

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Β' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΛΑΪΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΩΝ ΑΠΑΚΕΤΥΛΑΣΩΝ

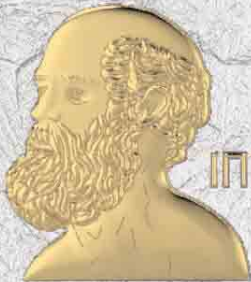
ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

ΝΙΚΟΛΑΟΣ Σ. ΓΑΡΜΠΗΣ

ΙΑΤΡΟΣ

2020

Η έγκριση Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή
του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών
δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.
(Νόμος 5343/1932, Άρθρο 202, Παράγραφος 2)



ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ ΟΡΚΟΣ



Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἵστορας ποιούμενος, ἐπιτελεᾶ ποιήσεις κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν ὄρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε. ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ οὗτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωι μαθηάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἄκροῦσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσι τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμῆ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισι τε καὶ ὠκρισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλω δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρῆσθαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν, ἐπὶ ἀλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρωειν. Οὐ δόσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηλῆσθαι συμβουλίην τοιήνδε. ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πρῆσθον ἄσπερον δόσω. Ἄγνως δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκκωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρῆσιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ὄν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἔων πάσης ἀδικίης ἐκούσιης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφοροδισίωι ἐργῶν ἐπὶ τε γυναικείωι σωματῶν καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἢ μὴ κρῆ ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔσω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελεᾶ ποιέοντι, καὶ μὴ ὑγχεόντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης ἀσπασομένω παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιὸρκούντι, τάναντία τούτων.

Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή.

Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνό του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέρφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία.

Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο.

Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω. Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη.

Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου. Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης.

Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους. Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά.

Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαιρώ πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

Αφιερωμένο στην οικογένειά μου
για την αγάπη, τη στήριξη και την υπομονή τους



Β' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΛΑΪΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

1. Κος Κωνσταντίνος Κόντζογλου - Επιβλέπον μέλος

Καθηγητής Χειρουργικής, Διευθυντής Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

2. Κα Δέσποινα Περρέα

Ομότιμη Καθηγήτρια Βιοχημείας, Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

3. Κα Αφροδίτη Νόννη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής

- Ημερομηνία αίτησης: 8 Μαρτίου 2017
- Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 21 Μαρτίου 2017
- Ημερομηνία έγκρισης Ερευνητικού Πρωτοκόλλου: 31 Μαρτίου 2017
- Ημερομηνία Α' Προόδου: 8 Ιανουαρίου 2018
- Ημερομηνία Β' Προόδου: 13 Φεβρουαρίου 2019
- Ημερομηνία Γ' Προόδου: 13 Απριλίου 2020
- Ημερομηνία ορισμού Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής: 20 Μαΐου 2020
- Ημερομηνία υποστήριξης: 16 Ιουνίου 2020
- Βαθμός: Άριστα

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

1. Κος Κωνσταντίνος Κόντζογλου - Επιβλέπον μέλος

Καθηγητής Χειρουργικής, Διευθυντής Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

2. Κα Δέσποινα Περρέα

Ομότιμη Καθηγήτρια Βιοχημείας, Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

3. Κα Αφροδίτη Νόννη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

4. Κος Ευστάθιος Αντωνίου

Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής, Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

5. Κος Περικλής Τόμος

Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Θώρακος, Κλινική Χειρουργικής Θώρακος, Αττικό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

6. Κος Δημήτριος Δημητρούλης

Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής, Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

7. Κος Δημήτριος Σχίζας

Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής, Α' Χειρουργική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Περιεχόμενα

Πρόλογος - Ευχαριστίες	Σελ. 20
Βιογραφικό Σημείωμα	Σελ. 22
Περίληψη	Σελ. 58
Abstract	Σελ. 60

Μέρος I

Γενικό Μέρος

Κεφάλαιο 1 - Ο μαστός

1.1 Εισαγωγή	Σελ. 64
1.2 Ο μαστός στην τέχνη	Σελ. 65
1.3 Στοιχεία περιγραφικής ανατομικής	Σελ. 71
1.4 Στοιχεία εμβρυολογίας	Σελ. 77
1.5 Στοιχεία φυσιολογίας	Σελ. 78
1.6 Στοιχεία ιστολογίας	Σελ. 80

Κεφάλαιο 2 - Ο καρκίνος του μαστού

2.1 Εισαγωγή	Σελ. 84
2.2 Ιστορικά στοιχεία	Σελ. 85
2.2.1 3500 π.Χ. - 400 π.Χ.	Σελ. 86
2.2.1.1 Αρχαία Αίγυπτος και αρχαία Ελλάδα	Σελ. 86
2.2.1.2 Η Ιπποκρατική ιατρική	Σελ. 88

2.2.2 0 - 1600	Σελ. 89
2.2.2.1 Ελληνορωμαϊκή περίοδος	Σελ. 89
2.2.2.2 Πρωτοχριστιανική περίοδος	Σελ. 91
2.2.2.3 Βυζαντινή περίοδος	Σελ. 91
2.2.2.4 Χρυσή εποχή του Ισλάμ	Σελ. 91
2.2.2.5 Μεσαίωνας και Αναγέννηση	Σελ. 92
2.2.3 1600 - 1799	Σελ. 93
2.2.3.1 Η θεωρία της λέμφου	Σελ. 93
2.2.3.2 Η επαγγελματική ιατρική	Σελ. 94
2.2.3.3 Η πρόληψη της μετάστασης	Σελ. 95
2.2.4 1800 - 1899	Σελ. 95
2.2.4.1 Η πρόοδος στην ιατρική	Σελ. 95
2.2.4.2 Η ριζική μαστεκτομή	Σελ. 96
2.2.4.3 Η αντι-ορμονική θεραπεία	Σελ. 97
2.2.5 1900 - 1999	Σελ. 98
2.2.5.1 Οι παράγοντες κινδύνου	Σελ. 98
2.2.5.2 Η ακτινοθεραπεία	Σελ. 100
2.2.5.3 Η μαστογραφία	Σελ. 101
2.2.5.4 Οι τυχαιοποιημένες μελέτες	Σελ. 102
2.2.5.5 Η ευαισθητοποίηση του κοινού	Σελ. 103
2.2.5.6 Η ίδρυση αντικαρκινικών ιδρυμάτων	Σελ. 105
2.2.5.7 Η ροζ κορδέλα	Σελ. 106
2.2.5.8 Η ταμοξιφαίνη	Σελ. 108
2.2.5.9 Οι μεταλλάξεις των BRCA1 και BRCA2	Σελ. 109
2.2.5.10 Το herceptin	Σελ. 111

2.2.6 2000 έως σήμερα	Σελ. 112
2.2.6.1 Η πλήρης χαρτογράφηση του γονιδιώματος	Σελ. 113
2.2.6.2 Μοριακοί υπότυποι	Σελ. 113
2.2.6.3 Νέοι γενετικοί έλεγχοι	Σελ. 115
2.2.6.4 Νέες κατηγορίες φαρμάκων	Σελ. 116
2.2.6.4.1 Η φουλβεστράντη	Σελ. 116
2.2.6.4.2 Αναστολείς αρωματάσης	Σελ. 117
2.2.6.4.3 Αναστολείς HER2	Σελ. 118
2.2.6.5 Το φαινόμενο Angelina Jolie	Σελ. 119
2.2.6.6 Νέες θεραπευτικές στρατηγικές για το HER2+ καρκίνο	Σελ. 120
2.2.6.6.1 Συνδυαστική θεραπεία	Σελ. 120
2.2.6.6.2 Μονοκλωνικά αντισώματα	Σελ. 121
2.2.6.7 Νέες τάσεις στην έρευνα και τη θεραπεία	Σελ. 122
2.2.6.8 Ανθεκτικότητα στη θεραπεία	Σελ. 125
2.2.7 Συμπεράσματα	Σελ. 126
2.3 Επιδημιολογικά δεδομένα	Σελ. 127
2.4 Παράγοντες κινδύνου	Σελ. 132
2.5 Μοριακό υπόβαθρο	Σελ. 134
2.5.1 Μονοπάτι επαγόμενο από οιστρογονικούς υποδοχείς	Σελ. 134
2.5.2 Μονοπάτι εξαρτώμενο από HER2	Σελ. 134
2.5.3 Μονοπάτι Wnt/b-κατενίνης	Σελ. 135
2.5.4 Μεταλλάξεις γονιδίων BRCA1 και BRCA2	Σελ. 136
2.5.5 Υπερέκφραση της COX-2	Σελ. 136
2.5.6 Κινάσες εξαρτώμενες από κυκλίνες	Σελ. 136
2.5.7 Brk/PTK6 τυροσινική κινάση	Σελ. 137

2.5.8 Μονοπάτι PI3K/AKT/mTOR	Σελ. 137
2.5.9 Notch1 Hedgehog	Σελ. 137
2.5.10 Σπάνιες γονιδιακές μεταλλάξεις	Σελ. 138
2.6 Κλινική σημειολογία και διάγνωση	Σελ. 138
2.6.1 Ιατρικό ιστορικό	Σελ. 139
2.6.2 Κλινική εξέταση	Σελ. 140
2.6.3 Διαγνωστικές μέθοδοι - Παρακλινικός έλεγχος	Σελ. 143
2.6.3.1 Μαστογραφία	Σελ. 143
2.6.3.2 Υπερηχογράφημα	Σελ. 148
2.6.3.3 Μαγνητική μαστογραφία	Σελ. 152
2.6.3.4 Βιοψία	Σελ. 155
2.6.3.4.1 Βιοψία με βελόνη	Σελ. 155
2.6.3.4.2 Βιοψία με κόπτουσα βελόνη	Σελ. 155
2.6.3.4.3 Στερεοτακτική βιοψία	Σελ. 156
2.6.3.4.4 Ανοιχτή βιοψία	Σελ. 156
2.6.3.5 Εξετάσεις πυρηνικής ιατρικής	Σελ. 157
2.6.3.6 Λοιπές εξετάσεις	Σελ. 158
2.7 Ιστολογική ταξινόμηση	Σελ. 159
2.7.1 Ιστολογικοί τύποι	Σελ. 159
2.7.1.1 Μη διηθητικός (in situ) καρκίνος	Σελ. 159
2.7.1.1.1 Πορογενές καρκίνωμα in situ	Σελ. 159
2.7.1.1.2 Λοβιακό καρκίνωμα in situ	Σελ. 161
2.7.1.2 Διηθητικός καρκίνος	Σελ. 162
2.7.1.2.1 Πορογενές διηθητικό καρκίνωμα	Σελ. 162
2.7.1.2.2 Λοβιακό διηθητικό καρκίνωμα	Σελ. 164

2.7.1.2.3 Σπάνια καρκινώματα	Σελ. 165
2.7.2 Βαθμός κακοήθειας	Σελ. 166
2.8 Σταδιοποίηση	Σελ. 167
2.9 Θεραπεία	Σελ. 173
2.9.1 Στάδιο 0	Σελ. 174
2.9.1.1 Πορογενές καρκίνωμα in situ	Σελ. 174
2.9.1.2 Λοβιακό καρκίνωμα in situ	Σελ. 174
2.9.2 Στάδιο I, II και IIIA (T3N1M0)	Σελ. 174
2.9.2.1 Επεμβάσεις διατήρησης μαστού	Σελ. 175
2.9.2.1.1 Ογκεκτομή μαστού	Σελ. 175
2.9.2.1.2 Ογκοπλαστική μαστού	Σελ. 177
2.9.2.2 Μαστεκτομή	Σελ. 178
2.9.2.3 Επεμβάσεις μασχαλιαίων λεμφαδένων	Σελ. 179
2.9.2.3.1 Βιοψία φρουρού λεμφαδένα	Σελ. 179
2.9.2.3.2 Λεμφαδενικός καθαρισμός μασχάλης	Σελ. 180
2.9.2.4 Χημειοθεραπεία	Σελ. 181
2.9.3 Στάδιο III εκτός T3N1M0	Σελ. 182
2.9.4 Στάδιο IV και υποτροπή	Σελ. 182
2.10 Πρόγνωση	Σελ. 183
2.11 Μοριακή ταξινόμηση	Σελ. 184
2.12 Θεραπευτικές προκλήσεις	Σελ. 191
 Κεφάλαιο 3 - Απακετυλάσες των ιστονών	
3.1 Ιστόνες και επιγενετικές τροποποιήσεις	Σελ. 194
3.1.1 Οργάνωση της χρωματίνης και Ιστόνες	Σελ. 194

3.1.2	Επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών	Σελ. 197
3.1.2.1	Ακετυλίωση	Σελ. 197
3.1.2.2	Φωσφορυλίωση	Σελ. 198
3.1.2.3	Μεθυλίωση	Σελ. 199
3.1.2.4	Ουμπικουϊτίνωση	Σελ. 200
3.1.2.5	Σουμοϋλίωση	Σελ. 200
3.1.2.6	Άλλες επιγενετικές τροποποιήσεις	Σελ. 201
3.1.3	Επιγενετικές τροποποιήσεις του γενετικού υλικού	Σελ. 202
3.1.3.1	Μεθυλίωση του DNA	Σελ. 202
3.1.3.2	Πρόσδεση των microRNA	Σελ. 203
3.1.4	Επιγενετικές τροποποιήσεις και καρκίνος	Σελ. 203
3.1.4.1	ATP-άσες	Σελ. 204
3.1.4.2	Μεθυλτρανσφεράσες	Σελ. 206
3.1.4.3	HAT και HDAC	Σελ. 206
3.2	HDAC	Σελ. 207
3.2.1	HDAC Τάξης I	Σελ. 214
3.2.2	HDAC Τάξης II	Σελ. 217
3.2.2.1	HDAC Τάξης IIA	Σελ. 217
3.2.2.2	HDAC Τάξης IIB	Σελ. 220
3.2.3	HDAC Τάξης III	Σελ. 223
3.2.4	HDAC Τάξης IV	Σελ. 224
3.3	HDAC στον καρκίνο	Σελ. 226
3.3.1	HDAC Τάξης I	Σελ. 227
3.3.1.1	HDAC-1	Σελ. 227
3.3.1.2	HDAC-2	Σελ. 228

3.3.1.3 HDAC-3	Σελ. 229
3.3.1.4 HDAC-8	Σελ. 229
3.3.2 HDAC Τάξης II	Σελ. 230
3.3.2.1 HDAC Τάξης IIA	Σελ. 230
3.3.2.1.1 HDAC-4	Σελ. 230
3.3.2.1.2 HDAC-5	Σελ. 230
3.3.2.1.3 HDAC-7	Σελ. 231
3.3.2.1.4 HDAC-9	Σελ. 231
3.3.2.2 HDAC Τάξης IIB	Σελ. 232
3.3.2.2.1 HDAC-6	Σελ. 232
3.3.2.2.2 HDAC-10	Σελ. 232
3.3.3 HDAC Τάξης III	Σελ. 233
3.3.4 HDAC Τάξης IV	Σελ. 234
3.4 Μεταλλάξεις των HDAC	Σελ. 236
3.5 HDAC στον καρκίνο του μαστού	Σελ. 236

Κεφάλαιο 4 - Αναστολείς των απακετυλασών των ιστονών

4.1 Από τις HDAC στους HDACI	Σελ. 239
4.2 Κατηγοριοποίηση των HDACI	Σελ. 240
4.2.1 Υδροξαμικά οξέα	Σελ. 242
4.2.1.1 Trichostatin A	Σελ. 243
4.2.1.2 Vorinostat	Σελ. 244
4.2.1.3 Panobinostat	Σελ. 245
4.2.1.4 Belinostat	Σελ. 246
4.2.1.5 Abexinostat	Σελ. 246

4.2.1.6 Resminostat	Σελ. 247
4.2.1.7 Givinostat	Σελ. 248
4.2.1.8 Quisinostat	Σελ. 249
4.2.1.9 Rocilinostat	Σελ. 249
4.2.1.10 Pracinostat	Σελ. 250
4.2.1.11 Tubacin	Σελ. 251
4.2.1.12 Nexturastat A	Σελ. 252
4.2.1.13 CUDC-101	Σελ. 252
4.2.1.14 Κυκλικά πεπτίδια που περιέχουν υδροξαμικό οξύ	Σελ. 254
4.2.1.15 Υδροξαμικά οξέα με αναστολείς ρεντουκτάσης	Σελ. 254
4.2.2 Λιπαρά οξέα	Σελ. 255
4.2.2.1 Βαλπροϊκό οξύ	Σελ. 256
4.2.2.2 Βουτυρικό οξύ και παράγωγα	Σελ. 258
4.2.2.2.1 Βουτυρικό νάτριο	Σελ. 258
4.2.2.2.2 Φαινυλο-βουτυρικό οξύ	Σελ. 260
4.2.2.2.3 AR-42	Σελ. 261
4.2.3 Κυκλικά πεπτίδια	Σελ. 262
4.2.3.1 Romidepsin	Σελ. 262
4.2.3.2 Apicidin	Σελ. 264
4.2.3.3 Trapoxin	Σελ. 265
4.2.4 Βενζαμίδες	Σελ. 266
4.2.4.1 Entinostat	Σελ. 267
4.2.4.2 Mocetinostat	Σελ. 268
4.2.4.3 Tacedinaline	Σελ. 270
4.2.4.4 Domatinostat	Σελ. 270

4.2.4.5 Chidamide	Σελ. 271
4.2.4.6 BG45	Σελ. 272
4.2.5 Διάφοροι HDACI	Σελ. 273
4.2.5.1 Βασιζόμενοι σε κετόνες	Σελ. 272
4.2.5.2 Βασιζόμενοι σε εποξειδία	Σελ. 274
4.2.5.3 Βασιζόμενοι σε θειοεστέρες	Σελ. 275
4.3 Συνδυασμός HDACI και άλλων αντικαρκινικών παραγόντων	Σελ. 277
4.4 HDACI από φυσικές πηγές	Σελ. 281
4.5 HDACI στην κλινική πράξη	Σελ. 284
4.5.1 Εγκεκριμένοι HDACI	Σελ. 284
4.5.1.1 Vorinostat	Σελ. 285
4.5.1.2 Romidepsin	Σελ. 288
4.5.1.3 Belinostat	Σελ. 290
4.5.1.4 Chidamide	Σελ. 292
4.5.1.5 Panobinostat	Σελ. 294
4.5.2 Φαρμακοδυναμικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες	Σελ. 295
4.5.2.1 Φαρμακοδυναμικές ιδιότητες	Σελ. 296
4.5.2.2 Φαρμακοκινητικές ιδιότητες	Σελ. 296
4.5.3 Ανεπιθύμητες ενέργειες	Σελ. 297
4.5.3.1 Γενικές	Σελ. 298
4.5.3.2 Ειδικές	Σελ. 298
4.6 Δομή των HDACI	Σελ. 299
4.7 Μηχανισμοί δράσης των HDACI	Σελ. 301
4.7.1 Διακοπή του κυτταρικού κύκλου	Σελ. 302
4.7.2 Επαγωγή της απόπτωσης	Σελ. 303

4.7.2.1 Εξωγενής οδός	Σελ. 304
4.7.2.2 Ενδογενής οδός	Σελ. 305
4.7.3 Επαγωγή της αυτοφαγίας	Σελ. 306
4.7.3.1 NF-κB	Σελ. 307
4.7.3.2 mTOR	Σελ. 307
4.7.3.3 ROS	Σελ. 308
4.7.4 Επίδραση στα μη κωδικοποιούντα RNA	Σελ. 308
4.7.5 Επίδραση στα κυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης	Σελ. 309
4.7.6 Αντι-αγγειογενετική δράση	Σελ. 310
4.7.7 Αναστολή των μεταστάσεων	Σελ. 311
4.7.8 Τροποποίηση της ανοσολογικής απόκρισης	Σελ. 311
4.7.9 Επίδραση στα βλαστικά κύτταρα	Σελ. 312
4.7.10 Λοιπές επιδράσεις	Σελ. 312
4.8 HDACi και καρκίνος του μαστού	Σελ. 314
4.8.1 Trichostatin A	Σελ. 314
4.8.2 Vorinostat	Σελ. 316
4.8.3 Panobinostat	Σελ. 319
4.8.4 Belinostat	Σελ. 320
4.8.5 Βαλπροϊκό οξύ	Σελ. 321
4.8.6 Βουτυρικό νάτριο	Σελ. 322
4.8.7 Romidepsin	Σελ. 322
4.8.8 Entinostat	Σελ. 323
4.8.9 Mocetinostat	Σελ. 325
4.8.10 Chidamide	Σελ. 325
4.8.11 Suberoylbis-hydroxamic acid	Σελ. 326

4.8.12 Octanedioic acid	Σελ. 327
4.8.13 N-(2-Hydroxyphenyl)-2propylpentanamide	Σελ. 327
4.8.14 Φαινυλο-βουτυρικό οξύ	Σελ. 327
4.8.15 CUDC-101	Σελ. 328
4.8.16 Apicidin	Σελ. 328
4.8.17 AR-42	Σελ. 329
4.8.18 Scriptaid	Σελ. 329
4.8.19 Fingolimod	Σελ. 329
4.8.20 Άλλοι HDACI	Σελ. 330
4.9 HDACI και μη νεοπλασματική νόσος	Σελ. 332
4.10 Αντίσταση στους HDACI	Σελ. 332
4.11 Βιοδείκτες ανταπόκρισης στους HDACI	Σελ. 335
4.12 Αναστολείς Sirtuins και καρκίνος του μαστού	Σελ. 337
4.13 Συμπεράσματα και προοπτικές	Σελ. 339

Μέρος II

Ειδικό Μέρος

Διδακτορική έρευνα

1. Εισαγωγή	Σελ. 344
2. Υλικό και μέθοδοι	Σελ. 347
2.1 Υλικό	Σελ. 347
2.1.1 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού των ασθενών	Σελ. 347
2.1.2 Δείγματα μελέτης	Σελ. 349
2.2 Μέθοδοι	Σελ. 355

2.2.1 Σταδιοποίηση	Σελ. 355
2.2.2 Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις	Σελ. 360
2.2.3 Εκτίμηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης	Σελ. 362
2.2.4 Στατιστική ανάλυση	Σελ. 364
3. Αποτελέσματα	Σελ. 365
3.1 Συσχέτιση με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους	Σελ. 365
3.2 Κλινική σημασία	Σελ. 392
4. Συζήτηση	Σελ. 396
5. Συμπεράσματα	Σελ. 399

Μέρος III

Παράρτημα

Εδάφιο 1

Βιβλιογραφικές αναφορές	Σελ. 403
-------------------------	----------

Εδάφιο 2

Απορρέουσες δημοσιεύσεις και παρουσιάσεις σε συνέδρια	Σελ. 562
---	----------

Εδάφιο 3

Πρωτόκολλο Διδακτορικής έρευνας	Σελ. 568
---------------------------------	----------

Πρόλογος - Ευχαριστίες

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε στη Β΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, που εδράζεται στο Λαϊκό Νοσοκομείο, σε συνεργασία με το Α΄ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής και το Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας, της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Με την ολοκλήρωση της Διδακτορικής μου Διατριβής αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν σε αυτήν την προσπάθεια και με βοήθησαν να τη φέρω εις πέρας.

Στον Επιβλέποντά μου Καθηγητή, Κον Κωνσταντίνο Κόντζογλου, Διευθυντή του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας, της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες για την εμπιστοσύνη του, την καθοδήγησή του, τις χρήσιμες συμβουλές του και τη στήριξη που μου παρέχει όλα αυτά τα χρόνια. Τον ευχαριστώ από καρδιάς για τον εξέχοντα ρόλο του σε όλα τα βήματα της επιστημονικής μου πορείας και της εκπαίδευσής μου στη Γενική Χειρουργική.

Οφείλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερος την Ομότιμη Καθηγήτρια Βιοχημείας και τ. Διευθύντρια του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας, της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Κα Δέσποινα Περρέα, για τη συμμετοχή της στην τριμελή επιτροπή, την υποστήριξη και τις πολύτιμες επισημάνσεις και υποδείξεις της, οι οποίες ήταν καθοριστικές για την ποιοτική αναβάθμιση και ολοκλήρωση της παρούσης Διατριβής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής στο Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Κα Αφροδίτη Νόννη, για την εμπιστοσύνη της, την καθοδήγησή της στις ερευνητικές μου αναζητήσεις και τη συμβολή της στην επίλυση των κωλυμάτων που ανέκυπταν κατά τη διάρκεια της Διδακτορικής μου έρευνας.

Επιπρόσθετα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής Κον Ευστάθιο Αντωνίου, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής Θώρακος Κον Περικλή Τόμο, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής Κο Δημήτριο Δημητρούλη και τον Επίκουρο Καθηγητή Χειρουργική Κο Δημήτριο Σχίζα, ενώπιον των οποίων έγινε η υποστήριξη της Διδακτορικής μου Διατριβής.

Τέλος το πιο μεγάλο ευχαριστώ ανήκει στο φίλο και συνεργάτη μου Κο Χρήστο Δαμάσκο ο οποίος αφενός με παρακίνησε να ξεκινήσω αυτό το ταξίδι και αφετέρου υπήρξε δίπλα μου στηρίζοντας κάθε μου προσπάθεια. Χωρίς την συμβολή του, η παρούσα διδακτορική διατριβή δεν θα μπορούσε να έχει ολοκληρωθεί.

Νικόλαος Σ. Γαρμπής



Ιούνιος 2020

Βιογραφικό Σημείωμα

Προσωπικά στοιχεία

Όνομα:	Νικόλαος
Επώνυμο:	Γαρμπής
Πατρώνυμο:	Σπυρίδων
Ημερομηνία γέννησης:	22 Φεβρουαρίου 1990
Υπηκοότητα:	Ελληνική
Θρήσκευμα:	Χριστιανός Ορθόδοξος
Οικογενειακή κατάσταση:	Άγαμος
Στρατιωτικές υποχρεώσεις:	Εκπληρωμένες
Διεύθυνση κατοικίας:	28 ^{ης} Οκτωβρίου 27, Βριλήσσια Αττικής ΤΚ:15235
Τηλέφωνο:	6976291403 2106846496
Διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου:	nikosg22@hotmail.com

Ακαδημαϊκή εμπειρία

- 2008: Αποφοίτηση από 1^ο Λύκειο Βριλησσιών.
Γενικός βαθμός: «Άριστα».
- 2008-14: Εισαγωγή και Φοίτηση στην Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- 2014: Αποφοίτηση από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Γενικός βαθμός: «Λίαν Καλώς».

2017-20: Εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής (PhD): «Δράση των Αναστολέων των Απακετυλασών των Ιστονών στον Καρκίνο του Μαστού», Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

2017-19: Σπουδές στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (MSc): «Ελάχιστα Επεμβατική Χειρουργική, Ρομποτική Χειρουργική και Τηλεχειρουργική», Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

2019: Απόκτηση Τίτλου Μεταπτυχιακών Σπουδών (MSc): «Ελάχιστα Επεμβατική Χειρουργική, Ρομποτική Χειρουργική και Τηλεχειρουργική», Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Γενικός βαθμός: «Άριστα».

2020: Επιστημονικός Συνεργάτης του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης Ν.Σ. Χρηστέας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Επαγγελματική εμπειρία

2014: Άδεια ασκήσεως επαγγέλματος / Περιφέρεια Αθηνών.

2014: Κλινική άσκηση στο Νοσοκομείο «Υγεία»

2015: Ιατρός Λόχου κατά τη διάρκεια της στρατιωτικής θητείας.

2015 ως σήμερα: Ειδικευόμενος στη Γενική Χειρουργική, ΓΝΑ «Λαϊκό».

11/2015-11/2016: Μονάδα Μεταμόσχευσης Νεφρού.

12/2016-σήμερα: Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών.

Ξένες γλώσσες

Άριστη γνώση Αγγλικής (Κάτοχος διπλώματος Proficiency CPE).

Άριστη γνώση Γαλλικής (Κάτοχος διπλώματος DALF C1).

Βραβεία / Διακρίσεις

- Βραβείο 2^{ης} Καλύτερης Προφορικής Ανακοίνωσης για την εργασία «Στοχευμένες θεραπείες για τον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού: Ερευνητικά δεδομένα και μελλοντικές προοπτικές. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Νικολλέτος Κ, Βαβουράκης Μ, Κόντζογλου Κ, Μαντάς Δ». 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας Μαστού, Αθήνα; Νοέμβριος 1-3/2019.
- Αριστεία σε όλες τις τάξεις του Γυμνασίου και Λυκείου.

Εκπαιδευτικές δραστηριότητες

- Εκπαίδευση Νέων Ιατρών στη συρραφή τραύματος στην ημερίδα «Προετοιμασία Ιατρών προς Υπηρεσία Υπαίθρου» που διοργανώθηκε από την Α' Παθολογική Κλινική και τη Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Δεκέμβριος 2018.
- Διάλεξη σε μετεκπαιδευτικά μαθήματα στη Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική με θέμα: Ολική παρεντερική και εντερική διατροφή. Νοέμβριος 2018.
- Εκπαίδευση Φοιτητών Ιατρικής στην πρακτική άσκηση του κατ' επιλογήν μαθήματος «Πειραματική και Κλινική έρευνα - Επ. Υπεύθυνος: Καθηγήτρια Δ. Περρέα» της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Ιούνιος 2018.

- Εκπαίδευση Φοιτητών Ιατρικής στο πρακτικό σεμινάριο «Basic Surgical Skills», που διοργανώθηκε από το Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης Ν. Σ. Χρηστέας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και την Επιστημονική Εταιρεία Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας (Ε.Ε.Φ.Ι.Ε) - Παράρτημα Αθηνών. Απρίλιος 2018.
- Εκπαίδευση Φοιτητών Ιατρικής στην πρακτική άσκηση του κατ' επιλογήν μαθήματος «Πειραματική και Κλινική έρευνα - Επ. Υπεύθυνος: Καθηγήτρια Δ. Περρέα» της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Ιούνιος 2017.
- Εκπαίδευση Φοιτητών Ιατρικής στο πρακτικό σεμινάριο «Basic Suturing Skills: A Hands on Course», που διοργανώθηκε από την έδρα της Περιγραφικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και την Επιστημονική Εταιρεία Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας (Ε.Ε.Φ.Ι.Ε) - Παράρτημα Αθηνών. Δεκέμβριος 2017.

Επιστημονικά συγγράμματα - Βιβλία

- Pharmacoeigenetics of histone deacetylase inhibitors in cancer. **Garmpis N**, Damaskos C, Garmpi A, Valsami S, Dimitroulis D. In: Parmacoepigenetics, Volume 10, 1st Edition. Cacabelos R. 13;501-521. Elsevier, 2019.
- Χειρουργική σε ασθενείς με ηπατική νόσο. Αντωνίου Ε, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**. Κλινική Ηπατολογία. Παπαθεοδωρίδης Γ. IB3;741-753. Ελληνική Εταιρεία Μελέτης Ήπατος, 2019.

Συμμετοχή σε Επιστημονικά Περιοδικά

- Journal of Personalized Medicine: Guest Editor για ειδικό τεύχος (Special Issue) με θέμα «Pharmacoeigenetics of Hepatocellular Carcinoma».

Επιστημονικές δημοσιεύσεις

Συνοπτική παρουσίαση

Αριθμός δημοσιεύσεων:	73
<i>Ξενόγλωσσες:</i>	72
<i>Ελληνικές:</i>	1
Εντός PubMed:	69
<i>Εκτός PubMed:</i>	4
1^{ος} Συγγραφέας:	23
2^{ος} Συγγραφέας:	7
Τελευταίος συγγραφέας:	3
<i>Άλλη θέση:</i>	40
Impact Points:	98,978
Citations:	451

Ξενόγλωσσες δημοσιεύσεις

A. Εντός PubMed

1. Nuclear receptors in pancreatic tumor cells. Damaskos C[#], **Garmpis N[#]**, Karatzas T, Kostakis ID, Nikolidakis L, Kostakis A, Kouraklis G. Anticancer Res. 2014;34:6897-6911. Erratum: 2017;37:9.
I.F.: 1,935 / C: 11

2. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors: Current evidence for therapeutic activities in pancreatic cancer. Damaskos C[#], **Garmpis N[#]**, Karatzas T, Nikolidakis L, Kostakis ID, Garmpi A, Karamaroudis S, Boutsikos G, Damaskou Z, Kostakis A, Kouraklis G. *Anticancer Res.* 2015;35:3129-3135. Erratum: 2017;37:9.

I.F.: 1,935 / C: 41

3. Histone deacetylase inhibitors: A novel therapeutic weapon against medullary thyroid cancer? Damaskos C[#], **Garmpis N[#]**, Valsami S[#], Spartalis E, Antoniou EA, Tomos P, Karamaroudis S, Zoumpou T, Pergialiotis V, Stergios K, Michaelides K, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Dimitroulis D. *Anticancer Res.* 2016;36:5019-5024. Erratum: 2017;37:9.

I.F.: 1,935 / C: 16

4. Histone deacetylase inhibitors: An attractive therapeutic strategy against breast cancer. Damaskos C[#], **Garmpis N[#]**, Valsami S[#], Kontos M[#], Spertalis E, Kalampokas T, Kalampokas E, Athanasiou A, Moris D, Daskalopoulou A, Davakis S, Tsourouflis G, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Dimitroulis D. *Anticancer Res.* 2017;37:35-46. Erratum: 2017;37:9.

I.F.: 1,935 / C: 106

5. De novo renal cell carcinoma of native kidneys in renal transplant recipients: A single-center experience. Moris D, Kakavia K, Argyrou C, **Garmpis N**, Bokos J, Vernadakis S, Diles K, Sotirchos G, Boletis J, Zavos G. *Anticancer Res.* 2017;37:773-779. Erratum: 2017;37:9.

I.F.: 1,935 / C: 4

6. Large thoracic tumor without superior vena cava syndrome. **Garpis N[#]**, Damaskos C[#], Patelis N, Dimitroulis D, Spartalis E, Tomos I, Garpis A, Spartalis M, Antoniou EA, Kontzoglou K, Tomos P. *Folia Morfol.* 2017;76 :335-339.
I.F.: 0,780 / C: -
7. Solid pseudopapillary tumor of pancreas: A single-center experience and review of the literature. Antoniou EA[#], Damaskos C[#], **Garpis N[#]**, Salakos C, Margonis GA, Kontzoglou K, Lahanis S, Spartalis E, Patsouras D, Kykalos S, Garpis A, Andreatos N, Pawlik TM, Kouraklis G. *In Vivo.* 2017;31:501-510.
I.F.: 1,609 / C: 24
8. Is idiopathic granulomatous mastitis a surgical disease? The jury is still out. Moris D[#], Damaskos C[#], Davakis S, Vailas M, **Garpis N**, Spartalis E, Kontos M, Kontzoglou K. *Ann Transl Med.* 2017;5:309.
I.F.: - / C: 4
9. From diagnosis to treatment of hepatocellular carcinoma: An epidemic problem for both developed and developing world. Dimitroulis D[#], Damaskos C[#], Valsami S, Davakis S, **Garpis N**, Spartalis E, Athanasiou A, Moris D, Sakellariou S, Kykalos S, Tsourouflis G, Garpis A, Delladetsima I, Kontzoglou K, Kouraklis G. *World J Gastroenterol.* 2017;23:5257-5294.
I.F.: 3,411 / C: 81
10. Histone deacetylases as new therapeutic targets in triple negative breast cancer: Progress and promises. **Garpis N[#]**, Damaskos C[#], Garpis A[#], Kalampokas E,

Kalampokas T, Spartalis E, Daskalopoulou A, Valsami S, Kontos M, Nonni A, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Dimitroulis D. *Cancer Genomics Proteomics*. 2017;14:299-313.

I.F.: 3,147 / C: 27

11. Targeting histone deacetylases in malignant melanoma: A future therapeutic agent or just great expectations? **Garmpis N[#]**, Damaskos C[#], Garmpi A[#], Dimitroulis D[#], Spartalis E, Margonis GA, Schizas D, Deskou I, Doula C, Magkouti E, Andreatos N, Antoniou EA, Nonni A, Kontzoglou K, Mantas D. *Anticancer Res*. 2017;37:5355-5362.

I.F.: 1,935 / C: 16

12. Angiomyolipoma of the liver: A rare benign tumor treated with a laparoscopic approach for the first time. Damaskos C[#], **Garmpis N[#]**, Garmpi A, Nonni A, Sakellariou S, Margonis GA, Spartalis E, Schizas D, Andreatos N, Magkouti E, Grivas A, Kontzoglou K, Antoniou EA. *In Vivo*. 2017;31:1169-1173.

I.F.: 1,609 / C: 2

13. Cystic hygroma of the neck: Single center experience and literature review. Damaskos C[#], **Garmpis N[#]**, Manousi M, Garmpi A, Margonis GA, Spartalis E, Doula C, Michail-Strantzia C, Patelis N, Schizas D, Andreatos N, Papachristou AT, Tsourouflis G, Zavras N, Markatos K, Kontzoglou K, Antoniou EA. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21:4918-4923.

I.F.: 2,721 / C: 4

14. Systemic treatment and primary tumor location in patients with metastatic colorectal cancer. Antoniou E[#], Andreatos N[#], Margonis GA, Papalois A, Wang J, Damaskos C, **Garmpis N**, Buettner S, Deshwar A, Pappas V, Weiss MJ, Pawlik TM, Pikoulis E. *J BUON*. 2017;22:1447-1456.
I.F.: 1,379 / C: 2
15. Mitral valve prolapse: An underestimated cause of sudden cardiac death. A systematic review. Spartalis M, Tzatzaki E, Spartalis E, Athanasiou A, Moris D, Damaskos C, **Garmpis N**, Voudris V. *J Thorac Dis*. 2017;9:5390-5398.
I.F.: 2,027 / C: 13
16. Effect of increased intra-abdominal pressure on liver histology and hemodynamics: An experimental study. Antoniou E, Kairi E, Margonis GA, Andreatos N, Sasaki K, Damaskos C, **Garmpis N**, Samaha M, Argyra E, Polymeneas G, Weiss MJ, Pawlik TM, Voros D, Kouraklis G. *In Vivo*. 2018;32:85-91.
I.F.: 1,609 / C: 3
17. Rare coexistence of ileal diverticulosis, Crohn's disease and small bowel adenocarcinoma: Report of a case. Spartalis E, **Garmpis N**, Spartalis M, Damaskos C, Moris D, Athanasiou A, Gkolfakis P, Korkolopoulou P, Dimitroulis D, Mantas D. *In Vivo*. 2018;32:191-195.
I.F.: 1,609 / C: -
18. Histone deacetylase inhibitors as a novel targeted therapy against non-small cell lung cancer: Where are we now and what we should expect? Damaskos C[#], Tomos

I[#], **Garmpis N[#]**, Karakatsani A, Dimitroulis D, Garmpi A, Spartalis E, Kampolis CF, Tsagkari E, Loukeri AA, Margonis GA, Spartalis M, Andreatos N, Schizas D, Kokkineli S, Antoniou EA, Nonni A, Tsourouflis G, Markatos K, Kontzoglou K, Kostakis A, Tomos P. *Anticancer Res.* 2018;38:37-43.

I.F.: 1,935 / C: 22

19. Tear film osmolarity in subjects with acute allergic rhinoconjunctivitis. Nitoda E, Lavaris A, Laios K, Androuli S, Kalogeropoulos CD, Tsatsos M, Damaskos C, **Garmpis N**, Moschos MM. *In Vivo.* 2018;32:403-408.

I.F.: 1,609 / C: 2

20. Targeting histone deacetylases in endometrial cancer: A paradigm-shifting therapeutic strategy? **Garmpis N[#]**, Damaskos C[#], Garmpi A[#], Spartalis E, Kalampokas E, Kalampokas T, Margonis GA, Schizas D, Andreatos N, Angelou A, Lavaris A, Athanasiou A, Apostolou KG, Spartalis M, Damaskou Z, Daskalopoulou A, Diamantis E, Tsivelekas K, Alavanos A, Valsami S, Moschos MM, Sampani A, Nonni A, Antoniou EA, Mantas D, Tsourouflis G, Markatos K, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Kostakis A, Dimitroulis D. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22:950-960.

I.F.: 2,721 / C: 6

21. Minimally invasive management of hepatic cysts: Indications and complications. Vardakostas D[#], Damaskos C[#], **Garmpis N**, Antoniou EA, Kontzoglou K, Kouraklis G, Dimitroulis D. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22:1387-1396.

I.F.: 2,721 / C: 5

22. The effect of fish consumption on macula structure and function of healthy individuals: An OCT and mfERG study. Moschos MM, Nitoda E, Lavaris A, Chatziralli IP, Asproudis I, Androudi S, Damaskos C, **Garmpis N**, Kalogeropoulos C. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018;22:1203-1208.

I.F.: 2,721 / C: -

23. Breast asymmetry: When “Left” is not “Right”. **Garmpis N**, Damaskos C. PanAfr Med J. 2018;29:165.

I.F.: - / C: -

24. Clinicopathological and molecular factors, risk factors, treatment outcomes and risk of recurrence in mesenteric and retroperitoneal extragastrointestinal stromal tumors: A systematic review. Apostolou K, Schizas D, Vavouraki E, Michalinos A, Tsilimigras D, **Garmpis N**, Damaskos C, Papalampros A, Liakakos T. Anticancer Res. 2018;38:1903-1909.

I.F.: 1,935 / C: 1

25. The prognostic value of varying definitions of positive resection margin in patients with colorectal cancer liver metastases. Wang J[#], Margonis GA[#], Amini N, Andreatos N, Yuan C, Damaskos C, Antoniou E, **Garmpis N**, Buettner S, Barbon C, Deshwar A, He J, Burkhart R, Pawlik TM, Wolfgang CL, Weiss MJ. J Gastrointest Surg. 2018;22:1350-1357.

I.F.: 2,686 / C: 4

26. Double KRAS and BRAF mutations in surgically treated colorectal cancer liver

metastases: An international, multi-institutional case series. Deshwar A, Margonis GA, Andreatos N, Wang J, Buettner S, Wagner D, Sasaki K, Beer A, Loes IM, Pikoulis E, Damaskos C, **Garpis N**, Kamphues K, He J, Kaczirek K, Poultsides G, Lonning PE, Mischinger HJ, Aucejo FN, Kreis ME, Wolfgang CL, Weiss MJ. *Anticancer Res.* 2018;38:2891-2895.

I.F.: 1,935 / C: 6

27. Depression in choroidal melanoma patients treated with proton beam radiotherapy. Moschos MM, Moustafa GA, Lavaris A, Damaskos C, Laios K, Karathanou E, Ladas SD, Asproudis I, **Garpis N**, Kalogeropoulos C. *Anticancer Res.* 2018;38;3055-3061.

I.F.: 1,935 / C: 2

28. The role of soluble CD40L ligand in human carcinogenesis. Angelou A, Antoniou E, **Garpis N**, Damaskos C, Theocharis S, Margonis GA. *Anticancer Res.* 38;3199-3201.

I.F.: 1,935 / C: 3

29. Karl Ludloff (1864-1945): An inventive orthopaedic surgeon, his work and his surgical technique for the correction of hallux valgus. Markatos K, Karaoglanis G, Damaskos C, **Garpis N**, Tsourouflis G, Laios K, Tsoucalas G. *Surg Innov.* 2018;25;417-420.

I.F.: 1,472 / C: -

30. A novel modification of the AOM/DSS model for inducing intestinal adenomas in

mice. Angelou A, Andreatos N, Antoniou E, Zacharioudaki A, Theodoropoulos G, Damaskos C, **Garpis N**, Yuan C, Xiao W, Theocharis S, Zografos G, Papalois A, Margonis GA. *Anticancer Res.* 2018;38:3467-3470.

I.F.: 1,935 / C: 1

31. Abdominal emergencies in stage IV melanoma patients: The role of surgery. A single centre experience. Mantas D, Damaskos C, **Garpis N**, Dimitroulis D, Garmpi A, Gogas H. *Anticancer Res.* 2018;38:3713-3718.

I.F.: 1,935 / C: 1

32. Extensive or partial first rib resection for thoracic outlet syndrome? The contribution of three-dimensional imaging to the preoperative planning and postoperative evaluation. Spartalis E, Spartalis M, Tsilimigras DI, Moris D, **Garpis N**, Damaskos C, Troupis T, Dimitroulis D, Tomos P. *Clin Case Rep.* 2018;6:1631-1632.

I.F.: - / C: -

33. The role of histone deacetylase inhibitors in uveal melanoma: Current evidence. Moschos MM[#], Dettoraki M[#], Androudi S, Kalogeropoulos D, Lavaris A, **Garpis N**, Damaskos C, Garmpi A, Tsatsos M. *Anticancer Res.* 2018;38:3817-3824.

I.F.: 1,935 / C: 9

34. Histone deacetylase inhibitors as a new anticancer option: How far can we go with expectations? Garmpi A[#], **Garpis N**[#], Damaskos C[#], Valsami S, Spartalis E, Lavaris A, Patelis N, Margonis GA, Apostolou KG, Spartalis M, Andreatos N,

Diamantis E, Tsivelekas K, Moschos MM, Nonni A, Tsourouflis G, Markatos K, Antoniou EA, Kontzoglou K, Nikiteas N, Dimitroulis D. J BUON. 2018;23:846-861.

I.F.: 1,379 / C: 4

35. Refractive nightmares revisited; Calcification of multifocal intraocular lenses. Moschos MM, Laios K, Lavaris A, Damaskos C, **Garpis N**, Thabit A, Lake D, Hamada S, Garpis A, Gatzoufas Z. In Vivo. 2018;32:1265-1267.

I.F.: 1,609 / C: 1

36. An analysis of the iatrogenic biliary injury after robotic cholecystectomy. Current data and future considerations. Angelou A, Damaskos C, **Garpis N**, Margonis GA, Dimitroulis D, Antoniou EA. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018;22:6072-6076.

I.F.: 2,721 / C: -

37. Collision tumors of the gastrointestinal tract: A systematic review of the literature. Schizas D, Katsaros I, Michalinos A, Damaskos C, **Garpis N**, Ntomi V, Agogiannis G, Stergiopoulos S, Tsaroucha AK. Anticancer Res. 2018;38:6047-6057.

I.F.: 1,935 / C: 2

38. Combined hepatic resection and radio-frequency ablation for patients with colorectal cancer liver metastasis: A viable option for patients with a large number of tumors. Masuda T, Margonis GA, Andreatos N, Wang J, Warner S, Mirza MB,

Angelou A, Damaskos C, **Garmpis N**, Sasaki K, He J, Imai K, Yamashita YI, Wolfgang CL, Baba H, Weiss MJ. *Anticancer Res.* 2018;38:6353-6360.

I.F.: 1,935 / C: 9

39. Association of serum inflammatory markers and diabetic retinopathy: A review of literature. Gouliopoulos NS, Kalogeropoulos C, Lavaris A, Rouvas A, Asproudis I, Garmpi A, Damaskos C, **Garmpis N**, Kostakis A, Moschos MM. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22:7113-7128.

I.F.: 2,721 / C: 4

40. Pierre Franco (1505-1578): An innovative surgeon of the 16th century in the treatment of hernia and lithotomy. Markatos K, Karamanou M, Korres D, Tsourouflis G, Damaskos C, **Garmpis N**, Androutsos G. *Surg Innov.* 2019;26:129-133.

I.F.: 1,472 / C: -

41. PCSK9 inhibitors and cardiovascular disease: Impact on cardiovascular outcomes. Farmaki P, Damaskos C, **Garmpis N**, Garmpi A, Savvanis S, Diamantis E. *Curr Drug Discov Technol.* 2018 [Epub ahead of print].

I.F.: - / C: -

42. Primary hepatic leiomyosarcoma: A case report and review of the literature. Feretis T[#], Kostakis ID[#], Damaskos C, **Garmpis N**, Mantas D, Nonni A, Kouraklis G, Dimitroulis D. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2018;61:153-157.

I.F.: - / C: 1

43. Expression of S100B protein in ischemia/reperfusion-induced brain injury after cyclosporine therapy: A biochemical serum marker with prognostic value? Dimopoulos C, Damaskos C, Papadakis M, **Garmpis N**, Kontzoglou K, Perrea D, Moraitis S, Daskalopoulou A, Papaspirou I, Georgopoulos S, Nikiteas N. Med Sci Monit. 2019;25:1637-1644.

I.F.: 1,980 / C: 2

44. Histone deacetylase inhibitors and anaplastic thyroid carcinoma. Spartalis E, Athanasiadis D, Chrysikos D, Spartalis M, Boutzios G, Schizas D, **Garmpis N**, Damaskos C, Paschou SA, Ioannidis A, Tsourouflis G, Dimitroulis D, Nikiteas NI. Anticancer Res. 2019;39:1119-1127.

I.F.: 1,935 / C: 5

45. Antoine Ferrein (1693-1769) his life and contribution to anatomy and physiology: The description of the vocal chords and their function. Markatos K, Karamanou M, Tsekouras K, Damaskos C, **Garmpis N**, Androutsos G. Surg Innov. 2019;26:388-391.

I.F.: 1,472 / C: -

46. Enhanced recovery after surgery: Isn't time to change our strategy regarding laparoscopic colectomy? **Garmpis N**[#], Dimitroulis D[#], Garmpi A[#], Diamantis E, Spartalis E, Schizas D, Angelou A, Margonis GA, Farmaki P, Antoniou EA, Mantas D, Markatos K, Kontzoglou K, Damaskos C. In Vivo. 2019;33:669-674.

I.F.: 1,609 / C: 3

47. The choice of drainage device in complicated glaucomas: Comparing Ahmed and Baerveldt implants. Moschos MM, Nitoda E, Gouliopoulos N, Androudi S, Damaskos C, Laios K, Bagkli E, **Garmpis N**, Kitsos G. *In Vivo*. 2019;33:911-916.
I.F.: 1,609 / C: -
48. Pyloric obstruction caused by inflammatory fibroid polyp: A case report. Mantas D, **Garmpis N**, Polychroni D, Garmpi A, Damaskos C, Kouskos E. *Case Rep Surg*. 2019;2019:8919204.
I.F.: - / C: 1
49. Screening and risk assessment of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes: An updated review. Patsouras A#, Farmaki P#, Garmpi A, Damaskos C, **Garmpis N**, Mantas D, Diamantis E. *In Vivo*. 2019;33:1039-1049.
I.F.: 1,609 / C: -
50. Incisional hernias post liver transplantation: Current evidence of epidemiology, risk factors and laparoscopic vs open repair. A literature review. **Garmpis N**, Spartalis E, Schizas D, Patsouras D, Damaskos C, Spartalis M, Garmpi A, Nikiteas NI, Dimitroulis D. *In Vivo*. 2019;33:1059-1066.
I.F.: 1,609 / C: 2
51. Pneumococcal vaccination strategies among HIV infected adults patients: A review of the literature. Garmpi A, Damaskos C, **Garmpis N**, Patsouras A, Savvanis S, Gravvanis N, Diamantis E. *In Vivo*. 2019;33:1425-1430.
I.F.: 1,609 / C: -

52. Triple negative breast cancer: The progress of targeted therapies and future tendencies. Damaskos C, Garmpi A, Nikolettos N, Vavourakis M, Diamantis E, Patsouras E, Farmaki P, Nonni A, Dimitroulis D, Mantas D, Antoniou EA, Nikolettos N, Kontzoglou K, **Garmpis N**. *Anticancer Res.* 2019;39:5285-5296.
I.F.: 1,935 / C: 2
53. Primary hemangiopericytoma arising in extralobar pulmonary sequestration: A coincidence or a possible pathogenetic link between two rare disorders? Kampolis CF[#], Damaskos C[#], Loukeri AA, **Garmpis N**, Garmpi A, Tomos I, Spartalis E, Dimitroulis D, Patsouras A, Douskou M, Papiris S, Tomos P. *In Vivo.* 2019;33:2141-2145.
I.F.: 1,609 / C: -
54. Anaplastic thyroid cancer: An unusual clinical presentation for a rare entity. **Garmpis N**, Damaskos C, Garmpi A, Liakea A, Mantas D. *Chirurgia (Bukur).* 2019;114:659-663.
I.F.: - / C: -
55. Assessing cardiovascular risk in patients with diabetes: An update. Damaskos C, **Garmpis N**, Kollia P, Mitsiopoulos G, Barlampa D, Drosos A, Diamantis E. *Curr Cardiol Rev.* 2019 [Epub ahead of print]
I.F.: - / C: -
56. Intensive care unit outcomes following orthotopic liver transplantation: Single center experience and review of the literature. Damaskos C[#], Kaskantamis A[#],

Garmpis N[#], Dimitroulis D, Mantas D, Garmpi A, Sakellariou S, Syllaios A, Angelou A, Kostakis A, Lampadariou E, Floros I, Revenas K, Antoniou EA. G Chrir. 2019;40:463-480.

I.F.: - / C: -

57. Retroperitoneal sarcomas: From diagnosis to treatment. Case series and review of the literature. Mantas D, **Garmpis N**, Polychroni D, Garmpi A, Damaskos C, Liakea A, Sypsa G, Kouskos E. G Chrir. 2020;41:18-33.

I.F.: - / C: -

58. Cardiovascular effects of metabolic surgery on type 2 diabetes. Damaskos C, Litos A, Dimitroulis D, Antoniou EA, Mantas D, Kontzoglou K, **Garmpis N**. Curr Cardiol Rev.

I.F.: - / C: -

59. Prognostic factors affecting mortality in patients with esophageal GISTs. Schizas D, Bagias G, Kanavidis P, Moris D, Spartalis E, Damaskos C, **Garmpis N**, Karavokyros I, Misiakos EP, Liakakos T. J BUON. 2020;25:497-507.

I.F.: 1,379 / C: -

60. Treatment of Fournier's gangrene with vacuum-assisted closure therapy as enhanced recovery treatment modality. Syllaios A, Davakis S, Karydakos L, Vailas M, **Garmpis N**, Mpaili E, Kyros E, Felekouras E, Papalampros A. In Vivo. 2020;34:1499-1502.

I.F.: 1,609 / C: -

61. Surgical strategies in the era of SARS-CoV-2. Dimitroulis D, **Garmpis N**, Damaskos C. PanAfr Med J. 2020;35:9.

I.F.: - / C: -

62. Renal transplantation during coronavirus pandemic. **Garmpis N**, Damaskos C, Garmpi A, Patsouras A, Syllaios A, Dimitroulis D. PanAfr Med J. 2020;35:19.

I.F.: - / C: -

63. Considerations for colorectal cancer surgery in Greece during Covid-19 pandemic. Syllaios A, Davakis S, **Garmpis N**, Mylonas KS, Michalinos A, Karavokyros I. PanAfr Med J. 2020;35:33.

I.F.: - / C: -

Αποδεκτές προς δημοσίευση

64. Multilocular thymic cyst in a young -otherwise healthy- woman. Damaskos C[#], **Garmpis N[#]**, Kosmopoulos M, Tsilimigras DI, Garmpi A, Spartalis E, Tomos I, Margonis GA, Schizas D, Spartalis M, Feretis T, Apostolou KG, Diamantis E, Magkouti E, Andreatos N, Dimitroulis D, Antoniou EA, Tsourouflis G, Markatos K, Kontzoglou K, Tomos P. Il G Chir.

I.F.: - / C: -

65. Immunocompromised patient with Basal cell carcinoma. Damaskos C, **Garmpis N**. PanAfr Med J.

I.F.: - / C: -

66. Complications of the type 2 diabetes mellitus. Farmaki P, Damaskos C, **Garmpis N**, Garmpi A, Savvanis S, Diamantis E. *Curr Cardiol Rev*.

I.F.: - / C: -

67. Platelets transfusion in Greece: Where, when, why - A national survey. Valsami S, Pouliakis A, Gavalaki M, Argyrou A, Triantafillou E, Arvanitopoulou E, Girtovitis F, Voulgaridou V, Megalou A, Chronopoulou P, Papachronis A, Sakellarakis G, Zervou E, Batsi C, Fountouli K, Athanasopoulos A, Kyriakou E, Cheropoulou A, Livada A, Lebessopoulos K, Papakonstantinou M, Gafou A, Katopi D, Martinis G, Dendrinou I, Katharopoulou H, Politou M, Papadopoulou M, Papadopoulou P, Manaka E, Paneta K, Alepi C, Damaskos C, **Garmpis N**, Stamoulis K, Grouzi E. *Asian J Transf Sci*.

I.F.: - / C: -

68. Clinical significance of the histone deacetylase 2 (HDAC-2) expression in human breast cancer. **Garmpis N**, Damaskos C, Garmpi A, Kontzoglou K, Dimitroulis D, Nikolettos K, Patsouras A, Zografos CG, Syllaios A, Perrea D, Nonni A. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*.

I.F.: 2,721 / C: -

69. Molecular classification and future therapeutic challenges of triple negative breast cancer. Garmpis N[#], **Damaskos C[#]**, Garmpi A[#], Nikolettos K[#], Dimitroulis D, Diamantis E, Farmaki P, Patsouras A, Voutyritsa E, Syllaios A, Zografos CG, Antoniou EA, Nikolettos N, Kostakis A, Kontzoglou K, Schizas D, Nonni A. *In Vivo*.

I.F.: 1,609 / C: -

B. Εκτός PubMed

1. Management of a complicated pancreatic pseudocyst: Report of a case and review of the literature. Aggelis A, Kykalos S, Garoufalia Z, Karatza E, **Garmpis N**, Damaskos C, Karatzas T. JOP. J Pancreas. 2018;19:157-163.

I.F.: - / C: -

2. A novel modified model for induction of intestinal adenomas in female mice. Angelou A, Andreatos N, Antoniou E, Zacharioudaki A, Karamperi M, Karampela E, Tsarea K, Gerakis S, Theodoropoulos G, Damaskos X, **Garmpis N**, Yuan C, Xiao W, Theocharis S, Zografos G, Pikoulis E, Margonis GA, Papalois A. Hel J Surg. 2019;90:289-292.

I.F.: - / C: -

3. Association between BRCA 1, BRCA 2 and ovarian reserve: Current evidence and future possibilities via a review of the literature. Nikolettos K, Damaskos C, **Garmpis N**, Tsikouras P, Zervoudis S, Iatrakis G, Nikolettos N. Obstet Gynecol Res. 2020;3:29-36.

I.F.: 1,4 / C: -

Ελληνικές δημοσιεύσεις

1. Στοχευμένες θεραπείες για τον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού: Ερευνητικά δεδομένα και μελλοντικές προοπτικές. **Γαρμπής N**, Δαμάσκος X, Γαρμπή A,

Νικολέττος Ν, Βαβουράκης Μ, Κόντζογλου Κ, Μαντάς Δ. Τα Νέα της EXEM. 2019;9:21-30.

I.F.: - / C: -

Εργασίες / Ομιλίες σε συνέδρια

- Σύγχρονη προσέγγιση της νόσου της δυστονίας με εφαρμογή συνεργιακού πρωτοκόλλου εν τω βάθει εγκεφαλικής διέγερσης (D.B.S.) και φαρμακευτικής αγωγής. **Γαρμπής Ν.** Πανελλήνιο Συνέδριο ΕΕΦΙΕ. Θεσσαλονίκη; Μάιος 8-10/2009.
- Μοριακοί υποδοχείς: Ένας νέος βιολογικός δείκτης για τον καρκίνο του παγκρέατος; **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Δημητρούλης Δ, Τσουρούφλης Γ, Αντωνίου Ε, Κόντζογλου Κ, Κουράκλης Γ. 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Ήπατος Παγκρέατος Χοληφόρων. Αθήνα; Μάρτιος 3-5/2017.
- Αναστολείς Ακετυλίωσης Ιστονών (HDACI) στον καρκίνο του παγκρέατος. Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Δημητρούλης Δ, Τσουρούφλης Γ, Αντωνίου Ε, Κόντζογλου Κ, Κουράκλης Γ. 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Ήπατος Παγκρέατος Χοληφόρων. Αθήνα; Μάρτιος 3-5/2017.
- Συμπαγείς Ψευδοθηλώδεις Όγκοι: Μια σπάνια κατηγορία όγκων παγκρέατος. Αντωνίου Ε, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Σαλάκος Χ, Μαργώνης ΓΑ, Κόντζογλου Κ, Λάχανης Σ, Κύκαλος Σ, Πατσούρας Δ, Pawlik ΤΜ, Κουράκλης Γ. 1^ο

Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Ήπατος Παγκρέατος Χοληφόρων.
Αθήνα; Μάρτιος 3-5/2017.

- Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα: Από τη διάγνωση στη θεραπεία. Σύγχρονα δεδομένα.
Δημητρούλης Δ, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Τσουρούφλης Γ, Κόντζογλου Κ,
Κουράκλης Γ. 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Ήπατος Παγκρέατος
Χοληφόρων. Αθήνα; Μάρτιος 3-5/2017.
- Novel Biomarkers for the management of the Intraductal Papillary Mucinous
Neoplasms of the Pancreas. **Garmpis N**, Damaskos C, Garmpi A, Dimitroulis D.
6th International Conference and Exhibition on Anesthesia and Surgery, London;
September 07-09/2017.
- Από τη διάγνωση μέχρι τη θεραπεία του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος: Μια
ενδημική νόσος τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες.
Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Κόντζογλου Κ, Δημητρούλης Δ. 37^ο
Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Θεσσαλονίκη; Οκτώβριος 5-7/2017.
- Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα: Από την ανάγκη για νέες θεραπείες, στους
αναστολείς ακετυλίωσης ιστονών. Μεγάλες προσδοκίες ή μελλοντικές
στοχευμένες θεραπείες; **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Νόννη Α,
Κόντζογλου Κ, Δημητρούλης Δ. 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας,
Θεσσαλονίκη; Οκτώβριος 5-7/2017.

- Ο ρόλος των βιολογικών δεικτών στις παγκρεατικές κυστικές βλάβες: Quo vadis?
Γαρμπής Ν, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Δημητρούλης Δ. 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο
 Γαστρεντερολογίας, Θεσσαλονίκη; Οκτώβριος 5-7/2017.
- Σακχαρώδης διαβήτης: Ένας νέος παράγοντας κινδύνου για κακοήθεις νόσους του
 γαστρεντερικού συστήματος. Γαρμπή Α, **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Δημητρούλης
 Δ. 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Θεσσαλονίκη; Οκτώβριος 5-
 7/2017.
- Στρωματικός όγκος καρδιοοισοφαγικής συμβολής: Αφαίρεση χωρίς
 οισοφαγεκτομή. Δημητρούλης Δ, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Τόμος Π. 37^ο
 Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Θεσσαλονίκη; Οκτώβριος 5-7/2017.
- Στρωματικοί όγκοι του γαστρεντερικού συστήματος: Μια σπάνια κατηγορία όγκων
 του μεσοθωρακίου. Δημητρούλης Δ, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Τόμος Ι, Γαρμπή
 Α, Τόμος Π. 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Θεσσαλονίκη;
 Οκτώβριος 5-7/2017.
- Επιθηλιοειδές αγγειομυολίπωμα ήπατος: Μια σπάνια καλοήθης νόσος μιμούμενη
 κακοήθεια. Η πρώτη περίπτωση λαπαροσκοπικής αφαίρεσης στην Ελλάδα.
 Αντωνίου Ε, **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Σακελλαρίου Σ, Νόννη Α, Κουράκλης Γ.
 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Θεσσαλονίκη; Οκτώβριος 5-
 7/2017.

- **Ηπατοβλάστωμα:** Η εμπειρία μας για έναν σπάνιο όγκο μέσα από 38 περιπτώσεις. Αντωνίου Ε, Νικολαΐδης Π, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Μανούση Μ, Οικονόμου Α, Καλυβιώτης Ι, Νίκας Κ, Μαυρίδης Γ, Πασσαλίδης Α, Αχιλλέως Ο, Μιχαήλ Α, Στεφανάκη Κ, Πετούσης Γ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργών Παίδων, Θεσσαλονίκη; Οκτώβριος 6-8/2017.
- **Αναστολείς ακετυλίωσης ιστονών:** Μια υποσχόμενη στοχευμένη θεραπεία κατά του μελανώματος ή απλά μεγάλες προσδοκίες; **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Δούλα Χ, Γαρμπή Α, Δημητρούλης Δ. 12^ο Πανελλήνιο Πλαστικής Επανορθωτικής και Αισθητικής Χειρουργικής, Αθήνα, Οκτώβριος 19-21/2017.
- **Χειρουργικές λοιμώξεις σχετιζόμενες με αποκατάσταση μαστού με συνθετικά υλικά.** Έξαρχος Γ, Κιρκιλέσης Γ, Δρακόπουλος Σ, Σακαρέλλος Π, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Οικονόμου Δ, Σίνος Γ, Μιχαληνός Δ, Δαβάκης Σ, Φραγκούλης Μ, Κόντζογλου Κ, Κοντός Μ. 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικών Λοιμώξεων, Αθήνα, Νοέμβριος 10-12/2017.
- **Εφαρμογή ελάχιστα επεμβατικών μεθόδων στη διαχείριση των ηπατικών κύστεων.** Βαρδακώστας Δ, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Αντωνίου ΕΑ, Κόντζογλου Κ, Δημητρούλης Δ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- **Επείγουσες χειρουργικές επεμβάσεις στην κοιλία για την αντιμετώπιση μελανώματος σταδίου IV: Η εμπειρία ενός κέντρου.** Μαντάς Δ, Δαμάσκος Χ,

Γαρμπής Ν, Δημητρούλης Δ, Γαρμπή Α, Γκόγκα Ε. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.

