση των υποδοχέων των τυροσινικών κινασών
- ii. Αυξημένη σηματοδότηση του PI3K σήματος λόγω ενεργοποίησης του *ras* (όταν υπάρχουν μεταλλάξεις του *ras*)
- iii. Υπερέκφραση υποδοχέων αυξητικών παραγόντων (όπως για παράδειγμα EGFR)
- iv. Γονιδιακή ενίσχυση Akt2 και PIK3CA
- v. Απενεργοποίηση του PTEN

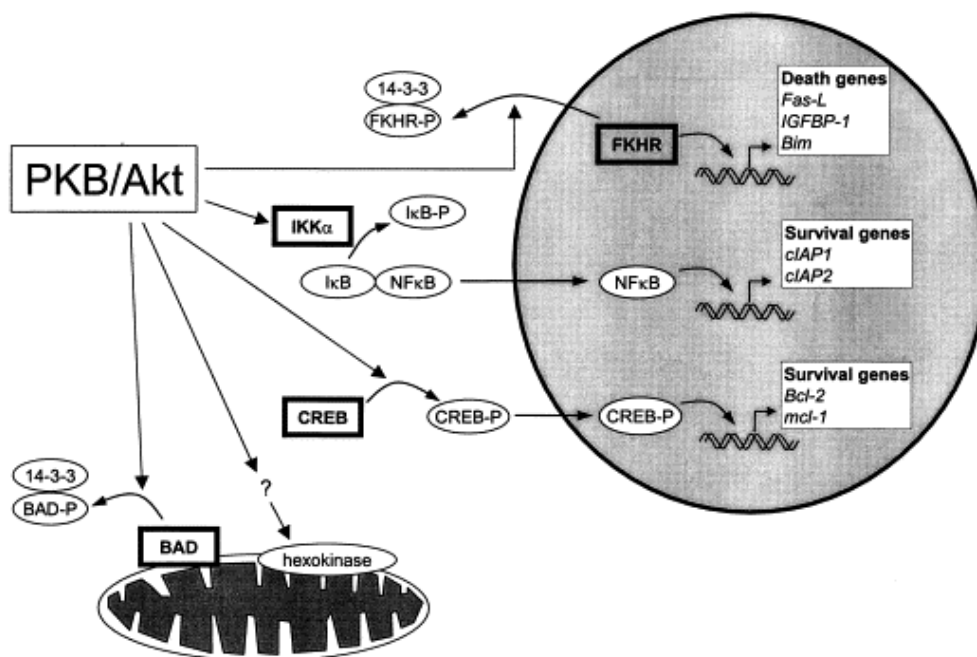
Το PTEN αποτελεί ίσως τον πιο μελετημένο ρυθμιστή της δραστηριότητας της Akt. Ουσιαστικά το PTEN ρυθμίζει το μονοπάτι PI3K/Akt με αυστηρό έλεγχο των επιπέδων της PIP3. Η ισορροπία της δραστηριότητας μεταξύ PI3K και PTEN ρυθμίζει τα ενδοκυττάρια επίπεδα της PIP3.

Η απώλεια ή απενεργοποίηση του PTEN στους όγκους έχει αποδειχθεί πως προκαλεί μια μόνιμη ενεργοποίηση της Akt και άλλων μονοπατιών, και μεταξύ αυτών και του mTOR. Έχουν παρατηρηθεί διάφορων ειδών μεταλλάξεις του PTEN σε μια σειρά καρκινικών κληρονομούμενων συνδρόμων. Ας μην ξεχνάμε άλλωστε πως στην σύγχρονη ογκολογική βιολογία, το PTEN θεωρείται το πιο συχνά μεταλλαγμένο κατασταλτικό ογκογονίδιο μετά το p53 [160]. Αυτό που είναι αρκετά ενδιαφέρον να παρατηρήσουμε, είναι το γεγονός πως καρκινικά κύτταρα τα οποία είτε εμφανίζουν μεταλλάξεις του PTEN, είτε μειωμένη έκφρασή του φαίνεται να έχουν μια ιδιαίτερη ευαισθησία σε αναστολείς του m-TOR και της PI3K σε *in vitro* πειράματα.

Παρόλο που οι μεταλλάξεις PTEN δεν είναι ιδιαίτερα συχνές στο RCC, είναι γεγονός πως η έκφραση του είναι ιδιαίτερα μειωμένη στην πλειονότητα των RCC (πιθανώς μέσω σίγασης της έκφρασης) [161,162].

#### Συνέπειες της ενεργοποίησης της Akt

Η Akt, μετά την ενεργοποίησή της, ρυθμίζει έναν μεγάλο όγκο πρωτεϊνών που σχετίζονται με την κυτταρική ανάπτυξη, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, κινητικότητα, προσκόλληση, νεοαγγείωση και κυτταρικό θάνατο [163].

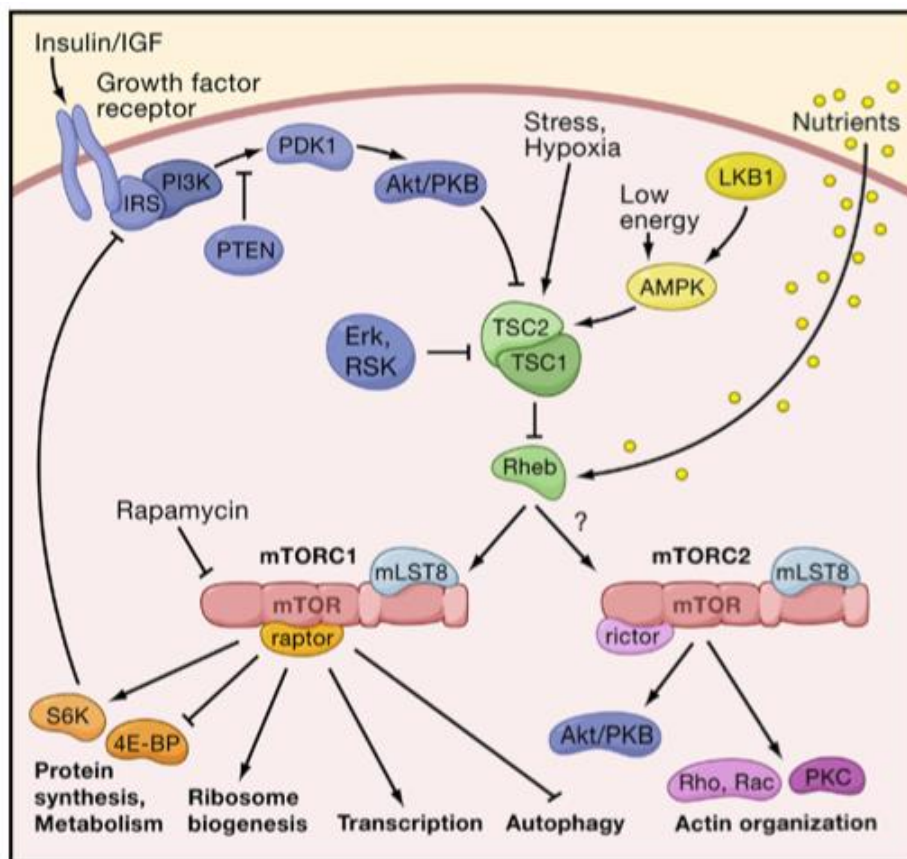


Εικόνα 35: Δραστηριότητα επιβίωσης της Akt

Όπως φαίνεται στην βιβλιογραφία, υπάρχει μια έντονη θεώρηση πως η ενεργοποίηση της Akt στα καρκινικά κύτταρα έχει έναν σαφή χαρακτήρα επιβίωσης. Αυτό επιβεβαιώνεται ακόμα περισσότερο από πολλαπλές εργαστηριακές παρατηρήσεις στην πλειονότητα των συμπαγών όγκων, αλλά και στο RCC αφού όπως φαίνεται, νεφροκυτταρικά καρκινώματα με ενεργοποιημένη την Akt συνδέονται με επιθετικότερη βιολογική συμπεριφορά και κατά συνέπεια χειρότερη πρόγνωση [164]. Επιπλέον φαίνεται από πειραματικά δεδομένα πως η ενεργοποίηση της Akt μπορεί να δημιουργήσει αντίσταση στην χημειοθεραπεία αλλά και στην ακτινοθεραπεία σε διάφορους συμπαγείς όγκους. Υπάρχουν διάφορες υποθέσεις σχετικά με το ποιους τρόπους επιτυγχάνεται αυτό το αποτέλεσμα με κυριότερους την συνεχή προώθηση του κυτταρικού κύκλου και την μη ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στα αποπτωτικά μηνύματα (εικόνα 15) [165,166].

### Ο m-TOR στην κυτταρική ανάπτυξη και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό

Ένα πολύ σημαντικό μονοπάτι μέσα από το οποίο η Akt οδηγεί την κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό είναι με την ενεργοποίηση του m-TOR. Ο m-TOR είναι μια κινάση σερίνης/θρεονίνης που ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη και τον μεταβολισμό σαν απάντηση σε διάφορους περιβαλλοντολογικούς παράγοντες [167]. Από την στιγμή που θα ενεργοποιηθεί ο m-TOR, εκτελεί τις βιολογικές λειτουργίες του σαν ένα πολύ βασικό συστατικό δυο ξεχωριστών συμπλόκων TORC1 και TORC2 τα οποία έχουν και διαφορετική ευαισθησία στην ραπαμυκίνη (εικόνα 16). Για παράδειγμα το σύμπλοκο TORC1 που περιλαμβάνει τον m-TOR, τον LST8 (GβL) και τον raptor (regulatory protein associated with m-TOR) αναστέλλεται από την ραπαμυκίνη. Εντελώς αντίθετα, το σύμπλοκο TORC2, που περιλαμβάνει mTOR, τον LST8 και τον rictor δεν επηρεάζεται από αυτή. Πολύ πρόσφατα αποδείχθη ότι κατά πάσα πιθανότητα το σύμπλοκο TORC2 ελέγχει την κυτταρική πολικότητα και χωροτακτική ανάπτυξη [168]. Από την άλλη, το σύμπλοκο TORC1 είναι αυτό που ουσιαστικά είναι υπεύθυνο για όλες αυτές τις μεταβολικές δραστηριότητες που αποδίδονται πάντα γενικευμένα στον m-TOR.



Εικόνα 46: Μοντέλο της mTOR σηματοδότησης

Έχοντας έναν τόσο κεντρικό μεταβολικό ρόλο το TORC1 σύμπλοκο επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό τόσο από ενδοκυτταρικά όσο και εξωκυτταρικά ερεθίσματα. Η αυξορρύθμιση του TORC1 από το μονοπάτι PI3K/Akt γίνεται λοιπόν κατά κύριο λόγο υπό την επίρεια αυξητικών παραγόντων. Παρόλα αυτά το TORC1 μπορεί να ρυθμιστεί από τα επίπεδα θρεπτικών υλικών, ενέργειας και στρες του κυττάρου. Για παράδειγμα η εξάντληση των θρεπτικών υλικών (συνήθως υπό μορφή αμινοξέων) έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να μειώσει την ενεργοποίηση του m-TOR χωρίς όμως να έχει εξακριβωθεί ο πλήρης μηχανισμός.

Τα χαμηλά ενεργειακά αποθέματα του κυττάρου (τα οποία εκφράζονται από χαμηλά επίπεδα ATP και υψηλά επίπεδα AMP) είναι ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας που αναστέλει την λειτουργία του mTOR [169].

## 5. Κλινική Εικόνα Αδενοκαρκινώματος του Νεφρού

Τα συμπτώματα του καρκίνου του νεφρού συνήθως είναι άτυπα με αποτέλεσμα να χάνεται αρκετός χρόνος μέχρι την τελική διάγνωση. Ο καρκίνος του νεφρού, λόγω του ότι συχνά εμφανίζεται με τη μορφή ενός συστηματικού ή οργανικού συνδρόμου, χαρακτηρίζεται σαν "ο όγκος του παθολόγου" [170]. Τα συνηθέστερα συμπτώματα ή κλινικά σημεία του καρκίνου του νεφρού είναι:

- **Αιματουρία:** Είναι ίσως το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα. Στην τυπική της μορφή είναι ανώδυνη, ολική, υποτροπιάζουσα, χωρίς σχέση με κόπωση ή προσπάθεια. Φαίνεται ότι αποτελεί το πρωτεύον σύμπτωμα στο 60% των ασθενών.
- **Οσφυϊκός πόνος:** Στα αρχικά στάδια, είναι ελαφρύς, παροδικός οφειλόμενος κυρίως στη διέλευση πηγμάτων από τις ουροφόρες οδούς. Αργότερα, όταν γίνεται τοπική διήθηση, ο πόνος γίνεται πιο δυνατός και μόνιμος.
- **Διόγκωση οσφυϊκή:** Άλλοτε είναι εύρημα της κλινικής εξέτασης και άλλοτε τυχαίο εύρημα από τον ίδιο τον άρρωστο.

Τα τρία αυτά σημεία αποτελούσαν παλαιότερα την κλασική τριάδα του καρκίνου του νεφρού. Έχει όμως βρεθεί ότι και τα τρία μαζί συνυπάρχουν σε ποσοστά όχι μεγαλύτερα του 15%, ενώ σε ποσοστά μεγαλύτερα του 35% και σε αρχικά στάδια, η νόσος παρουσιάζεται χωρίς κανένα από τα παραπάνω συμπτώματα [171].

- **Πυρετική κίνηση, χωρίς καμία εκδήλωση από το ουροποιητικό:** Ο πυρετός εμφανίζεται στο 20% των ασθενών με καρκίνο νεφρού, ενώ στο 2-4% αποτελεί το μοναδικό σύμπτωμα. Είναι ένας πυρετός επίμονος, που υποτροπιάζει και από πρώτη άποψη άγνωστης προέλευσης και αιτιολογίας. Ο πυρετός μπορεί να εξηγηθεί είτε από

την έκκριση πυρετογόνων ουσιών είτε από τις νεκρώσεις που δημιουργούνται μέσα στον όγκο [172,173].

- **Υπέρταση:** Η υπέρταση που αποτελεί συχνή εκδήλωση του καρκίνου του νεφρού - αναφέρονται ποσοστά εμφάνισης της μεγαλύτερα του 40% [174] - οφείλεται είτε σε απόφραξη της νεφρικής αρτηρίας από τον όγκο είτε σε έκκριση από τον όγκο ρενίνης ή ουσίας ανάλογης με αυτήν [175,176].
- **Κιρσοκήλη:** Έχει ιδιαίτερη σημασία η πρόσφατη εμφάνιση της και οφείλεται κυρίως σε συμπίεση της έσω σπερματικής φλέβας από τον όγκο [175].
- **Ερυθρότητα προσώπου και πονοκέφαλος:** Είναι κλινικές εκδηλώσεις τόσο της πολυερυθραιμίας όσο και της υπέρτασης που προκαλούνται από τον καρκίνο του νεφρού [175].
- **Ενδοκρινικά ή μεταβολικά σύνδρομα:** Ο καρκίνος του νεφρού παράγει διάφορες ουσίες που είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση διαφόρων συνδρόμων όπως: Σύνδρομο Cushing, από παραγωγή ουσίας που μοιάζει με την φλοιοεπινεφριδιοτρόπο ορμόνη (ACTH), γαλακτόρροια από έκκριση προλακτίνης και αρρενοποίηση ή θηλεοποίηση από έκκριση γοναδοτροπινών, μπορεί επίσης να προκληθεί υπερασβεστιαμία είτε από έκκριση ουσίας ανάλογης της παραθορμόνης είτε λόγω εκτεταμένων οστικών μεταστάσεων με γενικευμένη οστεόλυση [177,178,179,180]. Ένα άλλο σημείο του καρκίνου του νεφρού είναι η ερυθροκυττάρωση η οποία αναγνωρίζεται στο 3-10% των ασθενών και προκαλείται από έκκριση ουσίας ανάλογης με την ερυθροποιητίνη ή από παραγωγή ερυθροποιητίνης από τον υγί ιστό λόγω υποξίας [170,174,181,182]. Τέλος, η πιο συχνή παρανεοπλασματική εκδήλωση της νόσου είναι το σύνδρομο Stauffer, που παρουσιάζεται στο 20% των ασθενών, χωρίς να συνυπάρχουν ηπατικές μεταστάσεις και χαρακτηρίζεται από την παράταση του χρόνου της προθρομβίνης, ηπατοσπληνομεγαλία και αύξηση των απτοσφαιρινών του ορού [183,184].

## 6. Διάγνωση – Σταδιοποίηση – Διαφοροποίηση

Συνήθως η διάγνωση του ΝΚΚ γίνεται τυχαία σε ποσοστό πάνω από 50% σε υπερηχοτομογραφικό έλεγχο ή υπολογιστική τομογραφία. Η σταδιοποίηση του καρκίνου του νεφρού γίνεται κυρίως με την υπολογιστική τομογραφία και λιγότερο με την Μαγνητική τομογραφία. Οι απεικονιστικές μέθοδοι εφαρμόζονται και στην παρακολούθηση της πορείας της νόσου. Νεότερες απεικονιστικές μέθοδοι, όπως η F-18 Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography (FDG-PET) φαίνεται ότι μπορεί να συμβάλλουν στην έγκαιρη ανίχνευση μεταστατικής νόσου και στη διαφοροδιάγνωση μεταξύ τοπικής υποτροπής και μετεγχειρητικών αλλοιώσεων. Στο πλαίσιο της έγκαιρης διάγνωσης της νόσου

(προσυμπτωματικός έλεγχος) έχουν προταθεί και μελετηθεί διάφοροι κλινικοεργαστηριακοί δείκτες και παράγοντες, χωρίς ωστόσο, να έχουν καθιερωθεί στην καθημερινή κλινική πράξη [185].

Η σταδιοποίηση του καρκίνου του νεφρού γίνεται με βάση το σύστημα TNM [186]. Όταν καθοριστούν οι παράμετροι T, N και M, ακολουθεί μια διαδικασία κατά την οποία γίνεται συνδυασμός τους, προκειμένου να καθοριστεί το γενικό στάδιο της νόσου. Η παθολογοανατομική εξέταση καθορίζει το βαθμό διαφοροποίησης του και γίνεται με την κλίμακα Fuhrman. Η κλίμακα έχει 4 βαθμούς διαβάθμισης (1 έως 4).

Ένας όγκος με βαθμό κακοήθειας 1 κατά Fuhrman χαρακτηρίζεται από καλή διαφοροποίηση, αργή εξέλιξη και συνήθως καλή πρόγνωση. Ένας όγκος με βαθμό κακοήθειας 4 κατά Fuhrman ενέχει αδιαφοροποίητα κύτταρα και χαρακτηρίζεται από ταχύτερη εξέλιξη και χειρότερη πρόγνωση [187].

## **7. Θεραπεία**

### **ο ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ**

Η χειρουργική αφαίρεση του όγκου αποτελεί θεραπεία εκλογής του νεφροκυτταρικού καρκίνου, καθώς ο συγκεκριμένος τύπος καρκίνου εμφανίζει αντοχή στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Ειδικότερα, όταν ο όγκος περιορίζεται στο νεφρικό παρέγχυμα, η θεραπεία εκλογής είναι η νεφρεκτομή και η εξαίρεση των επιχωρίων λεμφαδένων. Η σύστοιχη επινεφριδεκτομή πραγματοποιείται όταν ο όγκος διηθεί ή βρίσκεται σε άμεση γειτνίαση με το επινεφρίδιο.

Εναλλακτικά, η νεφρεκτομή μπορεί να διενεργηθεί και λαπαροσκοπικά, κάτι που περιορίζει το χρόνο της επέμβασης, της νοσηλείας, καθώς και το ποσοστό διεγχειρητικών και μετεγχειρητικών επιπλοκών. Επιπλέον, η λαπαροσκοπική τεχνική μπορεί να εφαρμοστεί σε περιπτώσεις τμηματικής νεφρεκτομής, όταν το νεόπλασμα είναι εντοπισμένο και σχετικά μικρής διαμέτρου (< 4εκ). Η συχνότητα τοπικής ή απομακρυσμένης υποτροπής μετά τη διενέργεια μερικής νεφρεκτομής με λαπαροσκοπική τεχνική στα αρχικά στάδια του, είναι συγκρίσιμη με αυτή της ριζικής νεφρεκτομής [188].

### **ο ΕΛΑΧΙΣΤΑ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ (υπό CT, US)**

#### **- Ραδιοκαυτηριασμός (Radio Frequency Thermal Ablation- RFA)**

Μετά από τοπική αντισηψία και αναισθησία, ακολουθεί διαδερμική τοποθέτηση ηλεκτροδίων στην περιοχή της βλάβης, μέσω των οποίων γίνεται εκπομπή ραδιοσυχνοτήτων που προκαλούν τοπικά αύξηση της θερμοκρασίας και ιστική νέκρωση [189].



- Κρυοθεραπεία

Μετά από διαδερμική τοποθέτηση ειδικών βελόνων στην περιοχή της βλάβης, με την εφαρμογή αερίου αργού, γίνεται τοπικά μείωση της θερμοκρασίας (ψύξη) και ιστική νέκρωση [190].

- Εμβολισμός Νεφρικής Αρτηρίας

Συνιστάται σε περίπτωση αιμορραγίας του ΝΚΚ με συνοδό αιμοδυναμική αστάθεια ή προεγχειρητικά [191].

- ο ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ- ΠΑΡΗΓΟΡΗΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

- Ακτινοθεραπεία

Εφαρμόζεται σε ορισμένες περιπτώσεις προεγχειρητικά, ή σε περιπτώσεις ανεγχείρητων όγκων, χωρίς ωστόσο αξιόλογα αποτελέσματα. Στα σημαντικά μειονεκτήματα της μεθόδου περιλαμβάνονται οι άμεσες και όψιμες βλάβες στο γαστρεντερικό σύστημα [192].

- ο ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΣΤΟΝ ΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ

Η ιντερφερόνη α (IFN-α2) και η ιντερλευκίνη 2 (IL-2) ήταν πιθανόν οι πρώτες θεραπευτικές επιλογές που φάνηκε να έχουν μια κάποια ανταπόκριση στον μεταστατικό καρκίνο του νεφρού. Αξίζει να αναφέρουμε ότι ένα μεγάλο μέρος της θεωρίας περί βιολογικής τροποποίησης του ανοσοποιητικού μηχανισμού βασίστηκε εν μέρει ακριβώς σε αυτές τις μελέτες στην θεραπευτική γραμμή του καρκίνου του νεφρού.

*Μηχανισμός δράσης της ιντερφερόνης*

- (α) Σήματα και σηματοδοτικά μονοπάτια

Οι ιντεφερόνες δρουν με διαμεμβρανικούς γλυκοπρωτεϊνικούς υποδοχείς δυο κατηγοριών (τύπου I και τύπου II) [193]. Αυτοί οι υποδοχείς φαίνεται να υπάρχουν τόσο στους φυσιολογικούς όσο και στους νεοπλασματικούς ιστούς και βέβαια στον καρκίνο του νεφρού [194]. Φαίνεται πως οι διάφοροι υπότυποι της IFN-α συνδέονται στους αντίστοιχους υποδοχείς με την ίδια περίπου συγγένεια (αν και φαίνεται πως η IFN-β έχει μεγαλύτερη συγγένεια για τους υποδοχείς) [195]. Οι υποδοχείς φαίνεται να οδηγούν στην μετάδοση του σημάτων τους μέσω κυτταροπλασματικών τυροσινικών κινασών της οικογένειας Janus (Janus kinase family) συμπεριλαμβανομένων των JAK 1, 2 και 3 καθώς και της Tyk2 [196]. Αυτές οι κινάσες ενεργοποιούν κυτταροπλασματικούς αισθητήρες και μεταγραφικούς

ενεργοποιητές και οδηγούν στην ενεργοποίηση μεταγραφής των ISGs (interferon stimulated genes) [197].

Υπάρχουν περίπου 100-2000 υποδοχείς ιντερφερόνης σε κάθε κύτταρο. Αυτές οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες συνδέονται αποκλειστικά με ιντερφερόνες. Οι υποδοχείς τύπου I συνδέονται αποκλειστικά με IFNs  $\alpha$ ,  $\beta$  και  $\omega$  ενώ οι υποδοχείς τύπου II συνδέονται με την ιντερφερόνη- $\gamma$  [198]. Ο υποδοχέας τύπου I αποτελείται από δύο υπομονάδες, την IFNAR-1 και την IFNAR-2. Πρόκειται για δύο υπομονάδες όπου η μία λειτουργεί ανεξάρτητα από την άλλη και η κάθε μια συνδέεται με διαφορετική κινάση, η IFNRA-1 με την Tyk2 και η IFNRA-2 με την JAK-1. Από την άλλη ο υποδοχέας τύπου II ο οποίος συνδέεται με την Ιντερφερόνη  $\gamma$  αποτελείται από δυο υπομονάδες, την IFNGR-1 και IFNGR-2, οι οποίες μετά την ενεργοποίηση τους διμερίζονται [199,200]. Ο καταρράκτης των αντιδράσεων που ακολουθεί μετά τον διμερισμό των δυο υπομονάδων διευκολύνεται από την ενεργοποίηση των δύο κινασών JAK1 και JAK2 [201].

Η οικογένεια των πρωτεϊνών STAT διαμεσολαβεί στην μεταγωγή σήματος από τους κυτταρικούς υποδοχείς στον πυρήνα με σκοπό την ενεργοποίηση της μεταγραφής των γονιδίων στόχων. Οι πρωτεΐνες STAT ενεργοποιούνται αφού συνδεθούν σε θέσεις σύνδεσης για τις περιοχές SH2 οι οποίες αποκαλύφθηκαν μετά την φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών JAK. Η φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης (tyrosine residues) των πρωτεϊνών STAT οδηγεί στον διμερισμό τους και στην μετέπειτα μετάβαση τους στον πυρήνα. Έπειτα το σύμπλοκο των πρωτεϊνών STAT συνδέεται με ειδικές περιοχές του εκκινητή και επάγει την μεταγραφή των γονιδίων ISG [202].

Μέχρι σήμερα έχουν ανακαλυφθεί και κλωνοποιηθεί τουλάχιστον 7 πρωτεΐνες STAT. STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b και STAT6 [203]. In vitro πειράματα απέδειξαν την σημαντικότητα των πρωτεϊνών STAT1 και STAT2. Πράγματι η πρωτεΐνη STAT1 είναι απαραίτητη για την φυσιολογική λειτουργία των ιντερφερονών IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  και IFN- $\gamma$  ενώ η πρωτεΐνη STAT2 είναι αναγκαία μόνο για την IFN- $\alpha$  και IFN- $\beta$  [204,205].

#### (β) Αναστολή της αγγειογένεσης

Η αγγειογένεση αποτελεί μια φυσιολογική διαδικασία σχηματισμού νέων αγγείων από ένα αγγειακό δίκτυο το οποίο προϋπήρχε. Αποτελεί ένα αναπόσπαστο κομμάτι της επιβίωσης και εξέλιξης του καρκίνου. Η δραστηριότητα των ιντερφερονών έχει βρεθεί ότι μπορεί να αναστείλει την δημιουργία νέων αγγείων είτε μειώνοντας αυξητικούς παράγοντες είτε επάγοντας ανασταλτικούς παράγοντες της αγγειογένεσης.

Ο βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (basic fibroblast growth factor, bFGF) είναι ένας αγγειογενετικός αυξητικός παράγοντας [206]. Η δραστηριότητα του έχει συνδεθεί

με διάφορους τύπους καρκίνου συμπεριλαμβανομένου της ουροδόχου κύστεως, του ορθού και του προστάτη [207].

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (vascular endothelial growth factor, VEGF) αποτελεί τον βασικότερο ρυθμιστή της καρκινικής αγγειογένεσης [208]. Πολύ πρόσφατα κυκλοφόρησαν αντικαρκινικά σκευάσματα κατά του VEGF, όπως το sunitinib, τα οποία έχουν πάρει έγκριση από τον FDA για την θεραπεία καρκίνων που συνδέονται με το VEGF όπως για παράδειγμα του RCC και του γαστρεντερικού συστήματος. Τα αποτελέσματα της IFN- $\alpha$ 2 στην έκφραση του γονιδίου VEGF ερευνούνται σαν ένας πιθανός μηχανισμός ο οποίος να δικαιολογεί την παρατηρούμενη κλινική απάντηση στην καρκινική ύφεση με IFNs. Επιπλέον *in vitro* πειράματα απέδειξαν ότι η έκθεση σε IFN- $\alpha$  είχε σαν αποτέλεσμα να μειωθούν τα επίπεδα του VEGF στο πλάσμα και τα επίπεδα του mRNA. Εν μέρει αυτή η μείωση οφείλεται στην αναστολή της μεταγραφής του γονιδίου του VEGF από Sp1/Sp3.

#### (γ) Ανοσορρύθμιση

Τα *in vivo* αποτελέσματα της χρήσης των ιντερφερονών στην προσπάθεια «ελέγχου» της νεοπλασματικής νόσου δεν είναι πλήρως κατανοητός. Είναι προφανές πως η δράση των ιντερφερονών προκύπτει από την παρέμβαση στο ανοσοποιητικό σύστημα, χωρίς όμως να γνωρίζουμε με ακρίβεια τον τρόπο με τον οποίο αυτό συμβαίνει. Σε πειραματικά δεδομένα με ποντίκια φάνηκε πως η χρήση αντισωμάτων αντι-IFN ενισχύει την ανάπτυξη πολλών όγκων που δεν σχετίζονταν με τα προβλήματα ανοσοποιητικού που ενδεχομένως να εμφάνιζε κάποιο από τα πειραματικά μοντέλα [209].

Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός κυττάρων που εμπλέκονται στην ανοσιακή απάντηση όπως για παράδειγμα τα κυτταροτοξικά και βοηθητικά T κύτταρα, τα κύτταρα «φυσικοί φονείς» (natural killers NKs) ή τα δενδριτικά κύτταρα που φαίνεται να επηρεάζονται από τις ιντερφερόνες τόσο στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα όσο και σε άλλα καρκινώματα [210,211].

#### (δ) Απόπτωση

Το αποτέλεσμα της δράσης των ιντερφερονών απευθείας στην κυτταρική απόπτωση δεν είναι πλήρως κατανοητό. Ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς φαίνεται να σχετίζεται με τα πυρηνικά σωματίδια (nuclear bodies NBs). Πρόκειται για σχηματισμούς που στην ουσία είναι πρωτεϊνικά σύμπλοκα που βρίσκονται στον πυρήνα και σχετίζονται με διάφορα νοσήματα (νεοπλασματικά και μη) όπως για παράδειγμα λευχαιμίες ή ιογενείς λοιμώξεις [212].

Τα NBs συσχετίζονται και με οργανωτικές πρωτεΐνες (organizer proteins) οι οποίες κατά κύριο λόγο είναι ISGs. Μία από αυτές είναι η προμυελοκυτταρική πρωτεΐνη (promyelocytic

protein) και φαίνεται να έχει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό θάνατο. Θα μπορούσε λοιπόν να αντιπροσωπεύει έναν μηχανισμό απόπτωσης που συνδέεται με την ιντερφερόνη (με την ευρύτερη έννοια) [213]. Θα πρέπει βέβαια να αναφέρουμε ότι στην πλειοψηφία των περιπτώσεων η κυτταρική απόπτωση είναι καθυστερημένη συνέπεια της δράσης της ιντερφερόνης (συμβαίνει συνήθως 48 ώρες μετά την χορήγηση). Αυτή η καθυστέρηση φαίνεται να οφείλεται στην μεταγραφή που χρειάζεται να πραγματοποιηθεί (ISGs). Η απόπτωση που εξαρτάται από την ιντερφερόνη, εμφανίζεται σε αρκετές αιματολογικές νεοπλασματικές ασθένειες (χρόνια μυελογενής λευχαιμία, πολλαπλό μυέλωμα) [214,215,216]. Στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα η επαγωγή της απόπτωσης μέσω των ιντερφερονών πραγματοποιείται από μηχανισμούς που σχετίζονται με τις ISGs.

Συνοψίζοντας λοιπόν θα μπορούσαμε να πούμε ότι η δράση των ιντερφερονών στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα πραγματοποιείται κυρίως σε 3 επίπεδα:

- Αντιαγγειογενετικά χαρακτηριστικά
- Ανοσορύθμιση
- Αντινεοπλαστικά-αποπτωτικά χαρακτηριστικά

Τα δύο πρώτα σχετίζονται κατά κύριο λόγο με το πως τροποποιείται η αντίδραση του οργανισμού απέναντι στην νόσο, ενώ το τελευταίο έχει να κάνει με απευθείας αντινεοπλασματική δράση πάνω στα νεοπλασματικά κύτταρα.

#### *Μηχανισμός δράσης της ιντερλευκίνης 2 (IL-2)*

##### (α) Προκλινικά δεδομένα της IL-2 και in vitro δεδομένα

Η IL-2 υπήρξε από τις κυτοκίνες που μελετήθηκε πάρα πολύ πριν αρχίσει να περνάει στην κλινική πράξη. Αρχικά της είχε δοθεί η ονομασία T-cell growth factor από το γεγονός πως ήταν η πρώτη κυτοκίνη που μπορούσε να αυξήσει τον αριθμό των T λεμφοκυττάρων όταν προστεθεί εξωγενώς σε κυτταρικές καλλιέργειες. Επιπλέον τα νεοπαράγόμενα CD8<sup>+</sup> T λεμφοκύτταρα μπορούσαν να εξουδετερώσουν νεοπλασματικά ή άλλου είδους ξένα κύτταρα. Αυτό το γεγονός είχε οδηγήσει στο συμπέρασμα πως θα μπορούσε με έναν τεχνητό τρόπο να δημιουργηθεί μια στρατιά «αντινεοπλασματικών» κυττάρων ικανών να εξουδετερώσουν νεοπλάσματα [217,218].

##### (β) Έκφραση και λειτουργικά χαρακτηριστικά των υποδοχέων της IL-2

Υπάρχουν πολλές κατηγορίες κυττάρων (εκτός από τα T λεμφοκύτταρα) που μπορούν να εκφράσουν υποδοχείς για την IL-2 (IL-2R). Τέτοια για παράδειγμα είναι κάποιες

υποκατηγορίες των Β λεμφοκυττάρων, άλλα λεμφοκύτταρα καθώς και μυελοειδή κύτταρα όπως για παράδειγμα μακροφάγα ή δενδριτικά κύτταρα (dendritic cells DCs) [219,220].