- Κυστικό ύγρωμα τραχήλου: Η εμπειρία μας για ένα σπάνιο όγκο. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Κόντζογλου Κ, Αντωνίου ΕΑ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- Αγγειομυολίπωμα ήπατος: Ένα σπάνιος όγκος που εξαιρέθηκε για πρώτη φορά λαπαροσκοπικά. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Μαργώνης ΓΑ, Αγγέλου Α, Νόννη Α, Αντωνίου ΕΑ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- Ανισομαστία: «Right is not Left». **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Κόντζογλου Κ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- Κοκκιωματώδης λοβιακή μαστίτιδα: Είναι χειρουργική πάθηση; Γαρμπή Α, **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Κόντζογλου Κ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- Φλεγμονώδης ινώδης πολύποδας ως αιτία πυλωρικής απόφραξης. **Γαρμπής Ν**, Κούσκος Ε, Δαμάσκος Χ, Δαμασκηγή Π, Γαρμπή Α, Μαντάς Δ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.

- Διαχείριση των οπισθοπεριτοναϊκών σαρκωμάτων σε ένα δευτεροβάθμιο νοσηλευτικό ίδρυμα. **Γαρμπής Ν**, Κούσκος Ε, Δαμασκηγή Π, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Μαντάς Δ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- Αναπλαστικό καρκίνωμα θυρεοειδούς: Ένας διαφορετικός τρόπος εκδήλωσης. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Μαντάς Δ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- Διαχείριση επιπλεγμένης παγκρεατικής ψευδοκύστης (Walled-off necrosis). Αγγέλης Α, Κύκαλος Σ, Γαρουφαλιά Ζ, Καρατζά Ε, **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Καρατζάς Θ. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- Μια καινοτόμος τροποποίηση του μοντέλου AOM/DSS για την επανεμάτωση αδενωμάτων του εντέρου ποντικών. Αγγέλου Α, Ανδρεάτος Ν, Αντωνίου Ε, Ζαχαριουδάκη Α, Καραμπέρη Μ, Καραμπέλα Ε, Τσαρέα Κ, Γεράκης Σ, Θεοδωρόπουλος Γ, Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Yuan C, Xiao W, Θεοχάρης Σ, Ζωγράφος Γ, Πικουλής Ε, Μαργώνης ΓΑ, Παπαλόης Α. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Αθήνα, Νοέμβριος 21-24/2018.
- Εφαρμογή fast-track πρωτοκόλλων στις λαπαροσκοπικές κολεκτομές: Μήπως είναι καιρός να αλλάξουμε τις συνήθειές μας; Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Αγγέλου Α, Διαμάντης Ε, Φαρμάκη Π, Αντωνίου Ε, Κόντζογλου Κ, Δημητρούλης Δ. 13^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής & 11^ο

Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας, Αθήνα, Απρίλιος 12-14/2019.

- Επιθηλιοειδές αγγειομυολίπωμα ήπατος: Γίνεται να αφαιρεθεί λαπαροσκοπικά; **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Βαρδακώστας Δ, Αντωνίου Ε. 13^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής & 11^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας, Αθήνα, Απρίλιος 12-14/2019.
- Επιδράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα της μεταβολικής χειρουργικής σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Διαμάντης Ε, Γαρμπή Α, Φαρμάκη Π, **Γαρμπής Ν**, Σαββανής Σ, Δαμάσκος Χ. 13^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής & 11^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας, Αθήνα, Απρίλιος 12-14/2019.
- Μετεγχειρητική κήλη μετά από μεταμόσχευση ήπατος: Ελάχιστα επεμβατική ή ανοιχτή αποκατάσταση; **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Αντωνίου Ε, Κόντζογλου Κ, Δημητρούλης Δ. 13^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής & 11^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας, Αθήνα, Απρίλιος 12-14/2019.
- Histone deacetylase inhibitors: A novel targeted therapy against triple negative breast cancer. **Garmpis N**, Damaskos C, Garmpi A, Kontzoglou K. 3rd International conference on Women Health and Breast Cancer, France; Nice, May 30-31/2019.

- Idiopathic granulomatous mastitis: Medical vs surgical disease? Garmpi A, Damaskos C, **Garmpis N**, Kontzoglou K. 3rd International conference on Women Health and Breast Cancer, France; Nice, May 30-31/2019.

- Skin metastases from breast cancer: An unexpected diagnosis for skin lesions. Damaskos C, **Garmpis N**, Garmpi A, Kontzoglou K. 3rd International conference on Women Health and Breast Cancer, France; Nice, May 30-31/2019.

- Everolimus combination treatment with mycophenolic acid in patients undergone orthotopic liver transplantation. Antoniou E, Damaskos C, **Garmpis N**, Mavri M, Lampadariou E, Paraskeva P, Kostakis A. 19th Congress of the European Society for Organ Transplantation - ESOT 2019, Denmark; Copenhagen; September 15-18/2019.

- Tacrolimus associated thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP): A rare entity after orthotopic liver transplantation. **Garmpis N**, Damaskos C, Variami E, Kotsi V, Antoniou E. 19th Congress of the European Society for Organ Transplantation - ESOT 2019, Denmark; Copenhagen; September 15-18/2019.

- Histone deacetylase 2 (HDAC-2) expression in human breast cancer and its association with clinicopathological factors and patient's survival. Kontzoglou K, Damaskos C, **Garmpis N**, Garmpi A. Global Conference on Surgery and Anaesthesia; Dubai; UAE; October 21-23/2019.

- Δράση των αναστολέων των απακετυλασών των ιστονών στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού. Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Κόντζογλου Κ. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ογκολογίας, Αθήνα, Οκτώβριος 31-Νοέμβριος 3/2019.
- Κλινική σημασία της έκφρασης της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Νόννη Α, Μαντάς Δ, Περρέα Δ, Κόντζογλου Κ. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας Μαστού, Αθήνα, Νοέμβριος 1-3/2019.
- Στοχευμένες θεραπείες για τον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού: Ερευνητικά δεδομένα και μελλοντικές προοπτικές. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Νικολλέτος Κ, Βαβουράκης Μ, Κόντζογλου Κ, Μαντάς Δ. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας Μαστού, Αθήνα, Νοέμβριος 1-3/2019.
- Μοριακοί υπότυποι τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Μαντάς Δ. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας Μαστού, Αθήνα, Νοέμβριος 1-3/2019.
- Αντιμετώπιση κάκωσης χυλοφόρου δεξαμενής με έγχυση PRP. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Βαβουράκης Μ, Νικολέττος Ν, Κόντζογλου Κ, Τόμος Π. 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων, Αθήνα, Νοέμβριος 22-24/2019.

- Νευροενδοκρινής όγκος παγκρέατος με δευτεροπαθείς εντοπίσεις ήπατος. Γαρμπή Α, **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Αντωνίου Ε. 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων, Αθήνα, Νοέμβριος 22-24/2019.
- Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα σχετιζόμενη με τη χορήγηση Tacrolimus: Μια σπάνια επιπλοκή μετά από μεταμόσχευση ήπατος. **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Δαμάσκος Χ, Βαριάμη Ε, Κώτση Π, Αντωνίου Ε. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, Ιωάννινα, Νοέμβριος 29-1 Δεκέμβριος/2019.
- Μεταμόσχευση ήπατος σε ασθενείς με κίρρωση, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και καρκίνο παχέος εντέρου. **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Δαμάσκος Χ, Λαμπαδαρίου Α, Αντωνίου Ε. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, Ιωάννινα, Νοέμβριος 29-1 Δεκέμβριος/2019.
- Μετεγχειρητική κήλη μετά από μεταμόσχευση ήπατος: Συστηματική ανασκόπηση από τους προδιαθεσικούς παράγοντες μέχρι την αντιμετώπιση. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Νικητέας Ν, Δημητρούλης Δ. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, Ιωάννινα, Νοέμβριος 29-1 Δεκέμβριος/2019.
- Εξ' αρχής χορήγηση Everolimus ως ανοσοκατασταλτική αγωγή μετά από μεταμόσχευση ήπατος. **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Δαμάσκος Χ, Μαυρή Μ, Λαμπαδαρίου Α, Καρούσος Δ, Αντωνίου Ε. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, Ιωάννινα, Νοέμβριος 29-1 Δεκέμβριος/2019.

- Νοσηλεία στη ΜΕΘ έπειτα από μεταμόσχευση ήπατος: Η εμπειρία του κέντρου μας σε σχέση με τη βιβλιογραφία. Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Λαμπαδαρίου Α, Αντωνίου Ε. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, Ιωάννινα, Νοέμβριος 29-1 Δεκέμβριος/2019.

Δημοσιευμένες περιλήψεις συνεδρίων

1. Abstracts of the 6th International Conference and Exhibition on Anesthesia and Surgery, London; September 07-09/2017. Surgery Curr Res. 2017;7(Suppl);101.

I.F.: 0,28 / C: -

Περίληψη από:

Novel Biomarkers for the management of the Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. **Garmpis N**, Damaskos C, Garmpi A, Dimitroulis D. 6th International Conference and Exhibition on Anesthesia and Surgery, London; Sept 07-09, 2017; London, UK.

2. Abstracts of the 19th Congress of the European Society for Organ Transplantation, 15-18 September 2019, Copenhagen, Denmark. Transpl Int. 2019 Oct;32(Suppl 2):1-433.

I.F.: 3,526 / C: -

Περίληψεις από:

1/ Everolimus combination treatment with mycophenolic acid in patients undergone orthotopic liver transplantation. Antoniou E, **Damaskos C**, Garmpis N, Mavri M, Lampadariou E, Paraskeva P, Kostakis A. 19th Congress of the European Society

for Organ Transplantation - ESOT 2019, Denmark; Copenhagen; September 15-18/2019.

2/ Tacrolimus associated thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP): A rare entity after orthotopic liver transplantation. Garmpis N, **Damaskos C**, Variami E, Kotsi V, Antoniou E. 19th Congress of the European Society for Organ Transplantation - ESOT 2019, Denmark; Copenhagen; September 15-18/2019.

Cover Images

- Clin Case Rep. 2018;6:1403-1658.

Εικόνα εξωφύλλου από:

Extensive or partial first rib resection for thoracic outlet syndrome? The contribution of three-dimensional imaging to the preoperative planning and postoperative evaluation. Spartalis E, Spartalis M, Tsilimigras DI, Moris D, **Garmpis N**, Damaskos C, Troupis T, Dimitroulis D, Tomos P. Clin Case Rep. 2018;6:1631-1632.

Προεδρεία / Σχολιασμοί

- **Πρόεδρος Στρογγυλής Τράπεζας**

Μετεκπαιδευτική επιστημονική ημερίδα «Χειρουργικές Λοιμώξεις», Αθήνα, 08 Απριλίου, 2017.

- **Σχολιαστής**

Μετεκπαιδευτική επιστημονική ημερίδα «Χειρουργικές Λοιμώξεις», Αθήνα, 08 Απριλίου, 2017.

Συμμετοχή σε Σεμινάρια - Εκπαιδευτικά Προγράμματα

- Παρακολούθηση της ημερίδας με θέμα «Η υπέρταση σήμερα» υπό την αιγίδα της ΕΕΦΙΕ. 01/2009.
- Συμμετοχή στο πανελλήνιο συνέδριο της ΕΕΦΙΕ. στη Θεσσαλονίκη; 05/2009.
- Απόκτηση κλινικών δεξιοτήτων στο Κ.Υ. Βύρωνα (Προαιρετική Άσκηση υπό την αιγίδα της έδρας της Πειραματικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών). 05/2010.
- Παρακολούθηση διαλέξεων συνεχιζόμενης εκπαίδευσης στη μαιευτική και γυναικολογία, στα πλαίσια του μετεκπαιδευτικού προγράμματος της Β' Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Αρεταίειου Νοσοκομείου. 04-05/2014.
- Παρακολούθηση στο 43^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα; Μάιος; 10-13 2017.
- Παρακολούθηση στο 6th SEERSS International Congress in Robotic Surgery, Αθήνα; Δεκέμβριος; 01-03 2017.
- Μετεκπαιδευτικά μαθήματα Χειρουργικής Παθολογίας Ήπατος, Χοληφόρων και Παγκρέατος: Καλαμάτα; Μάρτιος; 08-09 2018.
- Παρακολούθηση στο 11^ο Συνέδριο Μελέτης Μεταστατικής Νόσου του Ήπατος: Καλαμάτα; Μάρτιος; 09-10 2018.
- Μετεκπαιδευτικά μαθήματα Χειρουργικής Παθολογίας Ήπατος, Χοληφόρων και Παγκρέατος: Βόλος; Σεπτέμβριος; 27-29 2018.

- Μελέτη “A prospective randomized cross-over study to evaluate expert’s laparoscopic performance using different laparoscopic handles”, Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών; Νοέμβριος; 25 2018.
- Παρακολούθηση και συμμετοχή στο 1^ο Εκπαιδευτικό σεμινάριο στη Χειρουργική και Ογκοπλαστική Χειρουργική του Μαστού με πρακτική άσκηση, Ερευνητικό-Πειραματικό Κέντρο ELPEN; Δεκέμβριος; 14-15 2018.
- Παρακολούθηση και συμμετοχή στο 11^ο Σεμινάριο Βασικής Λαπαροσκοπικής Χειρουργικής και Αναστομώσεων, Ερευνητικό-Πειραματικό Κέντρο ELPEN; Μάιος; 24-25 2019.
- Κύκλος μαθημάτων Χειρουργικής Παθολογίας Ήπατος - Χοληφόρων - Παγκρέατος με θέμα «Κακοήγη Νεοπλασμάτα»: Βόλος, 28 Φεβρουαρίου-2 Μαρτίου 2019.
- Κύκλος μαθημάτων Χειρουργικής Παθολογίας Ήπατος - Χοληφόρων - Παγκρέατος με θέμα «Καλοήθεις Παθήσεις»: Βόλος, 26-28 Σεπτεμβρίου 2019.

Κοινωνικές δράσεις

- Ποιότητα ζωής ασθενών μετά από μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις. Γαρμπής Ν, Γαρμπή Α, **Δαμάσκος Χ**, Κόντζογλου Κ. Ημερίδα Friends of Europe in Greece, Αθήνα; Απρίλιος 26/2017.
- Εξατομικευμένη ιατρική και στοχευμένες θεραπείες στον καρκίνο του μαστού. **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ. Ημερίδα του Δήμου Περάματος για τον καρκίνο του μαστού. Πέραμα; Νοέμβριος 6/2017.
- Αποκατάσταση μαστού μετά από μαστεκτομή. **Γαρμπής Ν**. Ημερίδα Friends of Europe in Greece, Αθήνα; Σεπτέμβριος 15/2018.

Περίληψη

Εισαγωγή: Ο καρκίνος του μαστού - στον οποίο γίνεται αναφορά από τα πρώτα αρχαία ιατρικά κείμενα - είναι ο πλέον συχνά διαγνωσμένος καρκίνος στις γυναίκες. Αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου από κακοήθεια μετά τον καρκίνο του πνεύμονα στις ανεπτυγμένες χώρες, παρά την πρόοδο τόσο σε διαγνωστικό όσο και σε θεραπευτικό επίπεδο. Για το λόγο αυτό η έρευνα έχει στραφεί σε νέα μονοπάτια ενώ η γνώση του μοριακού υποβάθρου και των εμπλεκόμενων μηχανισμών αναμένεται να αποτελέσει τη βάση για την ανάπτυξη νέων αποτελεσματικότερων θεραπειών. Στα πλαίσια αυτά έχει βρεθεί ότι οι διαταραχές στην ισορροπία της ακετυλίωσης και της απακετυλίωσης των ιστονών από τις ακετυλτρανσφεράσες (Histone acetyltransferases, HAT) και τις απακετυλάσες των ιστονών (Histone deacetylases, HDAC) αντίστοιχα, συμμετέχουν στην καρκινογένεση. Μάλιστα, υπερέκφραση των HDAC έχει ανευρέθη σε ποικίλους καρκίνους ενώ οι αναστολείς τους (Histone deacetylase inhibitors, HDACI) χρησιμοποιούνται ήδη στην κλινική πράξη για τη θεραπεία κυρίως αιματολογικών κακοηθειών. Ωστόσο, στην περίπτωση του καρκίνου του μαστού τα δεδομένα παραμένουν ελλιπή.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσης έρευνας είναι η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού και η ανάδειξή της στόχευσής της ως μελλοντική αντικαρκινική θεραπευτική στρατηγική.

Υλικό και Μέθοδοι: Ιστοτεμάχια από ασθενείς με καρκίνο μαστού αξιολογήθηκαν ανοσοϊστοχημικά ως προς την έκφραση της HDAC-2 και τη συσχέτισή της με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους των ασθενών.

Αποτελέσματα: Ισχυρή έκφραση της HDAC-2 συσχετίστηκε με λοβιακό τύπο καρκίνου, grade III και στάδιο III. Επιπλέον, η υπερέκφραση της HDAC-2

συσχετίστηκε με μειωμένη επιβίωση. Τέλος βρέθηκε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην αυξημένη έκφραση της HDAC-2 και την αρνητική έκφραση του C-erb B-2.

Συμπεράσματα: Τα ανωτέρω αποτελέσματα που κατέδειξε η παρούσα μελέτη, ανοίγουν το δρόμο για την ανάπτυξη νέων θεραπειών. Χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για την ανάδειξη των HDACI ως νέα κατηγορία στοχευμένης θεραπείας έναντι του καρκίνου του μαστού.

Abstract

Introduction: Breast cancer - which is known to human from ancient times - is the most commonly diagnosed cancer in women. It is the second leading cause of death from malignancy after lung cancer in developed countries, despite advances in both diagnosis and treatment. This is the reason why research is oriented towards new strategies, while the knowledge of the molecular background and the mechanisms involved is expected to be the basis for the development of new, more effective treatments. In this context, it has been found that dysfunctions in the equilibrium of acetylation and deacetylation of histones by acetyltransferases (HAT) and histone deacetylases (HDAC) respectively, participate in the occurrence of malignancies. In fact, over-expression of HDAC has been detected in a variety of cancers while their inhibitors (Histone deacetylase inhibitors, HDACI) are already used in clinical practice to treat mainly hematological malignancies. However, in the case of breast cancer, the data remain incomplete.

Aim: The aim of the present study is to evaluate the immunohistochemical expression of HDAC-2 in breast cancer and to highlight its targeting as a future anti-cancer treatment strategy.

Material and Methods: Sample tissues from breast cancer patients were evaluated immunohistochemically for HDAC-2 expression and its association with clinicopathological parameters of the patients.

Results: A strong HDAC-2 expression was associated with lobular cancer type, grade III and stage III. In addition, HDAC-2 over-expression was associated with reduced survival. Finally, a significant correlation was found between the increased expression of HDAC-2 and the negative expression of C-erb B-2.

Conclusions: The aforementioned results of this study pave the way for new therapeutic strategies. Further studies are needed to highlight HDACI as a new class of targeted therapy for breast cancer.

ΜΕΡΟΣ Ι

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Ο ΜΑΣΤΟΣ

1.1 Εισαγωγή

Ο μαστός χρησιμεύει για τη θρέψη του βρέφους και μέσα από τη δημιουργία, την ανάπτυξη και τη διατήρηση της ανθρώπινης ζωής, εκφράζει την τρυφερότητα, την αγάπη, τη μητρότητα και τη γονιμότητα. Παράλληλα είναι αιώνιο σύμβολο της γυναικείας φύσης, άμεσα συνυφασμένο με τη θηλυκότητα, το κάλος, την αγάπη και τον έρωτα.

Λόγω της ιδιαίτερής του σημασίας, ο μαστός αποτέλεσε διαχρονικά αντικείμενο όχι μόνο της ιατρικής αλλά και της τέχνης και του εμπορίου. Έτσι λοιπόν, η ιατρική από αρχαιοτάτων χρόνων δεν θα περιγράψει μόνο την παθολογία του μαζικού αδένου αλλά και θα εκδηλώσει ενδιαφέρον και για τη μητέρα που θηλάζει περιγράφοντας τις αλλαγές στο μαστό κατά τη διάρκεια της κύησης και του θηλασμού. Η σύγχρονη ιατρική έχει στραφεί περισσότερο στον καρκίνο και την αισθητική του μαστού. Στον τομέα των τεχνών και γενικότερα του πολιτισμού, όπως θα αναφερθεί παρακάτω, ο μαστός θα γίνει αντικείμενο πληθώρας πινάκων και αγαλμάτων αλλά και λογοτεχνικών συγγραμμάτων που τον εξυμνούν ως σύμβολο κάλλους, μητρότητας και έρωτος. Ωστόσο, από τις αρχές του περασμένου αιώνα το στήθος απέκτησε και εμπορικό ενδιαφέρον αποτελώντας πηγή εκμετάλλευσης. Έτσι συναντάμε ολοένα και περισσότερα αντικείμενα που αφορούν το στήθος και τη φροντίδα αυτού ενώ παράλληλα υπακούοντας στα κοινωνικά πρότυπα και στη μόδα, ο μαστός έχει γίνει αντικείμενο και αισθητικών επεμβάσεων. Τέλος, ο μαστός λόγω του συμβολισμού του και της συνεπαγόμενης επιρροής του, έχει χρησιμοποιηθεί ως μέσο διαφήμισης, προβολής και προώθησης ποικίλων προϊόντων, υπηρεσιών ή ιδεολογιών.

Στο εδάφιο που ακολουθεί παρουσιάζεται το πως ο άνθρωπος όχι μόνο παρατήρησε και κατέγραψε αλλά και αναπαράστησε το μαστό στις καλλιτεχνικές του αναζητήσεις από την αρχαιότητα.

1.2 Ο μαστός στην τέχνη

Ο άνθρωπος ανήκει στο είδος *Homo Sapiens* που ταξινομείται στην ευρύτερη κατηγορία των θηλαστικών. Ο όρος θηλαστικό προέρχεται από το ρήμα «θηλάζω», κατά απόλυτη αντιστοιχία με το λατινικό «mammalis», που προέρχεται ετυμολογικά από τη λέξη «mamma» η οποία σημαίνει μαστός και χρησιμοποιήθηκε πρώτα το 1758 από τον Κάρολο Λινναίο [1]. Ετυμολογικά, η λέξη μαστός προέρχεται από τη λέξη «μαζός» η οποία χρησιμοποιήθηκε από τους Ίωνες θέλοντας να καταδείξουν την ομοιότητα της σύστασής του με τη ζύμη (μάζα). Άλλες εκδοχές, αποτελούν οι όροι «μασδός» και «μαστός», στη Δωρική και την Αττική διάλεκτο αντίστοιχα. Σύμφωνα με το λεξικό Liedell-Scott, η λέξη «μαζός» περιγράφεται από τον Όμηρο, τον Ηρόδοτο, το Ευρυπίδη και τον Αισχύλο ενώ κατά το λεξικό Μπαμπινιώτη, η λέξη μαστός προκύπτει είτε από τη λατινική ρίζα *μαδ-* (Mad-) από το *μαδώ* το οποίο σχετίζεται με το θηλασμό, είτε από τη ρίζα *μα-* που υποδηλώνει μητρικές έννοιες [2].

Ως σύμβολο θηλυκότητας, διαχρονικά, αποτελεί πηγή έμπνευσης και τέχνης, κυρίως για τη ζωγραφική και τη γλυπτική. Επίσης, υμνήθηκε από ποιητές και συγγραφείς, ενώ η αρχαία ελληνική μυθολογία βρίθει συγγραμμάτων με αναφορές στο γυναικείο μαστό.

Ο Ησίοδος αναφέρει στην Κοσμογονία πως στην αρχή υπήρχε το Χάος και στη συνέχεια η Γαία με τους μεγάλους μαστούς. Η Μυθολογία αναφέρει πως οι αρχαίοι Θεοί έπιναν σε κούπα σε σχήμα του μαστού της Αφροδίτης. Η Ήβη, κόρη του Δία που κερνούσε νέκταρ τους Θεούς του Ολύμπου, είχε μικρούς μαστούς. Για το λόγο αυτό, ο Ήφαιστος αξιοποίησε δύο από τα κύπελλα που χρησιμοποιούσε η Ήβη προκειμένου να κεράσει, τα τοποθέτησε επάνω στους μαστούς της και εν συνεχεία έβαλε όλη του την τέχνη ώστε οι μαστοί της Ήβης να αποκτήσουν τελικά τις διαστάσεις των αυτών της Αφροδίτης. Αναφέρεται επίσης ότι όταν διαπίστωσε η Ήρα ότι από λάθος θήλαζε

τον Ηρακλή - γιο της Αλκμήνης, τον απέσπασε βίαια εξοργισμένη από τη θηλή της ενώ από το γάλα που έσταξε σχηματίστηκε ο Γαλαξίας. Μάλιστα, λέγεται ότι τα 400 δισεκατομμύρια άστρα είναι τόσα όσα ήταν και οι σταγόνες που χύθηκαν. Η Άρτεμις της Εφέσου αναπαριστά τη γονιμότητα και περιγράφεται ως πολύμαστη θεά.

Στην Ιλιάδα ο Όμηρος περιγράφει πως με το ένα χέρι της η Εκάβη άνοιξε το χιτώνα της και με το άλλο ανασήκωσε το μαστό της προκειμένου να προστατέψει το γιο της Έκτορα για τον οποίο αναφέρει πως θήλασε από μαστό θνητής γυναίκας σε αντίθεση με τον Αχιλλέα, που ήταν γόνος Θεάς. Μετά το πέρας του Τρωικού πολέμου, όταν ο Μενέλαος αντίκρουσε την άπιστη ωραία Ελένη, έβγαλε το ξίφος του προκειμένου να τη σκοτώσει ωστόσο αυτή ξεκούμπωσε το φόρεμά της προβάλλοντας τους σφριγηλούς μαστούς της και έτσι ο Μενέλαος υπέκυψε και την πήρε πίσω μαζί του. Ο Ηρόδοτος αναφέρεται στις πανέμορφες πολεμίστριες που ζούσαν στις όχθες της Σκυθίας, τις Αμαζόνες, οι οποίες προκειμένου να κρατούν καλύτερα το τόξο, έκοβαν το δεξιό τους μαστό. Επίσης, στην Αρχαία Αθήνα η παλλακίδα Φρύνη βρέθηκε κατηγορούμενη ενώπιον της Εκκλησίας του Δήμου για προσβολή δημοσίας αιδούς, καθότι κολυμπούσε γυμνή. Κατόπιν προτροπής του συνηγόρου της Υπερείδη, πέταξε το χιτώνα της και τότε λόγω της εκθαμβωτικής της ομορφιάς, αθωώθηκε.

Έκτοτε, μέχρι σήμερα ποικίλα λογοτεχνικά κείμενα και συγγράμματα εξυμνούν το μαστό. Ενδεικτικά, παραθέτουμε αποσπάσματα από την ελληνική λογοτεχνία: Στα ποιήματα του Διγενή Ακρίτα αναφέρεται η φράση «*βρήκε βυζί και βυζαίνει*». Από τους εθνικούς μας ποιητές, ο Διονύσιος Σολωμός στον Ύμνο εις την ελευθερίαν, αναφέρει ενθουσιωδώς για τις κρινοδάχτυλες παρθένες ότι «*Ο κορφός κάθε μιάς, γλυκοβύζαστο ετοιμάζει γάλα ανδρείας και ελευθερίας*» (Εικόνα 1), ενώ ο Κωστής Παλαμάς παρομοιάζει τα πλούσια στήθη μιας γυναίκας με πέρδικα: «*Περδικόστηθη τσιγγάνα, ως μαγεύτρα, που μιλείς τα μεσάνυχτα προς τ' άστρα γλώσσα προσταγής*». Ο Ανδρέας

Κάλβος σε μια ωδή του γράφει: «Τα στήθη που σ' εβύζαζαν εμπρός σου βλέπεις» ενώ ο Κώστας Βάρναλης σε ένα ποίημα του: «Είχα γυναίκα κι είχα ζα, κι είχα μια Βάσω με βυζιά» [3].

Εικόνα 1: Αναφορά στο μαστό στον Ύμνο εις την ελευθερίαν. Το απόσπασμα προέρχεται από το σύνολο της πρώτης μελοποίησής του, όπως τυπώθηκε για πρώτη φορά σε 27 μέρη, στο Λονδίνο το 1873.

μὴ γλυκοβύζαστο ἔτοιμάζει γάλα ἀνδρείας καὶ ἐλευθερίας.
μὴ γλυκοβύζαστο ἔτοιμάζει γάλα ἀνδρείας καὶ ἐλευθερίας.
μὴ γλυκοβύζαστο ἔτοιμάζει γάλα ἀνδρείας καὶ ἐλευθερίας.
μὴ γλυκοβύζαστο ἔτοιμάζει γάλα ἀνδρείας καὶ ἐλευθερίας.

Ο μαστός ως σύμβολο της γυναικείας φύσης έχει απασχολήσει και τη γλυπτική. Πλήθος αγαλμάτων από τη Μινωική Κρήτη (Μινωικά αγαλματίδια) (Εικόνα 2Α), τις Κυκλάδες (Κυκλαδίτικα ειδώλια) (Εικόνα 2Β), τις Μυκήνες (πήλινα αγαλματίδια) (Εικόνα 2Γ) και τη Βοιωτία (Ταναγραίεις) (Εικόνα 2Δ) μέχρι τη Μεσοποταμία και από τη Ρωμαϊκή (Τροφός λύκαινα) (Εικόνα 2Ε) μέχρι τη σύγχρονη γλυπτική τέχνη, αναπαριστούν το μαστό. Χαρακτηριστικό έργο τέχνης βρίσκεται στη Στοκχόλμη όπου η θεά Ήρα θηλάζει τον Ηρακλή, προκειμένου να μπορεί να λατρεύεται ως θεός (Εικόνα 3).

Εικόνα 2: Ο μαστός ως αντικείμενο της γλυπτικής τέχνης στην αρχαία Ελλάδα.



A: Μινωική θεότητα με φίδια, 1600 π.Χ., Μουσείο Ηρακλείου. **B:** Γυναικείο Κυκλαδίτικο ειδώλιο, 2800-2300 π.Χ., Εθνικό Αρχαιολογικό Μουσείο. **Γ:** Μυκηναϊκό ειδώλιο θεάς, 1200 π.Χ., Αρχαιολογικό Μουσείο Ναυπλίου. **Δ:** Ταναγραία - γυμνή θεά, 500 π.Χ., Ελληνορωμαϊκό Μουσείο Αλεξάνδρειας, **Ε:** Τροφός λύκαινα, 5^{ος} αιώνας π.Χ., Μουσείο Καπιτωλίου Ρώμης.

Εικόνα 3: Η θεά Ήρα θηλάζει τον Ηρακλή.



Johan Niclas Byström, 1817-20, Royal Palace, Στοκχόλμη.

Και η ζωγραφική με ποικίλες τεχνοτροπίες περιγράφει το μαστό ως σύμβολο θηλυκότητας. Αντιπροσωπευτικά δείγματα αποτελούν ο πίνακας της Madonna Litta, του Abrogio de Predis, στον οποίο διακρίνεται άνοιγμα στο φόρεμα για το θηλασμό ενώ αργότερα ο John Collier αποθανάτισε το θρύλο της Lady Godiva (Εικόνα 4), η οποία προκειμένου να πείσει το σύζυγό της και Κόμη του Κόβεντρι να προσφέρει χρήματα στο λαό, εμφανίστηκε γυμνή πάνω σε ένα άλογο στο κέντρο της πόλης [4].

Εικόνα 4: Ο θρύλος της Lady Godiva.



John Collier, 1898, Herbert, Κόβεντρι.

Εκτός όμως από την τέχνη, αναφορά στο μαστό γίνεται και από τις θρησκείες. Αντιπροσωπευτικότερο δείγμα αποτελεί η σπάνια εικόνα της Θεοτόκου που θηλάζει το Χριστό, με γυμνό μαστό (Παναγία η Γαλακτοφορούσα). Όμως ο μόνος ρόλος που αποδίδεται στο μαστό είναι εκείνος της διατροφής του βρέφους (Εικόνα 5).

Εικόνα 5: Η παλαιότερη εικόνα Παναγίας Γαλακτοφορούσας.



2^{ος} Αιώνας, Κατακόμβη, Πρίσκιλλα.

Ο Ευαγγελιστής Λουκάς στα κείμενά του περιγράφει γυναίκα που απευθυνόμενη προς το Χριστό λέει «*ευλογημένη η κοιλιά που σε κράτησε και οι μαστοί που θήλασες*». Επιπλέον, ο ίδιος Ευαγγελιστής λέει «*ευτυχισμένες οι άγονες γυναίκες και οι κοιλίες που δεν γέννησαν και οι μαστοί που δεν θήλασαν*», οικτίροντας τις γυναίκες της Ιερουσαλήμ για την επερχόμενη συμφορά των παιδιών τους. Για τον Άγιο Βερνάρδο, αναφέρεται πως εμφανίστηκε μπροστά του η Παναγία, θηλάζοντας το Θείο βρέφος. Μάλιστα, σταμάτησε το θηλασμό, πίεσε το μαστό της κατευθύνοντας τις σταγόνες γάλακτος στα χείλη του και έτσι ο Άγιος απέχτησε το χάρισμα της ευφράδειας λόγου. Όμως και στο Κοράνιο ο Μωάμεθ αναφέρει ότι «*Ο μαστός τρέφει το παιδί και δίνει χαρές στον πατέρα*». Στο Άσμα Ασμάτων του Σολομώντα αναφέρονται οι φράσεις: «*Οι μαστοί σου είναι πιο ευχάριστοι από το κρασί*» και «*Θα αγαπούμε τους μαστούς σου περισσότερο από το κρασί*» [3].

Παρόλο που ο μαστός υμνήθηκε από την τέχνη, υπάρχουν και αρκετές μαρτυρίες που περιγράφουν με γκριζα χρώματα τις αντιλήψεις γύρω από αυτόν. Για παράδειγμα, την περίοδο των διωγμών των Χριστιανών, η Χριστιανή Αγαθή τιμωρήθηκε με αποκοπή των μαστών της, αρνούμενη να ανταποκριθεί στις ερωτικές επιθυμίες του άρχοντα Κυντιανό της Σικελίας. Αλλά και ο Αλή Πάσας στα Γιάννενα τιμωρούσε τις γυναίκες που δεν προσέφεραν τις κόρες τους για το χαρέμι του, κόβοντάς τους τις θηλές των μαστών, τις οποίες εν συνεχεία αποξήρηνε στον ήλιο και τις έκανε χάντρες για κομπολόι.

Από την άλλη, και οι παθήσεις του μαστού γίνονται αντικείμενο αναφοράς σε πληθώρα συγγραμμάτων από την αρχαιότητα. Ο Ιπποκράτης πρώτος θα αναφερθεί στον καρκίνο του μαστού, περιγράφοντάς τον έτσι λόγω της ακτινωτής διάταξης των φλεβών που τις παρομοίασε με πόδια κάβουρα [4]. Ιστορικά στοιχεία των παθήσεων

του μαστού και ιδιαιτέρως του καρκίνου, περιγράφονται εκτενώς στο επόμενο κεφάλαιο.

Ανακεφαλαιώνοντας, από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα, ο μαστός είναι άμεσα συνυφασμένος με τη γονιμότητα, τη μητρότητα, τη σεξουαλικότητα, τη θηλυκότητα και το κάλλος. Από την Αρχαία Ελλάδα και ιδιαίτερα τη Νάξο που χρησιμοποιούσαν σμυριδόσκονη, πυρίτιο και άλατα μαγνησίου για την ομορφιά των μαστών [3], μέχρι σήμερα, ο μαστός έχει γίνει αντικείμενο εμπορικής εκμετάλλευσης και διαφήμισης. Η εικόνα που έχει η γυναίκα για το στήθος της, επηρεάζεται από το σύγχρονο τρόπο ζωής που δημιουργεί ένα πρότυπο το οποίο οι γυναίκες προσπαθούν να ακολουθήσουν ακόμη και αν πρόκειται να υποβληθούν σε χειρουργικές επεμβάσεις αισθητικής φύσεως. Από την άλλη, προσωπικές εμπειρίες, επιδράσεις από το περιβάλλον αλλά και τα μέσα ενημέρωσης και τα πρότυπα της μόδας, καθιστούν το μαστό ένα όργανο στο οποίο η οποιαδήποτε πάθηση -είτε καλοήθης είτε κακοήθης- θα προκαλέσει ποικίλες επιδράσεις.

Ακόμα και σήμερα, η λέξη καρκίνος προκαλεί φόβο και αγωνία καθότι παραμένουν άγνωστα τα αίτια και οι μηχανισμοί της καρκινογένεσης. Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί πρόκληση και αντικείμενο πολλών ερευνών τόσο σε αιτιοπαθογενετικό όσο και σε θεραπευτικό επίπεδο. Λαμβάνοντας ως έναυσμα τα ανωτέρω, η παρούσα διατριβή επιθυμεί να συμβάλει όχι μόνο προσφέροντας νέες θεραπευτικές επιλογές ενάντια στον καρκίνου του μαστού αλλά και ένα μήνυμα ελπίδας στην κοινωνία.

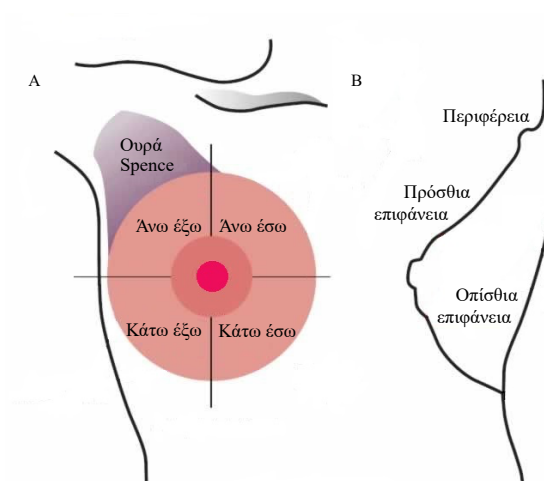
1.3 Στοιχεία περιγραφικής ανατομικής

Ο μαστός αποτελεί τροποποιημένο αποκρινή αδένα ημισφαιρικού σχήματος. Έχοντας ολοκληρώσει την ανάπτυξή του, ο μαστός εντοπίζεται στην πρόσθια

επιφάνεια του θώρακα, εκτεινόμενος από τη 2^η έως την 6^η πλευρά. Το έξω όριο του φτάνει έως την πρόσθια μασχαλιαία γραμμή ενώ το έσω μέχρι το πλάγιο χείλος του στήνους. Αρχικά ο μαστός έχει σχήμα κώνου, προβάλλοντος προς τα εμπρός, εν συνεχεία όμως με την ηλικία, την κύηση και τη γαλουχία το σχήμα μεταβάλλεται με αποτέλεσμα το άνω μέρος να καθίσταται επίπεδο και το κάτω κυρτό λόγω βάρους, σχηματίζοντας έτσι, την υπομάστιο πτυχή. Τοπογραφικά ο μαστός διαιρείται σε τέσσερα τεταρτημόρια: άνω έξω, κάτω έξω, άνω έσω και κάτω έσω. Το άνω-έξω συνήθως περιέχει μεγαλύτερη μάζα μαζικού αδένου και είναι παχύτερο από τα υπόλοιπα, ενώ χαρακτηρίζεται από μία προσεκβολή προς τη μασχάλη, που περιγράφεται ως ουρά του Spence. Εκτός όμως από την τοπογραφική περιγραφή σε τεταρτημόρια, διακρίνουμε δυο επιφάνειες -την πρόσθια και την οπίσθια- και την περιφέρεια.

Η τοπογραφική διαίρεση του μαστού περιγράφεται στην εικόνα που ακολουθεί (Εικόνα 6).

Εικόνα 6: Τοπογραφική διαίρεση μαστού.



A: Τεταρτημόρια. **B:** Επιφάνειες και περιφέρεια.

Η πρόσθια επιφάνεια επενδύεται από λεπτό λείο δέρμα, στο μέσο του οποίου εντοπίζονται η θηλή και η θηλαία άλως. Η θηλή αποτελεί έπαρμα του δέρματος σε σχήματος κυλινδρικού ή κωνοειδούς, στην κορυφή του οποίου εντοπίζονται 15-20 στόμια στα οποία εκβάλλουν οι γαλακτοφόροι πόροι. Η θέση της θηλής σε σχέση με το θωρακικό τοίχωμα δεν είναι σταθερή, συνηθέστερα όμως εντοπίζεται στο ύψος του 4^{ου} μεσοπλευρίου διαστήματος. Γύρω από τη θηλή συναντάται μια υποστρόγγυλη περιοχή διαμέτρου 1,5-6 εκ., η θηλαία άλως, η οποία εμφανίζει στην επιφάνειά της 10-15 έπαρματα κάτω από τα οποία βρίσκονται τροποποιημένοι σμηγματογόνοι αδένες, οι αδένες του Montgomery. Και η θηλή και η θηλαία άλως έχουν καστανέρυθρο χρώμα, λόγω παρουσίας άφθονης μελανίνης. Η οπίσθια επιφάνεια του μαστού είναι υπόκοιλη και έρχεται σε επαφή με την περιτονία του μείζονος θωρακικού μυός. Σε μεγάλους μαστούς μπορεί να εκτείνεται και μέχρι τον πρόσθιο οδοντωτό ή τον έξω λοξό κοιλιακό μυ. Η περιφέρεια του μαστού μεταβαίνει προοδευτικά στο γύρω δέρμα [5, 6].

Από δομικής απόψεως ο μαστός περιλαμβάνει δέρμα, λίπος και το μαζικό αδένα: Το δέρμα του μαστού είναι λείο και λεπτό, περιλαμβάνει σμηγματογόνους και ιδρωτοποιούς αδένες και είναι στενά συνδεδεμένο με το περιμαστικό λίπος. Στην περιοχή του συμπλέγματος θηλής/θηλαίας άλω, στο χόριο συναντώνται λείες μυϊκές ίνες που ευθύνονται για τη σκλήρυνσή του (στύση) κατά την τριβή ή το θηλασμό. Στο περιμαστικό λίπος που είναι συνέχεια του υποδορίου λίπους, διακρίνουμε μία πρόσθια στιβάδα, από την οποία περνούν οι κρεμαστήρες σύνδεσμοι του Cooper και μία οπίσθια στιβάδα. Οι σύνδεσμοι του Cooper σε περίπτωση διήθησής τους από καρκίνο, χάνουν την ελαστικότητά τους και βραχύνονται, προκαλώντας εισολκή του υπερκείμενου δέρματος.

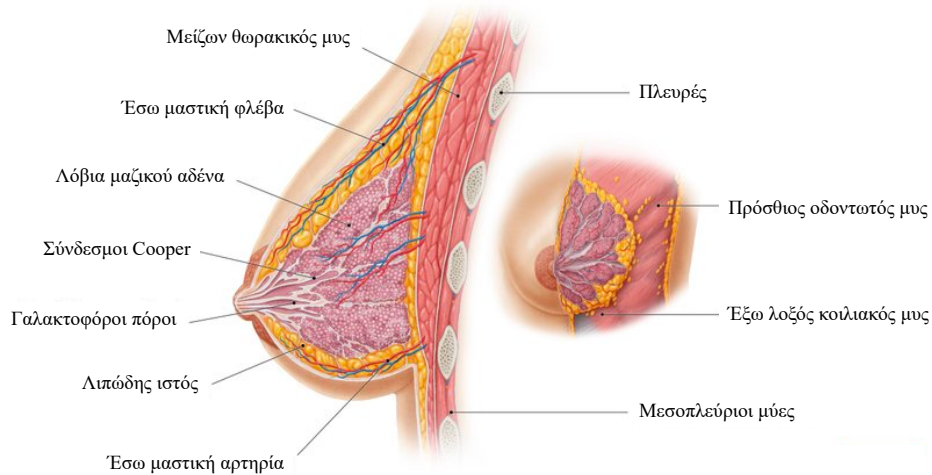
Ο μαζικός αδένας είναι λευκωπής χροιάς και έχει δισκοειδές σχήμα. Είναι υπόσκληρος και ελαστικός - εν αντιθέσει με το περιμαστικό λίπος που είναι

υποκίτρινης χροιάς και μαλακό. Στην πρόσθια επιφάνειά του διακρίνουμε εντυπώματα που διαχωρίζονται μεταξύ τους με ακρολοφίες, μεταξύ των οποίων και του χωρίου εκτείνονται οι σύνδεσμοι του Cooper, διαιρώντας τον αδένα σε 15-20 λοβούς πυραμοειδούς σχήματος με την κορυφή προς τη θηλή. Εκεί εκβάλλουν μεμονωμένοι ή μαζί με άλλους οι γαλακτοφόροι πόροι, οι οποίοι πριν την εκβολή τους εμφανίζουν μια διατεταμένη μοίρα, το γαλακτοφόρο κόλπο, εντός της οποίας επιτελείται η συλλογή γάλακτος. Η εκκριτική μοίρα του μαζικού αδένα αποτελείται από τις τελικές μονάδες των λοβίων και των πόρων, τις αδενοκυψέλες, οι οποίες συνενώνονται σχηματίζοντας τους αρχικούς μικρούς κλάδους των γαλακτοφόρων πόρων. Η οπίσθια επιφάνεια του μαζικού αδένα αφορίζεται από την περιτονία του μείζονος θωρακικού μυός μέσω ινολιπώδους ιστού [5, 6].

Οι μύες στην περιοχή του μαστού έχουν μεγάλη κλινική σημασία για τις χειρουργικές επεμβάσεις (ογκολογικές και επανορθωτικές). Αυτοί είναι: ο μείζων και ο ελάσσων θωρακικός, ο πρόσθιος οδοντωτός, ο πλατύς ραχιαίος, ο κορακοβραχιόνιος, ο υποπλάτιος, ο έξω λοξός κοιλιακός. Κατά αντιστοιχία, κλινική σημασία διεγχειρητικά έχουν οι εξής περιτονίες: Η υποδόρια, η περιτονία του μείζονος θωρακικού, η περιτονία του πρόσθιου οδοντωτού, η κορακοπλευρική και η περιτονία της μασχάλης.

Τα ανωτέρω στοιχεία περιγραφικής ανατομικής του μαστού, περιγράφονται στην Εικόνα που ακολουθεί (Εικόνα 7).

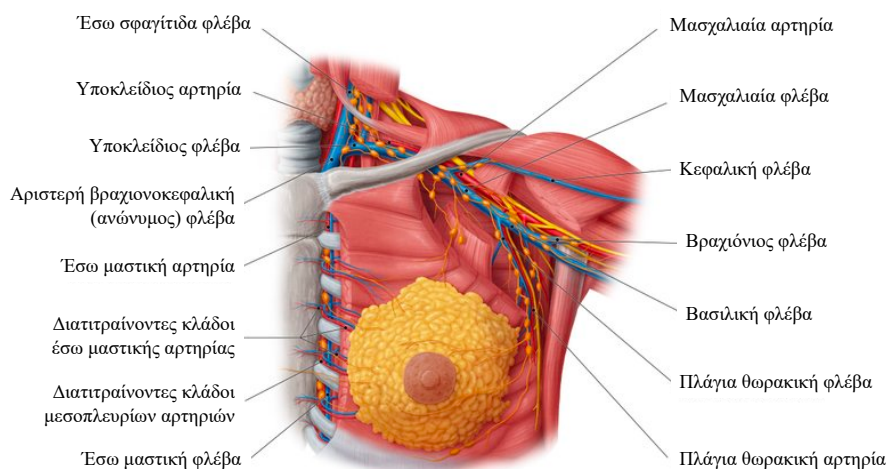
Εικόνα 7: Ανατομία μαζικού αδένα.



Πηγή: www.kenhub.com

Η αρτηριακή αιμάτωση του μαστού, προέρχεται από την έσω μαστική, την πλάγια και άνω θωρακική, το θωρακικό κλάδο της ακρωμιοθωρακικής, τους διατιτραίνοντες κλάδους των μεσοπλεύριων αρτηριών και την υποπλάτιο αρτηρία. Το φλεβικό δίκτυο του μαστού διακρίνεται σε επιπολής και εν τω βάθει, με τους επιπολής φλεβικούς κλάδους να εκβάλλουν στην έσω μαστική φλέβα και τους εν τω βάθει στην έσω μαστική, τη μασχαλιαία και τις μεσοπλεύριες φλέβες (Εικόνα 8) [5, 6].

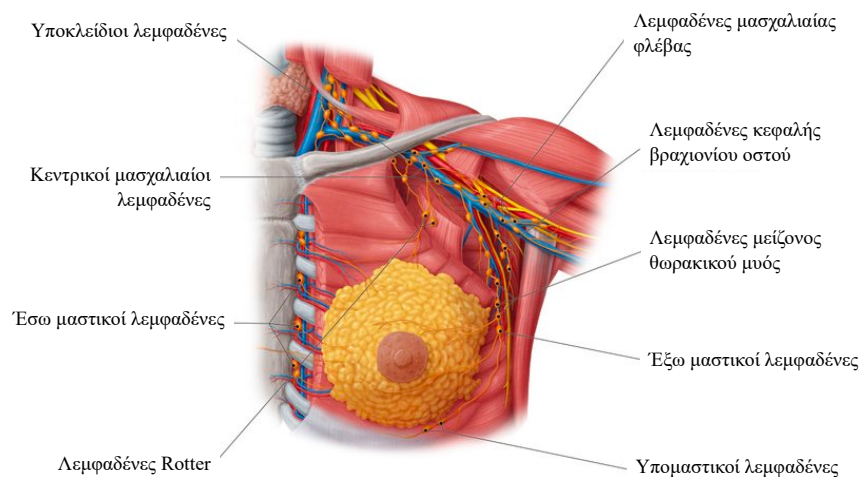
Εικόνα 8: Αρτηριακό και φλεβικό δίκτυο μαζικού αδένα.



Πηγή: www.kenhub.com

Ο μαστός παρουσιάζει πλούσιο λεμφαγγειακό δίκτυο που αποχετεύει τη λέμφο προς δύο κατευθύνσεις: τους λεμφαδένες της μασχάλης και τους λεμφαδένες της έσω μαστικής αρτηρίας. Οι λεμφαδένες του μαστού διακρίνονται σε τρεις βασικές ομάδες: τους μασχαλιαίους, τους υπερκλειδίους και τους λεμφαδένες της έσω μαστικής αρτηρίας (Εικόνα 9). Οι μασχαλιαίοι λεμφαδένες με τη σειρά τους χωρίζονται σε τρία επίπεδα, που έχουν κλινική σημασία για το λεμφαδενικό καθαρισμό επί καρκίνου (Πίνακας 1) [5, 6].

Εικόνα 9: Λεμφικό δίκτυο μαστικού αδένου.



Πηγή: www.kenhub.com

Πίνακας 1: Επίπεδα λεμφαδενικού καθαρισμού μασχάλης.

<p>Επίπεδο I Επίπεδο II Επίπεδο III</p> <p>Πηγή: oncolex.org</p>	I	Λεμφαδένες της μασχάλης που βρίσκονται επί τα εκτός του ελάσσανος θωρακικού μυός.
	II	Λεμφαδένες που βρίσκονται όπισθεν του ελάσσανος θωρακικού μυός.
	III	Λεμφαδένες που βρίσκονται επί τα εντός του ελάσσανος θωρακικού μυός.

Ο μαστός νευρώνεται από τα μεσοπλεύρια νεύρα, το μεσοπλευροβραχιόνιο, το θωρακοραχιαίο και το μακρύ θωρακικό νεύρο (νεύρο του Bell) καθώς και από το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Η θηλή είναι νευροβριθής, με τις νευρικές ίνες να απολήγουν στα απτικά σωματίδια του Meissner [5, 6].

1.4 Στοιχεία εμβρυολογίας

Ο μαζικός αδένας αναπτύσσεται με την αλληλεπίδραση επιθηλίου και μεσεγχύματος. Διακρίνουμε δύο φάσεις ανάπτυξης: το σχηματισμό της θηλής και την ανάπτυξη του μαζικού αδένου.

Προκειμένου να σχηματισθεί η θηλή, ο εξωδερματικός δακτύλιος μεταξύ του άνω και κάτω μέλους υπέρκειται του μεσονεφρικού πόρου, σχηματίζοντας τη μέση νεφρική ακρολοφία. Στη θέση αυτή, η μαστική ακρολοφία εμφανίζεται κατά την 4^η εβδομάδα. Η θηλή καθίσταται ορατή κατά την 6^η εβδομάδα και στη συνέχεια είτε είναι πεπλατυσμένη είτε διατάσσεται σχηματίζοντας ένα αβαθές εντύπωμα, παραμένοντας έτσι για μεγάλο μέρος της προγεννητικής ζωής και ανυψώνεται κοντά στον τοκετό.

Για την ανάπτυξη του μαζικού αδένου, πριν το τέλος της πρωινής εμβρυϊκής ζωής, κύτταρα παρεγχύματος αναπτύσσονται προς το υποκείμενο στρώμα. Κατά το 1^ο τρίμηνο, οι επιθηλιακές εκβλαστήσεις του παρεγχύματος καθίστανται λοβιοειδείς οδηγώντας στο σχηματισμό 15-25 επιθηλιακών χορδών που κοιλαίνονται κατά το 2^ο τρίμηνο. Κατά το 3^ο τρίμηνο αναπτύσσονται οι αδενοκυψέλες, ωστόσο δεν έχει ξεκαθαριστεί αν υπάρχει έκκριση και σχηματίζονται τα λόβια. Το μεσόδερμα διαφοροποιείται σχηματίζοντας το στρώμα και τις λείες μυϊκές ίνες της περιοχής της θηλής. Οι αδένες γύρω από την θηλή σχηματίζουν τη θηλαία άλω. Η διαφοροποίηση και η αύξηση των κυττάρων του μαζικού αδένου επηρεάζεται από παράγοντες όπως η επαφή των κυττάρων μεταξύ τους, η εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, τα νευρικά σήματα,

οι ορμόνες και οι αυξητικοί παράγοντες. Η αύξηση του εκφορητικού συστήματος προάγεται από τα οιστρογόνα ενώ η ανάπτυξη των λοβίων από την προγεστερόνη [7-9].

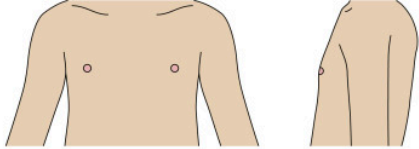
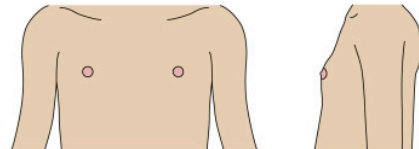
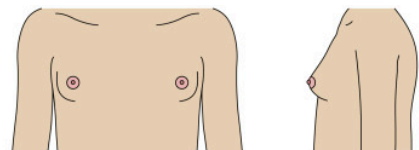
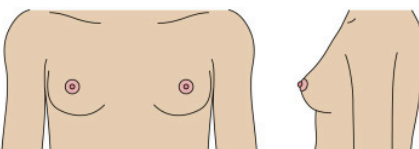
1.5 Στοιχεία φυσιολογίας

Ο μαστός είναι ψηλαφητός στο νεογνό και αποκτά οριστική λοβιώδη διαμόρφωση λίγες εβδομάδες μετά την γέννηση. Αρχικά αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από γαλακτοφόρους πόρους. Ο μαστός του νεογνού μπορεί να εκκρίνει μερικές σταγόνες γάλακτος, γεγονός που οφείλεται στην προλακτίνη (PRL) που υπάρχει σε υψηλά επίπεδα στο νεογνό και στην έκθεση του μαστικού αδένου σε υψηλά επίπεδα οιστρογόνων κατά την κύηση. Η κατάσταση αυτή είναι παροδική και ο μαστός είναι αδρανής μέχρι την ήβη. Κατά την ήβη, κάτω από την επίδραση των ωοθηκικών ορμονών, οι επιθηλιακές προσεκβολές του μαστικού αδένου διακλαδίζονται ακόμα παραπάνω με τα άκρα τους να μετατρέπονται σε σφαιροειδείς μάζες κυττάρων από τις οποίες αργότερα θα σχηματισθούν τα λόβια και οι κυψελίδες. Ταυτόχρονα εναποτίθεται μεγάλη ποσότητα λιπώδους ιστού και ως εκ τούτου ο μαστός συνεχίζει να αναπτύσσεται σε μέγεθος. Ωστόσο, η τελική διαφοροποίηση του μαστού γίνεται κατά την κύηση όπου αρχικά παρατηρείται αύξηση του μεγέθους, διεύρυνση των θηλών, μελάγχρωση της θηλαίας άλω, αύξηση της αγγείωσης και ήπιο άλγος. Κάτω από την επίδραση πολλαπλών ορμονών όπως της PRL και της χοριακής γοναδοτροπίνης, αναπτύσσεται εκκριτικός αδενικός ιστός, με τους τελικούς πόρους να σχηματίζουν τις αδενοκυψέλες. Οι αλλαγές αυτές που ξεκινούν κατά το μέσο της κύησης, ολοκληρώνονται με την παραγωγή γάλακτος η οποία υπόκειται πολύπλοκης ορμονικής επίδρασης. Αρχικά μετά τον τοκετό εκκρίνεται το πρωτόγαλα και λίγες μέρες αργότερα το κανονικό γάλα. Κατά τη γαλουχία και κάτω από την επίδραση της

PRL, της αυξητικής ορμόνης και των επινεφριδιακών ορμονών, το μαζικό παρέγχυμα παρουσιάζει περεταίρω αύξηση. Μετά τη γαλουχία, ο μαζικός αδένας υποστρέφει ωστόσο ποτέ η υποστροφή αυτή δεν είναι πλήρης. Κατά την προεμμηνοπαυσιακή περίοδο οι μαστοί είναι διογκωμένοι και επώδυνοι, ωστόσο μετεμμηνοπαυσιακά ατροφούν και μικραίνουν σε μέγεθος. Ο μαζικός αδένας στον άνδρα έχει πλήρως αναπτυχθεί ως την ηλικία των 20 ετών [7-9].

Η ανάπτυξη του μαστού διακρίνεται σε πέντε στάδια κατά Tanner (Πίνακας 2) [10]. Η περιγραφή αυτή χρησιμεύει στην καταγραφή τυχόν διαταραχών ανάπτυξης του μαστού κατά την εφηβεία.

Πίνακας 2: Στάδια ανάπτυξης του μαστού στην εφηβεία κατά Tanner.

Στάδια κατά Tanner		
1		Προεφηβική εμφάνιση.
2		Μικρό έπαρμα.
3		Αύξηση του μεγέθους των μαστών και της θηλαίας άλω χωρίς διαχωρισμό τους.
4		Η άλως και η θηλή προβάλλουν με σαφή διάκριση από τον υπόλοιπο μαστό.

5		<p>Πλήρης ανάπτυξη: Η θηλή προέχει και η άλλως έρχεται στο ύψος της περιφέρειας του μαστού.</p>
<p>Πηγή εικόνων: Puberty. Jones RE, Lopez KH. In: Human Reproductive Biology (4th Edition). Eds: Jones RE, Lopez KH. Pages: 103-118. 2014, Elsevier.</p>		

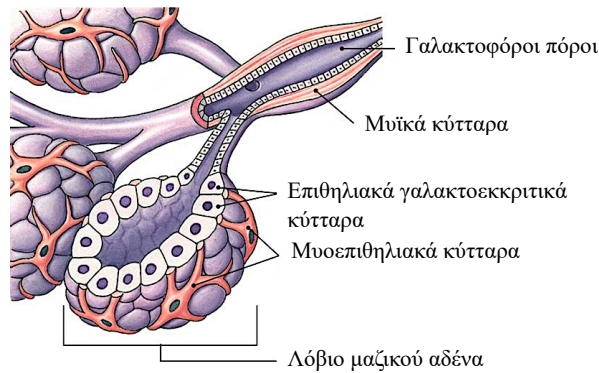
1.6 Στοιχεία ιστολογίας

Όπως αναφέρθηκε, ο κάθε μαστός αποτελείται από 15-25 λειτουργικές μονάδες, τους μαζικούς λοβούς καθένας από τους οποίους αποτελείται από ένα σύστημα πόρων που εκβάλλει στη θηλή. Οι μαζικοί λοβοί, αποτελούνται από ένα σύστημα πόρων, εντοπίζονται εντός του λιπώδους ιστού και διαχωρίζονται μεταξύ τους από διαφραγμάτια ινοκολλαγονώδους ιστού, που προσφύονται στο δέρμα σχηματίζοντας τους συνδέσμους του Cooper.

Οι πόροι επενδύονται από μια εσωτερική στιβάδα κυβοειδών ή κυλινδρικών επιθηλιακών κυττάρων και μια εξωτερική στιβάδα μυοεπιθηλιακών κυττάρων. Περιβάλλονται από αραιό ινοκολλαγονώδη συνδετικό ιστό που περιέχει πλούσιο τριχοειδικό δίκτυο και ελαστικές ίνες.

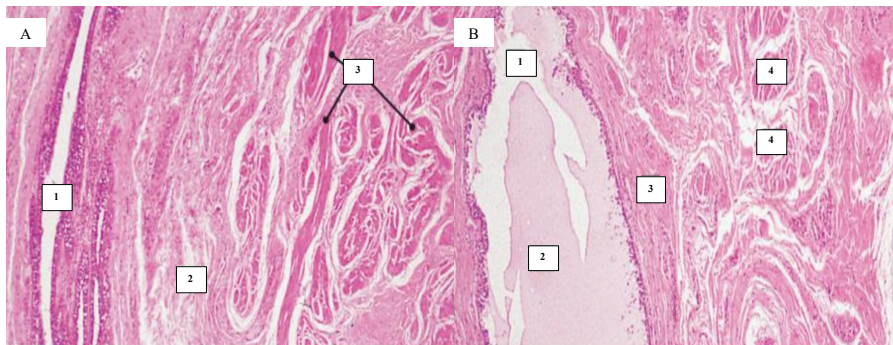
Οι μεγάλοι πόροι καταλήγουν σε ένα δίκτυο τελικών σωληναρίων το οποίο μαζί με τον τελικό του πόρο, συνιστά το μαζικό λόβιο. Ο κάθε τελικός πόρος αποτελείται από ενδολοβιακό και εξωλοβιακό τμήμα. Πέριξ των ενδολοβιακών τελικών πόρων και των τελικών σωληναρίων, διακρίνεται χαλαρός συνδετικός ιστός, με πλούσιο τριχοειδικό δίκτυο και λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και σιτευτικά κύτταρα. Στην περιφέρεια και στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των λοβίων, παρατηρείται πυκνός ινοκολλαγονώδης και λιπώδης ιστός (Εικόνες 10-12) [11-13].

Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση της δομής του μαζικού λοβίου.



Πηγή: humanbiologylab.pbworks.com

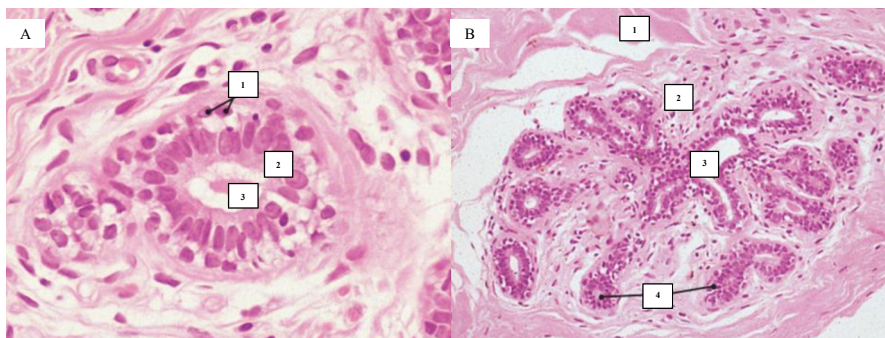
Εικόνα 11: Ιστολογική εικόνα θηλής και γαλακτοφόρου πόρου.



Πηγή: Skin and breast. In: Human histology (4th Edition). Eds: Lowe JS, Anderson PG. Pages: 363-384. 2015, Elsevier.

A: Γαλακτοφόρος πόρος της θηλής (1) περιβαλλόμενος από ινοκολλαγόνωδες στρώμα (2) και επιμήκεις και κυκλωτερείς λείες μυϊκές ίνες (3). **B:** Γαλακτοφόρος κόλπος κάτωθεν της θηλής (1) που περιέχει πρωτεϊνικό υγρό (2) και περιβάλλεται από ινοκολλαγόνωδες στρώμα (3) και μυϊκές ίνες (4).

Εικόνα 12: Ιστολογική εικόνα μαζικού λοβίου.



Πηγή: Skin and breast. In: Human histology (4th Edition). Eds: Lowe JS, Anderson PG. Pages: 363-384. 2015, Elsevier.

A: Επιθήλιο ενδολοβιακών τελικών σωληναρίων. Η έξω στιβάδα σχηματίζεται από μυοεπιθηλιακά κύτταρα (1) ενώ η έσω στιβάδα από επιθηλιακά κύτταρα το σχήμα των οποίων ποικίλει από κυβοειδές έως κυλινδρικό (2). Στον αυλό του σωληναρίου διακρίνεται έκκριμα (3). **B:** Μαζικό λόβιο μέσα σε ινοκολλαγόνωδη ιστό. Διακρίνονται: Ο πυκνός ινοκολλαγόνωδης εξωλοβιακός ιστός (1) σε αντίθεση με το χαλαρό ινοκολλαγόνωδη ενδολοβιακό ιστό (2), ο ενδολοβιακός τελικός πόρος (3) και το τελικό σωληνάριο (4).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

2.1 Εισαγωγή

Από την πρώτη περιγραφή του καρκίνου του μαστού από 3500 περίπου π.Χ. μέχρι σήμερα, η ανθρωπότητα έχει αγωνιστεί να κατανοήσει τους μηχανισμούς του και να τον θεραπεύσει. Τα ορατά σημεία και συμπτώματα της νόσου τόσο στα αρχικά όσο και στα πιο προχωρημένα στάδια, επέτρεψαν την εύκολη διάγνωση από τους ιατρούς σχεδόν κάθε περιόδου της καταγεγραμμένης ιστορίας, αρχής γενομένης από την αρχαιότητα. Στους αιώνες που ακολούθησαν, επικράτησαν οι θεωρίες του Ιπποκράτη (460 π.Χ.) και του Γαληνού (200 μ.Χ.) ενώ οι θεραπευτικές επιλογές περιλάμβαναν τη χρήση οπιούχων και καστορέλαιου. Η χειρουργική εκτομή εισήχθη στο 18^ο αιώνα ενώ η σύγχρονη ιατρική προτείνει νέες θεραπευτικές επιλογές όπως ορμονικές και στοχευμένες θεραπείες και χημειοθεραπείες. Ενώ έχει καταγραφεί αξιοσημείωτη πρόοδος, υπάρχουν ακόμα αρκετές θεραπευτικές προκλήσεις.

Παρά την εμφανή εκδήλωση, την εύκολη διάγνωση, την υψηλή θνησιμότητα και την παραδοχή από την αρχαιότητα κιόλας, ότι ο καρκίνος του μαστού δε μπορεί να θεραπευθεί αν έχει ήδη εξαπλωθεί, ποικίλες πολιτιστικές και φυλετικές απόψεις έχουν στιγματίσει διαχρονικά τις συζητήσεις γύρω από τη νόσο. Σε πολλές κοινωνίες ο καρκίνος του μαστού εξακολουθεί να θεωρείται ταμπού, με αποτέλεσμα οι ασθενείς να εμφανίζονται απρόθυμες να συζητήσουν με ειλικρίνεια και εκτενώς για τη νόσο και τα συμπτώματά της.

Λόγω ποικίλων κοινωνικών, ηθικών και δεοντολογικών αλλαγών στις περισσότερες πλέον κοινωνίες η συζήτηση γύρω από τον καρκίνο του μαστού είναι ανοιχτή σε όλα τα μέσα ενημέρωσης. Περαιτέρω δε, με τη χρήση των ηλεκτρονικών μέσων και του διαδικτύου, όλοι οι πολιτισμοί του κόσμου, ακόμα και στις πιο απομακρυσμένες περιοχές, μπορούν να έχουν πρόσβαση σε πληροφορίες και

διαδικτυακές συζητήσεις σχετικές τη νόσο. Παράλληλα, λόγω της πληθώρας ενημερωτικών δράσεων, οι ασθενείς είναι πλέον ευαισθητοποιημένοι.

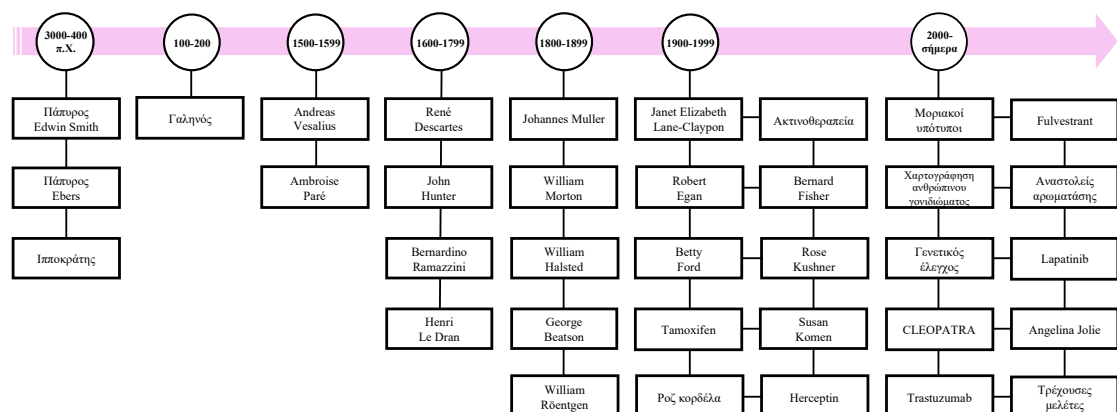
Επιπλέον, οι επιστημονικές ανακαλύψεις ιδιαίτερα τις τελευταίες δεκαετίες, οδήγησαν σε νέους και καλύτερους τρόπους πρόληψης, διάγνωσης και θεραπείας ενώ παράλληλα ο καρκίνος του μαστού αποτελεί αντικείμενο πολυάριθμων τρεχουσών μελετών για μελλοντικές θεραπευτικές προσεγγίσεις - μια εξ' αυτών πραγματεύεται και η παρούσα διδακτορική διατριβή.

Πριν περάσουμε στην ανασκόπηση των σύγχρονων δεδομένων για τον καρκίνο του μαστού και στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων της παρούσης μελέτης, κρίνεται σκόπιμη η ιστορική αναδρομή, παραθέτοντας όλα τα ιστορικά ορόσημα.

2.2 Ιστορικά στοιχεία

Στο εδάφιο αυτό θα γίνει ιστορική αναδρομή από τον τρόπο που αντιμετωπίστηκε από την αρχαιότητα ο καρκίνος του μαστού μέχρι τις σύγχρονες θεραπευτικές προκλήσεις (Διάγραμμα 1).

Διάγραμμα 1: Πρόσωπα και σημεία σταθμοί από τις πρώτες αναφορές για τον καρκίνο του μαστού, μέχρι σήμερα.



Σημειώνεται πως καθότι από το 16^ο και μετά η ιατρική γνώρισε ιδιαίτερη άνθηση και ολόενα και περισσότεροι επιστήμονες της εποχής κατέγραφαν τις δικές τους παρατηρήσεις, η ιστορική αυτή ανασκόπηση περιορίζεται στους κυριότερους σταθμούς. Για λόγους καλύτερης περιγραφής, διακρίνουμε τις κάτωθι περιόδους:

2.2.1 3500 π.Χ. - 400 π.Χ.

2.2.1.1 Αρχαία Αίγυπτος και αρχαία Ελλάδα

Οι αρχαίοι Αιγύπτιοι ήταν οι πρώτοι που περιέγραψαν τον καρκίνο του μαστού, περίπου 5000 χρόνια πριν σε δύο ξεχωριστούς πάπυρους: τον πάπυρο Smith και τον πάπυρο Ebers. Ο χειρουργικός πάπυρος Edwin Smith, που έλαβε το 1862 το όνομα του Αμερικανού εμπόρου αντικών που ζούσε στο Κάιρο, θεωρείται ως ένα από τα σημαντικότερα ιατρικά έγγραφα της αρχαίας Αιγύπτου και της ευρύτερης περιοχής της κοιλάδας του Νείλου. Ο πάπυρος αυτός χρονολογείται μεταξύ 3500 και 2500 π.Χ, κατά την εποχή των Πυραμίδων [14]. Ο άλλο πάπυρος, ο Ebers πήρε το όνομά του από τον Αιγυπτιολόγο George Ebers, ο οποίος τον αγόρασε το 1872 και στη συνέχεια το 1895 δημοσίευσε μια τηλεμοιοτυπία του σε λατινικούς χαρακτήρες. Χρονολογείται γύρω στο 1600-1500 π.Χ.

Και οι δύο πάπυροι περιέχουν περιγραφές παθολογικών καταστάσεων που είναι αντίστοιχες με τις σύγχρονες περιγραφές του καρκίνου του μαστού. Ωστόσο, ο πάπυρος Ebers είναι πιο πλήρης και σε αντίθεση με τον Edwin Smith, αποτελείται από πληθώρα ιατρικών κειμένων που περιγράφουν ιατρικές ασθένειες και τις διαγνωστικές και θεραπευτικές δυνατότητες της εποχής. Ο πάπυρος του Ebers αναφέρει τη «διόγκωση (όγκο) των αγγείων», χωρίς ωστόσο να κάνει συγκεκριμένη αναφορά στο μαστό. Αντίθετα, στο χειρουργικό πάπυρο Edwin Smith, ένας αρχαίος Αιγύπτιος

χειρουργός περιγράφει συνολικά 48 περιπτώσεις ασθενών, οκτώ από τις οποίες σχετίζονταν με όγκους ή έλκη στο μαστό [15]. Παράδειγμα αποτελεί η περίπτωση 39, που περιγράφει ασθενή με όγκο με «προεξέχον κεφάλι στο στήθος του», που πιθανόν εννοεί ότι τα οίδημα επεκτείνονταν άνωθεν του στήθους του (Εικόνα 1) [16]. Ο χειρουργός αναφέρει ότι δεν υπήρχε καμία θεραπεία, αν και σε άλλη περίπτωση έχει περιγραφεί καυτηρίαση με δαδί [17]. Εκτός των ανωτέρω, ιδιαίτερης σημασίας είναι το γεγονός ότι στον πάπυρο Edwin Smith, γίνεται η πρώτη αναφορά κακοήθους όγκου του μαστού σε άντρα ασθενή [18].

Εικόνα 1: Η περίπτωση 39 του χειρουργικού πάπυρου Edwin Smith.



Πηγή: Lukong KE. Understanding breast cancer - The long and winding road. BBA Clin. 2017;7:64-77.

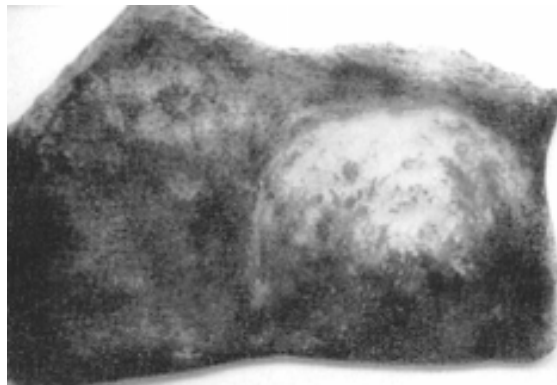
A: Πρωτότυπο σε Ιερατική γραφή. **B:** Σύγχρονη επιστημονική απόδοση σε Ιερογλυφικά.

Άλλες πηγές, συμπεριλαμβανομένων ιατρικών κειμένων σε πλάκες από την Ασσυρία, και των ιατρικών καταγραφών της αρχαίας Ινδίας και της αρχαίας Ελλάδας, ανέφεραν την εμφάνιση της «διογκώσεως» στο μαστό. Παρόλο που η περιγραφή αυτή υποδηλώνει κυρίως τον καρκίνο, μπορεί να περιγράφει και συμπτώματα αποστήματος ή καλοήθους όγκου. Ωστόσο, τα ιστορικά συγγράμματα από την Ινδία περιγράφουν τη

θεραπεία του καρκίνου του μαστού με χειρουργικές εκτομές, καυτηριασμό και ενώσεις αρσενικού [17, 19].

Στην Αρχαία Ελλάδα, η πρώτη αναφορά γίνεται από τον πατέρα της ιστορίας, τον Ηρόδοτο (484-426 π.Χ.). Συγκεκριμένα αναφέρει πως η Άττοσα, η μητέρα του βασιλιά των Περσών Δαρείου, έπασχε από καρκίνο του μαστού και θεραπεύθηκε από τον Έλληνα ιατρό Δημοκλήδη τον Κροτωνιάτη, όταν υπηρετούσε στην περσική αυλή (520 π.Χ.). Αυτή την επιτυχή θεραπεία του Δημοκλήδη αναφέρουν και οι συγγραφείς Αθήναιος, Αιλιανός, Ιάμβλιχος και Πλίνιος [2, 20]. Τέλος, αναθήματα που βρέθηκαν στα Ασκληπιεία της Επιδαύρου, της Κω, της Τρίκκης και της Κορίνθου απεικονίζουν τους μαστούς και μάλιστα εξελκωμένους παρέχοντας έτσι έμμεση πληροφόρηση ότι οι παθήσεις του μαστού αποτελούσαν μάλλον συχνή νόσο εκείνης της εποχής (Εικόνα 2) [2].

Εικόνα 2: Ανάθημα του 3^{ου} π.Χ. αιώνα στο οποίο απεικονίζεται ένα μεγάλο έλκος στη θέση του δεξιού μαστού.



Πηγή: Malliou S, Ajnantis N, Pavlidis N, Kappas A, Kriaras J, Geroulanos S. History of mastectomy. Arch Hell Med. 2006;23:260-278.

2.2.1.2 Η Ιπποκρατική ιατρική

Το 460 π.Χ. ο γνωστός Έλληνας ιατρός Ιπποκράτης (460-377 π.Χ.), που θεωρείται ο πατέρας της ιατρικής, περιέγραψε τον καρκίνο του μαστού ως «χυμική» νόσο.

Υποστήριξε ότι το σώμα αποτελείται από τέσσερις «χυμούς» που ήταν το αίμα, το φλέγμα, η κίτρινη και η μαύρη χολή, οι οποίοι αντιπροσώπευαν τα δομικά στοιχεία της φύσης (αέρας, φωτιά, γη και νερό αντίστοιχα) και βρίσκονταν σε μια ισορροπία. Κατ' επέκτασιν, απέδιδε τις ασθένειες ή ακόμα το θάνατο, σε διαταραχή της ισορροπίας του συστήματος των χυμών. Σχετικά με τον καρκίνο του μαστού, ο Ιπποκράτης υποστήριζε ότι προκλήθηκε από περίσσεια μαύρης χολής και εάν αφεθεί χωρίς θεραπεία, θα σκληρύνει και τελικά θα σπάσει απελευθερώνοντας το μαύρο υγρό στο υπόλοιπο σώμα. Εισηγάγε πρώτος τον όρο «Καρκίνο», προσομοιάζοντας την εμφάνιση της νόσου με τον κάβουρα. Τάχθηκε κατά της χειρουργικής αντιμετώπισης διότι έκρινε ότι είναι πιο απειλητική για τη ζωή από το να αφεθεί ο ασθενής χωρίς θεραπεία. Οι Ιπποκρατικοί ιατροί του 4^{ου} αιώνα π.Χ. πιστώνονται επίσης με την πρώτη χρήση του όρου καρκινώματος ή καρκίνου επί κακοήθους οιδήματος ή ελκών [21].

2.2.2 0 - 1600

2.2.2.1 Ελληνορωμαϊκή περίοδος

Ο Αύλος Κορνήλιος Κέλσιος (25 π.Χ.-50 μ.Χ.), είναι ο πρώτος που περιγράφει την κλινική εικόνα του καρκίνου. Όσον αφορά το μαστό, αναφέρει τη διόγκωση της μασχάλης. Χωρίς να υπεισέρχεται σε λεπτομέρειες για τη χειρουργική θεραπεία, αναφέρει πως είχε ένδειξη μόνο για εκείνους τους όγκους που καταλάμβαναν λιγότερο από το 50% του μαστού. Αυτό αποτελεί την πρώτη σταδιοποίηση.

Τα κείμενα του Αέτιου, του Ορειβασίου και του Παύλου Αιγινίτη, αναφέρονται στον ιατρό Αρχιγενή τον Απαμέα (1^{ος}-2^{ος} αιώνας μ.Χ.) ο οποίος ασχολήθηκε αρκετά με τον καρκίνο του μαστού. Λίγο αργότερα, περί το 180 μ.Χ., ο Λεωνίδης ο Αλεξανδρινός, είναι ο πρώτος που θα περιγράψει αναλυτικά τη χειρουργική επέμβαση

αφαίρεσης όγκου στο μαστό, παρόλο που εγχειρήσεις ήδη γίνονταν. Παράλληλα, χρησιμοποίησε και τον καυτηριασμό για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού [19]. Ο Σωρανός ο Εφέσιος (2^{ος} αιώνας μ.Χ.) θα υποστηρίξει πως ο καρκίνος του μαστού δεν πρέπει να χειρουργείται, αν έχει επεκταθεί στο θωρακικό τοίχωμα [18].

Την ίδια περίπου περίοδο, ο Γαληνός (131-203 μ.Χ.) είχε ήδη περιγράψει λεπτομερώς τη μη φυσιολογική ανάπτυξη του μαστού. Αναφέρει δε, ότι παρόλο που ο καρκίνος μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε μέρος του σώματος, ήταν πιο συχνός στους μαστούς των γυναικών και ιδιαίτερα εκείνων με αμηνόρροια ή με διαταραχές του κύκλου. Όπως ο Ιπποκράτης, έτσι και ο Γαληνός πίστευε ότι ο καρκίνος του μαστού προκλήθηκε από τη συσσώρευση μαύρης χολής που σχηματίστηκε στο ήπαρ κατά τη διάρκεια της αιμοποίησης και δεν εξαλείφθηκε από τον σπλήνα. Επίσης και εκείνος περιγράφει ότι οι όγκοι με σκουρόχρωμες φλέβες γύρω τους, ομοιάζουν με «καβούρι» [21, 22]. Αναφέρει επίσης την απόρριψη της μαύρης χολής από τους εξελκωμένους όγκους, ως απότοκο του καρκίνου του μαστού. Μέχρι τότε, οι Ρωμαίοι ιατροί του 1^{ου} μ.Χ. αιώνα, συνήθως, αφαιρούσαν τον προσβεβλημένο μαστό με καυτηριασμό που μερικές φορές έφθανε μέχρι τους μυς του θωρακικού τοιχώματος [22]. Αντιθέτως, ο Γαληνός πρότεινε διάφορες άλλες θεραπευτικές επιλογές που περιλάμβαναν μια μορφή ογκεκτομής κατά την οποία μέσω μια τομής γύρω από τον όγκο, ολόκληρη η βλάβη αφαιρούνταν. Επίσης, συμβούλευε τους ιατρούς της εποχής του να «αραιώνουν» πρώτα το αίμα με τη βοήθεια των καθαρτικών φαρμάκων πριν από την εκτέλεση χειρουργικής επέμβασης και παράλληλα προειδοποίησε για την πιθανότητα διεγχειρητικής αιμορραγίας [21, 22]. Ο Γαληνός πρότεινε επίσης τη χρήση οπιοειδών φαρμάκων όπως το καστορέλαιο η γλυκόριζα και το θείο ως αναισθητικών φαρμάκων κατά τη διάρκεια των χειρουργικών επεμβάσεων [23].

Ο Δίων ο Κάσσιος (155-235 μ.Χ.) θα αποδώσει την εμφάνιση καρκίνου του μαστού σε χτυπήματα στο στήθος ενώ ο Αλέξανδρος της Αφροδισίας περί τον 3^ο μ.Χ. αιώνα, θα περιγράψει ως διαβρωτικό τον καρκίνο του μαστού που προκαλείται από τη χολή [2].

2.2.2.2 Πρωτοχριστιανική περίοδος

Οι Άγιοι Ανάργυροι (Κοσμάς και Δαμιανός) (3^{ος} αιώνας μ.Χ.), εκτός των άλλων, θεράπευσαν και δύο περιπτώσεις καρκίνου του μαστού. Διαφαίνεται ότι τον 3^ο μ.Χ. αιώνα γίνονταν μαστεκτομές.

Επιπλέον, η Αγία Αγάθη από τη Σικελία (3^{ος} αιώνας μ.Χ.), μετά το μαρτύριο (αποκοπή μαστών) που υπέστη από το Ρωμαίο κυβερνήτη λόγω της πίστης της, ανακηρύχθηκε σε προστάτιδα των ασθενών με παθήσεις μαστού [2].

2.2.2.3 Βυζαντινή περίοδος

Κατά τα Βυζαντινά χρόνια, ο Αέτιος ο Αμιδηνός (6^{ος} αιώνας μ.Χ.) περιγράφει εκτενώς τη μαστεκτομή, βασιζόμενος σε όσα είχαν ήδη περιγράψει ο Αρχιγένης, ο Λεωνίδης και ο Γαληνός.

Ο Παύλος ο Αιγινήτης (625-690 μ.Χ.) συστήνει και αυτός χειρουργική επέμβαση και μάλιστα είναι ο πρώτος που προτείνει μερική μαστεκτομή. Επιπλέον, προτείνει και καυτηριασμό του όγκου. Η μέθοδος του αυτή που προσομοιάζει αρκετά με τη σημερινή ογκεκτομή και ακτινοθεραπεία, υιοθετήθηκε αρχικά από τους Άραβες και στη συνέχεια από το Δυτικό κόσμο [2].

2.2.2.4 Χρυσή εποχή του Ισλάμ

Κατά την περίοδο αυτή, η Αραβική ιατρική επηρεάστηκε από τη Βυζαντινή, Έτσι, ο Άραβας ιατρός Abulcasis (936-1013 μ.Χ.), επηρεασμένος από τον Παύλο τον Αιγινίτη, ασχολήθηκε και αυτός με τις παθήσεις του μαστού.

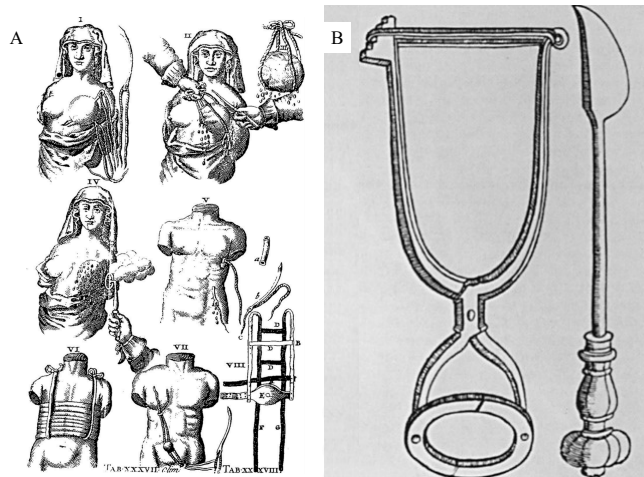
Με το μαστό όμως ασχολήθηκε και ο Αβικέννας ο οποίος ασπαζόμενος των απόψεων του Ιπποκράτη και του Γαληνού, τάχθηκε κατά της μαστεκτομής [2].

2.2.2.5 Μεσαίωνας και Αναγέννηση

Ακολουθεί μια σκοτεινή για την ιατρική εποχή κατά τη διάρκεια της οποίας η μελέτη του ανθρώπινου σώματος απαγορεύτηκε για θρησκευτικούς λόγους. Στην πραγματικότητα, η Καθολική Εκκλησία το 1162 αποθάρρυνε τη χειρουργική επέμβαση μεγάλων όγκων και ευνόησε τη θεραπεία με άλλα μέσα όπως για παράδειγμα θειικό οξύ. Αλλά και όπου πραγματοποιήθηκαν χειρουργικές επεμβάσεις καθ' όλη τη διάρκεια του Μεσαίωνα, εφαρμόστηκαν αδρές και τραυματικές μέθοδοι εκτομής των όγκων ή των μαστών και μάλιστα χωρίς αναισθησία (Εικόνα 3Α). Την περίοδο αυτή επίσης, ξεκίνησαν να εμφανίζονται και εργαλεία και όργανα μαστεκτομής (Εικόνα 3Β) [23].

Η κατάσταση αρχίζει να αλλάζει με την Αναγέννηση και την εμφάνιση του ανατόμου Andreas Vesalius (1514-1564) ο οποίος για το μαστό προτείνει ευρεία ογκεκτομή και χρήση απολινώσεων αντί για καυτηρίαση προκειμένου να ελεγχθεί η αιμορραγία. Την ίδια περίοδο ο Ambroise Paré (1509-1590) περιγράφει τη διήθηση του δέρματος και των επιχωρίων λεμφαδένων σε προχωρημένο καρκίνο μαστού [2].

Εικόνα 3: Χειρουργική επέμβαση του 16^{ου} αιώνα.



Πηγή: Bland KI, Copeland EM, Klimberg VS. History of the therapy of breast Cancer. In: The breast (5th Edition). Eds: Bland KI, Copeland EM, Klimberg VS, Gradishar WJ. Pages: 1-19. 2018, Elsevier.

A: Μαστεκτομή και καυτηριασμός. **B:** Χειρουργικά εργαλεία.

2.2.3 1600 - 1799

2.2.3.1 Η θεωρία της λέμφου

Αρκετοί ιατροί και φιλόσοφοι αμφισβήτησαν τη χυμική θεωρία του Γαληνού, στις αρχές του 17^{ου} αιώνα. Μετά ανακάλυψη του λεμφικού συστήματος από τον Olof Rudbeck (1630-1708) στη Σουηδία το 1652, ο René Descartes (1596-1650) (Εικόνα 4A) πρότεινε τη λεμφική θεωρία για τη δημιουργία του καρκίνου του μαστού, η οποία ερχόταν σε πλήρη αντίθεση με τη μέχρι τότε επικρατούσα εξήγηση [24]. Το 1680, ο Ολλανδός καθηγητής Francois de la Boe Sylvius (ονομάζεται επίσης Franciscus Sylvius) (1614-1672), υποστήριξε ότι ο καρκίνος δεν οφείλεται στη συσσώρευση μαύρης χολής. Αντίθετα, όπως και άλλες ασθένειες που προκαλούνταν από χημικές ανισορροπίες που οδηγούσαν σε περίσσεια οξέων ή αλκαλίων στο αίμα, έτσι και ο καρκίνος θεωρήθηκε ότι προκαλούνταν από τη μετατροπή των λεμφικών υγρών σε οξέα [25, 26].

Στη δεκαετία του 1730 ο Claude-Deshais Gendron (1663-1750) στο Παρίσι, αμφισβήτησε και εκείνος με τη σειρά του τη χυμική θεωρία του Γαληνού

υποστηρίζοντας τη «νευρογενή» φύση του καρκίνου περιγράφοντας ότι αναπτύσσεται όταν τα νεύρα και ο αδενικός ιστός αναμειγνύονται με λεμφαγγεία. Ο John Hunter (1728-1793) ασπάστηκε και αυτός τη θεωρία της λεμφικής προέλευσης του καρκίνου του μαστού, υποστηρίζοντας ότι η πήξη των παθολογικής λέμφου οδήγησε στο σχηματισμό ψηλαφητού όγκου του μαστού. Ο Hunter θεωρείται ως ο πατέρας της χειρουργικής επειδή υποστήριζε την εξάπλωση του καρκίνου με τη λεμφική κυκλοφορία, 100 χρόνια πριν ο William Halsted εισάγει τη ριζική μαστεκτομή το 1882 [22].

2.2.3.2 Η επαγγελματική ιατρική

Το 1713, ο Bernardino Ramazzini (1633-1714) (Εικόνα 4B), που θεωρείται ο πρωτεργάτης του τομέα της επαγγελματικής ιατρικής [27], κατέγραψε υψηλότερη συχνότητα καρκίνου του μαστού στις μοναχές στην Ιταλία από ό,τι σε έγγαμες γυναίκες. Προκειμένου να εξηγήσει αυτή τη διαφορά, υποστήριξε ότι η έλλειψη επαφών προκάλεσε διαταραχές σε αναπαραγωγικά όργανα όπως το στήθος, που μπορεί να οδηγήσουν σε ανάπτυξη καρκίνων [28]. Είναι πλέον γνωστό από τις πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες ότι οι γυναίκες που θήλασαν τα παιδιά τους, είναι λιγότερο πιθανό να αναπτύξουν καρκίνο του μαστού, ως εκ τούτου η υψηλότερη συχνότητα στις καλόγριες που ανέφερε ο Ramazzini να μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι δεν είχαν τεκνοποιήσει και όχι επειδή δεν είχαν επαφές.

Άλλοι που επιχειρήσαν να εξηγήσουν τον καρκίνο του μαστού ήταν ο Friedrich Hoffmann (1660-1742) από την Πρωσία και ο Giovanni Morgagni (1682-1771) από την Ιταλία. Ο Hoffmann προκειμένου να εξηγήσει ότι γυναίκες που είχαν επαφές και παρόλα αυτά ανέπτυσαν καρκίνο, υποστήριξε πως πιθανώς να είχαν έντονη σεξουαλική δραστηριότητα η οποία τους προκάλεσε λεμφική απόφραξη. Ο Morgagni,

ο οποίος ήταν ένας από τους θεμελιωτές της ογκολογίας, θεωρούσε ότι ο καρκίνος του μαστού προκαλούνταν από πηγμένο γάλα.

Πιθανές αιτίες του καρκίνου του μαστού θεωρήθηκαν επίσης φλεγμονές με πύον στο μαστό (Johanes de Gorter, 1689-1762), καταθλιπτικές ψυχικές διαταραχές (Claude-Nicolas Le Cat, 1700-1768) και η ατοκία (Lorenz Heister, 1683-1758) [22].

2.2.3.3 Η πρόληψη της μετάστασης

Στα μέσα του 18^{ου} αιώνα, ο Henri Le Dran (1685-1770) (Εικόνα 4Γ), ηγετική μορφή της γαλλικής ιατρικής, συνειδητοποίησε ότι ο καρκίνος δεν ήταν συστηματική ασθένεια, αλλά τοπική νόσος η οποία προχωρά σταδιακά. Το 1757 δε, πρότεινε τη χειρουργική αφαίρεση του όγκου του μαστού, προτού να εξαπλωθεί στους λεμφαδένες των μασχαλών. Η πρόταση αυτή, ήταν ενάντια στις απόψεις του Claude-Nicolas Le Cat, ο οποίος διαφωνούσε ότι η χειρουργική επέμβαση ήταν η μόνη μέθοδος για την αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού. Εν τέλει, αυτή η χειρουργική προσέγγιση επικράτησε μέχρι τον 20^ο αιώνα οπότε και έδωσε τη θέση της στη ριζική και την υπερριζική μαστεκτομή [22].

2.2.4 1800 - 1899

2.2.4.1 Η πρόοδος στην ιατρική

Ο 19^{ος} αιώνας όσον αφορά την ιατρική, σηματοδοτήθηκε από σημαντική πρόοδο. Για παράδειγμα, το 1838, ο Γερμανός Johannes Muller (1801-1858) (Εικόνα 4Δ) πρότεινε ότι τα καρκινικά κύτταρα δεν προέρχονται από το λεμφικό σύστημα αλλά αναπτύχθηκαν από ιστούς ανάμεσα στους φυσιολογικούς. Αργότερα ο Rudolph Virchow (1821-1902) ανακάλυψε οι όγκοι αποτελούνται από κύτταρα. Αυτό ίσως

αποτελεί και τη μεγαλύτερη ανακάλυψη της ιατρικής για εκείνη την περίοδο. Άλλες τομές εκείνης της περιόδου ήταν το πλύσιμο των χεριών και η τεχνική της παστερίωσης ως προληπτικό μέτρο κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης. Ο Joseph Lister (1827-1912) εισήγαγε την έννοια της χειρουργικής αντισηψίας χρησιμοποιώντας σπρέι καρβολικού οξέος. Άσηπτες τεχνικές υιοθετήθηκαν για πρώτη φορά από τον Γερμανό χειρουργό της Βαλτικής, Ernst von Bergmann (1836-1907). Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκαν χειρουργικές μάσκες και αποστειρωμένα χειρουργικά γάντια. Ωστόσο, η πιο σημαντική πρόοδος όσον αφορά τη χειρουργική επέμβαση, έλαβε χώρα στις 16 Οκτωβρίου 1846 όταν ο William Morton (1819-1868) κατέδειξε τη χρήση του αιθέρα ως αναισθητικό μέσον [22].

2.2.4.2 Η ριζική μαστεκτομή

Ο William Halsted (1852-1922) (Εικόνα 4E), καθηγητής χειρουργικής στο Νοσοκομείο Johns Hopkins (Βαλτιμόρη, ΗΠΑ), ήταν ισχυρός υποστηρικτής της ασηψίας κατά τη διάρκεια χειρουργικών επεμβάσεων και, όπως και οι περισσότεροι χειρουργοί εκείνης της εποχής, είχε εισάγει στις επεμβάσεις του τα προσφάτως ανακαλυφθέντα αναισθητικά. Εισήγαγε αρκετές νέες χειρουργικές τεχνικές με κυριότερη τη ριζική μαστεκτομή για καρκίνο του μαστού το 1882. Η μαστεκτομή κατά Halsted περιλάμβανε την αφαίρεση ολόκληρου του μαστού καθώς, των υποκειμένων θωρακικών μυών (μείζονος και ελάσσονος) και του περιεχομένου της μασχάλης. Ο Halsted συμπλήρωσε την επέμβαση του με αφαίρεση των υπερκλειδίων λεμφαδένων. Το 1894 δημοσίευσε τα αποτελέσματα από 50 ασθενών του, καταγράφοντας σημαντική μείωση της τοπικής υποτροπής σε ποσοστό μόλις 6% σε αντίθεση με το 56%-81% που καταγραφόταν τότε στην Ευρώπη. Το κύριο επίτευγμα της μαστεκτομής

κατά Halsted σε σχέση με άλλες χειρουργικές επεμβάσεις, ήταν η μείωση των ποσοστών τοπικής υποτροπής.

Ωστόσο, η επέμβαση αυτή δε συνέβαλε στη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης, ίσως γιατί πολλές ασθενείς που υποβλήθηκαν στη ριζική μαστεκτομή του Halsted την εποχή, είχαν ήδη σχετικά προχωρημένο στάδιο καρκίνου του μαστού. Παρόλα αυτά, η ριζική μαστεκτομή για τον καρκίνο του μαστού επικράτησε παγκοσμίως στα τέλη του 19^{ου} αιώνα και παρέμεινε ως επέμβαση εκλογής κατά τον μεγαλύτερο μέρος του 20^{ου} [17].

2.2.4.3 Η αντι-ορμονική θεραπεία

Μια τεράστιας αξίας ιατρική παρακαταθήκη του 19^{ου} αιώνα, ήταν η ανακάλυψη ότι ορισμένοι καρκίνοι του μαστού ήταν ορμονοεξαρτώμενοι. Παρατηρήθηκε ότι η ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού στις ασθενείς επηρεάστηκε από τον καταμήνιο κύκλο και μάλιστα, η ανάπτυξη του όγκου ήταν βραδύτερη στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Μια δημοσίευση ορόσημο του 1896 με τίτλο «Θεραπεία των μη εξαιρέσιμων περιπτώσεων καρκίνου του μαστού: Προτάσεις για μια νέα μέθοδο θεραπείας, με επεξηγηματικές υποθέσεις», ο George Beatson (1848-1933) (Εικόνα 4ΣΤ) κατέγραψε προσωρινή υποτροπή του μεταστατικού καρκίνου του μαστού σε δύο ασθενείς μετά από ωθηκεκτομή. Ορθά περιέγραψε ότι «η εσωτερική έκκριση των ωθηκών σε ορισμένες περιπτώσεις ευνοεί την ανάπτυξη του καρκίνου» [29]. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο θεωρείται ο πατέρας της αντι-ορμονικής θεραπείας κατά του καρκίνου του μαστού [17].

Εικόνα 4: Πρωτοπόροι στον καρκίνο του μαστού, από τον 16^ο έως τον 19^ο αιώνα.



Πηγή: Lukong KE. Understanding breast cancer - The long and winding road. BBA Clin. 2017;7:64-77.

A: René Descartes. **B:** Bernardino Ramazzini. **Γ:** Henri Le Dran. **Δ:** Johannes Muller.
E: William Halsted. **ΣΤ:** George Beatson.

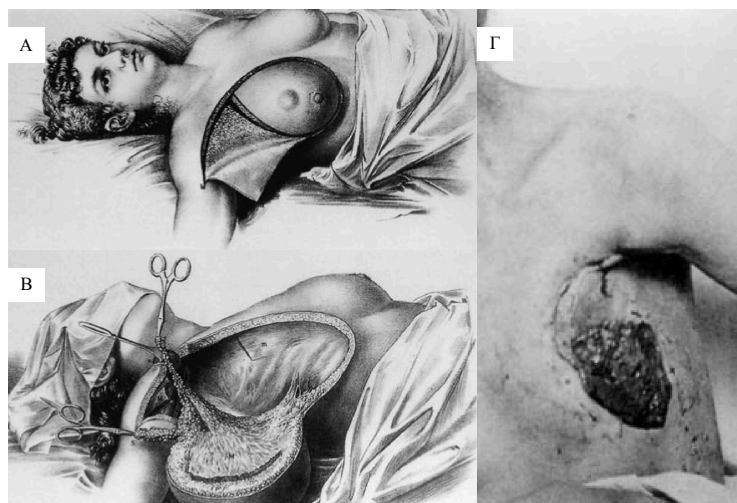
2.2.5 1900 - 1999

Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού, ο 20^{ος} αιώνας χαρακτηρίστηκε από περιορισμό των ριζικών χειρουργικών εκτομών, πληθώρα επιδημιολογικών μελετών και την εισαγωγή της ακτινοθεραπείας, της μαστογραφίας και της χημειοθεραπείας. Η κλινική και βασική έρευνα για τον καρκίνο του μαστού, οδήγησαν στη μοριακή και παθολογοανατομική κατάταξη του καρκίνου του, και στην ανάδειξη του ρόλου της κληρονομικότητας. Επίσης, προκύπτει πληθώρα μελετών με μεγάλες σειρές ασθενών. Πλέον, ο καρκίνος του μαστού αναγνωρίζεται ως ένα σημαντικό ζήτημα που αφορά τη δημόσια υγεία στο δυτικό κόσμο και ξεκινά μια συντονισμένη προσπάθεια ευαισθητοποίησης για το ευρύ κοινό με σκοπό την ενημέρωση και την καταπολέμηση της νόσου.

2.2.5.1 Οι παράγοντες κινδύνου

Παρόλο που η μαστεκτομή κατά Halsted ήταν πρωτοποριακή (Εικόνα 5Α, Β), στη συνέχεια αμφισβητήθηκε και έχασε την αποδοχή της από πολλούς χειρουργούς. Στα μέσα του 20^{ου} αιώνα ήταν πλέον ξεκάθαρη η μετεγχειρητική νοσηρότητά της, επιφέροντας παραμόρφωση του θώρακα, λεμφοίδημα του άνω άκρου βραχίονα και σαρκώματα επαγόμενα από την ακτινοβολία (Εικόνα 5Γ). Νέοι ασθενείς με καρκίνο του μαστού ξεκίνησαν να επιλέγουν διαφορετικές θεραπείες ενώ ακόμη και οι χειρουργοί ολοένα και περισσότερο επικρίνονταν για τη ριζική μαστεκτομή, παρόλο που θεωρούνταν πολύ πιο επιτυχημένη από κάθε άλλη θεραπεία της εποχής. Το πρώτο μισό του 20^{ου} αιώνα χαρακτηρίστηκε επίσης από μια έκρηξη γνώσης επάνω στη βιολογία και την επιδημιολογία του καρκίνου του μαστού.

Εικόνα 5: Η μαστεκτομή κατά Halsted.



Πηγή: Androutos G. William Halsted (1852-1922): One of America's greatest surgeons and the surgical treatment of breast cancer. JBUON. 2005;10:415-421.

Α: Ριζική μαστεκτομή. **Β:** Η πρώτη δημοσιευμένη φωτογραφία της επέμβασης. **Γ:** Το ανοιχτό μέρος της τομής είναι γεμάτο από θρόμβους.

Προκειμένου να διευκρινισθεί εάν οι γυναίκες που υποβάλλονταν σε πλήρη ή μερική μαστεκτομή, παρουσίαζαν αυξημένη επιβίωση σε σχέση με εκείνες που δεν υποβλήθηκαν σε χειρουργική θεραπεία, το 1926 το Βρετανικό Υπουργείο Υγείας

οργάνωσε την πρώτη καταγεγραμμένη μελέτη για τον προσδιορισμό των «Προηγούμενων συνθηκών» (παράγοντες κινδύνου) προκειμένου να εξακριβωθεί πώς διάφορα συμβάντα κατά τη διάρκεια της ζωής, επηρέασαν την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού. Η Janet Elizabeth Lane-Clayton (1877-1967) (Εικόνα 6A) κατηύθυνε αυτή την πρωτοποριακή μελέτη με τίτλο «Μια περαιτέρω έκθεση για τον καρκίνο του μαστού». Αυτή η μελέτη-ορόσημο κατέγραψε παράγοντες κινδύνου όπως η κύηση, ο αριθμός των τέκνων, η ηλικία κατά την εμμηνόπαυση, η ηλικία κατά το γάμο και η διάρκεια της γαλουχίας, οι οποίοι παραμένουν αποδεκτοί ακόμα και σήμερα. Η μελέτη αυτή, κατέληξε επίσης στο συμπέρασμα ότι η χειρουργική θεραπεία εκείνης της εποχής, ήταν πιο αποτελεσματική όσον αφορά την επιβίωση από ό,τι στο παρελθόν και ότι σε όλες τις χώρες το ποσοστό των ασθενών με καρκίνο του μαστού που ανιχνεύεται σε αρκετά πρώιμο στάδιο και που θα έχουν καλή προοπτική, είναι αρκετά μικρό [30]. Η μελέτη της Lane-Clayton επαναλήφθηκε από τον Jonathan Wainwright το 1931 χρησιμοποιώντας δεδομένα από τις ΗΠΑ, με παρόμοια αποτελέσματα [31].

Αναμφισβήτητα αποτέλεσε την πρώτη μελέτη ασθενών-μαρτύρων, σηματοδοτώντας την αρχή της μιας νέας εποχής της αιτιολογικής έρευνας.

2.2.5.2 Η ακτινοθεραπεία

Το 1896 ο Γερμανός καθηγητής φυσικής Wilhelm Röntgen (1845-1923) (Εικόνα 6B) περιέγραψε την έννοια των ακτινών X, οι οποίες λίγα χρόνια μετά χρησιμοποιήθηκαν για τη διάγνωση και τη θεραπεία του καρκίνου [32]. Η ακτινοθεραπεία ξεκίνησε με τη χρήση ακτινοβολίας σε χαμηλά επίπεδα. Μέχρι το 1930, η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιήθηκε ως αποδεκτή εναλλακτική λύση στη ριζική μαστεκτομή, παρά τους κινδύνους της. Ο Geoffrey Keynes (1887-1982) (Εικόνα 6Γ), χειρουργός και ερευνητής στο Νοσοκομείο του Αγίου Βαρθολομαίου στο Λονδίνο,

ήταν εμπνευστής της θεραπείας του καρκίνου του μαστού με ραδιενεργά στοιχεία, καταγράφοντας ποσοστά 5-ετούς επιβίωσης 71% και 29% για ασθενείς σταδίου I και II, αντίστοιχα. Στις αρχές της δεκαετίας του 1930, Ο George Pfahler από τις Ηνωμένες Πολιτείες, επίσης χρησιμοποίησε ακτινοθεραπεία για τον καρκίνο του μαστού, καταγράφοντας 5-ετή επιβίωση της τάξης του 80% για ασθενείς σταδίου I. Το 1948, ο Robert McWhirter από τη Μεγάλη Βρετανία περιέγραψε τα αποτελέσματα από το συνδυασμό απλής μαστεκτομής και μετεγχειρητικής ακτινοθεραπείας [17].

Η πρόοδος τόσο στον τομέα της ακτινοφυσικής όσο και στον τομέα των υπολογιστών, κατέστησε δυνατή την ακριβή χαρτογράφηση και στόχευση των όγκων με τεχνικές όπως η συμβατική ακτινοθεραπεία (CRT), η ακτινοθεραπεία με διαμορφούμενης έντασης δέσμης (IMRT), η απεικονιστικά καθοδηγούμενη ακτινοθεραπεία (IGRT) και η διεγχειρητική ακτινοθεραπεία (IORT).

2.2.5.3 Η μαστογραφία

Πριν από την έλευση της μαστογραφίας, η έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του μαστού περιοριζόταν στην κλινική εξέταση (ψηλάφηση) και στην αναζήτηση φυσικών σημείων και συμπτωμάτων της νόσου, όπως για παράδειγμα η εισολκή των θηλών. Η ανακάλυψη ακτινών X από τον William Röntgen το 1896, έθεσε τα θεμέλια της μαστογραφίας. Το 1913, ο Γερμανός χειρουργός Albert Salomon, διεξήγαγε μια ακτινολογική-ιστολογική μελέτη σε παρασκευάσματα 3000 μαστεκτομών. Βρήκε μικρο-αλλοιώσεις σε απεικόνιση των όγκων μέσω ακτινών X. Οι μαστογράφοι του παρείχαν ουσιαστικές πληροφορίες για τις διαφορές μεταξύ καρκινικών και φυσιολογικών ιστών [33]. Παρά την επαναστατική μέθοδό του και τα εντυπωσιακά ευρήματα, η μαστογραφία δεν κατάφερε να ενσωματωθεί στην κλινική πράξη μέχρι που ο Raul Leborgne, δεκαετίες αργότερα (1949) αναζοπύρωσε το ενδιαφέρον για

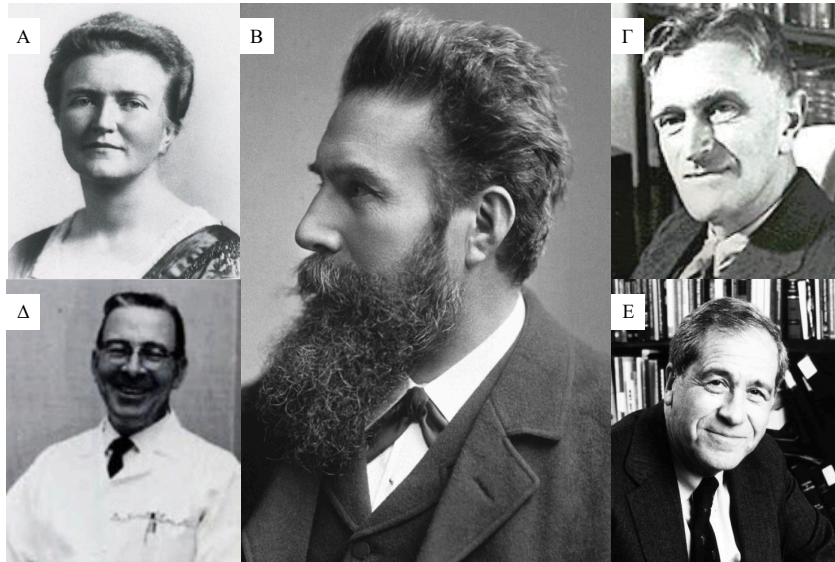
αυτή. Καθιέρωσε λοιπόν την απεικόνιση, αξιοποιώντας την παράλληλα για τη διαφορική διάγνωση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων επασβεστώσεων [34]. Το 1962, ο Robert Egan (1920-2002) (Εικόνα 6Δ) χρησιμοποίησε μαστογραφία για να διαγνώσει 53 περιπτώσεις καρκίνου μαστού, χωρίς εμφανή πρωτοπαθή εστία [35]. Από τότε οι μαστογραφικές τεχνικές εξελίχθηκαν μέχρι την ψηφιακή μαστογραφία.

2.2.5.4 Οι τυχαιοποιημένες μελέτες

Ο Bernard Fisher (Εικόνα 6Ε), Καθηγητής Χειρουργικής στο Πανεπιστήμιο του Πίτσμπουργκ, το 1918 θα τύχει ευρείας αναγνωρίσεως στην έρευνα κατά του καρκίνου του μαστού, με την εισαγωγή κλινικών μελετών που περιείχαν και στοιχεία στατιστικής, καταδεικνύοντας έτσι την ανάγκη να επαναξιολογηθεί η θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Όπως ο Γαληνός, έτσι και ο Fisher υποστήριξε ότι ο καρκίνος του μαστού ήταν συστηματική νόσος. Για την ακρίβεια περιέγραψε ότι τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να αποκολληθούν από την αρχική τους θέση στον όγκο και να διασπείρονται καθώς ταξιδεύουν μέσω του κυκλοφορικού και του λεμφικού συστήματος. Ως εκ τούτου ήταν ανέφικτο να θεραπευθεί ο καρκίνος μόνο με χειρουργική επέμβαση και επομένως η ριζική μαστεκτομή δεν θα ήταν αρκετή. Αμφισβήτησε τη θεωρία του Halsted και υποστηρίζοντας ότι λιγότερο επεμβατικές χειρουργικές επεμβάσεις (ογκεκτομή) σε συνδυασμό με ακτινοθεραπεία, αποτελούν πιο αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή σε σχέση με τις ακρωτηριαστικές/ριζικές μαστεκτομές. Μάλιστα, ο Fisher δημοσίευσε αρκετές τυχαιοποιημένες μελέτες και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η ριζική μαστεκτομή δεν ήταν απαραίτητη δεδομένου ότι τα ποσοστά επιβίωσης των γυναικών που υποβάλλονταν σε ογκεκτομή, ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία, ήταν εφάμιλλα αυτών που υποβάλλονταν σε ριζική μαστεκτομή [36, 37]. Υπεραμυνόμενος των απόψεων του, τόνισε ότι «για πρώτη

φορά, η θεραπεία του καρκίνου του μαστού βασίστηκε στην επιστήμη και όχι σε ανατομικές και μηχανιστικές θεωρίες» [38].

Εικόνα 6: Πρωτοπόροι στον καρκίνο του μαστού, τον 20^ο αιώνα.



Πηγή: Lukong KE. Understanding breast cancer - The long and winding road. BBA Clin. 2017;7:64-77.

A: Janet Elizabeth Lane-Claypon. **B:** William Röntgen. **Γ:** Geoffrey Keynes. **Δ:** Robert Egan. **E:** Bernard Fisher.

2.2.5.5 Η ευαισθητοποίηση του κοινού

Η δεκαετία του 1970 κατακλύζεται από εκστρατείες ευαισθητοποίησης για τον καρκίνο του μαστού. Η αρχή έγινε με μια γενική καμπάνια υπέρ των δικαιωμάτων των γυναικών, των ασθενών και των καταναλωτών στις αρχές της δεκαετίας του 1970. Η σωστή ευαισθητοποίηση των ασθενών, ώθησε το κοινό να αποκτήσει ιατρικές γνώσεις, να συμμετέχει ενεργά στη λήψη ιατρικών αποφάσεων και να αναζητά πληροφορίες και ενημέρωση σχετικά με ιατρικές διαδικασίες.

Αρκετά σημαντικά γεγονότα θα οργανώσουν το πρώτο κίνημα ενάντια στον καρκίνο του μαστού. Το βιβλίο με τίτλο «Τα σώματά μας, οι εαυτοί μας (Our Bodies, ourselves)» δημοσιεύτηκε για πρώτη φορά το 1971 από το Boston Women's Health

Collective και αναδημοσιεύθηκε από το New England Free Press το 1973. Το βιβλίο υπογράμμισε την ανάγκη των γυναικών να αποκτήσουν τον πλήρη έλεγχο του σώματός τους και παρείχε σημαντικές πληροφορίες για την υγεία, τη σεξουαλικότητα και τον τρόπο ζωής τους. Το 1974, η πρώτη κυρία των Ηνωμένων Πολιτειών, Betty Ford (1918-2011) (Εικόνα 7A) διαγνώστηκε με καρκίνο του μαστού. Το όνομά της έχει ταυτισθεί με την ευαισθητοποίηση για τον καρκίνο του μαστού, επειδή συζητούσε ανοιχτά την ασθένειά της με το κοινό. Χαρακτηριστικά έχει πει «*Η ασθένειά μου αποδείχθηκε ότι έχει έναν πολύ ξεχωριστό σκοπό - να βοηθώ στη διάσωση άλλων ζωών - και είμαι ευγνώμων για ό,τι θα μπορούσα να κάνω*». Η στάση της αυτή ενθάρρυνε πολλούς ασθενείς με καρκίνου του μαστού να μιλήσουν για τη δική τους εμπειρία. Πάρα πολλές γυναίκες ξεκίνησαν τις πρώτες μαστογραφίες τους και άρχισε να επικρατεί η άποψη ότι ο καρκίνος του μαστού ήταν αντιμετωπίσιμος. Μια άλλη εξέχουσα προσωπικότητα της δεκαετίας του 1970 ήταν η Αμερικανή δημοσιογράφος Rose Kushner (Εικόνα 7B) [39]. Το 1974, οπότε και διαγνώστηκε με τελικού σταδίου καρκίνο του μαστού, άρχισε να συγκεντρώνει πληροφορίες σχετικά με την ασθένεια και τις θεραπευτικές επιλογές. Με έκπληξη διαπίστωσε πως όχι μόνο ήταν ακόμα συχνή η ριζική μαστεκτομή αλλά και πως ο χειρουργός είχε την ευχέρεια να αποφασίσει διεγχειρητικά και να προχωρήσει σε ριζική μαστεκτομή, αν εκείνος το έκρινε σκόπιμο.

Η Kushner επέκρινε τους ιατρούς για τη λήψη αυτόβουλων θεραπευτικών αποφάσεων σε διασωληνωμένες γυναίκες. Τάχθηκε υπέρ μιας χειρουργική θεραπείας σε δύο στάδια, δηλαδή αρχικά να διενεργείται βιοψία και στη συνέχεια -λίγες μέρες μετά- να ακολουθεί η χειρουργική επέμβαση εφόσον είναι απαραίτητη. Αυτό θα προσέφερε περισσότερο χρόνο στους ασθενείς να συνειδητοποιήσουν την ασθένειά τους και να συμμετέχουν ενεργά στην επιλογή της θεραπείας. Η Kushner δικαιώθηκε

για τις απόψεις της το 1979, όταν τα Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας (NIH) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ριζική μαστεκτομή δεν ήταν πλέον ενδεδειγμένη [22].

2.2.5.6 Η ίδρυση αντικαρκινικών ιδρυμάτων

Η προστασία έναντι του καρκίνου του μαστού έγινε κύριο χαρακτηριστικό της δεκαετίας του 1980, αυξάνοντας την ευαισθητοποίηση μέσω διαφόρων εκστρατειών. Πολλές αλλαγές στη διαχείριση του καρκίνου του μαστού και στην έρευνα, έχουν προωθηθεί είτε άμεσα είτε έμμεσα από τα κινήματα αυτά. Οι χειρουργικές επεμβάσεις δύο σταδίων (όπως πρότεινε η Rose Kushner) έγιναν πλέον κανόνας και οι ογκεκτομές εφαρμόζονταν όταν ήταν εφικτό. Στις αρχές της δεκαετίας του 1980 σημειώθηκε ραγδαία αύξηση των εκστρατειών ευαισθητοποίησης του κοινού σχετικά με τον καρκίνο του μαστού, σε όλο τον κόσμο, ενθαρρύνοντας τις γυναίκες να εκτελούν αυτοεξέταση στο στήθος τους και να υποβάλλονται σε κλινική εξέταση μαστού και μαστογραφία [40].

Το 1982, ιδρύθηκε το ομώνυμο ίδρυμα, στη μνήμη της Susan Komen (Εικόνα 7Γ) που πέθανε το 1980, σε ηλικία 36 ετών από καρκίνο μαστού. Λίγο αργότερα, το 1983 στο Ντάλας πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά ο αγώνας «Komen Race for the Cure» [Τρέξε για τη θεραπεία (του καρκίνου του μαστού)] (Εικόνα 7Δ), αποτελώντας τον πρώτο αγώνα αυτού του μεγέθους που συνδέθηκε με κάποιο σκοπό. Από τότε, η συμμετοχή σε αυτό τον αγώνα έχει αυξηθεί θεαματικά. Το μήνυμα του ιδρύματος Komen είναι «Να σωθούν ζωές και να τερματιστεί ο καρκίνος του μαστού για πάντα, εξασφαλίζοντας ποιοτική φροντίδα για όλους και επενδύοντας στην επιστήμη για να βρεθούν θεραπείες». Παρόμοιοι οργανισμοί, όπως το Καναδικό Ίδρυμα κατά του Καρκίνου του Μαστού (CBCF) από το 1986, συνδράμουν παγκοσμίως στην ευαισθητοποίηση, στην οργάνωση δράσεων και τη συλλογή κεφαλαίων για έρευνα

ενάντια στον καρκίνο του μαστού. Ακολούθησε πληθώρα κινητοποιήσεων έναντι του καρκίνου του μαστού, όπως για παράδειγμα η ροζ κορδέλα (Εικόνα 7Ε) που αναδείχθηκε σε σύμβολο του καρκίνου του μαστού (1991), το ερευνητικό πρόγραμμα του Αμερικανικού Στρατού έναντι στον καρκίνο του μαστού (1992) και ο νόμος για τα πρότυπα ποιότητας της μαστογραφία το 1992 [22].

Εικόνα 7: Πρόσωπα και δράσεις σταθμοί στην ευαισθητοποίηση του κοινού έναντι στον καρκίνο του μαστού.



A: Betty Ford. **B:** Rose Kushner. **Γ:** Susan Komen. **Δ:** Αγώνας «Komen Race for the Cure». **Ε:** Ροζ κορδέλα ως σύμβολο του καρκίνου του μαστού.

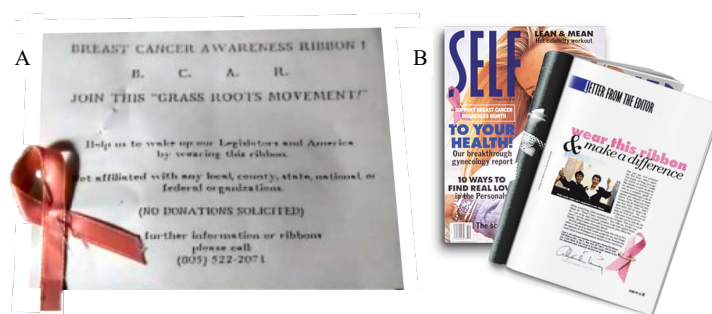
2.2.5.7 Η ροζ κορδέλα

Η ροζ κορδέλα (pink ribbon), που επικράτησε διεθνώς από τις αρχές της δεκαετίας του 1990, αντιπροσωπεύει την ευαισθητοποίηση έναντι του καρκίνου του μαστού. Η κορδέλα - άλλοτε κίτρινη και άλλοτε κόκκινη - ως σύμβολο είχε ήδη χρησιμοποιηθεί στην κοινωνία της Αμερικής. Η ροζ όμως χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το φθινόπωρο του 1991 από το ίδρυμα Susan G. Komen το οποίο μοίρασε ροζ κορδέλες

σε όλους τους συμμετέχοντες στον αγώνα δρόμου «Race for the cure». Ήταν η πρώτη συσχέτιση του καρκίνου του μαστού με τη ροζ κορδέλα, της οποίας τότε ο ρόλος περιορίστηκε σε δευτερεύοντα. Λίγους μήνες μετά, μια Αμερικανίδα, η Charlotte Haley, η οποία βλέποντας την αδερφή της, την κόρη της και την εγγονή της να δίνουν τη μάχη με τον καρκίνο, ανέλαβε πρωτοβουλία σχετικά με την ενημέρωση για την ασθένεια. Ξεκίνησε λοιπόν μια εκστρατεία όπου μοίραζε στην τοπική αγορά ροζ κορδέλες και κάρτες στις οποίες μεταξύ άλλων αναγραφόταν «Βοηθήστε μας να αφυπνίσουμε την Αμερική φορώντας αυτή την κορδέλα» (Εικόνα 8Α).

Η ροζ αυτή κορδέλα αυτή έμελλε να γίνει το σύμβολο μιας παγκόσμιας εκστρατείας κατά του καρκίνου του μαστού, όταν τον Οκτώβριο του 1992 το επετειακό τεύχος του περιοδικού Self και η αρχισυντάκτριά του Alexandra Penney καθιέρωσαν τη ροζ κορδέλα ως έμβλημα και τον Οκτώβριο ως μήνα ευαισθητοποίησης κατά του καρκίνου του μαστού (Εικόνα 8Β).

Εικόνα 8: Ιστορική αναδρομή της ροζ κορδέλας.



Το μεγάλο όμως βήμα έγινε ένα χρόνο μετά, με την ίδρυση του «The Breast Cancer Research Foundation» από την Evelyn Lauder, πρόεδρο της εταιρίας καλλυντικών Estée Lauder Companies. Η ροζ κορδέλα αποτέλεσε το σύμβολο του νέου οργανισμού του οποίου κάθε ενημερωτική καμπάνια σε παγκόσμια κλίμακα χρωματίζεται ροζ. Μια

τέτοια δραστηριότητα είναι η φωταγώγηση διάσημων κτιρίων ανά τον κόσμο σε ροζ (Εικόνα 9).

Εικόνα 9: Το Ηρώδειο φωταγωγημένο σε ροζ χρώμα, από τη συμμετοχή της Ελλάδας σε διεθνή καμπάνια κατά του καρκίνου του μαστού.



Ηρώδειο, Αθήνα, Οκτώβριος 2019.

Πλέον η ροζ κορδέλα χρησιμοποιείται από διάφορους οργανισμούς παγκοσμίως, όχι μόνο για την προώθηση της πρόληψης και της έγκαιρης διάγνωσης αλλά και για την υποστήριξη κοινωνικών δράσεων ή εκστρατειών συγκέντρωσης χρημάτων, για ποικίλους σκοπούς που σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού.

2.2.5.8 Η ταμοξιφαίνη

Η δεκαετία του 1980 ήταν πολύ σημαντική και για την ανακάλυψη φαρμάκων - ένα από αυτά ήταν η ταμοξιφαίνη (Tamoxifen) που έχει αντί-οιστρογονική δράση. Τα οιστρογόνα είναι ορμόνες που ρυθμίζουν την ανάπτυξη του μαστικού αδένα και τον καταμήνιο κύκλο και είναι απαραίτητα για την αναπαραγωγή. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στη δεκαετία του 1890 και πριν ανακαλυφθούν τα οιστρογόνα το 1929, οι ιατροί παρατήρησαν μεταβολή στον καρκίνο του μαστού σε προεμμηνοπαυσιακές

γυναίκες, κατά τη διάρκεια του κύκλου [41]. Σε μια σειρά πειραμάτων στις αρχές της δεκαετίας του 1960, ο Jensen και οι συνεργάτες του απέδειξαν ότι τα οιστρογόνα δεσμεύονται σε ένα μόριο, το οποίο αργότερα αναγνωρίστηκε ως υποδοχέας οιστρογόνων [42, 43]. Αυτές ήταν πολύ σημαντικές ανακαλύψεις, διότι αργότερα, στη δεκαετία του 1970 αποδείχθηκε ότι οι όγκοι του μαστού αυξάνονταν ως απάντηση στα οιστρογόνα, γεγονός που κατηύθυνε την έρευνα στην αναζήτηση αντι-οιστρογόνων φαρμάκων. Το 1962, οι επιστήμονες της βρετανικής φαρμακευτικής εταιρίας AstraZeneca, συνθέτουν για πρώτη φορά ένα φάρμακο που ονομάζεται ταμοξιφαίνη με αντισυλληπτική δράση [44]. Ωστόσο, αργότερα βρέθηκε ότι η ταμοξιφαίνη έχει αντι-οιστρογονική δράση σε καρκίνους μαστού με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς. Λειτουργεί εμποδίζοντας τη δέσμευση των οιστρογόνων στον υποδοχέα τους. Ωστόσο, επειδή βρέθηκε ότι διεγείρει και τη δράση των οιστρογόνων στο ενδομήτριο, θεωρείται ως εκλεκτικός διαμορφωτής των υποδοχέων οιστρογόνων (SERM) [45]. Μετά από μια σειρά κλινικών δοκιμών σε ανθρώπους, ο Αμερικανικός Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ενέκρινε το 1977 την κυκλοφορία της ταμοξιφαίνης αρχικά για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου του μαστού με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς. Στη συνέχεια, χορήγησε άδεια και για χρήση της ως συμπληρωματική θεραπεία για μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (1986) και ως προφυλακτική αγωγή σε γυναίκες με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (1998) [44]. Παραπάνω από 40 χρόνια μετά από την αρχική έγκριση κυκλοφορίας της, η ταμοξιφαίνη εξακολουθεί να θεωρείται ως αγωγή εκλογής για τη θεραπεία όλων των σταδίων καρκίνου του μαστού με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς.

2.2.5.9 Οι μεταλλάξεις των BRCA1 και BRCA2

Η δεκαετία του 1990 χαρακτηρίστηκε από ραγδαία άνοδο της έρευνας γύρω από τον καρκίνο του μαστού. Μέχρι τότε, ήταν γνωστό ότι οι συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με καρκίνο μαστού, διέτρεχαν μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν και αυτοί. Άλλα ορόσημα της δεκαετίας του 1990 σχετικά με τον καρκίνο του μαστού, ήταν η χρήση των ταξανών ως χημειοθεραπευτική αγωγή (1994), η χρήση φαρμάκων που προστατεύουν τα οστά συμβάλλοντας στη μείωση των επιπλοκών του καρκίνου του μαστού (1995), η βιοψία λεμφαδένα - φρουρού για την αξιολόγηση πιθανής μετάστασης (1996) και η έγκριση της καπεσιταβίνης, ενός από του στόματος χημειοθεραπευτικού φαρμάκου (1998).