Το πλήρες IL-2R σύμπλοκο αποτελείται από 3 αλυσούς που μπορούν να εκφραστούν μεμονωμένα ή σε συνδυασμό [221]. Και ενώ η  $\gamma$  αλυσός μπορεί να ενωθεί με έναν μεγάλο αριθμό κυτοκινών (IL-4, -7, -9, -13 και -15), η  $\beta$  μπορεί να ενωθεί μόνο με την 2 και την 15 ενώ η  $\alpha$  αλυσός μπορεί να δεσμεύσει μόνο την IL-2. Θα πρέπει επίσης να αναφέρουμε πως στην απουσία της  $\alpha$  αλυσού η συγγένεια της  $\beta$  ή του συμπλόκου  $\beta/\gamma$  για την IL-2 είναι σχετικά μικρή. Το ίδιο ισχύει και για την συγγένεια μεμονωμένα της  $\alpha$  αλυσού [222]. Όταν όμως δημιουργείται το σύμπλοκο  $\alpha/\beta/\gamma$  τότε δημιουργείται μιας μεγάλης ισχύος συγγένεια για την IL-2 [223].

Είναι κατανοητό λοιπόν πως με αυτή την ιδιόμορφη κινητική των υποδοχέων μπορούν να υπάρχουν διαφορετικές αλληλεπιδράσεις στα κύτταρα που εξαρτώνται από αυτόν τον διαφορετικό βαθμό συγγένειας των υποδοχέων.

( $\gamma$ ) Επικουρικός ρόλος της IL-2 στην T1 κυτταρική ανοσία και αναστροφή της ανέργειας

Τα T «helper» κύτταρα CD4<sup>+</sup> μπορούν με φυσικό τρόπο να διαφοροποιηθούν σε Th1, Th2 και Th3 με την κάθε υποκατηγορία να εκτελεί διαφορετικό ρόλο στην διεργασία της ανοσίας [224].

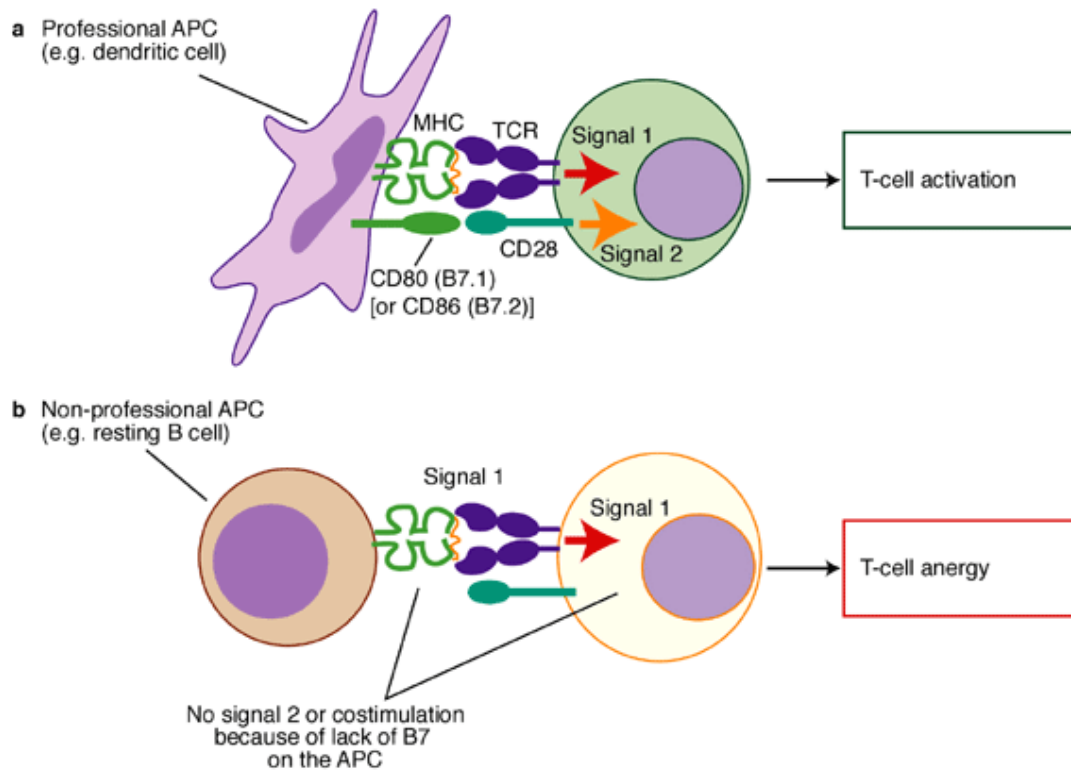
Τα Th1 κύτταρα εμπλέκονται κατά κύριο λόγο στην κυτταρική ανοσιακή απάντηση αλλά και σε αυτή του συμπληρώματος ως απάντηση σε μια εγκατεστημένη λοίμωξη. Τα Th2 κύτταρα διενεργούν έναν πιο προληπτικό ρόλο αφού φαίνεται πως κατά κύριο λόγο εξουδετερώνουν λοιμώδεις καταστάσεις πριν αυτές ακόμα εγκατασταθούν. Τέλος τα Th3 φαίνεται να έχουν έναν πιο ρυθμιστικό ρόλο και κυρίως στον να ρυθμίζουν με αρνητικό τρόπο την ανοσιακή απάντηση [225].

Καθεμία από αυτές τις τρεις υποκατηγορίες κυττάρων, κατά την διαδικασία ενεργοποίησής τους παράγουν διαφορετικές κυτοκίνες. Η μοναδική κατηγορία που φαίνεται ότι μπορεί να παράγει IL-2 και IFN- $\gamma$  είναι η Th1. Αυτή η παραγωγή της IL-2 έχει έναν ιδιαίτερο επικουρικό σκοπό αφού επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό ενεργοποιημένων CD8<sup>+</sup> κυττάρων, των ίδιων των CD4<sup>+</sup> στο σύνολό τους αλλά και έναν υποπληθυσμό Β λεμφοκυττάρων που παράγουν αντισώματα-στόχους για την δράση του συμπληρώματος [226].

Παρόλο που σε πολλά πειραματικά δεδομένα του παρελθόντος (κυρίως σε ζώα) φαινόταν πως η ανοσιακή απάντηση Th1 υπερισχύει της Th2, αυτό που θα έπρεπε να συμβαίνει θα ήταν η πλήρως ισορροπημένη λειτουργία αυτών των δυο συστημάτων. Για παράδειγμα, μια

Th1 απάντηση θα μπορούσε να εξουδετερώσει τα ήδη μολυσμένα κύτταρα. Από την άλλη, μια Th2 απάντηση θα μπορούσε ουσιαστικά να προφυλάξει από την περαιτέρω εξάπλωση της λοίμωξης [205].

Μια σημαντική παράμετρος που θα έπρεπε να λαμβάνεται υπ' όψιν από το ανοσοποιητικό σύστημα, είναι το αν μια συνεχής αντιγονική παρουσίαση αντιπροσωπεύει μια λοίμωξη που αποδράμει ή μία που συνεχίζει να εγκαθίσταται. Αυτό λοιπόν αναγκάζει το ανοσοποιητικό σύστημα (και κατ' επέκταση τον οργανισμό στο σύνολό του) να προσπαθήσει να αξιολογήσει αν έχει νόημα να προσπαθεί να διατηρήσει μια ανοσιακή απάντηση τύπου Th1 παρατεταμένα. Ένα τέτοιο ενδεχόμενο ως μη αποτελεσματική ανοσιακή διαχείριση, θα μπορούσε να οδηγήσει στο φαινόμενο της ανέργειας. Για παράδειγμα η έκθεση των κυττάρων Th1 CD4<sup>+</sup> σε ένα αντιγόνο (σήμα 1) χωρίς την παρουσία ικανοποιητικής συνδιέγερσης στα πλαίσια της ανοσιακής απάντησης (σήμα 2) οδηγεί ακριβώς σε μια κατάσταση ανέργειας των εμπλεκόμενων κυττάρων παρά σε μια αποτελεσματική ανοσολογική απάντηση [227]. Αυτό το ιδιαίτερα σημαντικό σήμα 2 προέρχεται κυρίως από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs-antigenic presenting cells) την ίδια ουσιαστικά χρονική στιγμή που γίνεται και η πρώτη παρουσίαση του αντιγόνου στα T κύτταρα (εικόνα 17). Θα πρέπει να προστεθεί σε αυτό το σημείο ότι μια ισχυρή συνδιεγερτική εντολή μπορεί να δοθεί όταν τα APCs εκτίθενται και σε άλλα, μη αντιγονικά ερεθίσματα της επερχόμενης λοιμώδους προσβολής, τα λεγόμενα PAMPs (pathogen associated molecular patterns) [228].



Εικόνα 17: Το φαινόμενο της ανέργειας

Με βάση τα παραπάνω, είναι κατανοητό πως στην περίπτωση που δεν υπάρχει μια ισχυρή συνδιέγερση τα Th1 CD4<sup>+</sup> αποκτούν ένα είδος «ανοχής» στο αντιγόνο και αποτυγχάνουν στην απαιτούμενη παραγωγή της IL-2 που θα οδηγούσε στον παραπέρα αυτοκρινή πολλαπλασιασμό τους [229]. Τα Th1 κύτταρα λοιπόν παραμένουν σε αυτή την ιδιόρρυθμη κατάσταση, δηλαδή του μη πολλαπλασιασμού και της μερικής ενεργοποίησης, περιμένοντας επιπλέον σήματα για το επόμενο βήμα. Αυτή η ιδιαίτερη κατάσταση των Th1 κυττάρων μπορεί να αναστραφεί από την προσθήκη IL-2 είτε εξωγενώς, είτε ως παράγωγο από κύτταρα Th1 CD4<sup>+</sup> που δεν έχουν υποπέσει σε αυτό το status [230]. Μετά από αυτή τη διαδικασία «διάσωσης» τα Th1 CD4<sup>+</sup> που βρίσκονταν σε αυτή την κατάσταση ανέργειας μπορούν και πάλι να ευαισθητοποιηθούν κανονικά και να οργανώσουν εκ νέου μια κανονική ανοσιακή απάντηση.

Θα ήταν λογικό σε αυτό το σημείο κάποιος να σκεφτεί πως θα μπορούσαν να διατηρηθούν πληθυσμοί Th1 CD4<sup>+</sup> και CD8<sup>+</sup> συνεχώς πολλαπλασιαζόμενοι απλά και μόνο με την προσθήκη IL-2. Αυτό θα μπορούσε, από την μια να προφυλάξει από ένα ανεπιθύμητο status ανέργειας, και από την άλλη θα βοηθούσε στην διατήρηση ενός έτοιμου ανοσιακά πληθυσμού [231]. Δυστυχώς, πειραματικά δεδομένα έχουν ήδη αποδείξει ότι η διατήρηση αυτών των κυττάρων με αυτό τον τρόπο οδηγεί στο να χάσουν οποιαδήποτε θεραπευτική δραστηριότητα. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός της μη ύπαρξης συνεχόμενων

κυκλικών εναλλασσόμενων σημάτων (όπως θα γίνονταν δηλαδή στην πραγματικότητα χωρίς την τεχνητή παρέμβαση της προσθήκης της IL-2). Άλλωστε, αρκετά πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι εκτός από τα σήματα 1 και 2, τα κύτταρα χρειάζονται και άλλα πρόσθετα φυσιολογικά σήματα τα οποία ονομάζονται τύπου 3. Αυτού του είδους τα σήματα προφυλάσσουν όχι μόνο από την διαδικασία της ανέργειας αλλά και από την απόπτωση κατά την διαδικασία πολλαπλασιασμού των T κυττάρων.

#### *Κλινικά αποτελέσματα των ιντερφερονών*

Οι πρώτες κυτοκίνες που χρησιμοποιήθηκαν στην θεραπευτική του προχωρημένου νεφρικού καρκινώματος ήταν οι ιντεφερόνες. Το 1983, σε μια ενδιαφέρουσα δημοσίευση είχαν διαπιστωθεί αντικειμενικές απαντήσεις έως 26% σε ασθενείς που ελάμβαναν IFN-α ενδομυϊκά σε ένα σχήμα 3MU (εκατομμυρίων μονάδων) καθημερινά [232,233]. Επρόκειτο ουσιαστικά για τις πρώτες ενδείξεις ότι η ανοσοθεραπεία στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα θα μπορούσε να έχει θετικά αποτελέσματα.

Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες ιντεφερόνες στην κλινική πράξη είναι η IFN-α-2a και η IFN-α-2b διαφέροντας μεταξύ τους κατά ένα μη θεμελιώδες αμινοξύ. Και οι δυο αυτές κυτοκίνες μελετήθηκαν εκτενώς στο μεταστατικό νεφρικό καρκίνωμα αλλά και σε άλλα νεοπλασμάτα με εύρος δόσεων από 3-50 MU ημερησίως. Οι ανταποκρίσεις στις περισσότερες μελέτες κυμαινόντουσαν από 0-30% με μια συνολική ανταπόκριση της τάξης του 14.5% σε 648 ασθενείς [234]. Η διατήρηση του θετικού θεραπευτικού αποτελέσματος είναι γενικά μεταξύ 6-10 μηνών αν και αρκετές φορές παρατηρήθηκαν υφέσεις μέχρι και δύο χρόνια [235].

Υπάρχουν πολλά δημοσιευμένα δεδομένα που αναφέρονται στην σύγκριση της IFN-α2 με άλλες θεραπευτικές επιλογές (είτε με άλλες κυτοκίνες είτε με κλασσική χημειοθεραπεία). Τα δεδομένα αυτά στην πλειοψηφία τους τονίζουν σαφώς την θεραπευτική αξία της ιντεφερόνης, σε ένα νεόπλασμα που έτσι κι αλλιώς έχει περιορισμένες επιλογές από πλευράς χημειοθεραπείας [236].

Τα τελευταία χρόνια, η έρευνα είχε επικεντρωθεί στο να ταυτοποιήσει παράγοντες οι οποίοι θα μπορούσαν να έχουν προβλεπτική αξία για το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα τόσο όσον αφορά την επιβίωση όσο και την απάντηση σε θεραπεία με βάση τις κυτοκίνες. Το μοντέλο που βρήκε την μεγαλύτερη ανταπόκριση και με τα περισσότερα δεδομένα ήταν αυτό του Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC criteria) αναλύοντας 670 ασθενείς που συμμετείχαν σε μια πλειάδα κλινικών μελετών από το 1973 έως το 1996 [237]. Πολυπαραγοντικές αναλύσεις αυτών των δεδομένων οδήγησαν στην ταυτοποίηση πέντε



παραγόντων που επηρέαζαν (με αρνητικό τρόπο) την επιβίωση των ασθενών με νεφροκυτταρικό καρκίνωμα:

- Κλίμακα Karnofsky σχετικά με την γενική κατάσταση του ασθενούς
- Υψηλά επίπεδα LDH (lactate dehydrogenase), πάνω από 1,5 φορές του ανώτερου ορίου
- Χαμηλά επίπεδα αιμοσφαιρίνης (κάτω από τα κατώτερα όρια)
- Υψηλά επίπεδα ασβεστίου (διορθωμένες τιμές >10mg/dl)
- Μη πραγματοποιηθείσα νεφρεκτομή

Χρησιμοποιώντας αυτούς τους πέντε παράγοντες, οι ασθενείς διαχωρίστηκαν σε τρεις κύριες ομάδες:

- Ασθενείς χωρίς κανένα παράγοντα κινδύνου, οι οποίοι αποτελούσαν την ομάδα χαμηλού κινδύνου
- Ασθενείς οι οποίοι εμφάνιζαν έναν ή και δύο παράγοντες κινδύνου και αποτελούσαν την ομάδα ενδιάμεσου κινδύνου
- Ασθενείς που εμφάνιζαν τρεις έως πέντε παράγοντες κινδύνου και αποτελούσαν την ομάδα υψηλού κινδύνου.

Έχοντας διαχωρίσει τους ασθενείς σε αυτές τις τρεις κατηγορίες βάσει των παραγόντων κινδύνου διαπιστώθηκε μία μεγάλη διαφορετικότητα όσον αφορά στην μέση συνολική επιβίωση αυτών των ασθενών. Οι ασθενείς χαμηλού κινδύνου εμφάνιζαν μια μέση επιβίωση της τάξης των 22 μηνών, η οποία ήταν σαφώς μεγαλύτερη από αυτή των άλλων δύο υποομάδων που ήταν 11,9 και 5,4 μήνες (αντίστοιχα για τις ομάδες ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου). Το 2005, αυτοί οι πέντε προγνωστικοί παράγοντες επιβεβαιώθηκαν ως ανεξάρτητοι για την πρόβλεψη επιβίωσης ασθενών που πάσχουν από μεταστατικό νεφροκυτταρικό καρκίνωμα (πίνακας 2 και διάγραμμα 2 από την ίδια δημοσίευση).

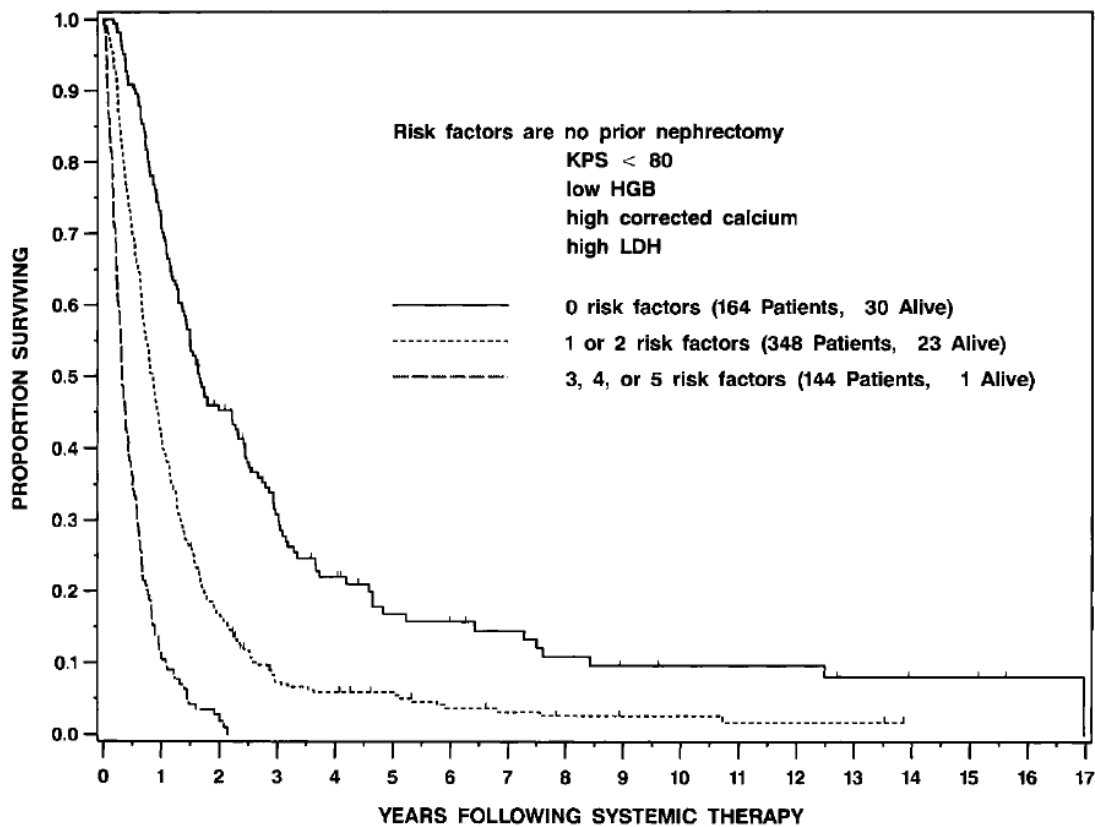
	Continuous Form		Categorical Form			
	Parameter Estimate	P	Cut Point Used	$\chi^2$	Risk Ratio	95% CI
Karnofsky performance status	-0.0458	.0001	< 80	73.62	2.15	1.80-2.55
Albumin	-0.798	.0001	4 g/dL	82.05	2.12	1.80-2.50
Alkaline phosphatase	0.002	.0001	88/115 U/L*	25.42	1.51	1.29-1.78
Hemoglobin	-0.253	.0001	13 g/dL (M)/11.5 g/dL (F)	88.13	2.19	1.86-1.78
Lactate dehydrogenase	0.001	.0001	300 U/L†	105.14	3.32	2.64-4.18
Calcium	0.092	.1274	9 or 11 mg/dL‡	28.69	1.77	1.44-2.18
Corrected calcium	0.373	.0001	10 mg/dL	37.59	1.98	1.59-2.46

\*Eighty-eight units per liter used for patients  $\leq$  55 years old at start of treatment and 115 U/L for patients > 55 years old.

†LDH categorized as 1.5 times upper limit of normal.

‡High-risk group defined as < 9 or > 11 mg/dL.

**Πίνακας 1: Memorial Sloan Kettering Cancer Center κριτήρια για το RCC**



**Διάγραμμα 2: Επιβιώσεις των ασθενών σε συνάρτηση με την ομάδα κινδύνου που ανήκουν με βάση τα κριτήρια MSKCC**

Ο ρόλος των ιντερφερονών μελετήθηκε αρκετά και σε ένα άλλο σημαντικό κομμάτι του νεφροκυτταρικού καρκινώματος, στην νεφρεκτομή σε σύγχρονη μεταστατική νόσο και την χρήση της ιντερφερόνης σε αυτή την κατηγορία ασθενών [15]. Στις δύο κύριες μελέτες, μία ευρωπαϊκή και μία αμερικάνικη, φάνηκε το όφελος που έλαβαν οι ασθενείς από την χρήση της ιντερφερόνης σε περιπτώσεις νεφρεκτομών παρά την ύπαρξη μεταστατικής νόσου.

#### *Κλινικά αποτελέσματα της IL-2*

Υπάρχουν τουλάχιστον επτά κλινικές μελέτες φάσης II που αφορούν ένα σύνολο 255 ασθενών και μελέτησαν την χορήγηση υψηλών δόσεων IL-2 σε διαφορετικά σχήματα χορήγησης όσον αφορά στην δοσολογία, στον τρόπο χορήγησης, στην διάρκεια κτλ. Όλες αυτές οι μελέτες εμφάνισαν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αποτελέσματα τόσο όσον αφορά τις πλήρεις απεικονιστικές ανταποκρίσεις (περίπου 5%) όσο και τις μερικές (περίπου 9%) [238] Για το λόγο αυτό ο Αμερικανικός Οργανισμός Φαρμάκων (FDA-Food and Drug

Administration) το 1992 έδωσε την έγκρισή του για χρήση σε ασθενείς πάσχοντες από mRCC.

Έκτοτε πραγματοποιήθηκε ένας μεγάλος αριθμός κλινικών μελετών με βάση την χρήση υψηλών δόσεων (high dose-HD) IL-2 εμφανίζοντας διάφορα ποσοστά ανταποκρίσεων. Προσπαθώντας δε να αξιολογήσουν τις πιθανότητες ανταπόκρισης των ασθενών στη χρήση της IL-2 έγινε στην Αμερική μια μεγάλη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων σε περίπου 1050 ασθενείς [239,240]. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την διαπίστωση πως υπάρχει μια υποομάδα ασθενών οι οποίοι ανταποκρίνονται πλήρως στην χρήση της IL-2 διατηρώντας μακροχρόνια το θεραπευτικό αποτέλεσμα, ακόμα και χωρίς περαιτέρω χορήγηση θεραπείας. Επιπλέον αυτή η προσπάθεια παρακολούθησης βοήθησε στο να αποκτηθούν πολλές κλινικές γνώσεις όσον αφορά στην χρήση της IL-2 χωρίς όμως να προσθέσει ουσιαστικά καμία περαιτέρω γνώση για τους μηχανισμούς που οδηγούν σε αυτού του είδους τα θεραπευτικά αποτελέσματα.

Λόγω του γεγονότος ότι σχήματα με HD IL-2 συνοδεύονταν από ιδιαίτερα σημαντική τοξικότητα διαμορφώθηκαν και εναλλακτικοί τρόποι χορήγησης της IL-2 σε χαμηλότερες δόσεις (LD-low dose). Σε διάφορες μελέτες σύγκρισης των δύο σχημάτων φάνηκε ότι η αποτελεσματικότητα ήταν περίπου η ίδια τουλάχιστον όσον αφορούσε τα σχετικά βραχυπρόθεσμα θεραπευτικά αποτελέσματα [241].

#### ο Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΣΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ (ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ)

##### Εισαγωγή

Με τα αποτελέσματα στην θεραπευτική του καρκίνου του νεφρού να είναι ανύπαρκτα ουσιαστικά από άποψη χημειοθεραπείας και ιδιαίτερος πτωχά όσον αφορά στην ανοσοθεραπεία το ερευνητικό πεδίο στράφηκε προς εντελώς νέα κατεύθυνση.

Η όλη ιδέα ήταν να βρεθούν μικρά μόρια τα οποία θα μπορούσαν να επέμβουν στο καρκινικό κύτταρο με μια προσέγγιση σαφώς πιο στοχευτική από ότι η κλασική χημειοθεραπεία. Μόρια τα οποία θα μπορούσαν να πετύχουν τα μέγιστα θεραπευτικά αποτελέσματα με τις μικρότερες δυνατές παρενέργειες, κάτι που ακούγεται ιδιαίτερα λογικό και ελκυστικό αφού ο σκοπός είναι η καταστροφή μόνο των νεοπλασματικών κυττάρων και όχι των υπολοίπων κυττάρων του οργανισμού που ενδεχομένως να βρίσκονται σε φάση φυσιολογικού πολλαπλασιασμού κατά την χορήγηση της χημειοθεραπείας.

## I. Αναστολείς Τυροσινικής Κινάσης (TKIs)

### (α) Sunitinib

Το sunitinib malate (SU11248, Sutent<sup>®</sup>) προέκυψε από μια ερευνητική προσπάθεια σχεδιασμού φαρμάκων τα οποία θα είχαν πολύ συγκεκριμένους στόχους δράσης και κυρίως τους υποδοχείς τυροσινικών κινασών λόγω της σημαντικότητας τους σε πολλαπλές νεοπλασίες.

Το sunitinib, λόγω των πολύ σημαντικών αποτελεσμάτων όπως θα δούμε στην πορεία, πήρε έγκριση από τον FDA το 2006 για την θεραπευτική αντιμετώπιση του προχωρημένου νεφροκυτταρικού καρκινώματος. Σχεδόν σύγχρονα ήλθε και η έγκριση από τον αντίστοιχο ευρωπαϊκό οργανισμό (EMA- European Medicines Agency). Σχεδόν την ίδια χρονική περίοδο το sunitinib πήρε ακόμα μια έγκριση και από τους δυο αυτούς οργανισμούς που αφορούσε την χρήση του στους στρωματικούς όγκους του πεπτικού συστήματος (GIST-gastrointestinal stromal tumors).

#### *Προκλινικά δεδομένα του sunitinib*

Το sunitinib είναι ένα μικρό μόριο με μοριακό βάρος 398,48 και τύπο  $C_{22}H_{27}FN_4O_2$ . Το άλας του το οποίο στην ουσία αποτελεί την δραστική μορφή του μορίου από κλινικής πλευράς είναι το L-μαλεϊκό με μοριακό βάρος 532,56 και την απίστευτη ονομασία (Z)-N-[2-(diethylamino)ethyl]-5-[(5-fluoro-2-oxo-1,2-dihydro-3h-indol-3-ylidene)methyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxamide(S)-2-hydroxysuccinate.

Το sunitinib δοκιμάστηκε σε περισσότερες από 80 κινάσες και φάνηκε να έχει ιδιαίτερα ισχυρή ανασταλτική δράση σε μια συγκεκριμένη κατηγορία που περιλαμβάνει μερικά μέλη από τους πιο κύριους δρόμους επαγωγής σήματος των περισσότερων νεοπλασμάτων, όπως: VEGFRs 1 & 2, PDGFRs  $\alpha$  &  $\beta$ , stem cell factor receptor (KIT), colony stimulating factor receptor 1 (CSFR1), Fms-like tyrosine kinase 3 receptor (FLT-3) και τον glial cell-line derived neurotrophic factor receptor.

Η ικανότητα του να μπλοκάρει αυτούς τους υποδοχείς αποδείχτηκε σε αρκετές ερευνητικές εργασίες [242,243,244]. Οι φαρμακοκινητικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν απέδειξαν ότι το sunitinib μεταβολίζεται από το κυτόχρωμα P450 (CYP) 3A4 σε ένα κύριο ενεργό μεταβολίτη, τον SU12662, με όμοια ανασταλτική ισχύ με τον SU11248.

Τα in vivo πειραματικά δεδομένα σχετικά με την ανασταλτική δράση του sunitinib ήταν κάτι παραπάνω από ικανοποιητικά, αφού κατάφεραν να προκαλέσουν σημαντικές υφέσεις σε μια σειρά νεοπλασμάτων σε ποντίκια, όπως για παράδειγμα νεφρού, εντέρου, μαστού, πνεύμονα

και προστάτη. Επίσης σε πειράματα που σκοπό είχαν να μελετήσουν την αναστολή της αγγειογένεσης φάνηκε πως το sunitinib είχε την ικανότητα να μειώνει την μικροαγγειακή πυκνότητα σε ένα ποσοστό μεγαλύτερο του 30%.

#### *Μελέτες φάσης 1: ασφάλεια και δραστικότητα του sunitinib*

Η φαρμακοκινητική και η ασφάλεια χορήγησης του sunitinib διερευνήθηκε αρκετά στις μελέτες φάσης 1 που πραγματοποιήθηκαν. Οι δοσολογίες που δοκιμάστηκαν ήταν από 25 έως 150 mg, μια φορά ημερησίως και σε τρία διαφορετικά δοσολογικά σχήματα: δυο εβδομάδες χορήγηση και μια διακοπή, δυο εβδομάδες χορήγηση και δυο διακοπή και τέλος τέσσερις εβδομάδες χορήγησης ακολουθούμενες από 2 εβδομάδες διακοπή.

Οι πιο συχνές παρενέργειες που παρατηρήθηκαν στις μελέτες φάσης 1 είχαν να κάνουν με την κόπωση, ναυτία, έμετο, διάρροια, ουδετεροπενία, θρομβοπενία και αποχρωματισμό δέρματος και τριχωτού. Η σοβαρότητα των παρενεργειών, όπως ήταν αναμενόμενο, ήταν δόσοεξαρτώμενη, ενώ το φαινόμενο της κόπωσης ήταν σε άμεση συνάρτηση με τις περιόδους εντός και εκτός θεραπείας.

Η μέγιστη ανεκτή δόση (MTD-maximum tolerated dose) που προέκυψε από τις μελέτες φάσης 1 ήταν τα 50 mg ημερησίως. Η συγκέντρωση στο πλάσμα του sunitinib με αυτή τη δοσολογία ήταν πάνω από 50 ng/ml η οποία ήταν αρκετή για να μπορέσει να αναστείλει τους υποδοχείς και επομένως να οδηγήσει σε ύφεση της νόσου.

Με βάση όλα αυτά τα πρώιμα δεδομένα αποφασίστηκε η δοσολογία και το θεραπευτικό σχήμα που θα χρησιμοποιούνταν στα επόμενα βήματα, τις μελέτες φάσης 2 και 3. Παράλληλα μελετήθηκαν και άλλα δοσολογικά σχήματα, με επικρατέστερο αυτό των 37,5 mg ημερησίως χωρίς όμως διακοπή στην χορήγηση.

Επιπλέον πληροφορίες σχετικά με την φαρμακοκινητική που αφορούσαν το sunitinib και προέκυψαν από τις μελέτες φάσης 1 αφορούσαν την σχέση της συγκέντρωσης του φαρμάκου με την τροφή. Φάνηκε λοιπόν ότι δεν υπήρχαν ιδιαίτερες αλληλεπιδράσεις με την λήψη ή όχι τροφής από τους ασθενείς αφού και η υψηλότερη συγκέντρωση του sunitinib και του μεταβολίτη του επιτυγχάνετο 6 και 12 ώρες μετά την λήψη χωρίς να επηρεάζεται από τα γεύματα. Ο χρόνος ημίσειας ζωής και για τους δύο παράγοντες ήταν 40 έως 60 και 80 έως 110 ώρες αντίστοιχα.

#### *Μελέτες φάσης 2: ασφάλεια και δραστικότητα του sunitinib σε ασθενείς που απέτυχαν στην χρήση κυτοκινών*

Υπάρχουν δύο μελέτες φάσης 2 οι οποίες μελέτησαν το sunitinib σε ασθενείς με mRCC με αποτυχία στην θεραπεία με κυτοκίνες. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το γεγονός ότι επειδή και οι

δυο είχαν περίπου τον ίδιο σχεδιασμό, ήταν αρκετά εύκολο στη συνέχεια να γίνει μια συνολική ανάλυση των δεδομένων.

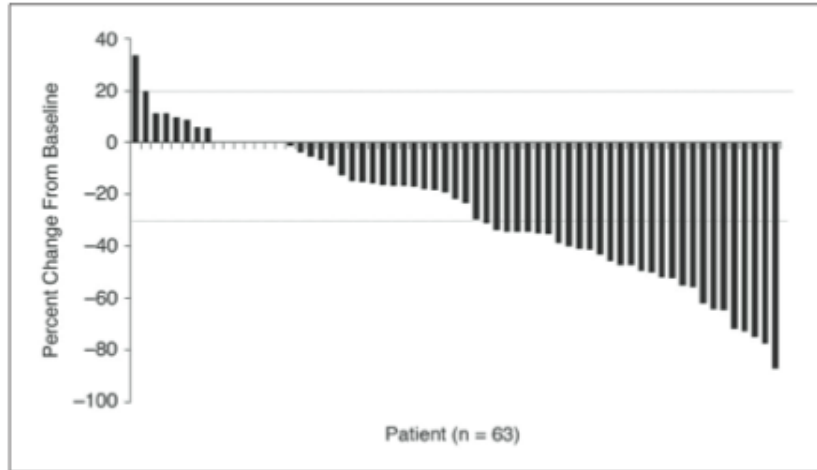
Και στις δύο μελέτες, απαραίτητη προϋπόθεση ήταν να υπάρχει μετρήσιμη μεταστατική νόσος και βέβαια να υπάρχει υποτροπή μετά από θεραπεία με κυτοκίνη. Στην μία από τις δύο μελέτες [245] μπορούσε να υπάρχει οποιοσδήποτε ιστολογικός τύπος καρκίνου του νεφρού, ενώ στη δεύτερη [246] ο ιστολογικός τύπος έπρεπε να είναι υποχρεωτικά νεφροκυτταρικός. Στην ίδια μελέτη, που είχε περισσότερο περιοριστικά κριτήρια θα έπρεπε υποχρεωτικά να υπάρχει απεικόνιση της υποτροπής και να έχει προηγηθεί νεφρεκτομή.