Ωστόσο, δύο ανακαλύψεις στη δεκαετία του 1990 που είχαν ιδιαίτερη επίδραση στη διάγνωση και τη θεραπεία ήταν: Πρώτον, η ταυτοποίηση το 1994 ειδικών κληρονομούμενων μεταλλάξεων στα ογκοκατασταλτικά γονίδια BRCA1 και BRCA2 οι οποίες αύξησαν τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών και δεύτερον, η ανάπτυξη το 1998 της τραστουζουμάμπης (Herceptin), του πρώτου φαρμάκου στοχευμένης θεραπείας κατά του καρκίνου του μαστού [22].

Σταθμός για τη μοριακή βιολογία και τη γενετική αποτελεί η ταυτοποίηση των παραλλαγών των δύο κύριων γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού, του BRCA1 και BRCA2, και δημοσιεύθηκαν το 1994 στο Science από τον Easton και τον Wooster αντιστοίχως [46, 47]. Οι φορείς αυτών των γονιδιακών μεταλλάξεων αποδείχθηκε ότι εμφανίζουν μεταξύ 40% και 80% κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού κατά την ηλικία των 70 ετών [48]. Οι οικογένειες με ιστορικό καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών συσχετίζονται συνήθως με κληρονομικές μεταλλάξεις του BRCA1, ενώ οικογένειες που περιλαμβάνουν καρκίνο του μαστού σε άντρες, συνδέονται συχνότερα με μεταλλάξεις του BRCA2. Η υψηλότερη συχνότητα αυτών των μεταλλάξεων είναι 36%, που βρίσκεται σε οικογένειες εβραϊκής καταγωγής. Οι

τρεις πιο κοινές μεταλλάξεις στην εβραϊκή ομάδα Ashkenazi είναι οι BRCA1 185delAG, BRCA1 5382insC και BRCA2 6174delT. Οι ομάδες που προέρχονταν από τη Βόρεια Ιρλανδία και τη δυτική ακτή της Σκωτίας παρουσίαζαν τη μετάλλαξη BRCA1 2800delAA, ενώ οι ομάδες από την ανατολική ακτή της Σκωτίας παρουσίαζαν συνήθως τη μετάλλαξη BRCA2 6503delTT [49].

2.2.5.10 Το Herceptin

Το 1974 σηματοδοτήθηκε από την αναγνώριση μιας πρωτεΐνης που ονομάζεται υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR). Αυτή η πρωτεΐνη ήταν ο πρώτος υποδοχέας τυροσινικής κινάσης που ανακαλύφθηκε από τους Carpenter και Cohen [50]. Το 1984 και το 1986, ο Ullrich και ο Yamamoto αντίστοιχα, με τους συνεργάτες τους, [51, 52] κλωνοποίησαν το γονίδιο *HER2* (human epidermal growth factor 2) ή αλλιώς *neu*. Στην πραγματικότητα, το *HER2* ανήκει σε μια οικογένεια τεσσάρων μελών EGFR, η οποία περιλαμβάνει επίσης τα *HER3* και *HER4*. Το ογκογονίδιο *neu* κλωνοποιήθηκε, αλληλουχήθηκε και χαρτογραφήθηκε στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 17 [52]. Το 1987, ο Slamon και οι συνεργάτες του κατέδειξαν την ενίσχυση του ογκογονιδίου *neu* στο καρκίνο του μαστού και ανέφεραν ότι η ενίσχυση αυτή συσχετίζεται με φτωχότερη πρόγνωση σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού [53]. Το 1988, ο Muller και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι η στόχευση της ενεργού μορφής του *HER2* στο μαζικό αδένωμα επίμυος, ήταν ικανή για την εμφάνιση κακοήθων όγκων που ιστολογικά ομοιάζαν με τον καρκίνο του ανθρώπινου μαστού [54]. Ήταν πλέον σαφές ότι η ενίσχυση του *HER2*, είχε ογκογόνο δράση για το μαστό.

Το 1989, ο Ullrich και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της εξωκυττάριου τμήματος του *HER2*, αναστέλλει εκλεκτικά την ανάπτυξη των

HER2-θετικών καρκινικών κυττάρων του μαστού. Το αντίσωμα που χρησιμοποιείται έναντι του *HER2* παρήχθη από καλλιέργεια ωοθήκης κινέζικου χάμστερ, το 1992. Τώρα πλέον ονομάζεται Trastuzumab ή Herceptin και δοκιμάστηκε σε κλινικές μελέτες Φάσης I το 1992 και τη Φάσης II το 1993. Οι φάσης III ξεκίνησαν το 1995 και ολοκληρώθηκαν το 1997. Το 1998, ο FDA ενέκρινε το Herceptin σε συνδυασμό με την πακλιταξέλη ως θεραπεία πρώτης γραμμής κατά των μεταστατικών καρκίνων του μαστού με θετικούς HER2 και μόνο του ως θεραπεία δεύτερης και τρίτης γραμμής. Το Herceptin περιγράφεται επισήμως ως «παράγωγο ανασυνδυασμένου DNA από μονοκλωνικό αντίσωμα» και αποτελεί το πρώτο θεραπευτικό αντίσωμα έναντι ενός ογκογονιδίου, που έχει λάβει την έγκριση του FDA. Το 2006, το Herceptin εγκρίθηκε επίσης ως μέρος της επικουρικής θεραπείας για γυναίκες με πρώιμο στάδιο HER2-θετικού καρκίνου του μαστού, αφού προηγουμένως αποδείχθηκε ότι το φάρμακο μείωνε σημαντικά τον κίνδυνο υποτροπής (>50%) [22].

2.2.6 2000 έως σήμερα

Η έρευνα στη βιολογία του καρκίνου στη δεκαετία του 1980 και του 1990 οδήγησε σε σημαντική πρόοδο όσον αφορά την πρόληψη, την έγκαιρη διάγνωση και τη θεραπεία του. Συγκεκριμένα, μόνο αυτές τις δύο δεκαετίες, αποκομίσαμε πολύ περισσότερες γνώσεις από ό,τι όλους τους προηγούμενους αιώνες. Οι μελέτες για τον καρκίνο στη νέα χιλιετία είναι πολυδιάστατες και αναπτύσσονται σε πολλαπλά μέτωπα. Ο 21^{ος} αιώνας χαρακτηρίζεται από αξιοσημείωτη πρόοδο στον τομέα της γονιδιακής και πρωτεϊνικής έκφρασης, των στοχευμένων θεραπειών, της ανοσοθεραπείας, της γενετικής του καρκίνου, της νανοτεχνολογίας και της ρομποτικής χειρουργικής.

Η πρόοδος στην παθολογική ανατομική και τη μοριακή βιολογία καθώς και η κατανόηση των γενετικών μεταβολών που συντελούνται κατά την εξέλιξη του καρκίνου του μαστού, οδήγησαν στην παθολογοανατομική και μοριακή ταξινόμησή του και στην ανάπτυξη νέων γενετικών εξετάσεων, οδηγώντας όχι μόνο στην πρόληψη της νόσου αλλά και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών.

2.2.6.1 Η πλήρης χαρτογράφηση του γονιδιώματος

Η εποχή της επιγενετικής ξεκίνησε ουσιαστικά τον 21^ο αιώνα, αυξάνοντας τις προσδοκίες για πρόοδο στη διάγνωση, τη θεραπεία και την πρόληψη ασθενειών. Το μεγαλύτερο επίτευγμα ήταν η πλήρης χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος, στις 14 Απριλίου 2003, από τη διεθνή ομάδα επιστημόνων του Human Genome Project [22]. Αυτό το πρόγραμμα επέφερε επανάσταση στη γονιδιωματική δημιουργώντας νέες στρατηγικές για τη μελέτη του καρκίνου και την ανεύρεση νέων και πιο αποτελεσματικών διαγνωστικών και θεραπευτικών μεθόδων. Έκτοτε, έχει δημιουργηθεί πληθώρα βάσεων δεδομένων οι οποίες με τη βοήθεια της βιοπληροφορικής και μέσα από την καταγραφή μεταλλάξεων, συμβάλλουν στην κατανόηση του μοριακού υποβάθρου του καρκίνου.

2.2.6.2 Μοριακοί υπότυποι

Η μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του μαστού με τη γονιδιακή έκφραση, αποτελεί μία από τις σημαντικές εξελίξεις των τελευταίων ετών στον τομέα της εξατομικευμένης ιατρικής. Παράλληλα, οδήγησε στην καλύτερη κατανόηση της βιολογικής ετερογένειας του καρκίνου του μαστού [55-58].

Το 2000, ο Perou και οι συνεργάτες του, βασιζόμενοι στη γονιδιακή έκφραση παρουσίασαν ένα νέο τρόπο ταξινόμησης του καρκίνου του μαστού. Έτσι λοιπόν,

διέκριναν τουλάχιστον τέσσερις κύριους μοριακούς υποτύπους: Βασικού τύπου (Basal-like), HER2-θετικοί (HER2-Positive, HER2+) Αυλικού τύπου Α (Luminal A) και Αυλικού τύπου Β (Luminal B). Οι τύποι Luminal A και Luminal B είναι θετικοί ως προς τους υποδοχείς οιστρογόνων (ER+), ενώ οι Basal-like καρκίνοι του μαστού είναι συνήθως αρνητικοί για τους υποδοχείς οιστρογόνων (ER-), αρνητικοί για τους υποδοχείς προγεστερόνης (PR-) και αρνητικοί για το HER2 (HER2-), επομένως είναι τριπλά αρνητικοί καρκίνοι του μαστού (Triple negative breast cancer, TNBC). Ο Basal-like υπότυπος προσδιορίζεται με βάση την έκφραση των κυτοκερατινών 5 και 17, καθώς και του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR/HER1), που απαντάται στη βασική στοιβάδα των κυττάρων του μαστικού αδένου. Οι HER2-θετικοί καρκίνοι εμφανίζουν υψηλή έκφραση του γονιδίου *ERBB2* (Πίνακας 1) [55].

Πίνακας 1: Μοριακοί υπότυποι καρκίνου μαστού κατά Perou.

Υπότυπος	ER	PR	HER2
Basal-like	-	-	-
HER2	-	-	+
Luminal A	+	+	-
Luminal B	+	+	+

Όλοι αυτοί οι υπότυποι είναι ιστολογικά διαφορετικοί και ποικίλουν ως προς τις κλινικές εκβάσεις τους. Για παράδειγμα, ο υπότυπος Luminal A είναι ιστολογικά χαμηλής διαφοροποίησης και έχει πιο ευνοϊκή πρόγνωση, ενώ οι Luminal B καρκίνοι είναι συχνά υψηλής διαφοροποίησης και συνεπώς πιο επιθετικοί. Οι HER2-θετικοί καρκίνοι είναι συνήθως υψηλής διαφοροποίησης και συνδέονται με κακή πρόγνωση, ενώ τέλος οι Basal-like υπότυποι είναι συνήθως οι πλέον επιθετικοί και σχετίζονται με

βραχύτερη επιβίωση χωρίς υποτροπή μετά από θεραπεία και συνολική επιβίωση. Οι Basal-like αντιπροσωπεύουν το 56% έως 85% των TNBC. Ορισμένοι TNBC στερούνται του προφίλ έκφρασης των Basal-like και έτσι χαρακτηρίζονται ως Normal-like καρκίνοι του μαστού, οι οποίοι είναι συνήθως μικροί και έχουν ευνοϊκότερη πρόγνωση [59]. Οι Claudin-low υπότυποι, αποτελούν μία προσφάτως περιγεγραμμένη μοριακή κατηγορία καρκίνου του μαστού που είναι συχνά τριπλά αρνητική, ωστόσο διακρίνεται από τα χαμηλά επίπεδα έκφρασης πρωτεϊνών κυτταρικής συνοχής, συμπεριλαμβανομένης της Claudin και της E-cadherin [60].

Έχουν προκύψει και άλλες μοριακές ταξινομήσεις για τον καρκίνο του μαστού, ωστόσο όλες συνέβαλαν στο να αλλάξει ολοσχερώς η αντίληψή μας και έδωσαν νέες ευκαιρίες για τη βελτίωση των διαγνωστικών, προγνωστικών και θεραπευτικών προσεγγίσεων για αυτή τη νόσο.

2.2.6.3 Νέοι γενετικοί έλεγχοι

Το 2004, η Genomic Health, στην Καλιφόρνια, εισήγαγε τη δοκιμασία Oncotype DX για τον καρκίνο του μαστού, επιφέροντας μια εξατομικευμένη προσέγγιση στη χημειοθεραπεία [61]. Ο Steven Shak, ο επικεφαλής της Genomic Health, σημείωσε ότι η εποχή του «μια θεραπεία για όλους» πέρασε και ότι «το Oncotype DX επιτρέπει πλέον να εξατομικεύονται οι θεραπείες, αξιολογώντας εμπειριστατωμένα αν τα όφελος της χημειοθεραπείας υπερβαίνει τους κινδύνους». Η δοκιμασία αυτή, είναι μια εμπορικά διαθέσιμη διαγνωστική εξέταση πολυγονιδιακής έκφρασης. Αναλύει το πρότυπο έκφρασης ή τη «γονιδιακή υπογραφή» 21 γονιδίων σε ιστούς από όγκους μαστού, με χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης ανάστροφης μεταγραφής (RT-PCR) και προβλέπει αποτελέσματα όπως η δυνατότητα εμφάνισης χημειοθεραπευτικού οφέλους, η πιθανότητα υποτροπής και η 10-ετής επιβίωση των ασθενών. Το Oncotype DX για

καρκίνο του μαστού σταδίου I ή II, με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ER+) και αρνητικούς λεμφαδένες, αντιπροσωπεύει περισσότερο από το 50% των ασθενών [62]. Τα αποτελέσματα ποσοτικοποιούνται με μια κλίμακα από 0 έως 100, όπου όσο υψηλότερη είναι η βαθμολογία, τόσο μεγαλύτερες είναι οι πιθανότητες υποτροπής εάν η ασθενής αντιμετωπισθεί μόνο με ορμονοθεραπεία. Έτσι, με τη δοκιμασία αυτή, οι ογκολόγοι μπορούν να εντοπίσουν ασθενείς οι οποίοι έχουν επείγουσα ανάγκη για χημειοθεραπευτική αγωγή για παράταση της επιβίωσης και πρόληψη της υποτροπής του καρκίνου του μαστού. Αντίθετα, οι ασθενείς με χαμηλό κίνδυνο δε χρειάζονται πρόσθετη χημειοθεραπεία, αποφεύγοντας έτσι τις επακόλουθες παρενέργειες και το περιττό οικονομικό κόστος [22].

Υπάρχουν και άλλα προγνωστικά μοντέλα που έχουν βασιστεί στη γονιδιακή έκφραση του όγκου του μαστού [63]. Για παράδειγμα, το 2007 ο FDA ενέκρινε το MammaPrint. Πρόκειται για μια δοκιμασία γονιδιακής υπογραφής 70 γονιδίων με υψηλή αρνητική προγνωστική αξία για απομακρυσμένες μεταστάσεις σε ασθενείς όλων των ηλικιών με καρκίνο του μαστού κάτω των 5 εκ. και αρνητικούς λεμφαδένες, ανεξαρτήτως της κατάστασης των οιστρογονικών υποδοχέων (ER). Αυτή η δοκιμασία απαλλάσσει πολλούς μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς με καρκίνο του μαστού, από επικουρικές θεραπείες [64].

2.2.6.4 Νέες κατηγορίες φαρμάκων

2.2.6.4.1 Η φουλβεστράντη

Η θεραπεία με ταμοξιφαίνη αποτελεί συνήθως την πρώτη γραμμής θεραπεία για ασθενείς με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ER+) ασθενείς και τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Η ταμοξιφαίνη εμφανίζει αντι-

οιστρογονική δραστηριότητα, η οποία μπορεί να προκαλέσει υπερπλασία ή ακόμα και καρκίνωμα του ενδομητρίου. Επιπλέον, ενοχοποιείται για θρομβώσεις. Αντίθετα, η φουλβεστράντη (Fulvestrant) εμφανίζει ανταγωνιστική και όχι μερικώς αγωνιστική δράση, όπως η ταμοξιφαίνη και για αυτό χαρακτηρίζεται ως αμιγές αντι-οιστρογόνο. Συνιστά εκλεκτικό ρυθμιστή του υποδοχέα οιστρογόνων (SERD) που ενώ δεσμεύεται άμεσα στον οιστρογονικό υποδοχέα (ER), εμποδίζει το διμερισμό του και προάγει την ταχεία αποικοδόμησή του [65]. Το 2002, ο FDA ενέκρινε το Fulvestrant, που κυκλοφορεί από την AstraZeneca, ως δεύτερης γραμμής ενδοκρινική θεραπεία επί προχωρημένου ή μεταστατικού καρκίνου του μαστού, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ER+), εφόσον η νόσος υποτροπιάζει ή επιδεινώνεται μετά από θεραπεία με αντι-οιστρογόνα [22].

2.2.6.4.2 Αναστολείς αρωματάσης

Οι ωθήκες αποτελούν την κύρια πηγή οιστραδιόλης (οιστρογόνων) στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ωστόσο, στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες οι ωθήκες παύουν να παράγουν οιστρογόνα και η σύνθεση τους επιτελείται από άλλα όργανα, συμπεριλαμβανομένου του λιπώδους ιστού του μαστικού αδένου [66]. Στις γυναίκες αυτές, τα οιστρογόνα συντίθενται κυρίως μέσω μετατροπής των επινεφριδιακών ανδρογόνων σε οιστρόνη και οιστραδιόλη, με την οιστραδιόλη να επικρατεί. Η αρωματάση είναι ένα ένζυμο που είναι υπεύθυνο για αυτή τη βιοσύνθεση των οιστρογόνων. Συνεπακόλουθα, οι αναστολείς της αρωματάσης παρεμποδίζουν τη λειτουργία αυτού του ενζύμου, περιορίζοντας έτσι την παραγωγή οιστρογόνων που εμπλέκονται στην ανάπτυξη μερικών καρκίνων του μαστού.

Οι αναστολείς αρωματάσης έχει αποδειχθεί ότι είναι πιο αποτελεσματικοί από την ταμοξιφαίνη όσον αφορά την του μαστού, ενώ παράλληλα είναι καλώς ανεκτοί. Το

2005, ο FDA ενέκρινε το φάρμακο λετροζόλη (Letrozole), το πρώτο μέλος μιας νέας κατηγορίας φαρμάκων. Η λετροζόλη παράγεται από τη Novartis (Femara) και ενδείκνυται για μακροχρόνια θεραπεία σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με καρκίνο μαστού, που έχουν ήδη συμπληρώσει πέντε χρόνια θεραπείας με ταμοξιφαίνη. Οι κλινικές μελέτες έδειξαν ότι περιορίζει τον κίνδυνο υποτροπής του καρκίνου του μαστού, περισσότερο από τη μονοθεραπεία με ταμοξιφαίνη.

Η ανασταζόλη (Anastrozole) παράγεται από την AstraZeneca και διατίθεται με την εμπορική ονομασία Arimidex, αποτελεί άλλον έναν εγκεκριμένο από την FDA αναστολέα αρωματάσης. Αποδείχθηκε ότι αυξάνει την επιβίωση και βελτιώνει τα συμπτώματα, στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με προχωρημένο καρκίνο του μαστού [67].

Η ραλοξιφαίνη (Raloxifene), ενώ χρησιμοποιείται από το 1997 για την πρόληψη και θεραπεία της οστεοπόρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, αποδείχθηκε αργότερα ότι είναι εξίσου αποτελεσματική με την ταμοξιφαίνη για τον περιορισμό του κινδύνου ανάπτυξης διηθητικού καρκίνου του μαστού. Ενώ λειτουργεί παρεμποδίζοντας τη δράση των οιστρογόνων στο μαστό, δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί έναντι του καρκίνου [68].

2.2.6.4.3 Αναστολείς HER2

Η λαπατινίμη (Lapatinib), εγκρίθηκε από το FDA το 2007, κυκλοφορεί από τη GlaxoSmithKline (Tykerb) και ενδείκνυται για HER2-θετικούς ασθενείς με καρκίνο μαστού που δεν ανταποκρίνεται στη θεραπεία με Herceptin. Περίπου το 25% των καρκίνων του μαστού υπερεκφράζουν το HER2 γεγονός που συνδέεται με πιο επιθετικό φαινότυπο και χειρότερη πρόγνωση. Το HER2 είναι υποδοχέας τυροσινικής κινάσης που προάγει διάφορες κυτταρικές διεργασίες που περιλαμβάνουν τον

κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η λαπατινίμπη αναστέλλει τη δραστηριότητα της τυροσυνικής κινάσης στους HER2 και HER1 και έτσι καταστέλλει τη σηματοδότηση από αυτούς τους υποδοχείς. Εγκρίθηκε επίσης και για συγχορήγηση με καπεσιταμπίνη (capecitabine) για ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο του μαστού που υπερεκφράζει την πρωτεΐνη HER2. Το 2010, η λαπατινίμπη εγκρίθηκε επίσης ως αρχική θεραπεία σε συνδυασμό με λετροζόλη για ασθενείς με HER-2-θετικό καρκίνο του μαστού [69].

2.2.6.5 Το φαινόμενο Angelina Jolie

Οι γυναίκες με κληρονομούμενες μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 ή BRCA2 έχουν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών [70]. Μια πολυκεντρική μελέτη κατά την πρώτη δεκαετία του 21^{ου} αιώνα είχε ως αντικείμενό της να προσδιοριστεί εάν η προληπτική χειρουργική επέμβαση (η οποία περιλαμβάνει εκτός από μαστεκτομή και την αφαίρεση σαλπίγγων και ωοθηκών) μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο καρκίνου και θνησιμότητας στους φορείς των BRCA μεταλλάξεων. Το γενικό συμπέρασμα από αυτή τη μελέτη ήταν ότι προληπτική χειρουργική αφαίρεση μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου όχι μόνο στο μαστό αλλά και στις ωοθήκες [71]. Αντίθετα, αν δεν υποβληθούν σε προφυλακτική χειρουργική επέμβαση, οι γυναίκες με κληρονομούμενες μεταλλάξεις και στα δύο BRCA γονίδια, διατρέχουν έως 84%, κίνδυνο ανάπτυξη καρκίνου του μαστού, κάποια στιγμή κατά την διάρκεια του βίου τους [72].

Το 2013, η ηθοποιός του Hollywood Angelina Jolie, φορέας του BRCA1, μίλησε στο περιοδικό Time για την προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή στην οποία είχε υποβληθεί (Εικόνα 10). Η δημοσιοποίηση της εμπειρίας της όχι απλά έτυχε ευρείας αποδοχής αλλά αύξησε και την ευαισθητοποίηση σχετικά με τον έλεγχο για BRCA1/2 συμβάλλοντας στην πρόληψη του καρκίνου. Τελικά, ακολούθησε το

επονομαζόμενο «φαινόμενο Angelina Jolie», το οποίο οδήγησε σε μαζική αύξηση του γενετικού ελέγχου [73]. Παράλληλα, βοήθησε να εξαλειφθούν ορισμένες ανασφάλειες των ασθενών που σχετίζονταν με την απώλεια της σεξουαλικής τους ταυτότητας μετά την προληπτική χειρουργική επέμβαση. Η προφυλακτική μαστεκτομή σίγουρα ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού εντός 10 ετών από τη χειρουργική επέμβαση [74].

Εικόνα 10: Το φαινόμενο Angelina Jolie.



Πηγή: Time.com.

Η Angelina Jolie, φορέας του BRCA1, μίλησε στο περιοδικό Time για την προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή στην οποία είχε υποβληθεί, όχι μόνο αυξάνοντας την ευαισθητοποίηση έναντι του καρκίνου του μαστού αλλά βοήθησε και να εξαλειφθούν ορισμένες ψυχολογικές ανασφάλειες των ασθενών.

2.2.6.6 Νέες θεραπευτικές στρατηγικές για το HER2+ καρκίνο

2.2.6.6.1 Συνδυαστική θεραπεία

Το 2010, η μελέτη CLEOPATRA (CLinical Evaluation Of Pertuzumab And TRAstuzumab), μια τυχαιοποιημένη, πολυεθνική, πολυκεντρική, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο φάσης III μελέτη, στην οποία συμμετείχαν περίπου

800 HER2-θετικοί ασθενείς από περίπου 250 κέντρα παγκοσμίως, ανέδειξε την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού δοκεταξέλης (Docetaxel) - τραστουζουμάμπης (Trastuzumab, Herceptin) - περτουζουμάμπης (Pertuzumab) και δοκεταξέλης - τραστουζουμάμπης - εικονικού φαρμάκου, στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού.

Το 2012, ο FDA ενέκρινε την κυκλοφορία Pertuzumab από τη Genentech (Perjeta), για τη θεραπεία του HER2-θετικού μεταστατικού καρκίνου του μαστού. Η Pertuzumab ήταν το πρώτο μέλος μια νέας κατηγορίας φαρμάκων που ονομάζεται «αναστολείς διμερισμού του HER». Συνδέεται με το HER2 αναστέλλοντας τον ομο- ή ετερο-διμερισμό του. Ο συνδυασμός Pertuzumab με Trastuzumab και Docetaxel, ως θεραπεία πρώτης γραμμής για τον μεταστατικό καρκίνο του μαστού με θετικό HER2, έχει βρεθεί ότι επιβραδύνει την ανάπτυξή του και βελτιώνει σημαντικά την επιβίωση χωρίς υποτροπή σε σύγκριση με το συνδυασμό Docetaxel - Trastuzumab - εικονικού φαρμάκου. Επειδή δε, η χρήση αυτού του σχήματος δεν συσχετίστηκε με σοβαρές παρενέργειες, αποτελεί σημαντική θεραπεία για τους HER2-θετικούς ασθενείς. Επιπλέον μελέτες, υποστηρίζουν περαιτέρω τη θετική αναλογία οφέλους-κινδύνου σε ασθενείς με HER2-θετικό μεταστατικό καρκίνο του μαστού που λαμβάνουν θεραπεία με περτουζουμάμπη - τραστουζουμάμπη - δοκεταξέλη [75, 76].

Τα ανωτέρω αποτελέσματα έχουν τροφοδοτήσει πληθώρα ερευνών για την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού δύο ή περισσότερων φαρμάκων αυτής της νέας κατηγορίας.

2.2.6.6.2 Μονοκλωνικά αντισώματα

Παρά την αξιοσημείωτη πρόοδο, η μέση επιβίωση χωρίς υποτροπή και η συνολική επιβίωση των HER2-θετικών ασθενών που έλαβαν θεραπεία με τραστουζουμάμπη είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα, είναι στην καλύτερη

περίπτωση 7 μήνες. Το 2013, ο FDA ενέκρινε ένα εξελιγμένο φάρμακο στοχευμένης θεραπείας, το Trastuzumab Emtansine (T-DM1) και μετά από κλινικές μελέτες, συμπεριλαμβανομένης της βασικής μελέτης EMILIA, κατέδειξε ότι η χορήγηση T-DM1 παρατείνει την επιβίωση στις γυναίκες με προχωρημένους HER2-θετικούς καρκίνους μαστού [77]. Το T-DM1, που κυκλοφορεί από τη Genentech με την εμπορική του ονομασία Kadcyla, αποτελεί συνδυασμό δύο αντικαρκινικών φαρμάκων - της Trastuzumab (T) και του χημειοθεραπευτικού φαρμάκου εμπτανσίνη (Emtansine), που συνδέεται με τους μικροσωληνίσκους αναστέλλοντας έτσι την κυτταρική διαίρεση [78]. Το T-DM1 στοχεύει εκλεκτικά τα HER2-θετικά κύτταρα στα οποία η τραστοζουμάμπη συνδέεται επιλεκτικά με τον τομέα IV του υποδοχέα HER2 στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων οδηγώντας στην πρωτεολυτική αποδόμηση και απελευθέρωση του DM1 στο κυτταρόπλασμα. Η δράση του DM1 συνδυάζεται με τις αντικαρκινικές δράσεις της Trastuzumab, αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό [79]. Τα αποτελέσματα του T-DM1 οδήγησαν στην ανάπτυξη πολλών νέων θεραπειών, συμπεριλαμβανομένου του MM302, ενός αντισώματος συνδεδεμένου με την λιποσωμική δοξορουβικίνη (NCT01304797) και της MM111, μιας πρωτεΐνης σύντηξης που στοχεύει το ετεροδιμερές HER2/HER3 [78].

Η τεχνολογία νανοσωματιδίων που συνδέεται με πρωτεΐνες χρησιμοποιείται επίσης σήμερα στους περισσότερους τύπους καρκίνου. Το 2013 ο FDA ενέκρινε το Abraxane (πακλιταξέλη με τεχνολογία νανοσωματιδίων). Η χορήγηση του Abraxane απαλλάσσει τους ασθενείς από ανεπιθύμητες ενέργειες όπως οι σοβαρές αλλεργικές αντιδράσεις που σχετίζονται με τις ταξόλες [22].

2.2.6.7 Νέες τάσεις στην έρευνα και τη θεραπεία

Οι θεραπευτικές επιλογές για τους ασθενείς με καρκίνο του μαστού αυξήθηκαν θεαματικά τον 21^ο αιώνα, ενώ ταυτόχρονα είναι πολύ υποσχόμενες και οι προοπτικές για μελλοντικές αποτελεσματικότερες διαγνωστικές και θεραπευτικές μεθόδους. Επιπλέον, το τοπίο της θεραπείας για ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού ολοένα και περισσότερο αλλάζει. Για παράδειγμα, πληθώρα μελετών διερευνά στρατηγικές για την υπέρβαση της αντίστασης στην ορμονοθεραπεία, στοχεύει τους τριπλά αρνητικούς καρκίνους και αξιολογεί νέες θεραπείες έναντι των HER2-θετικών όγκων. Άλλες πολλά υποσχόμενες μελέτες ασχολούνται με τις εξελίξεις στην ανοσοθεραπεία και την αναστολή της νεοαγγειογένεσης, ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των όγκων [80]. Η γνώση μας για τα μοριακά χαρακτηριστικά του καρκίνου, σε συνδυασμό με καλύτερες διαγνωστικές μεθόδους, επέφερε την πρόσφατη πρόοδο στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Για παράδειγμα, η νέο-επικουρική θεραπεία (neoadjuvant) αποτελεί πλέον συνήθη θεραπευτική επιλογή. Υπάρχουν πλέον περισσότερες θεραπευτικές στρατηγικές όχι μόνο για τους HER2-θετικούς και ER-θετικούς καρκίνους, αλλά και νέες επιλογές για τη διαχείριση και τη θεραπεία ασθενών με TNBC, η στόχευση του οποίου ήταν ιδιαίτερα δύσκολη [81-85].

Ακόμα και σήμερα η χημειοθεραπεία εξακολουθεί να θεωρείται ως η πλέον συνήθης θεραπευτική επιλογή [83]. Αυτό όμως δεν αναιρεί την τεράστια πρόοδο. Παραδείγματος χάριν, διακρίνονται πλέον διαφορετικοί υπότυποι του TNBC με βάση τις γονιδιακές υπογραφές [84-86]. Όλα αυτά τα μοριακά χαρακτηριστικά και άλλα κυτταρικά χαρακτηριστικά έχουν ανοίξει το δρόμο για τον εντοπισμό νέων δυνητικών στόχων για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών έναντι του TNBC. Για παράδειγμα, η συσχέτιση μεταξύ TNBC και μεταλλάξεων του BRCA1, οδήγησε στη διερεύνηση του ρόλου των αναστολέων πολυ-άδενο διφωσφορικής ριβόζης [Poly (ADP-ribose) polymerase, PARP] στον TNBC. Οι δοκιμές μερικών αναστολέων PARP όπως είναι η

ινιπαρίμπη (Iniparib) σε TNBC έχουν δείξει βελτιωμένη ανταπόκριση στη θεραπεία και αύξηση της επιβίωσης χωρίς υποτροπή [87]. Άλλα υποσχόμενα αντικείμενα έρευνας είναι το RNA SNHG15, τα αντι-ανδρογόνα, οι αντι-αγγειογενετικοί παράγοντες και οι αναστολείς των απακετυλασών των ιστονών, που είναι και το αντικείμενο της παρούσης διδακτορικής διατριβής [88, 89].

Πολλοί καρκίνοι, συμπεριλαμβανομένου του μαστού, προέρχονται από ένα υποσύνολο κυττάρων που ονομάζεται καρκινικά βλαστοκύτταρα. Αυτά είναι κύτταρα-υποκινητές της καρκινογένεσης και ευθύνονται για την ανάπτυξη όγκου και τις μεταστάσεις. Πολλές οδοί σηματοδότησης, όπως το μονοπάτι STAT3, είναι γνωστό ότι ρυθμίζουν την αυτό-ανανέωση των βλαστικών κυττάρων του καρκίνου του μαστού και ως εκ τούτου μπορεί να θεωρηθούν ως δυνητικοί θεραπευτικοί στόχοι [90]. Η αποτελεσματική στόχευση των καρκινικών βλαστοκυττάρων θα ήταν επωφελής ιδιαίτερα για τον TNBC, για τον οποίο επί του παρόντος δεν υπάρχουν συγκεκριμένοι θεραπευτικοί στόχοι.

Η θεραπευτική προσέγγιση του καρκίνου του μαστού μετατοπίζεται περισσότερο προς την κατεύθυνση της εξατομικευμένης στρατηγικής, καθώς η γνώση των χαρακτηριστικών του ασθενούς και του αντίστοιχου όγκου του, συνεχίζει ολοένα να βελτιώνεται. Η πρόοδος της γονιδιωματικής επέτρεψε στους ερευνητές να καταγράψουν το φάσμα των μεταβολών στον καρκίνο του μαστού. Το γονιδιακό προφίλ είναι ένα πολύτιμο εργαλείο για την εξατομικευμένη ιατρική συμβάλλοντας στη διάγνωση, την πρόγνωση και την καλύτερη απόκριση στη θεραπεία.

Επίσης, ποικίλοι θεραπευτικοί στόχοι αποτελούν αντικείμενο της τρέχουσας έρευνας στον καρκίνο του μαστού. Παράλληλα τα πρόσφατα τεχνολογικά επιτεύγματα συμπεριλαμβανομένων των ελάχιστα επεμβατικών θεραπειών όπως η καυτηρίαση με

ραδιοσυχνότητες (RFA) και η κρυοπηξία (cryoablation), φαίνεται να προσφέρουν επιπλέον όπλα στη θεραπευτική φαρέτρα κατά του καρκίνου του μαστού.

2.2.6.8 Ανθεκτικότητα στη θεραπεία

Οι τρέχουσες στοχευμένες θεραπείες για καρκίνο του μαστού περιλαμβάνουν την ταμοξιφαίνη, το Fulvestrant και τους αναστολείς αρωματάσης για καρκίνους με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς, το Herceptin και διάφορους αναστολείς HER2 για τη θεραπεία HER2-θετικών καρκίνων. Πολυάριθμα χημειοθεραπευτικά φάρμακα έχουν επίσης εγκριθεί ως επικουρική και νεοεπικουρική θεραπεία για όλους τους υπότυπους του καρκίνου του μαστού, συμπεριλαμβανομένου του TNBC. Δυστυχώς όμως, οι περισσότεροι ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με αυτά τα φάρμακα τελικά αναπτύσσουν αντοχή, που συχνά οδηγεί σε εξάπλωση της νόσου και στο θάνατο. Η αντοχή στα φάρμακα είναι μια συνήθης εκδήλωση του καρκίνου και αποτελεί βασικό παράγοντα για την αποτυχία πολλών μορφών χημειοθεραπείας. Οι μηχανισμοί στους οποίους βασίζεται η αντίσταση στα φάρμακα είναι ελάχιστα κατανοητοί. Αυτό συνεπώς καταδεικνύει ένα σημαντικό έλλειμμα, ειδικά στην περίπτωση μίας ετερογενούς ασθένειας όπως ο καρκίνος του μαστού όπου μια πληθώρα συγγενών και επίκτητων μηχανισμών μπορεί να ευνοεί την ανθεκτικότητα στα φάρμακα. Η διαφορετική έκφραση του μη-κωδικοποιημένου RNA (non-coding RNA) ανάμεσα σε ανθεκτικά στην ταμοξιφαίνη και σε ανθεκτικά σε αναστολείς αρωματάσης καρκινικά κύτταρα μαστού, υποδηλώνει ότι το microRNA θα μπορούσε να αποτελέσει δυνητικά θεραπευτικό στόχο σε ανθεκτικούς στην ορμονοθεραπεία όγκους [91].

Η έρευνα για τον εντοπισμό και τον αποκλεισμό αυτών των εναλλακτικών οδών αποτελεί μέρος μιας συντονισμένης προσπάθειας από ερευνητές και κλινικούς για να

ξεπεράσουν ανθεκτικότητα στη φαρμακευτική θεραπεία όλων των καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου του μαστού [92, 93].

2.2.7 Συμπεράσματα

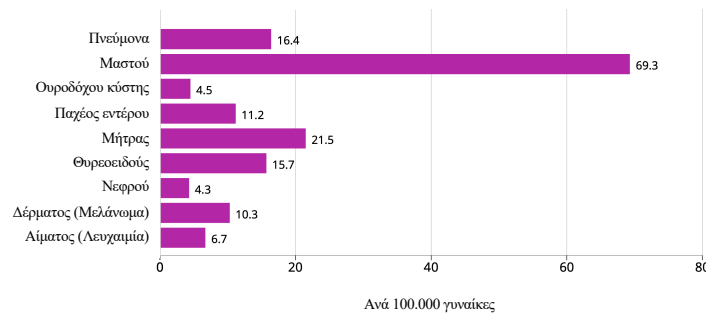
Παρόλο που έχει ήδη περιγραφεί από το 3500 π.Χ., ο καρκίνος του μαστού παραμένει ένα σοβαρό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία. Είναι ετερογενής τόσο σε επιδημιολογικό όσο και σε μοριακό επίπεδο. Κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες έχουν εντοπίσει πολλούς σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού, όπως η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό, η πρόωμη εμμηνόρροια και το ατομικό ιστορικό, παράγοντες που είναι άυλοι ή ανεξέλεγκτοι. Ωστόσο, υπολογίζεται πως περίπου το 70% των καρκίνων του μαστού σήμερα προκύπτουν λόγω των παραγόντων κινδύνου που μπορούμε να αλλάξουμε ή να αποφύγουμε. Αυτοί περιλαμβάνουν την παχυσαρκία, την έλλειψη άσκησης, το κάπνισμα, το ποτό και τη διατροφή και άλλους παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά το ορμονικό περιβάλλον της γυναίκας, όπως η ορμονοθεραπεία και το αναπαραγωγικό ιστορικό. Αυτά τα βήματα στην καταπολέμηση του καρκίνου του μαστού δεν πρέπει να αγνοούνται. Όπως επισημάνθηκε παραπάνω, η αισθητή αύξηση της γνώσης γύρω από τη βιολογία του καρκίνου έχει οδηγήσει σε αξιοσημείωτη πρόοδο στην έγκαιρη διάγνωση, θεραπεία και πρόληψη του καρκίνου τα τελευταία χρόνια. Η αυξανόμενη εξατομικευμένη προσέγγιση και η χρήση στοχευμένων θεραπειών και ανοσοθεραπειών, μαζί με τις ήδη υπάρχουσες θεραπευτικές μεθόδους, αποτελούν υπόσχεση για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού στο μέλλον.

Ο Ιπποκράτης υποστήριξε τη σημασία της εξατομικευμένης θεραπείας πριν από 2500 χρόνια όταν δήλωνε ότι «Είναι πιο σημαντικό να γνωρίζουμε τι είδους άτομο έχει μια νόσο από το να γνωρίζουμε τι είδους ασθένεια έχει ένα άτομο».

2.3 Επιδημιολογικά δεδομένα

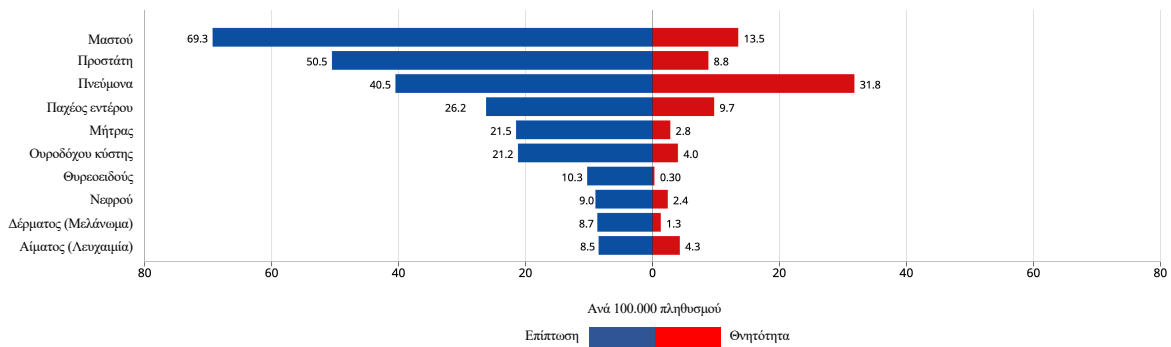
Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον πλέον συχνά διαγνωσμένο καρκίνο στις γυναίκες (Διάγραμμα 2) και κυμαίνεται σε ποσοστό περίπου 26% όλων των περιστατικών καρκίνου στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ) [94]. Αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου από κακοήθεια μετά τον καρκίνο του πνεύμονα στις ανεπτυγμένες χώρες και την πρώτη στις αναπτυσσόμενες, στο γυναικείο πληθυσμό (Διάγραμμα 3) [95, 96]. Είναι η βασική αιτία θανάτου στις Αμερικανίδες ηλικίας 40 με 55 ετών [97].

Διάγραμμα 2: Επίπτωση του καρκίνου του μαστού σε σχέση με τους άλλους καρκίνους, παγκοσμίως στο γυναικείο πληθυσμό, για το έτος 2018.



Πηγή: The Global Cancer Observatory (gco.iarc.fr).

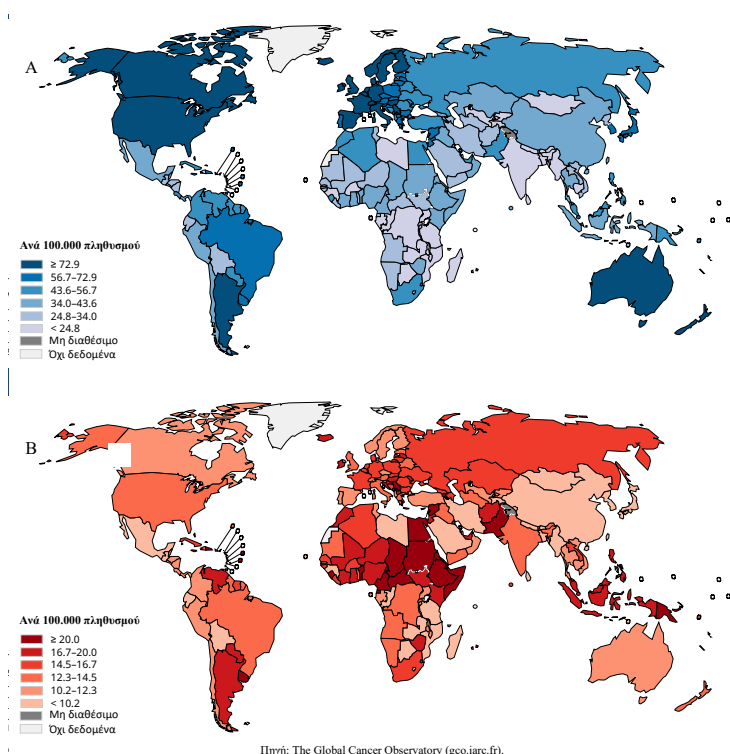
Διάγραμμα 3: Επίπτωση και θνητότητα του καρκίνου του μαστού, παγκοσμίως και στα δύο φύλα, για το έτος 2018.



Πηγή: The Global Cancer Observatory (gco.iarc.fr).

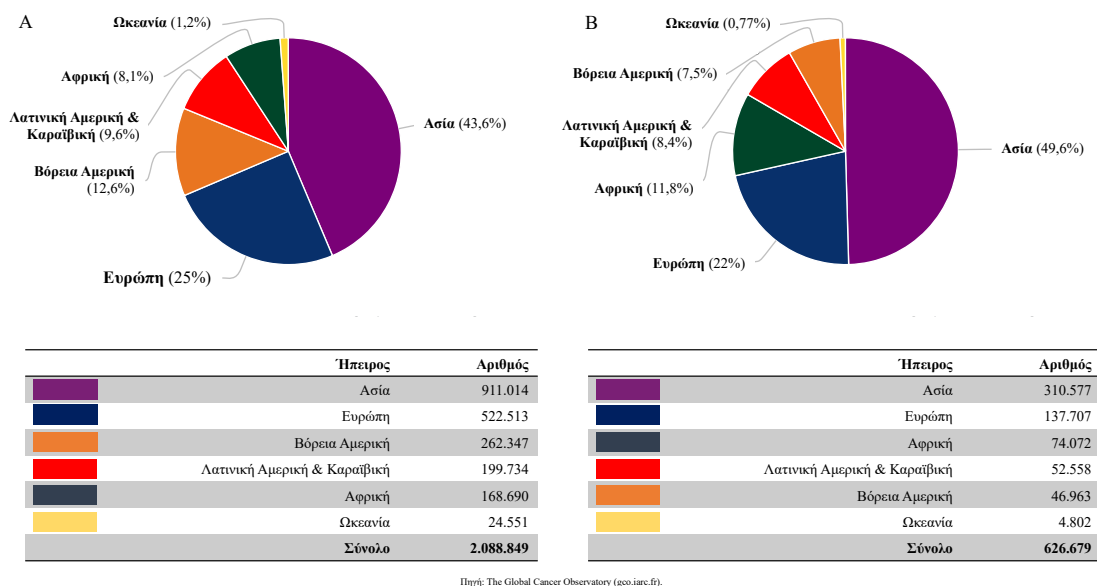
Τόσο η επίπτωση όσο και η θνητότητα του καρκίνου του μαστού, επηρεάζονται από φυλετικούς και γεωγραφικούς παράγοντες. Οι Ηνωμένες Πολιτείες, η Αυστραλία και η Βόρεια Ευρώπη εμφανίζουν την υψηλότερη επίπτωση, ακολουθούμενες από τη Νότια Ευρώπη, την Αφρική και τέλος από την Ασία (Εικόνα 11).

Εικόνα 11: Γεωγραφική κατανομή του καρκίνου του μαστού. **A:** Επίπτωση, **B:** Θνητότητα.

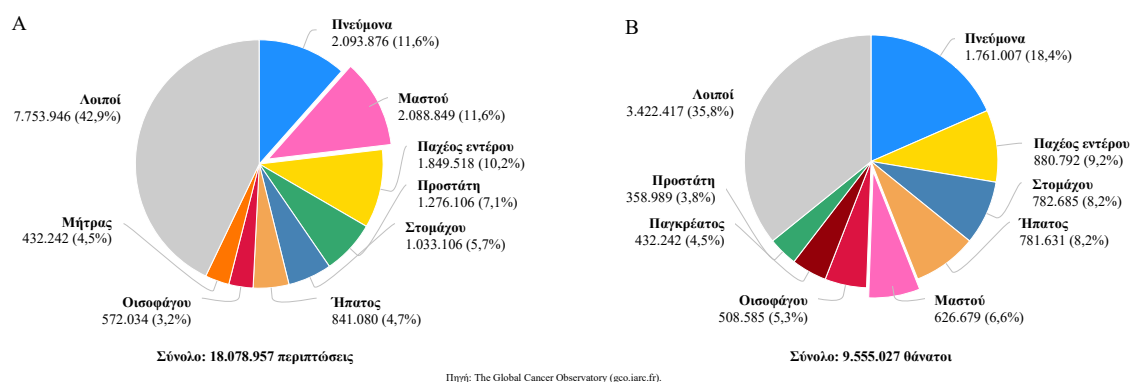


Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.), το 2018 παρουσιάστηκαν 2.088.849 νέες περιπτώσεις και 626.679 θάνατοι από καρκίνο μαστού (Διαγράμματα 4, 5) [96, 98].

Διάγραμμα 4: Δημογραφικά στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.) για τον καρκίνο του μαστού βάσει γεωγραφικής κατανομής, το 2018. **A:** Νέα περιστατικά, **B:** Θάνατοι.

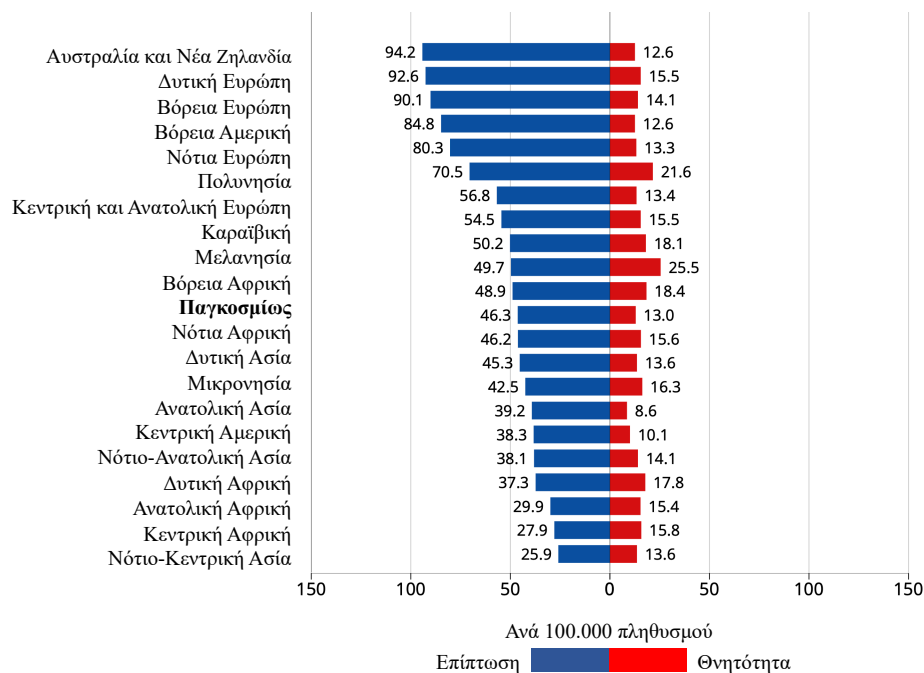


Διάγραμμα 5: Δημογραφικά στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.) για τον καρκίνο του μαστού σε σχέση με τους άλλους καρκίνους, το 2018. **A:** Νέα περιστατικά, **B:** Θάνατοι.



Η επίπτωση της νόσου ποικίλει από 94,2 νέα περιστατικά ανά 100.000 άτομα στην Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία έως 25,9 στην Κεντρική και Νότια Ασία. Όσον αφορά τη θνητότητα, παρατηρείται αυξημένη στη μαύρη φυλή [96, 99]. Το Διάγραμμα 6 δείχνει τη γεωγραφική κατανομή της επίπτωσης και τη θνητότητας του καρκίνου του μαστού, το έτος 2018, σύμφωνα με τον Π.Ο.Υ. [96].

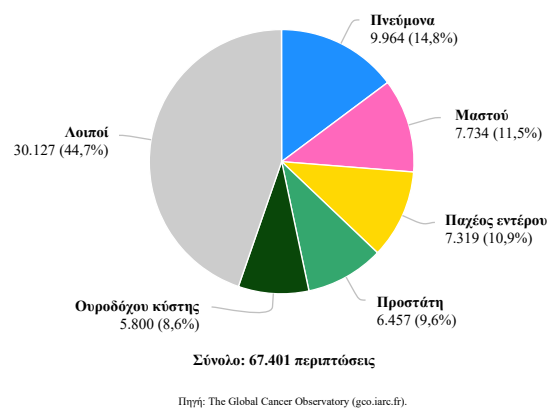
Διάγραμμα 6: Γεωγραφική κατανομή της επίπτωσης και θνητότητας του καρκίνου του μαστού το έτος 2018, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.).



Πηγή: The Global Cancer Observatory (geo.iarc.fr).

Στην Ελλάδα, ο καρκίνος του μαστού κατέχει τα πρωτεία ως προς την επίπτωσή του σε σχέση με τις άλλες κακοήθειες. Μόνο το 2018, εμφανίστηκαν 7.734 νέα περιστατικά και μάλιστα όλα σε γυναίκες (Διάγραμμα 7). Επιπλέον, στις Ελληνίδες ο καρκίνος του μαστού αποτελεί το 3^ο αίτιο θανάτου οφειλόμενο σε κακοήθεια, με θνησιμότητα 2.207 θανάτων το 2018, ακολουθώντας τις κακοήθειες του πνεύμονα και του παχέος εντέρου (8.343 και 2.983 θάνατοι αντίστοιχα). Παρόλα αυτά, η θνησιμότητα παραμένει χαμηλή συγκριτικά με τις υπόλοιπες Ευρωπαϊκές χώρες ή τις χώρες της Β. Αμερικής, αλλά αισθητά υψηλότερη από τη θνησιμότητα των χωρών της Ασίας και της λατινικής Αμερικής [96].

Διάγραμμα 7: Επίπτωση του καρκίνου του μαστού σε σχέση με τους άλλους καρκίνους στην Ελλάδα, και στα δύο φύλα, το έτος 2018.

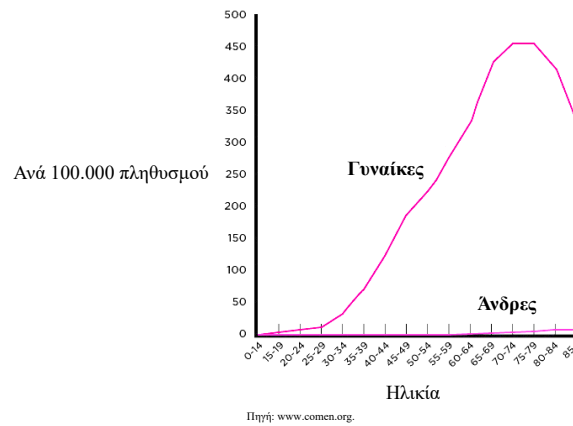


Και η επίπτωση και η θνητότητα του καρκίνου του μαστού αυξάνουν με την ηλικία. Παρουσιάζουν μια αρχική αύξηση μετά την ηλικία των 40 ετών, η οποία γίνεται εντονότερη μετά τα 50 έτη και κορυφώνεται στις ηλικίες 60-80 ετών για να παρουσιάσει μετέπειτα φθίνουσα πορεία. Τα ακριβή δεδομένα παρουσιάζονται στον Πίνακα και την εικόνα που ακολουθούν (Πίνακας 2, Διάγραμμα 8) [100].

Πίνακας 2: Επίπτωση και θνητότητα του καρκίνου του μαστού ανά ηλικιακή ομάδα, στο γυναικείο πληθυσμό.

Ηλικία	Επίπτωση		Θνητότητα	
	Ποσοστό (%)	1 στις	Ποσοστό (%)	1 στις
20	0,1%	1 στις 1479	<0,1%	1 στις 18.503
30	0,5%	1 στις 209	<0,1%	1 στις 2.016
40	1,5%	1 στις 65	0,2%	1 στις 645
50	2,4%	1 στις 42	0,3%	1 στις 310
60	3,5%	1 στις 28	0,5%	1 στις 193
70	4,1%	1 στις 25	0,8%	1 στις 132
80	3,0%	1 στις 33	1,0%	1 στις 101
Κίνδυνος	12,8%	1 στις 8	2,6%	1 στις 39

Διάγραμμα 8: Επίπτωση του καρκίνου του μαστού ανά ηλικιακή ομάδα, σε γυναίκες και άντρες.



Το 95% των νέων περιστατικών εμφανίζεται μετά την ηλικία των 40 και παρατηρείται αύξηση της εμφάνισης της νόσου σε γυναίκες πριν τα 50 έτη, πιθανώς λόγω καλύτερων διαγνωστικών μέσων [99]. Επιπλέον, ο καρκίνος του μαστού εμφανίζεται συχνότερα σε γυναίκες 55 έως 64 ετών, με τη μέση ηλικία εμφάνισης να είναι τα 62 έτη. Παράλληλα, οι γυναίκες που πεθαίνουν από καρκίνο μαστού, ανήκουν σε μεγαλύτερο ποσοστό στην ηλικιακή ομάδα 65-74 ετών, με τη μέση ηλικία θανάτου να είναι τα 68 έτη [101]. Τέλος, από τα ανωτέρω δεδομένα καθίσταται σαφές πως μια γυναίκα διατρέχει κίνδυνο 12% να εμφανίσει καρκίνο του μαστού, με άλλα λόγια δηλαδή 1 γυναίκα στις 8 κάποια στιγμή στη ζωή της, θα εμφανίσει καρκίνο του μαστού, ενώ 1 στις 39 θα πεθάνει από αυτόν [100].

2.4 Παράγοντες κινδύνου

Ποικίλες μελέτες έχουν αναγνωρίσει πληθώρα παραγόντων κινδύνου οι οποίοι σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού και μάλιστα πολλοί από αυτούς, είναι κλινικά χρήσιμοι για διαστρωμάτωση του κινδύνου των ασθενών. Όπως προαναφέρθηκε, η μεγάλη ηλικία και το γυναικείο φύλο είναι τεκμηριωμένοι παράγοντες κινδύνου. Η

υψηλότερη επίπτωση της νόσου παρουσιάζεται στην ηλικία των 50 και μετά των 70 ετών, ενώ είναι πολύ χαμηλή πριν τα 40 [102]. Το οικογενειακό ιστορικό αποτελεί ίσως τον πλέον αναγνωρισμένο παράγοντα κινδύνου. Η ύπαρξη ενός πρώτου βαθμού συγγενούς (δηλαδή μητέρα, αδερφή, κόρη), διπλασιάζει τον κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου μαστού, ενώ η ύπαρξη δυο συγγενών πρώτου βαθμού με τη συγκεκριμένη νόσο τριπλασιάζει τον κίνδυνο εμφάνισής της. Αυξάνεται επί υπάρξεως δύο ή παραπάνω συγγενών με κακοήθεια μαστού ή ωοθηκών, μεταλλάξεων σε BRCA1 και BRCA2, σύγχρονης κακοήθειας μαστού και ωοθηκών ή δύο διαφορετικών καρκίνων μαστού, πασχόντων αρρένων, συνδρόμου αταξίας-τηλαγγειεκτασίας και σε Εβραίους. Η επίπτωση όπως έχει τονιστεί είναι μικρότερη σε Ασιάτισσες και Ισπανόφωνες γυναίκες, σε σχέση με την καυκάσια φυλή. Καταστάσεις υπερπλαστικές όπως η σκληρυντική αδένωση, οι ακτινωτές ουλές και η θηλωμάτωση, δύνανται να αυξήσουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, 4 έως 5 φορές. Επιπροσθέτως, η πρόωμη εμμηναρχή, η καθυστερημένη εμμηνόπαυση και η καθυστερημένη πρώτη κύηση, συνιστούν καταστάσεις αυξημένων επιπέδων οιστραδιόλης στο αίμα και έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο του μαστού [103, 104]. Η λήψη αντισυλληπτικών και ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης, καταδεικνύει μια αύξηση της τάξεως του 25% στην εμφάνιση της νόσου [105, 106]. Το ιστορικό προηγούμενου καρκίνου μαστού αυξάνει 4 με 5 φορές τον κίνδυνο εμφάνισης και στον άλλον μαστό [107]. Τέλος, η παχυσαρκία, η κατανάλωση τροφών υψηλών σε λιπαρά και φτωχών σε φυτικές ίνες, η κατανάλωση αλκοόλ και προϊόντων καπνού, η έκθεση σε εντομοκτόνα και συναφή χημικά και η λήψη θεραπευτικής ακτινοβολίας στο θώρακα - ιδιαίτερα κατά την εφηβεία, φαίνεται πως επιδρούν θετικά στην εμφάνιση της νόσου [108-111].

Πίνακας 3: Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού.

Κληρονομικοί	BRCA 1, BRCA 2 μεταλλάξεις
	Αταξία - Τηλαγγειεκτασία
	Οικογενειακό ιστορικό
	Φυλή
	Φύλο (Θήλυ)
Μη κληρονομικοί	Παχυσαρκία - Διατροφή - Κάπνισμα - Περιβαλλοντικοί παράγοντες
	Ιστορικό προηγούμενου καρκίνου μαστού - Προηγηθείσες υπερπλαστικές καταστάσεις
	Ηλικία >50 ετών
	Ακτινοβολία θώρακος προ ενηλικίωσης
	Πρώιμη εμμηναρχή - Καθυστερημένη εμμηνόπαυση - Καθυστερημένη πρώτη κύηση
	Αντισυλληπτικά και θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης

2.5 Μοριακό υπόβαθρο

Διάφορες θεωρίες έχουν προταθεί για την παθογένεση του καρκίνου του μαστού. Παρακάτω αναλύονται οι κυριότεροι μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην καρκινογένεση του μαστού.

2.5.1 Μονοπάτι επαγόμενο από οιστρογονικούς υποδοχείς

Οι οιστρογονικοί υποδοχείς (ER) διακρίνονται σε μεμβρανικούς και πυρηνικούς (ERa και ERb αντίστοιχα). Τα καρκινικά κύτταρα εκφράζουν κυρίως τους ERa και σε λιγότερο βαθμό τους ERb. Αυτοί οι πυρηνικοί υποδοχείς σχηματίζουν κατά την πρόσδεσή τους ομο- ή ετερο-διμερή, που μετακινούνται στον πυρήνα και ρυθμίζουν τη

μεταγραφή δρώντας ως συρρυθμιστές σε συγκεκριμένα γονίδια [112, 113]. Άλλος μηχανισμός με τον οποίον προωθείται η καρκινογένεση από τον ERa είναι η αλληλεπίδραση με την Κυκλίνη D1. Αυτή ενεργοποιεί τις Κινάσες 4 και 6, οι οποίες προωθούν τη μετάβαση του καρκινικού κυττάρου από τη φάση G στη φάση S1 του κυτταρικού κύκλου [114-117].

2.5.2 Μονοπάτι εξαρτώμενο από HER2

Ο HER2 είναι ένας υποδοχέας τυροσινικών κινασών που αποτελείται από τρία τμήματα: έναν εξωτερικό προσδέτη, ένα διαμεμβρανικό και ένα ενδοκυττάριο τμήμα [118, 119]. Κατά την πρόσδεση ανάλογων με τον υποδοχέα αυξητικών παραγόντων, πραγματοποιείται φωσφορυλίωση των Κινασών, οδηγώντας στη σηματοδότηση του μοριακού μονοπατιού PI3/Akt-MAPK (Κινάσης της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης και πρωτεϊνικής ινάσης ενεργοποιούμενης από μιτογόνα), συμβάλλοντας στην προαγωγή της κυτταρικής ανάπτυξης και διαφοροποίησης [120, 121]. Επίσης, ασθενείς με καρκίνο μαστού και θετική έκφραση του *HER2*, φαίνεται να εμφανίζουν πιο συχνά μεταστάσεις [122, 123]. Από την άλλη, το μονοκλωνικό αντίσωμα τραστοζουμάμπη (Trastuzumab) στοχεύει εκλεκτικά τον υποδοχέα HER2/neu και σχετίζεται με καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία παρά το ότι ο συγκεκριμένος τύπος καρκίνου δεν σχετίζεται με την καλύτερη πρόγνωση [124].

2.5.3 Μονοπάτι Wnt/b-κατενίνης

Οι Wnt είναι γλυκοζυλιωμένες εκκρινόμενες πρωτεΐνες που συμβάλλουν στην ομοιόσταση. Το παραπάνω μονοπάτι εκκινείται με την πρόσδεση των Wnt πρωτεϊνών στους υποδοχείς Frizzled και τον λιποπρωτεϊνικό υποδοχέα που σχετίζεται με τις πρωτεΐνες 5 και 6 (LRP5/6) [125-128]. Έτσι, επηρεάζεται η συμπεριφοροποίηση της

β-Κατενίνης και η συσσωρεύσή της επιτρέπει τη μετακίνηση στον πυρήνα και την έναρξη της μεταγραφής συγκεκριμένων γονιδίων όπως τα Myc και CCND1, που προάγουν την καρκινογένεση [125, 129].

2.5.4 Μεταλλάξεις γονιδίων BRCA1 και BRCA2

Οι BRCA πρωτεΐνες μοιράζονται ένα κοινό μηχανισμό επιδιόρθωσης του γενετικού υλικού, καταστέλλοντας την ογκογένεση [130, 131]. Οι βλάβες στα συγκεκριμένα γονίδια μπορεί να είναι είτε επίκτητες είτε κληρονομούμενες [132]. Ανευρίσκονται στη θέση 13q12.3 και σχετίζονται επίσης με τον καρκίνο των ωοθηκών [133].

2.5.5 Υπερέκφραση της COX-2

Η κυκλοοξυγενάση (COX) αποτελεί ένα ένζυμο που μετατρέπει το Αραχιδονικό οξύ σε Προσταγλανδίνες και Θρομβοξάνες. Τα COX-1 και COX-2 είναι τα δύο ισοένζυμα της COX, με το πρώτο να βρίσκεται σε περίσσεια στους περισσότερους ιστούς. Η αναστολή της COX δύναται να προκαλέσει βλάβες στο στόμαχο ή στους νεφρούς. Κυτταροκίνες και ενδοκυττάρια σήματα κατά τη διαδικασία της φλεγμονής, επάγουν την παραγωγή COX-2. Επίσης, η παραγωγή της επάγεται και από ορμόνες της κνήσεως, αυξητικούς παράγοντες, ογκογονίδια και υποκινητές τους. Η υπερέκφραση της COX-2 συσχετίζεται με καρκινογένεση σε διάφορους τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του μαστού [134].

2.5.6 Κινάσες εξαρτώμενες από κυκλίνες

Η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου εξαρτάται από κυκλίνες, ινάσες εξαρτώμενες από κυκλίνες και αναστολείς αυτών [135]. Η κυκλίνες D1 και E, με παράλληλη μείωση

των επιπέδων των αναστολέων τους, έχουν συσχετισθεί με τον καρκίνο του μαστού [136]. Υπερέκφραση της κυκλίνης D1 ανευρίσκεται στο καρκίνο του μαστού σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των μαστικών κακοηθειών [137].

2.5.7 Brk/PTK6 τυροσυνική κινάση

Η κινάση του καρκίνου του μαστού (Breast Tumor Kinase, Brk/PTK6) εκφράζεται σε ποσοστό μεγαλύτερο από 60% των περιπτώσεων καρκίνου μαστού αλλά όχι στα φυσιολογικά κύτταρα [138]. Προάγει την κυτταρική ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση μέσω της MAPK δραστηριότητας [139].

2.5.8 Μονοπάτι PI3K/AKT/mTOR

Η ενεργοποίηση του PI3K/AKT/mTOR μπορεί να οδηγήσει σε αποδιαφοροποίηση των αρχέγονων μαστικών κυττάρων και να αυξήσει την αντίσταση στην ορμονική θεραπεία [140, 141]. Παράλληλα, καταστέλλεται η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη PTEN και ενεργοποιούνται μεταλλάξεις της AKT-1, ιδίως σε καρκίνους μαστού με θετικούς οιστρογονικούς ή προγεστερονικούς υποδοχείς [142, 143].

2.5.9 Notch1 και Hedgehog

Το Notch1 είναι ένα πρωτο-ογκογονίδιο που εντοπίζεται στη θέση 9q34.3 και είναι υπεύθυνο για την κυτταρική αύξηση, διαφοροποίηση και απόπτωση. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό κατά την εμβρυογένεση, αφού ελέγχει την κυτταρική διαφοροποίηση και την επιβίωση των αρχέγονων επιθηλιακών κυττάρων, ενώ στους ενήλικες συμβάλλει στη διατήρηση της ομοιόστασης. Συνεργάζεται με άλλες σηματοδοτικές οδούς, όπως το Hedgehog, ελέγχοντας την οργανογένεση, την αύξηση και τη διαφοροποίηση των αρχέγονων κυττάρων. Μελέτες κατέδειξαν πως η συνεχής ενεργοποίηση ενός ή και

περισσότερων από τα μοριακά μονοπάτια οδηγεί σε σχηματισμό αρχέγονων καρκινικών κυττάρων. Η αυξημένη ενεργοποίηση των Notch1 και Hedgehog έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται στην παθογένεση του καρκίνου του μαστού [144, 145]. Μάλιστα, το μονοπάτι του Notch φάνηκε να ρυθμίζει την αγγειακή ανάπτυξη του όγκου του μαστού [146]. Τέλος, το Notch φαίνεται να εμπλέκεται σε μηχανισμούς που σχετίζονται με τη μετάσταση του καρκίνου του μαστού [147].

2.5.10 Σπάνιες γονιδιακές μεταλλάξεις

Οι μεταλλάξεις των γονιδίων BRCA1/2 αδυνατούν να εξηγήσουν όλες τις οικογενείς περιπτώσεις καρκίνου του μαστού. Για την ακρίβεια, πολλοί καρκίνοι του μαστού συνδέονται με σπάνια γενετικά σύνδρομα, και αντιπροσωπεύουν λιγότερο από 1% των κληρονομικών μορφών. Πρόκειται για σπάνιες γονιδιακές μεταλλάξεις που περιλαμβάνουν τα ακόλουθα: 1/ ATM και σύνδρομο αταξίας-τηλαγγειεκτασίας, 2/ TP53 και σύνδρομο Li-Fraumeni, 3/ PTEN και σύνδρομο Cowden, 4/ STK11, LKB1 και σύνδρομο Peutz-Jeghers 5/ PALB2 (Partner And Localizer of BRCA2), 6/ CHEK2 και 7/ CDH1 [148].

2.6 Κλινική σημειολογία και διάγνωση

Τα περισσότερα πρώιμα καρκινώματα του μαστού είναι ασυμπτωματικά, για αυτό άλλωστε και ανευρίσκονται κατά τον προσυμπτωματικό έλεγχο. Ο πόνος δεν αποτελεί τυπικό σύμπτωμα και μάλιστα μόνο 5% των κακοήθων μαζών εμφανίζονται με πόνο. Σημαντικό εργαλείο είναι το ιατρικό ιστορικό, σκοπός του οποίου είναι κυρίως η αναγνώριση παραγόντων κινδύνου παρά η αναζήτηση συμπτωμάτων. Οι γυναίκες με θετικό οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού, ωοθηκών ή περιτοναίου πρέπει να ελεγχθούν για BRCA γονιδιακές βλάβες. Επιπροσθέτως, γυναίκες με θετικό

προσυμπτωματικό έλεγχο οφείλουν να ελεγχθούν για γονιδιακές βλάβες εφόσον το κρίνει ο θεράπων, ενώ γυναίκες χαμηλού κινδύνου δεν πρέπει να υποβάλλονται σε γονιδιακό έλεγχο [149, 150].

Η προσέγγιση για τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού περιέχει τέσσερα αρχικά στάδια, τα οποία είναι: 1/ Το ιατρικό ιστορικό, 2/ Η κλινική εξέταση, 3/ Ο απεικονιστικός έλεγχος και 4/ Η βιοψία. Στόχος της παραπάνω προσέγγισης είναι η αξιολόγηση της βλάβης και της ανάγκης για χειρουργική εκτομή, επιτυγχάνοντας τη μεγαλύτερη διατήρηση μαστού με τη μικρότερη πιθανότητα υποτροπής της νόσου και επανεπέμβασης.

2.6.1 Ιατρικό ιστορικό

Πριν από την κλινική εξέταση θα πρέπει πάντα να προηγείται ένα λεπτομερές ιατρικό ιστορικό, έτσι ώστε κατά την κλινική εξέταση ο κλινικός ιατρός να έχει ήδη κατά νου τις πιθανές διαγνώσεις. Στην περίπτωση των νοσημάτων του μαστού, το ιστορικό εκτός από πλήρες, πρέπει ταυτόχρονα να είναι και εστιασμένο. Πέρα από το αρχικό σύμπτωμα της ασθενούς και τον τρόπο και χρόνο έναρξης, τη διάρκειά του και τους χαρακτήρες του, ο κλινικός ιατρός οφείλει να εκμαιεύσει πληροφορίες όχι μόνο για το ατομικό αλλά και για το οικογενειακό ιστορικό. Από το ατομικό αναμνηστικό, ο ιατρός οφείλει να γνωρίζει λεπτομέρειες για την έναρξη της περιόδου και την εμμηνόπαυση, το μαιευτικό ιστορικό, την πιθανή λήψη ορμονών ή άλλων φαρμάκων, τη διενέργεια εξετάσεων, επεμβατικών πράξεων ή χειρουργικών επεμβάσεων. Όσον αφορά το οικογενειακό ιστορικό, ο ασθενής θα πρέπει να ενημερώσει τον ιατρό για την πιθανή ύπαρξη συγγενών με κακοήθεια. Όλα τα ανωτέρω αφορούν και τις γυναίκες που προσέρχονται για απλή προληπτική εξέταση [151]. Στον πίνακα που ακολουθεί

(Πίνακας 4) παρατίθενται παράγοντες που θα πρέπει να αναζητούνται μέσω του ιατρικού ιστορικού και που θέτουν την υπόνοια καρκίνου του μαστού.

Πίνακας 4: Παράγοντες από το ιατρικό ιστορικό που θέτουν την υπόνοια καρκίνου του μαστού.

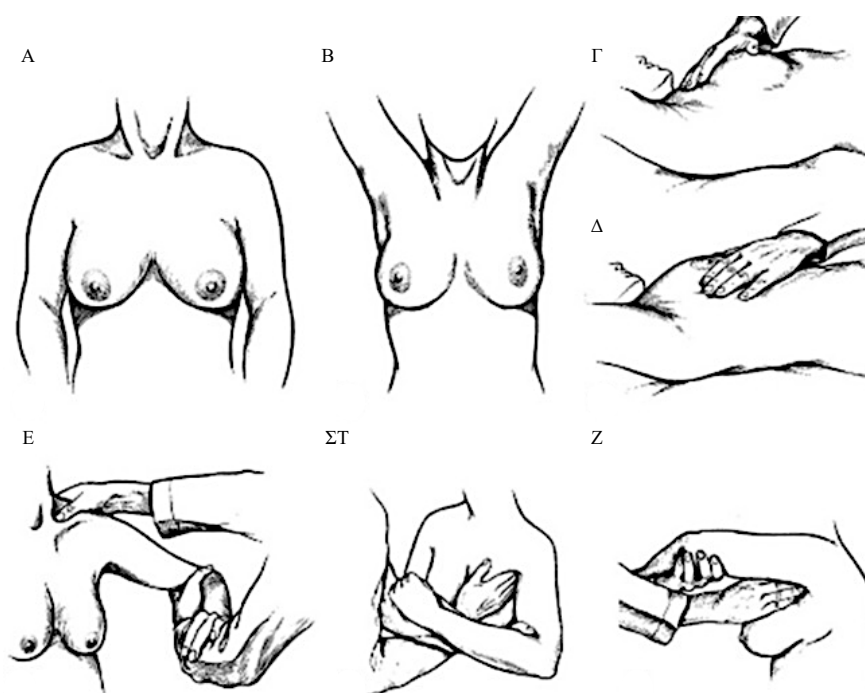
Ιατρικό ιστορικό	Αλλοίωση
	Μεταβολές στο σχήμα ή το μέγεθος του μαστού
	Μεταβολές στη θηλή (Εκκριμα - Εισολκή - Αλλαγή χροιάς)
	Μεταβολές στο δέρμα (Πάχυνση - Ερυθρότητα)
	Ψηλαφητή μάζα
	Διόγκωση μασχάλης

2.6.2 Κλινική εξέταση

Η σωστή κλινική εξέταση πραγματοποιείται αρχικά με την επισκόπηση και την ασθενή σε καθιστή θέση με τα χέρια στη μέση της (Εικόνα 12Α). Με τον τρόπο αυτό ελέγχεται το περίγραμμα και το μέγεθος των μαστών, το χρώμα, η ύπαρξη ή όχι έλκους και η υφή του δέρματος, οι θηλές και η ύπαρξη ή όχι εισολκής και η συμμετρία των μαστών. Στη συνέχεια η ασθενής σηκώνει τα χέρια προς τα πάνω και ο εξετάζων παρατηρεί αν υπάρχει συμμετρία κατά την παθητική κίνηση των μαστών (Εικόνα 12Β). Η ασυμμετρία κατά την κίνηση θα έθετε την υπόνοια όγκου που διηθεί το θωρακικό τοίχωμα. Εν κατακλείδι, στη φάση αυτή ο εξετάζων ελέγχει και αναζητά τα ίδια σημεία με τη φάση ηρεμίας των μαστών. Εν συνεχεία η ασθενής ξαπλώνει ανάσκελα με τα χέρια πάνω από το κεφάλι. Ο κλινικός ιατρός πιέζει με τις άκρες των δακτύλων του το μαστό και με ήπιες κυκλικές και περιστροφικές κινήσεις των ακροδακτύλων του, προσπαθεί να αντιληφθεί τη δομή των μαστών και πιθανή ύπαρξη ψηλαφητών μαζών

(Εικόνα 12Γ, Δ). Στη συνέχεια ακολουθεί η εξέταση των θηλών. Για την ακρίβεια ελέγχεται η συμμετρία τους, η πιθανή εισολκή τους και το δέρμα τους. Επιπλέον, ελέγχονται για πιθανό έκκριμα του οποίου τα χαρακτηριστικά θα πρέπει να διερευνώνται. Η κλινική εξέταση του μαστού θα πρέπει πάντα να συμπληρώνεται με τον έλεγχο της μασχάλης και του τραχήλου (Εικόνα 12Ε-Ζ). Η ύπαρξη ψηλαφητών λεμφαδένων στις περιοχές αυτές δεν υποδηλώνει κατ' ανάγκη κακοήθεια, ωστόσο θα πρέπει να συνεκτιμάται σε σχέση με το ιστορικό και τα απεικονιστικά ευρήματα. Τέλος, δε θα πρέπει να παραλείπεται η ακρόαση του θώρακα, η εξέταση της κοιλίας καθώς και νευρολογικός έλεγχος. Όσον αφορά το χρόνο που θα πρέπει να γίνεται η κλινική εξέταση, για τις νέες γυναίκες -καθότι ο μαστός υπόκειται σε ποικίλες μεταβολές κατά τη διάρκεια τις περιόδου- προτείνεται διάστημα μιας εβδομάδος μετά την έμμηνο ρύση. Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν υπάρχει κανένας χρονικός περιορισμός [151].

Εικόνα 12: Κλινική εξέταση μαστού.



Πηγή: Principles of basic surgical practice. Eds: James EC, Corry RJ, Perry JF. Hanley & Belfus, 1987.

A: Αρχικά η ασθενής βρίσκεται σε καθιστή θέση με τα χέρια στη μέση της. **B:** Στη συνέχεια η ασθενής σηκώνει τα χέρια προς τα πάνω. **Γ, Δ:** Ο εξετάζων πιέζει με τις άκρες των δακτύλων του το μαστό, με ήπιες κυκλικές και περιστροφικές κινήσεις των ακροδακτύλων του. **E-Z:** Έλεγχος του τραχήλου και της μασχάλης.

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 5) περιγράφονται ύποπτα για καρκίνο μαστού, σημεία και συμπτώματα που αναδεικνύονται με την κλινική εξέταση.

Πίνακας 5: Ύποπτα για καρκίνο του μαστού, σημεία και συμπτώματα που αναδεικνύει η κλινική εξέταση.

Ύποπτα ευρήματα	Έλκος - Όψη φλοιού πορτοκαλιού / Πάχυνση δέρματος
	Ψηλαφητή μάζα - Διόγκωση μασχάλης
	Εισολκή θηλής - Νόσος Paget
	Διάταση φλεβών
Ψηλαφητή μάζα	Ανώμαλα όρια - Σκληρία - Έλκος
	Καθίλωση σε δέρμα ή μυ
	Ασσυμετρία σε σχέση με τον άλλο μαστό
	Συνοδός λεμφαδενοπάθεια
Μεταστατική βλάβη	Ίκτερος
	Οστικό άλγος
	Εστιακά νευρολογικά συμπτώματα
	Κεφαλαλγία - Δύσπνοια
	Κοιλιακό άλγος - Μετεωρισμός κοιλίας
	Σημεία παρανεοπλασματικών εκδηλώσεων

2.6.3 Διαγνωστικές μέθοδοι - Παρακλινικός έλεγχος

2.6.3.1 Μαστογραφία

Μαστογραφία είναι η απεικόνιση του μαστού με τη χρήση ακτινών X, μέσω ειδικού μηχανήματος, του μαστογράφου. Πρόκειται για την πλέον διαδεδομένη εξέταση του μαστού, όσον αφορά τον εντοπισμό και τη διάγνωση βλαβών [152]. Η μεγάλη αποδοχή της μαστογραφίας ως εργαλείο τόσο προληπτικού όσο και διαγνωστικού ελέγχου, έγκειται στην αυξημένη αξιοπιστία και την ικανότητά της να αναδεικνύει τον καρκίνο του μαστού ακόμα και σε πρώιμο στάδιο, όταν δηλαδή πρόκειται για μη ψηλαφητή βλάβη, λίγων χιλιοστών. Πρακτικά, αποτελεί τη μοναδική μέθοδο εντοπισμού καρκινικών όγκων πριν ακόμα αυτοί δώσουν λεμφαδενικές μεταστάσεις, συμβάλλοντας έτσι στην πρόληψη της επέκτασης της νόσου και τον περιορισμό των ακρωτηριαστικών χειρουργικών επεμβάσεων [153-155].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, μια μαστογραφία μπορεί να διενεργηθεί είτε στα πλαίσια προληπτικού ελέγχου (προληπτική μαστογραφία) είτε ως διαγνωστικό εργαλείο (διαγνωστική μαστογραφία). Συνεπώς, η προληπτική μαστογραφία εξυπηρετεί στην έγκαιρη αναγνώριση αλλοιώσεων του μαστού, προτού να εκδηλωθούν κλινικά συμπτώματα ή να επεκταθεί η νόσος. Εκτός από νεοπλασίες, αναδεικνύει και άλλες αλλοιώσεις όπως μικροαποτιτανώσεις (εναποθέσεις ασβεστίου) ή λεμφαδενικές διογκώσεις [152]. Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 6) παρατίθενται οι κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Αντικαρκινικής Εταιρείας (American Cancer Society, ACS) για τη διενέργεια προληπτικής μαστογραφίας [156].

Πίνακας 6: Κατευθυντήριες οδηγίες για προληπτική μαστογραφία.

	Συστάσεις
--	------------------

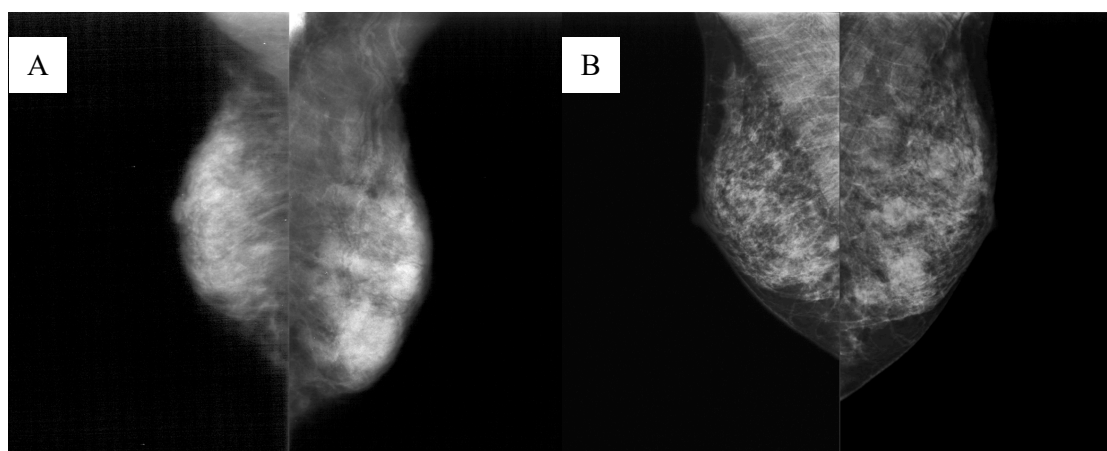
Προληπτική μαστογραφία	Γυναίκες 40-44 ετών: Ετήσιος έλεγχος, αν το επιθυμούν.
	Γυναίκες 45-54 ετών: Ετήσιος έλεγχος.
	Γυναίκες 55 ετών και μεγαλύτερες: Διετής έλεγχος.
	<ul style="list-style-type: none"> - Οι μαστογραφίες συνεχίζονται όσο η ασθενής βρίσκεται σε καλή γενική κατάσταση και έχει προσδόκιμο επιβίωσης άνω των 10 ετών. - Η κλινική εξέταση του μαστού δεν συνιστάται πλέον σε ασθενείς μη υψηλού κινδύνου, ανεξαρτήτως ηλικίας. - Ορισμένες γυναίκες, λόγω οικογενειακού ιστορικού, γενετικής προδιάθεσης ή άλλων παραγόντων, θα πρέπει να ελέγχονται και με MRI εκτός της μαστογραφίας.

Αντιθέτως, η διαγνωστική μαστογραφία εξυπηρετεί στην ανάδειξη των χαρακτήρων και τη διάγνωση ήδη γνωστών βλαβών - είτε από την κλινική εξέταση είτε από άλλη μέθοδο. Με άλλα λόγια, σε διαγνωστική μαστογραφία θα υποβληθούν οι ασθενείς με βλάβη στο μαστό που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Η διαγνωστική μαστογραφία ανιχνεύει το ακριβές μέγεθος της βλάβης, τη σχέση της με τους γύρω ιστούς και την πιθανή λεμφαδενική προσβολή. Ο μαστός μελετάται υπό ποικίλες γωνίες, γεγονός που εξηγεί τη μεγαλύτερη ακρίβεια της διαγνωστικής μαστογραφίας σε σχέση με την προληπτική [152].

Εδώ και δεκαετίες χρησιμοποιείται η αναλογική (απλή) μαστογραφία (Εικόνα 13Α) η οποία εσχάτως τείνει να αντικατασταθεί από την ψηφιακή (Εικόνα 13Β) η οποία παρέχει ψηφιακή απεικόνιση με δυνατότητα επεξεργασίας. Επιπλέον, πρόκειται

για πιο γρήγορη τεχνική με μικρότερη δόση ακτινοβολίας και καλύτερη διακριτική ικανότητα. Μπορεί δηλαδή να αναδείξει εξαιρετικά μικρές αλλοιώσεις (της τάξης των 0,1-0,2mm) και πολύ μικρές αποτιτανώσεις, ακόμα και σε ασθενείς με πυκνούς μαστούς, αποφεύγοντας έτσι όχι μόνο την παραπάνω ακτινοβολία και ταλαιπωρία αλλά κυρίως, τον κίνδυνο εσφαλμένης διάγνωσης [152].

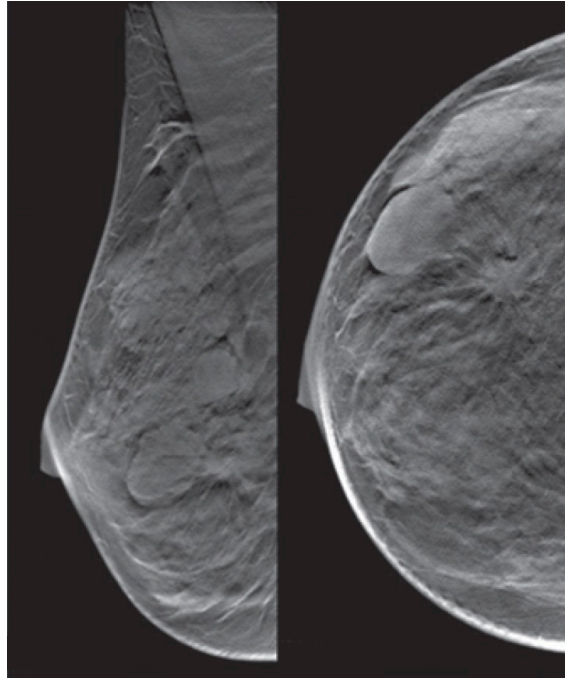
Εικόνα 13: Μαστογραφία. **A:** Αναλογική, **B:** Ψηφιακή.



Πηγή: Planche K, Vinnicombe S. Breast cancer imaging. Cancer Imaging. 2004;4:39-50.

Εξέλιξη της ψηφιακής μαστογραφίας αποτελεί η τρισδιάστατη μαστογραφία ή τομοσύνθεση (Εικόνα 14), κατά την οποία με χρήση των ακτίνων X λαμβάνονται εικόνες από λεπτές τομές, υπό διαφορετικές γωνίες, οι οποίες στη συνέχεια ανασυντίθενται με ένα τρόπο που ομοιάζει με την αξονική τομογραφία. Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται καλύτερη απεικόνιση της δομής του μαστού και ασφαλέστερη ανάδειξη των βλαβών σε σχέση με την ψηφιακή μαστογραφία. Η μέθοδος αυτή δεν αντικαθιστά τη μαστογραφία, αντίθετα τη συμπληρώνει, όταν υπάρχει ανάγκη για επιπλέον πληροφορίες [152].

Εικόνα 14: Τρισδιάστατη μαστογραφία.



Galati F, Marzocca F, Bassetti E, Luciani ML, Tan S, Catalano C, Pediconi F. Added value of digital breast tomosynthesis combined with digital mammography according to reader agreement: Changes in BI-RADS rate and follow-up management. *Breast Care (Basel)*. 2017;12:218-222.

Άλλη εκδοχή της ψηφιακής μαστογραφίας αποτελεί η μαστογραφία με σκιαγραφική ενίσχυση (Contrast-Enhanced Spectral Mammography, CESH), που επιτρέπει την ανάδειξη της αγγείωσης του όγκου [157].

Για την ακριβέστερη περιγραφή και σωστότερη διαχείριση των μαστογραφικών ευρημάτων, το Αμερικανικό Κολλέγιο των Ακτινολόγων (ACR) δημιούργησε ένα σύστημα ταξινόμησης τους, το σύστημα BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Database System). Το σύστημα αυτό αξιολογεί αφενός την πυκνότητα του μαστού κατατάσσοντάς τον σε τέσσερεις τύπους και αφετέρου τα μαστογραφικά ευρήματα κατηγοριοποιώντας τα βάσει μιας κλίμακας που βαθμολογείται από 0 έως 6. Οι κατατάξεις αυτές περιγράφονται αναλυτικά στους πίνακες που ακολουθούν (Πίνακες 7, 8) [158-160].

Πίνακας 7: Μαστογραφική κατάταξη του μαζικού αδένου με βάση την πυκνότητά του.

ACR	Χαρακτηριστικά
1	Λιπώδης μαστός. - Ελάχιστοι ινώδεις και αδενικοί ιστοί. - Η μαστογραφία έχει υψηλή διαγνωστική ακρίβεια.
2	Ινοαδενικός μαστός. - Υπάρχουν διάσπαρτες περιοχές ινώδους και αδενικού ιστού. - Η μαστογραφία έχει υψηλή διαγνωστική ακρίβεια.
3	Ετερογενώς πυκνός μαστός. - Η μαστογραφία έχει περιορισμένη διαγνωστική ακρίβεια.
4	Εξαιρετικά πυκνός μαστός. - Υπάρχουν πολλά ιώδη και αδενικά στοιχεία. - Η μαστογραφία έχει περιορισμένη διαγνωστική ακρίβεια.

Πίνακας 8: 5^η Έκδοση του συστήματος BI-RADS για την κατάταξη των μαστογραφικών ευρημάτων.

BI-RADS	Αλλοίωση
0	Ελλιπής αξιολόγηση της μαστογραφικής εικόνας. Συνήθως χρειάζονται συμπληρωματικές λήψεις (μεγέθυνση ή συμπίεση) ή συμπληρωματικές εξετάσεις (υπερηχογράφημα και/ή μαγνητική μαστογραφία).
1	Η μαστογραφία είναι αρνητική. Δεν υπάρχουν δηλαδή μάζες, ύποπτες αποτιτανώσεις ή διαταραχές της αρχιτεκτονικής.
2	Καλοήθη μαστογραφικά ευρήματα. Περιλαμβάνουν επασβεστώσεις, απλές κύστεις, αλλοιώσεις λιπώδους ιστού, επασβεστωμένα

	ινοαδενώματα, ενδομαστικούς λεμφαδένες και εμφυτεύματα από προηγηθείσες αισθητικές επεμβάσεις.
3	Πιθανώς καλοήθη μαστογραφικά ευρήματα. Χρήζουν παρακολούθησης και ο κίνδυνος κακοήθειας είναι μικρότερος από 2%. Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει αποκλειστικά μη ψηλαφητή μάζα, μια εστιακή ασυμμετρία ή μια ομάδα αποτιτανώσεων. Διαφορετικά ευρήματα δεν ανήκουν σε αυτή την ομάδα.
4	Υποπτα μαστογραφικά ευρήματα, με αυξημένη πιθανότητα κακοήθειας.
	a Μικρή πιθανότητα κακοήθειας (2-10%).
	b Μέτρια πιθανότητα κακοήθειας (10-50%).
	c Υψηλή πιθανότητα κακοήθειας (50-95%).
5	Μαστογραφικά ευρήματα που υποδηλώνουν κακοήθεια σε ποσοστό πάνω από 95%. Για ευρήματα αυτής της κατηγορίας ακόμα και αν η βιοψία τους είναι αρνητική για κακοήθεια, η σύσταση είναι η χειρουργική επέμβαση καθότι η βιοψία είναι ασύμβατη με τα απεικονιστικά ευρήματα.
6	Γνωστοί καρκίνοι, αποδεδειγμένοι με προηγηθείσα βιοψία.

2.6.3.2 Υπερηχογράφημα

Το υπερηχογράφημα μαστού βασίζεται στη χρήση υπερηχητικών κυμάτων. Αποτελεί μία συμπληρωματική εξέταση και σε καμία περίπτωση δεν υποκαθιστά τη μαστογραφία. Χρησιμοποιείται πρωτίστως για τη διαφορική διάγνωση κυστικών από συμπαγείς σχηματισμούς. Επίσης βοηθά στις κατευθυνόμενες βιοψίες και στον έλεγχο

των μασχαλιαίων βλαβών. Όμως, έχει μικρή ειδικότητα (34%) και δεν ανιχνεύει μικροαποτιτανώσεις. Ο πίνακας που ακολουθεί (Πίνακας 9) συνοψίζει τα χαρακτηριστικά του υπερηχογραφήματος μαστού [161].

Πίνακας 9: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα υπερηχογραφήματος μαστού.

Πλεονεκτήματα	Μη επεμβατική μέθοδος - Χαμηλό κόστος
	Χωρίς χρήση ακτινοβολίας - Κατάλληλη για γυναίκες σε κύηση / θηλασμό ή κάτω των 35 ετών.
	Αυξάνει τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού (συνεπικουρικά της μαστογραφίας) σε γυναίκες με πυκνούς μαστούς.
	Διαχωρισμός κύστεων/αδενωμάτων από όγκους.
	Προεγχειρητική σταδιοποίηση - Σχεδιασμός χειρουργείου.
	Καθοδήγηση βιοψίας - Τοποθέτηση οδηγού για βιοψία με σύρμα.
	Απεικόνιση ενθεμάτων μαστού.
Μειονεκτήματα	Δεν υποκαθιστά τη μαστογραφία.
	Αδυναμία ανάδειξης μικροαποτιτανώσεων.
	Ψευδώς θετικά ευρήματα - Άσκοπες βιοψίες.
	Υποκειμενικότητα ακτινολόγου.

Τα χαρακτηριστικά των υπερηχοτομογραφικών συμπαγών αλλοιώσεων κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες: Αυτά που υποδηλώνουν κακοήθη βλάβη, αυτά που υποδηλώνου καλοήθη βλάβη και στα ενδιάμεσα (Πίνακας 10) [162].

Πίνακας 10: Υπερηχοτομογραφική κατάταξη των συμπαγών αλλοιώσεων του μαστού.

Κατάταξη	Εύρημα
Κακοήθης	<p>Ακτινωτές προσεκβολές</p> <p>Γωνιώδη όρια</p> <p>Χαμηλή ηχογένεια</p> <p>Ακουστική σκιά</p> <p>Αποτιτανώσεις</p> <p>Επέκταση σε πόρο</p> <p>Διακλαδώσεις</p> <p>Μικρολοβιώσεις</p>
Καλοήθης	<p>Απουσία κακοήθων χαρακτηριστικών</p> <p>Έντονα υψηλή ηχογένεια</p> <p>Ελλειπτικό σχήμα</p> <p>2-3 ήπιες λοβιώσεις</p> <p>Λεπτή ηχογενής ψευδοκάψα</p>
Ενδιάμεση	<p>Μεγάλη διάμετρος</p> <p>Ίση ηχογένεια</p> <p>Ήπια χαμηλή ηχογένεια</p> <p>Απουσία οπίσθιων ακουστικών φαινομένων</p> <p>Ακουστική ενίσχυση</p> <p>Ετερογενής δομή</p> <p>Ομοιογενής δομή</p>

Τα ανωτέρω χαρακτηριστικά, κατατάσσονται περαιτέρω, με βάση το σύστημα BI-RADS (Πίνακας 11) [158].

Πίνακας 11: Κατάταξη των υπερηχοτομογραφικών ευρημάτων του μαστού, με βάση το σύστημα BI-RADS.

BI-RADS	Εύρημα	Πιθανότητα κακοήθειας	Σύσταση
0	Ελλιπής αξιολόγηση του ευρήματος.	-	Διερεύνηση με MRI.
1	Αρνητικό εύρημα.	0%	Φυσιολογικός επανέλεγχος.
2	Καλοήγη ευρήματα.	0%	Φυσιολογικός επανέλεγχος.
3	Πιθανώς καλοήγη ευρήματα.	<2%	Επανέλεγχος σε σύντομο χρονικό διάστημα.
4	Υποπτα για κακοήθεια ευρήματα.	3-94%	Βιοψία.
5	Πολύ υποπτα για κακοήθεια ευρήματα.	≥95%	Αντιμετώπιση κατά περίπτωση.
6	Ιστολογικά επιβεβαιωμένη κακοήθεια.	100%	Ενδεδειγμένη θεραπεία.

Νεότερες παραλλαγές του υπερηχοτομογραφικού ελέγχου αποτελούν η έγχρωμη απεικόνιση με Color Doppler που μέσω της ανάδειξης της αγγείωσης του όγκου βοηθάει στη διαφορική διάγνωση των καλοήθων όγκων από τους κακοήθεις και της

τοπικής υποτροπής από τις μετεγχειρητικές αλλοιώσεις [163, 164], η υπερηχοτομογραφική απεικόνιση με χρήση σκιαγραφικών μέσων που επιτρέπει την καλύτερη ανάδειξη του αριθμού και της μορφολογίας των αγγείων του όγκου [165] και η ελαστογραφία που μέσω της διαφορετικής μετατόπισης καλοήθων και κακοήθων αλλοιώσεων, συμβάλλει στη διαφορική διάγνωσή τους [166].

2.6.3.3 Μαγνητική μαστογραφία

Η μαγνητική μαστογραφία είναι μια ιδιαίτερα ευαίσθητη εξέταση για την ανάδειξη εστιακών αλλοιώσεων του μαστού και ως εκ τούτου έχει συμβάλει στην αύξηση του αριθμού των βιοψιών και την ανεύρεση διηθητικών πορογενών καρκινωμάτων, αφού υπερτερεί της απλής μαστογραφίας [167]. Με χρήση κατάλληλου σκιαγραφικού, η μαγνητική τομογραφία διαχωρίζει τα καλοήθη από τα κακοήθη χαρακτηριστικά μιας αλλοίωσης του μαστού (Πίνακας 12) [168].

Πίνακας 12: Καλοήθη και κακοήθη χαρακτηριστικά αλλοιώσεων του μαστού στη μαγνητική μαστογραφία.

Κατάταξη	Χαρακτήρες αλλοίωσης
Καλοήθης	Απουσία εστιακών αλλοιώσεων Ομαλά / λοβωτά όρια Καθόλου ή ελάχιστος εμπλουτισμός Μη εμπλουτιζόμενα διαφραγμάτια Χαμηλής έντασης σήμα στην T2 ακολουθία
Κακοήθης	Ανώμαλα / ακτινωτά όρια Περιφερικός εμπλουτισμός Εμπλουτισμός πόρου

Τα ανωτέρω ευρήματα, κατατάσσονται και αυτά με βάση το σύστημα BI-RADS, με τρόπο που περιγράφεται στον Πίνακα 13 [158].

Πίνακας 13: Κατάταξη των ευρημάτων της μαγνητικής μαστογραφίας, με βάση το σύστημα BI-RADS.

BI-RADS	Εύρημα	Πιθανότητα κακοήθειας	Σύσταση
0	Ελλιπής αξιολόγηση του ευρήματος.	-	Επιπλέον διερεύνηση με MRI με άλλες ακολουθίες, ή συσχέτιση με τα μαστογραφικά και τα υπερηχοτομογραφικά ευρήματα.
1	Αρνητικό εύρημα.	0%	Φυσιολογικός επανέλεγχος.
2	Καλοήθη ευρήματα.	0%	Φυσιολογικός επανέλεγχος.
3	Πιθανώς καλοήθη ευρήματα.	<2%	Επανέλεγχος σε σύντομο χρονικό διάστημα.
4	Ύποπτα για κακοήθεια ευρήματα.	3-94%	Βιοψία.
5	Πολύ ύποπτα για κακοήθεια ευρήματα.	≥95%	Αντιμετώπιση κατά περίπτωση.
6	Ιστολογικά επιβεβαιωμένη κακοήθεια.	100%	Ενδεδειγμένη θεραπεία.

Ο Πίνακας 14 περιλαμβάνει τις ενδείξεις για μαγνητική μαστογραφία [169-173].

Πίνακας 14: Ενδείξεις μαγνητικής μαστογραφίας.

Μαγνητική μαστογραφία	Περεταίρω διερεύνηση μη καθορισμένης βλάβης, μετά από τον προαναφερθέντα προηγηθέντα έλεγχο.
	Προεγχειρητική σταδιοποίηση - Σχεδιασμός τύπου χειρουργικής επέμβασης.
	Εκτίμηση υπολειματικής νόσου - Υποτροπής.
	Εκτίμηση ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία.
	Πιθανότητα πολυεστιακής ή αμφοτερόπλευρης νόσου.
	Πιθανότητα υψηλού βαθμού κακοήθειας ενδοπορικού καρκινώματος.
	Προσβολή μασχαλαίων λεμφαδένων και διερεύνηση επί αγνώστου πρωτοπαθούς εστίας.

Πέραν των ανωτέρω, η μαγνητική μαστογραφία συστήνεται και για προληπτικό έλεγχο σε γυναίκες που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Σύμφωνα με την Αμερικανική Αντικαρκινική Εταιρία (American Cancer Society, ACS), σε ετήσιο έλεγχο πέραν της μαστογραφίας οφείλουν να υποβάλλονται γυναίκες με: 1/ Γνωστή γενετική μετάλλαξη, 2/ Πρώτου βαθμού συγγενή με καρκίνο του μαστού, 3/ Αυξημένο κίνδυνο 20-25% σε σχέση με το γενικό πληθυσμό και 4/ ιστορικό ακτινοβολίας στο θώρακα σε ηλικία 10-30 ετών [174].

Νεότερες παραλλαγές αποτελούν η μαγνητική μαστογραφία με χρήση ισχυρών μαγνητικών πεδίων που συμβάλει στη βελτίωση της διαφορικής διάγνωσης [175], η

μαγνητική μαστογραφία με απεικόνιση της διάχυσης (Diffusion Weighting Imaging, WDI) και η μαγνητική φασματοσκοπία, που συμβάλλουν στην ανάδειξη της ανταπόκρισης στη θεραπεία [176, 177].

2.6.3.4 Βιοψία

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ασθενείς με βλάβες BI-RADS 3 με μεταβαλλόμενα χαρακτηριστικά και BI-RADS 4, χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης με βιοψία. Η βιοψία είναι η μόνη διαγνωστική εξέταση που βασίζεται σε ιστολογικά χαρακτηριστικά και πρακτικά θέτει την τεκμηρίωση της νόσου η οποία είναι προαπαιτούμενη προεγχειρητικά. Ανάλογα με το μέγεθος, την εντόπιση και τα χαρακτηριστικά της βλάβης, εφαρμόζεται ένας από τους παρακάτω τύπους βιοψίας.

2.6.3.4.1 Βιοψία με βελόνη

Η βιοψία δια βελόνης (Fine Needle Aspiration, FNA) (Εικόνα 15A) αποτελεί τον πιο απλό και άμεσο τύπο βιοψίας για βλάβες που εντόπισε ο ιατρός κατά την κλινική εξέταση. Μέσω μιας βελόνης λαμβάνονται κύτταρα και όχι ιστοτεμάχιο από την αλλοίωση. Ταυτόχρονα, ο ιατρός μπορεί να ξεχωρίσει τη φύση της βλάβης, αν πρόκειται δηλαδή για συμπαγή ή κυστική. Στην περίπτωση της κυστικής βλάβης, η βιοψία δια βελόνης, παρέχει τη δυνατότητα καλλιέργειας του περιεχομένου της κύστης [178].

2.6.3.4.2 Βιοψία με κόπτουσα βελόνη

Με τη βιοψία με κόπτουσα βελόνη (Core needle biopsy) (Εικόνα 15B), αξιολογείται περαιτέρω μια μάζα που ανευρέθη στον απεικονιστικό έλεγχο. Μέσω μιας κοίλης κόπτουσας βελόνης, λαμβάνεται ιστοτεμάχιο για παθολογοανατομική εξέταση.

Συνηθέστερα, η διαδερμική βιοψία γίνεται μέσω απεικονιστικής καθοδήγησης και αποτελεί την πλέον ενδεδειγμένη διαγνωστική μέθοδο για νέους καρκίνους του μαστού. Έτσι λαμβάνεται επαρκές παθολογοανατομικό υλικό, αποφεύγοντας παράλληλα τους κινδύνους και τις επιπλοκές μιας ανοιχτής βιοψίας [178].

2.6.3.4.3 Στερεοτακτική βιοψία

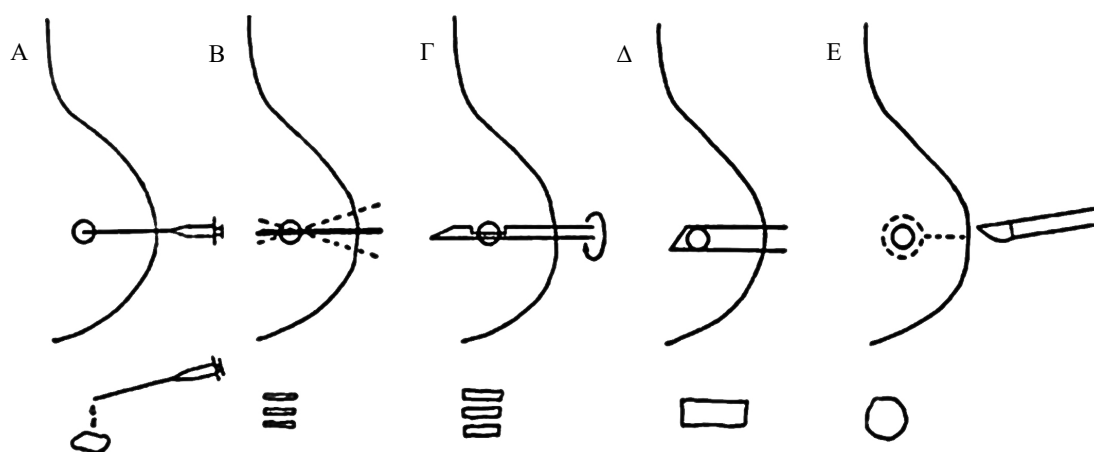
Η στερεοτακτική βιοψία ή αλλιώς διαδερμική βιοψία με βοήθεια αναρρόφησης (Εικόνα 15Γ), χρησιμοποιείται για ύποπτα μαστογραφικά ευρήματα, μη ανιχνεύσιμα κατά τον υπερηχοτομογραφικό έλεγχο ή την κλινική εξέταση. Ως εκ τούτου, η ασθενής τοποθετείται στο μαστογράφο και αφού εντοπισθεί η ύποπτη περιοχή, λαμβάνονται ιστοτεμάχια με ειδική βελόνη και ένα σύστημα κενού (μαμοτόμος) που επιτρέπει τη λήψη μεγαλύτερου δείγματος σε σχέση με τη βιοψία με κόπτουσα βελόνη. Παραλλαγή αυτής της τεχνικής αποτελεί η στεροτακτική βιοψία με χρήση ραδιοσυχνοτήτων (Breast Lesion Excision System, BLES) (Εικόνα 15Δ) που επιτρέπει την αφαίρεση ολόκληρης της βλάβης και όχι μόνο τμήματός της ενώ παράλληλα εξασφαλίζεται αιμόσταση. Έτσι η μέθοδος αυτή πέρα από ασφαλής κρίνεται απόλυτα αποτελεσματική καθότι αφενός η βλάβη αφαιρείται εξ' ολοκλήρου και αφετέρου ο παθολογοανατόμος μπορεί να αξιολογήσει την υφή, το σχήμα, το μέγεθος και τα όρια εκτομής της βλάβης αυτής [178].

2.6.3.4.4 Ανοιχτή βιοψία

Παρά τα πλεονεκτήματα των ανωτέρω μεθόδων, πολλές φορές η ανοιχτή βιοψία (Εικόνα 15Ε) κρίνεται απαραίτητη. Σε περίπτωση μη ψηλαφητής αλλοίωσης, η ύποπτη περιοχή σημαίνεται πρώτα με οδηγό (σύρμα), με τη βοήθεια υπερήχου ή μαστογράφου. Προαιρετικά, στο σημείο της εκτομής ο χειρουργός μπορεί να οριοθετήσει την περιοχή

με μεταλλικά clips έτσι ώστε η περιοχή με τις αλλοιώσεις να είναι αναγνωρίσιμη σε περίπτωση περεταίρω θεραπείας [178].

Εικόνα 15: Τύποι βιοψίας μαστού. **A:** Η βιοψία δια βελόνης (FNA), **B:** Βιοψία με κόπτουσα βελόνη, **Γ:** Στερεοτακτική βιοψία με αναρρόφηση, **Δ:** Στεροτακτική βιοψία με χρήση ραδιοσυχνότητας, **Ε:** Ανοιχτή βιοψία.



Πηγή: Dooley WC. Biopsy techniques in nonpalpable or palpable breast lesions. In: Aydiner A, Igcı A, Soran A (Eds). Breast Disease. 2019;1:3-10. Springer.

2.6.3.5 Εξετάσεις πυρηνικής ιατρικής

Το σπινθηρογράφημα δεν χρησιμοποιείται στα πλαίσια του προσυμπτωματικού ελέγχου, αλλά για την ανίχνευση μεταστατικής νόσου και τη σταδιοποίηση, την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία, την ανίχνευση λεμφαδενικής προσβολής και επί διαγνωστικών διλημμάτων παρόλη τη χρήση των προηγούμενων διαγνωστικών μεθόδων.

Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (Positron Emission Tomography, PET) πραγματοποιείται για την ανεύρεση της ακριβούς θέσης του όγκου, την ανάδειξη μασχαλιαίας και μη λεμφαδενικής προσβολής, την ανίχνευση μεταστατικής νόσου και τη σταδιοποίηση σε τοπικά προχωρημένο ή φλεγμονώδη καρκίνο πριν την έναρξη χημειοθεραπείας.

Άλλες μέθοδοι είναι το Σπινθηρογράφημα του μαστού - σπινθηρομαστογράφηση (Scintimammography, SM) που μέσω σεσημασμένων με τεχνητό ισονιτρίλιων ^{99m}Tc -sestamibi και ^{99m}Tc -tetrofosmin επιτρέπει τη διάκριση των καλοήθων από τις κακοήθεις εξεργασίες, η μαστογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (Positron Emission Mammography, PEM) που χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία και μπορεί να συνδυαστεί με καθοδηγούμενη βιοψία και η λεμφοσπινθηρογράφηση που αναδεικνύει το λεμφικό δίκτυο του όγκου και το φρουρό λεμφαδένα.

Τέλος, ο ραδιοανοσομετρικός προσδιορισμός των μοριακών δεικτών όπως CEA, CA 125, CA 15,3 και κυτοκερατινών όπως TPA, TPS και Cyfra 21.1, εφαρμόζεται ευρέως στην κλινική πράξη. Μπορεί οι καρκινικοί δείκτες να μην έχουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα ώστε να χρησιμοποιηθούν στα πλαίσια προσυμπτωματικού ελέγχου και για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του μαστού, ωστόσο έχουν τεράστια κλινική σημασία και χρησιμότητα για την παρακολούθηση διαγνωσμένου καρκίνου, την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία και την ανίχνευση της υποτροπής [179].

2.6.3.6 Λοιπές εξετάσεις

Ο ανωτέρω έλεγχος θα πρέπει πάντα να συμπληρώνεται από εργαστηριακές εξετάσεις που θα περιλαμβάνουν γενική αίματος, έλεγχο ηπατικών ενζύμων και αλκαλικής φωσφατάσης.

Περαιτέρω συνιστάται διερεύνηση με ακτινογραφία θώρακος επί πνευμονολογικών συμπτωμάτων, σπινθηρογράφημα οστών επί οστικού πόνου ή αυξημένης αλκαλικής φωσφατάσης και αξονική άνω και κάτω κοιλίας επί διαταραχών ηπατικής βιοχημείας ή κοιλιακών συμπτωμάτων. Για ασθενείς σταδίου IIIA (T3, N1, M0) και πάνω (Εδάφιο 2.8, Πίνακες 18, 19) απαιτείται έλεγχος με γενική αίματος,

πλήρες βιοχημικό προφίλ, αξονική θώρακος με σκιαγραφικό, αξονική ή μαγνητική τομογραφία κοιλίας με σκιαγραφικό, σπινθηρογράφημα οστών και σε ορισμένες περιπτώσεις PET [180].

2.7 Ιστολογική ταξινόμηση

2.7.1 Ιστολογικοί τύποι

Όσον αφορά την προέλευσή του, ο πρωτοπαθής καρκίνος του μαστού διακρίνεται σε δύο βασικούς τύπους:

- Πορογενές καρκίνωμα. Προέρχεται από κύτταρα που επενδύουν το εσωτερικό τοίχωμα των γαλακτοφόρων πόρων.
- Λοβιακό καρκίνωμα. Προέρχεται από κύτταρα των μαζικών λοβίων.

Καθένας από τους τύπους αυτούς διακρίνεται σε μη διηθητικό (ή in situ, IS) και διηθητικό. Αναλυτικότερα, διακρίνουμε τους κάτωθι τύπους καρκίνου του μαστού [151, 181-187]:

2.7.1.1 Μη διηθητικός (in situ) καρκίνος

Στο μη διηθητικό καρκίνο του μαστού, τα νεοπλασματικά κύτταρα περιορίζονται στο επιθήλιο χωρίς να διασπούν τη βασική μεμβράνη των πόρων (Πορογενές καρκίνωμα in situ, DCIS) ή των λοβίων (Λοβιακό καρκίνωμα in situ, LCIS) του μαστού, χωρίς να υπάρχει διασπορά της νόσου [181].

2.7.1.1.1 Πορογενές καρκίνωμα in situ

Πρόκειται για ενδοπορική νεοπλασματική βλάβη, που χαρακτηρίζεται από επιθηλιακά κύτταρα με ποικίλου βαθμού κυτταρική ατυπία η οποία σε ορισμένες

περιπτώσεις μπορεί να εξελιχθεί σε διηθητικό καρκίνωμα μαστού. Το DCIS αποτελεί τη πλέον συχνή μορφή μη διηθητικού καρκίνου του μαστού. Όσον αφορά το πρότυπο ανάπτυξης, το DCIS μπορεί να χαρακτηριστεί ως φαγεσωρικό, ηθμοειδές, θηλώδες, μικροθηλώδες, συμπαγές και μεικτό, με το φαγεσωρικό να αποτελεί τον πλέον επιθετικό τύπο.

Ιστολογικά, οι αλλοιώσεις στο ενδοπορικό in situ καρκίνωμα, ταξινομούνται από υπερπλασία έως την παρουσία μικροδιηθήσεων (microinvasion), όπως φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 15) [151, 182].

Πίνακας 15: Κατάταξη αλλοιώσεων του ενδοπορικού in situ καρκινώματος.

Κατάταξη	Χαρακτήρες αλλοίωσης
Πορογενής υπερπλασία	<ul style="list-style-type: none"> - Απουσία καρκινικών κυττάρων - Πιθανή κυτταρική ατυπία
Πορογενές in situ καρκίνωμα (DCIS)	<ul style="list-style-type: none"> - Εντόπιση καρκινικών κυττάρων στους γαλακτοφόρους πόρους. - Χωρίς διάσπαση της βασικής μεμβράνης
Πορογενές in situ καρκίνωμα με μικροδιηθήσεις (DCIS-MI)	<ul style="list-style-type: none"> - Καρκινικά κύτταρα διηθούν χωρίς όμως να διαπερνούν, τα τοιχώματα των γαλακτοφόρων πόρων.

Όσον αφορά το βαθμό διαφοροποίησης (Grade), το DCIS διακρίνεται σε I (χαμηλού βαθμού), II (ενδιάμεσου βαθμού) και III (υψηλού βαθμού). Περαιτέρω, το DCIS ταξινομείται με το σύστημα Van Nuys και το VNPI Score, που προκύπτει

συνεκτιμώντας κλινικοπαθολογικές παραμέτρους, όπως φαίνονται στον Πίνακα 16 [183].

Πίνακας 16: Βαθμός διαφοροποίησης του ενδοπορικού in situ καρκινώματος.

	VNPI Score		
	1	2	3
Μέγεθος (mm)	<16	16-40	>40
Όρια (mm)	>9	1-9	<1
Ηλικία (Ετη)	>60	40-60	<40
Grade	1, 2	1, 2	3
Νέκρωση	-	+	+ / -

Το DCIS έχει άριστη πρόγνωση με τους θανάτους που συμβαίνουν από αυτό να αποδίδονται σε σύγχρονο μη διαγνωσθέν διηθητικό καρκίνωμα, σε υπολειμματική εστία ή σε πολυεστιακή νόσο [184].

2.7.1.1.2 Λοβιακό καρκίνωμα in situ

Το λοβιακό in situ καρκίνωμα (LCIS) μαζί με την άτυπη λοβιακή υπερπλασία (ALH), περιγράφονται ως λοβιακή νεοπλασία. Αποτελεί το λιγότερο συχνό τύπο μη διηθητικού καρκινώματος του μαστού, προσβάλλει κυρίως προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και είναι στην πλειονότητα των περιπτώσεων πολυεστιακό. Υπολογίζεται δε, ότι το 10-20% των ασθενών με LCIS θα εμφανίσει διηθητικό καρκίνο μέσα σε διάστημα 15 ετών.

Ιστολογικά παρατηρείται πολλαπλασιασμός επιθηλιακών κυττάρων και απόφραξη της πορολοβιακής μονάδας από αθροίσεις νεοπλασματικών κυττάρων που προκαλούν

μικρή διάταση των λοβίων. Τα καρκινικά κύτταρα είναι ομοιόμορφα, με ασαφή όρια, μικρούς πυκνοχρωματικούς πυρήνες και μη ευδιάκριτα πυρήνια [181]. Αναλυτικότερα, διακρίνεται κυρίως σε τυπικό LCIS (CLCIS), που διακρίνεται σε δύο τύπους (Α και Β) και αποτελείται από κύτταρα με αραιό κυτταρόπλασμα με μικρούς πυρήνες χωρίς πυρήνια και ομογενή χρωματίνη [185] και σε πλειόμορφο LCIS (PLCIS) που αποτελείται από κύτταρα με άφθονο ηωσινοφιλικό κυτταρόπλασμα με μεγαλύτερους ανώμαλους πυρήνες και πυρήνια - σε ορισμένες περιπτώσεις, ενώ πολλές φορές, μπορεί να υπάρχουν κύτταρα δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου και βλέννη. Η βιολογική συμπεριφορά του PLCIS ομοιάζει με του DCIS [185, 186]. Τελευταία, έχει περιγραφεί και ένας νέος τύπος, ο Florid LCIS (FLCIS) όπου τα κύτταρα του όγκου επεκτείνονται μέχρι τα τελικά λόβια και ομοιάζει με το PLCIS [187].

2.7.1.2 Διηθητικός καρκίνος

2.7.1.2.1 Πορογενές διηθητικό καρκίνωμα

Ο πορογενής διηθητικός (Invasive Ductal Carcinoma, IDC) είναι ο συνηθέστερος τύπος αφού αποτελεί το 75% όλων των καρκινωμάτων του μαστού. Εμφανίζεται ως σκληρή ψηλαφητή μάζα με ατρακτοειδές σχήμα και ανώμαλα όρια που μεθίσταται συνηθέστερα λεμφογενώς. Είναι επιθετικός και η 5-ετής επιβίωση αγγίζει το 60%. Μικροσκοπικά χαρακτηρίζεται από ποικιλότητα ιστολογικών χαρακτηριστικών. Έτσι συναντώνται σε ποικίλο βαθμό καρκινικά κύτταρα και μεσεγχυματικά στοιχεία και διαμόρφωση αδενικών και σωληνωδών σχηματισμών. Συχνά συνυπάρχει υαλοειδής εκφύλιση του υποστρώματος και ποικίλου βαθμού λεμφοκυτταρική αντίδραση. Συνυπάρχει συχνά διήθηση των αιμοφόρων αγγείων, των λεμφαγγείων και του

μείζονος θωρακικού μύος. Οι κυριότεροι ιστολογικοί υπότυποι του διηθητικού πορογενούς καρκίνου είναι οι παρακάτω [151, 181, 188]:

- Μη ειδικού τύπου: Τα καρκινικά κύτταρα αναπτύσσονται σε στρώμα με έντονη ινοπλαστική αντίδραση, που περιέχει πεπαχυσμένους και αποφραγμένους πόρους. Το πρότυπο ανάπτυξης είναι είτε συμπαγές είτε σωληνώδες, αδενοειδές ή δοκιδωτό.
- Μυελοειδές καρκίνωμα: Τα καρκινικά κύτταρα είναι ευμεγέθη, με πυρηνική ατυπία και μεγάλο αριθμό μιτώσεων. Περιβάλλονται από συνδετικό ιστό εντός του οποίου διακρίνουμε έντονη λεμφοκυτταρική και πλασματοκυτταρική διήθηση.
- Βλενώδες ή Κολλοειδές καρκίνωμα: Τα καρκινικά κύτταρα περιβάλλονται από άφθονο βλενώδες υπόστρωμα που περιέχει αδένια.
- Σωληνώδες καρκίνωμα: Τα καρκινικά κύτταρα εμφανίζονται σε σωληνώδεις αθροίσεις, χωρίς βασική μεμβράνη.
- Ηθμοειδές καρκίνωμα: Τα καρκινικά κύτταρα εμφανίζονται σε διάτρητες συμπαγείς αθροίσεις (ηθμοί).
- Θηλώδες καρκίνωμα: Τα καρκινικά κύτταρα δεν εμφανίζουν σταθερό πρότυπο ανάπτυξης ενώ το υποκείμενο στρώμα στερείται μυοεπιθηλιακού ιστού.
- Νόσος Paget της θηλής: Η νόσος Paget στο μαστό χαρακτηρίζεται από διήθηση της επιδερμίδας της θηλής από ευμεγέθη καρκινικά κύτταρα, στρογγυλού ή ωοειδούς σχήματος, τα κύτταρα Paget τα οποία χαρακτηρίζονται από άφθονο κυτταρόπλασμα και υπερχρωματικό πυρήνα με πυρήνια.
- Φλεγμονώδες καρκίνωμα: Έχει μορφολογικά χαρακτηριστικά οξείας φλεγμονής που οφείλονται στη διήθηση του δέρματος του μαστού από πολυάριθμα καρκινικά λεμφοαγγειακά έμβολα. Το καρκίνωμα στον υποκείμενο μαζικό ιστό είναι συνήθως πορογενές χαμηλής διαφοροποίησης.

- Σπάνια καρκινώματα:
 - Μεταπλαστικό καρκίνωμα.
 - Αδενοειδές / Κυστικό καρκίνωμα.
 - Μυοεπιθηλιακό καρκίνωμα.
 - Αποκρινές καρκίνωμα.
 - Λιποεκκριτικό καρκίνωμα.
 - Βλεννοεπιδερμοειδές καρκίνωμα.
 - Καρκινοειδές.
 - Με οστεοκλαστικού τύπου γιγαντοκύτταρα.
 - Με στοιχεία χοριοκαρκινώματος.
 - Με στοιχεία μελανώματος.
 - Άλλοι σπάνιοι τύποι.

2.7.1.2.2 Λοβιακό διηθητικό καρκίνωμα

Το λοβιακό διηθητικό καρκίνωμα (Invasive Lobular Carcinoma, ILC) αποτελεί περίπου το 10% των καρκινωμάτων του μαστού. Συχνά συνυπάρχει με πορογενές καρκίνωμα, μπορεί να είναι πολυεστιακό ή αμφοτερόπλευρο με σύγχρονη ή μετάχρονη εμφάνιση και χαρακτηρίζεται από χειρότερη πρόγνωση σε σχέση με το πορογενές καρκίνωμα. Ιστολογικά, αποτελείται από μικρά κύτταρα με ευμεγέθη πυρήνα, που συνδέονται με χαλαρό συνδετικό ιστό. Για την ακρίβεια διακρίνεται στους παρακάτω υπότυπους [151, 181]:

- Κλασικός τύπος: Πρόκειται για την πλέον συχνή μορφή. Τα καρκινικά κύτταρα διατάσσονται γραμμοειδώς ή στροβιλοειδώς γύρω από τα αγγεία, τους πόρους και τα λόβια (Indian file pattern). Περαιτέρω ο κλασικός τύπος περιλαμβάνει τους εξής υπότυπους:

- Κυψελιδώδης υπότυπος: Τα καρκινικά κύτταρα σχηματίζουν μικρές σφαιροειδείς αθροίσεις, 20 ή περισσότερων κυττάρων.
- Συμπαγής υπότυπος: Τα καρκινικά κύτταρα διατάσσονται σε συνεχείς επιφάνειες. Χαρακτηρίζεται από ομοιόμορφα, μικρά κύτταρα με περισσότερες μιτώσεις και ελάχιστο υπόστρωμα.
- Σωληνολοβιακός υπότυπος: Τα καρκινικά κύτταρα σχηματίζουν μικροσωληνώδεις δομές, σε διάταξη κλασικού τύπου. Θα πρέπει να διακρίνεται από το μικτό τύπο όπου συνυπάρχει λοβιακό και σωληνώδες καρκίνωμα.
- Μικτός τύπος: Αν τα καρκινικά κύτταρα διαφέρουν από τα παραπάνω πρότυπα ανάπτυξης, τότε μιλάμε για μικτό τύπο (Μη κλασικό) ο οποίος πρακτικά αποτελεί συνδυασμό δύο ή περισσότερων υπότυπων. Έτσι διακρίνονται οι εξής υπότυποι:
 - Πλειόμορφος υπότυπος: Τα καρκινικά κύτταρα είναι μεγαλύτερα από του κλασικού τύπου και εμφανίζουν κυτταρική πολυμορφία.
 - Ιστιοκυττοειδής υπότυπος: Τα καρκινικά κύτταρα περιέχουν άφθονο ηωσινόφιλο ή βασεόφιλο αφρώδες κυτταρόπλασμα και ομοιάζουν με μυοβλάστες.
 - Υπότυπος με κύτταρα δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου.
 - Αποκρινής υπότυπος.

2.7.1.2.3 Σπάνια καρκινώματα

Εδώ ανήκουν όλα τα καρκινώματα του μαστού που δεν ταξινομήθηκαν σε κάποια από τις ανωτέρω κατηγορίες, δηλαδή [151, 181]:

- Μικτά καρκινώματα: Έχουν χαρακτηριστικά και πορογενούς και λοβιακού καρκίνου.
- Μη ταξινομούμενα καρκινώματα.

2.7.2 Βαθμός κακοήθειας

Πέρα από τον ιστολογικό τύπο, ο υπολογισμός του βαθμού κακοήθειας έχει σημαντική προγνωστική αξία. Το πλέον αποδεκτό σύστημα είναι η μέθοδος του Nottingham κατά Elston Ellis, η οποία αξιολογεί μορφολογικά στοιχεία του όγκου και τα βαθμολογεί (από 1-3). Εν συνεχεία, με βάση το συνολικό άθροισμα υπολογίζεται ο βαθμός κακοήθειας (Grade I-III). Το σύστημα αυτό συνοψίζεται στον πίνακα που ακολουθεί [189].

Πίνακας 17: Υπολογισμός του βαθμού κακοήθειας με βάση τη μέθοδο του Nottingham, κατά Elston Ellis.

Σχηματισμός σωληναρίων	>75%.	1
	10-75%.	2
	<75%.	3
Αριθμός μιτώσεων	0-9/10 hpf.	1
	10-19/10 hpf.	2
	>20/10 hpf.	3
Μορφολογία πυρήνων	Μικρά ομοιόμορφοι πυρήνες.	1
	Μέτρια διακύμανση στο μέγεθος και το σχήμα.	2
	Εκσεσημασμένη διακύμανση στο μέγεθος και το σχήμα.	3
Βαθμός κακοήθειας	Χαμηλός - Grade I.	3-5
	Ενδιάμεσος - Grade II.	6-7
	Υψηλός - Grade III.	8-9

2.8 Σταδιοποίηση

Μετά τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού, κρίνεται αναγκαίο να προσδιορισθεί το στάδιο της νόσου έτσι ώστε ο ασθενής να λάβει την ενδεδειγμένη θεραπεία. Το νεότερο σύστημα σταδιοποίησης του καρκίνου του μαστού αποτελεί η 8^η έκδοση του Συστήματος Tumour, Node, Metastasis (TNM) και το Σύστημα Σταδιοποίησης της Αμερικανικής Κοινής Επιτροπής για τον Καρκίνο (American Joint Committee on Cancer (AJCC) Grouping system). Τα συστήματα αυτά περιγράφονται στους πίνακες που ακολουθούν (Πίνακες 18, 19) [190, 191].

Πίνακας 18: Σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού με βάση την 8^η έκδοση του συστήματος ταξινόμησης TNM.