Και στις δύο μελέτες χρησιμοποιήθηκαν τα 50 mg στο τελικώς καθιερωμένο σχήμα 4 εβδομάδων χορήγησης θεραπείας και 2 εβδομάδων διακοπής μέχρι υποτροπής, μη αποδεκτής τοξικότητας ή επιθυμίας του ασθενούς προς διακοπή.

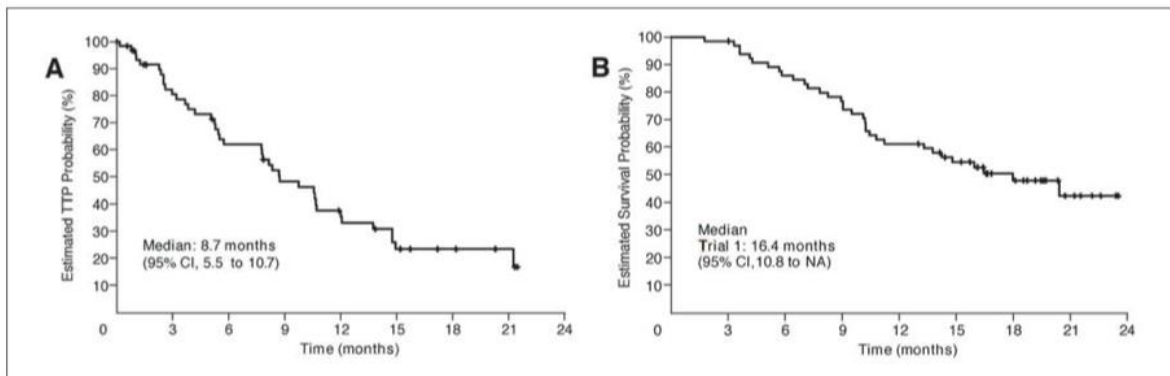
Τα κύρια καταληκτικά σημεία των δυο αυτών μελετών ήταν το ποσοστό ανταπόκρισης στην θεραπεία (ORR-objective response rate). Για την μελέτη 1, δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ήταν ο χρόνος μέχρι την υποτροπή (TTP-time to progression). Για την μελέτη 2 ήταν η χωρίς υποτροπή επιβίωση (PFS-progression free survival) ενώ και για τις δυο μελέτες, δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ήταν η συνολική επιβίωση (OS-overall survival) και βέβαια η ασφάλεια.

#### - Αποτελεσματικότητα

Στην πρώτη μελέτη φάσης 2, συμμετείχαν 63 ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του νεφρού (87% διαυγοκυτταρικού τύπου), που λάμβαναν θεραπεία κατά μέσο όρο για 9 μήνες (με όρια από <1 έως 24). Το 40% αυτών των ασθενών εμφάνισε ύφεση της νόσου υπό θεραπεία, ενώ ένα επιπλέον 27% σταθεροποίηση αυτής (διάγραμμα 3). Το διάστημα TTP για αυτή τη μελέτη ήταν περίπου 8,7 μήνες ενώ η συνολική επιβίωση έφτασε τους 16,4 μήνες (διάγραμμα 4). Στη δεύτερη μελέτη, ο αριθμός των ασθενών ήταν σαφώς μεγαλύτερος και πολύ περισσότερο ομοιογενής αφού όλοι οι συμμετέχοντες είχαν τον ίδιο ιστολογικό τύπο, δηλαδή κλασικό νεφροκυτταρικό καρκίνωμα (διαυγοκυτταρικού τύπου).



Διάγραμμα 3: RECIST ανταποκρίσεις των ασθενών



Διάγραμμα 4: χρόνος μέχρι την υποτροπή (A) και συνολική επιβίωση (B)

Στη δεύτερη μελέτη, πραγματοποιήθηκε και μία συνολική ανάλυση των δεδομένων που αφορούσαν το σύνολο των ασθενών και των δύο μελετών. Τα ποσοστά ανταπόκρισης στην θεραπεία κυμάνθηκαν περίπου στα ίδια επίπεδα όπως φαίνεται και στον πίνακα 3 που συνοψίζει αποτελέσματα και από τις δύο αυτές μελέτες.

Απάντηση, n (%)	Μελέτη 1 (%)	Μελέτη 2 (%)	Συνδυασμός (%)
Συνολική απάντηση	25 (40)	46 (44)	71 (42)
Πλήρης ύφεση	0	1 (1)	1 (<1)
Μερική ύφεση	25 (40)	45 (43)	70 (42)
Σταθεροποίηση			
≥ 3 μήνες	17 (27)	23 (22)	40 (24)
Υποτροπή ή σταθεροποίηση της νόσου			
για ≤ 3 μήνες	21 (33)	36 (34)	57 (34)

Πίνακας 2: Συνδυασμένα αποτελέσματα και από τις δυο μελέτες.

Το πρώτο νούμερο αντιστοιχεί σε αριθμό ασθενών και το δεύτερο (σε παρένθεση) σε ποσοστό %.

Συνολικά η ανταπόκριση (ORR) κυμάνθηκε στο 42% ενώ το μέσο διάστημα PFS ήταν 8,2 μήνες (95% CI: 7,8-10,4).

Από τα δεδομένα και των δύο μελετών φάνηκε πως οι ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία είχαν σαφώς και μεγαλύτερο διάστημα χωρίς πρόοδο νόσου. Για παράδειγμα το μέσο διάστημα PFS για τους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν κυμάνθηκε στους 14,8 μήνες σε σχέση με τους 7,9 μήνες των ασθενών που εμφάνισαν σταθεροποίηση της νόσου για περισσότερο από 3 μήνες. Οι ασθενείς οι οποίοι δεν ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία με sunitinib είχαν πολύ μικρότερο PFS το οποίο κυμάνθηκε στους 2,9 μήνες.

Και οι δύο αυτές δημοσιεύσεις, ούσες από τις πρώτες που προσπάθησαν να διερευνήσουν την αποτελεσματικότητα του sunitinib, ασχολήθηκαν με διάφορους παράγοντες προσπαθώντας να προβλέψουν την πιθανότητα απάντησης στην θεραπεία όπως θα δούμε και στις επόμενες παραγράφους.

#### - Δεδομένα ασφαλείας

Τα δεδομένα ασφαλείας ήταν όμοια και στις δύο μελέτες και στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν σχετικά εύκολα να αντιμετωπιστούν κυρίως με μείωση ή καθυστέρηση του δοσολογικού σχήματος ή απλές ιατρικές παρεμβάσεις.

Συνολικά και στις δύο μελέτες από τις πιο συχνές παρενέργειες ήταν η κόπωση ενώ ακολουθούσαν το σύνδρομο παλαμών-πελμάτων, η υπέρταση και η διάρροια.

Από την πλευρά των εργαστηριακών παρενεργειών πιο συχνά παρατηρήθηκε λεμφοκυτταροπενία, ουδετεροπενία, θρομβοπενία και λιγότερο συχνά αναιμία. Παρατηρήθηκαν επίσης υψηλές τιμές λιπάσης η οποία όμως δε συνοδεύτηκε από πλευράς συμπτωμάτων ή κλινικής εικόνας με παγκρεατίτιδα.

Αξίζει να αναφέρουμε ότι ενώ στην πρώτη μελέτη δεν υπήρξαν ασθενείς που βγήκαν από την μελέτη λόγω παρενεργειών, στην μελέτη 2 είχαμε την αναγκαστική διακοπή του φαρμάκου σε 12 ασθενείς λόγω παρενεργειών και κατ' επέκταση την απομάκρυνση τους από την κλινική μελέτη.

#### - Βιοδείκτες απάντησης στο sunitinib

Στην πρώτη μελέτη φάσης 2, γινόταν βάσει πρωτόκολλου η συλλογή αίματος με σκοπό την ανίχνευσή βιολογικών παραμέτρων που θα μπορούσαν να προβλέψουν μια πιθανή απάντηση των ασθενών στη θεραπεία με το sunitinib. Αυτό που ουσιαστικά μελετήθηκε ήταν τα



επίπεδα στο πλάσμα του VEGF και του sVEGFR2 στην έναρξη της θεραπείας και στο τέλος του 1<sup>ου</sup> κύκλου [247].

Συνοπτικά λοιπόν θα αναφέρουμε ότι φάνηκε από τα αποτελέσματα αυτής της εργαστηριακής ανάλυσης ότι τα επίπεδα του VEGF αυξάνονταν περίπου τρεις φορές στο τέλος του κύκλου θεραπείας σε σχέση με την τιμή εκκίνησης στο 44% των ασθενών. Από την άλλη, τα επίπεδα του sVEGFR2 μειώνονταν περίπου 30% στο 91% των ασθενών ενώ στο σύνολο τουλάχιστον κατά 20%.

*Μελέτη φάσης 3: έγκριση του sunitinib σαν πρώτης γραμμής θεραπεία στο μεταστατικό νεφροκυτταρικό καρκίνωμα*

Μετά τα ιδιαίτερα επιτυχημένα αποτελέσματα των δυο μελετών στην φάση 2 που περιγράψαμε παραπάνω, ήταν λογικό να ακολουθήσει και η μελέτη φάσης 3 με σκοπό την έγκριση του φαρμάκου για την αντιμετώπιση του μεταστατικού νεφρικού καρκινώματος [248].

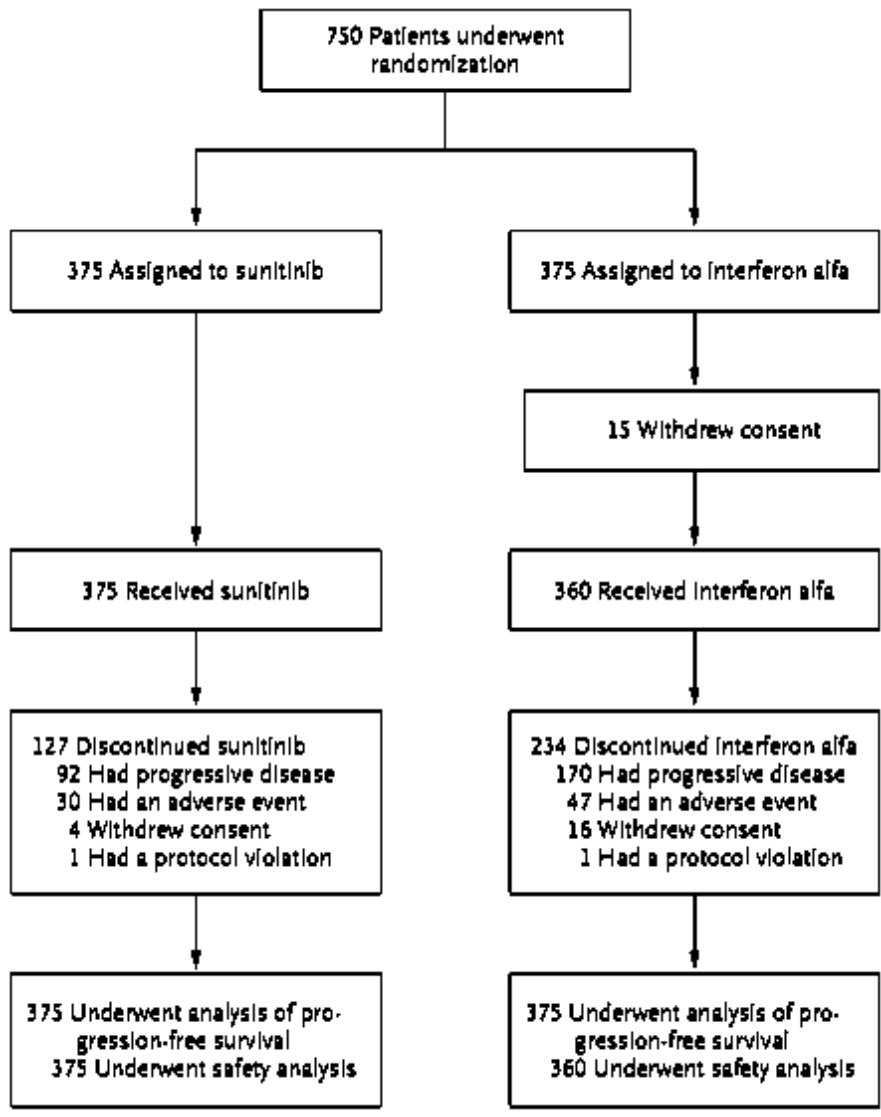
Σκοπός της μελέτης ήταν να συγκριθεί το sunitinib στο συνηθισμένο δοσολογικό σχήμα, με το golden standard μέχρι τότε στην θεραπευτική του μεταστατικού νεφρικού καρκινώματος, την ιντερφερόνη-α. Το δοσολογικό σχήμα για την κυτοκίνη ήταν 3 MU (MU: million units – εκατομμύρια μονάδες) την πρώτη εβδομάδα, 6 MU τη δεύτερη εβδομάδα και 9 MU στη συνέχεια. Η χορήγηση γινόταν τρεις εβδομαδιαίως.

Συνολικά 750 ασθενείς συμμετείχαν στην μελέτη έγκρισης, 375 σε κάθε σκέλος. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν στην μελέτη απεικονίζονται στον πίνακα 4 ενώ στο διάγραμμα 5 απεικονίζεται ο σχεδιασμός της μελέτης.

Variable	Sunitinib (N = 375)	Interferon Alfa (N = 375)
Sex — no. (%)		
Male	267 (71)	269 (72)
Female	108 (29)	106 (28)
Median age — yr (range)	62 (27–87)	59 (34–85)
ECOG performance status — no. (%)		
0	231 (62)	229 (61)
1	144 (38)	146 (39)
Previous nephrectomy — no. (%)	340 (91)	335 (89)
Previous radiation therapy — no. (%)	53 (14)	54 (14)
Common sites of metastases — no. (%)		
Lung	292 (78)	298 (79)
Liver	99 (26)	90 (24)
Bone	112 (30)	112 (30)
Lymph nodes	218 (58)	198 (53)
No. of disease sites — no. (%)		
1	55 (15)	72 (19)
2	106 (28)	112 (30)
≥3	214 (57)	191 (51)
MSKCC risk factors — no. (%)†		
0 (favorable)	143 (38)	121 (34)
1–2 (intermediate)	209 (56)	212 (59)
≥3 (poor)	23 (6)	25 (7)

**Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν στην μελέτη έγκρισης του sunitinib**

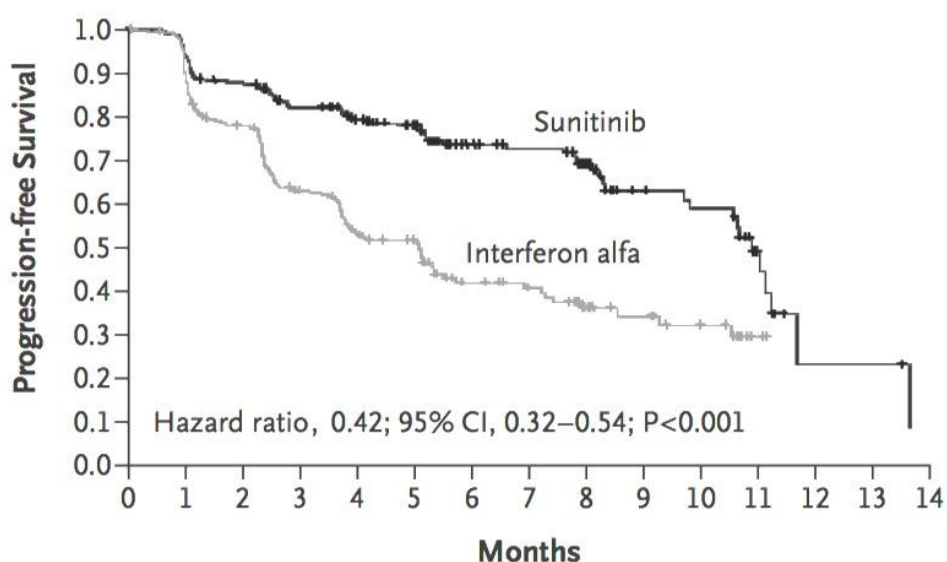
Το κύριο καταληκτικό σημείο αυτής της μελέτης το ελεύθερο επιδεινώσεως νόσου διάστημα PFS. Δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ήταν το κλάσμα ανταπόκρισης απεικονιστικά (με βάση τα RECIST κριτήρια), η συνολική επιβίωση OS καθώς και το προφίλ ασφαλείας της προτεινόμενης νέας θεραπευτικής αγωγής.



Διάγραμμα 4: Σχεδιασμός της μελέτης έγκρισης του sunitinib

Στους παρακάτω πίνακες και σχεδιαγράμματα φαίνονται τα αποτελέσματα αυτής της φάσης 3 μελέτης η οποία πέτυχε σε όλα τα καταληκτικά σημεία της, κύρια και δευτερεύοντα.

Το μέσο λοιπόν διάστημα PFS ήταν 11 μήνες για το sunitinib σε σχέση με τους 5 μήνες της ιντερφερόνης-α ενώ το συνολικό κλάσμα ανταπόκρισης άγγιζε το 32% για το πειραματικό φάρμακο σε σχέση με την μέχρι τότε 1<sup>η</sup> γραμμή που ήταν 6%. Ακόμα όμως και στο κομμάτι της συνολικής επιβίωσης που αποτελεί την παγίδα για τις περισσότερες κλινικές μελέτες, τα αποτελέσματα ήταν εξίσου ενθαρρυντικά. Η συνολική επιβίωση για το σκέλος του sunitinib ήταν 26,4 μήνες σε σχέση με τους 21,8 του σκέλους ελέγχου. Στο διάγραμμα 6 παρουσιάζονται στοιχεία που αφορούν την αξιολόγηση του κλινικού οφέλους από ανεξάρτητη επιτροπή ενώ στον πίνακα 5 αναδεικνύεται το γεγονός του συνολικού κλινικού οφέλους σε όλες τις υποκατηγορίες των ασθενών. Στον πίνακα 6 αναφέρονται οι κατηγορίες των ασθενών με βάση διάφορους παράγοντες και συσχετισμός με το όφελος.

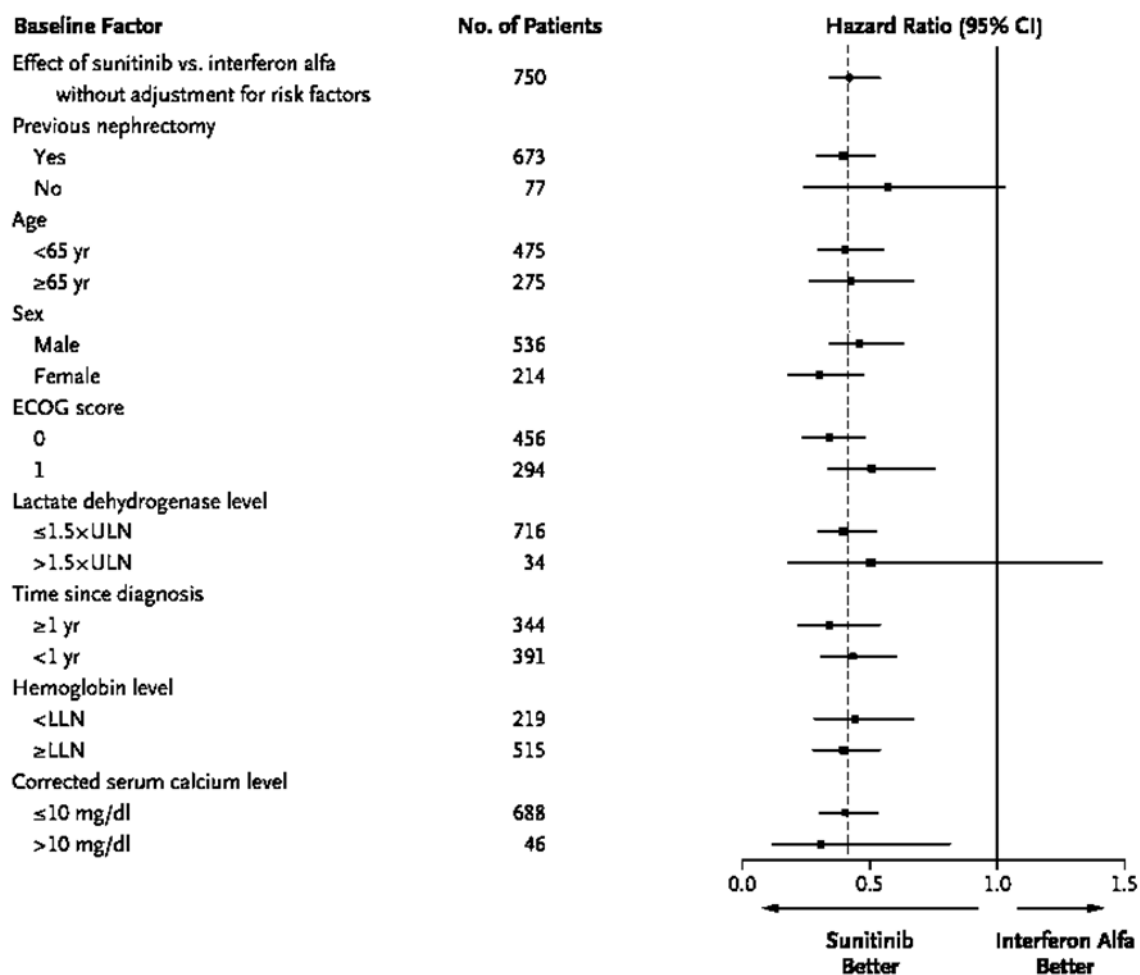


Διάγραμμα 6: Διάστημα PFS στην μελέτη φάσης 3 του sunitinib

Όπως ήταν λοιπόν φυσικό, με βάση αυτά τα αποτελέσματα, το sunitinib, με το εμπορικό όνομα Sutent πήρε την έγκριση σαν θεραπεία 1<sup>ης</sup> γραμμής για μεταστατικό νεφρικό καρκίνωμα, διαυγοκυτταρικού τύπου.

Response	Independent Central Review <sup>†</sup>		Investigator Assessment	
	Sunitinib (N=335)	Interferon Alfa (N=327)	Sunitinib (N=374)	Interferon Alfa (N=373)
	<i>no. of patients (%)</i>			
Objective response <sup>‡</sup>	103 (31)	20 (6)	137 (37)	33 (9)
Complete response	0	0	1 (<1)	0
Partial response	103 (31)	20 (6)	136 (36)	33 (9)
Stable disease	160 (48)	160 (49)	176 (47)	213 (57)
Progressive disease or disease could not be evaluated	72 (21)	147 (45)	61 (16)	127 (34)

Πίνακας 5: Ανταπόκριση με βάση τα RECIST κριτήρια από δύο διαφορετικά κέντρα



Πίνακας 6: Κατηγοριοποίηση των ασθενών με βάση διάφορους παράγοντες και συσχετισμός με το όφελος

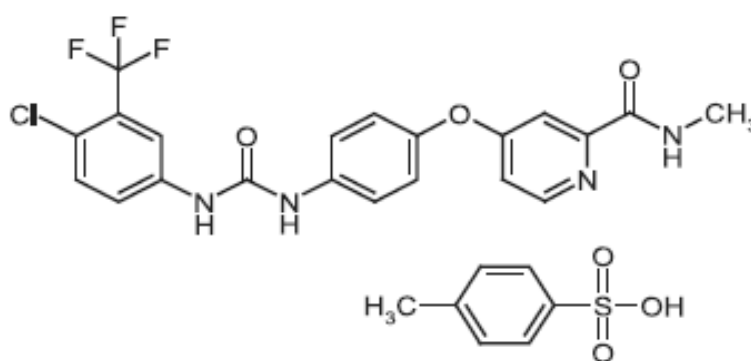
## (β) Sorafenib

Το sorafenib (BAY 43-9006), είναι επίσης ένα νεο μικρό μόριο, αναστολέας της κατηγορίας των RTKIs με ιστορία σύγχρονη με το sunitinib αλλά με διαφορετική εξέλιξη στην πορεία όπως θα δούμε στη συνέχεια.

Το sorafenib ήταν ένα ακόμα φάρμακο που πήρε έγκριση για την αντιμετώπιση του μεταστατικού καρκίνου του νεφρού αφού στις μελέτες του όπως θα δούμε στη συνέχεια κατάφερε να αποδείξει βελτίωση του διαστήματος PFS χωρίς όμως σημαντικές απεικονιστικές ανταποκρίσεις.

### Προκλινικά δεδομένα

Το sorafenib (Nexavar<sup>®</sup>) είναι ένα άλας με MB = 464.825 (εικόνα 18) το οποίο αναπτύχθηκε από την συνεργασία της Bayer με την Onyx. Η βιοδιαθεσιμότητά του είναι από 40-50% και μειώνεται σημαντικά με τα λιπαρά γεύματα. Η ημίσεια ζωή του τοποθετείται μεταξύ των 25-48 ωρών ενώ ο μεταβολισμός του περιλαμβάνει το σύστημα του κυτοχρώματος P450.



Εικόνα 58: Sorafenib

Η δραστηριότητα του sorafenib ελέγχθηκε με διάφορα πειραματικά δεδομένα σε πειράματα με ποντίκια και σε διάφορους τύπους καρκίνου. Αναλύσεις απέδειξαν την δοσοεξαρτώμενη δραστηριότητά του ενώ η μελέτη της μικροαγγειακής πυκνότητας ανέδειξε τον αντι-αγγειογενετικό χαρακτήρα του μορίου. Επίσης υπήρχαν ισχυρά πειραματικά δεδομένα που απεκάλυπταν και αποπτωτικές και νεκρωτικές δραστηριότητες του sorafenib σε κυτταρικό επίπεδο.

Η δραστηριότητα του sorafenib μελετήθηκε και πιο συγκεκριμένα στον καρκίνο του νεφρού σε μοντέλα μοσχευμάτων (ορθότοπα και έκτοπα), όπου φάνηκε να έχει ανασταλτικά φαινόμενα τόσο στο μέγεθος του όγκου όσο και στην αγγείωσή του. Αυτό συνέβαινε ακόμα και με την χρήση χαμηλών δόσεων της τάξης των 15mg/kg ημερησίως.

Το αποτέλεσμα της δραστηριότητας του sorafenib, οφείλεται στην πολλαπλή ανασταλτική δράση που έχει αυτό το μόριο σε διάφορους μοριακούς δρόμους. Ενδεικτικά θα αναφέρουμε ότι το sorafenib μπορεί να αναστείλει: CRAF, BRAF & mtBRAF, KIT, FLT-3, VEGFR1-2-3, PDGFRβ.

### *Μελέτες φάσης 1*

Όπως είδαμε και στις παραπάνω παραγράφους, τα πειραματικά δεδομένα για την δραστηριότητα του sorafenib υπήρχαν, άρα το επόμενο βήμα ήταν η πραγματοποίηση κλινικών μελετών φάσης 1.

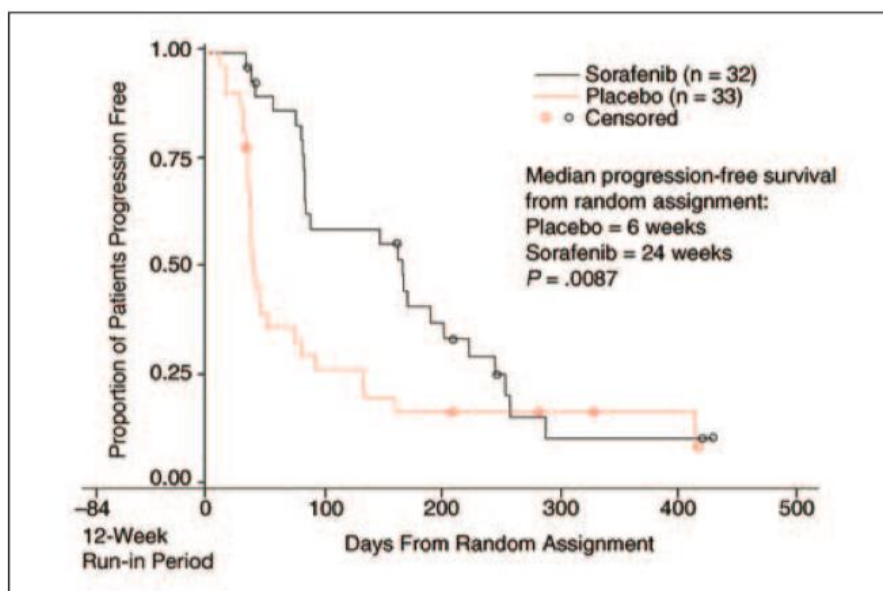
Έγιναν τουλάχιστον τέσσερις κλινικές μελέτες φάσης 1 με το sorafenib οι οποίες περιελάμβαναν διάφορες νεοπλασίες και μεταξύ αυτών και RCC(13-16). Τα αποτελέσματα αυτών των τεσσάρων κλινικών δοκιμών βοήθησαν στον καθορισμό της MTD για το sorafenib και η οποία καθορίστηκε στα 800 mg ημερησίως, διαμοιρασμένα κατά προτίμηση σε δυο δόσεις ημερησίως αφού φάνηκε ότι ρυθμίζονται ακόμα καλύτερα οι DLT παρενέργειες (DLT-dose limiting toxicities). Οι κύριες παρενέργειες είχαν να κάνουν με προβλήματα κόπωσης, διάρροιας, υπέρτασης και συνδρόμου παλαμών-πελμάτων.

### *Μελέτες φάσης 2*

Μετά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα των μελετών φάσης 1, η φάση 2 ήταν το επόμενο βήμα. Η μελέτη φάσης 2 που πραγματοποιήθηκε για το sorafenib, ήταν μια τυχαιοποιημένη μελέτη διακοπής (RDT-randomized discontinuation trial). Το χαρακτηριστικό αυτών των μελετών είναι ότι αρχικά το φάρμακο το παίρνουν όλοι οι ασθενείς. Στην συνέχεια γίνεται έλεγχος για να διαπιστωθεί ποιοί από τους συμμετέχοντες ωφελήθηκαν. Οι ασθενείς που ευνοήθηκαν από την χρήση του φαρμάκου το συνεχίζουν έτσι και αλλιώς. Οι ασθενείς που υποτροπίασαν τυχαιοποιούνται να λάβουν το φάρμακο και πάλι ή να πάρουν placebo. Αυτοί οι τύποι μελετών θεωρητικά φαίνεται να βοηθούν στο να ταυτοποιηθούν με ευκολότερο τρόπο ομάδες ασθενών που έχουν μεγάλη πιθανότητα να ωφεληθούν από την προτεινόμενη θεραπευτική αγωγή.

Στην μελέτη συμμετείχαν 202 ασθενείς συνολικά οι οποίοι λάμβαναν 800 mg sorafenib ημερησίως για τις πρώτες 12 εβδομάδες μέχρι την πρώτη αξιολόγηση της ανταπόκρισης στην θεραπεία. Σε αυτή την φάση έφτασαν συνολικά 192 ασθενείς (οι υπόλοιποι διέκοψαν πρόωρα λόγω παρενεργειών) από τους οποίους 36% εμφάνισαν μερική ύφεση της νόσου, 34% σταθεροποίηση και 25% επιδείνωση. Από αυτό το σημείο και πέρα η μελέτη συνεχίστηκε με τον τρόπο που αναλύσαμε προηγουμένως.

Αναλύοντας τα συνολικά αποτελέσματα της μελέτης, φάνηκε πως το σκέλος των ασθενών που λάμβαναν sorafenib μετά την πρώτη αξιολόγηση (και κατά συνέπεια ωφελήθηκε από αυτό) το μέσο PFS ήταν 24 εβδομάδες σε σχέση με τις 6 εβδομάδες της ομάδας placebo ( $p=0.0087$ ) (διάγραμμα 7) [249]. Αυτό το αποτέλεσμα ήταν βασικό για να δώσει ώθηση στο sorafenib και να ξεκινήσει η μελέτη φάσης III.



Διάγραμμα 7: Μέση τιμή PFS από την στιγμή της τυχαιοποίησης

OS Analysis and Date	Description	No. of Events	Median OS (months)		HR	95% CI	P
			Sorafenib	Placebo			
First interim OS analysis (May 2005)	Before cross over	220	Not yet reached	14.7	0.71	0.54 to 0.94	.015
Second interim OS analysis (November 2005)	6 months after cross over	367	19.3	15.9	0.77	0.63 to 0.95	.015
Final OS analysis (September 2006)	16 months after cross over	561	17.8	15.2	0.88	0.74 to 1.04	.146
Placebo-censored secondary OS analysis (September 2006*)	OS data were censored in cross-over patients randomly assigned to placebo known to be alive to minimize post-cross-over effect	424	17.8	14.3	0.78	0.62 to 0.97	.029†

Abbreviations: TARGET, Treatment Approaches in Renal Cancer Global Evaluation Trial; OS, overall survival; HR, hazard ratio.

\*Placebo data are from June 2005.

†Statistically significant.