T (Tumor) - Πρωτοπαθής εστία	
T_x	Η πρωτοπαθής εστία δεν μπορεί να εκτιμηθεί.
T₀	Χωρίς ενδείξεις πρωτοπαθούς εστίας.
T_{is}	Καρκίνωμα in situ.
T _{is} (DCIS)	Πορογενές καρκίνωμα in situ.
T _{is} (LCIS)	Λοβιακό καρκίνωμα in situ.
T _{is} (Paget)	Νόσος Paget της θηλής, χωρίς παρουσία όγκου.
T₁	Όγκος μεγίστης διαμέτρου μικρότερης του 1mm.
T _{1a}	Όγκος μεγίστης διαμέτρου μεγαλύτερης του 1mm αλλά μικρότερης των 5mm.
T _{1b}	Όγκος μεγίστης διαμέτρου μεγαλύτερης των 5mm αλλά μικρότερης των 10mm.
T _{1c}	Όγκος μεγίστης διαμέτρου μεγαλύτερης των 10mm αλλά μικρότερης των 20mm.

T2	Όγκος μεγίστης διαμέτρου από 2 έως 5cm.
T3	Όγκος μεγίστης διαμέτρου μεγαλύτερης των 5cm.
T4	Όγκος κάθε διαμέτρου με επέκταση στο θωρακικό τοίχωμα ή το δέρμα.
T4a	Όγκος που επεκτείνεται στο θωρακικό τοίχωμα.
T4b	Όγκος που προκαλεί στο δέρμα εξέλκωση ή/και ομόπλευρα δορυφόρα οζίδια ή/και οίδημα δίκην φλοιού πορτοκαλιού.
T4c	T4a και T4b.
T4d	Φλεγμονώδης καρκίνος.
N (Nodes) - Περιφερικοί λεμφαδένες	
Κλινική σταδιοποίηση (cN)	
cNx	Οι περιφερικοί λεμφαδένες δε μπορούν να εκτιμηθούν.
cN0	Χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις κατά τον κλινικό ή τον απεικονιστικό έλεγχο.
cN1	Μετάσταση σε ομόπλευρους, κινητούς και διακριτούς μεταξύ τους λεμφαδένες, επιπέδου I και II.
cN1m	Μικρομετάσταση (περίπου 200 κυττάρων, μεγαλύτερη από 0,2mm αλλά μικρότερη των 2mm).
cN2	Μετάσταση σε ομόπλευρους λεμφαδένες, μασχαιαίους επιπέδου I και II, σχηματίζοντας block, ή ομόπλευρους έσω μαστικούς, με απουσία κλινικά εμφανούς μασχαιαίας μετάστασης.
cN2a	Μετάσταση σε ομόπλευρους μασχαιαίους λεμφαδένες επιπέδου I και II, σχηματίζοντας block.

cN2b	Μετάσταση σε ομόπλευρους έσω μαστικούς λεμφαδένες, με απουσία κλινικά εμφανούς μασχαλιαίας μετάστασης.
cN3	Μετάσταση σε ομόπλευρους υποκλείδιους λεμφαδένες μασχαλιαίου επιπέδου III με ή χωρίς συμμετοχή των μασχαλιαίων λεμφαδένων επιπέδου I και II, ή σε ομόπλευρους έσω μαστικούς λεμφαδένες με προσβολή των μασχαλιαίων λεμφαδένων επιπέδου I και II, ή σε ομόπλευρο υπερκλείδιο λεμφαδένα με ή χωρίς συμμετοχή μασχαλιαίων ή έσω μαστικών λεμφαδένων.
cN3a	Μετάσταση σε ομόπλευρους υποκλείδιους λεμφαδένες μασχαλιαίου επιπέδου III.
cN3b	Μετάσταση σε ομόπλευρους έσω μαστικούς λεμφαδένες, με προσβολή μασχαλιαίων λεμφαδένων.
cN3c	Μετάσταση σε ομόπλευρους υποκλείδιους λεμφαδένες μασχαλιαίου επιπέδου III.
Παθολογοανατομική σταδιοποίηση (pN)	
pNx	Οι περιοχικοί λεμφαδένες δε μπορούν να εκτιμηθούν.
pN0	Ιστολογικά δεν ανιχνεύεται περιοχική λεμφαδενική προσβολή ή απομονωμένα καρκινικά κυτταρικά κλάσματα (κάτω από 200 κύτταρα σε μια ιστολογική εξέταση ή μέγεθος κάτω από 0,2mm, που ανιχνεύονται με ιστολογικές ή ανοσοϊστοχημικές μεθόδους).

pN0(i)	Ιστολογικά δεν ανιχνεύεται περιοχική λεμφαδενική προσβολή ή απομονωμένα καρκινικά κυτταρικά κλάσματα.
pN0(i+)	Ιστολογικά ανιχνεύονται απομονωμένα καρκινικά κυτταρικά κλάσματα σε περιοχικούς λεμφαδένες.
pN0(mol-)	Ιστολογικά δεν ανιχνεύεται περιοχική λεμφαδενική προσβολή ή απομονωμένα καρκινικά κλάσματα με μοριακές μεθόδους (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR).
pN0(mol+)	Ιστολογικά ανιχνεύεται περιοχική λεμφαδενική προσβολή ή απομονωμένα καρκινικά κλάσματα με μοριακές μεθόδους (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR).
pN1	Μικρομετάσταση ή μετάσταση σε 1-3 μασχαλιαίους λεμφαδένες ή/και σε έσω μαστικούς λεμφαδένες ή/και κλινικά αρνητικοί έσω μαστικοί λεμφαδένες με μικρο- ή μακρομεταστάσεις σε λεμφαδένα φρουρό.
pN1mi	Μικρομεταστάσεις (Περίπου 200 κύτταρα, μεγαλύτερες από 0,2mm αλλά μικρότερες από 2mm).
pN1a	Μεταστάσεις σε 1-3 μασχαλιαίους λεμφαδένες, με τουλάχιστον μία μεγαλύτερη των 2mm.
pN1b	Μετάσταση σε ομόπλευρο έσω μαστικό λεμφαδένα, εξαιρώντας τα κλάσματα που ανιχνεύονται λόγω της βιοψίας λεμφαδένα φρουρού.
pN1c	pN1a και pN1b.

<p>pN2</p> <p>pN2a</p> <p>pN2b</p>	<p>Μετάσταση σε 4-9 μασχαλιαίους λεμφαδένες ή θετικοί ομόπλευροι έσω μαστικοί λεμφαδένες, με απουσία μετάστασης σε μασχαλιαίους λεμφαδένες.</p> <p>Μεταστάσεις σε 4-9 μασχαλιαίους λεμφαδένες, με τουλάχιστον μία μεγαλύτερη των 2mm.</p> <p>Κλινικά ανιχνεύσιμες μεταστάσεις σε έσω μαστικούς λεμφαδένες με ή χωρίς μικροσκοπική επιβεβαίωση και αρνητικοί παθολογοανατομικά μασχαλιαίοι λεμφαδένες.</p>
<p>pN3</p> <p>pN3a</p> <p>pN3b</p>	<p>Μεταστάσεις σε 10 ή περισσότερους μασχαλιαίους λεμφαδένες ή υποκλείδιους επιπέδου III μασχαλιαίους λεμφαδένες ή θετικούς ομόπλευρους έσω μαστικούς λεμφαδένες σε απεικόνιση μαζί με 1 ή παραπάνω θετικό επίπεδου I και II μασχαλιαίο λεμφαδένα, ή πάνω από 3 μασχαλιαίους λεμφαδένες και μικρο- και μακρομεταστάσεις σε βιοψία λεμφαδένα φρουρού με κλινικά αρνητικούς έσω μαστικούς λεμφαδένες ή ομόπλευρη διήθηση υπερκλειδίων λεμφαδένων.</p> <p>Μεταστάσεις σε 10 ή περισσότερους μασχαλιαίους λεμφαδένες με τουλάχιστον μία μεγαλύτερη των 2mm ή σε υποκλείδιους επιπέδου III.</p> <p>pN1a ή pN2a σε συνδυασμό με cN2b (θετικοί έσω μαστικοί λεμφαδένες σε απεικόνιση) ή pN2a σε συνδυασμό με pN1b.</p>

pN3c	Μεταστάσεις σε ομόπλευρους υπερκλείδιους λεμφαδένες.
M (Metastases) - Απομακρυσμένες μεταστάσεις	
M0	Δεν υπάρχει κλινική ή ακτινολογική ένδειξη απομακρυσμένων μεταστάσεων.
cM0(i+)	Δεν υπάρχει κλινική ή ακτινολογική ένδειξη απομακρυσμένων μεταστάσεων με παρουσία καρκινικών κυττάρων ή καρκινικών κυτταρικών κλασμάτων μεγαλύτερων των 2mm, ανιχνεύσιμων μικροσκοπικά ή με μοριακές μεθόδους στο αίμα, το μυελό των οστών ή σε άλλο ιστό.
cM1	Απομακρυσμένες μεταστάσεις κλινικά ή απεικονιστικά ανιχνεύσιμες.
pM1	Κάθε ιστολογικά τεκμηριωμένη μετάσταση σε άλλα όργανα.

Πίνακας 19: Σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού.

Στάδιο	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0	N1mi	M0
IB	T1	N1mi	M0
IIA	T0	N1	M0
IIA	T1	N1	M0

IIA	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
IIB	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
IIIA	T1	N2	M0
IIIA	T2	N2	M0
IIIA	T3	N1	M0
IIIA	T3	N2	M0
IIB	T4	N0	M0
IIB	T4	N1	M0
IIB	T4	N2	M0
IIIC	Κάθε T	N3	M0
IV	Κάθε T	Κάθε N	M1

Παρατηρήσεις:

- Το T1 συμπεριλαμβάνει το T1mi.
- Όγκοι T0 και T1 με λεμφαδενικές μικρομεταστάσεις (N1mi) σταδιοποιούνται ως IB.
- Όγκοι T2, T3 και T4 με λεμφαδενικές μικρομεταστάσεις (N1mi) σταδιοποιούνται ως N1.
- Το M0 εμπεριέχει το M0(i+).
- Όγκοι M1 προ της χημειοθεραπείας, παραμένουν M1 ανεξάρτητα της ανταπόκρισής τους.

2.9 Θεραπεία

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η σταδιοποίηση είναι ένα χρήσιμο εργαλείο προκειμένου ο ασθενής να λάβει την ενδεδειγμένη θεραπεία. Παρακάτω παρατίθενται οι θεραπευτικές επιλογές για τον καρκίνο του μαστού ανάλογα με το στάδιο της νόσου:

2.9.1 Στάδιο 0

2.9.1.1 Πορογενές in situ

Η αρχική αντιμετώπιση περιλαμβάνει ογκεκτομή με ή χωρίς ακτινοβολία, χωρίς λεμφαδενική αξιολόγηση, ή ολική μαστεκτομή με ή χωρίς βιοψία λεμφαδένα φρουρού, και με ή χωρίς αποκατάσταση του μαστικού ελλείματος [192]. Η θεραπεία του πορογενούς in situ καρκινώματος αποτελεί αντικείμενο διαφωνιών [193].

2.9.1.2 Λοβιακό in situ

Η θεραπευτική προσέγγιση εκτός της εκτομής, περιλαμβάνει είτε παρακολούθηση, είτε παρακολούθηση και ραλοξιφένη ή ταμοξιφένη ανεξάρτητα εμμηνοπαυσιακής καταστάσεως είτε αμφοτερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή, σε ασθενείς με ισχυρό οικογενειακό ιστορικό [194-196]. Δε θα πρέπει να ξεχνάμε ότι λοβιακά in situ καρκινώματα μπορεί να υποκρύπτουν μετά από αφαίρεση in situ πορογενή καρκινώματα και ως εκ τούτου έχουν την τάση να γίνονται διηθητικά σε ποσοστό 20-30%, κατά τη διάρκεια της υπόλοιπης ζωής της ασθενούς [197, 198].

2.9.2 Στάδιο I, II και IIIA (T3N1M0)

Η αντιμετώπιση περιλαμβάνει χειρουργική θεραπεία, ακτινοθεραπεία και συμπληρωματική χημειοθεραπεία. Σε ορισμένες περιπτώσεις εφαρμόζεται ενδοκρινική ή βιολογική θεραπεία σε ορισμένες.

Οι χειρουργικές επεμβάσεις συνήθως είναι: 1/ Επεμβάσεις διατήρησης μαστού, επικουρούμενες ή μη από ακτινοθεραπεία, 2/ Μαστεκτομή με ή χωρίς αποκατάσταση. Η αξιολόγηση των μασχαλιαίων λεμφαδένων είναι υποχρεωτική και καθορίζει το είδος της θεραπείας [199].

Αναλυτικότερα, οι επεμβάσεις διατήρησης μαστού ολοένα και περισσότερο κερδίζουν έδαφος έναντι των ριζικών επεμβάσεων. Ο λόγος είναι πολυπαραγοντικός και συνίσταται στην θεώρηση του καρκίνου του μαστού ως συστηματική νόσο, στην αδυναμία των ριζικών εκτομών να προσφέρουν καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα, στη νοσηρότητά τους και τέλος, στα διάφορα ψυχολογικά, αισθητικά και κοινωνικά προβλήματα των γυναικών μετά από μαστεκτομή. Επιπρόσθετα, η καθιέρωση του προληπτικού μαστογραφικού ελέγχου τις τελευταίες δεκαετίες, οδήγησε στην έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου σε αρχικά στάδια, ευνοώντας έτσι την εφαρμογή επεμβάσεων διατήρησης του μαστού. Έκτοτε, αντικείμενο πληθώρας μελετών και διαφωνιών είναι η σύγκριση των μαστεκτομών με τις επεμβάσεις διατήρησης του μαστού, το μέγεθος του όγκου ως κριτήριο επιλογής μεθόδου, τα όρια εκτομής, ο αριθμός των προσβεβλημένων λεμφαδένων για εφαρμογή ακτινοθεραπείας και ο ρόλος της προεγχειρητικής χημειοθεραπείας. Εν τέλει, τα πλέον αποδεκτά δεδομένα συνοψίζονται παρακάτω [200-208]:

2.9.2.1 Επεμβάσεις διατήρησης μαστού

Οι επεμβάσεις διατήρησης μαστού περιλαμβάνουν την ογκεκτομή και την ογκοπλαστική [200-210].

2.9.2.1.1 Ογκεκτομή μαστού

Η ογκεκτομή συνιστά χειρουργική επέμβαση εξαίρεσης του περιέχοντος τη βλάβη τμήματος του μαζικού αδένου, με σκοπό τη διατήρηση του μαστού και την αποφυγή της μαστεκτομής με όλα αυτά που συνεπάγεται. Συνεπώς, πέρα από την αποφυγή ακρωτηριαστικής επέμβασης, οι επεμβάσεις διατήρησης μαστού προσφέρουν μικρότερες χειρουργικές τομές, μικρότερη διάρκεια χειρουργείου, ταχεία μετεγχειρητική πορεία και γενικά λιγότερες επιπλοκές. Είναι εύλογο ότι το μέγεθος του μαζικού ιστού που εξαιρείται χειρουργικώς, εξαρτάται από την έκταση της βλάβης, όπως αυτή έχει αναδειχθεί στον προεγχειρητικό κλινικό και απεικονιστικό έλεγχο. Πρωταρχικός στόχος είναι η εξαίρεση επί υγιών χειρουργικών ορίων (R0 εκτομή). Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τόσο το μέγεθος του όγκου (προκειμένου να εφαρμοστεί ογκεκτομή και όχι μαστεκτομή) όσο και του χειρουργικού ορίου, είναι αντικείμενα έρευνας, συζήτησης και διαφωνιών. Αρχικά εφαρμοζόταν ελεύθερο όριο πάχους 1 εκ, οπότε και οι επεμβάσεις ονομάζονταν τεταρτεκτομές. Πλέον η σύγχρονη προσέγγιση τείνει σε πολύ μικρότερα όρια και οι επεμβάσεις ονομάζονται ευρείες εκτομές.

Οι επεμβάσεις διατήρησης μαστού μπορούν να εφαρμοστούν ανεξάρτητα από την ηλικία της ασθενούς, την πυκνότητα του μαστού, την εντόπιση και τον ιστολογικό υπότυπο του όγκου ή την ύπαρξη θετικών μασχαλαίων λεμφαδένων. Οι ενδείξεις και οι αντενδείξεις για επεμβάσεις διατήρησης μαστού, περιγράφονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 20).

Πίνακας 20: Ενδείξεις και αντενδείξεις επεμβάσεων διατήρησης μαστού.

Ενδείξεις
- Μέγεθος που όγκου που να μπορεί να εξαιρεθεί επί αρνητικών ορίων εκτομής.

<ul style="list-style-type: none"> - Να μπορεί να εφαρμοστεί ακτινοθεραπεία μετά τη χειρουργική εκτομή. 	
Αντενδείξεις	
Σχετικές	Απόλυτες
<ul style="list-style-type: none"> - Όγκοι >3 εκατοστών. - Γενετικές μεταλλάξεις. - Ιστορικό νόσου συνδετικού ιστού. - Μικρό μέγεθος μαστού που δεν επιτρέπει καλό αισθητικό αποτέλεσμα. - Προηγηθείσες επεμβάσεις (πχ ογκεκτομή στον ίδιο μαστό ή μαστεκτομή στον άλλον). 	<ul style="list-style-type: none"> - Πολυκεντρικότητα / Πολυεστιακότητα νόσου. - Διάχυτες μικροαποτιτανώσεις. - Ιστορικό προηγηθείσας ακτινοβολίας στο μαστό. - Φλεγμονώδης καρκίνος.

Να σημειωθεί ότι επεμβάσεις διατήρησης μαστού μπορούν να εφαρμοστούν και για μεγαλύτερους όγκους υπό την προϋπόθεση της προεγχειρητικής χημειοθεραπείας που πρακτικά μικραίνει το μέγεθος του όγκου υποσταδιοποιώντας τη νόσο.

Παρά τα πλεονεκτήματά της, η ογκεκτομή έχει κάποια μειονεκτήματα τα οποία συνίστανται σε: 1/ Θετικό ή ανεπαρκές χειρουργικό όριο και ανάγκη επανεπέμβασης είτε με συμπληρωματική εκτομή είτε με μαστεκτομή, 2/ Πιθανότητα υποτροπής και ανάγκη για επισταμένη παρακολούθηση, 3/ Ανάγκη για συμπληρωματική ακτινοθεραπεία και 4/ Αισθητικά αποτελέσματα όπως ασυμμετρίες [200-210].

2.9.2.1.2 Ογκοπλαστική μαστού

Η ογκοπλαστική αντιπροσωπεύει την πλέον σύγχρονη τάση στη χειρουργική του μαστού καθότι συνδυάζει τα αποτελέσματα των επεμβάσεων διατήρησης του μαστού με τα αισθητικά οφέλη της πλαστικής χειρουργικής. Έτσι, πέραν των ογκολογικών θεωρήσεων των επεμβάσεων διατήρησης μαστού, η ογκοπλαστική συνυπολογίζει παραμέτρους των μαστών όπως: 1/ Σχήμα, μέγεθος, θέση, συμμετρία / ασυμμετρία και πτώση μαστών, 2/ Τοπογραφικά χαρακτηριστικά θηλής, 3/ Σύσταση και αγγείωση μαζικού αδένου και 4/ Ποιότητα δέρματος. Με τον τρόπο αυτό όχι μόνο επιτυγχάνονται μεγαλύτερες εκτομές που εξασφαλίζουν ελεύθερα χειρουργικά όρια αλλά και αποκατάσταση του σχήματος, του μεγέθους και της συμμετρίας των μαστών, σωστή θέση της θηλής και στοχευμένη μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία [200-210].

2.9.2.2 Μαστεκτομή

Η ριζική μαστεκτομή όπως την περιέγραψε ο William Halsted, περιλάμβανε την αφαίρεση του μαστού, των υποκείμενων μυών και λεμφαγγείων, αγγείων και νεύρων της μασχάλης και παρά την αυξημένη νοσηρότητα, αποτέλεσε τη βασική χειρουργική θεραπεία για πάνω από έναν αιώνα. Στη συνέχεια, η τεχνική αυτή υπέστη ποικίλες βελτιώσεις και παραλλαγές μέχρι τα μέσα του 20^{ου} αιώνα που επικράτησε η επονομαζόμενη ριζική τροποποιημένη μαστεκτομή -που εφαρμόζεται ακόμα και σήμερα- και συνίσταται σε αφαίρεση του μαστού και των μασχαλιαίων λεμφαδένων, διαφυλάσσοντας μύες, αγγεία και νεύρα. Ο Πίνακας 21 συνοψίζει τις ενδείξεις μαστεκτομής.

Πίνακας 21: Ενδείξεις μαστεκτομής.

Ενδείξεις
- Πολυκεντρικότητα / Πολυεστιακότητα βλάβης.

- Ευμεγέθους βλάβη σε σχέση με το μέγεθος του μαζικού αδένου.
- Διάχυτες μικροαποτιτανώσεις.
- Ιστορικό προηγηθείσας ακτινοβολίας στο μαστό.
- Ιστορικό αποτυχημένων προηγηθεισών ογκεκτομών επί υγιών ορίων.
- Επιθυμία ασθενούς για αποφυγή ακτινοθεραπείας και περιορισμό πιθανότητας τοπικής υποτροπής.
- Προληπτικά σε ασθενής με γονιδιακές μεταλλάξεις και κληρονομούμενο καρκίνο μαστού - ωοθηκών.
- Φλεγμονώδης καρκίνος.

Σε γενικές γραμμές οι κύριες κατηγορίες μαστεκτομής που εφαρμόζονται στις μέρες μας είναι: 1/ Απλή μαστεκτομή, 2/ Ριζική τροποποιημένη μαστεκτομή, 3/ Υποδόρια μαστεκτομή και 4/ Μαστεκτομή με διατήρηση του συμπλέγματος θηλής - θηλαίας άλω. Οι δύο τελευταίες επεμβάσεις επιτρέπουν την αποκατάσταση του μαστού είτε με χρήση προσθετικών υλικών (ενθεμάτων) ή αυτόλογου ιστού [211].

2.9.2.3 Επεμβάσεις μασχαλιαίων λεμφαδένων

Οι επεμβάσεις στους μασχαλιαίους λεμφαδένες περιλαμβάνουν τη βιοψία φρουρού λεμφαδένα και το λεμφαδενικό καθαρισμό.

2.9.2.3.1 Βιοψία φρουρού λεμφαδένα

Από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 επικρατεί η θεωρία ότι η λέμφος που απάγεται με το λεμφικό δίκτυο του μαστού δεν παροχετεύεται προς όλους τους μασχαλιαίους λεμφαδένες ταυτόχρονα, αντίθετα πρώτα παροχετεύεται σε έναν λεμφαδένα - το λεμφαδένα φρουρό - και στη συνέχεια στους υπόλοιπους. Έτσι λοιπόν

και στην περίπτωση του καρκίνου του μαστού, ο λεμφαδένας φρουρός είναι ο πρώτος που πλήττεται από τη νόσο. Θεωρούμε ότι αν είναι αρνητικός τότε είναι αρνητικοί και οι υπόλοιποι ενώ αν είναι θετικός, τότε είναι πολύ πιθανό καρκινικά κύτταρα να έχουν διηθήσει και άλλους μασχαλιαίους λεμφαδένες. Έκτοτε, πληθώρα τεχνικών εντοπισμού του φρουρού λεμφαδένα έχει αναπτυχθεί, ωστόσο επικρατούσες τεχνικές είναι η χρώση των λεμφαγγείων (π.χ. με μπλε του μεθυλενίου) και η χορήγηση ραδιενεργών ουσιών (Τεχνητίο 99) που ανιχνεύονται με ειδική συσκευή. Η βιοψία φρουρού λεμφαδένα ενδείκνυται σε όλα τα περιστατικά καρκίνου του μαστού καθότι πρέπει να γίνεται σταδιοποίηση της μασχάλης. Για την ακρίβεια, η μόνη απόλυτη αντένδειξη είναι οι ψηλαφητά ύποπτοι μασχαλιαίοι λεμφαδένες. Πρόκειται για μια αρκετά αξιόπιστη μέθοδο και έτσι αν ο λεμφαδένας φρουρός είναι αρνητικός τότε και οι άλλοι λεμφαδένες είναι αρνητικοί, ενώ αν ο λεμφαδένας φρουρός είναι θετικός, θεωρούμε ότι και οι υπόλοιποι λεμφαδένες είναι θετικοί και έτσι προχωράμε σε λεμφαδενικό καθαρισμό της μασχάλης [212-214].

2.9.2.3.2 Λεμφαδενικός καθαρισμός μασχάλης

Παλαιότερα εφαρμοζόταν σε κάθε διηθητικό καρκίνωμα, αφού επικρατούσε η άποψη πως συμβάλλει στην επιβίωση των ασθενών. Η άποψη αυτή έχει πλέον εγκαταλειφθεί ενώ με την ανίχνευση του λεμφαδένα φρουρού εφαρμόζεται επί: 1/ Θετικού λεμφαδένα φρουρού, 2/ Αδυναμίας εξεύρεσης λεμφαδένα φρουρού και 3/ Προχωρημένου καρκινώματος. Συνεπώς, μεγάλος αριθμός ασθενών με καρκίνο μαστού απαλλάσσεται από το λεμφαδενικό καθαρισμό και τη νοσηρότητα που επιφέρει με επιπλοκές όπως σερώματα/συλλογές, διατομή νεύρων (αισθητικών και κινητικών) και λεμφοίδημα. Όταν εφαρμόζεται, διακρίνεται ανάλογα με τα χειρουργικά επίπεδα της μασχάλης σε 1^ο, 2^ο και 3^ο επιπέδου (Κεφάλαιο 1, Εδάφιο 1.3, Πίνακας 1).

Συνήθως αφορά τους λεμφαδένες 1^ο και 2^ο επιπέδου και θεωρείται πλήρης όταν περιέχει τουλάχιστον 10 λεμφαδένες [215, 216].

2.9.2.4 Χημειοθεραπεία

Η προεγχειρητική χημειοθεραπεία ενδείκνυται σε ασθενείς με νόσο σταδίου T3 και T4, θετικούς λεμφαδένες, θετικούς ορμονικούς και HER-2 υποδοχείς καθώς και για υποσταδιοποίηση της νόσου, προεγχειρητικά. Τα συνήθη σχήματα περιέχουν Δοκλιταξέμη, Δοξορουβικίνη, Κυκλοφωσφαμίδη, Πακλιταξέλη, Pertuzumab ή Trastuzumab [217-219].

Σε Her2/neu θετικές κακοήθειες του μαστού τα βασικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα είναι τα Trastuzumab και Neratinib, μόνα τους ή σε συνδυασμό με άλλες χημειοθεραπευτικές ουσίες [220]. Το Neratinib ενδείκνυται ως συμπληρωματική χημειοθεραπεία σε μη προχωρημένους HER2/neu θετικούς όγκους, μετά από χορήγηση θεραπείας με Trastuzumab [221]. Σε Her2/neu αρνητικές κακοήθειες του μαστού, τα κύρια χημειοθεραπευτικά σχήματα περιέχουν ταξάνες και ανθρακυκλίνες [222, 223].

Σε τοπική νόσο με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς η θεραπεία περιλαμβάνει Ταμοξιφαίνη, αναστολείς αρωματασών (στεροειδικούς και μη), ανάλογα LHRH (Luteinizing hormone-releasing hormone), ακόμα και ωθηκεκτομή. Η επιλογή του φαρμάκου καθορίζεται από το εμμηνοπαυσιακό στάδιο της ασθενούς. Η Ταμοξιφαίνη μπορεί να χορηγηθεί μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες και είναι αποτελεσματική και σε προεμμηνοπαυσιακές και σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, περιορίζοντας τις υποτροπές της νόσου κατά 40% [224]. Οι αναστολείς αρωματασών μειώνουν κατά 20% παραπάνω τον κίνδυνο υποτροπής. Οι παρενέργειες της Ταμοξιφαίνης περιλαμβάνουν εξάψεις, γυναικολογικά συμπτώματα, καρκίνο μήτρας

και θρομβώσεις, ενώ των αναστολέων αρωματασών εξάψεις, αρθραλγίες και οστεοπόρωση [225-228].

2.9.3 Στάδιο III εκτός T3N1M0

Οι ασθενείς με τοπικά προχωρημένη νόσο διακρίνονται σε αυτούς που είναι υποψήφιοι για χειρουργείο και σε αυτούς που δεν δύνανται να χειρουργηθούν. Η διαφορά με τον μη προχωρημένο τοπικά καρκίνο είναι πως στη συγκεκριμένη περίπτωση οι ασθενείς λαμβάνουν προεγχειρητική χημειοθεραπεία στοχεύοντας στη μείωση του όγκου και την καλύτερη χειρουργική εξαίρεση του. Προεγχειρητική χημειοθεραπεία ενδείκνυται σε όγκους μεγαλύτερους των 5 εκ., σε ασθενείς με υπερκλείδια ή μασχαλιαία λεμφαδενοπάθεια και σε όγκους που εκτείνονται στο δέρμα ή στο θωρακικό τοίχωμα. Αναλόγως των εκφραζόμενων υποδοχέων, το χημειοθεραπευτικό σχήμα ποικίλει, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως [218, 229].

2.9.4 Στάδιο IV και Υποτροπή

Σε τοπική υποτροπή της νόσου η θεραπεία εξαρτάται από την προηγηθείσα θεραπεία [52]. Η χειρουργική αφαίρεση του όγκου είναι η βάση της θεραπείας με ή χωρίς λεμφαδενικό καθαρισμό και με ή χωρίς ακτινοθεραπεία, αναλόγως της προηγηθείσας θεραπευτικής αντιμετώπισης που περιλάμβανε ογκεκτομή / μαστεκτομή, ακτινοθεραπεία και λεμφαδενικό καθαρισμό.

Σε οστική νόσο η τοπική ακτινοβολία χρησιμοποιείται για αποφυγή καταστροφικών επιπλοκών, όπως είναι η πίεση του νωτιαίου μυελού ή παθολογικά κατάγματα. Αν το προσδόκιμο επιβίωσης είναι μεγαλύτερο των 3 μηνών μπορούν να χορηγηθούν διφωσφονικά όπως το Ζολενδρικό οξύ και η Παμινδρονάτη [180].

Σε συστηματική νόσο, η χορήγηση ενός μόνο κυτταροτοξικού παράγοντα προτιμάται από συνδυασμό περισσότερων, λόγω λιγότερων ανεπιθύμητων ενεργειών. Παράλληλα, η θετική έκφραση ορμονικών υποδοχέων αποτελεί θετικό προγνωστικό δείκτη για την ανταπόκριση στη θεραπεία και τότε προτιμάται η ενδοκρινική θεραπεία η οποία τροποποιείται αναλόγως της εμμηνοπαυσιακής καταστάσεως της ασθενούς. Η χημειοθεραπεία περιλαμβάνει μονοθεραπεία με ταξάνες, αντιμεταβολίτες, ανθρακυκλίνες, αναστολείς μικροσωληνίσκων ή ακόμα και συνδυασμό αυτών [530].

Σε HER2/neu αρνητικούς καρκίνους οι θεραπευτικές επιλογές περιλαμβάνουν τη μονοθεραπεία με κυτταροτοξικό παράγοντα, συνδυασμό του με αντιαγγειογενετικό παράγοντα όπως το Bevacizumab, συνδυασμό κυτταροτοξικών παραγόντων, χορήγηση Olaparib (PARP-inhibitor) και ενδοκρινική θεραπεία [180, 231, 232].

Οφείλει να τονιστεί πως μεταστατική νόσος μπορεί να ανευρεθεί σε οποιοδήποτε όργανο όπως πνεύμονας, ήπαρ, εγκέφαλος ή οστά. Ακόμα και μετά την εξαίρεση της πρωτοπαθούς εστίας μπορεί να παραμείνουν μικρομεταστάσεις, οι οποίες μπορεί να εμφανιστούν κλινικά, πρώιμα ή μετά από αρκετά χρόνια. Η τάση για υποτροπή και μετάσταση του καρκίνου του μαστού διαφέρει και αυτό οφείλεται στην μοριακή παθογένεια της νόσου. Δυστυχώς 30% των πρώιμων καρκίνων του μαστού εμφανίζουν μετάχρονη μεταστατική εκδήλωση.

2.10 Πρόγνωση

Η επιβίωση του καρκίνου του μαστού σε σχέση με το στάδιο της νόσου παρατίθεται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 22) [233].

Πίνακας 22: Επιβίωση του καρκίνου του μαστού σε σχέση με το στάδιο της νόσου.

Στάδιο	5-ετής επιβίωση
0	100%
I	98%
IIA	88%
IIB	76%
IIIA	56%
IIIB	49%
IV	16%

2.11 Μοριακή ταξινόμηση

Η ανάγκη βελτίωσης των ανωτέρω ποσοστών και η αδυναμία των συμβατικών θεραπευτικών μεθόδων να αντιμετωπίσουν όλες τις περιπτώσεις του καρκίνου του μαστού, κατήθυναν την έρευνα στην αναζήτηση νέων θεραπευτικών επιλογών, απαρχή της οποίας ήταν μια νέα κατηγοριοποίηση των καρκίνων του μαστού με βάση το μοριακά χαρακτηριστικά τους.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο καρκίνος του μαστού είναι μια ετερογενής νόσος με διαφόρους βιολογικούς υπότυπους και ξεχωριστές συμπεριφορές, ανταποκρίσεις στην θεραπεία και πρόγνωση. Αυτοί καθορίζονται από την ύπαρξη γονιδίων που σχετίζονται με τους υποδοχείς οιστρογόνων, τον ανθρώπινο επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (Human Epidermal Growth Factor 2, HER2) και ορισμένα άλλα γονίδια. Έτσι, οι καρκίνοι του μαστού με βάση την πλέον αποδεκτή μοριακή ταξινόμηση, διακρίνονται σε πέντε υπότυπους, ανάλογα με την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων. Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον Πίνακα 23 και αποτελούν τη βάση για στοχευμένες θεραπείες και ορμονοθεραπεία, πέραν της χειρουργικής θεραπείας (που δεν καταγράφεται στον Πίνακα 23) [89, 234-239]:

Πίνακας 23: Μοριακοί υπότυποι καρκίνου του μαστού.

Υπότυπος	Μοριακοί υποδοχείς	Κυτταρικές σειρές	Χαρακτηριστικά
Luminal A	ER+, PR±, HER2-	MCF-7 T47D	-Αντιπροσωπεύουν το 50-60% και το 15-20% των καρκίνων του μαστού, αντίστοιχα.
Luminal B	ER+, PR±, HER2+	PR BT-474 ZR-75	-Σχετίζονται γενικά με καλή πρόγνωση. -Εκφράζουν τον υποδοχέα οιστρογόνων (ER+) που εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση και τη διήθηση των καρκινικών κυττάρων. -Οι ασθενείς με Luminal B εμφανίζουν συχνά χειρότερη πρόγνωση από αυτούς με Luminal A, πιθανώς λόγω ενίσχυσης του HER2 που σχετίζεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. -Οι Luminal B έχουν υψηλότερο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

HER2+	ER-, PR-, HER2+	MDA-MB-453	<p>-Ενισχύεται το ογκογονίδιο <i>HER2</i>.</p> <p>-Αυτοί οι όγκοι είναι ER- δεν ανταποκρίνονται στην ορμονοθεραπεία.</p> <p>-Οι στοχευμένες θεραπείες βελτίωσαν τα κλινικά αποτελέσματα.</p>
Triple negative (Basal-like)	ER-, PR-, HER2-	BT-20 MDA-MB-468	<p>-Σχετίζονται με κακή πρόγνωση.</p> <p>-Δεν εκφράζει μοριακούς υποδοχείς.</p>
Triple negative (Claudin-low)	ER-, PR-, HER2-	BT549 Hs578T MDA-MB-231	<p>-Ταξινομούνται περαιτέρω σε αρκετούς υπότυπους.</p> <p>-Οι Basal-like εκφράζουν ορισμένα χαρακτηριστικά των μυοεπιθηλιακών κυττάρων, είναι πολύ επιθετικοί και σχετίζονται με πολύ κακή πρόγνωση.</p> <p>-Οι Claudin-low εκφράζουν χαρακτηριστικά επιθηλιακών, μεσεγχυματικών και βλαστικών κυττάρων και επίσης</p>

			<p>σχετίζονται με κακή πρόγνωση.</p> <p>-Η νεοεπικουρική θεραπεία δε βελτιώνει τα αποτελέσματα.</p> <p>-Οι στοχευμένες θεραπείες φαίνεται να έχουν υποσχόμενα αποτελέσματα.</p>
--	--	--	---

Ιδιαίτερη μνεία θα γίνει για τον τριπλά αρνητικό καρκίνο (Triple Negative Breast Cancer, TNBC), καθότι αποτελεί τον πλέον επιθετικό μοριακό υπότυπο. Το 2017, αποτέλεσε το 15% όλων των καινούργιων περιστατικών καρκίνου μαστού στις ΗΠΑ [99, 240-243]. Πολλές επιδημιολογικές μελέτες ανέδειξαν ότι ο TNBC είναι πιο πιθανό να εμφανιστεί σε γυναίκες με πρώιμη εμμηναρχή, υψηλότερο δείκτη μάζας σώματος (BMI), μικρότερη διάρκεια θηλασμού και ότι είναι συχνότερος σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [244]. Στερείται έκφρασης του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού παράγοντα 2 (Human Epidermal Growth Factor 2 Receptor, HER2) και ορμονικών υποδοχέων, οιστρογονικών και προγεστερονικών [245].

Θεωρείται πιο επιθετικός από άλλους υπότυπους και σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση [241, 246]. Ο συγκεκριμένος τύπος καρκίνου έχει επιθετική συμπεριφορά, αναπτύσσεται ραγδαία και μεθίσταται νωρίς, συνήθως στον εγκέφαλο και τους πνεύμονες και σπανιότερα στα οστά και το ήπαρ. Επίσης, οι ασθενείς με TNBC τείνουν να εμφανίσουν υποτροπές τα πρώτα 4 χρόνια από την θεραπεία ενώ από μελέτες διαφαίνεται πως ο κίνδυνος υποτροπής είναι πολύ μικρός, μετά από 8 χρόνια ελεύθερα νόσου [240].

Συγκριτικά με άλλους καρκίνους του μαστού, ο TNBC είναι λιγότερο διαφοροποιήμενος στην κατάταξη Bloom-Richardson. Σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση και η χημειοθεραπεία σπάνια είναι αποτελεσματική [55, 247, 248]. Πολλές μελέτες έχουν καταδείξει τη συσχέτιση του TNBC με διαταραχές της λειτουργίας των BRCA γονιδίων και των πρωτεϊνικών τους προϊόντων [248, 249]. Παράλληλα, υπερεκφράζει τον υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα c-Met (c-Met Growth Factor Receptor, MGFR) ο οποίος σχετίζεται με το σηματοδοτικό μονοπάτι που εκκινεί την εξαλλαγή των επιθηλιακών και μεσεγχυματικών κυττάρων. Επιπλέον, έχουν παρατηρηθεί: μεταλλάξεις στο γονίδιο p53, απώλεια του PTEN και της ετεροζυγωτίας των loci 4p14, 4p15.3 m 5q11.1, 5q14 και 18q22-23 και ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού της PI3/AKT [250]. Άλλες μοριακές βλάβες περιλαμβάνουν μεταλλάξεις στα PTEN, TSCI, INPP48, FGFR1, EGFR, IGF1R, ERBB2, ERBB3, ERBB4, BRAF, KRAS και HRAS, καθώς και διαταραχές στα μονοπάτια PI3K/MTOR και RAS/RAF/MEK [251-253].

Ο TNBC κατηγοριοποιείται περεταίρω στους κυρίως στους κάτωθι διαφορετικούς μοριακούς υπότυπους:

- Basal-Like 1 (BL1) και Basal-Like 2 (BL2).
- Immunomodulatory (IM).
- Mesenchymal (M).
- Mesenchymal Stem-Like (MSL).
- Luminal Androgen Receptor (LAR).
- Unstable (UNS).

Ωστόσο, υπάρχουν και άλλες προτάσεις κατηγοριοποίησης από διαφορετικούς ερευνητές. Οι ομοιότητες και οι διαφορές τους περιγράφονται στον Πίνακα 24.

Πίνακας 24: Προτεινόμενοι από διάφορες ομάδες ερευνητών μοριακοί υπότυποι τριπλά αρνητικού καρκίνου (TNBC).

Υπότυποι	Ερευνητική ομάδα					
	Lehmann	Burstein	Du	Barton	Lehmann	Prado-Vázquez
BL			+			+
BL1	+				+	
BL2	+				+	
BLIS		+				
BLIA		+				
IM	+		+			
M	+	+			+	
MSL	+		+			
LAR	+	+			+	+
UNS	+					
LA			+			
HER2-E			+			
AR+				+		
QNBE				+		
CLDN-L						+
CLDN-H						+

BL: Basal-Like, **BL1:** Basal-Like 1, **BL2:** Basal-Like 2, **BLIS:** Basal-Like Immune Suppressed, **BLIA:** Basal-Like Immune Activated, **IM:** Immunomodulatory, **M:** Mesenchymal, **MSL:** Mesenchymal Stem-Like, **LAR:** Luminal Androgen Receptor, **UNS:** Unstable, **LA:** Luminal/Apocrine, **HER2-E:** HER2-Enriched, **AR+:** Androgen

Receptor +, **QNBC**: Quadruple-Negative Breast Cancer, **CLDN-L**: Claudin-Low, **CLDN-H**: Claudin-H.

Κάθε υπότυπος του TNBC, ο οποίος εκφράζει διαφορετικά γονίδια, έχει διαφορετική πρόγνωση. Την καλύτερη πρόγνωση έχει ο μεσεγγυματικού τύπου (M) και τη χειρότερη ο ανδρογονικού τύπου (LAR). Ιστολογικά, η πλειοψηφία των περιπτώσεων με TNBC είναι μη ειδικού τύπου διηθητικοί καρκίνοι και εμφανίζονται σε ασθενείς με μυελοειδές, μεταπλαστικό, αποκρινές, εκκριτικό, λοβιακό ή προερχόμενο από λιποκύτταρα καρκίνο μαστού και χαρακτηρίζονται από παρουσία νέκρωσης [254]. Οι μεταστάσεις μπορεί είναι πιο σπάνιες στα οστά συγκριτικά με καρκίνους με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς, ωστόσο είναι πιο συχνές στα σπλάγχνα [244].

Οι ασθενείς με TNBC δεν επωφελούνται από ορμονική θεραπεία ή χορήγηση αντισωμάτων κατά του HER-2 (Trastuzumab), καθώς εξ' ορισμού οι TNBC δεν εκφράζουν υποδοχείς οιστρογόνων, προγεστερόνης και HER2. Έτσι, το χειρουργείο, η ακτινοβολία και η χημειοθεραπεία, είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό, παραμένουν τα μόνα βασικά θεραπευτικά εργαλεία για ασθενείς με τον συγκεκριμένο υπότυπο καρκίνου. Από αυτούς, το 60-70% δεν ανταποκρίνεται στη χημειοθεραπεία, γεγονός που καταδεικνύει την ανάγκη εξεύρεσης εξατομικευμένης θεραπείας [255, 256].

Έτσι, πολλές μελέτες και κλινικές δοκιμές διενεργούνται ώστε καινούργιες θεραπείες να βρεθούν και να βελτιώσουν την πρόγνωση. Αναστολείς των απακετυλασών των ιστονών (που είναι και το αντικείμενο της παρούσης Διδακτορικής Διατριβής), Αντιαγγειογενετικοί παράγοντες, Αντι-ανδρογόνα, Αναστολείς PARP (poly ADP-ribose polymerase-1 inhibitors), Ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες και μόρια που στοχεύουν το μονοπάτι PI3K/AMT/TOR, έχουν προταθεί ως πιθανοί στόχοι

για τη θεραπεία του TNBC [89, 239, 257, 258]. Ποικίλες μελέτες απαιτούνται προκειμένου οι νέες θεραπείες να εφαρμοστούν στην κλινική πράξη κατά του TNBC, είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με ήδη υπάρχοντα χημειοθεραπευτικά φάρμακα [259-263].

2.12 Θεραπευτικές προκλήσεις

Όπως προαναφέρθηκε και ανωτέρω, ο καρκίνος του μαστού είναι μια νόσος με καλή πρόγνωση εφόσον διαγνωσθεί νωρίς. Αντίθετα σε προχωρημένα στάδια η πρόγνωση είναι δυσμενής. Επίσης, ο ιστολογικός τύπος είναι καθοριστικός για την πρόγνωση των ασθενών. Η αδυναμία των υπάρχουσών θεραπευτικών επιλογών και η ανθεκτικότητα του όγκου, έστρεψε τους ερευνητές στην αναζήτηση του μοριακού υποβάθρου του καρκίνου του μαστού και πλέον συνιστά αντικείμενο πληθώρας μελετών που αποσκοπούν στην ανακάλυψη νέων στοχευμένων θεραπειών.

Υποσχόμενο θεραπευτικό ρόλο δείχνουν να παρουσιάζουν:

- Αναστολείς των απακετυλασών των ιστονών.
- Αναστολείς VEGFR.
- Αναστολείς PARP.
- Αναστολείς PD-1/PD-L1.
- Αναστολείς σηματοδοτικού μονοπατιού PI3K/AMT/TOR.
- Αναστολείς πρωτεασώματος.
- Αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνών.
- Αναστολείς τυροσινικών κινασών.
- Αναστολείς NF-κβ.
- Αναστολείς IL-8.
- Αντι-ανδρογόνα.

- Μονοκλωνικά αντισώματα.
- Ανοσοθεραπεία.

Οι ανωτέρω θεραπευτικές επιλογές, δοκιμάζονται είτε ως μονοθεραπεία είτε συγχρηγούμενες με ήδη υπάρχοντα φάρμακα. Παραδείγματος χάριν, μια τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη συνέκρινε την Πακλιταξέλη ως μονοθεραπεία, με το συνδυασμό της με το Bevacizumab, σε HER2-αρνητικό μεταστατικό καρκίνο μαστού [264]. Προκλινικές μελέτες λαμβάνουν χώρα με μονοκλωνικά αντισώματα όπως το Pembrolizumab, και στοχεύουν στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος κατά των κακοήθων κυττάρων [265-267]. Το Olaparib, είναι ένας αναστολέας του PARP και έχει μελετηθεί σε κακοήθειες που σχετίζονται με το γονίδιο BRCA1/2 [268, 269]. Τέλος, ένα άλλο πολλά υποσχόμενο παράδειγμα μελλοντικών στοχευμένων θεραπειών, είναι οι αναστολείς των απακετυλασών των ιστονών (Histone Deacetylase Inhibitors, HDACI), η δράση των οποίων στον καρκίνο του μαστού αποτελεί αντικείμενο της παρούσας Διδακτορικής Έρευνας. Μέλη της νέας αυτής οικογένειας φαρμάκων όπως η Panobinostat και η Belinostat, δείχνουν να αναστέλλουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων στο μαστό [239, 270-274]. Η δράση των HDACI - μέσω ποικίλων μοριακών μηχανισμών - που θα αναλυθεί στο Κεφάλαιο 3, έχει καταδειχθεί έναντι πολλών κακοηθειών, ωστόσο στην περίπτωση του μαστού τα δεδομένα παραμένουν περιορισμένα και χρήζουν περαιτέρω έρευνας. Αυτός είναι και ο σκοπός της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής, να διαλευκάνει δηλαδή τη δράση των αναστολέων των HDACI στον καρκίνο του μαστού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΠΑΚΕΤΥΛΑΣΕΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ

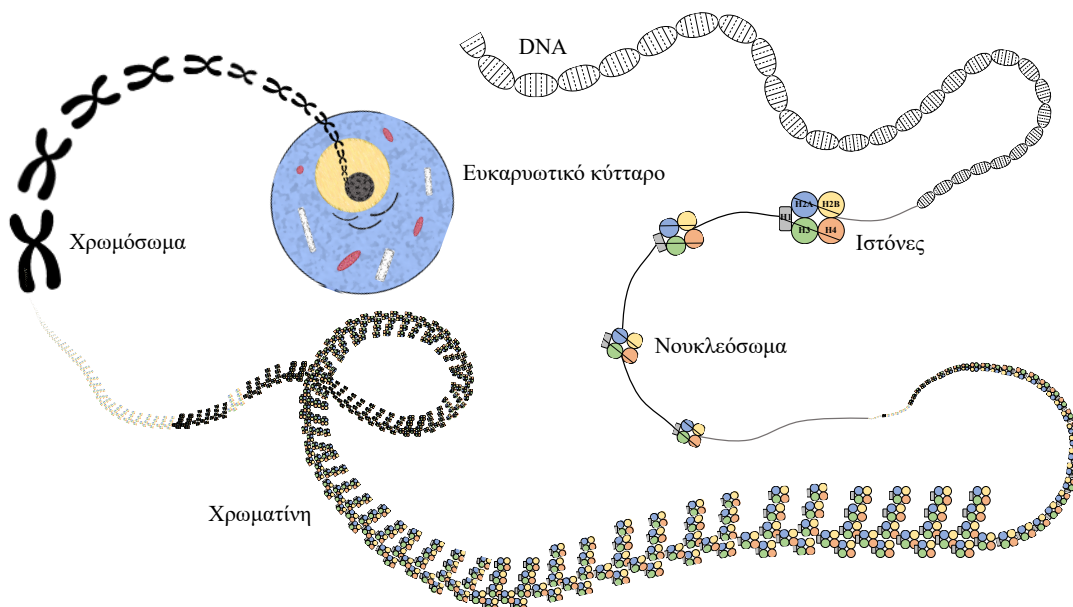
3.1 Ιστόνες και επιγενετικές τροποποιήσεις

3.1.1 Οργάνωση χρωματίνης και ιστόνες

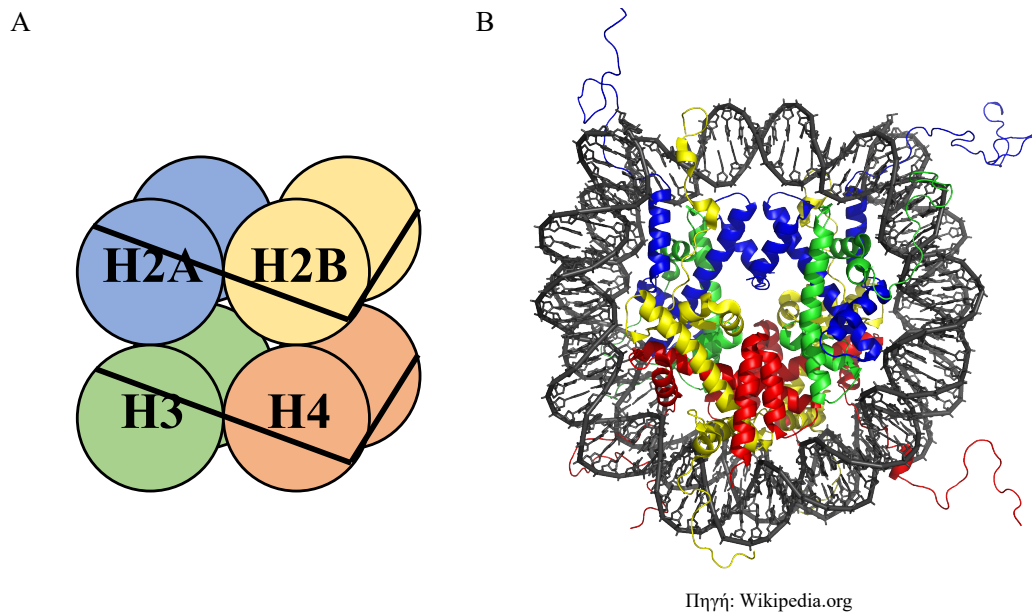
Το νουκλεόσωμα συνιστά το βασικό επίπεδο οργάνωσης του γενετικού υλικού και αποτελείται από έναν πυρήνα οκτώ ιστονών και τη διπλή έλικα του DNA που περιστρέφεται γύρω από τις αυτές (Εικόνα 1). Με αυτή τη δομή, το γενετικό υλικό του πυρήνα ρυθμίζει τις λειτουργίες της μεταγραφής, της αντιγραφής, της μετάφρασης και της κυτταρικής διαίρεσης, ανάλογα με καλύτερη δυνατή προσπελασιμότητα της χρωματίνης.

Συγκεκριμένα, στο νουκλεόσωμα υπάρχουν δύο αντίγραφα από τις ιστόνες H2A, H2B, H3 και H4, οι οποίες δημιουργούν το οκταμερές, ενώ η διπλή έλικα έχει μήκος 145 με 147 ζευγών βάσεων, δημιουργώντας έτσι ένα «κομβολογιοειδές» σχήμα. Η συγκεκριμένη δομή - πιθανώς προερχόμενη από κοινό πρόγονο - είναι όμοια στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Η ιστόνη H1 έχει συνδετικό ρόλο συμβάλλοντας στην πυκνότητα της ανωτέρω δομής (Εικόνα 1, 2) [275, 276].

Εικόνα 1: Το γενετικό υλικό ευκαρυωτικού κυττάρου.



Εικόνα 2: Δομή νουκλεοσώματος. A: Οκταμερές των ιστονών με το DNA να περιελίσσεται γύρω από αυτό. B: Κρυσταλλική δομή.



Το συγκεκριμένο δομικό πρότυπο συμβάλει στη συμύκνωση του γενετικού υλικού και στη δημιουργία ανωτέρων επιπέδων οργάνωσης, καταλήγοντας στα χρωμοσώματα. Παράλληλα το νουκλεόσωμα ασκεί και άλλες ρυθμιστικές δράσεις: Μετα-μεταφραστικές αλλαγές των αμινοτελικών και καρβοξυτελικών άκρων των ιστονών επιφέρουν αλλαγές της δομής της χρωματίνης και της δυνατότητας πρόσβασης μεταγραφικών παραγόντων στο DNA. Οι μη τροποποιημένες θετικά φορτισμένες ιστόνες αλληλεπιδρούν με το αρνητικά φορτισμένο μόριο του DNA, αναστέλλοντας την πρόσδεση RNA-πολυμεράσης και άλλων μεταγραφικών παραγόντων. Η ακετυλίωση επάγει αλλαγές στο φορτίο των ιστονών, μειώνοντας έτσι την προσκόλλησή τους στο μόριο του DNA, επάγοντας έτσι τη μεταγραφή [277]. Η ακετυλίωση, η μεθυλίωση, η φωσφορυλίωση, η σουμοϋλίωση, η ουμπικουϊτίνωση συνιστούν επιγενετικές διαδικασίες τροποποίησης των ιστονών, που εμπλέκονται στην κυτταρική διαφοροποίηση και το σχηματισμό διαφορετικών ιστών. Οι παραπάνω

διαδικασίες διαχειρίζονται αναλόγως τις περιοχές της χρωματίνης και ρυθμίζουν έτσι τη μεταγραφή [278, 279].

Η αντικατάσταση των ιστονών, λόγω διαταραχών του οκταμερούς ή αποσυσχέτισης με το DNA, οφείλεται σε επιγενετικές τροποποιήσεις που εν τέλει συχνά αλλοιώνουν τη δομή του νουκλεοσώματος. Η τοποθέτηση διαφορετικών μη τυπικών μορφών ιστονών επηρεάζεται τόσο από το είδος των κυττάρων όσο και από την συγκεκριμένη περιοχή της χρωματίνης, δημιουργώντας έτσι δύο διαφορετικές κατηγορίες παραλλαγών των ιστονών [279]. Έτσι, η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει πρωτεΐνες προερχόμενες από γονίδια χωρίς εσόνια, τα οποία διατάσσονται σε σειρά επιφέροντας υψηλά επίπεδα έκφρασης στη φάση S. Αντίστοιχα, η δεύτερη κατηγορία περιέχει πρωτεΐνες που συντίθενται ανεξαρτήτως της φάσης του κυτταρικού κύκλου. Συγκεκριμένα, οι παραλλαγές των H3.3 και H2A.Z ρυθμίζουν την μεταγραφή ενώ άλλες παραλλαγές των ιστονών στοχεύουν έναντι κυτταρικών λειτουργιών ή καθορισμένων φάσεων του κυτταρικού κύκλου ή συγκεκριμένων ιστών. Η H3.1, παραδείγματος χάριν, ενσωματώνεται κατά τη διάρκεια της αντιγραφής, η H3.5 διευκολύνει τη συμπύκνωση του DNA της σειράς των γεννητικών κυττάρων και η CenH3 καθορίζει λειτουργίες του κεντρομεριδιακού DNA. Επιπροσθέτως, οφείλει να τονιστεί πως οι επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών λαμβάνουν χώρα στην πλάγια επιφάνεια του νουκλεοσώματος, εκτός της αμινοτελικής ουράς, αποσταθεροποιώντας το νουκλεόσωμα και επάγοντας τη γονιδιακή μεταγραφή και τη μεταβολή των πρωτεϊνών του πυρήνα του, με τον ακριβή μηχανισμό ωστόσο, να παραμένει άγνωστος [280].

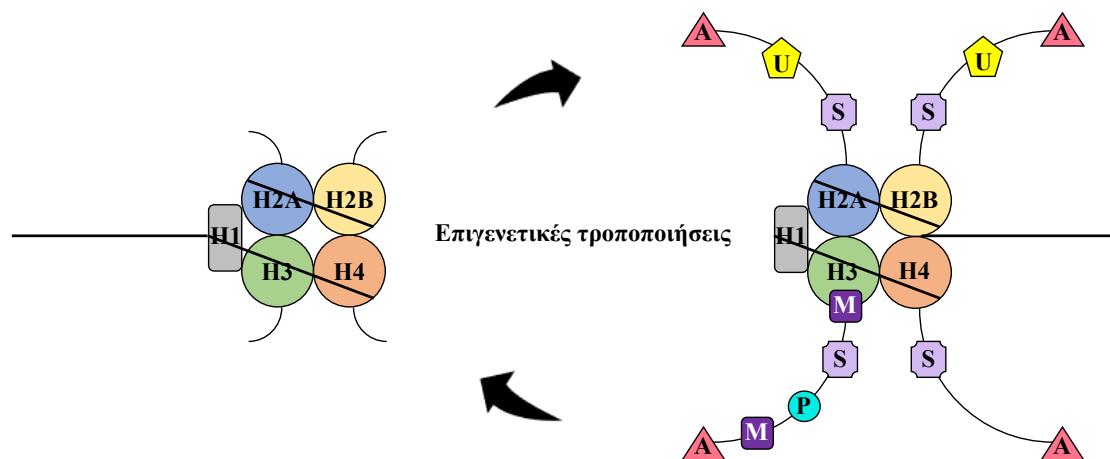
Οι εκτενείς μελέτες πάνω στους προαναφερθέντες επιγενετικούς μηχανισμούς και στην οργάνωση της χρωματίνης, αποσκοπούν στην πληρέστερη αντίληψή μας γύρω

από τις λειτουργίες του κυττάρου με απώτερο σκοπό την ανάπτυξη πληρέστερων προσεγγίσεων στο μέλλον.

3.1.2 Επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, οι ιστόνες θα υποστούν πληθώρα επιγενετικών τροποποιήσεων που μεταξύ άλλων περιλαμβάνουν την ακετυλίωση, τη μεθυλίωση, τη φωσφορυλίωση, τη σουμοϋλίωση και την ουμπικουϊτίνωση (Εικόνα 3) [278, 279].

Εικόνα 3: Επιγενετικές τροποποιήσεις ιστονών.



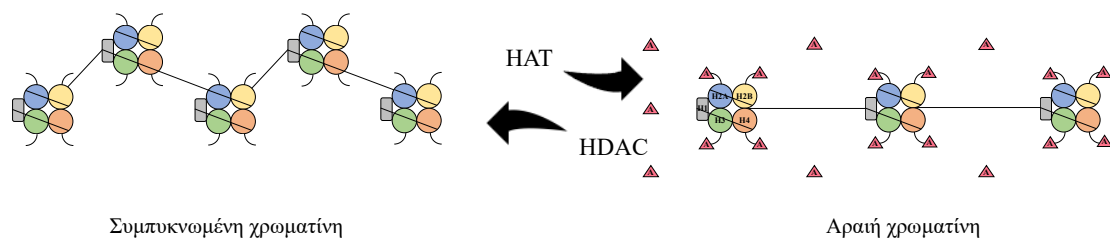
3.1.2.1 Ακετυλίωση

Η ακετυλίωση συνιστά βασική επιγενετική τροποποίηση των ιστονών, που συνίσταται σε προσθήκη ακετυλομάδας και πραγματοποιείται μέσω των ακετυλοτρανσφερασών των ιστονών (Histone Acetyl-Transferases, HAT) (Εικόνα 4). Οι ιστόνες αλληλεπιδρούν σε μικρότερο βαθμό με το αρνητικά φορτισμένο μόριο του DNA, αδρανοποιώντας το θετικό φορτίο της λυσίνης. Συνεπώς, επιτελείται καλύτερη πρόσβαση των μεταγραφικών παραγόντων στο DNA με αποτέλεσμα την προαγωγή της

μεταγραφής. Παράλληλα, η πρόσδεση μεταγραφικών παραγόντων στο DNA ενισχύεται από την εμφάνιση συμπλόκων αναδιάταξης της χρωματίνης εξαρτωμένων από το ATP, όπως είναι το σύμπλοκο SWI/SNF [277, 279, 281].

Την ανωτέρω επιγενετική τροποποίηση ανταγωνίζεται η δράση των απακετυλασών των ιστονών (Histone Deacetylases, HDAC), οι οποίες απομακρύνουν ακετυλικά μόρια από τις πρωτεϊνικές ουρές και έτσι η ακετυλίωση είναι αναστρέψιμη διεργασία (Εικόνα 4). Δηλαδή, η απακετυλίωση των ιστονών, συνιστά μια αντίστροφη διαδικασία, η οποία επαναφέρει το θετικό φορτίο, αποκαθιστά την ηλεκτρική ισορροπία, συμπυκνώνει τη χρωματίνη και αναστέλλει τη μεταγραφή [282, 283].

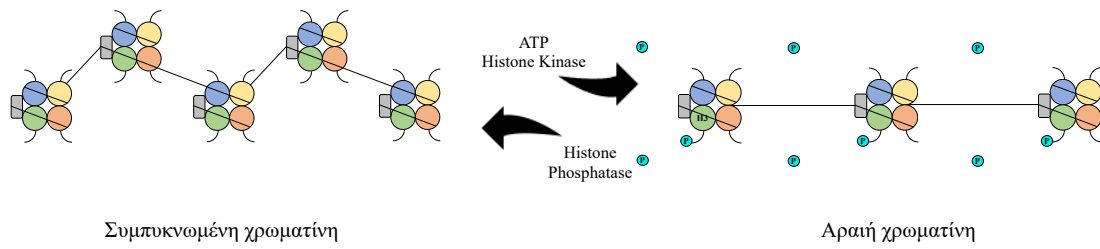
Εικόνα 4: Ακετυλίωση των ιστονών.



3.1.2.2 Φωσφορυλίωση

Η φωσφορυλίωση των ιστονών συνιστά μια δυναμική διεργασία που λαμβάνει χώρα στο αμινοτελικό άκρο καταλοίπων αμινοξέων όπως σερίνης, θρεονίνης και τυροσίνης. Κινάσες και φωσφατάσες είναι υπεύθυνες για την παραπάνω διαδικασία. Συγκεκριμένα, οι πρώτες μετακινούν στην υδροξυλομάδα της πλαγίας αλυσού του αμινοξέος μία φωσφορική ομάδα από ATP. Έτσι, αρνητικοποιείται ακόμα περαιτέρω το φορτίο των ιστονών τροποποιώντας τη δομή της χρωματίνης. Η αντίστροφη διαδικασία επάγεται από τις φωσφατάσες και προκαλεί συμπύκνωση της χρωματίνης (Εικόνα 5) [279].

Εικόνα 5: Φωσφορυλίωση των ιστονών.

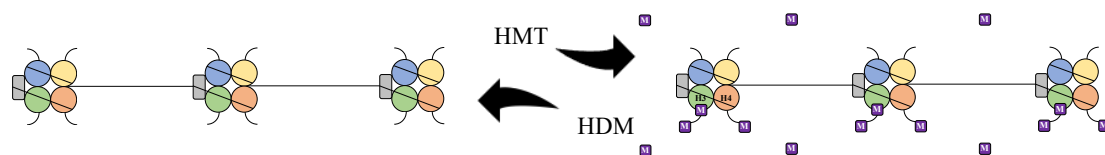


3.1.2.3 Μεθυλίωση

Στις πλάγιες αλυσίδες της αργινίνης και της λυσίνης λαμβάνει χώρα η μεθυλίωση των ιστονών που επάγεται από τις μεθυλοτρανσφεράσες των ιστονών (Histone Methyltransferases, HMT). Στη συγκεκριμένη διαδικασία δεν παρατηρείται μεταβολή του ιστονικού φορτίου. Η μεθυλίωση δε συντελείται πάντα συμμετρικά, με τη λυσίνη να υπόκειται σε μονο-, δι- και τρι-μεθυλίωση και την αργινίνη σε μόνο- και δι-μεθυλίωση (Εικόνα 6).

Η ετεροχρωματίνη διαμορφώνεται χάρις στη μεθυλίωση της λυσίνης (K) 9 και 27 στο άκρο της H3 ιστόνης. Έτσι, με την H3K9 μεθυλίωση κινητοποιείται η πρωτεΐνη 1 της ετεροχρωματίνης (Heterochromatin Protein 1, HP1), η οποία με τη σειρά της ενώνεται με άλλες HP1 πρωτεΐνες δημιουργώντας ετεροχρωματίνη. Επιπροσθέτως, η HP1 επάγει τη λειτουργική καταστολή του DNA. Αντίθετα, η H3K27 μεθυλίωση επιφέρει καταστολή της μεταγραφής. Η αντίστροφη διαδικασία επάγεται από τις απομεθυλάσες των ιστονών (Histone Demethylases, HDM) (Εικόνα 6) [284-289].

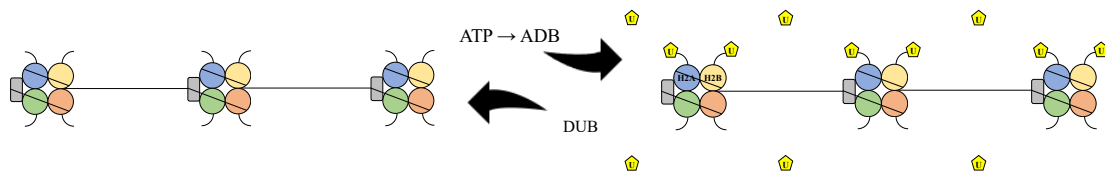
Εικόνα 6: Μεθυλίωση των ιστονών.



3.1.2.4 Ουμπικουϊτίνωση

Η ουμπικουϊτίνωση επιφέρει μια ιδιαίτερος μεγάλη μοριακή ομοιοπολική μεταβολή των πλαγίων αλυσίδων των αμινοξέων. Συγκεκριμένα, η ουμπικουϊτίνη αποτελεί ένα πολυπεπτίδιο 76 αμινοξέων, που έρχεται μέσω ενζυμικής δράσης (ATP, ADB) σε επαφή με κατάλοιπα λυσίνης των ιστονών. Τα ένζυμα καθορίζουν όχι μόνο τον αριθμό των μορίων ουμπικουϊτίνης στο συγκεκριμένο μόριο λυσίνης, αλλά και την αλληλεπίδρασή τους με το υπόστρωμα. Δύο από τις θέσεις τροποποίησης βρίσκονται εντός των ιστονών H2A και H2B, με την πρώτη να συμμετέχει στην αποσιώπηση γονιδίων και τη δεύτερη στην επαγωγή της μεταγραφής. Τροποποιήσεις στην ουμπικουϊτίνωση επιφέρουν διαταραχές στη μείωση και τη μίτωση. Η ουμπικουϊτίνωση είναι αναστρέψιμη μέσω των ισοπεπτιδασών (DUB) (Εικόνα 7) [275, 290-292].

Εικόνα 7: Ουμπικουϊτίνωση των ιστονών.

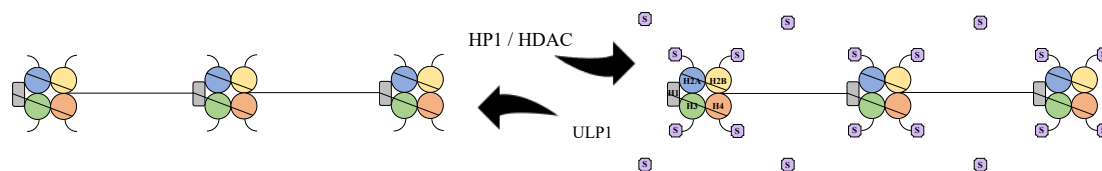


3.1.2.5 Σουμοϋλίωση

Η σουμοϋλίωση (Small Ubiquitin-like Modifier, SUMO) ομοιάζει με την ουμπικουϊτίνωση καθότι προσδένεται ομοιοπολικά ένα μόριο παρόμοιο με την ουμπικουϊτίνη. Η πρόσδεση σε κατάλοιπα λυσίνης επιτελείται με παρόμοιο ενζυμικό τρόπο. Η δράση της σουμοϋλίωσης είναι πιθανότατα ανταγωνιστική προς άλλες τροποποιήσεις όπως είναι η ακετυλίωση και η ουμπικουϊτίνωση, διότι αφορά παρόμοια σημεία πρόσδεσης. Επιπρόσθετα, η σουμοϋλίωση αφορά όλες τις ιστόνες (Εικόνα 8).

Ως εκ τούτου, η δραστηριότητά της θεωρείται κατασταλτική, συμπεριλαμβάνοντας τη μεταγραφή [293-296].

Εικόνα 8: Σουμοϋλίωση των ιστονών.



3.1.2.6 Άλλες επιγενετικές τροποποιήσεις

Εκτός των ανωτέρω, άλλες επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών συνιστούν η ADB-ριβосуλίωση, η νιτριλίωση, η προλινίωση, η ηλεκτρυλίωση, η βουτυρυλίωση και η προπυλίωση [279, 297].

Οι ανωτέρω επιγενετικές τροποποιήσεις περιγράφονται στον πίνακα (Πίνακας 1) που ακολουθεί [279].

Πίνακας 1: Επιγενετικές τροποποιήσεις των κυριότερων ιστονών.

Ιστόνη	Κατάλοιπο	Τροποποίηση	Δράση
H1.2	Arg54	Μεθυλίωση	Συμπύεση χρωματίνης
		Νιτριλίωση	Μεταγραφή
H2A	Gln105	Μεθυλίωση	rDNA Μεταγραφή
	Arg42	Μεθυλίωση	Μεταγραφή
	Lys56	Μεθυλίωση	Μεταγραφή
		Ακετυλίωση	Αντιγραφή
		Φορμυλίωση	Επιδιόρθωση

H3		Ηλεκτρυλίωση	
	Lys64	Μεθυλίωση Ακετυλίωση	Μεταγραφή
	Lys79	Μεθυλίωση Ακετυλίωση Φορμυλίωση Ηλεκτρυλίωση	Μεταγραφή
	Thr118	Φωσφορυλίωση	Μεταγραφή Επιδιόρθωση
	Lys122	Μεθυλίωση Ακετυλίωση Φορμυλίωση	Μεταγραφή
H4	Lys91	Ακετυλίωση Ουμπικουϊτίνωση Ηλεκτρυλίωση Βουτυρυλίωση Νιτριλίωση Προπυλίωση	Αντιγραφή

3.1.3 Επιγενετικές τροποποιήσεις του γενετικού υλικού

Οι προαναφερθείσες επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών δρουν συνδυαστικά με τη μεθυλίωση του DNA και τα MicroRNA, προάγοντας έτσι τη γονιδιακή έκφραση.

3.1.3.1 Μεθυλίωση του DNA

Η μεθυλίωση του DNA συνιστά την επαγόμενη από DNA-μεθυλοντρασφεράσες (DNA Methyltransferases, DNMT), ομοιοπολική σύνδεση της μεθυλομάδας με βάση κυτοσίνης, κυρίως σε CpG δινουκλεοτίδια. Η μεθυλίωση του DNA συμβάλλει στη διατήρηση της συμπυκνωμένης μορφής της χρωματίνης και καταστέλλει τη μεταγραφή παρεμποδίζοντας την πρόσδεση μεταγραφικών παραγόντων και μετακινώντας πρωτεΐνες πρόσδεσης σε μεθυλιωμένα CpG νουκλεοτίδια (Methyl-CpG Binding Proteins, MBPs), που δρουν στις απακετυλάσες των ιστονών (HDAC) καταστέλλοντας περαιτέρω τη μεταγραφή [287, 298, 299].

3.1.3.2 Πρόσδεση των microRNA

Τα MicroRNA (miRNA) υφίστανται και αυτά επιγενετικό έλεγχο, ωστόσο συνιστούν ταυτόχρονα βασικούς ρυθμιστές της μετα-μεταγραφικής γονιδιακής έκφρασης. Για την ακρίβεια αποτελούν μικρά σύνολα αποτελούμενα από 22 μη-κωδικοποιούντα νουκλεοτίδια, που σχηματίζουν ζεύγη βάσεων με συμπληρωματικά κωδικοποιούντα RNA, παρεμποδίζοντας τη μετάφραση των συγκεκριμένων μορίων RNA. Τα ώριμα miRNA δεν υπάρχουν ελεύθερα αλλά ενσωματώνονται στο σύμπλοκο αποσιώπησης RNA (RNA-Induced Silencing Complex, RISC). Τα iRNA προέρχονται από περιοχές του DNA που ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση τόσο σε μεταγραφικό όσο και σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο και έχουν ανασταλτικό ρόλο. Έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 1.800 ανθρώπινα miRNA, με παραπάνω από ένα στόχο το καθένα τους και φαίνεται πως ρυθμίζουν πολλές κυτταρικές λειτουργίες, όπως η κυτταρική ανάπτυξη, διαφοροποίηση και απόπτωση [300-305].

3.1.4 Επιγενετικές τροποποιήσεις και καρκίνος

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών δρουν συνδυαστικά με τη μεθυλίωση του DNA και τα MicroRNA, οδηγώντας στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, προάγοντας έτσι τη γονιδιακή έκφραση μέσω ενεργοποίησης και καταστολής συγκεκριμένων γονιδίων. Διαταραχή στη ρύθμιση της μεταγραφής μπορεί να οδηγήσει σε μη φυσιολογική κυτταρική λειτουργία. Από την άλλη, είναι πλέον αποδεκτό ότι ο καρκίνος σχετίζεται με διαταραχές της μεταγραφικής ρύθμισης, συνεπώς εύλογα η έρευνα έχει στραφεί γύρω από ένζυμα με κομβικό ρόλο στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, όπως είναι οι ATP-άσες, οι μεθυλτρανσφεράσες, οι ακετυλτρανσφεράσες και οι απακετυλάσες. Παρόλο που ο ακριβής ρόλος αυτών των ενζύμων παραμένει άγνωστος, μεταλλάξεις αυτών φαίνεται να σχετίζονται με την καρκινογένεση και έτσι τα καρκινικά κύτταρα περνάνε από τη μίτωση και οδηγούνται σε διαφοροποίηση αντί διακοπή της μίτωσης και απόπτωση [306].

3.1.4.1 ATP-άσες

Τα εξαρτώμενα από ATP ένζυμα αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης, περιέχουν μια καταλυτική υπομονάδα ATP-άσης που χρησιμοποιεί την ενέργεια από την υδρόλυση του ATP για όλες εκείνες τις επιγενετικές τροποποιήσεις που με τη σειρά τους διαμορφώνουν την προσβασιμότητα του DNA και μεταβάλλουν τις νουκλεοσωμικές δομές. Με βάση τα δομικά τους χαρακτηριστικά διακρίνουμε 4 κατηγορίες ATP-ασών: 1/ Τις SWI/SNF (Switching defective/Sucrose Non-Fermenting), 2/ Τις ISWI (Imitation SWI), 3/ Τις NuRD (Nucleosome Remodeling and Deacetylation)/Mi-2/CHD (Chromodomain, helicase, DNA binding) και 4/ Τις INO80 (Inositol requiring 80).

Οι ATP-άσες ρυθμίζουν ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης της μεταγραφής, της επιδιόρθωσης και της αντιγραφής του DNA και της κυτταρικής διαφοροποίησης. Διαταραχές σε οποιοδήποτε επίπεδο αυτών των διεργασιών μπορεί να οδηγήσει σε ογκογένεση [307, 308].

Οι υποομάδες SNF5, BRG1 και BRM συνιστούν τα πλέον αντιπροσωπευτικά παραδείγματα της συσχέτισης διαταραχών της κατηγορίας SWI/SNF ATP-ασών και καρκινογένεσης. Γενετικές μελέτες τόσο σε ασθενείς όσο και σε μοντέλα πειραματοζώων καταδεικνύουν την ογκοκατασταλτική δράση του SNF5. Για την ακρίβεια σε περιπτώσεις ραβδοειδών όγκων (κυρίως παιδικής ηλικίας) εγκεφάλου, πνευμόνων, νεφρών και μαλακών μορίων, επιθηλιοειδών σαρκωμάτων, νευροδερματικών όγκων, καρκινώματος χοριοειδούς πλέγματος και λευχαιμιών, έχουν ανευρεθεί μεταλλάξεις του SNF5. Επιπρόσθετα, σε γενετικά πειραματικά μοντέλα επίμυων, οι ετεροζυγώτες (επίμυες) που δε διέθεταν το γονίδιο hSNF5/INI1, ήταν επιρρεπείς στην εμφάνιση όγκων [306, 307]. Παρόλο που ο τρόπος που το SNF5 ασκεί την ογκοκατασταλτική του δράση παραμένει άγνωστος, φαίνεται να σχετίζεται με διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G0/G1, κυτταρικό θάνατο και απόπτωση. Επιπρόσθετα, φαίνεται να σχετίζεται με τη διαδικασία της μίτωσης και την επιδιόρθωση του DNA. Οι υποομάδες BRG1 και BRM, φαίνεται και αυτές να εμφανίζουν ογκοκατασταλτικές ιδιότητες. Απώλεια και των δύο αλληλίων του γονιδίου BRG1 έχει παρατηρηθεί σε καρκίνο μαστού, πνεύμονα, ήπατος, προστάτη και παγκρέατος ενώ ταυτόχρονη απώλεια των αλληλίων και του BRG1 και του BRM, έχει παρατηρηθεί σε περιπτώσεις μη μικροκυτταρικού καρκίνου πνεύμονα. Απώλεια του BRM, έχει παρατηρηθεί σε περιπτώσεις καρκίνου ωοθηκών. Επιπρόσθετα, η ανωτέρω ογκοκατασταλτική δράση των BRG1 και BRM έχει παρατηρηθεί και σε πειραματόζωα [307, 308].

Οι διαταραχές των υποομάδων CHD και MTA είναι οι κυριότεροι εκπρόσωποι της συσχέτισης των NuRD/Mi-2/CHD ATP-ασών και καρκινογένεσης. Αναλυτικότερα η υποομάδα CHD αποτελείται από 5 μέλη (CHD1-5) εκ των οποίων το CHD5 φαίνεται να ασκεί ογκοκατασταλτική δράση. Τα MTA1-3 είναι τα μέλη της υποκατηγορίας MTA. Το MTA1 σχετίζεται με διηθητικό δυναμικό και υπερ-εκφράζεται σε περιπτώσεις καρκίνου μαστού, οισοφάγου, στομάχου και παχέος εντέρου. Το MTA3 σχετίζεται και αυτό με περιπτώσεις καρκίνου του μαστού [307].

Τέλος η ομάδα υποομάδα INO80 και μέλη της όπως τα BAF53A, RUVBL1 και RUVBL2, υπερ-εκφράζονται σε μελάνωμα και σε καρκίνους όπως του παχέος εντέρου και της μήτρας [308].

3.1.4.2 Μεθυλτρανσφεράσες

Παρόλο που η μετάλλαξη των μεθυλτρανσφερασών δεν έχει συσχετισθεί με καρκίνο, έχει συσχετισθεί η έλλειψή τους, καθότι πειραματικά μοντέλα με έλλειψη της μεθυλτρανσφεράσης SUV39H παρουσιάζουν αστάθεια της χρωματίνης [309]. Επιπλέον, η αναστολή της μεθυλτρανσφεράσης DOT1L φαίνεται να αποτελεί υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο έναντι λευχαιμιών ενώ διαταραχές της μεθυλτρανσφεράσης EZH2 σχετίζονται με κακή πρόγνωση συμπαγών όγκων συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του προστάτη, του μαστού, του νεφρού και του πνεύμονα [310]. Διαταραχές των μεθυλτρανσφερασών των ιστονών φαίνεται να σχετίζονται με ποικίλους καρκίνους, συμπεριλαμβανομένου του μαστού [311, 312].

3.1.4.3 HAT και HDAC

Στις περισσότερες των περιπτώσεων συσχέτισης επιγενετικών τροποποιήσεων της χρωματίνης και εμφάνισης καρκίνου, ενοχοποιούνται διαταραχές στην ακετυλίωση

των ιστονών και έτσι αποτελούν αντικείμενο έρευνας και στόχευσης για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών [306, 313].

Οι ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (HAT) φαίνεται να έχουν διττό ρόλο: Από τη μια εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, από την άλλη όμως μπορούν να οδηγήσουν και σε κακοήγη μετασχηματισμό ανάλογα με το μοριακό υπόβαθρο και τον τύπο του καρκίνου [314].

Ταυτόχρονα, διαταραχές των απακετυλασών των ιστονών (HDAC) ανιχνεύονται σε πληθώρα καρκίνων όπως πνεύμονα, ήπατος, στομάχου, παγκρέατος, παχέος εντέρου, ωοθηκών, μήτρας, προστάτη, ουροδόχου κύστης, νεφρού, μαστού καθώς και σε μυελοβλάστωμα, νευροβλάστωμα, μελάνωμα, λεμφώματα και λευχαιμίες [315].

Καθότι οι απακετυλάσες των ιστονών και η δράση των αναστολέων τους στον καρκίνο του μαστού είναι αντικείμενο της παρούσης Διδακτορικής έρευνας, θα αναλυθούν εκτενώς στα επόμενα εδάφια.

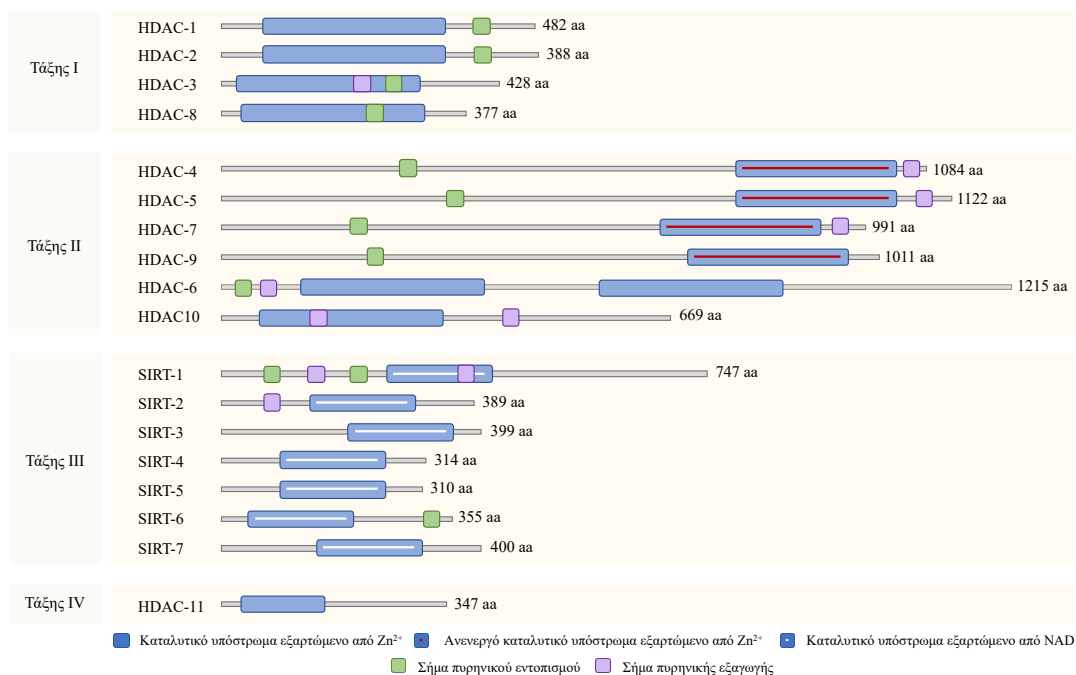
3.2 HDAC

Οι απακετυλάσες των ιστονών (HDAC) χωρίζονται σε τέσσερις τάξεις: Τάξης I, Τάξης II, Τάξης III και Τάξης IV, κατά αντιστοιχία με τα μόρια Rpd3, HdaI και Sir2 των μυκήτων [160, 170-172]. Οι «Κλασσικές» HDAC (Τάξεις I, II και IV) αποτελούνται από 11 μέλη ενώ οι «Sirtuins» (Τάξης III) από 7. Οι κλασσικές HDAC έχουν ως καταλύτη ένζυμο εξαρτώμενα από ψευδάργυρο (Zn^{2+}). Χηλικοί παράγοντες όπως τα υδροξαμικά οξέα, αναστέλλουν τα παραπάνω ένζυμα μέσω δέσμευσης του ψευδαργύρου. Οι Sirtuins έχουν καταλύτη, που χρειάζεται την παρουσία του NAD(+) ως συμπάραγοντα, και έτσι οι χηλικοί παράγοντες δεν επιδρούν πάνω τους. Μέχρι στιγμής, έχουν αναγνωρισθεί 18 HDAC στον άνθρωπο, οι οποίες έχουν κατηγοριοποιηθεί ως περιγράφουν ο Πίνακας 2 και η Εικόνα 9 [282, 315-319].

Πίνακας 2: Ταξινόμηση των απακετυλασών των ιστονών (HDAC).

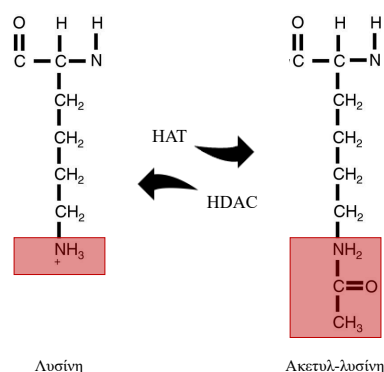
Κατηγορία		Μέλη		Εξάρτηση
Τάξης I		HDAC-1		Zn ²⁺
		HDAC-2		
		HDAC-3		
		HDAC-8		
Τάξης II	Κλασικές	A:	HDAC-4	
			HDAC-5	
			HDAC-7	
			HDAC-9	
		B:	HDAC-6	
			HDAC-10	
Τάξης III	Sirtuins	SIRT-1		NAD(+)
		SIRT-2		
		SIRT-3		
		SIRT-4		
		SIRT-5		
		SIRT-6		
		SIRT-7		
Τάξης IV	Κλασικές	HDAC-11		Zn ²⁺

Εικόνα 9: Πρωτεϊνικά μέρη των απακετυλασών των ιστονών (HDAC).



Οι HDAC όπως άλλωστε υποδηλώνει και η ονομασία τους, απακετυλιώνουν τις ιστόνες. Οι HDAC επηρεάζουν τη μεταγραφή καθώς μεταβάλλουν τη διαμόρφωση της χρωματίνης, καθορίζουν το ηλεκτρικό της φορτίο και εμποδίζουν την πρόσβαση μεταγραφικών ενζύμων δημιουργώντας συμπυκνωμένη, ανενεργό χρωματίνη. Παράλληλα, οι HDAC δρουν και σε ορισμένες κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες και μεταγραφικούς παράγοντες, για αυτό άλλωστε χαρακτηρίζονται και ως απακετυλάσες λυσίνης (Εικόνα 10) [320, 321].

Εικόνα 10: Ακετυλίωση και απακετυλίωση λυσίνης από τις ακετυλτρανσφεράσες (HAT) και τις απακετυλάσες των ιστονών (HDAC) αντίστοιχα.



Τα p53, E2F, Stat3, HMG, NF-kβ, GATA1, HSP90, ιμφορτίνη, β-κατενίνη, τουμπουλίνη, πυρηνικοί υποδοχείς και άλλα μόρια αναγνωρίζονται ως υποστρώματα για τις HDAC (Εικόνα 11) [321-323]. Για παράδειγμα, η HDAC-1 ρυθμίζει την ενεργότητα της p53. Συγκεκριμένα, η απακετυλίωση περιορίζει την αλληλεπίδραση της p53 με το DNA, επηρεάζοντας την κυτταρική ανάπτυξη και την απόπτωση [324-326].

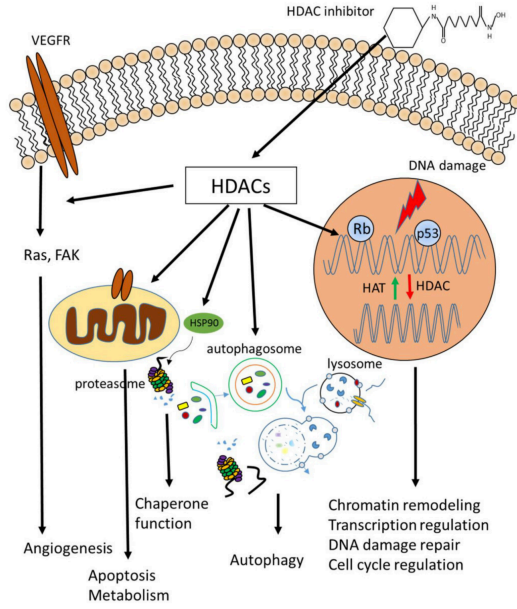
Είναι πλέον αποδεκτό ότι οι HDAC ρυθμίζουν καίριες λειτουργίες όπως η μεταγραφή, η εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, η ενδοκυττάρια σηματοδότηση και η απόπτωση. Με άλλα λόγια, οι HDAC δεν περιορίζονται μόνο στον έλεγχο της δομής της χρωματίνης, αντίθετα εμπλέκονται σε κυτταρικές λειτουργίες η διαταραχή των οποίων οδηγεί σε καρκινογένεση (Πίνακας 3) (Εικόνες 11-17) [327-330]. Εύλογα λοιπόν γίνεται αντιληπτό γιατί οι HDAC τυγχάνουν εκτενούς ερευνητικού ενδιαφέροντος.

Πίνακας 3: Ρόλος των απακετυλασών των ιστονών (HDAC) στη φυσιολογία και το μεταβολισμό του κυττάρου.

HDAC
Κυτταρική μετανάστευση και διείσδυση
Κυτταρική διαφοροποίηση
Απόπτωση
Αγγειογένεση
Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου
Κυτταρικός μεταβολισμός
Κυτταρική ανοσία
Φλεγμονή

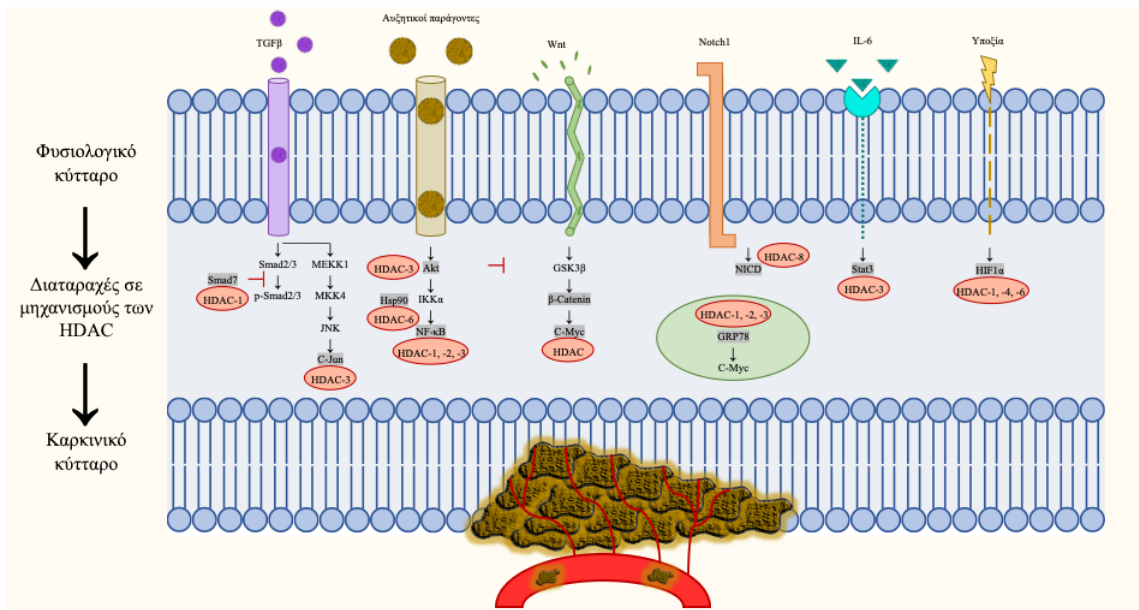
Καρκινογένεση

Εικόνα 11: Βιολογικές λειτουργίες των απακετυλασών των ιστονών (HDAC).

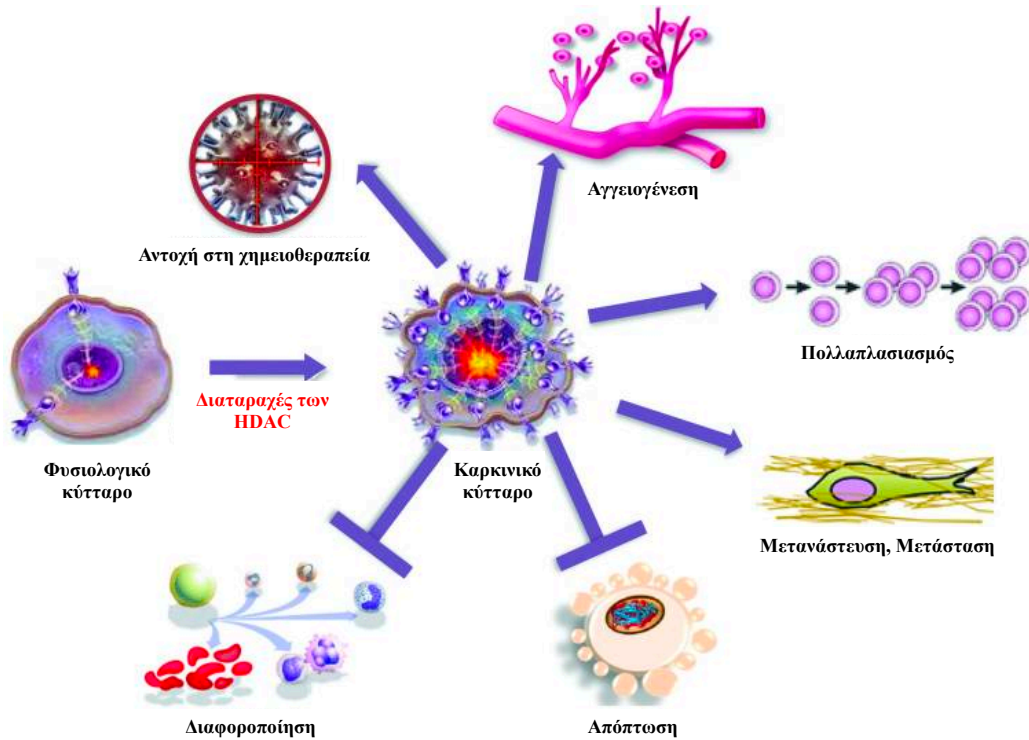


Πηγή: Li Z, Zhu WG. Targeting histone deacetylases for cancer therapy: From molecular mechanisms to clinical implications. *Int J Biol Sci.* 2014;10:757-770.

Εικόνα 12: Μοριακοί μηχανισμοί μέσω των οποίων οι απακετυλάσες των ιστονών (HDAC) εμπλέκονται στην καρκινογένεση.

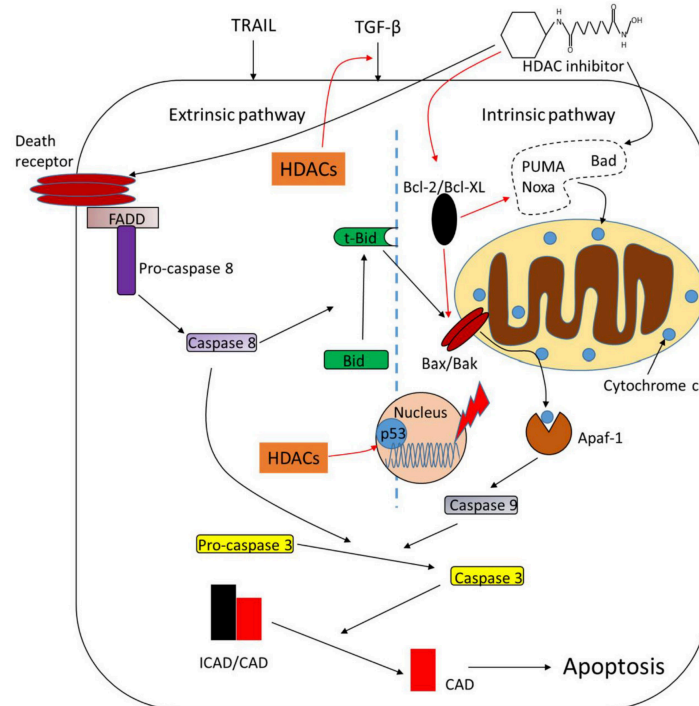


Εικόνα 13: Μηχανισμοί των απακετυλασών των ιστονών (HDAC) στον καρκίνο.



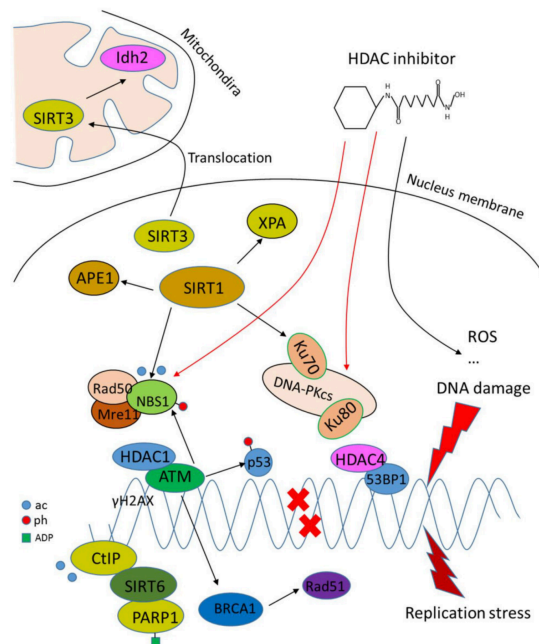
Πηγή: Benedetti R, Conte M, Altucci L. Targeting histone deacetylases in diseases: Where are we? *Antioxid Redox Signal.* 2015;23:99-126.

Εικόνα 14: Ρόλος των απακετυλασών των ιστονών (HDAC) στην απόπτωση.



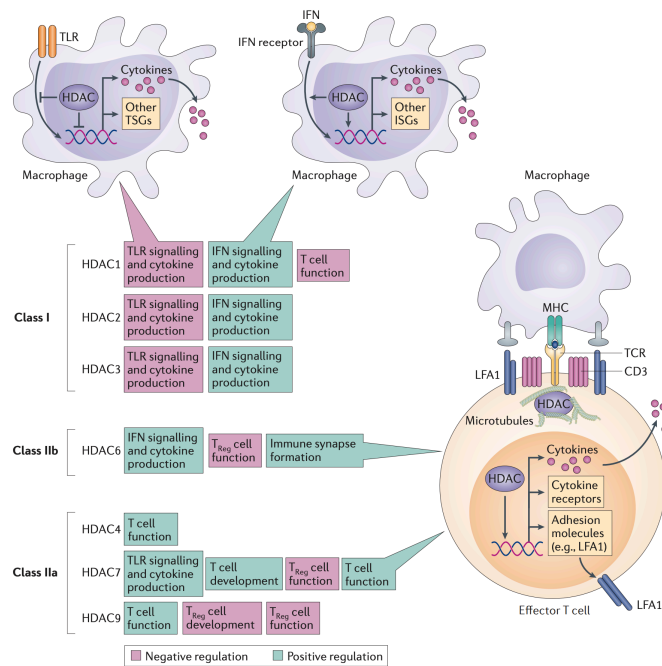
Πηγή: Li Z, Zhu WG. Targeting histone deacetylases for cancer therapy: From molecular mechanisms to clinical implications. *Int J Biol Sci.* 2014;10:757-770.

Εικόνα 15: Ρόλος των απακετυλασών των ιστονών (HDAC) στην επιδιόρθωση του DNA.



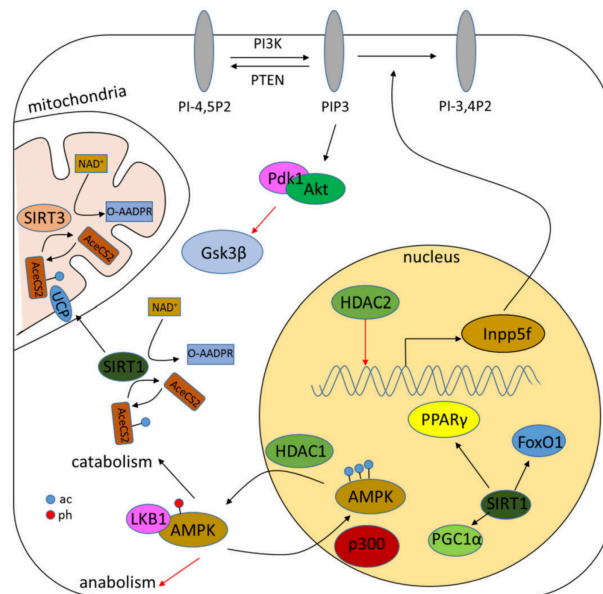
Πηγή: Li Z, Zhu WG. Targeting histone deacetylases for cancer therapy: From molecular mechanisms to clinical implications. *Int J Biol Sci.* 2014;10:757-770.

Εικόνα 16: Ρόλος των απακετυλασών των ιστονών (HDAC) στην ανοσολογική απόκριση.



Πηγή: Falkenberg KJ, Johnstone RW. Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13:673-691.

Εικόνα 17: Ρόλος των απακετυλασών των ιστονών (HDAC) στη ρύθμιση του μεταβολισμού.



Πηγή: Li Z, Zhu WG. Targeting histone deacetylases for cancer therapy: From molecular mechanisms to clinical implications. *Int J Biol Sci.* 2014;10:757-770.

3.2.1 HDAC Τάξης I

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, οι Τάξης I απακετυλάσες των ιστονών είναι οι HDAC-1, -2, -3 και -8. Καταστέλλουν τη μεταγραφή και συμβάλλουν στην επιγενετική ρύθμιση. Οι HDAC Τάξης I, δομικά χαρακτηρίζονται από ένα ενεργό καταλυτικό κέντρο απακετυλάσης, στο οποίο επικάθονται βραχείες καρβοξυτελικές και αμινοτελικές πλάγιες αλυσίδες [331]. Επιπρόσθετα, οι HDAC-1 και -2 είναι τμήματα των κατασταλτικών συμπλόκων co-repressors που δρουν εναντίον νευρωνικών γονιδίων σε μη νευρωνικούς ιστούς, NURD και SIN3 [332-336]. Η HDAC-3 αποτελεί τμήμα των συμπλόκων N-COR και SMRT [337, 338], ενώ η HDAC-8 δε φαίνεται να ανήκει σε κάποιο κατασταλτικό σύμπλοκο [339, 340].

Οι HDAC Τάξης I απαντώνται σε κάθε ιστό, κυρίως στον πυρήνα, δρώντας ως καταλύτες στα κατάλοιπα λυσίνης. Οι HDAC-1 και -2 καθορίζουν λειτουργίες του κυτταρικού κύκλου όπως ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση [341-345]. Η HDAC-3

είναι υπεύθυνη για τη φυσιολογική κυτταρική ανταπόκριση σε βλάβες του DNA και τη ρύθμιση των φάσεων του κυτταρικού κύκλου [346, 347]. Τέλος, η HDAC-8 απαντάται κυρίως στο κυτταρόπλασμα και εκφράζεται συνήθως σε λεία μυϊκά κύτταρα [340, 348].

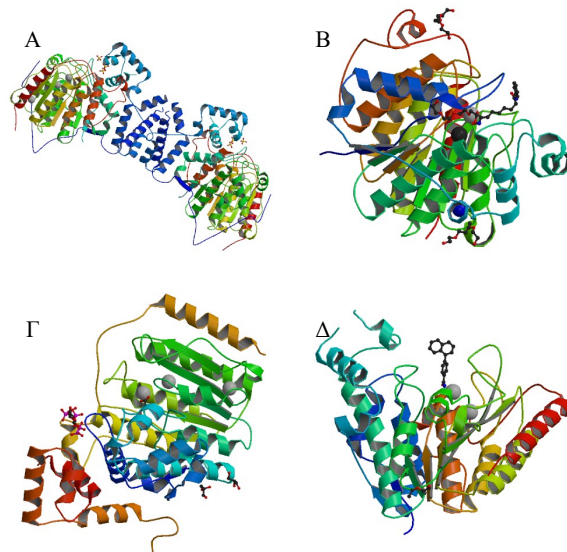
Οι ιδιότητες και η κρυσταλλική δομή των HDAC Τάξης I περιγράφονται στον Πίνακα 4 και την Εικόνα 18 αντίστοιχα [349].

Πίνακας 4: Ιδιότητες των HDAC Τάξης I.

HDAC Τάξης I	Κατανομή	Ιστός	Βιολογικός ρόλος
HDAC-1	Πυρηνική	Όλοι	<ul style="list-style-type: none"> - Κυτταρικός πολλαπλασιασμός. - Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου. - Κυτταρική ανταπόκριση σε βλάβες του DNA. - Αιμοποίηση - Ανάπτυξη καρδιακού, νευρικού, οστίτη, χονδρίτη και λιπώδους ιστού και δέρματος. - Ρύθμιση απόκρισης των T λεμφοκυττάρων.
	Πυρηνική	Όλοι	<ul style="list-style-type: none"> - Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου.

HDAC-2			<ul style="list-style-type: none"> - Κυτταρική ανταπόκριση σε βλάβες του DNA. - Ανάπτυξη καρδιακού, νευρικού, οστίτη, χονδρίτη και λιπώδους ιστού και δέρματος.
HDAC-3	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	Όλοι	<ul style="list-style-type: none"> - Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου. - Ηπατική και καρδιακή λειτουργία. - Ανάπτυξη και ρύθμιση οστίτη ιστού. - Εγκεφαλική λειτουργία και πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση νευρικών κυττάρων. - Ανάπτυξη των βλαστικών αιμοποιητικών κυττάρων.
HDAC-8	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	Όλοι	<ul style="list-style-type: none"> - Σχηματισμός κρανίου κατά την εμβρυική ανάπτυξη.

Εικόνα 18: Κρυσταλλική δομή συμπλόκων του καταλυτικού τμήματος των HDAC Τάξης I. **A:** HDAC-1, **B:** HDAC-2, **Γ:** HDAC-3, **Δ:** HDAC-8.



Πηγή: rcsb.org

3.2.2 HDAC Τάξης II

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 2, οι HDAC Τάξης II διακρίνονται σε Τάξης IIA και IIB.

3.2.2.1 HDAC Τάξης IIA

Στη Τάξη IIA συγκαταλέγονται οι HDAC-4, -5, -7 και -9, οι οποίες χαρακτηρίζονται από κοινό λειτουργικώς σημαντικό, ευμέγεθες αμινοτελικό άκρο, το οποίο ελέγχει τη μεταφορά τους από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα και την ακριβή τους πρόσδεσή τους στο DNA. Η μεταφορά των εν λόγω HDAC καθορίζεται από ενδογενή σηματοδότηση πυρηνικής εξαγωγής και εισαγωγής και από σημεία πρόσδεσης των πρωτεϊνών 14-3-3, που είναι υπεύθυνα για την τοποθέτηση των HDAC Τάξης IIA στο κυτταρόπλασμα. Τέτοια ειδικά σημεία υπάρχουν στις HDAC-4, -5, -7 και -9 και η πρόσδεση των πρωτεϊνών 14-3-3 σε αυτά με εξαρτώμενο από τη φωσφορυλίωση τρόπο, οδηγεί στην παραμονή των HDAC Τάξης IIA στο κυτταρόπλασμα, επηρεάζοντας τη δράση μεταγραφικών παραγόντων όπως του MEF2

[340-356]. Παραδείγματα μονοπατιών υπεύθυνων για την παραπάνω διαδικασία είναι η πρωτεϊνική κινάση D1 (Protein Kinase D1, PKD1), η εξαρτώμενη από Ca^{2+} / καλμοδουλίνη κινάση II (Calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII), οι κινάσες συνάφειας μικροσωληνίσκων, η κινάση 1 ελέγχου του κυτταρικού κύκλου (Checkpoint Kinase 1, ChK1), η πρωτεϊνική κινάση A (Protein Kinase A, PKA) και οι επαγόμενες από άλας κινάσες (Salt-Inducible Kinases, SIKs) [350, 355, 356].

Πρέπει να τονιστεί πως οι HDAC Τάξης IIA εκφράζονται σε συγκεκριμένους μόνο ιστούς όπως αγγεία, καρδιά, πνεύμονες, οστά, κεντρικό νευρικό και λείο μυϊκό σύστημα. Εκεί εμπλέκονται σε κυτταρικές λειτουργίες όπως η διαφοροποίηση και η ανάπτυξη και καταστέλλουν τη μεταγραφή [349]. Όπως αναφέρθηκε και πριν, περιλαμβάνουν ένα μακρό αμινοτελικό άκρο το οποίο φωσφορυλιώνεται και ως εκ τούτου επιτελούν τις λειτουργίες τους. Η φωσφορυλίωση καθορίζει τη θέση των HDAC Τάξης IIA στο κύτταρο και τη δράση τους στη μεταγραφή στον πυρήνα. Τέλος, δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα η ειδική καταλυτική τους δράση αν και αποτελούν μέρος του κατασταλτικού συμπλόκου SMRT/N-CoR [355, 357, 358].

Οι ιδιότητες και η κρυσταλλική δομή των HDAC Τάξης IIA περιγράφονται στον Πίνακα 5 και την Εικόνα 19 αντίστοιχα [349].

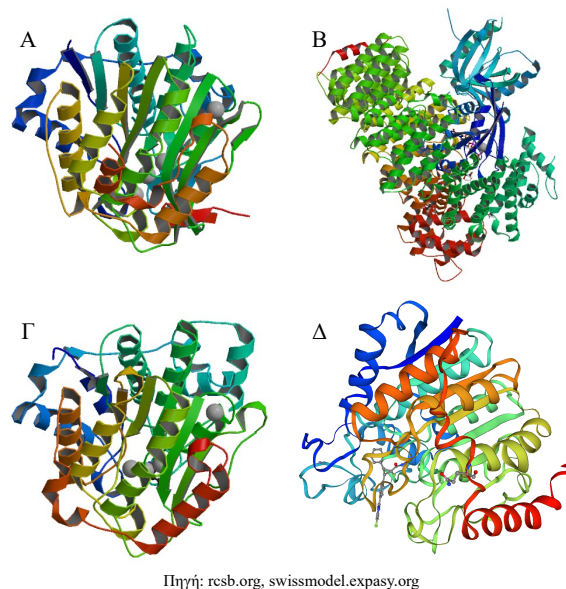
Πίνακας 5: Ιδιότητες των HDAC Τάξης IIA.

HDAC IIA	Κατανομή	Ιστός	Βιολογικός ρόλος
HDAC-4	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	Εγκέφαλος, καρδιά, σκελετικοί μύες, χονδροκύτταρα,	- Ανάπτυξη μυοϊνοβλαστών και χονδρίτη ιστού. - Διαφοροποίηση μυϊκών κυττάρων.

		αμφιβληστροειδής, νεύρα.	- Λειτουργία, κυτταρικός θάνατος και επιβίωση νευρικών κυττάρων.
HDAC-5	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	Καρδιά, σκελετικοί μύες, εγκέφαλος, νεύρα.	- Διαφοροποίηση των βλαστικών νευρικών κυττάρων. - Λειτουργία νευρικών, μυοκαρδιακών και ενδοθηλιακών κυττάρων. - Λειτουργία μνήμης.
HDAC-7	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	Θύμος, καρδιά, πνεύμονες, μύες.	- Ανάπτυξη καρδιάς, αιμοφόρων αγγείων και πνευμόνων κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη. - Ανάπτυξη θύμου. - Λειτουργία οστεοκλαστών.

			- Λειτουργία μακροφάγων.
HDAC-9	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	Καρδιά, εγκέφαλος, σκελετικοί μύες.	- Ανάπτυξη καρδιάς. - Κινητικότητα μυών.

Εικόνα 19: Κρυσταλλική δομή συμπλόκων του καταλυτικού τμήματος των HDAC Τάξης ΙΙΑ. **A:** HDAC-4, **B:** HDAC-5, **Γ:** HDAC-7, **Δ:** HDAC-9.



3.2.2.2 HDAC Τάξης ΙΙΒ

Οι HDAC-6 και -10 συνιστούν την Τάξη ΙΙΒ. Η HDAC-6 ως προς τη δομή της χαρακτηρίζεται από δυο ενεργά κέντρα απακετυλάσης και έναν καρβοξυτελικό δακτύλιο ψευδαργύρου. Δρα ως απακετυλάση του HSP90 και της α-τουμπουλίνης συμβάλλοντας στην κινητικότητα του κυττάρου και την προσκολλητική και συνοδευτική (Chaperone) λειτουργία των πρωτεϊνών, ενώ παράλληλα ρυθμίζει άλλες πρωτεΐνες και κυτταρικές λειτουργίες όπως η συμπικουϊτίνωση, η αυτοφαγία και η λειτουργία του αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων (Platelet Derived Growth

Factor, PDGF). Επιπροσθέτως, η HDAC-6 επηρεάζει τον παράγοντα της θερμικής καταπόνησης 1 (Heat Shock Factor 1, HSF-1) και τη ρυθμιζόμενη από εξωκυττάρια σήματα πρωτεϊνική κινάση 1 (Extracellular signal-Regulated Kinase 1, ERK1) [350, 357, 359-364].

Παρόλο την παρόμοια δομή της HDAC-10 με την HDAC-6 (η HDAC-10 εκτός από δύο ενεργά κέντρα απακετυλάσης φέρει και μια επιπλέον ανενεργή πρωτεϊνική υπομονάδα), δεν γνωρίζουμε πολλά για τη δράση της. Φαίνεται να σχετίζεται με την αγγειογένεση, την επιδιόρθωση του DNA και την αυτοφαγία [350, 365-368,].

Η HDAC-6 βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα, όπου προσδένεται στην α-τουμπουλίνη, και η HDAC-10 απαντάται στο κυττόπλασμα και στον πυρήνα [350, 357].

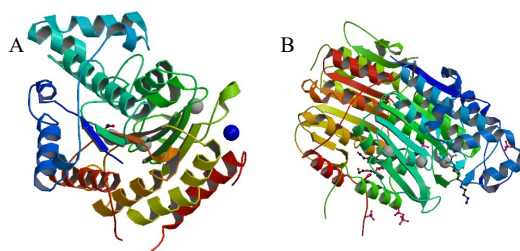
Οι ιδιότητες και η κρυσταλλική δομή των HDAC Τάξης ΙΙΒ περιγράφονται στον Πίνακα 6 και την Εικόνα 20 αντίστοιχα [349].

Πίνακας 6: Ιδιότητες των HDAC Τάξης ΙΙΒ.

HDAC ΙΙΒ	Κατανομή	Ιστός	Βιολογικός ρόλος
	Κυτταροπλασματική (Κυρίως)	Εγκέφαλος, καρδιά, ήπαρ, νεφροί, όρχεις, μύες.	- Προστασία και εκφυλισμός νευρικών κυττάρων. - Διαφοροποίηση μυϊκών κυττάρων. - Διαμόρφωση αρτηριών.

HDAC-6			<ul style="list-style-type: none"> - Ακετυλίωση τουμπουλίνης. - Ρύθμιση οστικής μάζας. - Ρύθμιση ανοσοποιητικής απόκρισης και απόκρισης των κυττάρων στο στρες. - Αυτοφαγία. - Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων.
HDAC-10	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	Ήπαρ, σπλήνας, νεφροί, δέρμα.	<ul style="list-style-type: none"> - Ανάπτυξη εγκεφάλου. - Κυτταρική επιβίωση και αυτοφαγία. - Παραγωγή μελανίνης.

Εικόνα 20: Κρυσταλλική δομή συμπλόκων του καταλυτικού τμήματος των HDAC Τάξης ΙΙΒ. **A:** HDAC-6, **B:** HDAC-10.



Πηγή: rcsb.org

3.2.3 HDAC Τάξης III

Οι HDAC Τάξης III ή αλλιώς Sirtuins, περιλαμβάνουν τις SIRT-1, -2, -3, -4, -5, -6 και -7, οι οποίες υποδιαιρούνται σε 4 υποκατηγορίες [369]. Εκφράζονται σε όλους τους ιστούς και έχουν ευρεία δράση στην επιδιόρθωση του DNA, τη ρύθμιση του οξειδωτικού stress και την απόπτωση [370-372]. Δεν έχουν όλες την ίδια εντόπιση και συγκεκριμένα οι SIRT-1, -6 και -7 κατανέμονται ενδοπυρηνικά, η SIRT-2 στο κυτταρόπλασμα και οι SIRT-3, -4 και -5 κυρίως στα μιτοχόνδρια [373, 374].

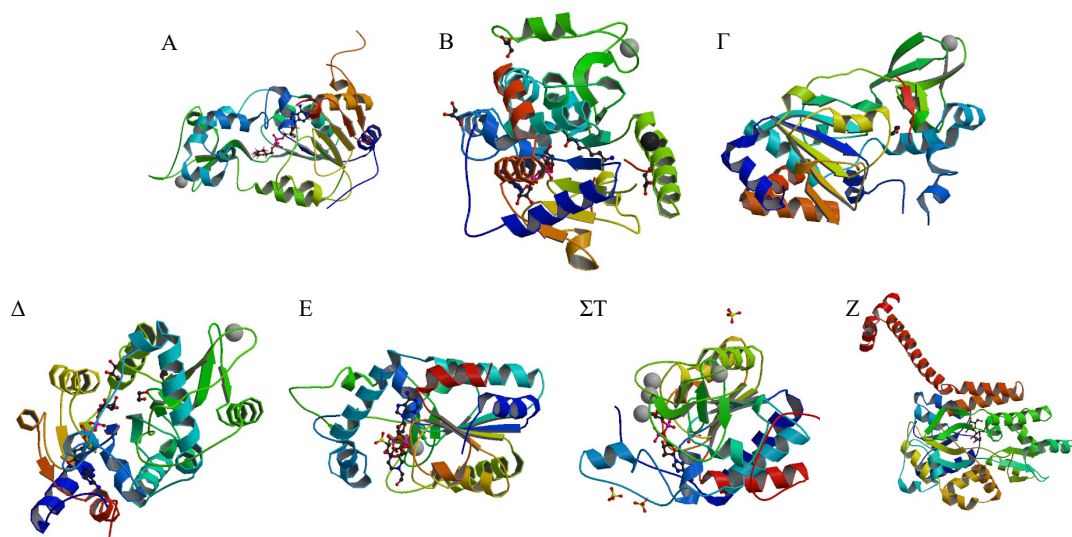
Οι ιδιότητες και η κρυσταλλική δομή των HDAC Τάξης III περιγράφονται στον Πίνακα 7 και την Εικόνα 21 αντίστοιχα [369].

Πίνακας 7: Ιδιότητες των HDAC Τάξης III.

HDAC III		Κατανομή	Βιολογικός ρόλος
I	SIRT-1	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	<ul style="list-style-type: none"> - Κυτταρική διαφοροποίηση. - Μεταβολισμός γλυκόζης. - Προστασία νευρικών κυττάρων. - Έκκριση ινσουλίνης.
	SIRT-2	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	<ul style="list-style-type: none"> - Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου. - Απακετυλίωση τουμπουλίνης.
		Μιτοχονδριακή	<ul style="list-style-type: none"> - Παραγωγή ATP.

	SIRT-3		<ul style="list-style-type: none"> - Απακευλίωση μιτοχονδριακών πρωτεϊνών. - Οξείδωση λιπαρών οξέων.
II	SIRT-4	Μιτοχονδριακή	- Έκκριση ινσουλίνης.
III	SIRT-5	Μιτοχονδριακή	- Συμμετοχή στον κύκλο ουρίας.
IV	SIRT-6	Πυρηνική	<ul style="list-style-type: none"> - Επιδιόρθωση DNA. - Έλεγχος της λειτουργίας των τελομερών.
	SIRT-7	Πυρηνική	- Μεταγραφή RNA

Εικόνα 21: Κρυσταλλική δομή συμπλόκων των HDAC Τάξης III. **A:** SIRT-1, **B:** SIRT-2, **Γ:** SIRT-3, **Δ:** SIRT-4, **E:** SIRT-5, **ΣΤ:** SIRT-6, **Z:** SIRT-7.



Πηγή: resb.org

3.2.4 HDAC Τάξης IV

Η HDAC-11 αποτελεί το μόνο εκπρόσωπο των HDAC Τάξης IV και δομικά ομοιάζει με τις HDAC Τάξης I και II καθότι φέρει κατάλοιπα αμινοξέων στα κοινά με

αυτές καταλυτικά ενεργά κέντρα [375]. Απαντάται κυρίως στην καρδιά, στο ήπαρ, στους όρχεις, στον εγκέφαλο, στην καρδιά και στους σκελετικούς μύες [349]. Παρόλο που οι λειτουργίες της HDAC-11 δεν είναι γνωστές, φαίνεται πως σχετίζεται με το ανοσοποιητικό σύστημα και το μεταβολισμό [349, 376-380].

Οι ιδιότητες και η κρυσταλλική δομή των HDAC Τάξης IV περιγράφονται στον Πίνακα 8 και την Εικόνα 22 αντίστοιχα [349].

Πίνακας 8: Ιδιότητες των HDAC Τάξης IV.

HDAC IV	Κατανομή	Ιστός	Βιολογικός ρόλος
HDAC-11	Πυρηνική και Κυτταροπλασματική	Εγκέφαλος, καρδιά, νεφροί, σκελετικοί μύες, T λεμφοκύτταρα.	- Ενεργοποίηση ανοσολογικής αντίδρασης.

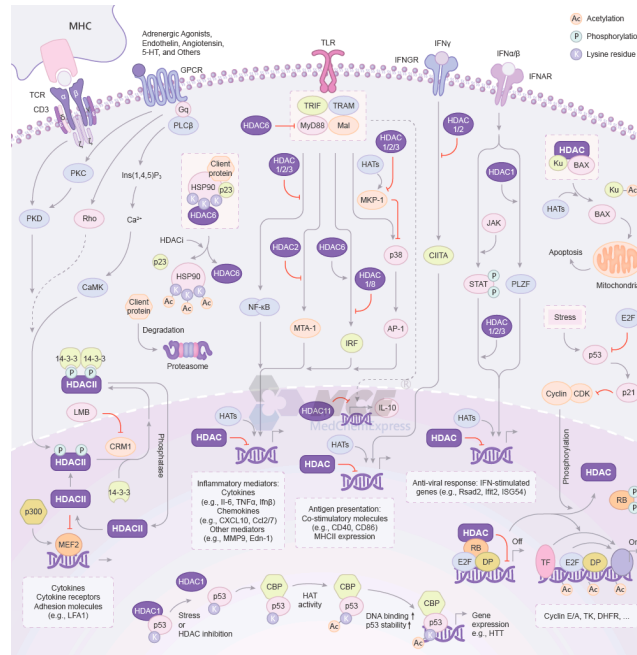
Εικόνα 22: Κρυσταλλική δομή συμπλόκων του καταλυτικού τμήματος των HDAC Τάξης IV (HDAC-11).



Πηγή: Thangapandian S, John S, Lee Y, Arulalapperumal V, Lee KW. Molecular modeling study on tunnel behavior in different histone deacetylase isoforms. PLoS One. 2012;7:e49327.

Τα ανωτέρω μονοπάτια σηματοδότησης και οι επαγόμενες από αυτά δράσεις των HDAC, συνοψίζονται στην εικόνα που ακολουθεί (Εικόνα 23).

Εικόνα 23: Μονοπάτια σηματοδότησης των HDAC.



Πηγή: www.medchemexpress.com

3.3 HDAC στον καρκίνο

Οι μεταλλάξεις και η ανεξέλεγκτη έκφραση των HDAC αποτελούν συχνό φαινόμενο στον καρκίνο, απορυθμίζοντας πλήρως το φυσιολογικό τρόπο ακετυλίωσης των ιστονών. Για παράδειγμα, στον καρκίνο του μαστού βρέθηκαν μέτρια έως χαμηλά επίπεδα ακετυλίωσης των ιστονών H3 και H4 στα σημεία 9, 18 και 12, 16 αντίστοιχα, της λυσίνης (H3K9ac, H3K18ac, H4K12ac H4K16ac), υποδηλώνοντας μηχανισμούς που συμβάλλουν στην κακοήθη εξαλλαγή [381, 382]. Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι οι HDAC συνιστούν ιδιαίτερης σημασίας θεραπευτικό στόχο και ως εκ τούτου οι αναστολείς τους (Histone Deacetylase Inhibitors, HDACI) αναδεικνύονται ως πιθανή μελλοντική αντικαρκινική θεραπεία. Για την ακρίβεια, ήδη τέσσερις HDACI εγκεκριμένοι από τον Αμερικάνικο Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (U.S. Food and Drug Administration, FDA) και ένας στην Κίνα, κυκλοφορούν στην αγορά για τη θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών (T-λέμφωμα, πολλαπλούν μυέλωμα) [383, 384]. Επιπλέον πληθώρα HDACI αποτελούν αντικείμενο ποικίλων μελετών - ακόμα και κλινικών.

Καθότι οι HDACI περιγράφονται εκτενώς στο Κεφάλαιο 4, στόχος του παρόντος εδαφίου είναι η καταγραφή της έκφρασης των HDAC στον καρκίνο - συμπεριλαμβανομένου του μαστού που αποτελεί το αντικείμενο της παρούσης διατριβής.

3.3.1 HDAC Τάξης I

3.3.1.1 HDAC-1

Υπερέκφραση της HDAC-1 έχει παρατηρηθεί σε λέμφωμα Hodgkin και καρκίνο στομάχου, ωοθηκών, θυρεοειδούς και προστάτη [385-387]. Μάλιστα, είναι αυξημένη στο 60% των περιπτώσεων σε σύγκριση με το φυσιολογικό ιστό [388]. Οι παρατηρήσεις αυτές επικυρώθηκαν περαιτέρω από μια μελέτη 293 δειγμάτων καρκίνου του στομάχου στα οποία ανευρέθη αυξημένη έκφραση των HDAC-1, -2 και -3 [389, 390]. Αυξημένα επίπεδα έκφρασης των HDAC-1, -2 και -3 παρατηρήθηκαν στον καρκίνο του παγκρέατος και σχετίζονταν με την για την αποδιαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των παγκρεατικών καρκινικών κυττάρων [390, 391]. Η υπερέκφραση των HDAC-1, -2 και -3 σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Η έκφραση του HDAC-2 ανεδείχθη ως ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης στον ορθοκολικό καρκίνο [393]. Επιπλέον, η υπερέκφραση της HDAC-1 αναφέρεται στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, στον καρκίνο του πνεύμονα και τον καρκίνο του μαστού [394-396]. Στον καρκίνο του θυρεοειδούς η αυξημένη έκφραση της HDAC-1 φάνηκε να σχετίζεται με το μέγεθος του όγκου [387]. Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού, η αυξημένη έκφραση των HDAC-1 και -3, φάνηκε να σχετίζεται με την έκφραση των οιστρογονικών (ER) και των προγεστερονικών υποδοχέων (PR) [397].

Η HDAC-1 επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αναστολή της κυτταρικής διαφοροποίησης και της απόπτωσης [386, 396]. Η καταστολή των HDAC-1 και -3 οδήγησαν στην αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε κύτταρα HeLa [398]. Μάλιστα, η καταστολή της HDAC-1 επιφέρει διακοπή του κυτταρικού κύκλου είτε στη φάση G1 είτε στη μεταβατική φάση G2 / M, προκαλώντας απώλεια μιτωτικών κυττάρων, αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης και αύξηση του αριθμού των αποπτωτικών κυττάρων στο οστεοσάρκωμα και στον καρκίνο του μαστού. Ωστόσο, δε φάνηκαν αντίστοιχα αποτελέσματα από την καταστολή της HDAC-2 στα κύτταρα αυτά [399]. Η HDAC-1 μπορεί επίσης να εμπλέκεται στην αντοχή σε πολλαπλά φάρμακα, καθώς φάνηκε υπερέκφρασή της σε ένα μοντέλο ανθεκτικών σε χημειοθεραπευτικά, κυττάρων νευροβλαστώματος [400].

3.3.1.2 HDAC-2

Υπερέκφραση της HDAC-2 ανευρέθηκε στον καρκίνο του μαστού, του τραχήλου της μήτρας, του στομάχου, του προστάτη, του θυρεοειδή και του παχέος εντέρου και στα λεμφώματα Hodgkin και T δερματικό [387, 396]. Η αυξημένη έκφραση της HDAC-2 μαζί με τις HDAC-1 και -3 σχετίζονται με προχωρημένο στάδιο της νόσου και την πρόγνωση καρκίνων όπως του στομάχου, του παχέος εντέρου και του προστάτη [390, 392, 393]. Στον καρκίνο του θυρεοειδούς, η αυξημένη έκφραση της HDAC-2 φάνηκε να σχετίζεται με αγγειακές και λεμφαγγειακές διηθήσεις [387].

Η καταστολή της HDAC-2 στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας επάγει την απόπτωση και τη διαφοροποίηση κυττάρων που σχετίζονται με αυξημένη έκφραση p21Cip1/WAF1 [401]. Σε καρκινικά κύτταρα του μαστού, η καταστολή της HDAC-2 έχει ως αποτέλεσμα να διεγείρει την ικανότητα της πρωτεΐνης p53 να δεσμεύεται στο DNA, καταστέλλοντας όγκους, γεγονός που προκαλεί την αναστολή του κυτταρικού

πολλαπλασιασμού και την επαγωγή της κυτταρικής γήρανσης [402]. Επιπρόσθετα, η καταστολή της HDAC-2, σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση, διακοπή κυτταρικής ανάπτυξης και αυξημένη απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου και μαστού [403].