Πίνακας 7: Αποτελέσματα των αναλύσεων που αφορούσαν την συνολική επιβίωση των ασθενών στην μελέτη TARGET

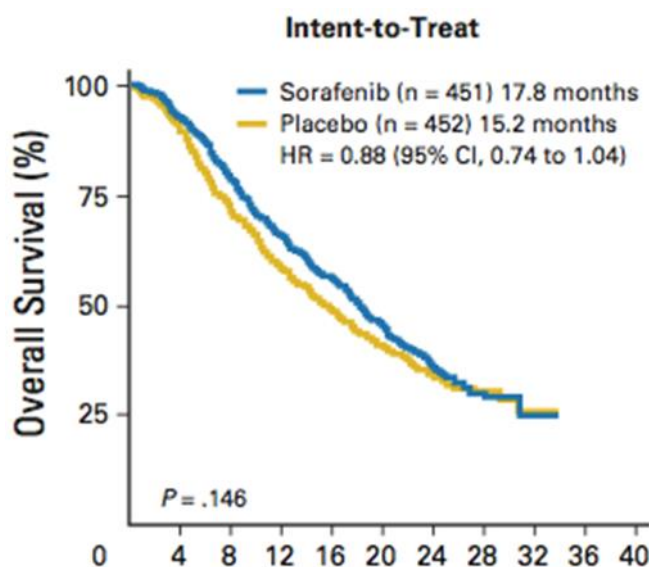
### Μελέτες φάσης 3

Η βασικότερη μελέτη φάσης 3 του sorafenib (που ήταν άλλωστε και η μελέτη έγκρισης του ή για να είμαστε πιο ακριβείς μέρος της) περιελάμβανε 902 ασθενείς διαμοιρασμένους σε δυο σκέλη, sorafenib vs. placebo. Κύριο καταληκτικό σημείο της μελέτης TARGET ήταν η

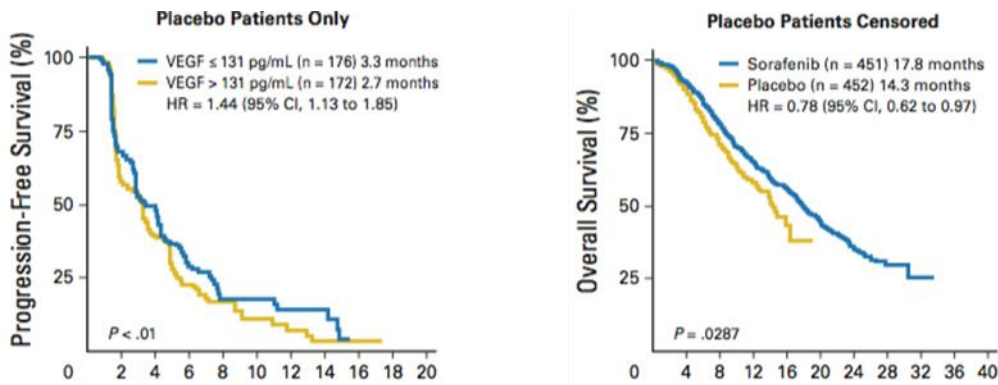


συνολική επιβίωση ενώ δευτερεύον ήταν το PFS. Η πρώτη ενδιάμεση ανάλυση που πραγματοποιήθηκε ανέδειξε μια σημαντική βελτίωση του PFS vs. placebo (24 vs. 12 εβδομάδες, HR=0.44,  $p < 0.000001$ ). Από αυτό το σημείο και μετά ήταν λογικό και αναμενόμενο να επιτραπεί η μετάβαση των ασθενών στο πειραματικό σκέλος της μελέτης. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα να περάσουν στο σκέλος του sorafenib ακόμα 216 ασθενείς (από τους 452 του πρώτου μέρους της μελέτης που έπαιρναν placebo). Η μέση συνολική επιβίωση που διαμορφώθηκε με αυτό το τρόπο ήταν 19.3 μήνες για το ερευνητικό σκέλος έναντι 15.9 του placebo (HR=0.74, 95% CI: 0.63, 0.95;  $p = 0.0015$ ). Στον πίνακα 7 αναλύονται συνολικά τα αποτελέσματα συνολικής επιβίωσης που αφορούσαν τους ασθενείς της μελέτης TARGET. Τα αποτελέσματα απεικονίζονται οπτικά στα διαγράμματα 8 και 9.

Εύκολα μπορεί να κατανοήσει κανείς πως τα παραπάνω αποτελέσματα μπορεί να ήταν ικανοποιητικά και ικανά να δώσουν την πρώτη έγκριση στο sorafenib, αλλά από την άλλη εύκολα θα μπορούσε κανείς να σταθεί στο γεγονός πως δεν έγινε σύγκριση με το golden standard της εποχής που ήταν η ιντερφερόνη.



Διάγραμμα 8: Συνολική επιβίωση στο σύνολο των ασθενών



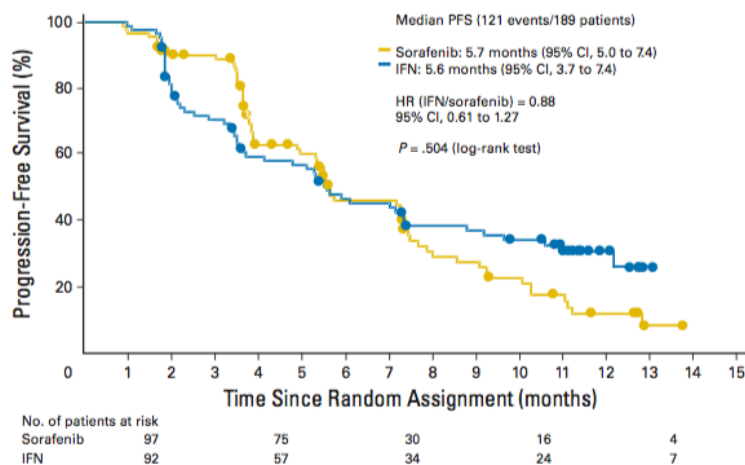
Διάγραμμα 9: Συνολική επιβίωση με βάση τον διαχωρισμό των υποομάδων στην crossover διαδικασία

### Ιντερφερόνη vs. Sorafenib

Αυτή η μελέτη φάσης 2 σκοπό είχε να μελετήσει ασθενείς που δεν είχαν πάρει καμία θεραπεία και έτσι θα μπορούσε να συγκριθεί η αποτελεσματικότητα του sorafenib με την κύρια θεραπεία μέχρι τότε που ήταν η ανοσοθεραπεία με ιντερφερόνη-α [250].

Στα δύο σκέλη διαμοιράστηκαν 189 ασθενείς με κύριο καταληκτικό σημείο το διάστημα PFS. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι και σε αυτή την μελέτη επιτρεπόταν το crossover των ασθενών μετά την πρόοδο νόσου τους στο σκέλος της ιντερφερόνης.

Δυστυχώς η μελέτη δεν κατάφερε να αποδείξει την ανωτερότητα του sorafenib στερώντας του έτσι την δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί σαν θεραπεία πρώτης γραμμής για το μεταστατικό νεφρικό καρκίνωμα. Στο διάγραμμα 10 απεικονίζεται αυτό.

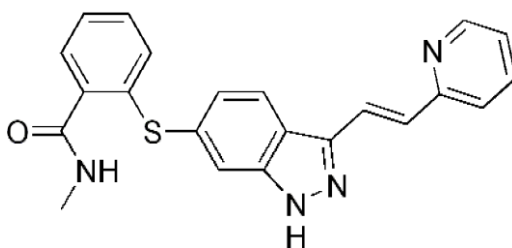


Διάγραμμα 10: PFS από τη συγκριτική μελέτη του sorafenib με την ιντερφερόνη-α

### (γ) Axitinib

Το axitinib είναι ένα μικρό μόριο (εικόνα 19), αλλά παράλληλα ένας πολύ ισχυρός αναστολέας όλων των γνωστών VEGFRs (1, 2 & 3), του PDGFR-β αλλά και του c-kit. Ο μοριακός του τύπος είναι C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>OS με MB= 386.5 [251].

Τα in vitro πειράματα έδειξαν ότι το axitinib μπορούσε επιλεκτικά να αναστείλει την αυτοφωσφορύλιωση των VEGF υποδοχέων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, και σαν αποτέλεσμα να εμποδίσει την αναπαραγωγή και επιβίωσή τους [252]. Τα εργαστηριακά αυτά αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και σε in vivo μελέτες αποδεικνύοντας την αντινεοπλασματικά αλλά και αντιαγγειογενετική δράση του axitinib [253].



Εικόνα 19: Axitinib

#### Μελέτη φάσης 1

Η ασφάλεια, η δραστηριότητα και η φαρμακοκινητική του axitinib μελετήθηκαν σε μια κλινική μελέτη φάσης 1, σε 36 ασθενείς, με ένα εύρος δόσεων από 5 έως 30 mg, σε δυο ημερήσιες δόσεις καθημερινά [254]. Παρόλο που ο χρόνος ημίσειας ζωής του φάνηκε να μην επηρεάζεται σημαντικά από την λήψη τροφής η απορρόφηση μεταβαλλόταν σημαντικά. Ο μεταβολισμός ήταν καθαρά ηπατικός ενώ οι κύριες παρενέργειές του αφορούσαν την υπέρταση, αιμόπτυση, κόπωση, ναυτία, διάρροια, έμετο, στοματίτιδα και πονοκεφάλους.

Από τους ασθενείς που συμμετείχαν σε αυτή τη μελέτη, 3 πέτυχαν σημαντική ύφεση της νόσου (οι δυο έπασχαν από RCC) και έτσι αποφασίστηκε η μελέτη φάσης 2 με διαμόρφωση της δόσης στα 10 mg ημερησίως.

#### Μελέτη φάσης 2

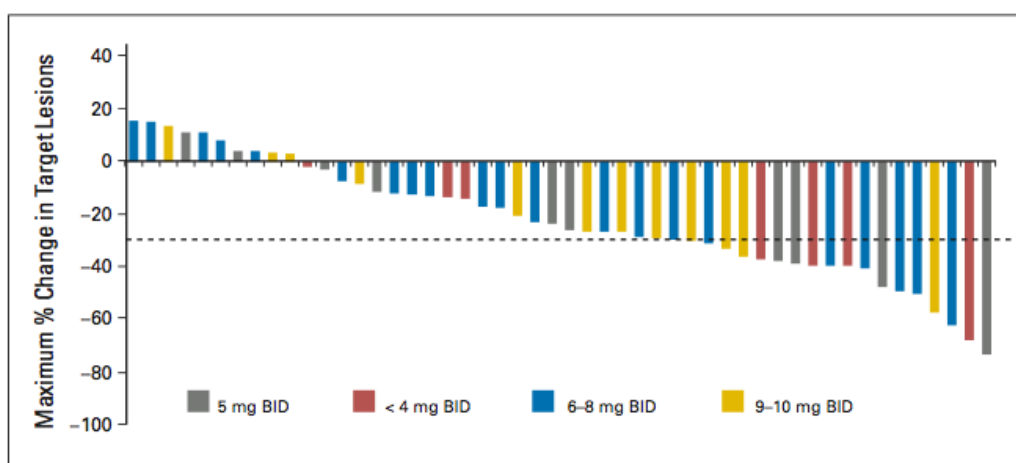
Στην μελέτη φάσης 2 που πραγματοποιήθηκε, όλοι οι συμμετέχοντες ασθενείς είχαν λάβει θεραπεία με κυτοκίνες. Κύριο καταληκτικό σημείο της μελέτης το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης (ORR) με βάση τα RECIST κριτήρια ενώ δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ήταν τα διαστήματα TTP & OS [255].

### Δεδομένα του axitinib σε φάση 2 μετά από αποτυχία του sorafenib

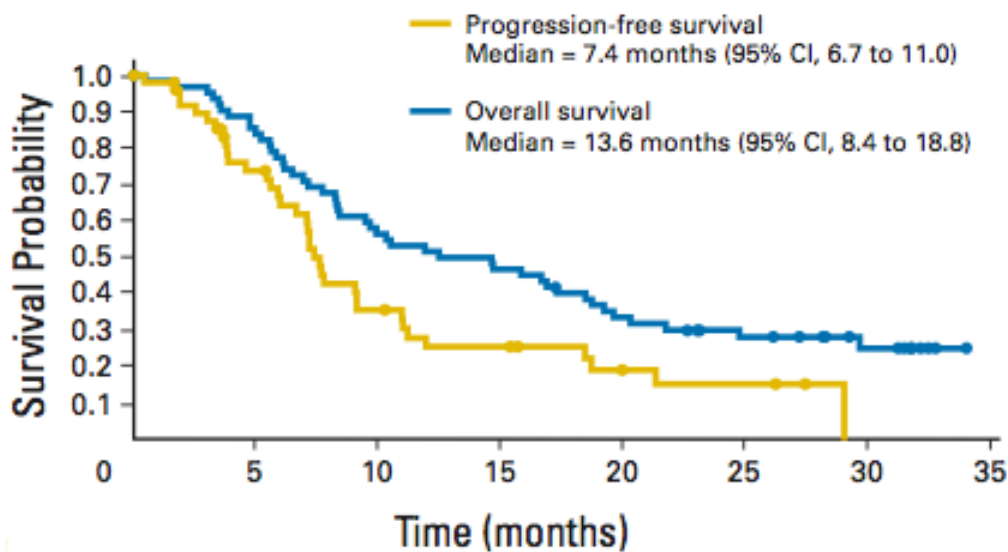
Έχοντας πια ήδη τα δεδομένα αποτελεσματικότητας από την προηγούμενη μελέτη φάσης 2 της οποίας παρουσιάσαμε τα αποτελέσματα, το επόμενο βήμα ήταν η αναζήτηση της αποτελεσματικότητας μετά την θεραπευτική αποτυχία ενός RTKI μορίου.

Στην μελέτη αυτή συμμετείχαν ασθενείς οι οποίοι είχαν κατ'αρχάς υποβληθεί σε νεφρεκτομή και είχαν αποτύχει σε θεραπεία με sorafenib [256]. Από το σύνολο των 62 ασθενών που συμμετείχαν στην μελέτη, όλοι τους είχαν λάβει sorafenib, ενώ το 74.2% αυτών είχαν λάβει περισσότερες από μια θεραπευτικές γραμμές πριν την συμμετοχή τους στην μελέτη.

Τα αποτελέσματα της μελέτης ήταν κάτι παραπάνω από θετικά αφού το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης ήταν στο 22.6% (διάγραμμα 11) ενώ η μέση διάρκεια απάντησης προσδιορίστηκε στους 17.5 μήνες. Το PFS & OS ήταν 7.4 και 13.6 μήνες αντίστοιχα (διάγραμμα 12).



Διάγραμμα 11: Μέγιστη ανταπόκριση και μέσο ποσοστό ORR (22.6%)



Διάγραμμα 12: Δεδομένα PFS και OS του axitinib

### Μελέτη φάσης 3

Σε αυτή την κλινική μελέτη φάσης 3 συμμετείχαν 723 ασθενείς από 22 συνολικά χώρες οι οποίοι έχοντας πάρει πρώτης γραμμής θεραπεία υποτροπίασαν [257]. Δεν είχε σημασία ποια ήταν η πρώτη γραμμή, οι ασθενείς θα μπορούσαν να έχουν λάβει οποιαδήποτε από τα sunitinib, bevacizumab με ιντεφερόνη-α, temsirolimus ή κυτοκίνες (εκτός από sorafenib βέβαια που ήταν το ανταγωνιστικό σκέλος). Η τυχαιοποίηση ήταν 1:1 ενώ το κύριο καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν το PFS.

Τα αποτελέσματα ήταν θετικά υπέρ του axitinib αφού το PFS ήταν 6.7 vs. 4.7 μήνες (hazard ratio 0.665; 95% CI 0.544-0.812;  $p < 0.0001$ ). Διακοπές θεραπείας λόγω τοξικότητας υπήρχαν και στα δύο σκέλη της μελέτης (4% στο σκέλος του axitinib και 8% στο σκέλος του sorafenib). Οι κύριες παρενέργειες του ερευνητικού σκέλους ήταν η διάρροια, υπέρταση και κόπωση ενώ στο σκέλος του sorafenib οι γνωστές παρενέργειες που σχετίζονται με την διάρροια και το σύνδρομο παλαμών πελμάτων.

### (δ) Επιπρόσθετα μικρά μόρια

Το pazopanib είναι ένας ακόμη αναστολέας της κατηγορίας των RTKIs που εγκρίθηκε το 2009 από το FDA για ασθενείς με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό RCC. Αναστέλλει τους VEGFRs (1, 2 και 3), τους PDGFRs -α και -β), τους FGFRs 1 και 2, τον Kit, τον Itk, τον Lck και τον c-Fms [258,259]. Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του pazopanib

αξιολογήθηκε σε τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη από εικονικό φάρμακο , πολυκεντρική, φάσης 3 μελέτη. Συμμετείχαν 435 ασθενείς με καρκίνο νεφρού που έλαβαν το pazopanib είτε ως πρώτη θεραπεία είτε μετά από άλλη θεραπεία με κυτοκίνες. Η μέση ολική επιβίωση ήταν 22,9 μήνες για τους ασθενείς υπό pazopanib και 20,9 μήνες για τους ασθενείς που έλαβαν εικονικό φάρμακο [260].

Το cabozantinib είναι επίσης αναστολέας της κατηγορίας των RTKIs ο οποίος έχει τη έγκριση του FDA για δεύτερης γραμμής θεραπεία. Δρα ως αποκλειστής στους υποδοχείς τυροσινικής κινάσης MET, VEGFR-1, -2, -3, AXL, RET, ROS1, TYRO3, MER, KIT, TRKB, FLT-3, και TIE-2. Στην τυχαιοποιημένη, ανοικτή, πολυκεντρική μελέτη έλαβε χώρα η σύγκριση μεταξύ ασθενών που έλαβαν cabozantinib και ασθενών που έλαβαν everolimus. Οι ασθενείς είχαν λάβει διάγνωση προχωρημένου RCC και είχε ήδη προηγηθεί τουλάχιστον μία αντιαγγειογενετική θεραπεία. Στατιστικά σημαντική βελτίωση του PFS και του OS παρουσίασαν οι ασθενείς υπό cabozantinib σε σύγκριση με τους ασθενείς υπό everolimus [261].

Τέλος, το lenvatinib είναι αναστολέας των VEGFR-1, -2, -3, του FGF, των FGFR -1, -2, -3, -4, του PDGFR- $\alpha$ , του KIT και του RET. Πολυκεντρική μελέτη ασθενών με προχωρημένο ή μεταστατικό RCC οι οποίοι προηγουμένως είχαν υποβληθεί σε αντιαγγειογενετική θεραπεία. Η σύγκριση έγινε μεταξύ ασθενών στους οποίους χορηγήθηκε συνδυασμός lenvatinib και everolimus, ασθενών σε μονοθεραπεία με lenvatinib ή σε μονοθεραπεία με everolimus. Συγκριτικά οι ασθενείς που έλαβαν τον συνδυασμό lenvatinib και everolimus παρουσίασαν βελτίωση του PFS σε σχέση με αυτούς που έλαβαν μονοθεραπεία [262].

## II. Αναστολείς του υποδοχέα της ραπαμυκίνης (mTOR inhibitors)

Το όφελος των mTOR αναστολέων ανακαλύφθηκε εντελώς εμπειρικά. Παρόλα αυτά, στη συνέχεια έγιναν μελέτες οι οποίες προσπάθησαν να αποδείξουν αυτό το όφελος. Αν και είναι αρκετοί οι αναστολείς του mTOR που μελετήθηκαν, δύο μόνο κατάφεραν να φτάσουν σε μελέτες έγκρισης και να προχωρήσουν στην αγορά.

### (α) Temsirolimus

Το temsirolimus (εικόνα 20) ήταν από τους πρώτους αναστολείς του mTOR που φάνηκε να έχει δράση στο μεταστατικό νεφρικό καρκίνωμα.



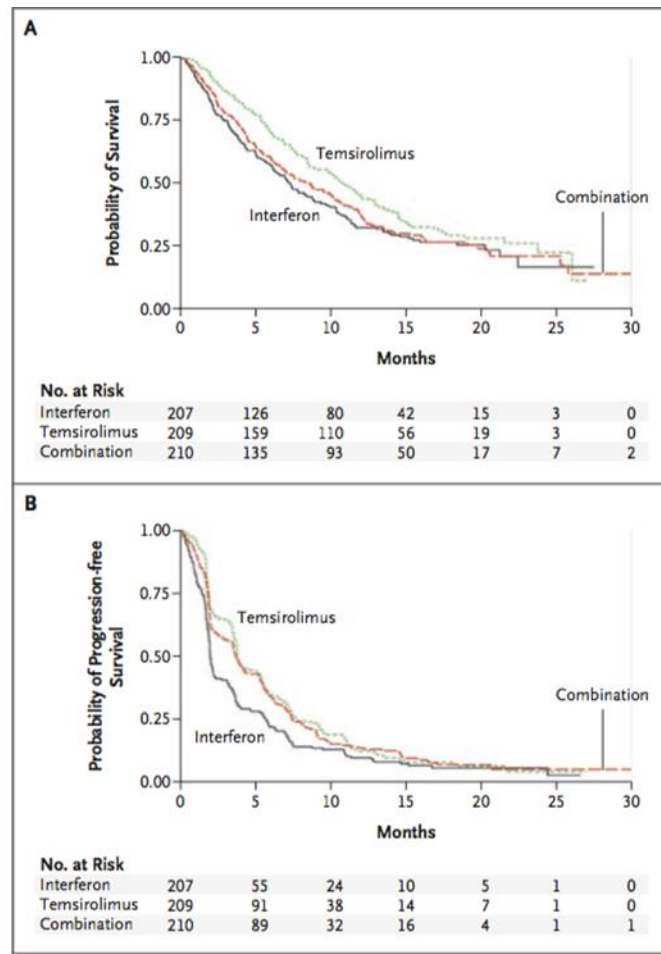
θεραπευόμενους με ιντερφερόνη [264]. Από την ίδια μελέτη φάνηκε ότι τα 25 mg δεν εμφάνιζαν ιδιαίτερη διαφορά στην δραστηριότητα σε σχέση με τις υπόλοιπες δοσολογίες και έτσι αποφασίστηκε να διατηρηθούν τα 25 mg ως η δοσολογία για τις υπόλοιπες κλινικές μελέτες με temsirolimus.

Έχοντας ήδη προκλινικά δεδομένα μιας πιθανής συνέργειας με την ιντερφερόνη, πραγματοποιήθηκε μια μελέτη φάσης 1/2 η οποία συνδυάζει τους δύο παράγοντες [265]. Λόγω του συνδυασμού των δύο θεραπευτικών παραγόντων χρησιμοποιήθηκαν τα 15 mg όσον αφορά το temsirolimus και τα 6 MU τρεις φορές την εβδομάδα για την ιντερφερόνη. Παρατηρήθηκε κλινική δραστηριότητα στο 41% των ασθενών, το μέσο διάστημα TTP ήταν 9,1 μήνες ενώ το 28% των ασθενών κατάφερε να συνεχίσει την θεραπεία πέρα των 12 μηνών.

Με βάση αυτά τα δεδομένα πραγματοποιήθηκε και η μελέτη φάσης 3 η οποία διερευνούσε τρία διαφορετικά σκέλη: temsirolimus vs. ιντερφερόνη vs. τον συνδυασμό [266]. Επιλέγησαν ασθενείς υψηλού κινδύνου ενώ η κατανομή των ασθενών έγινε με τρόπο ισάριθμο στα τρία σκέλη της μελέτης. Ο πρωταρχικός σκοπός της μελέτης ήταν η συνολική επιβίωση ενώ δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ήταν το PFS, το ποσοστό ανταπόκρισης στην θεραπεία με βάση τα RECIST κριτήρια και το κλινικό όφελος των ασθενών (προσδιορισμένο ως η σταθεροποίηση της νόσου για τουλάχιστον 24 εβδομάδες ή διαπίστωση αντικειμενικής απεικονιστικής απάντησης).

Τα αποτελέσματα της μελέτης (διάγραμμα 13 και πίνακας 8) φάνηκε να δικαιώνουν το σκέλος του temsirolimus και του συνδυασμού όσον αφορά την συνολική ανταπόκριση αλλά το σκέλος του συνδυασμού δεν φάνηκε να υπερτερεί στατιστικά στην συνολική επιβίωση. Η πιο πιθανή εξήγηση των ερευνητών σε σχέση με αυτό το αποτέλεσμα φαίνεται πως είχε να κάνει με το προφίλ παρενεργειών του ερευνητικού σκέλους που οδήγησε σε αρκετές καθυστερήσεις όσον αφορά στη θεραπεία.





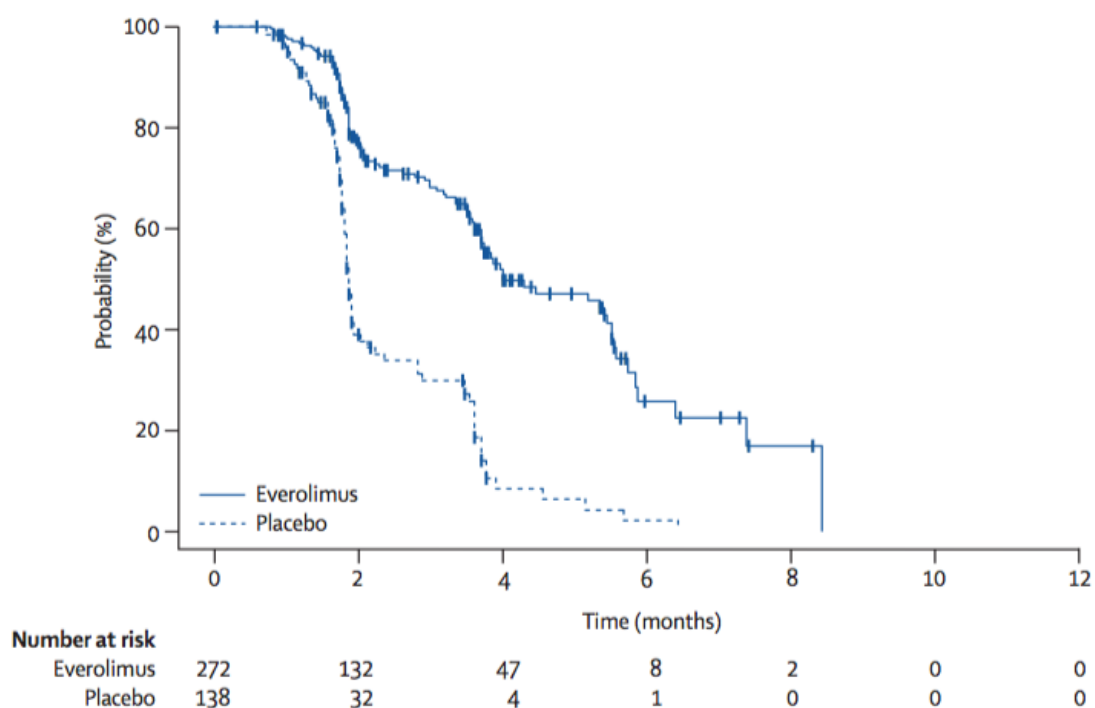
Διάγραμμα 13: Συνολική επιβίωση (A) και PFS (B) των ασθενών της μελέτης

End Point	Interferon (N=207)	Temeirolimus (N=209)	Interferon plus Temeirolimus (N=210)
Median overall survival — mo (95% CI)	7.3 (6.1–8.8)	10.9 (8.6–12.7)	8.4 (6.6–10.3)
Median progression-free survival — mo (95% CI)			
Site investigators' assessment	1.9 (1.9–2.2)	3.8 (3.6–5.2)	3.7 (2.9–4.4)
Independent assessment*	3.1 (2.2–3.8)	5.5 (3.9–7.0)	4.7 (3.9–5.8)
Median time to treatment failure — mo (95% CI)†	1.9 (1.7–1.9)	3.8 (3.5–3.9)	2.5 (1.9–3.6)
Objective response rate — % (95% CI)*	4.8 (1.9–7.8)	8.6 (4.8–12.4)	8.1 (4.4–11.8)
Clinical benefit (objective response or stable disease for ≥24 wk) — % (95% CI)*	15.5 (10.5–20.4)	32.1 (25.7–38.4)	28.1 (22.0–34.2)

Πίνακας 8: Σύνοψη των αποτελεσμάτων της μελέτης

(β) Everolimus

Ο δεύτερος αναστολέας του m-TOR που αναλύθηκε ήταν το everolimus, ένα από του στόματος παράγωγο της ραπαμυκίνης, μια ανοσοκατασταλτική μακρολίδη με αντινεοπλασματικές ιδιότητες. Η πιο σημαντική μελέτη που αφορούσε στο everolimus, ήταν μία φάσης 3, διπλή τυφλή, τυχαιοποιημένη μελέτη που συνέκρινε το everolimus με το placebo σε ασθενείς που είχαν ήδη λάβει κάποιον RTKI μεταξύ των sunitinib και sorafenib [267]. Η μελέτη τερματίστηκε πρόωρα μετά την δεύτερη ανάλυση των αποτελεσμάτων αφού διαπιστώθηκε σημαντικό όφελος για τους ασθενείς του πειραματικού σκέλους. Το PFS διάστημα ήταν στατιστικά ανώτερο στο σκέλος του everolimus: 4 μήνες [95% CI 3,7–5,5] έναντι 1,9 [1,8–1,9] μηνών. Παρόλα αυτά δεν υπήρχε πλεονέκτημα επιβίωσης για το πειραματικό σκέλος.



Διάγραμμα 141: PFS διάστημα, 4 μήνες [95% CI 3,7–5,5] έναντι 1,9 [1,8–1,9] μηνών

## **Γ. ΟΡΜΟΝΙΚΕΣ ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΩΝ ΘΕΡΑΠΕΙΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟ**

Η χρήση των στοχευμένων θεραπειών αυξάνεται συνεχώς για την αντιμετώπιση του καρκίνου. Ταυτόχρονα αυξήθηκε και η εμφάνιση παρενεργειών που προκαλούν στους ασθενείς και δημιουργούν την ανάγκη καταγραφής τους, μελέτης τους και αντιμετώπισης τους, διότι συνιστούν σημαντικό παράγοντα διακοπής των στοχευμένων θεραπειών με άμεση συνέπεια τη μείωση της επιβίωσης. Σημαντικό κομμάτι των ανεπιθύμητων ενεργειών καλύπτουν οι ενδοκρινολογικές παρενέργειες.

### *Θυρεοειδική λειτουργία*

Η συχνότερη ενδοκρινολογική ανεπιθύμητη ενέργεια είναι η υπολειτουργία του θυρεοειδή αδένου όπως διατείνονται πλήθος δημοσιεύσεων. Μάλιστα, αυτό έχει ως αποτέλεσμα συχνά να συστήνεται ο έλεγχος της θυρεοειδικής λειτουργίας πριν την έναρξη της θεραπείας με αναστολείς τυροσινικών κινασών. Η αιτία πρόκλησης του υποθυρεοειδισμού δεν έχει ταυτοποιηθεί και έχουν προταθεί διαφορετικοί μηχανισμοί για να εξηγηθεί [268,269,270,271,272]. Ο συχνότερος παράγοντας που αναφέρεται να προκαλεί υποθυρεοειδισμό είναι το sunitinib. Ειδικότερα για την περίπτωση χρήσης του sunitinib στον καρκίνο του νεφρού έχει συνδεθεί η ανάπτυξη υποθυρεοειδισμού με την αύξηση της επιβίωσης [273,274,275,276,277,278]. Τα συμπτώματα της υπολειτουργίας του θυρεοειδή αδένου - με συχνότερο την κόπωση - αντιμετωπίζονται με τη χορήγηση θυροξίνης, ώστε η TSH να κυμαίνεται εντός των φυσιολογικών ορίων. Έτσι, δεν κρίνεται απαραίτητη ούτε η μείωση ούτε η διακοπή της θεραπείας [273,274,278]. Άλλοι παράγοντες που προκαλούν υποθυρεοειδισμό είναι το sorafenib, το imatinib, το nilotinib, το axitinib και το pazopanib [279,280,281,282,283].

### *Οστικός μεταβολισμός και υπερπαραθυρεοειδισμός*

Αριθμός δημοσιεύσεων έχουν περιγράψει αλλαγή του οστικού μεταβολισμού και δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό σε ασθενείς που λαμβάνουν TKIs [284,285,286,287,288,289]. Επειδή οι ασθενείς συχνά συνεχίζουν επ'αόριστον τη θεραπεία, την επίγνωση των πιθανών επιπτώσεων αυτών των παραγόντων επί του σκελετού είναι επιτακτική ανάγκη. Μακροχρόνια θεραπεία με imatinib έχει συσχετιστεί με την αλλαγή στο μεταβολισμό των οστών, μείωση της οστικής ανακατασκευής, καθώς και υποφωσφαταιμία [289,290]. Ο προτεινόμενος μηχανισμός για τον επαγόμενο από το imatinib δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό είναι η αύξηση στην οστική πυκνότητα τόσο λόγω μειωμένης απορρόφησης οστού όσο και αυξημένου σχηματισμού οστού [291,292]. Σε προοπτική μελέτη εννέα ασθενών υπό imatinib βρέθηκαν δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός και μείωση

του οστικού μεταβολισμού [287]. Η επίδραση του imatinib σε 17 ασθενείς με ΧΜΛ έδειξαν υψηλή συχνότητα εμφάνισης του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού [292]. Σε 26 ασθενείς που λάμβαναν sunitinib για RCC, υπερπαραθυρεοειδισμός αναπτύχθηκε στο 69% των ασθενών [293]. Σε μελέτη με 59 ασθενείς υπό sunitinib και sorafenib τα επίπεδα της ΡΤΗ αυξήθηκαν κατά τη διάρκεια της θεραπείας και επανήλθαν στα φυσιολογικά επίπεδα με το πέρασμα της, ενώ τα επίπεδα φωσφόρου και λιγότερο του ασβεστίου μειώθηκαν [294]. Ακόμη, σε μελέτη φάσης 2 με sunitinib υπήρχε μείωση των επιπέδων ασβεστίου [295].

Όσον αφορά στην κλινική διαχείριση των σκελετικών επιπτώσεων των ασθενών που λαμβάνουν TKIs, δεν υπάρχουν σαφείς συστάσεις, αλλά βασίζεται στα ως τώρα γνωστά κλινικά δεδομένα, είναι συνετό να παρακολουθείται η πυκνότητα των οστών, τα επίπεδα της ΡΤΗ, και τα επίπεδα της 25-υδροξυβιταμίνης D σε αυτούς τους ασθενείς στην έναρξη και κατά ετήσια διαστήματα ή πιο συχνά όταν ενδείκνυται κλινικά. Από την ομάδα των αναστολέων του mTοr αναφέρεται πως το temsirolimus προκαλεί υποφωσφαταιμία σε 13% των ασθενών όπως έδειξε μελέτη φάσης 2 [296].

#### *Ανάπτυξη*

Η φυσιολογική ανάπτυξη κατά την παιδική ηλικία στηρίζεται σε πολλά από τα ίδια μονοπάτια που εμπλέκονται και στην παθογένεση όγκων, όπως αυτό της αγγειογένεσης. Προκλινικές μελέτες έχουν εγείρει ανησυχίες για πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες των TKIs στην ανάπτυξη [297,298]. Το imatinib έχει συσχετισθεί με πάχυνση της επιφυσιακής πλάκας και διαταραχή στην αύξηση του μήκους των οστών, ιδιαίτερα σε προεφηβικά ζώα [297,299].

Αρκετές αναφορές περιπτώσεων έχουν τεκμηριώσει την επιβράδυνση της ανάπτυξης στα παιδιά με ΧΜΛ που έλαβαν θεραπεία με imatinib [300,301,302]. Τρεις μεγάλες αναδρομικές κλινικές σειρές έχουν αξιολογήσει την ανάπτυξη στα παιδιά με ΧΜΛ υπό imatinib. Η πρώτη μελέτησε 34 παιδιά που παρουσίασαν μείωση του ύψους στο πέμπτο έτος της θεραπείας, με τα παιδιά προεφηβικής ηλικίας να επηρεάζονται περισσότερο [303]. Η δεύτερη μελέτησε 48 παιδιά όπου παρατηρήθηκε πως η μείωση της ανάπτυξης σχετίζεται με την νεαρότερη ηλικία κατά την έναρξη της θεραπείας [304]. Τέλος, μία τρίτη ομάδα έδειξε μείωση του ύψους κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους της θεραπείας σε 22 παιδιά [305]. Αν και οι περισσότερες αναφορές σχετικά με τις επιπτώσεις των TKIs στην ανάπτυξη είναι ειδικά για το imatinib και άλλα TKIs μπορεί να έχουν παρόμοια αποτελέσματα. Η θεραπεία με imatinib έχει επίσης συνδεθεί με ανεπάρκεια της GH σε ενήλικες. Δεκαεπτά ενήλικες με ΧΜΛ σε θεραπεία με imatinib υποβλήθηκαν σε δοκιμή διέγερσης με γλυκαγόνη και το 70% είχαν σοβαρή μείωση της GH [306]. Μία ακόμη έρευνα με δεκαοκτώ παιδιά με ΧΜΛ υπό imatinib έδειξε πως όλοι οι ασθενείς είχαν είτε έλλειψη αυξητικής ορμόνης, είτε έλλειψη IGF-1, ή και των δύο [307].

### *Γυναικομαστία*

Περιπτώσεις γυναικομαστίας έχουν αναφερθεί με τη χρήση του imatinib, του dasatinib και του sunitinib [308,309,310]. Μία μεγαλύτερη μελέτη ανέλυσε τα επίπεδα τεστοστερόνης σε 38 άνδρες που έλαβαν imatinib για ΧΜΛ κατά την έναρξη και κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Επτά περιπτώσεις γυναικομαστίας παρατηρήθηκαν (18% των ασθενών), γεγονός που συνδέεται με σημαντική μείωση στις συγκεντρώσεις τεστοστερόνης [311]. Ο μηχανισμός με τον οποίο η sunitinib και άλλα TKIs μπορούν να προκαλέσουν γυναικομαστία παραμένει άγνωστος. Ίσως να σχετίζεται με την έκφραση του c-KIT και PDGFRA στους όρχεις, όπου εμπλέκονται στην παραγωγή τεστοστερόνης [312]. Οι άνδρες ασθενείς που λαμβάνουν TKIs θα πρέπει να παρακολουθούνται κλινικά για την πιθανή ανάπτυξη του υπογοναδισμού.

### *Επίπτωση στις γονάδες*

Σποραδικές βιβλιογραφικές αναφορές υπάρχουν που συνδέουν τη λήψη των TKIs με επιπτώσεις στις γονάδες. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις σοβαρής ολιγοσπερμίας ασθενείς με ΧΜΛ υπό imatinib [313,314]. Επίσης, αναφέρεται περιστατικό πρωτογενούς ανεπάρκειας των ωοθηκών σε μία τριαντάχρονη γυναίκα εντός δύο ετών από την έναρξη της θεραπείας με imatinib [315]. Ωστόσο, έχει αμφισβητηθεί [316]. Επιπλέον, μία δεκαεπτάχρονη γυναίκα με ΧΜΛ είχε αποτυχημένη απόκριση στις γοναδοτροπίνες στην προσπάθεια ωοληψίας, ενώ ήταν επιτυχής όταν επαναλήφθηκε μετά τη διακοπή του imatinib [317]. Ωστόσο, μελέτες που ερευνούν την σπερματογένεση και την ωοθυλακιογένεση σε ποντίκια που έλαβαν θεραπεία με imatinib δεν έδειξαν διαφορά στην σπερματογενετική δραστηριότητα, τη μορφολογία των όρχεων ή την ανάπτυξη των ωοθυλακίων [318]. Μελλοντική μακροπρόθεσμη αξιολόγηση των επιπτώσεων του TKIs στη λειτουργία των ωοθηκών και τη γονιμότητα απαιτούνται. Παρά ταύτα συνιστάται να προτείνουμε στρατηγικές για τη διατήρηση της γονιμότητας από τη στιγμή της διάγνωσης [319].

Η μακροχρόνια χρήση του TKIs έχει οδηγήσει στην ανάγκη να αντιμετωπιστούν οι επιπτώσεις τους στη γονιμότητα και την εγκυμοσύνη. Οι επαρκείς και καλά ελεγχόμενες μελέτες των TKIs σε έγκυες γυναίκες είναι ελάχιστες. Στοιχεία δείχνουν ότι τα παιδιά που γεννήθηκαν από άνδρες οι οποίοι ήταν υπό θεραπεία με imatinib κατά τη σύλληψη δεν είχαν αυξημένο κίνδυνο για συγγενείς δυσπλασίες [320,321]. Οι τρέχουσες συστάσεις είναι πως οι άνδρες ασθενείς που επιθυμούν να τεκνοποιήσουν μπορούν να συνεχίσουν τη θεραπεία με imatinib. Δυστυχώς, η εμφάνιση σπάνιων συγγενών δυσπλασιών εμπόδισε τη χορήγηση της κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης 125 γυναίκες υπό imatinib που ήταν γνωστό ότι συνέλαβαν κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Δώδεκα από τις εγκυμοσύνες κατέληξαν σε ανωμαλίες του εμβρύου, όπως νεφρική αγενεσία, καρδιακές και οστικές ανωμαλίες [322]. Τρέχουσες συστάσεις συμβουλεύουν τις γυναίκες

ασθενείς που επιθυμούν να συλλάβουν να διακόψουν το imatinib κατά τη διάρκεια της σύλληψης και της εγκυμοσύνης, λόγω της αναγνωρισμένης τερατογόνο δράση της. Ωστόσο, στις περιπτώσεις όπου μία εναλλακτική θεραπεία ή η διακοπή του imatinib δεν είναι αποδεκτές εναλλακτικές λύσεις τα TKIs έχουν χρησιμοποιηθεί κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Όσον αφορά στους αναστολείς του mTOR σε κορίτσια ηλικίας 13 ετών και άνω που συμμετείχαν στη μελέτη EXIST-1, τρεις από οκτώ της ομάδας υπό everolimus και κανένα από τα πέντε στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου είχαν δευτεροπαθή αμηνόρροια [323]. Αμηνόρροια παρατηρήθηκε επίσης σε 7 από τις 52 γυναίκες υπό everolimus στην EXIST-2 [324]. Σε 6 από τις 10 γυναίκες και από τις δύο μελέτες η αμηνόρροια αυθόρμητα υποχώρησε και σε 4 άλλα η χορήγηση προγεστερόνης ήταν επιτυχής. Αυτές οι παρατηρήσεις υποστηρίζουν έναν κεντρικό ρόλο του mTOR στην έναρξη της εφηβείας και απαιτούν περαιτέρω έρευνα για τις πιθανές επιπτώσεις του everolimus και της ραπαμυκίνης στην ανάπτυξη και τη σεξουαλική ωρίμανση στα παιδιά. Οι άνδρες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με everolimus και sirolimus παρουσίασαν μείωση των επιπέδων της τεστοστερόνης και αύξηση αυτών της FSH και της LH [325].

#### *Επινεφριδιακή ανεπάρκεια*

Λόγω του ρόλου των πρωτεϊνικών κινασών στον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων και στην έκκριση στεροειδών, έπεται ότι τα TKIs μπορεί να συνδέονται με την ανάπτυξη ανεπάρκειας των επινεφριδίων. Επινεφριδιακή τοξικότητα παρατηρήθηκε σε μελέτες σε ζώα υπό sunitinib, αλλά σε κλινικές μελέτες, η δοκιμή διέγερσης της ACTH που πραγματοποιήθηκε σε 400 ασθενείς μόνο ένας ασθενής παρουσίασε παθολογικό αποτέλεσμα, ενώ δεν υπήρχαν κλινικές ενδείξεις ανεπάρκειας των επινεφριδίων στους ασθενείς που ακολούθησαν (Pfizer). Έχει όμως περιγραφεί περιστατικό επινεφριδιακής ανεπάρκειας σε ασθενή υπό sunitinib που παρουσίασε κλινική βελτίωση μετά τη χορήγηση στεροειδών [326].

Σε 25 ασθενείς με ΧΜΛ που έλαβαν θεραπεία με imatinib, έγινε δοκιμή με διέγερση γλυκαγόνης και με ACTH για να αξιολογηθεί ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων. Δώδεκα (48%) ασθενείς διαγνώστηκαν με επινεφριδιακή ανεπάρκεια σε αυτή τη μελέτη, υποδεικνύοντας μία αύξηση του επιπολασμού της υποκλινικής δυσλειτουργίας του άξονα σε ασθενείς που λαμβάνουν imatinib [327]. Η περίληψη έγκρισης φαρμάκων του FDA προειδοποιεί ότι παρά την απουσία κλινικά σημαντικής καταστολής των επινεφριδίων σε ασθενείς που λάμβαναν sunitinib, η υποκλινική τοξικότητα μπορεί να εκδηλωθεί με φυσιολογικό στρες. Ως εκ τούτου, η παρακολούθηση για ανεπάρκεια των επινεφριδίων συνιστάται σε ασθενείς που υποβάλλονται σε στρες όπως η χειρουργική επέμβαση, τραύμα, ή σοβαρή λοίμωξη [328].

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### Α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ιδέα για την πραγματοποίηση αυτής της διδακτορικής διατριβής ελήφθη μετά την ανακοίνωση των μελετών που αφορούσαν το sunitinib και της επίδρασης του στη θυρεοειδική λειτουργία [273,274,278,329,330]. Το sunitinib παρουσιάζει πληθώρα παρενεργειών μεταξύ των οποίων και ορμονικών [331]. Ιδιαίτερα το sunitinib είναι μία φαρμακευτική αγωγή η οποία αν και από του στόματος εμφανίζει σημαντική τοξικότητα. Θα ήταν συνεπώς ασφαλές για τον ασθενή ο θεράπων ιατρός να γνωρίζει έγκαιρα αν η χορηγούμενη φαρμακευτική αγωγή επηρεάζει την κλινική κατάσταση του ασθενή και πως θα πρέπει να ενεργήσει ώστε να είναι δυνατή η συνέχιση της θεραπείας εφόσον αυτή κρίνεται πως τον ωφελεί [332,333]. Ειδικότερα, η θυρεοειδική λειτουργία φαίνεται να επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες που ανήκουν στην ομάδα των TKIs [334,335].

Επιπλέον, υπάρχουν στοιχεία που καταδεικνύουν συσχέτιση μεταξύ του υποθυρεοειδισμού που εμφανίζεται στους ασθενείς υπό sunitinib με την ανταπόκριση στη θεραπεία και την πρόγνωση των ασθενών [271,273,274,275,276,336]. Παρόμοιες ενδείξεις αναφέρονταν και για άλλους αναστολείς τυροσινικών κινασών [276,337,338]. Αντίστοιχη προσέγγιση έγινε και στους ασθενείς υπό sunitinib της διατριβής αυτής.

Οι σποραδικές αναφορές σε λοιπές ορμονικές δυσλειτουργίες των ασθενών υπό στοχευμένες θεραπείες όπως αυτές αναφέρονται στο γενικό μέρος της διατριβής αυτής, αποτέλεσαν το εφαλτήριο για τη διερεύνηση των επιπέδων ορμονών πέραν των θυρεοειδικών.

Ολόκληρο το πρωτόκολλο της παρούσας κλινικής μελέτης παρουσιάστηκε στην επιτροπή πρωτοκόλλων του Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης "Θεαγενείου" από όπου και εγκρίθηκε. Θα πρέπει επίσης να τονιστεί πως όλοι οι ασθενείς που συμμετείχαν είχαν ενημερωθεί αναλυτικά για την κλινική μελέτη στην οποία θα μπορούσαν εθελοντικά να πάρουν μέρος το οποίο και έγινε μετά από ενυπόγραφη συγκατάθεση τους. Στην παρούσα κλινική μελέτη τηρήθηκαν όλοι οι κανόνες Καλής Κλινικής Πρακτικής σε σχέση με τις κλινικές μελέτες όπως αυτές προσυπογράφονται στη δήλωση του Ελσίνκι (GCP- Good Clinical Practice-Declaration of Helsinki).

Στη συνέχεια θα παρουσιαστεί αναλυτικά το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη αυτών των ασθενών.

## **B. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

### **1. Κριτήρια επιλογής ασθενών**

Οι ασθενείς (ανεξαρτήτως φύλου) θα έπρεπε να είναι κάτω των 75 ετών και γενικής κατάστασης με το ECOG PS ( Eastern Cooperative Oncology Group performance status) κάτω του 3.

Όλοι οι ασθενείς θα έπρεπε να έχουν σχετικά καλή νεφρική και ηπατική λειτουργία καθώς και μυελό των οστών αρκετά λειτουργικό ώστε να περιοριστούν στο ελάχιστο οι αιματολογικές παρενέργειες. Ενδεικτικά αναφέρονται περίπου τα όρια που ήταν αποδεκτά στην συγκεκριμένη κλινική μελέτη:

- Κρεατινίνη πλάσματος μικρότερη ή ίση του 2
- Τρανσαμινασαιμία που να μην υπερβαίνει το τριπλάσιο των ανώτερων ορίων
- Χολερυθριναιμία που να μην ξεπερνά το διπλάσιο των ανώτερων φυσιολογικών τιμών
- Αιμοσφαιρίνη όχι μικρότερη των 10mg/dl
- Λευκά αιμοσφαίρια πάνω από 3.000 με αριθμό ουδετερόφιλων πάνω από 1.000
- Αριθμό αιμοπεταλίων πάνω από 100.000

Προαπαιτούμενη επίσης ήταν και η ικανοποιητική καρδιολογική λειτουργία αφού το οι φαρμακευτικοί παράγοντες υπό έρευνα μπορεί να προκαλέσουν αναστρέψιμη καρδιακή ανεπάρκεια. Γι' αυτόν ακριβώς τον λόγο ήταν απαραίτητος ο ενδεδειγμένος καρδιολογικός έλεγχος τόσο ηλεκτροδυναμικά όσο και λειτουργικά αφού έπρεπε να πραγματοποιηθεί υπερηχογραφικός έλεγχος που να βεβαιώνει κλάσμα εξώθησης όχι μικρότερο του 50%. Στην περίπτωση που ο υπερηχογραφικός έλεγχος ήταν οριακός τότε πραγματοποιείτο σπινθηρογραφικός έλεγχος MUGA scan (Multi Gated Acquisition Scan).

### **2. Χορήγηση του φαρμάκου - δοσολογία**

Το sunitinib χορηγείτο με τον κλασικό τρόπο όπως στην καθημερινή κλινική πράξη δηλαδή 50 mg καθημερινά από του στόματος ανεξαρτήτως γευμάτων για τέσσερις συνεχόμενες εβδομάδες. Στη συνέχεια ακολουθούσαν δύο εβδομάδες διακοπής και ο κύκλος θεραπείας επαναλαμβανόταν. Σε περίπτωση που υπήρχε τοξικότητα η δόση μειωνόταν στα 37,5 mg.

Η συνιστώμενη δόση του sorafenib στους ενήλικες ήταν 400 mg δύο φορές ημερησίως (ισοδύναμα με ολική ημερήσια δόση 800 mg). Η θεραπεία συνεχιζόταν όσο εξακολουθούσε



να παρατηρείται κλινικό όφελος ή μέχρι να επισυμβεί μη αποδεκτή τοξικότητα. Η αντιμετώπιση των ύποπτων ανεπιθύμητων ενεργειών του φαρμάκου μπορεί να απαιτούσε προσωρινή διακοπή ή μείωση της δόσης της θεραπείας με sorafenib. Όταν ήταν αναγκαία η μείωση της δόσης κατά τη διάρκεια της θεραπείας μειωνόταν σε δύο δισκία των 200 mg sorafenib εφάπαξ ημερησίως.

Η συνιστώμενη δόση για το razoranib ήταν 800 mg μία φορά την ημέρα. Η δόση μεταβαλλόταν σταδιακά κατά 200 mg βάσει της εξατομικευμένης ανοχής, ώστε να είναι εφικτή η διαχείριση των ανεπιθύμητων ενεργειών.

Η συνιστώμενη δόση ήταν 10 mg για το everolimus μία φορά την ημέρα. Η θεραπεία συνεχιζόταν όσο παρατηρείτο κλινικό όφελος ή μέχρι να εμφανιζόταν μη αποδεκτή τοξικότητα. Για τη διαχείριση σοβαρών ή/και μη ανεκτών πιθανολογούμενων ανεπιθύμητων ενεργειών γινόταν διακοπή μίας εβδομάδας και ακολουθούσε συνέχιση της αγωγής με μειωμένη δόση (5 mg).

Η συνιστώμενη δόση του temsirolimus ήταν 25 mg χορηγούμενη ενδοφλεβίως με έγχυση εντός χρονικού διαστήματος 30 έως 60 λεπτών μία φορά την εβδομάδα. Η αντιμετώπιση ύποπτων ανεπιθύμητων ενεργειών απαιτούσε προσωρινή διακοπή και/ή μείωση της δόσης της θεραπείας κατά 5 mg.

### **3. Εξετάσεις κατά την διάρκεια της κλινικής μελέτης**

Στον πρώτο κύκλο χορήγησης της θεραπείας με sunitinib και κατά τις ημέρες 0, 15, 30, 45 και 60 έπρεπε να πραγματοποιηθούν οι ακόλουθες εξετάσεις:

- Κλινική εξέταση
- Αξιολόγηση της γενικής κατάστασης του ασθενούς (ECOS ps)
- Πλήρης ανάλυση ερυθράς και λευκής σειράς αίματος
- Πλήρης βιοχημικός έλεγχος

Ο συγκεκριμένος έλεγχος μετά το πέρας του πρώτου κύκλου επαναλαμβανόταν στην αρχή και στο τέλος κάθε κύκλου με την θεραπεία να συνεχιζόταν μέχρι υποτροπής. Οι εξετάσεις αυτές λάμβαναν χώρα σε αντίστοιχα διαστήματα και για του υπόλοιπους παράγοντες.

Για την αξιολόγηση της τοξικότητας από τη θεραπεία χρησιμοποιήθηκε η τρίτη ενημερωμένη έκδοση των κριτηρίων του Εθνικού Αμερικανικού Ινστιτούτου για τον καρκίνο (National Cancer Institute Common Toxicity Criteria version 3.0).

Για την παρακολούθηση της ανταπόκρισης ή της προόδου της νόσου χρησιμοποιήθηκαν οι κλασικές απεικονιστικές μέθοδοι αξονικής και μαγνητικής τομογραφίας μετά από δύο κύκλους χορήγησης sunitinib (και παρόμοιες χρονικές περιόδους για τους υπόλοιπους παράγοντες), που αντιστοιχεί σε ένα χρονικό διάστημα περίπου 3 μηνών, χρησιμοποιώντας τα RECIST κριτήρια (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

#### **4. Αξιολόγηση της λειτουργίας του θυρεοειδούς και μέτρηση λοιπών ορμονών**

Για την αξιολόγηση της λειτουργίας του θυρεοειδούς μετρήθηκαν η θυρεοτρόπος ορμόνη (TSH) (εύρος αναφοράς 0,30 έως 4,0 mU/L), η ελεύθερη θυροξίνη (fT4) (εύρος αναφοράς 7,8 - 19,4 pg/mL), τα αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (TPOAb με εύρος αναφοράς  $\leq 50$  U/mL), τα αντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης (TgAb με εύρος αναφοράς  $\leq 70$  U/mL) και τα αντισώματα του υποδοχέα της TSH (TR-Ab με εύρος αναφοράς: αρνητικά όταν  $< 9$  U/L, αμφισβητήσιμα θετικά όταν 9-14 U/L, θετικά όταν  $> 14$  U/L). Όλα τα δείγματα ορού αναλύθηκαν με ανοσοραδιομετρική μεθόδους (IRMA) και διεξήχθησαν εις διπλούν. Συγκεκριμένα, για την TSH και τη fT4 χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια από την DiaSorin, Saluggia, Ιταλία, ενώ για TPOAb, TgAb και TR-Ab από την ZenTech, Angleur, Βέλγιο.

Επιπλέον, οι παρακάτω ορμόνες αξιολογήθηκαν: η φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη (ACTH) (εύρος αναφοράς 10-60 pg/mL), η ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH) (εύρος αναφοράς 27-129 mIU / mL, όπως καθορίστηκε για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), η ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH) (εύρος αναφοράς 13,5 έως 96 mIU/mL, όπως καθορίστηκε για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), η οιστραδιόλη (εύρος αναφοράς  $< 82$  pg/mL όπως καθορίστηκε για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), η τεστοστερόνη (εύρος αναφοράς 3-12 ng/mL), η προλακτίνη (PRL) (εύρος αναφοράς 1-18 ng/mL για τους άντρες και 2-13 ng/mL για τις γυναίκες, όπως καθορίστηκε για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), η παραθορμόνη (PTH) (εύρος αναφοράς 10-65 pg/mL), η καλσιτονίνη (CT) (εύρος αναφοράς  $< 10$  pg/mL), η αυξητική ορμόνη (GH) (εύρος αναφοράς 0,2-10  $\mu$ IU/mL) και η πρωινή κορτιζόλη (εύρος αναφοράς 140-690 nmol/L). Όλα τα δείγματα ορού αναλύθηκαν με ανοσοραδιομετρική μεθόδους (IRMA) και διεξήχθησαν εις διπλούν. Συγκεκριμένα, για την ACTH χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια από την DiaSorin, Saluggia, Ιταλία, για την CT χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια από την DIASource SA, Louvain-la-Neuve, Βέλγιο, ενώ για την FSH, την LH, την οιστραδιόλη, τη τεστοστερόνη, την PRL, την PTH και την GH χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια από την Immunotech sro, Πράγα, Τσεχία.

## **5. Βιολογικό υλικό και αναλύσεις**

Τα δείγματα αίματος λαμβάνονταν σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές: πριν την χορήγηση του sunitinib, στην συμπλήρωση του πρώτου δεκαπενθημέρου και τέλος στη λήξη του δεύτερου κύκλου (ημέρα 75η από την πρώτη ημέρα έναρξης). Σε αντίστοιχα διαστήματα γινόταν λήψη δειγμάτων και με τους υπόλοιπους παράγοντες. Η κάθε αιμοληψία ήταν περίπου 15 mL και τα δείγματα μεταφέρονταν σε πάγο για φυγοκέντρηση στο εργαστήριο όπου και αποθηκεύονταν στους  $-80^{\circ}\text{C}$  για να επεξεργαστούν στη συνέχεια.

Όλα τα επιστημονικά δεδομένα που συγκεντρώθηκαν από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στο βιολογικό υλικό αναλύθηκαν με την χρήση του Microsoft Excel ενώ τα δεδομένα επιβίωσης αναλύθηκαν με την χρήση του προγράμματος GraphPad Prism version 5 για Windows.

## **6. Χαρακτηριστικά των ασθενών**

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή ο αριθμός των ασθενών με ιστολογικά επιβεβαιωμένο διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα του νεφρού υπό παρακολούθηση έφτασε τους 79. Από το σύνολο των ασθενών 75 ακολούθησαν αγωγή με αναστολείς των πρωτεϊνικών τυροσινικών κινασών εκ των οποίων οι 70 έλαβαν sunitinib, οι 3 pazopanib και οι 2 sorafenib. Από τους 70 ασθενείς που έλαβαν sunitinib οι 6 έλαβαν στη θεραπευτική τους πορεία και temsirolimus, οι 11 και everolimus και ο 1 και everolimus και sorafenib. Από τους 22 ασθενείς που ακολούθησαν αγωγή με αναστολείς του m-Tor (mammalian target of rapamycin) οι 9 έλαβαν temsirolimus και οι 13 everolimus. Βάσει των προαναφερθέντων στοιχείων 3 ασθενείς έλαβαν μόνο temsirolimus, ένας μόνο everolimus και ένας everolimus και sorafenib. Συνολικά έχουν συλλεχθεί 271 δείγματα πλάσματος και ισάριθμα δείγματα ορού του αίματος. Στον πίνακα 9 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των ασθενών, ενώ στον πίνακα 10 η κατανομή των μεταστατικών εστιών στους ασθενείς της μελέτης (υπό sunitinib).

<b>Χαρακτηριστικά των ασθενών υπό sunitinib</b>		<b>%</b>
<b>Αριθμός</b>		
Σύνολο ασθενών	70	100
Προς αξιολόγηση	70	100
<b>Φύλο</b>		
Άνδρες	53	77
Γυναίκες	17	23
<b>Ηλικία</b>		
Μέσος όρος ηλικίας	62	
Εύρος ηλικιών	25-75 έτη	
<b>Γενική κατάσταση</b>		
0	31	44
1	27	38
2	12	18
<b>MSKCC risk classification</b>		
Καλής πρόγνωσης	8	12
Ενδιάμεσης πρόγνωσης	36	52
Κακής πρόγνωσης	26	36

**Πίνακας 9: Γενικά χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη (υπό sunitinib)**

Μεταστατική εστία <sup>1</sup>	Αριθμός ασθενών	%
Τοπική υποτροπή	7	10
Οστά <sup>2</sup>	12	18
Ήπαρ	4	6
Πνεύμονες	18	27
Λεμφαδένες	9	13
Εγκέφαλος	2	3
Άλλες εστίες	4	6

**Πίνακας 10: Κατανομή μεταστατικών εστιών στους ασθενείς της μελέτης (υπό sunitinib)**

1 Το 45% των ασθενών εμφάνιζε πάνω από μια μεταστατική εστία κατά την έναρξη της θεραπείας.

2 Οι ασθενείς με μεταστατικές εστίες στα οστά έλαβαν μηνιαίως ζολεδρονικό οξύ ενώ 7 ασθενείς χρειάστηκε να ακτινοβοληθούν. Παράλληλα 3 ασθενείς χρειάστηκε να υποστούν παρηγορική ορθοπαιδική επέμβαση.

## Γ. ΚΛΙΝΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 1. Δεδομένα επιβίωσης των ασθενών υπό σουνιτινίμη (sunitinib)

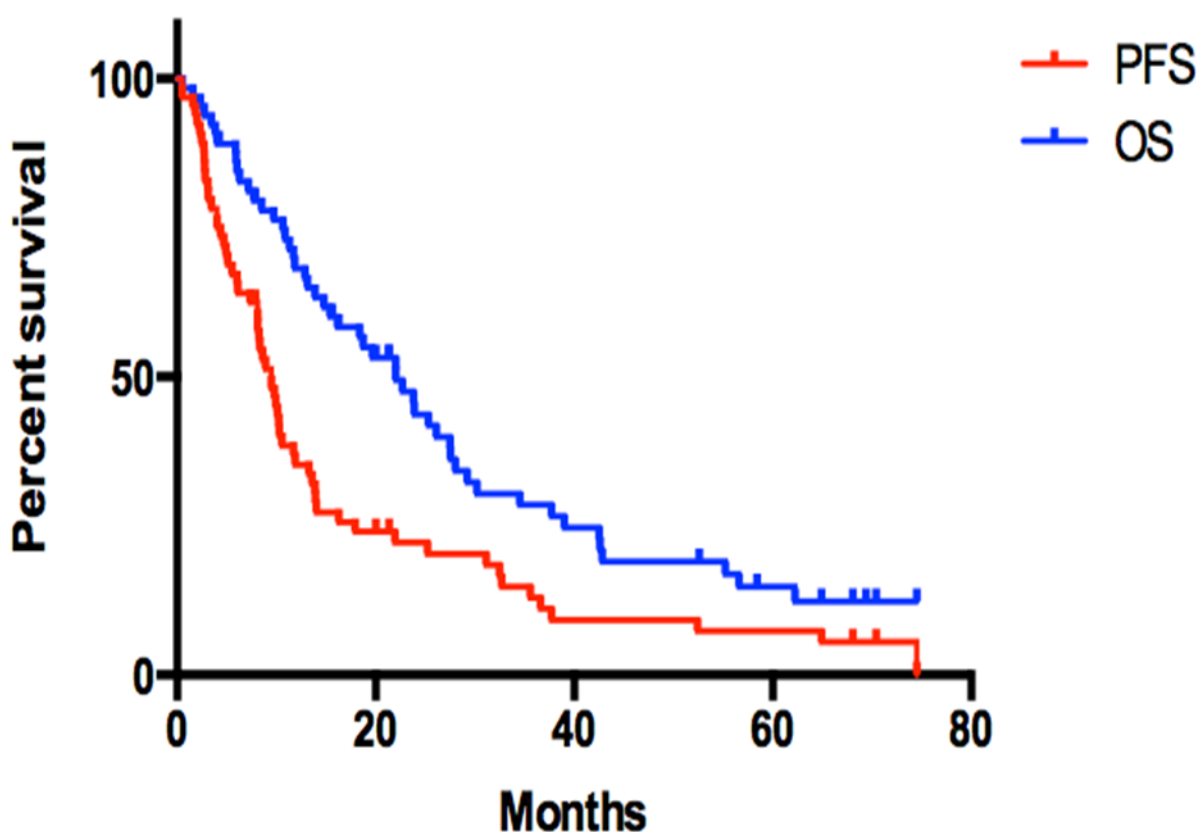
Από τους 70 ασθενείς υπό sunitinib που συνολικά συμμετείχαν στην μελέτη οι 62 αξιολογήθηκαν.

Οι ασθενείς που εμφάνισαν μερική ανταπόκριση στην αγωγή με sunitinib ήταν 24 αντιπροσωπεύοντας το 38,7% των αξιολογηθέντων, ενώ δύο παρουσίασαν ολική ανταπόκριση. Οι ασθενείς με σταθεροποίηση της νόσου αντιπροσώπευαν το 38,7% (n=24) του συνολικού πληθυσμού. Αυτοί που εμφάνισαν εξέλιξη της νόσου κατά τη διάρκεια των πρώτων δύο κύκλων ή και μετά τους δύο πρώτους κύκλους και ως απόρροια διακόπηκε η αγωγή τους, συνιστούν το 19,4% (n=12). Συνολικά το 80,6% (n=50) των ασθενών υπό αξιολόγηση παρουσίασαν κλινικό όφελος.

Όπως αναφέρθηκε, 8 ασθενείς δεν συμμετείχαν στον συνολικό πληθυσμό αξιολόγησης των ασθενών υπό sunitinib για διαφορετικούς λόγους. Ένας ασθενής εμφάνισε σοβαρή αντίδραση στην αγωγή με sunitinib και για το λόγο αυτό αναγκαστήκαμε να διακόψουμε την αγωγή. Στον ασθενή χορηγήθηκε sorafenib. Άλλος ασθενής που δεν συμπεριλήφθηκε στους αξιολογηθέντες ασθενείς εμφάνισε σχεδόν στο τέλος του δεύτερου κύκλου μαζική πνευμονική εμβολή και απεβίωσε. Το παρόν συμβάν αναφέρθηκε τόσο στην εταιρία του φαρμάκου όσο και στον ΕΟΦ σαν σοβαρή ανεπιθύμητη παρενέργεια. Οι υπόλοιποι ασθενείς δεν είχαν αρκετά στοιχεία, ώστε να συμπεριληφθούν στη μελέτη.

Οι συμμετέχοντες ασθενείς υπό sunitinib στην μελέτη έλαβαν κατά μέσο όρο περίπου 6 κύκλους. Το μέσο διάστημα χωρίς πρόοδο νόσου (PFS) που διαπιστώθηκε στους ασθενείς υπό sunitinib ήταν 9,47 μήνες, ενώ η μέση συνολική επιβίωση ήταν 22,03 μήνες όπως φαίνεται σχηματικά στο διάγραμμα που ακολουθεί (διάγραμμα 15).

## mRCC patients treated with Sunitinib



Διάγραμμα 15: Επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (Progression Free Survival, PFS) και συνολική επιβίωση (Overall Survival, OS) των ασθενών με μεταστατικό διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα

Το διάστημα συνολικής επιβίωσης ήταν λογικό να είναι υψηλότερο στους ασθενείς που μετά την αξιολόγηση των πρώτων δυο κύκλων εμφάνισε θετική ανταπόκριση στη θεραπεία παρουσιάζοντας απεικονιστική ύφεση, σε σχέση με αυτούς που παρουσίασαν επιδείνωση της νόσου. Αυτό όμως που ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέρον, ήταν το γεγονός πως δεν φάνηκε να υπάρχει ιδιαίτερη διαφορά στη συνολική επιβίωση, μεταξύ των ασθενών που εμφάνισαν ύφεση της νόσου, και ασθενών που εμφάνισαν απλά σταθεροποίηση στην πρώτη απεικονιστική επανεκτίμηση της πορείας της νόσου.

## **2. Επίπεδα ορμονών**

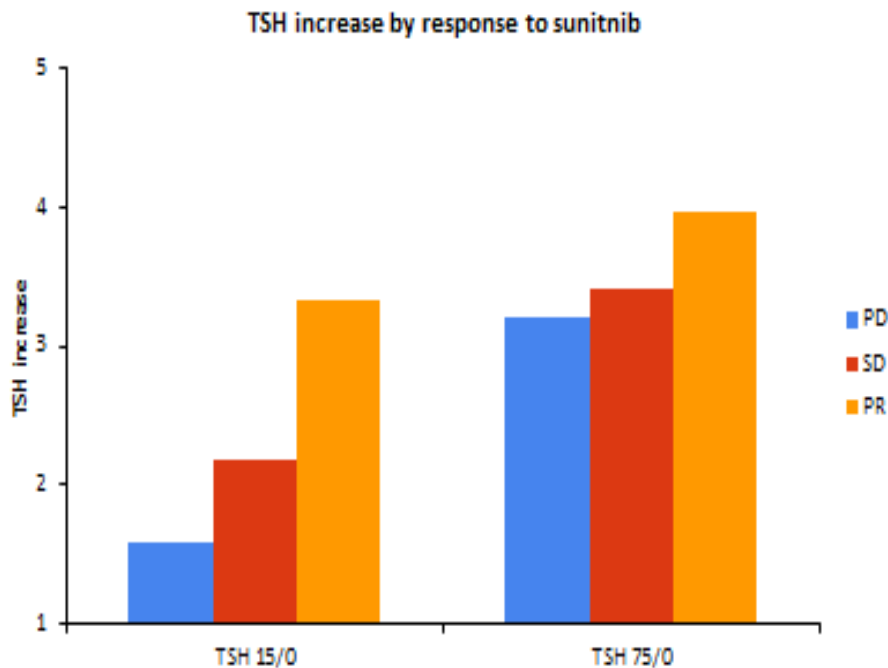
### *Λειτουργία του θυρεοειδούς κατά τη διάρκεια της θεραπείας με sunitinib*

Όλοι οι ασθενείς είχαν εκτίμηση των τιμών του θυρεοειδούς τους κατά την έναρξη. Τρεις ασθενείς διαγνώστηκαν με υποκλινικό υποθυρεοειδισμό. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν θεραπεία με sunitinib και επανεκτιμήθηκαν για τη λειτουργία του θυρεοειδούς 15 ημέρες αργότερα.

Ο υποθυρεοειδισμός προέκυψε νωρίτερα από το αναμενόμενο, δεδομένου ότι 30 ασθενείς (42,86%) είχαν TSH πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο, μόλις 15 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας με sunitinib. Στο τέλος του δεύτερου κύκλου (ημέρα 75) 35 ασθενείς (50,0%) παρουσίαζαν αύξηση της TSH πάνω από την υψηλότερη της κανονικής τιμής. Η μέση τιμή της TSH κατά την έναρξη ήταν 1,96 mU/L και ο μέσος όρος της TSH ήταν 2,79 mU/L. Την ημέρα 15 οι τιμές αυτές της TSH ήταν αντιστοίχως 3,88 mU/L και 5,50 mU/L, ενώ την ημέρα 75 ήταν 5,19 mU/L και 10,04 mU/L. Όλες οι τιμές της fT4 προσδιορίστηκαν εντός των φυσιολογικών ορίων, εκτός από μία περίπτωση ασθενούς που είχε TSH 60,64 mU/L και fT4 7,12 pg/mL (ημέρα 75). Από τους ασθενείς που ανέπτυξαν υποθυρεοειδισμό κατά τη διάρκεια της θεραπείας, μόνο 2 βρέθηκαν με αυξημένα τίτλους TPOAb, 2 ασθενείς με αυξημένη TGAb και 1 ασθενής με αμφότερα τα αντισώματα πάνω από το φυσιολογικό όριο. Επιπλέον, 2 ασθενείς ανέπτυξαν υψηλότερη από το κανονικό TR-Ab, εκ των οποίων 1 είχε διαγνωστεί με υποθυρεοειδισμό. Ανάλογα με τα επίπεδα της TSH σε συνδυασμό με κλινική κατάσταση υποθυρεοειδισμού, προβλεπόταν χορήγηση λεβοθυροξίνης, προκειμένου να επιτευχθεί μια τιμή TSH μεταξύ 0,50 και 2,50 mU/L.

### *Λειτουργία του θυρεοειδούς και ανταπόκριση στη θεραπεία με sunitinib*

Την ημέρα 15 υπήρχαν μόνο 8 ασθενείς που παρουσίασαν μείωση της TSH και η πλειοψηφία είχε αυξημένα επίπεδα TSH. Η μέση αύξηση της TSH ήταν 2,52 φορές από την τις τιμές έναρξης (paired t-test  $p < 0,00001$ ) μετά από 15 ημέρες θεραπείας και 3,68 φορές από τις τιμές έναρξης μετά από 75 ημέρες θεραπείας (μέχρι το τέλος του δεύτερου κύκλου, paired t-test  $p < 0,00001$ ). Η TSH αυξήθηκε σε πρωιμότερο στάδιο (διάγραμμα 16) σε ασθενείς που εμφάνισαν αντικειμενική ανταπόκριση (x 3,33 φορές της προ-θεραπευτικής τιμής την ημέρα 15) από ότι στους ασθενείς που εμφάνισαν σταθεροποίηση της νόσου (x 2,18) ή εξέλιξη της νόσου (x 1,59). Οι διαφορές αυτές ήταν λιγότερο εμφανείς κατά την ημέρα 75 (3,19, 3,41 και 3,96 αντίστοιχα). Στο σύνολό τους, τα στοιχεία αυτά δείχνουν ότι η έγκαιρη αύξηση στα επίπεδα της TSH μπορεί να προβλέψει το κλινικό όφελος από το sunitinib στους με μεταστατικό νεφροκυτταρικό καρκίνο.

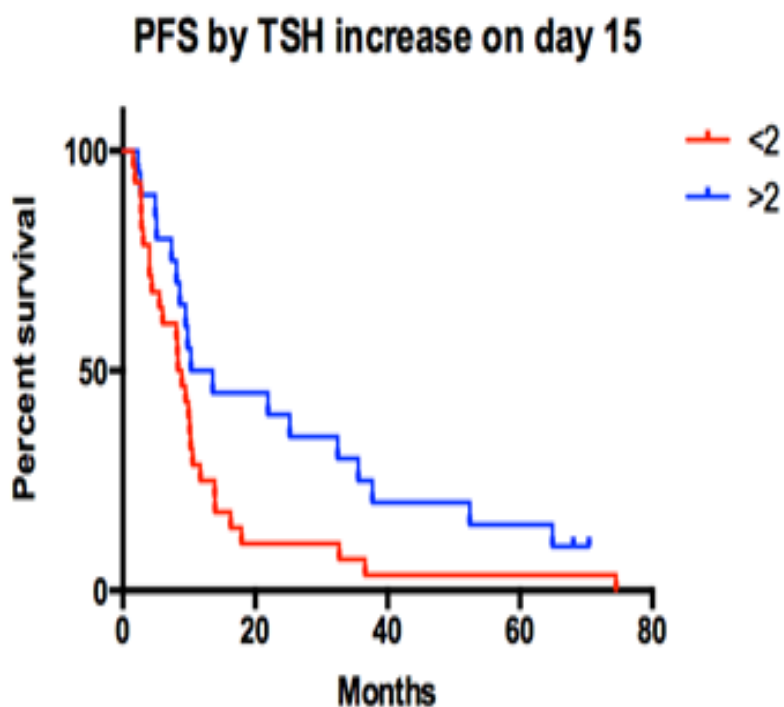


**Διάγραμμα 16:** Στην 15η ημέρα υπήρξε μια μέση αύξηση x 2,52 φορές της προ-θεραπευτικής TSH [paired t-test  $p < 0,00001$ ] και την ημέρα 75 (μέχρι το τέλος του κύκλου 2) x 3,68 φορές της προ-θεραπευτικής TSH (paired t-test  $p < 0,00001$ )



### Επιπτώσεις του υποθυρεοειδισμού στην επιβίωση ασθενών υπό sunitinib

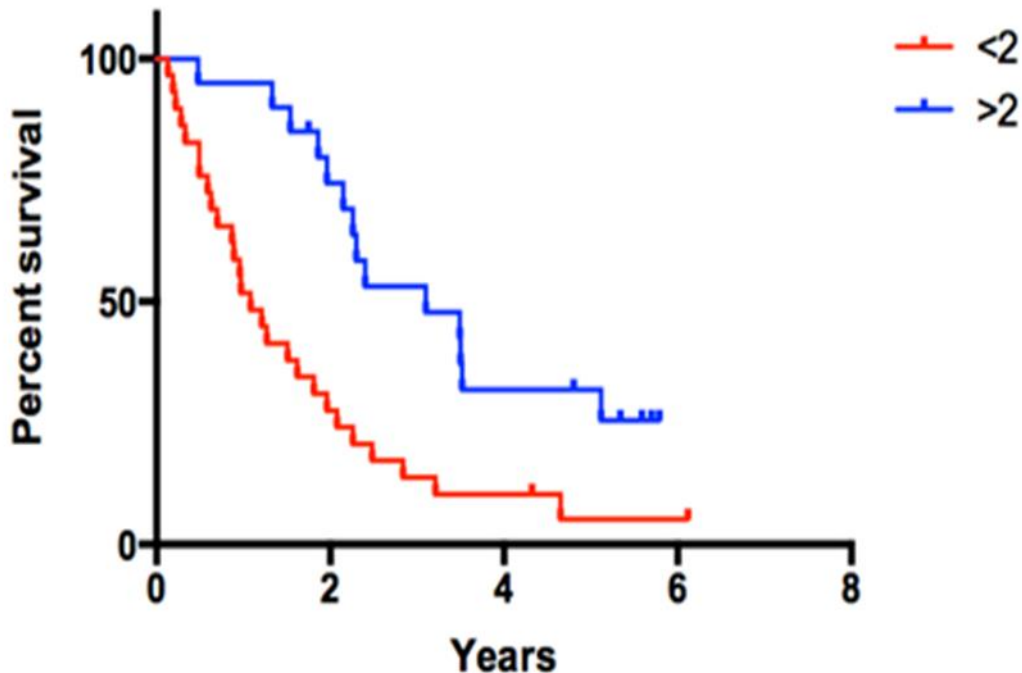
Αναλύσαμε τη συσχέτιση μεταξύ της πρόωρης αύξησης των επιπέδων TSH με την επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) και με τη συνολική επιβίωση (OS). Υπήρξε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της TSH και της PFS στην πρώτη γραμμή sunitinib (διάγραμμα 17).



**Διάγραμμα 17:** Οι ασθενείς με αύξηση της TSH Day 15 > 2 x της TSH Day0 παρουσίασαν μεγαλύτερο PFS (11,92 έναντι 8,63 μηνών, HR 1,76 [95% CI 1,033 έως 3,288] p = 0,0476) (Δοκιμασία log-rank)

Η διάμεση PFS ήταν 11,92 μήνες για τους ασθενείς που είχαν υπερδιπλασιαστεί τα αρχικά επίπεδα TSH και 8,83 μήνες για τους ασθενείς που η αναλογία αυτή ήταν μικρότερη του δύο. Η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική, με τιμή p 0,0476 (log-rank test) και αναλογία κινδύνου 1,76 (95% CI: 1,033 - 3,288). Ωστόσο, η πρόωμη αύξηση της TSH είχε πιο εμφανή επίπτωση στη συνολική επιβίωση (διάγραμμα 18).

## OS by TSH increase on day 15



Διάγραμμα 18: Οι ασθενείς με αύξηση της TSH Day 15 > 2 x της TSH Day0 επέδειξαν μεγαλύτερο OS (3,1 vs 1,08 χρόνια, HR 1,73 [95% CI 1,556 - 5,394 p = 0,0011) (Δοκιμασία log-rank)

Η διάμεση συνολική επιβίωση ήταν 3,1 χρόνια έναντι 1,08 χρόνια σε ασθενείς που είχαν υψηλότερη ή χαμηλότερη από δύο την αναλογία της TSH την ημέρα 15 προς την προ-θεραπευτική TSH. Η αναλογία κινδύνου ήταν 1,73 (95% CI: 1,556 - 5,394) και το αποτέλεσμα ήταν στατιστικά σημαντικό, με τιμή  $p = 0,0011$  (log-rank test). Ο μικρός αριθμός των ασθενών που έλαβαν τα υπόλοιπα TKIs έως το πέρας της συλλογής των δειγμάτων δεν μας επέτρεψε να προχωρήσουμε στην εξαγωγή αντίστοιχων συμπερασμάτων με αυτά του sunitinib.

### *Επίπεδα της TSH σε ασθενείς υπό m-Tor αναστολείς*

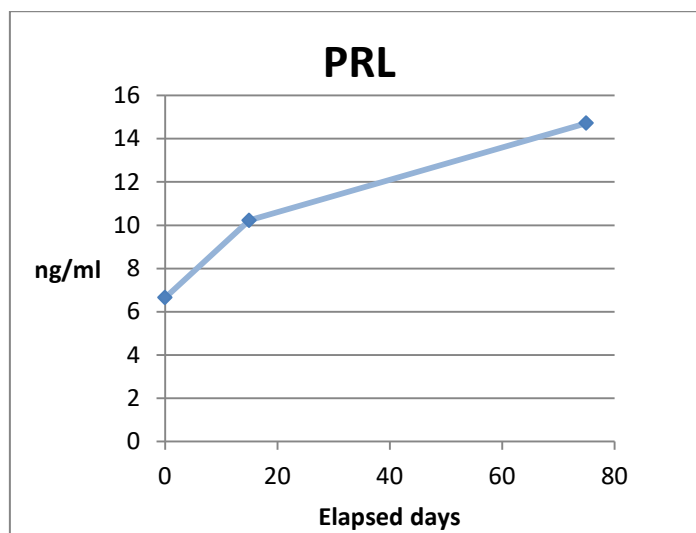
Όπως προαναφέρθηκε από τους 22 ασθενείς που ακολούθησαν αγωγή με αναστολείς του m-Tor (mammalian target of rapamycin) οι 9 έλαβαν temsirolimus και οι 13 everolimus. Ο έλεγχος της μεταβολής της TSH προ και κατά τη διάρκεια της θεραπείας έγινε τόσο ξεχωριστά για τον κάθε ένα παράγοντα, όσο και συνδυαστικά. Παρατηρήθηκε πως δε λάμβαναν χώρα στατιστικά σημαντικές αυξομειώσεις της TSH ούτε για τον κάθε παράγοντα ξεχωριστά, ούτε και συνδυαστικά - οπότε και τα δεδομένα προφανώς ήταν περισσότερα.

### ***Επίπεδα λοιπών ορμονών στο σύνολο των ασθενών***

Πέραν της TSH μετρήθηκαν και οι εξής υπόλοιπες ορμόνες: παραθορμόνη (PTH), καλσιτονίνη (CT), κορτιζόλη, αδρενοκορτικοτρόπος ορμόνη (ACTH), προλακτίνη (PRL), αυξητική ορμόνη (GH), τεστοστερόνη – στους άνδρες και τέλος οιστραδιόλη, ωοθυλακιοτρόπος (FSH) και ωχρινοτρόπος (LH) ορμόνη – στις γυναίκες. Οι ορμόνες αυτές μετρήθηκαν τόσο στους ασθενείς υπό αναστολείς τυροσινικών κινασών όσο και στους ασθενείς υπό αναστολείς m-Tor. Στις μετρήσεις των FSH, LH, οιστραδιόλης, τεστοστερόνης, CT και ACTH που έγιναν προ και κατά τη διάρκεια της θεραπείας και στην σύγκριση αυτών δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις.

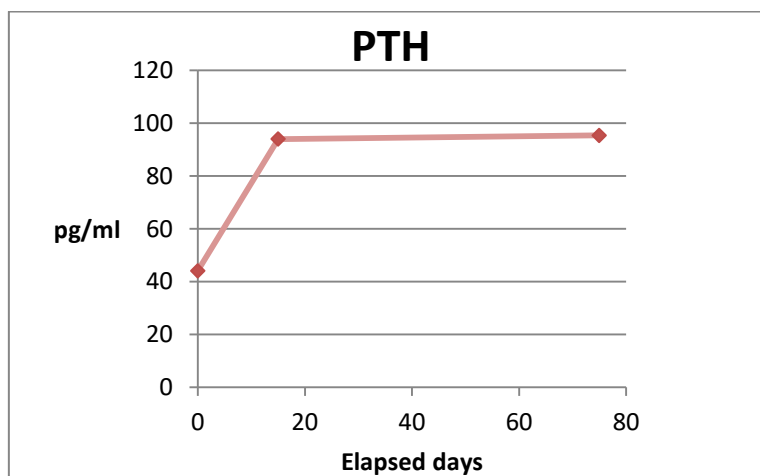
Η αυξητική ορμόνη και η κορτιζόλη στη θεραπεία με sunitinib που ενώ στις πρώτες 15 ημέρες εμφάνισαν αύξηση, στον έλεγχο των 75 ημερών επέστρεψαν στα προ-θεραπευτικά επίπεδα. Εξαιρέση συνιστούν η PRL και η PTH και πάλι στη θεραπεία με sunitinib.

Η προλακτίνη εμφάνισε αύξηση κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Η μέση αύξηση της PRL ήταν 1,38 φορές από τις τιμές έναρξης (paired t-test  $p < 0,02$ ) μετά από 15 ημέρες θεραπείας και 2,05 φορές από τις τιμές έναρξης μετά από 75 ημέρες θεραπείας (μέχρι το τέλος του δεύτερου κύκλου, paired t-test  $p < 0,04$ ).



**Διάγραμμα 19:** . Η μέση αύξηση της PRL ήταν 1,38 φορές από τις τιμές έναρξης μετά από 15 ημέρες θεραπείας και 2,05 φορές από τις τιμές έναρξης μετά από 75 ημέρες θεραπείας.

Η παραθορμόνη παρουσίασε επίσης αύξηση κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Η μέση αύξηση της PTH ήταν 5,26 φορές από τις τιμές έναρξης (paired t-test  $p < 0,00006$ ) μετά από 15 ημέρες θεραπείας και 6,96 φορές από τις τιμές έναρξης μετά από 75 ημέρες θεραπείας (μέχρι το τέλος του δεύτερου κύκλου, paired t-test  $p < 0,00007$ ).



**Διάγραμμα 20:** Η μέση αύξηση της PTH ήταν 5,26 φορές από την τις τιμές έναρξης μετά από 15 ημέρες θεραπείας και 6,96 φορές από τις τιμές έναρξης μετά από 75 ημέρες θεραπείας.

Τόσο η αύξηση της προλακτίνης όσο και της παραθορμόνης δε φάνηκε να συσχετίζονται με την επιβίωση των ασθενών.

## Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση του μεταστατικού καρκίνου του νεφρού διαδραματίζει η εισαγωγή νέων παραγόντων. Δύο κατηγορίες φαρμάκων προσφέρονται για τη θεραπεία του: οι αναστολείς των πρωτεϊνικών τυροσινικών κινασών (TKIs) και οι αναστολείς m-Tor. Εξ αυτών πρωτεύουσα θέση κατέχει στην Ελλάδα η σουνιτινίμη (sunitinib) - αναστολέας τυροσινικής κινάσης - που χρησιμοποιείται στα ογκολογικά κέντρα της χώρας.

Η αντινεοπλασματική δραστηριότητα του sunitinib αρχικά παρατηρήθηκε σε δύο μελέτες φάσης II σε ασθενείς με μεταστατικό νεφροκυτταρικό καρκίνο. Τα επίπεδα της αντικειμενικής ανταπόκρισης στο sunitinib όπως αυτά ανακοινώθηκαν στις δύο αυτές μελέτες ήταν κατά προσέγγιση 40% και η διάμεση επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) 8,2 μήνες [245,246]. Τα αποτελέσματα τυχαιοποιημένης μελέτης φάσης III που συνέκρινε το sunitinib με την ιντερφερόνη - α σε ασθενείς με mRCC, που δεν είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία,

έδειξαν στατιστικά σημαντικό υψηλότερο ποσοστό αντικειμενικής ανταπόκρισης (31% έναντι 6%,  $P < 0,001$ ), διάμεση συνολική επιβίωση (OS) μεγαλύτερη στην ομάδα του sunitinib (26,4 έναντι 21,8 μηνών,  $P=0,13$ ) και μεγαλύτερη επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (11 έναντι 5 μηνών,  $P < 0,001$ ), με αναλογία κινδύνου 0,42 (0,32-0,54,  $P < 0,001$ ) [248]. Στη μελέτη μας η αντικειμενική ανταπόκριση κυμάνθηκε στο 40%, η διάμεση επιβίωση χωρίς εξέλιξη ήταν 9,47 μήνες, ενώ η διάμεση συνολική επιβίωση ήταν 22,03 μήνες [278]. Τόσο η αντικειμενική ανταπόκριση όσο και τα επίπεδα των PFS και OS των ασθενών μας είναι παραπλήσια με αυτά των ασθενών που συμμετείχαν στις προαναφερθείσες μελέτες.

Το sunitinib είναι μία φαρμακευτική αγωγή η οποία - αν και από του στόματος - εμφανίζει σημαντική τοξικότητα. Παρουσιάζει πληθώρα παρενεργειών μεταξύ των οποίων και ορμονικών [331]. Όπως αναφέρθηκε, η ιδέα για την πραγματοποίηση αυτής της διδακτορικής διατριβής ελήφθη μετά την ανακοίνωση των μελετών που αφορούσαν στο sunitinib και την επίδραση του στη θυρεοειδική λειτουργία [273,274,278,329,330]. Ο υποθυρεοειδισμός εμφανίζεται ως μία από τις συχνότερες παρενέργειες στους ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο νεφρού υπό sunitinib. Σε αναδρομικές μελέτες αναφέρεται με ποσοστά εμφάνισης μεταξύ 57 και 85% , ενώ σε προοπτικές μελέτες μεταξύ 37 και 59% [273,274,329]. Η απόκλιση των ποσοστών στους δύο τύπους μελέτης , πιθανόν έγκειται στον πλημμελή και μη συστηματικό θυρεοειδικό έλεγχο κατά τις πρώτες μελέτες. Στους ασθενείς μας η TSH ελέγχθηκε ήδη 15 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας. Ο υποθυρεοειδισμός προέκυψε νωρίτερα από το αναμενόμενο και 30 ασθενείς (42,86%) είχαν TSH πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο, μόνο 15 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας με sunitinib. Στο τέλος του δεύτερου κύκλου (ημέρα 75) 35 ασθενείς (50,0%) είχαν αύξηση της TSH πάνω από την ανώτερη φυσιολογική τιμή. Η διάμεση συγκέντρωση της TSH προθεραπευτικά ήταν 1,96mU/L και η μέση συγκέντρωση της TSH ήταν 2,79mU/L. Την ημέρα 15 οι αντίστοιχες τιμές ήταν 3,88 mU/L και 5,50mU/L, ενώ την ημέρα 75 ήταν 5,19mU/L και 10,04mU/L. Οι ελεύθερες τιμές της T4 βρίσκονταν στα φυσιολογικά όρια, εκτός από μία περίπτωση ασθενούς που είχε συγκέντρωση TSH 60,64mU/L με ελεύθερη τιμή T4 7,12 pg/mL (ημέρα 75). Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με τα αποτελέσματα ανάλογων μελετών. Στη δική μας μελέτη πρώτη φορά αποδείχτηκε η άνοδος της TSH ήδη 15 ημέρες από την έναρξη της θεραπείας.

Αναφορικά δε στα αντισώματα που σχετίζονται με το θυρεοειδή οι Rini et al αναφέρουν πως τα αντισώματα θυρεοσφαιρίνης ήταν μη φυσιολογικά στο 30% των ασθενών υπό sunitinib, χωρίς όμως να υπήρξε συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας τους και της επίπτωσης ή της σοβαρότητας των ανωμαλιών της δοκιμασίας της λειτουργίας του θυρεοειδούς [329]. Στις μελέτες των Wolter et al και των Desai et al τα TPOAb και τα TgAb εμφανίζονταν σε ιδιαίτερα χαμηλό ποσοστό των ασθενών, χωρίς να σχετίζονται με τα επίπεδα της TSH [273,339]. Οι μετρήσεις των TPOAb ήταν αρνητικές στους ασθενείς που είχαν φυσιολογικά

TFTs προθεραπευτικά σύμφωνα με τους Mannavola et al [269]. Αυτά τα ευρήματα δεν υποστηρίζουν μία υποκείμενη αυτοάνοση διαδικασία για ανάπτυξη υποθυρεοειδισμού σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με sunitinib.

Από τους ασθενείς μας που ανέπτυξαν υποθυρεοειδισμό κατά τη διάρκεια της θεραπείας, μόνο 2 βρέθηκαν με αυξημένους τίτλους TPOAb, 2 ασθενείς με αυξημένο TgAb και 1 ασθενής και με τα δύο αντισώματα ανώτερα του φυσιολογικού ορίου. Επιπλέον, 2 ασθενείς παρουσίασαν υψηλότερο από το κανονικό TR-Ab, 1 από τους οποίους διαγνώστηκε με υποθυρεοειδισμό. Τα αποτελέσματα μας βρίσκονται σε συμφωνία με τις παραπάνω μελέτες και στηρίζουν την άποψη πως τυχόν αυτοάνοσες διαδικασίες δε σχετίζονται με την εμφάνιση του υποθυρεοειδισμού σε ασθενείς υπό sunitinib.

Επιπλέον, υπήρχαν στοιχεία που καταδεικνυαν τη συσχέτιση μεταξύ του υποθυρεοειδισμού που εμφανίζεται στους ασθενείς υπό sunitinib με την ανταπόκριση στη θεραπεία και την πρόγνωση των ασθενών. Δημοσιεύσεις γνωστών κέντρων διατείνονταν πως παρατηρήθηκε σε ασθενείς υπό sunitinib ότι όταν παρουσίαζαν υποθυρεοειδισμό εμφάνιζαν και καλύτερη πρόγνωση. Τα πρώτα στοιχεία έκαναν λόγο για μεγαλύτερη περίοδο θεραπείας όσων εμφάνιζαν υποθυρεοειδισμό [273]. Παρατηρήθηκε η καλύτερη πιθανότητα απάντησης στη θεραπεία σε συνδυασμό με μακρύτερη επιβίωση, όταν στους πρώτους 2 μήνες από την έναρξη του παράγοντα αυξανόταν η TSH [275]. Μία έρευνα καταλήγει στο συμπέρασμα της δυνατότητας χρήσης της εμφάνισης του υποθυρεοειδισμού ως προγνωστικό παράγοντα της ολικής επιβίωσης [336]. Επιπρόσθετα υπάρχουν εργασίες που καταδεικνύουν τη θετική επίδραση του υποθυρεοειδισμού στην επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου [271,274,276]. Αξιοσημείωτη είναι μία δημοσίευση στην οποία διαπιστώθηκε πως η ορμονική αντικατάσταση δεν επηρέασε την επιβίωση [276]. Επιπλέον οι ασθενείς που ήταν υποθυρεοειδικοί προτού τους χορηγηθεί sunitinib παρουσίασαν αυξημένη επιβίωση σε σχέση με τους αρχικά ευθυρεοειδικούς [275].

Αντίστοιχη προσέγγιση έγινε και στους ασθενείς υπό sunitinib της παρούσας διατριβής. Στη μελέτη μας, παρατηρήσαμε ότι η αύξηση της TSH συσχετίζεται με κλινικό όφελος. Στο τέλος της δεύτερης εβδομάδας από την έναρξη της θεραπείας, ένας σημαντικός αριθμός ασθενών εμφάνισε αύξηση των τιμών της TSH. Οι ασθενείς που έδειξαν τουλάχιστον διπλασιασμό των προθεραπευτικών τιμών της TSH, ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με σταθεροποίηση της νόσου ή με ανταπόκριση. Αντιθέτως, οι ασθενείς με λιγότερο αξιοσημείωτη ή καθόλου αύξηση της TSH είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα εξέλιξης της νόσου μετά από δύο κύκλους θεραπείας. Μία πολύ σημαντική παρατήρηση στη μελέτη μας είναι ότι το μέγεθος της αύξησης της TSH στα πολύ πρώιμα στάδια της θεραπείας με sunitinib (ημέρα 15), φαίνεται να έχει προγνωστική αξία. Το PFS των ασθενών που εμφάνισαν υπερδιπλασιασμό στις τιμές

της TSH ήταν σημαντικά μεγαλύτερο από το PFS των ασθενών που παρουσίασαν μικρότερη ή καθόλου αύξηση της TSH και αυτό αντανakλάται στη συνολική επιβίωση (OS). Λόγω του ότι η αύξηση του OS είναι πολύ πιο εμφανής από την αύξηση στο PFS, πρέπει να αποκλείσουμε την υπόθεση μιας φαρμακοδυναμικής ή φαρμακοκινητικής επίδρασης του sunitinib και να υποθέσουμε πως μάλλον το γεγονός αυτό συνιστά είτε δράση της γενικής κατηγορίας των TKIs στη λειτουργία του θυρεοειδούς (άνω του 30% των ασθενών μας έλαβε ένα άλλο TKI στη 2<sup>η</sup> ή 3<sup>η</sup> γραμμή) ή αποτέλεσμα του υποθυρεοειδισμού σε ασθενείς με mRCC.

Η χορήγηση θυροξίνης προτείνεται σε όλους τους ασθενείς με κλινικό υποθυρεοειδισμό, ενώ σε ασθενείς με υποκλινικό υποθυρεοειδισμό προτείνεται είτε παρακολούθηση, είτε θεραπευτική αντιμετώπιση [273,275,329]. Πάντως όλοι οι συγγραφείς συμφωνούν ότι όσοι είναι διαγεγνωσμένοι ως υποθυρεοειδικοί προτού την έναρξη του sunitinib πρέπει αρχικά να θεραπεύονται, βάσει της ευρωπαϊκής σύνοψης των χαρακτηριστικών του προϊόντος [340]. Εξάλλου, αυτοί που ήταν υποθυρεοειδικοί πριν τους χορηγηθεί το sunitinib, κατά τη διάρκεια χορήγησης της χρειάστηκαν υψηλότερες δόσεις θυροξίνης [273,329,341]. Στόχος της αγωγής με θυροξίνη είναι σε εργαστηριακό επίπεδο η επαναφορά των τιμών της TSH στα φυσιολογικά όρια [273,275,329]. Τα αποτελέσματα της σε ασθενείς με υποκλινικό υποθυρεοειδισμό ήταν να επιστρέψουν σε φυσιολογικές τιμές TSH, χωρίς αυτό να αποτελεί κανόνα, ενώ και αυτοί με συμπτώματα δεν είχαν όλοι όφελος [273,274,275,329]. Με εξαίρεση έναν συγγραφέα δε συνιστάται τροποποίηση της δοσολογίας του sunitinib σε εμμένοντα υποθυρεοειδισμό [274]. Στους ασθενείς μας ανάλογα με τα επίπεδα της TSH και σε συνδυασμό με την κλινική κατάσταση, συνταγογραφήθηκε λεβοθυροξίνη προκειμένου να επιτευχθεί τιμή TSH μεταξύ 0,50 και 2,50mU/L.

Επιπρόσθετα, παρόμοιες ενδείξεις τοξικότητας στη θυρεοειδική λειτουργία αναφέρονταν και για άλλους αναστολείς τυροσινικών κινασών [342,343]. Στο σύνολο των ασθενών μας υπό αναστολείς τυροσινικών κινασών ένας μικρός αριθμός έλαβε παράγοντες άλλους εκτός του sunitinib – που στην περίοδο της συλλογής των δειγμάτων κατείχε την πρωτοκαθεδρία όσον αφορά στην επιλογή θεραπείας πρώτης γραμμής. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα τα στοιχεία που διαθέταμε να μην επαρκούν, αφενός για να χρησιμοποιηθούν στην εξαγωγή βάσιμων στατιστικών αποτελεσμάτων για τις συγκεκριμένες φαρμακευτικές ουσίες, αφετέρου δεν υπήρχε προφανές όφελος, λόγω του μικρού μεγέθους, η χρήση των δεδομένων για στατιστική ανάλυση στο σύνολο των ασθενών στους οποίους χορηγήθηκαν αναστολείς τυροσινικών κινασών.

Σε συμφωνία με τη διεθνή βιβλιογραφία, αντίστοιχη θυρεοειδική συμπεριφορά δεν παρατηρήθηκε στους ασθενείς υπό m-Tor αναστολείς. Ως επί το πλείστον οι ασθενείς ήταν

ευθυρεοειδικοί με την εξαίρεση ενός ασθενή ο οποίος ήταν υποθυρεοειδικός ήδη πριν την έναρξη της αγωγής με everolimus – χωρίς να έχει προηγηθεί χορήγηση αναστολέων τυροσινικής κινάσης. Οι δε ασθενείς οι οποίοι έγιναν υποθυρεοειδικοί κατά τη διάρκεια της θεραπείας τους με sunitinib και παρέμεναν με αυξημένη TSH στην έναρξη των m-Tor αναστολέων, ήδη στις μετρήσεις της 15<sup>ης</sup> ημέρας η TSH ήταν στα φυσιολογικά επίπεδα με μία εξαίρεση όπου ήταν ελάχιστα αυξημένη του ανώτερου φυσιολογικού και που όμως μειώθηκε περαιτέρω στις επόμενες μετρήσεις.

Αναφορικά δε στην επίδραση των αναστολέων τυροσινικών κινασών και των αναστολέων m-Tor στις λοιπές ορμονικές λειτουργίες πέραν της θυρεοειδικής, κατά την περίοδο συγγραφής της διδακτορικής διατριβής υπήρχαν επιστημονικές αναφορές που σχετίζονταν με επίπτωση τους στο μεταβολισμό του ασβεστίου και του φωσφόρου και συνεκδοχικά στα επίπεδα της παραθυρεοειδικής ορμόνης και στον οστικό μεταβολισμό. Επίσης, σποραδικές αναφορές γίνονταν και για άλλες ορμονικές διαταραχές όπως γυναικομαστία, αμηνόρροια, μείωση της τεστοστερόνης, επινεφριδιακή ανεπάρκεια.

Σχετικά με την παραθορμόνη (PTH), σε 17 ασθενείς με ΧΜΛ υπό imatinib παρουσιάστηκε υψηλή συχνότητα εμφάνισης δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού [292]. Σε 26 ασθενείς που λάμβαναν sunitinib για mRCC, υπερπαραθυρεοειδισμός αναπτύχθηκε στο 69% των ασθενών [293]. Σε μελέτη με 59 ασθενείς υπό sunitinib και sorafenib τα επίπεδα της PTH αυξήθηκαν κατά τη διάρκεια της θεραπείας και επανήλθαν στα φυσιολογικά επίπεδα με το πέρας της [294]. Από την ομάδα των αναστολέων του m-Tor αναφέρεται πως το temsirolimus προκαλεί υποφωσφαταιμία σε 13% των ασθενών όπως έδειξε μελέτη φάσης II [296].

Στη μελέτη μας παρατηρήθηκε αύξηση της PTH ήδη από τη 15<sup>η</sup> ημέρα χορήγησης του sunitinib και μάλιστα όπως καθίσταται καταφανές από την στατιστική ανάλυση η μέση αύξηση τόσο στη 15<sup>η</sup> ημέρα όσο και στο τέλος του 2ου κύκλου ήταν στατιστικά σημαντική με την PTH να εμφανίζει έντονη αυξητική τάση. Πιο συγκεκριμένα, η μέση αύξηση της PTH ήταν 5,26 φορές από τις τιμές έναρξης (paired t-test  $p < 0,00006$ ) μετά από 15 ημέρες θεραπείας και 6,96 φορές από τις τιμές έναρξης μετά από 75 ημέρες θεραπείας (μέχρι το τέλος του δεύτερου κύκλου, paired t-test  $p < 0,00007$ ). Η αύξηση της PTH μελετήθηκε σε συνδυασμό με την επιβίωση των ασθενών, όμως δε βρέθηκε συσχετισμός ανάλογος με αυτόν της αύξησης της TSH. Όπως και με την TSH τα δείγματα δεν ήταν επαρκή, για να εξαχθούν συμπεράσματα για τους υπόλοιπους αναστολείς της τυροσινικής κινάσης, ενώ δεν υπήρξαν ιδιαίτερες αλλαγές στα επίπεδα της κατά τη θεραπεία με τους m-Tor αναστολείς. Να σημειωθεί πως παράλληλα με την PTH μετρήθηκε και η καλσιτονίνη που όμως παρέμενε στα φυσιολογικά επίπεδα με όλους τους θεραπευτικούς παράγοντες.



Αναφορικά στις γονάδες, μία μεγάλη μελέτη ανέλυσε τα επίπεδα τεστοστερόνης σε 38 άνδρες που έλαβαν imatinib για ΧΜΛ κατά την έναρξη και κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Επτά περιπτώσεις γυναικομαστίας παρατηρήθηκαν (18% των ασθενών), γεγονός που συνδέεται με σημαντική μείωση στις συγκεντρώσεις τεστοστερόνης [311]. Επίσης, άνδρες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με everolimus και sirolimus παρουσίασαν μείωση των επιπέδων της τεστοστερόνης και αύξηση αυτών της FSH και της LH [325]. Στις μετρήσεις των FSH, LH, οιστραδιόλης και τεστοστερόνης που έγιναν προ και κατά τη διάρκεια της θεραπείας και στη σύγκριση αυτών δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις. Οι ορμόνες αυτές μετρήθηκαν τόσο στους ασθενείς υπό αναστολείς τυροσινικών κινασών όσο και στους ασθενείς υπό αναστολείς m-Tor.

Παράλληλα μετρήθηκε η προλακτίνη στα χρονικά σημεία που μετρήθηκε και η TSH. Παρατηρήθηκε αύξηση της ήδη από τη 15<sup>η</sup> ημέρα χορήγησης του sunitinib και μάλιστα όπως καθίσταται καταφανές από την στατιστική ανάλυση η μέση αύξηση τόσο στη 15<sup>η</sup> ημέρα όσο και στο τέλος του 2ου κύκλου ήταν στατιστικά σημαντική. Ειδικότερα η μέση αύξηση της PRL ήταν 1,38 φορές από τις τιμές έναρξης (paired t-test  $p < 0,02$ ) μετά από 15 ημέρες θεραπείας και 2,05 φορές από τις τιμές έναρξης μετά από 75 ημέρες θεραπείας (μέχρι το τέλος του δεύτερου κύκλου, paired t-test  $p < 0,04$ ). Η αύξηση της προλακτίνης δε βρέθηκε να σχετίζεται με την επιβίωση. Όπως και με την TSH τα δείγματα δεν ήταν επαρκή, για να εξαχθούν συμπεράσματα για τους υπόλοιπους αναστολείς της τυροσινικής κινάσης, ενώ δεν υπήρξαν ιδιαίτερες αλλαγές στα επίπεδα της κατά τη θεραπεία με τους m-Tor αναστολείς. Αντίστοιχες μελέτες που να καταδεικνύουν αύξηση της προλακτίνης δε βρέθηκαν στη διεθνή βιβλιογραφία.

Σχετικά με την επινεφριδιακή λειτουργία έχει περιγραφεί περιστατικό επινεφριδιακής ανεπάρκειας σε ασθενή υπό sunitinib που παρουσίασε κλινική βελτίωση μετά τη χορήγηση στεροειδών [326]. Σε 25 ασθενείς με ΧΜΛ που έλαβαν θεραπεία με imatinib, έγινε δοκιμή με διέγερση γλυκαγόνης και με ACTH για να αξιολογηθεί ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων. Δώδεκα (48%) ασθενείς διαγνώστηκαν με επινεφριδιακή ανεπάρκεια σε αυτή τη μελέτη, υποδεικνύοντας μία αύξηση του επιπολασμού της υποκλινικής δυσλειτουργίας του άξονα σε ασθενείς που λαμβάνουν imatinib [327]. Οι μετρήσεις στους ασθενείς μας δεν έδειξαν σημαντικές αποκλίσεις της ACTH με κανέναν από τους θεραπευτικούς παράγοντες που χρησιμοποιήθηκαν. Επιπλέον, μετρήθηκε η κορτιζόλη και στη θεραπεία με sunitinib εμφάνισε άνοδο τιμών στις πρώτες 15 ημέρες, όμως στον έλεγχο των 75 ημερών επέστρεψε στα προθεραπευτικά επίπεδα.

Τέλος, η θεραπεία με imatinib έχει επίσης συνδεθεί με ανεπάρκεια της αυξητικής ορμόνης (GH) σε ενήλικες. Δεκαεπτά ενήλικες με ΧΜΛ σε θεραπεία με imatinib υποβλήθηκαν σε

δοκιμή διέγερσης με γλυκαγόνη και το 70% είχαν σοβαρή μείωση της GH [306]. Μία ακόμη έρευνα με δεκαοκτώ παιδιά με ΧΜΛ υπό imatinib έδειξε πως όλοι οι ασθενείς είχαν είτε έλλειψη αυξητικής ορμόνης, είτε έλλειψη IGF-1, ή και των δύο [307]. Στους ασθενείς μας η αυξητική ορμόνη στη θεραπεία με sunitinib εμφάνισε άνοδο τιμών στις πρώτες 15 ημέρες, όμως στον έλεγχο των 75 ημερών επέστρεψε - όπως και η κορτιζόλη - στα προθεραπευτικά επίπεδα.

## **Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκε η επίδραση των στοχευμένων θεραπειών στα επίπεδα πλήθους ορμονών σε ασθενείς με μεταστατικό διαυγοκυτταρικό καρκίνο του νεφρού. Δύο κατηγορίες στοχευμένων φαρμάκων συμπεριλήφθηκαν στην έρευνα μας. Οι αναστολείς της τυροσινικής κινάσης και αναστολείς του m-Tor. Κατά πρωτοκαθεδρία οι ασθενείς ακολούθησαν αγωγή με το sunitinib.

Ιδιαίτερο βάρος δόθηκε στα αποτελέσματα που συλλέχθηκαν από τους ασθενείς υπό sunitinib χάρη στον αυξημένο αριθμό συμμετοχής τους στη μελέτη. Η μελέτη εξετάζει τα ακόλουθα τρία σημεία: την ανταπόκριση των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του νεφρού στη θεραπεία με sunitinib, την επαγόμενη αύξηση της TSH και κατ'επέκταση την εμφάνιση του υποθυρεοειδισμού και τέλος την επίδραση του τελευταίου στην επιβίωση των ασθενών.

Όσον αφορά στην ανταπόκριση της θεραπείας με sunitinib, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου 9,47 μήνες και συνολική επιβίωση 22,03 μηνών, δεδομένα που είναι σύμφωνα με τα προηγούμενα αντίστοιχα δημοσιευμένα αποτελέσματα.

Ο υποθυρεοειδισμός έχει αναφερθεί ως μία τυπική και συνηθισμένη παρενέργεια της θεραπείας με sunitinib από πολλούς συγγραφείς σε αναδρομικές και προοπτικές μελέτες. Στην αναδρομική μελέτη μας, παρατηρήσαμε ότι το 42,86% των ασθενών εμφάνιζαν ήδη υποθυρεοειδισμό μόνο δύο εβδομάδες μετά την έναρξη με το sunitinib. Η εμφάνιση του υποθυρεοειδισμού αυξανόταν όσο η θεραπεία με sunitinib συνεχιζόταν και το 50% των ασθενών είχε υποθυρεοειδισμό στο τέλος του δεύτερου κύκλου θεραπείας. Το γεγονός ότι σχεδόν όλοι οι ασθενείς είχαν φυσιολογικά επίπεδα αντισωμάτων του θυρεοειδούς, εναρμονίζεται με το συμπέρασμα πολλών μελετών πως οι αυτοσωματικοί μηχανισμοί δεν παίζουν κρίσιμο ρόλο στην εμφάνιση του υποθυρεοειδισμού. Οι τίτλοι της φυσιολογική ελεύθερης T4 σε όλους τους ασθενείς - με την εξαίρεση μίας περίπτωση - αποδεικνύει την εμφάνιση υποκλινικού υποθυρεοειδισμού και την ανάγκη θεραπείας με λεβοθυροξίνη κατά κύριο λόγο ανάλογα με την κλινική εικόνα.

Ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχουν συσχετίσει την παρουσία του υποθυρεοειδισμού με μεγαλύτερο PFS και OS, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Στη μελέτη μας παρατηρήσαμε ότι η πρόωμη αύξηση της TSH συνδέεται με κλινικό όφελος. Ήδη από το τέλος της δεύτερης εβδομάδας από την έναρξη της θεραπείας, ένας σημαντικός αριθμός ασθενών εμφάνισε άνοδο στις τιμές της TSH. Οι ασθενείς που εμφάνισαν τουλάχιστον διπλασιασμό του αρχικού τίτλου της TSH ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με σταθεροποίηση ή υποχώρηση της νόσου. Από την άλλη πλευρά, οι ασθενείς με λιγότερο αξιοσημείωτη αύξηση ή μη αυξημένη TSH στον ορό, είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν εξέλιξη της νόσου μετά από δύο κύκλους θεραπείας.

Πιο σημαντική είναι η παρατήρηση ότι η διπλάσια αύξηση της TSH κατά την ημέρα 15 φαίνεται να έχει προγνωστική αξία. Το PFS από τους ασθενείς που επέδειξαν υπερδιπλασιασμό της τιμής της TSH, ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από το PFS των ασθενών που παρουσίασαν μικρότερη ή καθόλου αύξηση της TSH και αυτό αντανακλάται στη συνολική επιβίωση. Καθώς η αύξηση της συνολικής επιβίωσης είναι πολύ πιο προεξέχουσα από ότι η αύξηση της επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου, θα πρέπει να αποκλειστεί η υπόθεση μίας φαρμακοδυναμικής ή φαρμακοκινητικής επίδρασης της θεραπείας με sunitinib και να ληφθεί υπόψη η υπόθεση του χαρακτηριστικού της κατηγορίας στη λειτουργία του θυρεοειδούς (αφού πάνω από το 30% των ασθενών μας έλαβαν κάποιον άλλο αναστολέα τυροσινικής κινάσης ως θεραπεία 2<sup>ης</sup> ή 3<sup>ης</sup> γραμμής) ή μία απλή επίδραση του υποθυρεοειδισμού στο μεταστατικό καρκίνο του νεφρού.

Αναφορικά στις υπόλοιπες ορμόνες η παραθορμόνη και η προλακτίνη παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αυξητική τάση υπό sunitinib, χωρίς να υπάρχει συσχέτιση με την επιβίωση. Η GH και η κορτιζόλη εμφάνισαν άνοδο τη 15<sup>η</sup> ημέρα από την έναρξη με sunitinib, όμως στον έλεγχο της 75<sup>ης</sup> ημέρας οι τιμές τους επέστρεψαν στα φυσιολογικά επίπεδα. Οι ACTH, FSH, LH, οιστραδιόλη, τεστοστερόνη και καλσιτονίνη δεν είχαν αξιοσημείωτες αυξομειώσεις με κανέναν από τους θεραπευτικούς παράγοντες.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Παπαδόπουλος Ι, Κατρίτσης Ε; Ανατομική του ανθρώπου, Εκδόσεις Λίτσας, 2002
2. Eaton D. C., Pooler J. Vanders; Renal Physiology, Eighth Edition (Lange Medical Books), 2013
3. Moore et al; Clinically Oriented Anatomy 7th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2014
4. Standring S; Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice, Churchill Livingstone/Elsevier, 2008
5. Snell R; Clinical Anatomy: An Illustrated Review with Questions and Explanations, Lippincott Williams & Wilkins, 2004
6. Sant S; Embryology For Medical Students, Jaypee Brothers Publishers, 2008
7. Jennette C et al; Heptinstall's Pathology of the Kidney, Lippincott Williams & Wilkins, 2006
8. Jemal A et al; Cancer statistics 2010, CA Cancer J Clin. 2010 Sep-Oct, 60(5): 277-300 Epub 2010 Jul 7. Erratum in: CA Cancer J Clin. 2011, 61(2): 133-4
9. Russo P; Renal cell carcinoma: presentation, staging, and surgical treatment; Semin Oncol. 2000, 27(2): 160-76
10. Cohen HT, McGovern FJ; Renal-cell carcinoma; N Engl J Med. 2005, 353(23): 2477-90
11. Kim WY et al; Role of VHL gene mutation in human cancer, J Clin Oncol 2004 , 22(24): 4991-5004
12. Linehan WM et al; The genetic basis of kidney cancer: a metabolic disease, Nat Rev Urol. 2010, 7(5): 277-85
13. Yang JC et al; Randomized study of high-dose and low-dose interleukin-2 in patients with metastatic renal cancer, J Clin Oncol. 2003, 21(16): 3127-32
14. McDermott DF et al; Randomized phase III trial of high-dose interleukin-2 versus subcutaneous interleukin-2 and interferon in patients with metastatic renal cell carcinoma, J Clin Oncol. 2005, 23(1): 133-41. Erratum in: J Clin Oncol. 2005, 23(12): 2877
15. Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J; Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma, J Clin Oncol. 1999, 17(8): 2530-40
16. Ferlay J et al; Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008, Int J Cancer. 2010, 127(12): 2893-917
17. Nguyen MM et al; The evolving presentation of renal carcinoma in the United States: trends from the Surveillance, Epidemiology, and End Results program, J Urol. 2006, 176(6 Pt 1): 2397
18. Stafford HS et al; Racial/ethnic and gender disparities in renal cell carcinoma incidence and survival, J Urol. 2008, 179(5): 1704
19. Pantuck AJ et al; The changing natural history of renal cell carcinoma, J Urol. 2001, 166(5): 1611
20. Woldrich JM et al; Sex differences in renal cell cancer presentation and survival: an analysis of the National Cancer Database, 1993-2004, J Urol. 2008, 179(5):1709
21. Thompson RH et al; Renal cell carcinoma in young and old patients--is there a difference? J Urol. 2008, 180(4):1262-6
22. Cook A et al; Pediatric renal cell carcinoma: single institution 25-year case series and initial experience with partial nephrectomy, J Urol. 2006, 175(4):1456
23. <http://www.seer.cancer.gov/faststats/selections.php?#Output>
24. Kane CJ et al; Renal cell cancer stage migration: analysis of the National Cancer Data Base, Cancer 2008, 113(1):78
25. Hunt JD et al; Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies, Int J Cancer. 2005, 114(1):101
26. Flaherty KT et al; A prospective study of body mass index, hypertension, and smoking and the risk of renal cell carcinoma (United States), Cancer Causes Control. 2005, 16(9):1099
27. Zucchetto A et al; History of treated hypertension and diabetes mellitus and risk of renal cell cancer, Ann Oncol. 2007, 18(3):596

28. Mandel JS et al; International renal-cell cancer study IV. Occupation, *Int J Cancer*. 1995, 61(5):601
29. Pischon T et al; Body size and risk of renal cell carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC), *Int J Cancer*. 2006, 118(3):728
30. Truong LD et al; Renal neoplasm in acquired cystic kidney disease, *Am J Kidney Dis*. 1995, 26(1):1
31. Cho E et al; Prospective study of use of analgesics in relation to the risk of renal cell cancer: The Nurses' Health Study and Health Professionals Follow-up Study, American Association of Cancer Research meeting, 2010 (abstract #4864)
32. Gnarr JR et al; Molecular genetic studies of sporadic and familial renal cell carcinoma, *Urol Clin North Am*. 1993, 20(2):207
33. Keith DS et al; Renal cell carcinoma in autosomal dominant polycystic kidney disease, *J Am Soc Nephrol* 1994, 4(9):1661
34. Argani P et al; Translocation carcinomas of the kidney after chemotherapy in childhood, *J Clin Oncol*. 2006, 24(10):1529
35. Lew JQ et al; Alcohol consumption and risk of renal cell cancer: the NIH-AARP diet and health study, *Br J Cancer*. 2011, 104(3):537
36. Vogelzang NJ et al; Radiation induced renal cell cancer: a report of 4 cases and review of the literature, *J Urol*. 1998, 160 (6 Pt 1):1987
37. Kabat GC et al; A cohort study of reproductive and hormonal factors and renal cell cancer risk in women, *Br J Cancer* 2007, 96(5):845
38. Delahunt B, Eble JN. Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors. *Mod Pathol* 1997, 10:537-44
39. Brunelli M et al; Eosinophilic and classic chromophobe renal cell carcinomas have similar frequent losses of multiple chromosomes from among chromosomes 1, 2, 6, 10, and 17, and this pattern of genetic abnormality is not present in renal oncocytoma, *Mod Pathol* 2005, 18:161-9
40. Nagy A et al; Somatic mitochondrial DNA mutations in human chromophobe renal cell carcinomas, *Genes Chromosomes Cancer* 2002, 35:256-60
41. Speicher MR et al; Specific loss of chromosomes 1, 2, 6, 10, 13, 17, and 21 in chromophobe renal cell carcinomas revealed by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol* 1994, 145:356-64
42. Srigley JR, Eble JN; Collecting duct carcinoma of kidney, *Semin Diagn Pathol* 1998, 15:54-67
43. Chao D et al; Collecting duct renal cell carcinoma: clinical study of a rare tumor, *J Urol* 2002, 167:71-4
44. Davis Jr CJ et al; Renal medullary carcinoma; the seventh sickle cell nephropathy, *IS J Surg Pathol* 1995, 19:1-11
45. Argani P et al; Aberrant nuclear immunoreactivity for TFE3 in neoplasms with TFE3 gene fusions: a sensitive and specific immunohistochemical assay, *Am J Surg Pathol* 2003, 27:750-61
46. Koyle MA et al; Long-term urological complications in survivors younger than 15 months of advanced stage abdominal neuroblastoma, *J Urol* 2001, 166:1455-8
47. Rakozy C et al; Low-grade tubular-mucinous renal neoplasms: morphologic, immunohistochemical, and genetic features, *Mod Pathol* 2002, 15:1162-71
48. Grignon DJ, Eble JN. Papillary and metanephric adenomas of the kidney, *Semin Diagn Pathol* 1998, 15:41-53
49. Kaelin WG Jr; Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome, *Nat Rev Cancer* 2002, 2(9):673-82, Review
50. Zbar B et al; Germline mutations in the Von Hippel-Lindau disease (VHL) gene in families from North America, Europe, and Japan, *Hum Mutat*. 1996, 8(4):348-57
51. Kim WY, Kaelin WG; Role of VHL gene mutation in human cancer, *J Clin Oncol*. 2004 Dec 15, 22(24):4991-5004
52. Gnarr JR et al; Molecular cloning of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene and its role in renal carcinoma, *Biochim Biophys Acta* 1996, 1242(3):201-10, Review
53. Zhuang Z et al; von Hippel-Lindau disease gene deletion detected in microdissected sporadic human colon carcinoma specimens, *Hum Pathol*. 1996, 27(2):152-6

54. Giles RH et al; Interplay between VHL/HIF1alpha and Wnt/beta-catenin pathways during colorectal tumorigenesis, *Oncogene* 2006, 25(21):3065-70
55. Iliopoulos O et al; Tumour suppression by the human von Hippel-Lindau gene product, *Nat Med.* 1995 Aug,1(8):822-6
56. Blankenship C et al; Alternate choice of initiation codon produces a biologically active product of the von Hippel Lindau gene with tumor suppressor activity, *Oncogene.* 1999 Feb 25,18(8):1529-35
57. Ye Y et al; Subcellular localization of the von Hippel-Lindau disease gene product is cell cycle-dependent, *Int J Cancer* 1998,78(1):62-9
58. Stebbins CE et al; Structure of the VHL-ElonginC-ElonginB complex: implications for VHL tumor suppressor function, *Science* 1999, 284(5413):455-61
59. Ohh M et al; Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the beta-domain of the von Hippel-Lindau protein, *Nat Cell Biol.* 2000, 2(7):423-7
60. Schofield CJ, Ratcliffe PJ; Oxygen sensing by HIF hydroxylases, *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004, 5(5):343-54
61. Berra E et al; HIF prolyl-hydroxylase 2 is the key oxygen sensor setting low steady-state levels of HIF-1alpha in normoxia, *EMBO J.* 2003 Aug 15, 22(16):4082-90
62. Wang V et al; Differential gene up-regulation by hypoxia-inducible factor-1alpha and hypoxia-inducible factor-2alpha in HEK293T cells, *Cancer Res.* 2005 Apr 15, 65(8):3299-306
63. Hu CJ et al; Differential roles of hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) and HIF-2alpha in hypoxic gene regulation, *Mol Cell Biol.* 2003 Dec, 23(24):9361-74
64. Kurban G et al; Characterization of a von Hippel Lindau pathway involved in extracellular matrix remodeling, cell invasion, and angiogenesis, *Cancer Res.* 2006 Feb 1, 66(3):1313-9
65. Mandriota SJ et al; HIF activation identifies early lesions in VHL kidneys: evidence for site-specific tumor suppressor function in the nephron, *Cancer Cell.* 2002, 1(5):459-68
66. Davidowitz EJ et al; VHL induces renal cell differentiation and growth arrest through integration of cell-cell and cell-extracellular matrix signaling, *Mol Cell Biol.* 2001, 21(3):865-74
67. Michaelson IC; The mode of development of the vascular system of the retina, with some observations on its significance for certain retinal diseases, *Trans Ophthalmol Soc UK* 1948, 68: 137-80
68. Leung DW et al; Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen, *Science* 1989, 246(4935):1306-9
69. Hanahan D, Weinberg RA; The hallmarks of cancer, *Cell* 2000, 100(1):57-70, Review
70. Ferrara N, Henzel WJ; Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells, *Biochem Biophys Res Commun.* 1989, 161(2):851-8
71. Vincenti V et al; Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3, *Circulation.* 1996, 93(8):1493-5
72. Takahashi H, Shibuya M; The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions, *Clin Sci (Lond)* 2005, 109(3):227-41, Review
73. Poltorak Z, Cohen T, Sivan R et al; VEGF145, a secreted vascular endothelial growth factor isoform that binds to extracellular matrix, *J Biol Chem.* 1997 Mar 14, 272(11):7151-8
74. Tischer E et al; The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing; *J Biol Chem.* 1991 Jun 25, 266(18):11947-54
75. Ferrara N, Davis-Smyth T; The biology of vascular endothelial growth factor, *Endocr Rev.* 1997, 18(1):4-25
76. Paavonen K et al; Vascular endothelial growth factors C and D and their VEGFR-2 and 3 receptors in blood and lymphatic vessels in healthy and arthritic synovium, *J Rheumatol.* 2002, 29(1):39-45
77. Fukumura D et al; Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells *Cell* 1998, 94(6):715-25
78. Helmlinger G et al; Formation of endothelial cell networks, *Nature* 2000, 405(6783):139-41

79. Hippenstiel S et al; VEGF induces hyperpermeability by a direct action on endothelial cells, *Am J Physiol.* 1998, 274(5 Pt 1):L678-84
80. Lal BK et al; VEGF increases permeability of the endothelial cell monolayer by activation of PKB/akt, endothelial nitric-oxide synthase, and MAP kinase pathways, *Microvasc Res.* 2001, 62(3):252-62
81. Bates DO et al; Vascular endothelial growth factor and microvascular permeability, *Microcirculation* 1999, 6(2):83-96
82. Dantz D et al; Vascular endothelial growth factor: a novel endocrine defensive response to hypoglycemia, *J Clin Endocrinol Metab.* 2002, 87(2):835-40
83. Holash J et al; Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF *Science* 1999, 284(5422):1994-8
84. Folkman J; Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease, *Nat Med.* 1995, 1(1):27-31
85. Ross R; Angiogenesis. Successful growth of tumours; *Nature* 1989, 339(6219):16-7
86. Tsuzuki Y et al; Vascular endothelial growth factor (VEGF) modulation by targeting hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ --> hypoxia response element--> VEGF cascade differentially regulates vascular response and growth rate in tumors *Cancer Res.* 2000, 60(22):6248-52
87. Duensing S et al; Increased serum levels of basic fibroblast growth factor (bFGF) are associated with progressive lung metastases in advanced renal cell carcinoma patients, *Anticancer Res.* 1995, 15(5B):2331-3
88. Fuhrmann-Benzakein E et al; Elevated levels of angiogenic cytokines in the plasma of cancer patients, *Int J Cancer* 2000, 85(1):40-5
89. Shweiki D et al; Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis *Nature* 1992, 359(6398):843-5
90. Ferrara N et al; The biology of VEGF and its receptors, *Nat Med.* 2003, 9(6):669-76, Review
91. Karkkainen MJ, Petrova TV; Vascular endothelial growth factor receptors in the regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis, *Oncogene* 2000, 19(49):5598-605, Review
92. Pugh CW, Ratcliffe PJ; Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system, *Nat Med.* 2003, 9(6):677-84, Review
93. Fong GH, Rossant J et al; Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium, *Nature* 1995, 376(6535):66-70
94. Fong GH, Zhang L et al; Increased hemangioblast commitment, not vascular disorganization, is the primary defect in flt-1 knock-out mice, *Development.* 1999, 126(13):3015-25
95. Zeng H et al; Vascular permeability factor (VPF)/vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor-1 down-modulates VPF/VEGF receptor-2-mediated endothelial cell proliferation, but not migration, through phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathways, *J Biol Chem.* 2001, 276(29):26969-79. Epub 2001
96. Hiratsuka S et al; Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice, *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95(16):9349-54
97. Hattori K et al; Placental growth factor reconstitutes hematopoiesis by recruiting VEGFR1(+) stem cells from bone-marrow microenvironment, *Nat Med.* 2002, 8(8):841-9. Epub 2002
98. Sawano A et al; Flt-1, vascular endothelial growth factor receptor 1, is a novel cell surface marker for the lineage of monocyte-macrophages in humans, *Blood* 2001, 97(3):785-91
99. Rafii S et al; Vascular and haematopoietic stem cells: novel targets for anti-angiogenesis therapy, *Nat Rev Cancer* 2002, 2(11):826-35, Review
100. Autiero M et al; Placental growth factor and its receptor, vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders, *J Thromb Haemost.* 2003,1(7):1356-70, Review
101. Ziegler BL et al; KDR receptor: a key marker defining hematopoietic stem cells, *Science* 1999, 285(5433):1553-8

102. Shalaby F et al; Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice, *Nature* 1995, 376(6535):62-6
103. Dimmeler S et al; Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation, *Nature* 1999, 399(6736):601-5
104. Dumont DJ et al; Cardiovascular failure in mouse embryos deficient in VEGF receptor-3, *Science* 1998,282(5390):946-9
105. Hamada K et al; VEGF-C signaling pathways through VEGFR-2 and VEGFR-3 in vasculoangiogenesis and hematopoiesis, *Blood* 2000, 96(12):3793-800
106. Kaipainen A et al; Expression of the fms-like tyrosine kinase 4 gene becomes restricted to lymphatic endothelium during development, *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, 92(8):3566-70
107. He Y et al; Suppression of tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis by blocking vascular endothelial growth factor receptor 3 signaling, *J Natl Cancer Inst.* 2002, 94(11):819-25
108. Padera TP et al; Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumor lymphatics, *Science* 2002, 296(5574):1883-6, Epub 2002
109. Mäkinen T et al; Isolated lymphatic endothelial cells transduce growth, survival and migratory signals via the VEGF-C/D receptor VEGFR-3, *EMBO J.* 2001, 20(17):4762-73
110. Karkkainen MJ, Haiko P et al; Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins, *Nat Immunol.* 2004, 5(1):74-80
111. Matsumura K et al; Modulation of VEGFR-2-mediated endothelial-cell activity by VEGF-C/VEGFR-3, *Blood* 2003, 101(4):1367-74, Epub 2002
112. Karkkainen MJ, Ferrell RE et al; Missense mutations interfere with VEGFR-3 signalling in primary lymphedema, *Nat Genet.* 2000, 25(2):153-9
113. Soker S, Takashima S et al; Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor, *Cell* 1998, 92(6):735-45
114. Soker S, Fidder H et al; Characterization of novel vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors on tumor cells that bind VEGF165 via its exon 7-encoded domain, *J Biol Chem.* 1996, 271(10):5761-7
115. Gluzman-Poltorak Z et al; Neuropilin-2 is a receptor for the vascular endothelial growth factor (VEGF) forms VEGF-145 and VEGF-165, *J Biol Chem.* 2000, 275(38):29922
116. Mäkinen T et al; Differential binding of vascular endothelial growth factor B splice and proteolytic isoforms to neuropilin-1, *J Biol Chem.* 1999, 274(30):21217-22
117. Miao HQ, Klagsbrun M; Neuropilin is a mediator of angiogenesis, *Cancer Metastasis Rev.* 2000, 19(1-2):29-37
118. Miao HQ, Lee P et al; Neuropilin-1 expression by tumor cells promotes tumor angiogenesis and progression, *FASEB J.* 2000, 14(15):2532-9
119. Kawasaki T et al; A requirement for neuropilin-1 in embryonic vessel formation, *Development* 1999, 126(21):4895-902
120. Kitsukawa T et al; Overexpression of a membrane protein, neuropilin, in chimeric mice causes anomalies in the cardiovascular system, nervous system and limbs, *Development* 1995, 121(12):4309-18
121. Karkkainen MJ, Saaristo A et al; A model for gene therapy of human hereditary lymphedema, *Proc Natl Acad Sci USA* 2001, 98(22):12677-82
122. Yuan L et al; Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice, *Development* 2002, 129(20):4797-806
123. Gagnon ML et al; Identification of a natural soluble neuropilin-1 that binds vascular endothelial growth factor: In vivo expression and antitumor activity, *Proc Natl Acad Sci USA* 2000, 97(6):2573-8
124. Soker S; Neuropilin in the midst of cell migration and retraction, *Int J Biochem Cell Biol.* 2001, 33(4):433-7
125. Whitaker GB et al; Vascular endothelial growth factor receptor-2 and neuropilin-1 form a receptor complex that is responsible for the differential signaling potency of VEGF(165) and VEGF(121), *J Biol Chem.* 2001, 276(27):25520-31
126. Eliceiri BP, Cheresh DA; Adhesion events in angiogenesis, *Curr Opin Cell Biol.* 2001, 13(5):563-8



127. Soldi R et al; Role of alphavbeta3 integrin in the activation of vascular endothelial growth factor receptor-2, *EMBO J.* 1999, 18(4):882-92
128. Carmeliet P; Integrin indecision, *Nat Med.* 2002, 8(1):14-6
129. Zanetti A et al; Vascular endothelial growth factor induces SHC association with vascular endothelial cadherin: a potential feedback mechanism to control vascular endothelial growth factor receptor-2 signaling, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002, 22(4):617-22
130. Ljungberg B et al; Tumour vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA in relation to serum VEGF protein levels and tumour progression in human renal cell carcinoma, *Urol Res.* 2003, 31(5):335-40, Epub 2003
131. Leppert JT et al; Targeting the vascular endothelial growth factor pathway in renal cell carcinoma, a tissue array based analysis, *J Clin Oncol* 2005, 23:386s
132. Fredriksson L et al; The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms, *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004, 15(4):197-204
133. Betsholtz C, Johnsson A, Heldin CH et al; cDNA sequence and chromosomal localization of human platelet-derived growth factor A-chain and its expression in tumour cell lines; *Nature.* 1986 Apr 24-30;320(6064):695-9
134. Uutela M et al; Chromosomal location, exon structure, and vascular expression patterns of the human PDGFC and PDGFD genes, *Circulation* 2001, 103(18):2242-7
135. Tallquist M, Kazlauskas A et al; PDGF signaling in cells and mice, *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004, 15(4):205-13, Review
136. Heidaran MA et al; Differences in substrate specificities of alpha and beta platelet-derived growth factor (PDGF) receptors. Correlation with their ability to mediate PDGF transforming functions, *J Biol Chem.* 1993, 268(13):9287-95
137. Raines EW; PDGF and cardiovascular disease, *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004,15(4):237-54, Review
138. Bonner JC; Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases, *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004, (4):255-73, Review
139. Pietras K et al; PDGF receptors as cancer drug targets, *Cancer Cell* 2003, 3(5):439-43, Review
140. Dabrow MB et al; The effects of platelet-derived growth factor and receptor on normal and neoplastic human ovarian surface epithelium, *Gynecol Oncol.* 1998, 71(1):29-37
141. Doolittle RF et al; Simian sarcoma virus onc gene, v-sis, is derived from the gene (or genes) encoding a platelet-derived growth factor, *Science* 1983 Jul 15, 221(4607):275-7
142. Waterfield MD et al; Platelet-derived growth factor is structurally related to the putative transforming protein p28sis of simian sarcoma virus, *Nature* 1983, 304(5921):35-9
143. Li H et al; PDGF-D is a potent transforming and angiogenic growth factor, *Oncogene* 2003, 22(10):1501-10
144. Fleming et al; Amplification and/or overexpression of platelet-derived growth factor receptors and epidermal growth factor receptor in human glial tumors, *Cancer Res.* 1992, 52(16):4550-3
145. Wang J et al; Cell proliferation in human soft tissue tumors correlates with platelet-derived growth factor B chain expression: an immunohistochemical and in situ hybridization study, *Cancer Res.* 1994, 54(2):560-4
146. Matei D et al; Imatinib mesylate (Gleevec) inhibits ovarian cancer cell growth through a mechanism dependent on platelet-derived growth factor receptor alpha and Akt inactivation, *Clin Cancer Res.* 2004, 10(2):681-90
147. Ustach CV et al; A potential oncogenic activity of platelet-derived growth factor d in prostate cancer progression, *Cancer Res.* 2004, 64(5):1722-9
148. Beppu K et al; Effect of imatinib mesylate on neuroblastoma tumorigenesis and vascular endothelial growth factor expression, *J Natl Cancer Inst.* 2004, 96(1):46-55
149. Jechlinger M et al; Autocrine PDGFR signaling promotes mammary cancer metastasis, *J Clin Invest.* 2006, 116(6):1561-70

150. Betsholtz C; Insight into the physiological functions of PDGF through genetic studies in mice, *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004, 15(4):215-28
151. Abramsson A et al; Analysis of mural cell recruitment to tumor vessels, *Circulation* 2002, 105(1):112-7
152. Morikawa S et al; Abnormalities in pericytes on blood vessels and endothelial sprouts in tumors, *Am J Pathol.* 2002, 160(3):985-1000
153. Lindahl P et al; Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice, *Science* 1997, 277(5323):242-5
154. Sundberg C et al; Microvascular pericytes express platelet-derived growth factor-beta receptors in human healing wounds and colorectal adenocarcinoma, *Am J Pathol.* 1993, 143(5):1377-88
155. Luo J et al; Targeting the PI3K-Akt pathway in human cancer: rationale and promise, *Cancer Cell* 2003, 4(4):257-62
156. Toker A, Newton AC; Akt/protein kinase B is regulated by autophosphorylation at the hypothetical PDK-2 site, *J Biol Chem.* 2000, 275(12):8271-4
157. Yuan ZQ et al; Frequent activation of AKT2 and induction of apoptosis by inhibition of phosphoinositide-3-OH kinase/Akt pathway in human ovarian cancer, *Oncogene* 2000, 19(19):2324-30
158. Tanno S et al; AKT activation up-regulates insulin-like growth factor I receptor expression and promotes invasiveness of human pancreatic cancer cells, *Cancer Res.* 2001, 61(2):589-9
159. Liu AX et al; AKT2, a member of the protein kinase B family, is activated by growth factors, v-Ha-ras, and v-src through phosphatidylinositol 3-kinase in human ovarian epithelial cancer cells, *Cancer Res.* 1998, 58(14):2973-7
160. Cantley LC, Neel BG; New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway, *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96(8):4240-5, Review
161. Brenner W, Färbeek al; Loss of tumor suppressor protein PTEN during renal carcinogenesis, *Int J Cancer* 2002, 99(1):53-7
162. Velickovic M et al; Intragenic PTEN/MMAC1 loss of heterozygosity in conventional (clear-cell) renal cell carcinoma is associated with poor patient prognosis, *Mod Pathol.* 2002, 15(5):479-85
163. Nicholson KM, Anderson NG; The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy, *Cell Signal* 2002, 14(5):381-95
164. Horiguchi A et al; Elevated Akt activation and its impact on clinicopathological features of renal cell carcinoma, *J Urol.* 2003, 169(2):710-3
165. Brognard J et al; Akt/protein kinase B is constitutively active in non-small cell lung cancer cells and promotes cellular survival and resistance to chemotherapy and radiation, *Cancer Res.* 2001, 61(10):3986-97
166. Clark AS et al; Constitutive and inducible Akt activity promotes resistance to chemotherapy, trastuzumab, or tamoxifen in breast cancer cells, *Mol Cancer Ther.* 2002, 1(9):707-17
167. Long X et al; Rheb binds and regulates the mTOR kinase, *Curr Biol.* 2005, 15(8):702-13
168. Wullschlegel S et al; TOR signaling in growth and metabolism, *Cell* 2006, 124(3):471-84, Review
169. Hay N, Sonenberg N; Upstream and downstream of m-TOR, *Genes Dev.* 2004, 18(16):1926-45, Review
170. Johnson DE et al; Tumor of Genitourinary tract, In *Smith's General Urology*, Appleton and Lange 1988, p.336
171. Tanagho E.A., Williams RD; Urology, in *Way L.W.(ed): Current surgical diagnosis and treatment (ed 7)*. Los Altos, CA,Lang, 1983, p.823
172. Δημόπουλος Κ.Α Ογκοί του νεφρικού παρεγχύματος. Ουρολογία, Δημόπουλος Κ.Α (ed), Χ.Π. Πασχαλίδης 1991, ρ.305
173. Cherukuri SU et al; Systemic effect of hypernephroma, *Urol.* 1977,10:93
174. Surfin G et al; Paraneoplastic and serologic syndromes of renal adenocarcinoma, *Semin Urol.* 1989, 7:158
175. Surfin G et al; Hormones in renal cancer, *J. Urol.* 1977, 117:433
176. Nelson HO; Arterial hypertension due to a renine producing renal carcinoma, *Scand. J. Urol. Nephrol.* 1973, 9:293

177. Chisholm GD; Nephrogenic ridge tumors and their syndromes, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1974, 230:403
178. Surfin G et al; Serologic markers, paraneoplastic syndromes, and ectopic hormone production in renal adenocarcinoma. In: *Tumors of the Kidney*, de kernion J.B., Pavone-Macaluso M. (edit). Williams and Wilkens, 1986
179. Stewler GL et al; Parathyroid hormone-like protein from human renal carcinoma cells, Structural and functional homology with parathyroid hormone, *J Clin. Invest.* 1987, 80:1803
180. Mundy GR et al; The hypercalcemia of cancer, *N. Engl. J. Med.* 1984, 310:1718
181. Thorling EB; Paraneoplastic erythrocytosis and inappropriate erythropoietin production, *Scan. J. Haematol (suppl)* 1972, 17:1
182. Hocking WG; Hematologic abnormalities in patients with renal diseases, *Hemat. Oncol. Clin. North. Am.* 1987,1:229
183. Stauffer MH; Nephrogenic hepatosplenomegaly, *Gastroenterology* 1961, 40:694
184. Boxer RJ et al; Non-metastatic hepatic dysfunction associated with renal carcinoma, *J. Urol.* 1978,119:468
185. Ng CS et al; Renal Cell Carcinoma: Diagnosis, staging and surveillance, *AJR* 2008, 191:1220-32
186. Greene FL et al (eds); *AJCC cancer staging manual*, 6th ed. New York, NY: Springer, 2002
187. Stoerkel S, Hinkel A; Epithelial tumors of the kidney, In: *Beldegrun A, Ritchie A, Figlin R, Oliver RTD, Vaughan ED Jr, eds. Renal and adrenal tumors*, New York: Oxford University Press 2003, 40–54
188. Canda AE, Kirkali Z; Current management of renal cell carcinoma and targeted therapy, *Urol J* 2006, 3:1-14
189. Mylona S et al. Renal cell carcinoma radiofrequency ablation: evaluation of efficacy based on histological correlation, *Br J Radiol* 2008, 81:479-84
190. Berger A et al; Cryoablation for renal tumors: current status, *Curr Opin Urol* 2009, 19:138-42
191. O' Connor OJ et al; Interventional Radiology in oncology, *Cancer Treat Res* 2008, 143:493-511
192. Mohammed A et al; Management of metastatic renal cell carcinoma: current trends, *Expert Rev Mol Diagn* 2009, 9:75-83
193. Branca AA, Baglioni C; Evidence that types I and II interferons have different receptors, *Nature* 1981, 294(5843):768-70
194. Ruzicka FJ et al; Variation in the binding of 125I-labeled interferon-beta ser to cellular receptors during growth of human renal and bladder carcinoma cells in vitro, *Cancer Res.* 1987, 47(17):4582-9
195. Yamaoka T et al; Biologic and binding activities of IFN-alpha subtypes in ACHN human renal cell carcinoma cells and Daudi Burkitt's lymphoma cells, *J Interferon Cytokine Res.* 1999, 19(12):1343-9
196. Darnell JE Jr et al; Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins, *Science* 1994, 264(5164):1415-21, Review
197. Stark GR; How cells respond to interferons revisited: from early history to current complexity, *Cytokine Growth Factor Rev.* 2007, 18(5-6):419-23, Review
198. Diaz MO et al; Deletions of interferon genes in acute lymphoblastic leukemia, *N Engl J Med.* 1990, 322(2):77-82
199. Green WB et al; Lack of IRF-1 expression in acute promyelocytic leukemia and in a subset of acute myeloid leukemias with del(5)(q31), *Leukemia* 1999, 13(12):1960-71
200. Landolfo S et al; Chronic myeloid leukemia cells resistant to interferon-alpha lack STAT1 expression, *Hematol J.* 2000, 1(1):7-14
201. Ross DT et al; Systematic variation in gene expression patterns in human cancer cell lines, *Nat Genet.* 2000, 24(3):227-35
202. Fountain JW et al; Homozygous deletions within human chromosome band 9p21 in melanoma, *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89(21):10557-61
203. Cabrera CM et al; Total loss of MHC class I in colorectal tumors can be explained by two molecular pathways: beta2-microglobulin inactivation in MSI-positive tumors and LMP7/TAP2 downregulation in MSI-negative tumors, *Tissue Antigens.* 2003, 61(3):211-9

204. Seliger B et al; Characterization of human lymphocyte antigen class I antigen-processing machinery defects in renal cell carcinoma lesions with special emphasis on transporter-associated with antigen-processing down-regulation, *Clin Cancer Res.* 2003, 9(5):1721-7
205. Hoek K et al; Expression profiling reveals novel pathways in the transformation of melanocytes to melanomas, *Cancer Res.* 2004, 64(15):5270-82
206. Lu R et al; Regulation of the promoter activity of interferon regulatory factor-7 gene. Activation by interferon and silencing by hypermethylation, *J Biol Chem.* 2000, 275(41):31805-12
207. Reu FJ et al; Expression of RASSF1A, an epigenetically silenced tumor suppressor, overcomes resistance to apoptosis induction by interferons, *Cancer Res.* 2006, 66(5):2785-93
208. Borden EC; Augmentation of effects of interferon-stimulated genes by reversal of epigenetic silencing: potential application to melanoma, *Cytokine Growth Factor Rev.* 2007, 18(5-6):491-501. Epub 2007, Review
209. Yoshida H et al; Benefit of interferon therapy in hepatocellular carcinoma prevention for individual patients with chronic hepatitis C, *Gut.* 2004, 53(3):425-30
210. Oon CJ, Chen WN; Lymphoblastoid alpha-interferon in the prevention of hepatocellular carcinoma (HCC) in high-risk HbsAg-positive resected cirrhotic HCC cases: a 14-year follow-up, *Cancer Invest.* 2003, 21(3):394-9
211. Takimoto M et al; Interferon inhibits progression of liver fibrosis and reduces the risk of hepatocarcinogenesis in patients with chronic hepatitis C: a retrospective multicenter analysis of 652 patients, *Dig Dis Sci.* 2002, 47(1):170-6
212. Majhail NS et al; Adjuvant subcutaneous interleukin-2 in patients with resected renal cell carcinoma: a pilot study, *Clin Genitourin Cancer* 2006, 5(1):50-6
213. van der Vliet HJ et al; Effects of the administration of high-dose interleukin-2 on immunoregulatory cell subsets in patients with advanced melanoma and renal cell cancer, *Clin Cancer Res.* 2007, 13(7):2100-8
214. The International Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group; A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in chronic granulomatous disease, *N Engl J Med.* 1991, 324(8):509-16
215. Badaro R et al; Treatment of visceral leishmaniasis with pentavalent antimony and interferon gamma, *N Engl J Med.* 1990, 322(1):16-21
216. Condos R et al; Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon-gamma via aerosol, *Lancet* 1997, 349(9064):1513-5
217. Morgan DA et al; Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows, *Science* 1976, 193(4257):1007-8
218. Gillis S et al; T cell growth factor: parameters of production and a quantitative microassay for activity, *J Immunol.* 1978, 120(6):2027-32
219. Benveniste EN, Merrill JE; Stimulation of oligodendroglial proliferation and maturation by interleukin-2, *Nature* 1986, 321(6070):610-3
220. Holter W et al; Expression of functional IL 2 receptors by lipopolysaccharide and interferon-gamma stimulated human monocytes, *J Immunol.* 1987, 138(9):2917-22
221. Taniguchi T et al; Interleukin-2 and its receptor: structure and functional expression of the genes, *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 1986, 51 Pt 1:577-86
222. Sugamura K et al; The interleukin-2 receptor gamma chain: its role in the multiple cytokine receptor complexes and T cell development in XSCID, *Annu Rev Immunol.* 1996, 14:179-205, Review
223. Hatakeyama M et al; Interleukin-2 receptor beta chain gene: generation of three receptor forms by cloned human alpha and beta chain cDNA's, *Science.* 1989, 244(4904):551-6
224. Mosmann TR et al; Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins, *J Immunol.* 1986, 136(7):2348-57
225. van Roon JA et al; Diversity of regulatory T cells to control arthritis, *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2006, 20(5):897-913

226. Loughnan MS et al; Soluble interleukin 2 receptors are released from the cell surface of normal murine B lymphocytes stimulated with interleukin 5, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988, 85(9):3115-9
227. Mutis T et al; Mycobacteria induce CD4+ T cells that are cytotoxic and display Th1-like cytokine secretion profile: heterogeneity in cytotoxic activity and cytokine secretion levels, *Eur J Immunol.* 1993, 23(9):2189-95
228. Xu S et al; Rapid high efficiency sensitization of CD8+ T cells to tumor antigens by dendritic cells leads to enhanced functional avidity and direct tumor recognition through an IL-12-dependent mechanism, *Immunol.* 2003, 171(5):2251-61
229. Schwartz RH; T cell anergy, *Annu Rev Immunol.* 2003, 21:305-34, Epub 2001, Review
230. Powell JD et al; Molecular regulation of interleukin-2 expression by CD28 co-stimulation and anergy, *Immunol Rev.* 1998, 165:287-300
231. Schwartztruber DJ et al; In vitro predictors of therapeutic response in melanoma patients receiving tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2, *J Clin Oncol.* 1994, 12(7):1475-83
232. Quesada JR et al; Renal cell carcinoma: antitumor effects of leukocyte interferon, *Cancer Res.* 1983, 43(2):940-7
233. deKernion JB et al; The treatment of renal cell carcinoma with human leukocyte alpha-interferon, *J Urol.* 1983, 130(6):1063-6
234. Pyrhönen S et al; Prospective randomized trial of interferon alfa-2a plus vinblastine versus vinblastine alone in patients with advanced renal cell cancer, *J Clin Oncol.* 1999, 17(9):2859-67
235. Minasian LM et al; Interferon alfa-2a in advanced renal cell carcinoma: treatment results and survival in 159 patients with long-term follow-up, *J Clin Oncol.* 1993, 11(7):1368-75
236. Bukowski RM; Cytokine therapy for metastatic renal cell carcinoma, *Semin Urol Oncol.* 2001, 19(2):148-54, Review
237. Hutson TE, Quinn DI; Cytokine therapy: a standard of care for metastatic renal cell carcinoma?, *Clin Genitourin Cancer* 2005, 4(3):181-6. Review
238. Atzpodien J et al; European studies of interleukin-2 in metastatic renal cell carcinoma, *Semin Oncol.* 1993, 20(6 Suppl 9):22-6
239. Rosenberg SA ; Durability of complete responses in patients with metastatic cancer treated with high-dose interleukin-2: identification of the antigens mediating response, *Ann Surg.* 1998, 228(3):307-19
240. Lee DS et al; Patterns of relapse and response to retreatment in patients with metastatic melanoma or renal cell carcinoma who responded to interleukin-2-based immunotherapy, *Cancer J Sci Am.* 1998, 4(2):86-93
241. Schwartztruber DJ; Guidelines for the safe administration of high-dose interleukin-2, *J Immunother.* 2001, 24(4):287-93
242. Abrams TJ et al; SU11248 inhibits KIT and platelet-derived growth factor receptor beta in preclinical models of human small cell lung cancer, *Mol Cancer Ther.* 2003, 2(5):471-8
243. Mendel DB et al; In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship, *Clin Cancer Res.* 2003, 9(1):327-37
244. O'Farrell AM et al; SU11248 is a novel FLT3 tyrosine kinase inhibitor with potent activity in vitro and in vivo, *Blood.* 2003, 101(9):3597-605
245. Motzer RJ, Michaelson MD et al; Activity of SU11248, a multitargeted inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor, in patients with metastatic renal cell carcinoma, *J Clin Oncol.* 2006 Jan 1, 24(1):16-24
246. Motzer RJ, Rini BI et al; Sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma; *JAMA.* 2006, 295(21):2516-24
247. J Deprimo SE et al; Circulating protein biomarkers of pharmacodynamic activity of sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma: modulation of VEGF and VEGF-related proteins, *Transl Med.* 2007, 5:32
248. Motzer RJ, Hutson TE et al; Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma, *N Engl J Med.* 2007 Jan 11, 356(2):115-24

249. Ratain MJ et al; Phase II placebo-controlled randomized discontinuation trial of sorafenib in patients with metastatic renal cell carcinoma, *J Clin Oncol.* 2006, 24(16):2505-12
250. Escudier B et al; Randomized phase II trial of first-line treatment with sorafenib versus interferon Alfa-2a in patients with metastatic renal cell carcinoma, *J Clin Oncol.* 2009, 27(8):1280-9
251. Shinji Yamazaki et al; PK/PD modeling based on mouse xenograft tumor growth inhibition and the correlation to clinical exposure for VEGF/PDGF receptor tyrosine kinase inhibitor AG-013736, *AACR Meeting Abstracts 2005*, 2005: 475 – 476
252. Hu-Lowe D et al; Characterization of potency and activity of the VEGF/PDGF receptor tyrosine kinase inhibitor AG013736, *Proc Am Assoc Cancer Res*, 2002, 43 (abstract A5357)
253. Hu-Lowe D and Grazzini L; Significant enhancement of anti-tumor efficacy of VEGF/PDGF receptor tyrosine kinase inhibitor AG-013736 in combination with docetaxel in chemo-refractory and/or orthotopic xenograft tumor models in mice, *Proc Amer Assoc Cancer Res*, Volume 46, 2005, Abstract #2032
254. Rugo HS et al; Phase I trial of the oral antiangiogenesis agent AG-013736 in patients with advanced solid tumors: pharmacokinetic and clinical results, *J Clin Oncol.* 2005, 23(24):5474-83
255. Rixe O et al; Axitinib treatment in patients with cytokine-refractory metastatic renal-cell cancer: a phase II study, *Lancet Oncol.* 2007, 8(11):975-84
256. Rini BI, Wilding G et al; Phase II study of axitinib in sorafenib-refractory metastatic renal cell carcinoma, *J Clin Oncol.* 2009, 27(27):4462-8
257. Rini BI, Escudier B et al; Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial, *Lancet.* 2011, 378(9807):1931-9
258. Hurwitz H et al; Safety, tolerability and pharmacokinetics of oral administration of GW786034 in pts with solid tumors. *J ClinOncol* 23:195s, 2005 (suppl, abstr 3012)
259. Hutson T et al; Predictive and prognostic factors in phase II renal cell carcinoma trial with pazopanib (GW786034), a multi-kinase angiogenesis inhibitor. *Ann Oncol* 19:viii187, 2008 (suppl 8, abstr 5780)
260. Sternberg CN et al; Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial, *J Clin Oncol.* 2010 Feb 20, 28(6):1061-8
261. Choueiri TK et al; Cabozantinib versus everolimus in advanced renal cell carcinoma (METEOR): final results from a randomised, open-label, phase 3 trial, *Lancet Oncol.* 2016,17(7):917-927
262. Motzer RJ et al; Lenvatinib, everolimus, and the combination in patients with metastatic renal cell carcinoma: a randomised, phase 2, open-label, multicentre trial. *Lancet Oncol.* 2015, 16(15):1473-1482
263. Atkins MB et al; Randomized phase II study of multiple dose levels of CCI-779, a novel mammalian target of rapamycin kinase inhibitor, in patients with advanced refractory renal cell carcinoma, *J Clin Oncol.* 2004, 22(5):909-18
264. Motzer RJ, Bacik J et al; Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma, *J Clin Oncol.* 2002, 20(1):289-96
265. Smith JW et al; Update of a phase I study of intravenous CCI-779 given in combination with interferon- to patients with advanced renal cell carcinoma; *Journal of Clinical Oncology*, 2004 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). Vol 22, No 14S (July 15 Supplement), 2004: 4513
266. Hudes G et al; Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma, *N Engl J Med.* 2007, 356(22):2271-81
267. Motzer RJ et al; Phase 3 trial of everolimus for metastatic renal cell carcinoma : final results and analysis of prognostic factors, *Cancer* 2010, 116(18):4256-65
268. Wong E et al. Sunitinib induces hypothyroidism in advanced cancer patients and may inhibit thyroid peroxidase activity. *Thyroid.* 2007, 17(4):351-5
269. Mannavola D et al. A novel tyrosine kinase selective inhibitor, Sunitinib, induces transient hypothyroidism by blocking iodine uptake, *J Clin Endocrinol Metab* 2007, 92:3531-4

270. Kappers M et al. Sunitinib-Induced Hypothyroidism Is due to Induction of Type 3 Deiodinase Activity and Thyroidal Capillary Regression, *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(10):3087–3094
271. Shinohara N et al. The incidence and mechanism of sunitinib-induced thyroid atrophy in patients with metastatic renal cell carcinoma *British Journal of Cancer* 2011, 104, 241–247
272. Rogiers A et al. Shrinkage of Thyroid Volume in Sunitinib-Treated Patients with Renal-Cell Carcinoma: A Potential Marker of Irreversible Thyroid Dysfunction? *Thyroid Volume* 20, Number 3, 2010
273. Wolter P, Stefan C et al. The clinical implications of sunitinib-induced hypothyroidism: a prospective evaluation. *Br J Cancer* 2008, 99: 448–454
274. Baldazzi V et al. The impact of sunitinib-induced hypothyroidism on progression-free survival of metastatic renal cancer patients: A prospective single-center study, *Urol Oncol*, 30(5):704-10
275. Schmidinger M et al. Hypothyroidism in Patients With Renal Cell Carcinoma Blessing or Curse? *Cancer* 2011, 117(3):534-44
276. Riesenbeck LM et al. Hypothyroidism correlates with a better prognosis in metastatic renal cancer patients treated with sorafenib or sunitinib, *World J Urol* (2011) 29:807–813
277. Sella A, Hercbergs A, et al. Does Sunitinib-Induced Hypothyroidism Play a Role in the Activity of Sunitinib in Metastatic Renal Cell Carcinoma? *Chemotherapy* 2012;58:200–205
278. Theofanis Vasileiadis, Michail Chrisofos, Michail Safioleas, Konstantinos Kontzoglou, Konstantinos Papazisis, Athina Sdrolia; Impact of sunitinib-induced hypothyroidism on survival of patients with metastatic renal cancer. *BMC Cancer* (2019) 19:407, <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5610-8>
279. Shu M et al; Hypothyroidism Side Effect in Patients Treated with Sunitinib or Sorafenib: Clinical and Structural Analyses. *PLoS One*. 2016 Jan 19;11(1):e0147048
280. de Groot JW et al; Imatinib induces hypothyroidism in patients receiving levothyroxine. *Clin Pharmacol Ther*. 2005 Oct;78(4):433-8
281. Yoshizato T et al; Nilotinib-induced hypothyroidism in a patient with chronic myeloid leukemia. *Int J Hematol*. 2011 Mar;93(3):400-402
282. Takada S et al; Axitinib-Induced Hypothyroidism as a Predictor of Long-Term Survival in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Urol Int*. 2019 Apr 10:1-6
283. Vos M et al; Association of pazopanib-induced toxicities with outcome of patients with advanced soft tissue sarcoma; a retrospective analysis based on the European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) 62043 and 62072 clinical trials. *Acta Oncol*. 2019 Jun;58(6):872-879
284. Kate Vandyke et al; The Tyrosine Kinase Inhibitor Dasatinib Dysregulates Bone Remodeling Through Inhibition of Osteoclasts In Vivo, *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 25, No. 8, August 2010, pp 1759–1770
285. Susannah O'Sullivan, Jian-Ming Lin et al; The skeletal effects of the tyrosine kinase inhibitor nilotinib, *Bone* 49 (2011) 281–289
286. Susannah O'Sullivan, Dorit Naot et al; Promotes Osteoblast Differentiation by Inhibiting PDGFR Signaling and Inhibits Osteoclastogenesis by Both Direct and Stromal Cell-Dependent Mechanisms, *Journal of Bone and Mineral Research*, Volume 22, Number 11, 2007
287. Susannah O'Sullivan, A Horne et al; Decreased Bone Turnover Despite Persistent Secondary Hyperparathyroidism during Prolonged Treatment with Imatinib, *J Clin Endocrinol Metab* 94: 1131–1136, 2009
288. Id Boufker et al; The Src inhibitor dasatinib accelerates the differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells into osteoblasts, *BMC Cancer* 2010, 10:298
289. Ellin Berman et al; Altered Bone and Mineral Metabolism in Patients Receiving Imatinib Mesylate, *N Engl J Med* 2006, 354:2006-13
290. S. Osorio et al; Imatinib Mesylate Induces Hypophosphatemia in Patients With Chronic Myeloid Leukemia in Late Chronic Phase, and This Effect is Associated With Response, *American Journal of Hematology* 82:394–395 (2007)

291. Iman El Hajj Dib et al; Imatinib mesylate (Gleevec®) enhances mature osteoclast apoptosis and suppresses osteoclast bone resorbing activity, *EJP*, Vol. 551, Issues 1–3, 2006, pg 27-33
292. Baldazzi V et al; Sunitinib-induced hyperparathyroidism: a possible mechanism to altered bone homeostasis, *Cancer* 2012, 118, 3165–3172
293. Stephen Fitter et al; Long-term imatinib therapy promotes bone formation in CML patients, *Blood*, 2008 111: 2538-254
294. Philipp Ivanyi et al; Treatment with tyrosine kinase inhibitors in patients with metastatic renal cell carcinoma is associated with drug-induced hyperparathyroidism: a single center experience in 59 patients, *World J Urol* (2010) 28:311–317
295. Neal E. Ready et al; Chemotherapy With or Without Maintenance Sunitinib for Untreated Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase II Study—CALGB 30504 (Alliance), *J Clin Oncol*. 2015 May 20, 33(15): 1660–1665
296. Atkins MB et al; Randomized phase II study of multiple dose levels of CCI-779, a novel mammalian target of rapamycin kinase inhibitor, in patients with advanced refractory renal cell carcinoma, *J Clin Oncol*. 2004 Mar 1, 22(5):909-18
297. Vandyke K et al; Imatinib mesylate causes growth plate closure in vivo, *Leukemia* 2009, 23:2155–2159
298. Gerber HP et al; VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation, *Nat Med* 1999, 5:623–628
299. Suttorp MJB et al; Side effects on the heart and skeleton of growing mice attributed to chronic imatinib exposure, *Blood* 2008, 112:1100 (Abstract)
300. Kimoto T et al; Growth deceleration in a girl treated with imatinib. *Int J Hematol* 2009, 89:251–252
301. Mariani S et al; Low bone density and decreased inhibin-B/FSH ratio in a boy treated with imatinib during puberty. *Lancet* 2008, 372:111–112
302. Schmid H et al; Longitudinal growth retardation in a prepuberal girl with chronic myeloid leukemia on long-term treatment with imatinib. *Haematologica* 2009, 94:1177–1179
303. Deepak Bansal et al; Imatinib has adverse effect on growth in children with chronic myeloid leukemia, *Pediatr Blood Cancer* 2011, DOI 10.1002/pbc
304. Shima H et al; Distinct impact of imatinib on growth at prepubertal and pubertal ages of children with chronic myeloid leukemia. *J Pediatr*. 2011, 159(4):676–681
305. Millot F et al; Imatinib is efficient but has a negative impact on growth in children with previously untreated chronic myelogenous leukaemia (CML) in early chronic phase (CP): Results of the French National Phase IV Trial. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2009, 114(22):863
306. Kebapcilar L et al; Does imatinib mesylate therapy cause growth hormone deficiency?, *Med Princ Pract*. 2009, 18(5):360-3
307. Narayanan KR et al; Growth failure in children with chronic myeloid leukemia receiving imatinib is due to disruption of GH/IGF-1 axis, *Pediatr Blood Cancer*, 2013, 60(7):1148–1153
308. Kim H et al; Concurrent male gynecomastia and testicular hydrocele after imatinib mesylate treatment of a gastrointestinal stromal tumor, *J Korean Med Sci* 2005, 20:512–515
309. Caocci G et al; Gynecomastia in a male after dasatinib treatment for chronic myeloid leukemia, *Leukemia* 2008, 22:2127–2128
310. Ballardini P et al; Onset of male gynaecomastia in a patient treated with sunitinib for metastatic renal cell carcinoma, *Clin Drug Investig* 2009, 29:487–490
311. Gambacorti-Passerini C et al; Gynaecomastia in men with chronic myeloid leukaemia after imatinib, *Lancet* 2003, 361:1954–1956
312. Basciani S et al; Expression of platelet-derived growth factor-A (PDGF-A), PDGF-B, and PDGF receptor-alpha and -beta during human testicular development and disease, *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:2310–2319
313. Mariani S et al; Severe oligozoospermia in a young man with chronic myeloid leukemia on long-term treatment with imatinib started before puberty, *Fertil Steril*. 2011, 5(3):1120.e15-7



314. Seshadri T et al; Oligospermia in a patient receiving imatinib therapy for the hypereosinophilic syndrome (Letter), *New England Journal of Medicine* 2006, 351, 2134–2135
315. Christopoulos C et al; Primary ovarian insufficiency associated with imatinib therapy, *N Engl J Med* 2008, 358:1079–1080
316. Malozowski S et al; More on ovarian insufficiency with imatinib, *N Engl J Med* 2008, 358:2648
317. Alberuni M, Zamah et al; Will Imatinib Compromise Reproductive Capacity?, *Oncologist*. 2011 Oct, 16(10): 1422–1427
318. Schultheis B et al; Imatinib mesylate at therapeutic doses has no impact on folliculogenesis or spermatogenesis in a leukaemic mouse model, *Leuk Res*. 2012 Mar, 36(3):271–4
319. Karthik Ramasamy et al; Successful pregnancies involving men with chronic myeloid leukaemia on imatinib therapy, *BJH* 2007, Vol. 137, Issue4, pg 374–37
320. Apperley J; Issues of imatinib and pregnancy outcome, *J Natl Compr Canc Netw*, 2009 Nov, 7(10):1050–8
321. Ault P et al; Pregnancy among patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib, *J Clin Oncol*. 2006 Mar 1, 24(7):1204–8
322. Seonaid M. Pye et al; The effects of imatinib on pregnancy outcome, *Blood* 2008, 111(12): 5505–5508
323. Franz DN et al; Efficacy and safety of everolimus for subependymal giant cell astrocytomas associated with tuberous sclerosis complex (EXIST-1): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial, *Lancet*, 381 (2013), pg 125–132
324. Bissler JJ et al; Everolimus for angiomyolipoma associated with tuberous sclerosis complex or sporadic lymphangiomyomatosis (EXIST-2): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial, *Lancet*, 381 (2013), pg 817–824
325. Eric Huyghe et al; Gonadal impact of target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) in male patients: an overview, *Transpl Int*. 2007 Apr, 20(4):305–11
326. Yoshino T et al; A case of acute adrenal insufficiency unmasked during sunitinib treatment for metastatic renal cell carcinoma, *Jpn J Clin Oncol*. 2012 Aug, 42(8):764–6
327. Bilgir O et al; Is there any relationship between imatinib mesylate medication and hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction?, *Int J Clin Pract* 2010, 64:45–50
328. Rock EP et al; Food and Drug Administration drug approval summary: Sunitinib malate for the treatment of gastrointestinal stromal tumor and advanced renal cell carcinoma, *Oncologist* 2007, 12:107–113
329. Rini BI et al; Hypothyroidism in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib, *J Natl Cancer Inst* 2007 99: 81–83
330. Sato S et al; Clinical characteristics of thyroid abnormalities induced by sunitinib treatment in Japanese patients with renal cell carcinoma, *Endocrine Journal* 2010 57 (10), 873–880
331. Schmidinger M, Bellmunt J. Plethora of agents, plethora of targets, plethora of side effects in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Treatment Reviews* 36 (2010) 416–424
332. Noda S et al; Assessment of Sunitinib-Induced Toxicities and Clinical Outcomes Based on Therapeutic Drug Monitoring of Sunitinib for Patients With Renal Cell Carcinoma, *Clin Genitourin Cancer*. 2015 Aug, 13(4):350–358
333. Arakawa-Todo M et al; Management of adverse events in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib and clinical outcomes, *Anticancer Res*. 2013 Nov, 33(11):5043–50
334. Makita N1, Iiri T; Tyrosine kinase inhibitor-induced thyroid disorders: a review and hypothesis, *Thyroid*. 2013 Feb, 23(2):151–9
335. Daimon M et al; Thyroid dysfunction in patients treated with tyrosine kinase inhibitors, sunitinib, sorafenib and axitinib, for metastatic renal cell carcinoma, *Jpn J Clin Oncol*. 2012 Aug, 42(8):742–7
336. Sabatier R et al; Could thyroid dysfunction influence outcome in sunitinib-treated metastatic renal cell carcinoma?, *Annals of Oncology* 2011, doi:10.1093/annonc/mdr275
337. Lechner MG et al; Hypothyroidism During Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy Is Associated with Longer Survival in Patients with Advanced Nonthyroidal Cancers, *Thyroid* 2018 Apr, 28(4):445–453

338. Cao J et al; Hypothyroidism as a potential biomarker of efficacy of famitinib, a novel VEGFR-2 inhibitor in metastatic breast cancer, *Cancer Chemother Pharmacol* 2014, 74:389-98
339. Desai J et al; Hypothyroidism after sunitinib treatment for patients with gastrointestinal stromal tumors, *Ann Intern Med* 2006, 145:660–664
340. EU SmPC Sutent; <http://www.ema.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/sutent/sutent.htm>, Πρόσβαση 28 Ιουνίου 2019
341. de Groot JW, Links TP, van der Graaf WT; Tyrosine kinase inhibitors causing hypothyroidism in a patient on levothyroxine, *Ann Oncol* 2006 17:1719–1720
342. Maya B. Lodish, MD and Constantine A. Stratakis; Endocrine side effects of broad-acting kinase inhibitors, *Endocr Relat Cancer* 2010, 17(3): 233–244
343. Frédéric Illouz et al; Endocrine Side-Effects of Anti-Cancer Drugs: Thyroid effects of tyrosine kinase inhibitors, *European Journal of Endocrinology* 2014, 171(3): 91–99