3.3.1.3 HDAC-3

Υπέρэкφραση της HDAC-3 έχει ανευρεθεί σε καρκίνο ωοθηκών, πνευμόνα και παχέος εντέρου, στο λέμφωμα Hodgkin και τη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία [385, 396, 404]. Αυξημένη έκφραση της HDAC-1 και της HDAC-3, σχετίζεται με την επιβίωση χωρίς υποτροπή της νόσου, σε ασθενείς με σε διηθητικό καρκίνο του μαστού [405]. Αυξημένα επίπεδα έκφρασης της HDAC-3 και των HDAC-1 και -2 σχετίζονται με κακή πρόγνωση στους καρκίνους του στομάχου, του παχέος εντέρου και του προστάτη [390, 392, 393]. Αντίθετα, μειωμένη έκφραση της HDAC-3 έχει παρατηρηθεί στον καρκίνο του ήπατος [403].

Η καταστολή της HDAC-3 σε κύτταρα οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας προκαλεί αποκατάσταση της έκφρασης ενός γονιδίου εξαρτώμενου από ρετινοϊκό οξύ, του οποίου η μεταγραφή είχε κατασταλεί στα πλαίσια της νόσου [406]. Επιπρόσθετα, η καταστολή της HDAC-3 στον καρκίνο του παχέος εντέρου σχετίζεται με μείωση της βιωσιμότητας του κυττάρου και αύξηση της απόπτωσης [403].

3.3.1.4 HDAC-8

Υπέρэкφραση της HDAC-8 έχει ανευρεθεί στο νευροβλάστωμα παιδικής ηλικίας. Αντίστοιχα, η καταστολή της προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και περιορισμό του κυτταρικού πολλαπλασιασμού [407, 408]. Τέλος, η HDAC-8 συμμετέχει στον έλεγχο της δραστηριότητας των τελομερασών [409].

3.3.2 HDAC Τάξης II

3.3.2.1 HDAC Τάξης IIA

3.3.2.1.1 HDAC-4

Παρόλο που παρατηρήθηκε υπερέκφραση της HDAC-4 στον καρκίνο του μαστού και του θυρεοειδή [387, 410], κατεγράφη μειωμένη έκφρασή της στον καρκίνο του πνεύμονα και του παχέος εντέρου [385].

Στον καρκίνο του παγκρέατος αυξημένη έκφραση της HDAC-4 παρατηρήθηκε σε περιπτώσεις μη μεταστατικής νόσου [391]. Στον καρκίνο του θυρεοειδούς αυξημένα επίπεδα έκφρασης της HDAC-4 σχετίζονταν με το μέγεθος του όγκου και τη διάσπαση της θυρεοειδικής κάψας [387]. Στην οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία, η HDAC-4 βρέθηκε να καταστέλλει την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση αλληλοεπιδρώντας με την ογκογόνο πρωτεΐνη σύντηξης PLZF-RARa [411]. Η HDAC-4 ρυθμίζει επίσης τη δραστηριότητα του επαγόμενου από την υποξία μεταγραφικού παράγοντα-1α (Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha, HIF-1α). Έχει αποδειχθεί επίσης ότι βοηθά τα κύτταρα του καρκίνου του προστάτη να ξεπεράσουν τις υποξικές καταστάσεις σταθεροποιώντας τον HIF-1α. Η σύνδεση της HDAC-4 με τον HIF-1α δημιουργεί ένα σύμπλοκο που ρυθμίζει τη γλυκόλυση και το οξειδωτικό στρες κατά την προσαρμογή των κυττάρων σε συνθήκες υποξίας [412].

Η καταστολή της HDAC-4 σε κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου και γλοιοβλαστώματος προκαλεί αύξηση του ρυθμού απόπτωσης και μείωση του ρυθμού κυτταρικής ανάπτυξης [413].

3.3.2.1.2 HDAC-5

Υπερέκφραση της HDAC-5 έχει ανευρεθεί στο μυελοβλάστωμα [414] και στον καρκίνο του παχέος εντέρου [410], ενώ αντιθέτως βρέθηκε μειωμένη έκφρασή της στον καρκίνο του πνεύμονα [11]. Η HDAC-5 διαπερνά από τον πυρήνα στο κυτοσόλιο αλληλοεπιδρώντας με τον μεταγραφικό παράγοντα GATA-1, κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των κυττάρων σε πειραματικό μοντέλο ερυθρολευχαιμίας σε επίμυες [415]. Τα μειωμένα επίπεδα έκφρασης της HDAC-5 έχει αποδειχθεί ότι σχετίζονται με μειωμένη ανάπτυξη και βιωσιμότητα των κυττάρων του μυελοβλαστώματος [414].

3.3.2.1.3 HDAC-7

Υπερέκφραση της HDAC-7 έχει ανευρεθεί σε περιπτώσεις οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας, χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας και καρκίνου παχέος εντέρου [404, 410] ενώ αντιθέτως βρέθηκαν χαμηλά επίπεδα έκφρασής της στον καρκίνο του πνεύμονα [403, 416]. Η αποσιώπηση της HDAC-7 στα ενδοθηλιακά κύτταρα μεταβάλλει τη μορφολογία τους, τη μετανάστευση και την ικανότητά τους να σχηματίζουν δομές τριχοειδών σωληναρίων *in vitro*, χωρίς όμως να επηρεάζεται η προσκόλληση, ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση των κυττάρων. Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η HDAC-7 μπορεί να συνιστά ένα θεραπευτικό αντι-αγγειογενετικό στόχο στον καρκίνο [417].

3.3.2.1.4 HDAC-9

Υπερέκφραση της HDAC-9 έχει ανευρεθεί στην οξεία λεμφοκυτταρική λευχαιμία, στο μυελοβλάστωμα και στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας [388, 418, 419]. Η αποσιώπηση της HDAC-9 έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή του ομόλογου ανασυνδυασμού, την απόκριση στη βλάβη του DNA και τη μείωση της βιωσιμότητας και της ανάπτυξης των κυττάρων του μυελοβλαστώματος [403].

3.3.2.2 HDAC Τάξης IIB

3.3.2.2.1 HDAC-6

Υπερέκφραση της HDAC-6 έχει ανευρεθεί στο καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων της στοματικής κοιλότητας, στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, στον καρκίνο του μαστού, των ωοθηκών, του θυρεοειδούς και του παγκρέατος, στην οξεία μυελογενή και στη χρόνια λεμφογενή λευχαιμία. Παρόλο που η έκφρασή της HDAC-6 αυξάνεται στα προχωρημένα στάδια του καρκίνου, εντούτοις στην περίπτωση του παγκρέατος φάνηκε να σχετίζεται με πιο πρώιμο στάδιο [319, 391, 420]. Επιπρόσθετα, στον καρκίνο του παγκρέατος τα υψηλά επίπεδα έκφρασης της HDAC-6 φάνηκε να σχετίζονται με αυξημένη επιβίωση [391]. Τέλος, στον καρκίνο του θυρεοειδή η αυξημένη έκφραση της HDAC-6 σχετίζεται με τις διαστάσεις του όγκου [387].

Η υπερέκφραση της HDAC-6 προκαλεί αυξημένη μετανάστευση των ινοβλαστών ενώ αντίστοιχα η αναστολή της HDAC-6 επιφέρει μειωμένη μετανάστευση ινοβλαστών [421, 422]. Η στοχευμένη αναστολή της HDAC-6 προκαλεί ακετυλίωση της πρωτεΐνης HSP90 και διακοπή της συνοδευτικής της δράσης, με αποτέλεσμα τη μείωση της βιωσιμότητας του K562 λευχαιμικού κυττάρου [423]. Οι HDAC-4 και -6 βοηθούν τα καρκινικά κύτταρα του προστάτη σε συνθήκες υποξίας, μέσω του HIF-1α [412]. Η HDAC-6 σχετίζεται επίσης με μεταστάσεις και επιθηλιακή έως μεσεγχυματική μετάπτωση σε κύτταρα καρκίνου του πνεύμονα, μέσω της οδού TOP-β SMAD3 [424].

3.3.2.2.2 HDAC-10

Η HDAC-10 φαίνεται να έχει πιθανό ρόλο στην έναρξη και την εξέλιξη του καρκίνου ενώ η μειωμένη έκφρασή της σε κύτταρα μη μικροκυτταρικού καρκινώματος

πνεύμονα σχετίζεται με κακή πρόγνωση [416]. Έχει παρατηρηθεί επίσης στον καρκίνο του στομάχου και τη χρόνια λεμφογενή λευχαιμία [425].

Η HDAC-10 επάγει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα μέσω της φωσφορυλίωσης της κινάσης AKT [426]. Επίσης, φαίνεται να ρυθμίζει την παραγωγή αντιδραστικών ριζών οξυγόνου (ROS) στα κύτταρα του γαστρικού καρκίνου [425]. Η καταστολή της HDAC-10 ευθύνεται για τη μείωση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα των υποδοχέων 1 και 2 (VEGF 1, 2) και αυξημένη ευαισθησία προς τη βλάβη του DNA σε καρκινικά κύτταρα [427].

3.3.3 HDAC Τάξης III

Όλο και περισσότερα ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν τη σχέση μεταξύ των Sirtuins και του καρκίνου. Συγκεκριμένα, φαίνεται να επιδρούν στο μεταβολισμό, την επιδιόρθωση του DNA και το μικρο-περιβάλλον των καρκινικών κυττάρων [428, 429]. Ως HDAC (Τάξης III) έχουν και ογκοκατασταλτικό και προ-ογκογόνο χαρακτήρα. Η έκφραση της SIRT-1 ανευρέθη αυξημένη στην οξεία μυελογενή λευχαιμία, στο μη μελανωματικό καρκίνο του δέρματος και τον καρκίνο του προστάτη [430, 431, 432] ενώ αντίθετα είναι μειωμένη στον καρκίνο του παχέος εντέρου [410]. Η έκφραση SIRT-2 είναι μειωμένη στο γλοίωμα και το γαστρικό καρκίνο [433, 434]. Ωστόσο, έχει αναφερθεί επίσης μια μετάλλαξη στην καταλυτική περιοχή της SIRT-2 [435]. Το πρότυπο έκφρασης της SIRT-3 έχει βρεθεί ότι αυξάνει ή μειώνεται σε διαφορετικά είδη ιστών καρκίνου του μαστού [436]. Η έκφραση της SIRT-6 ανευρέθη μειωμένη στον καρκίνο του ήπατος και αυξημένη στη χρόνια λεμφογενή λευχαιμία [404]. Επιπλέον, φαίνεται να σχετίζεται και με τον καρκίνο του μαστού (αυξημένη έκφραση της SIRT-6), τον καρκίνο των ωοθηκών (μειωμένη έκφραση της SIRT-6), στο γλοίωμα (μειωμένη έκφραση της SIRT-6), στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα (μειωμένη

έκφραση της SIRT-6) και στον καρκίνο του δέρματος (αυξημένη έκφραση της SIRT-6) [437]. Η SIRT-7 δείχνει να παρουσιάζει αυξημένο μοτίβο έκφρασης στον καρκίνο του μαστού [436].

Το SIRT-2 λειτουργεί ως πρωτεΐνη καταστολής όγκων και η μετάλλαξη στην καταλυτική της περιοχή έχει ως αποτέλεσμα γενωμική αστάθεια και ογκογένεση [427]. Σε πολλά καρκινικά κύτταρα, η αυξημένη έκφραση της SIRT-1 επάγει την έκφραση της Π-γλυκοπρωτεΐνης υπεύθυνη για την ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων στα χημειοθεραπευτικά. Αντίστοιχα, η επαγόμενη από το siRNA καταστολή της SIRT-1 προκαλεί αναστροφή της ανθεκτικότητας [438]. Η SIRT-3 λειτουργεί τόσο ως ογκοκατασταλτική όσο και ως προαγωγός πρωτεΐνη. Η αυξημένη έκφραση του SIRT-3 σχετίζεται με την διακοπή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων της ουροδόχου κύστης [427]. Η υπερέκφραση και η καταστολή της SIRT-6 μπορεί να επιφέρει διαφορετική βιολογική συμπεριφορά, είτε ογκοκατασταλτική είτε υποκινητική και εξαρτάται από τον τύπο των κυττάρων [437]. Η SIRT-7 αποδείχθηκε ότι σταθεροποιεί τους φαινοτύπους των καρκινικών κυττάρων ενώ η καταστολή της επιφέρει ογκογόνα αποτελέσματα [427].

3.3.4 HDAC Τάξης IV

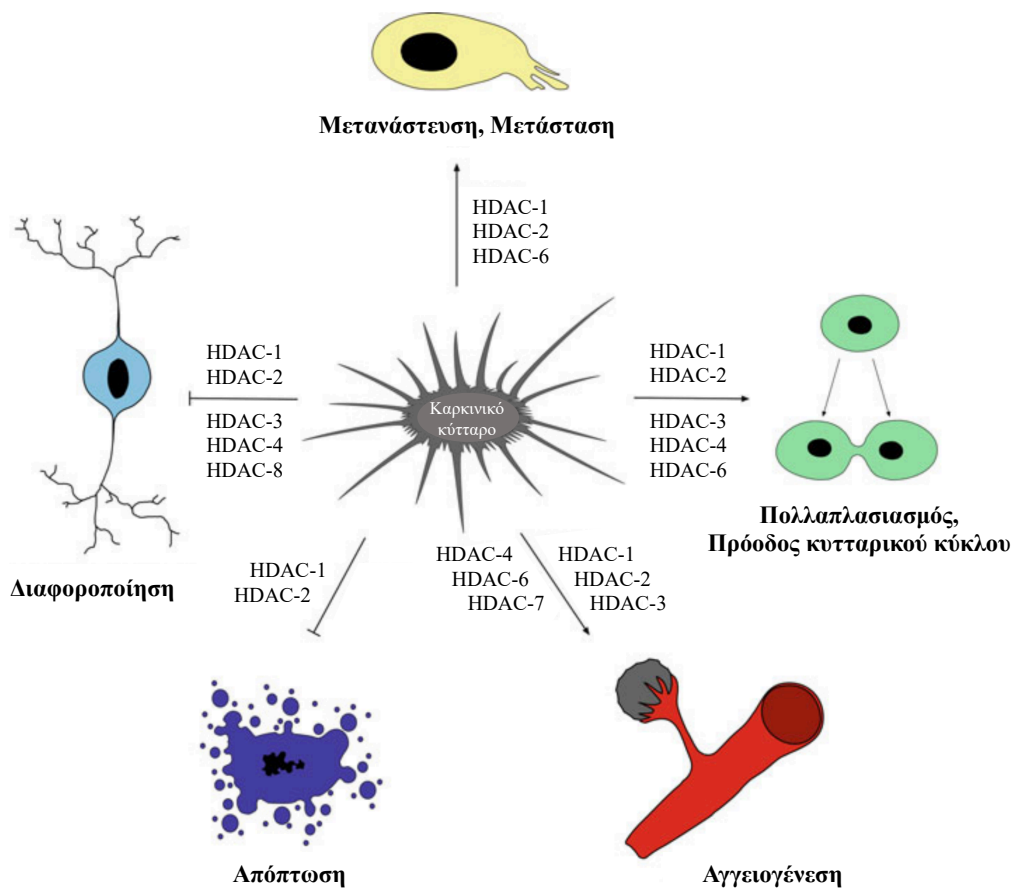
Παρόλο που ο ρόλος της HDAC-11 στον καρκίνο δεν είναι εξακριβωμένος, διαταραχές της έκφρασής της έχουν ανευρεθεί σε λέμφωμα Hodgkin και μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα [439].

Η διαμεσολαβούμενη από το siRNA καταστολή της HDAC-11, έχει ως αποτέλεσμα αυξημένο ρυθμό απόπτωσης σε κυτταρικές σειρές καρκίνου παχέος εντέρου, προστάτη, μαστού και ωοθηκών [427]. Η επιλεκτική αναστολή του HDAC-11 με αναστολέα αποακετυλασών των ιστονών (HDACI) μειώνει την πιθανότητα

σπληνομεγαλίας και άλλων μεταβολικών διαταραχών που εμφανίζονται σε ασθενείς ανθρώπους που πάσχουν από μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα [439].

Από τα ανωτέρω καθίσταται σαφές πως όλων των Τάξεων οι HDAC σχετίζονται με ποικίλους μηχανισμούς στον καρκίνο οι οποίοι περιλαμβάνουν την κυτταρική μετανάστευση και τη μετάσταση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, την αγγειογένεση, την απόπτωση και τη διαφοροποίηση [440]. Οι παραπάνω μηχανισμοί περιγράφονται στην Εικόνα 24.

Εικόνα 24: Βιολογικός ρόλος των HDAC στον καρκίνο.



Πηγή: Hagelkruys A, Sawicka A, Rennmayr M, Seiser C. The biology of HDAC in cancer: The nuclear and epigenetic components. *Handb Exp Pharmacol.* 2011;206:13-37.

3.4 Μεταλλάξεις των HDAC

Όπως αναφέρθηκε και πριν, έχουν επίσης παρατηρηθεί μεταλλάξεις των HDAC. Η μετάλλαξη της HDAC-2 στον ανθρώπινο επιθηλιακό καρκίνο επιφέρει μικροδορυφορική αστάθεια. Επιπρόσθετα, μια μετάλλαξη της HDAC-2 σε ανθρώπινους καρκίνους προσδίδει αντίσταση στους HDACI [441]. Η HDAC-3 συνδέεται με την απόκριση σε βλάβες του DNA ενώ η καταστολή της προκαλεί γενωμική αστάθεια. Η HDAC-4 δρα ως καταστολέας της μεταγραφής και οι μεταλλάξεις της έχουν ανευρεθεί σε σημαντικό βαθμό σε καρκίνους του μαστού και του παχέος εντέρου. Η SIRT-2 δρα ογκοκατασταλτικά και η μετάλλαξη στην καταλυτική της περιοχή εξαλείφει την ενζυμική της δράση, γεγονός που επηρεάζει τον έλεγχο της μίτωσης, συμβάλλοντας στη γενωμική αστάθεια και την ογκογένεση [442]. Οι HDAC-9 και -10 φάνηκε να εμπλέκονται στον ομόλογο ανασυνδυασμό. Ως εκ τούτου η καταστολή τους είχε ως αποτέλεσμα την αναστολή του ομόλογου ανασυνδυασμού [385, 427].

3.5 HDAC στον καρκίνο του μαστού

Πέραν όσων προαναφέρθηκαν για τη δράση συγκεκριμένων HDAC στον καρκίνο του μαστού, στο εδάφιο αυτό θα παρατεθούν επιπλέον δεδομένα. Ιδιαίτερα λοιπόν οι HDAC-1, -2, -3 και -6, εμπλέκονται στη ρύθμιση της οιστρογονικής σηματοδότησης που παίζει βασικό ρόλο στην ανάπτυξη και την πρόοδο του καρκίνου του μαστού [443, 444]. Ένας από τους πιο ισχυρούς προγνωστικούς παράγοντες που καθορίζει τη θεραπευτική προσέγγιση σε ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο του μαστού, είναι ο βαθμός έκφρασης των οιστρογονικών (ER) και προγεστερονικών (PR) υποδοχέων. Οι PR-αρνητικοί όγκοι αποκρίνονται ελάχιστα σε αντιορμονική θεραπεία [445]. Ελάχιστες μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ των HDAC και συγκεκριμένων

χαρακτηριστικών του όγκου. Η ανάλυση αυτών των ιστών έδειξε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης των HDAC-1 και -3 και των υποδοχέων οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR) [397]. Επιπλέον, οι ER- και PR-θετικοί όγκοι του μαστού έχουν φανεί ότι εκφράζουν σε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα το *HDAC-1* mRNA [446]. Από την άλλη, η απώλεια της έκφρασης των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) έχει αποδοθεί σε διαταραχές επιγενετικών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης του DNA και της ακετυλίωσης των ιστονών [447]. Σε αντιστοιχία με τα ευρήματα αυτά, η συνδυαστική αγωγή με αναστολείς έναντι των DNA-μεθυλοτρανσφερασών (DNMT) και της HDAC-1 σε ER-αρνητικό καρκίνο μαστού, οδήγησε στην επανενεργοποίηση της πρωτεΐνης-υποκινητή ERα [448, 449]. Επιπρόσθετα, εκτός από τη μεταγραφική ρύθμιση, η δραστηριότητα των HDAC φαίνεται να επηρεάζει τη σταθερότητα της πρωτεΐνης ERα. Μάλιστα, η αναστολή της HDAC-6 έχει ως αποτέλεσμα την υπερακετυλίωση του HSP90 (Heat Shock Protein 90), γεγονός που παρεμποδίζει τη σύνδεσή του με την ERα, οδηγώντας σε επακόλουθη συμικουϊτίνωση και υποβάθμιση της ERα [440, 449]. Σε ER-θετικά κύτταρα, η αναστολή των HDAC φαίνεται να καταστέλλει την έκφραση της ERα και ευαισθητοποιεί τα καρκινικά κύτταρα του μαστού στην ταμοξιφένη [450].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΩΝ ΑΠΑΚΕΤΥΛΑΣΩΝ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ

4.1 Από τις HDAC στους HDACI

Στο Κεφάλαιο 3 αναφέρθηκε ότι οι απακετυλάσες των ιστονών (HDAC) χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες, τις HDAC Τάξης I-IV. Η λειτουργία των HDAC Τάξης I (HDAC-1, -2, -3, -8), Τάξης II (HDAC-4, -5, -6, -9, -10) και Τάξης IV (HDAC-11) στηρίζεται στην εξαρτώμενη από ψευδάργυρο (Zn^{2+}) κατάλυση. Οι αναστολείς τους, αποτρέπουν την πρόσδεση των διαφόρων ενζυμικών υποστρωμάτων, μέσω δράσης τους σε έναν υδρόφοβο θύλακο που οδηγεί στον καταλύτη. Οι HDAC Τάξης III ή αλλιώς Sirtuins (SIRT-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7) έχουν το μόριο του NAD^+ ως συμπράγοντα της λειτουργίας τους [383].

Επιπλέον, αναφέρθηκε πριν ότι πληθώρα HDAC υπερεκφράζονται σε καρκινικά κύτταρα [403, 451]. Η υπερέκφρασή τους δε σε διάφορες κακοήθειες φαίνεται να σχετίζεται με κλινικο-παθολογικές παραμέτρους και μάλιστα αποτελεί ανεξάρτητο κακό προγνωστικό δείκτη [403]. Υψηλή έκφραση της HDAC-1 παρατηρήθηκε στον καρκίνο του προστάτη, του πνεύμονα, του οισοφάγου, του στομάχου, του παχέος εντέρου και του μαστού, της HDAC-2 σε καρκίνο του στομάχου, του παχέος εντέρου και του τραχήλου της μήτρας (τα δεδομένα παραμένουν φτωχά για την έκφραση της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού), της HDAC-3 σε καρκίνο του παχέος εντέρου και της HDAC-6 στον καρκίνο του μαστού. Από την άλλη, τα *in vitro* ευρήματα υποδηλώνουν ότι η καταστολή της HDAC-1 αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ογκογένεση, της HDAC-3 περιορίζει τη μετανάστευση των κυττάρων, ενώ της HDAC-6 έχει καταδειχθεί ως θεραπευτικός στόχος [403, 451-453]. Αντίθετα, τα δεδομένα για την HDAC-2 παραμένουν ελάχιστα πόσο μάλλον στην περίπτωση του μαστού. Αυτός είναι άλλωστε και ο σκοπός της παρούσης Διδακτορικής Διατριβής, να διαλευκάνει δηλαδή την έκφραση της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού και να αναδείξει τον πιθανό θεραπευτικό ρόλο της αναστολής της.

Η αναστολή των HDAC Τάξης I και II επάγει την απόπτωση κυττάρων ποικίλων όγκων. Οι αναστολείς των απακετυλασών των ιστονών (HDACI) έχει αποδειχθεί ότι προάγουν τη διαφοροποίηση, τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου, την απόπτωση και αναστέλλουν τη μετανάστευση, την εισβολή και την αγγειογένεση σε πολλές καρκινικές κυτταρικές σειρές. Επιπλέον, οι HDACI αναστέλλουν την ανάπτυξη όγκων σε ζωικά μοντέλα και παρουσιάζουν αντικαρκινική δραστηριότητα σε ασθενείς. Δεδομένης της σημασίας των HDAC στην ογκογένεση, του ρόλου τους στην ανάπτυξη αντοχής στη χημειοθεραπεία και της αναστρέψιμης φύσης της δραστηριότητάς τους [452, 454, 455], οι HDACI αναδεικνύονται ως πολλά υποσχόμενη κατηγορία αντικαρκινικών φαρμάκων.

4.2 Κατηγοριοποίηση των HDACI

Μέχρι στιγμής έχουν αναγνωρισθεί 4 κύριες κατηγορίες HDACI -φυσικών και συνθετικών- που είναι: 1/ Τα υδροξαμικά οξέα, 2/ Τα λιπαρά οξέα βραχείων αλύσων 3/ Τα κυκλικά πεπτίδια και 4/ Τα βενζαμίδια. Πιο σπάνιες κατηγορίες είναι οι μερκαπτοκετόνες και οι αναστολείς των Sirtuins. Στον Πίνακα 1 περιγράφεται η κατηγοριοποίηση των HDACI και οι θεραπευτικοί τους στόχοι [383, 427, 452, 456-459].

Πίνακας 1: Κατηγοριοποίηση των κυριότερων αναστολέων των απακετυλασών των ιστονών (HDACI).

Κατηγορία	Μέλος	Στόχος
	Trichostatin A (TSA)	Όλες οι HDAC
	Vorinostat (SAHA)	Όλες οι HDAC
	Panobinostat	HDAC Τάξης I και II

Υδροξαμικά οξέα	Belinostat	Όλες οι HDAC
	Abexinostat	Όλες οι HDAC
	Resminostat	Όλες οι HDAC
	Givinostat	Όλες οι HDAC
	Quisinostat	Όλες οι HDAC
	Rocilinostat	HDAC Τάξης II
	Pracinostat	HDAC Τάξης I, II και IV
	Tubacin	HDAC Τάξης IIB
Λιπαρά οξέα	Valproic acid	HDAC Τάξης I και IIA
	Sodium butyrate	HDAC Τάξης I και IIA
	Sodium phenylbutyrate	HDAC Τάξης I και II
Κυκλικά πεπτίδια	Romidepsin	HDAC Τάξης I
	Apicidin	HDAC Τάξης I
Βενζαμίδια	Entinostat	HDAC Τάξης I
	Mocetinostat	HDAC Τάξης I και IV
	Tacedinaline	HDAC Τάξης I
	Domatinostat	HDAC Τάξης I
	Chilamide	HDAC Τάξης I και II
Μερκαπτοκετόνες	KD5170	HDAC Τάξης I και II
Αναστολείς Sirtuins	Nicotinamide	HDAC Τάξης III (Sirtuins)
	Sirtinol	SIRT-1, -2
	Cambinol	SIRT-1, -2
	EX-527	SIRT-1, -2

Παρόλο που οι μέχρι σήμερα εγκεκριμένοι HDACI αφορούν τη θεραπεία του T-λεμφοκυτταρικού λεμφώματος και του πολλαπλού μυελώματος, τα χαρακτηριστικά της υπερέκφρασης των HDAC σε διάφορους τύπους καρκίνου αντανακλούν τις πιθανές πρόσθετες θεραπευτικές ενδείξεις τόσο των ήδη εγκεκριμένων όσο και νεότερων παραγόντων που βρίσκονται επί του παρόντος υπό μελέτη.

Ο μηχανισμός δράσης του κάθε μέλους των HDACI διαφέρει, καθότι αυτοί οι παράγοντες (οι HDACI) δρουν τροποποιώντας τα προς τα κάτω μονοπάτια σηματοδότησης. Η δραστηριότητα ενός HDACI δεν εξαρτάται μόνο από τον τύπο του καρκίνου αλλά και από το ίδιο το μόριο του αναστολέα, την εκλεκτικότητα ως προς τις HDAC και τη δόση του. Πολλοί HDACI δείχνουν ότι έχουν αποτελέσματα σε ειδικούς τύπους όγκων ως φάρμακα ενός παράγοντα, αλλά οι αιματολογικές κακοήθειες φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες. Οι HDACI φαίνεται επίσης να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικοί σε συνδυασμό με άλλα αντικαρκινικά φάρμακα ή/και ακτινοθεραπεία [452].

Στα εδάφια αυτού του κεφαλαίου που ακολουθούν, θα γίνει εκτενής περιγραφή των κυριότερων κατηγοριών των HDACI και του μηχανισμού δράσης τους ενώ ταυτόχρονα θα γίνει ανασκόπηση της εμπειρίας από την εφαρμογή των ήδη εγκεκριμένων HDACI στην κλινική πράξη, με γνώμονα τις μελλοντικές προοπτικές για τη θεραπεία του καρκίνου.

4.2.1 Υδροξαμικά οξέα

Τα υδροξαμικά οξέα επικάθονται στα καταλυτικά κέντρα των HDAC όπου υπάρχουν τα απαραίτητα για τη δράση των HDAC, ιόντα ψευδαργύρου (Zn^{2+}). Με τον τρόπο αυτό παρεμποδίζουν τη δράση των HDAC [460, 461]. Οι περισσότερες από τις ενώσεις αυτής της ομάδας είναι πολύ ισχυρές και δρουν ως αναστρέψιμοι αναστολείς

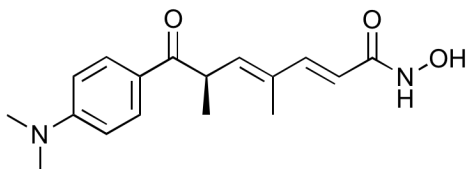
των HDAC. Στα πλεονεκτήματα τους συγκαταλέγονται η καλή διαλυτότητα, η *in vitro* σταθερότητα και η εύκολη σύνθεση. Παρόλο που η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει πολλά διαφορετικά συνθετικά παράγωγα, μόνο λίγα από αυτά έχουν καλή δραστηριότητα. Τα μειονεκτήματα των υδραξιαμικών οξέων σχετίζονται με την υψηλή δέσμευση Zn^{2+} και άλλων ιόντων. Ανεπιθύμητες ενέργειες μπορεί να προκύψουν από τη πρόσδεσή τους σε ιόντα Zn^{2+} άλλων εξαρτωμένων από ιόντα Zn^{2+} ενζύμων, όπως είναι η καρβονυλική ανυδράση, οι αμινοπεπτιδάσες και οι μεταλλοπρωτεΐνάσες. Επιπλέον, οι περιορισμένες φαρμακοκινητικές τους ιδιότητες, όπως η κάθαρση και ο ταχύς μεταβολισμός τους, θεωρούνται σημαντικά κωλύματα που θα πρέπει να ξεπεραστούν για την επιτυχή εφαρμογή τους στη φαρμακευτική [456].

4.2.1.1 Trichostatin A

Η Trichostatin A (TSA) (Εικόνα 1), ενώ αρχικά αναπτύχθηκε ως αντιμυκητιασικός παράγοντας, είναι ένας αναστολέας όλων των HDAC. Η χημική της αστάθεια, η έλλειψη ειδικότητας για ορισμένες HDAC και η τοξική της δράση, οδήγησαν στη χρήση συνθετικών της αναλόγων στην κλινική πράξη [454, 456, 462]. Η TSA εκδηλώνει την αντικαρκινική της δράση αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγοντας την απόπτωση [456, 463]. Συγκεκριμένα, προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου στα κύτταρα HeLa [464], διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επαγωγή της απόπτωσης στα κύτταρα του καρκίνου του παγκρέατος [465] και του θυρεοειδούς [466, 467], αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και επαγωγή της απόπτωσης στα κύτταρα του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [468], καταστολή της διαφοροποίησης στα κύτταρα του καρκίνου των ωοθηκών [469] και ρύθμιση του κυτταρικού μεταβολισμού στα κύτταρα του καρκίνου του νεφρού [470].

Η TSA δείχνει να παρουσιάζει υποσχόμενη δράση και στον καρκίνου του μαστού, θα αναλυθεί ωστόσο σε επόμενο εδάφιο [239, 270].

Εικόνα 1: Χημικός τύπος της Trichostatin A ($C_{17}H_{22}N_2O_3$).

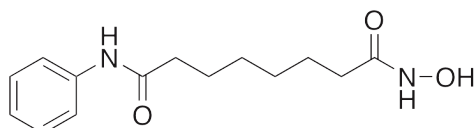


4.2.1.2 Vorinostat

Η Vorinostat ή αλλιώς υποεραλανιλικό υδροξαμικό οξύ (Suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) (Εικόνα 2) είναι ένας συνθετικός παν-HDAC αναστολέας που έχει λάβει έγκριση από τον Αμερικάνικο Οργανισμό Φαρμάκων και Τροφίμων (FDA) για τη θεραπεία του T δερματικού λεμφώματος [383, 384, 471]. Η Vorinostat, ρυθμίζει τη δράση της εξαρτώμενης από κυκλίνη κινάσης p21 η οποία με τη σειρά της ανταγωνίζεται τα σύμπλοκα κυκλίνης/CDK που οδηγούν σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 κυττάρων κακόηθων κυτταρικών σειρών. Επιπρόσθετα, επάγει την απόπτωση σε αιματολογικές κακοήθειες και συμπαγείς όγκους μέσω μεταγραφικών και μη, μηχανισμών. Η Vorinostat επίσης αναστέλλει την αγγειογένεση και επηρεάζει την ανοσολογική απόκριση μέσω αρνητικής ρύθμισης της ιντερλευκίνης 10 (IL-10) [472]. Τέλος, η συγχορήγησή της με αναστολείς πρωτεασώματος (π.χ. Gemcitabine), αναστολείς τοποϊσομεράσης (π.χ. Doxorubicin), χημειοθεραπευτικά που βασίζονται στην πλατίνα (Carboplatin και Paclitaxel), αναστολείς τυροσινικής κινάσης (π.χ. Gefitinib), ορμονοθεραπεία (π.χ. Tamoxifen), επιγενετικούς ρυθμιστές, αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος και ακτινοθεραπεία,

αποτελεί αντικείμενο ποικίλων ερευνών με υποσχόμενα αποτελέσματα [473]. Η Vorinostat και η αντικαρκινική του δράση θα περιγραφούν εκτενώς στο Εδάφιο 4.5.1.1.

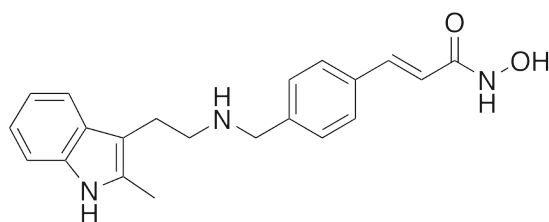
Εικόνα 2: Χημικός τύπος της Vorinostat (C₁₄H₂₀N₂O₃).



4.2.1.3 Panobinostat

Η Panobinostat (LBH589) (Εικόνα 3) θεωρείται αναστολέας κυρίως των HDAC Τάξης I και II [474]. Ενώ σε *in vitro* μελέτες οδήγησε σε απόπτωση, διακοπή του κυτταρικού κύκλου και είχε θετική επίδραση στο p21, σε *in vivo* μελέτες δεν έδειξε τόσο έντονη επίδραση [475]. Συνδυασμός της Panobinostat με PI3K/mTOR αναστολέα οδήγησε σε αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης, σε *in vivo* και *in vitro* πειράματα [476]. Ο συνδυασμός της με αναστολείς πρωτεασώματος, με αναστολείς τυροσινικής κινάσης, με ορμονοθεραπεία και ακτινοθεραπεία, είναι υπό αξιολόγηση [473]. Όπως θα περιγραφεί εκτενώς στο Εδάφιο 4.5.1.5, και η Panobinostat αποτελεί εγκεκριμένο από τον FDA και τον EMA HDACI, για τη θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος [383, 384].

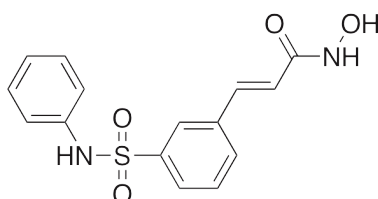
Εικόνα 3: Χημικός τύπος της Panobinostat (C₂₁H₂₃N₃O₂).



4.2.1.4 Belinostat

Άλλος ένας νεότερος παν-HDAC αναστολέας είναι η Belinostat (PXD101) (Εικόνα 4) [477]. Φαίνεται να εκδηλώνει την αντικαρκινική της δράση οδηγώντας σε αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επαγωγή της απόπτωσης [478]. Ο συνδυασμός της Belinostat με αναστολείς τοποϊσομεράσης (π.χ. Doxorubicin) ή χημειοθεραπευτικά που βασίζονται στην πλατίνα (Carboplatin και/ή Paclitaxel), αποτελεί αντικείμενο μελετών [473]. Όπως θα περιγραφεί εκτενώς στο Εδάφιο 4.5.1.3, και η Belinostat αποτελεί εγκεκριμένο από το FDA HDACi, για τη θεραπεία του T δερματικού λεμφώματος [383, 384].

Εικόνα 4: Χημικός τύπος της Belinostat (C₁₅H₁₄N₂O₄S).

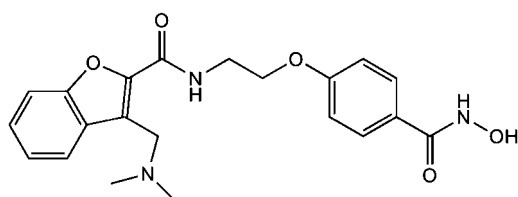


4.2.1.5 Abexinostat

Η Abexinostat (PCI-24781) (Εικόνα 5) είναι ένας ευρέος φάσματος αναστολέας των HDAC, προέρχεται από το υδροξαμικό οξύ και εμφανίζει υποσχόμενη αντικαρκινική δράση. Δεν παρουσιάζει εκλεκτικότητα και έτσι μπορεί να αναστείλει ποικίλους τύπους HDAC, επιφέροντας έτσι επαναδιαμόρφωση της χρωματίνης και έκφραση πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην απόπτωση των κυττάρων του όγκου [456]. Συγκεκριμένα, η Abexinostat επάγει την απόπτωση διακόπτοντας τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G0/G1, βραχύνοντας τη φάση S και αυξάνοντας την έκφραση της πρωτεΐνης p21 και την παραγωγή αντιδραστικών ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), σε κυτταρικές σειρές προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας και non-Hodgkin

λεμφώματος [479, 480]. Παρόμοια δράση της παρατηρήθηκε και σε κύτταρα λεμφογενούς λευχαιμίας [481]. Επιπρόσθετα, ο συνδυασμός της Abexinostat με Bortezomib, δείχνει να αυξάνει την αποπτωτική της δράση. Επιπλέον, μετά από αυτό το συνδυασμό παρατηρήθηκαν αυξημένη διάσπαση κασπασών, αποπόλωση μιτοχονδρίων και ακετυλίωση ιστονών. Η Abexinostat και μόνη της - πόσο μάλλον συγχορηγούμενη με Bortezomib - επέφερε καταστολή των αντιοξειδωτικών γονιδίων, του πρωτεασώματος και των γονιδίων της οδού NF-kB. Μάλιστα, η αναστολή της οδού NP-kB επέφερε καταστολή των πρωτεϊνών NF-kB1, c-Myc και IκB-κινάσης [479]. Η Abexinostat δείχνει γενικά υποσχόμενα αποτελέσματα σε αιματολογικές παθήσεις [456].

Εικόνα 5: Χημικός τύπος της Abexinostat ($C_{21}H_{23}N_3O_5$).

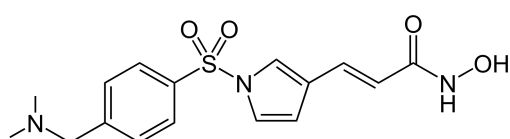


4.2.1.6 Resminostat

Η Resminostat (RAS2410) (Εικόνα 6) είναι ένας από του στόματος χορηγούμενος παν-HDAC αναστολέας που αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση [456]. Έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες έναντι συμπαγών όγκων, δείχνοντας καλό φαρμακοκινητικό προφίλ και υποσχόμενα αντικαρκινικά αποτελέσματα [482]. Επιπρόσθετα, ακόμα και σε χαμηλές μικρομοριακές συγκεντρώσεις, αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων και επάγει την απόπτωση σε κυτταρικές σειρές πολλαπλού μυελώματος [483]. Μάλιστα, σημειώθηκε αξιοσημείωτη αύξηση των επιπέδων των πρωτεϊνών Bim, Bax, Bcl-xL και ενεργοποίηση των

κασπασών 3, 8 και 9 [482]. Παράλληλα, αξιολογείται σε ποικίλες μελέτες φάσης II είτε ως μονοθεραπεία π.χ. για λέμφωμα Hodgkin [484], είτε σε συνδυασμό με άλλα αντικαρκινικά φάρμακα π.χ. FOLFIRI για καρκίνο παχέος εντέρου και Sorafenib για ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και [482]. Η τελευταία μελέτη μάλιστα, έχει πάρει άδεια από τον FDA [456].

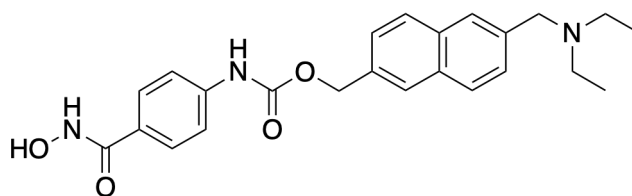
Εικόνα 6: Χημικός τύπος της Resminostat ($C_{16}H_{20}ClN_3O_4S$).



4.2.1.7 Givinostat

Η Givinostat (IFT2357) (Εικόνα 7), παράγωγο του υδροξαμικού οξέος, είναι ένας παν-HDAC αναστολέας που εκτός από αντιφλεγμονώδεις και αντι-αγγειογενετικές ιδιότητες, εμφανίζει και αντινεοπλασματική δράση [456, 485]. Κλινικά οφέλη παρατηρήθηκαν μετά από θεραπεία σε ασθενείς με λέμφωμα Hodgkin, χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, πολλαπλό μύελωμα και μυελοπολλαπλασιαστικά σύνδρομα, καθώς η Givinostat επιδεικνύει αντιπολλαπλασιαστική και κυτταροτοξική δράση [485]. Ποικίλες μελέτες έχουν δείξει ότι η Givinostat σε συνδυασμό με άλλους θεραπευτικούς παράγοντες, όπως το Sorafenib, εμφανίζει αυξημένο θεραπευτικό όφελος και επάγει την απόπτωση ακόμη και σε θεραπευτικά ανθεκτικό υποτροπιάζον λέμφωμα Hodgkin [486]. Η Givinostat συγχρησιμοποιείται ακόμα και με μικρές δόσεις κυκλοφωσφαμίδης παρουσιάζει βελτιωμένο θεραπευτικό αποτέλεσμα ακόμη και σε χαμηλή δόση, σε B non-Hodgkin λέμφωμα στο οποίο υπερεκφράζεται το γονίδιο c-Myc [487]. Παρόλο που χρειάζονται περαιτέρω μελέτες, τα ανωτέρω δεδομένα καθιστούν τη Givinostat ως φιλόδοξο μελλοντικό αντινεοπλασματικό παράγοντα.

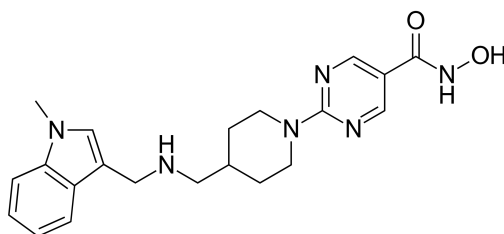
Εικόνα 7: Χημικός τύπος της Givinostat ($C_{24}H_{27}N_3O_4$).



4.2.1.8 Quisinostat

Η Quisinostat (JNJ-26481585) (Εικόνα 8) είναι ένας δευτέρης γενιάς παν- HDAC αναστολέας, παράγωγο του υδροξαμικού οξέος και χαρακτηρίζεται από υψηλή αντικαρκινική δραστηριότητα σε προκλινικές μελέτες [488]. Η δράση της αυτή είτε ως μονοθεραπεία είτε μαζί με άλλους παράγοντες, περιλαμβάνει: Διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επαγωγή της απόπτωσης στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [489, 490], στον καρκίνο του πνεύμονα [491] και στον καρκίνο του οισοφάγου [492], επαγωγή της απόπτωσης στο ραβδομυοσάρκωμα [493] και το πολλαπλό μυέλωμα [494], αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και περιορισμό της κυτταρικής μετανάστευσης στο οφθαλμικό μελάνωμα [495]. Λόγω των υποσχόμενων αντικαρκινικών δράσεών της, η Quisinostat αξιολογείται σε πληθώρα κλινικών μελετών [456].

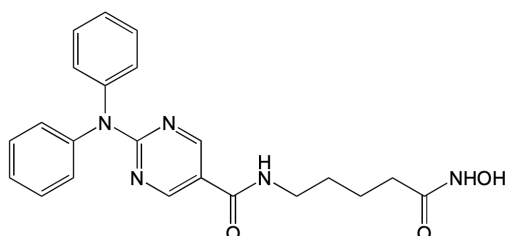
Εικόνα 8: Χημικός τύπος της Quisinostat ($C_{21}H_{26}N_6O_2$).



4.2.1.9 Rocilinostat

Η Rocilinostat (ACY-1215) (Εικόνα 9) είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας της HDAC-6, καθώς παρατηρήθηκε σχεδόν δεκαπλάσια εκλεκτικότητά της προς την HDAC-6 σε σχέση με τις HDAC-1, -2 και -3. Εμφανίζει υψηλή δραστικότητα έναντι της HDAC-6, μέτρια έναντι της HDAC-8 και ελάχιστη δραστικότητα έναντι των HDAC-4, -5, -7, -9 και -11 και SIRT-1 και -2 [456]. Η Rocilinostat είτε μόνη της π.χ. σε καρκίνο οισοφάγου [496], σε μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα [497] και σε μελάνωμα [498], είτε συγχορηγούμενη με άλλους παράγοντες όπως με Carfilzomib σε λεμφώματα [499] και στο πολλαπλό μυέλωμα [500], με Bortezomib ή Lenalidomide και Dexamethasone σε πολλαπλό μυέλωμα [501, 502], με Oxaliplatin σε καρκίνο παχέος εντέρου [503] και με Paclitaxel σε καρκίνο ωοθηκών και περιτοναίου [504], δείχνει να εμφανίζει υποσχόμενη αντικαρκινική δράση.

Εικόνα 9: Χημικός τύπος της Rocilinostat ($C_{24}H_{27}N_5O_3$).

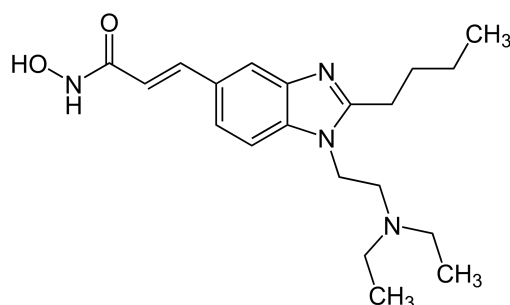


4.2.1.10 Pracinostat

Η Pracinostat (SB939) (Εικόνα 10), ένας ισχυρός παν-HDAC αναστολέας (εξαιρούνται οι HDAC Τάξης III), με καλές φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές ιδιότητες [505]. Όπως και οι άλλοι HDACi, ομοίως και η Pracinostat στοχεύει τον όγκο, αναστέλλει τη δράση των HDAC και τελικά επάγει την απόπτωση [506]. Φαίνεται να είναι καλώς ανεκτή, χωρίς να παρουσιάζει σοβαρές παρενέργειες [507]. Ο συνδυασμός της με Pacritinib, ασκεί συνεργική δράση στην αναστολή της ανάπτυξης όγκου και της μετάστασης, παρεμποδίζοντας τη σηματοδότηση της JAK2 (Κινάση

Janus 2) ή της FLT (Fluorinated L-thymine), γεγονός που επιβεβαιώνεται από την ομαλοποίηση αρκετών επαγομένων από τον όγκο κυτταροκινών, χυμοκινών και αυξητικών παραγόντων. Το εύρημα αυτό συνηγορεί υπέρ της χρήσης των αναστολέων HDAC-JAK2-FLT3 για τη θεραπεία της οξείας μυελοειδούς λευχαιμίας και ιδιαίτερα επί JAK2 και FLT3 μεταλλάξεων [506]. Η Pacritinib συγχορηγούμενη με Azacytidine, έδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία [505].

Εικόνα 10: Χημικός τύπος της Pracinostat ($C_{20}H_{30}N_4O_2$).

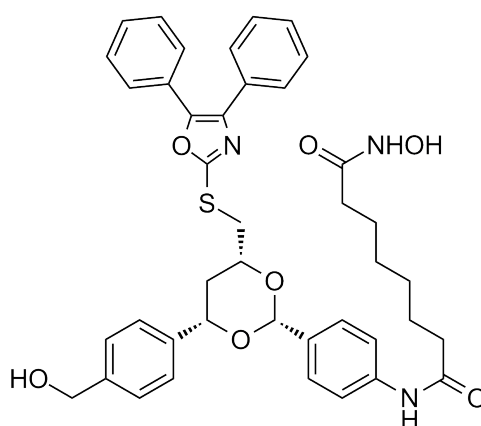


4.2.1.11 Tubacin

Η Tubacin (Εικόνα 11) είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας της HDAC-6 με επιπρόσθετη δράση την επαγωγή του κυτταρικού θανάτου των καρκινικών κυττάρων LNCaP και MCF-7, χορηγούμενο σε συνδυασμό με αναστολείς τοποϊσομεράσης II (Ετοποσίδη και Δοξορουβικήνη) και τον παν-HDAC αναστολέα SAHA. Η δράση της αυτή δεν παρατηρήθηκε σε φυσιολογικά κύτταρα. Οι ανωτέρω συνδυασμοί είναι πιο αποτελεσματικοί από τη χρήση κάθε φαρμάκου χωριστά, ως προς την ενεργοποίηση των αποπτωτικών οδών σε κύτταρα όγκου. Η αναστολή της HDAC-6 από την Tubacin, καθορίζει τη συσσώρευση της φωσφορυλιωμένης ιστόνης H2AX (γ H2AX), η οποία μπορεί να θεωρηθεί ως πρώιμος δείκτης για τη θραύση του DNA [508]. Επιπρόσθετα, η Tubacin σε κύτταρα γλοιώματος επάγει τον κυτταρικό τους θάνατο, γεγονός που επιτείνεται από τη συγχορήγησή της με Temozolomide [509]. Επιπρόσθετα,

αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στην οξεία λεμφογενή λευχαιμία [510], αναστέλλει την απακετυλίωση της τουμπουλίνης στο μελάνωμα [511] και περιορίζει τα επίπεδα έκφρασης των υποδοχέων Notch1 στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [512].

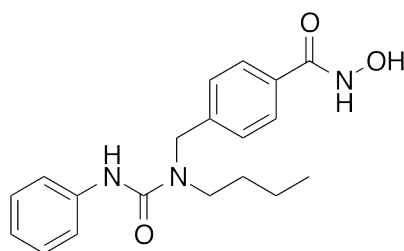
Εικόνα 11: Χημικός τύπος της Tubacin ($C_{41}H_{43}N_3O_7S$).



4.2.1.12 Nexturastat A

Η Nexturastat A (NexA) (Εικόνα 12) είναι παράγωγο της αρυλ-ουρίας και δρα ως ισχυρός εκλεκτικός αναστολέας της HDAC-6. Προκαλεί δόσοεξαρτώμενη υπερακετυλίωση της α -τουμπουλίνης σε κύτταρα μελανώματος ποντικού, χωρίς μεταβολή της ακετυλίωσης της H3 ιστόνης [513]. Μάλιστα, όσον αφορά το μελάνωμα, ο συνδυασμός Nexturastat A με νανοσωματίδια πολύ(γαλακτικού-γλυκολικού) οξέος (Poly Lactic-co-Glycolic Acid, PLGA) και με πράσινο της ινδοκυανίνης (Indocyanine Green), δείχνει να έχει υποσχόμενα θεραπευτικά αποτελέσματα [514]. Τέλος, η Nexturastat A επάγει την απόπτωση, αναστέλλει την ανάπτυξη του όγκου και υπερνικά την αντίσταση στη θεραπεία, στο πολλαπλό μύελωμα [515].

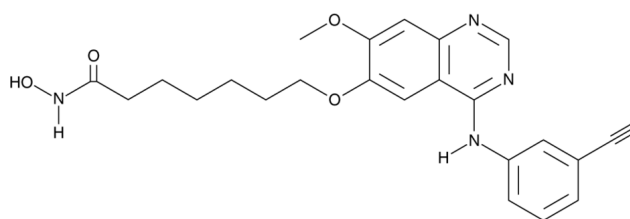
Εικόνα 12: Χημικός τύπος της Nexturastat A ($C_{19}H_{23}N_3O_3$).



4.2.1.13 CUDC-101

Το CUDC-101 (Εικόνα 13) είναι ένας αποτελεσματικός, συνθετικός, με πολλαπλούς στόχους αναστολέας, που περιλαμβάνουν τους υποδοχείς EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) και HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) και τις HDAC Τάξης I και II [456, 516]. Το CUDC-101 φαίνεται να εμφανίζει ένα μεγάλο εύρος αντικαρκινικών δράσεων κυρίως έναντι όγκων που αδυνατούν να αντιμετωπισθούν με ένα μόνο φάρμακο [517]. Δρα συνεργικά με τη Gemcitabine στον καρκίνο του παγκρέατος, αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, επάγοντας την απόπτωση πιθανώς παρεμβαίνοντας στα μονοπάτια σηματοδότησης PI3K/Akt/mTOR και Erk και παρεμποδίζοντας την κυτταρική μετανάστευση και διείσδυση [518]. Στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, το CUDC-101 εκδηλώνει τις αντινεοπλασματικές του ιδιότητες περιορίζοντας την κυτταρική μετανάστευση και τη διείσδυση [519]. Στο αναπλαστικό καρκίνωμα θυρεοειδούς, το CUDC-101 αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και περιορίζει τις μεταστάσεις [520] ενώ συγχρηγούμενο με Carfilzomib επάγει την απόπτωση [521]. Τέλος, υποσχόμενη αντινεοπλασματική δράση φάνηκε σε πειραματικά μοντέλα ανθεκτικού στη Lapatinib HER2(+) καρκίνου μαστού, καρκίνου ήπατος, καρκίνου παχέος εντέρου και πλακώδους καρκινώματος κεφαλής και τραχήλου [516].

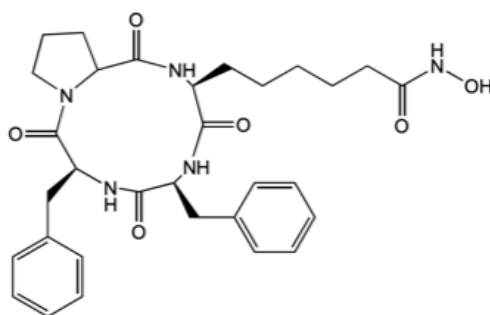
Εικόνα 13: Χημικός τύπος της CUDC-101 (C₂₄H₂₆N₄O₄).



4.2.1.14 Κυκλικά πεπτίδια που περιέχουν υδροξαμικό οξύ

Το κυκλικά πεπτίδια που περιέχουν υδροξαμικό οξύ (CHAP), συνιστούν μια νέα υποομάδα των HDACI, σχεδιασμένη πρακτικά ως υβρίδιο της TSA και της Traroxin. Αρκετά συνθετικά CHAP έχουν αξιολογηθεί όσον αφορά την επίδρασή τους στην αναστολή της HDAC και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Μεταξύ αυτών, το CHAP31 (Εικόνα 14) είναι από τα ισχυρότερα όσον αφορά τη βιολογική του δραστηριότητα. Φαίνεται να είναι πιο σταθερό από την TSA και την Traroxin και χαρακτηρίζεται από αντικαρκινική δράση [522]. Στον καρκίνο του οισοφάγου φαίνεται να προάγει την απόπτωση [523] και να ενισχύει τα αποτελέσματα της ακτινοθεραπείας [524]. Τα δεδομένα παραμένουν περιορισμένα.

Εικόνα 14: Χημικός τύπος του CHAP31.

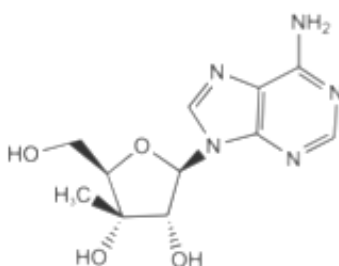


4.2.1.15 υδροξαμικού οξέα με αναστολείς ρεντουκτάσης

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ποικίλα παράγωγα του υδροξαμικού οξέος εμφανίζουν συνεργική δράση με πολλές άλλες κατηγορίες αντικαρκινικών φαρμάκων

(π.χ. Αναστολείς τοποϊσομεράσης II, Ταξάνες) και βιολογικούς παράγοντες (π.χ. Imatinib, Ρετινοειδή) [456]. Ο συνδυασμός τους με υδροξουρία - αναστολέα ριβονουκλεοτιδικής ρεντουκτάσης - δείχνει να έχει επίσης συνεργική δράση. Ωστόσο, η μέτρια αποτελεσματικότητα της υδροξουρίας, έστρεψε την έρευνα σε άλλα παράγωγα όπως είναι η 3'-C-methyladenosine (3'-Me-Ado) (Εικόνα 15), με μεγαλύτερη δραστικότητα αναστολέα ρεντουκτάσης και καλύτερη αντικαρκινική δράση [525, 526]. Τα αποτελέσματα από τον ανωτέρω συνδυασμό ήταν ενθαρρυντικά καθότι ο συνδυασμός βαλπροϊκού οξέος (VPA) και υδροξουρίας φάνηκε να καταστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, να αυξάνει τα επίπεδα έκφρασης της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης BIM και να επάγει την απόπτωση [527]. Άλλο ένα παράδειγμα αναστολέα ρεντουκτάσης είναι η Gemcitabine. Πρόκειται για ένα νουκλεοτιδικό ανάλογο που συγχορηγούμενο με HDACI εμφανίζει υποσχόμενα αποτελέσματα στον καρκίνο του παγκρέατος [518, 528] και το λειομυοσάρκωμα [529, 530].

Εικόνα 15: Χημικός τύπος της 3'-C-methyladenosine (C₁₁H₁₅N₅O₄).



4.2.2 Λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα βραχείων αλύσων (Short Chain Fatty Acids, SCFA), συνιστούν χαμηλότερης ισχύος HDACI σε σχέση με τα υδροξαμικά οξέα, ενδεχομένως λόγω αδυναμίας πρόσβασης στα ιόντα Zn²⁺ των HDAC [456, 531]. Αποτελούν παράγωγο

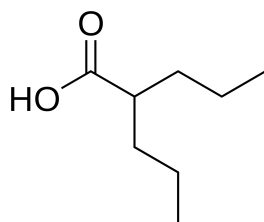
της ζύμωσης τροφών με ίνες από βακτήρια της εντερικής χλωρίδας και ενδεχομένως ασκούν προστατευτική αντινεοπλασματική δράση στο έντερο [532]. Λόγω της ιδιότητάς τους αυτής, και παρά την απλή χημική τους δομή, τα λιπαρά οξέα τυγχάνουν ιδιαίτερου αντικαρκινικού ερευνητικού ενδιαφέροντος καθότι αφενός σχετίζονται με διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επαγωγή της διαφοροποίησης και της απόπτωσης και αφετέρου είναι ασφαλή ως προς τη χορήγησή τους [456].

4.2.2.1 Βαλπροϊκό οξύ

Κύριος εκπρόσωπος της κατηγορίας αυτής των HDACI είναι το Βαλπροϊκό οξύ (Valproic Acid, VPA) (Εικόνα 16). Πρόκειται για αντιεπιληπτικό φάρμακο του οποίου η ανασταλτική δράση έναντι των HDAC Τάξης I και II, ανακαλύφθηκε αργότερα. Έτσι λοιπόν, το Βαλπροϊκό οξύ εμφανίζει αντικαρκινικές ιδιότητες καθότι επάγει τη διαφοροποίηση και την απόπτωση, αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και περιορίζει το μεταστατικό και αγγειογενετικό δυναμικό των καρκινικών κυττάρων [533]. Παράλληλα, δείχνει να είναι καλώς ανεκτό καθώς εμφανίζει καλές φαρμακοκινητικές ιδιότητες χωρίς ιδιαίτερη τοξικότητα [534, 535]. Τα ανωτέρω χαρακτηριστικά, έστρεψαν την αντικαρκινική έρευνα γύρω από το Βαλπροϊκό οξύ χορηγούμενο είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες. Έτσι λοιπόν το Βαλπροϊκό οξύ προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στο οφθαλμικό μελάνωμα [495, 536], αναστέλλει τον κυτταρικό κύκλο, επάγει την απόπτωση, αυξάνει την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων α (ER α) και αναστέλλει την αγγειογένεση στον καρκίνο του ενδομητρίου [534, 537, 538], προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου, αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο του θυρεοειδή [466, 467], προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου, καθώς και επάγει την απόπτωση και

αναστέλλει την αγγειογένεση και τη μετάσταση στο μελάνωμα [511, 539]. Παράλληλα, το Βαλπροϊκό οξύ φαίνεται να αναστέλλει την ανάπτυξη και να επάγει την απόπτωση των κυττάρων του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [540] και του καρκίνου του παχέος εντέρου [541], να αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, να ενεργοποιεί τους μηχανισμούς αυτοφαγίας και να επάγει την απόπτωση στο πολλαπλό μύελωμα [542, 543] και να επάγει την απόπτωση στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία [544]. Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού, η μονοθεραπεία με Βαλπροϊκό οξύ προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου, αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση [270, 545-547]. Αντίστοιχα, συγχορηγούμενο το Βαλπροϊκό οξύ με άλλους θεραπευτικούς παράγοντες όπως αναστολείς τοποϊσομεράσης, επιγενετικούς ρυθμιστές ή ακτινοθεραπεία, έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας με υποσχόμενα αποτελέσματα σε αρκετές περιπτώσεις [466]. Για παράδειγμα, ο συνδυασμός του με τον αντι-αγγειογενετικό παράγοντα Bevacizumab σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο (σε μελέτη φάσης Ι), είναι ασφαλής και καλά ανεκτός σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου, γαστρο-οισοφαγικής συμβολής και προστάτη [548]. Επιπλέον, υποσχόμενη αντικαρκινική δράση εμφανίζει ο συνδυασμός του Βαλπροϊκού οξέος με Μεθορμίνη στον καρκίνο του προστάτη [549], Sorafenib στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [550], Oridonin [551] και υδροξουρία [552] στη λευχαιμία, Etoposide στον καρκίνο του παγκρέατος [553], Cisplatin ή/και Vinorelbine και ακτινοθεραπεία στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [554], Capecitabine και ακτινοθεραπεία σε καρκίνο παχέος εντέρου [555], Paclitaxel και Doxorubicin σε καρκίνο ωοθηκών [556], Melatonin σε καρκίνο ουροδόχου κύστης [557] και μαστού [558]. Μάλιστα, για τον καρκίνο του μαστού ιδιαίτερα ελπιδοφόρος είναι ο συνδυασμός του Βαλπροϊκού οξέος με Capecitabine [559]. Παράλληλα, υπό αξιολόγηση είναι ο πιθανός προστατευτικός του ρόλος του Βαλπροϊκού οξέος έναντι της καρκινογένεσης [560].

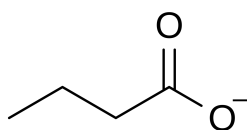
Εικόνα 16: Χημικός τύπος του βαλπροϊκού οξέος (C₈H₁₆O₂).



4.2.2.2 Βουτυρικό οξύ και παράγωγα

Το Βουτυρικό οξύ (Butyrate) (Εικόνα 17) αναστέλλει τις HDAC Τάξης I και II. Δρα στα καρκινικά κύτταρα επάγοντας τη διαφοροποίηση και την απόπτωση, αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και εμποδίζοντας την αγγειογένεση [561, 562]. Επιπλέον, φαίνεται να έχει και προληπτικό ρόλο κατά του καρκίνου [563]. Ωστόσο, παρά τις υποσχόμενες αντικαρκινικές ιδιότητές του, βασικά του μειονεκτήματα είναι ο μικρός χρόνος ημίσειας ζωής και η ηπατική κάθαρσή του [562]. Για το λόγο αυτό, το θεραπευτικό ενδιαφέρον στρέφεται σε παράγωγά του, που έχουν καλύτερες φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές ιδιότητες [564].

Εικόνα 17: Χημικός τύπος του Βουτυρικού οξέος (C₄H₈O₂).

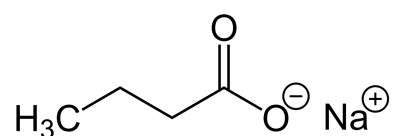


4.2.2.2.1 Βουτυρικό νάτριο

Το Βουτυρικό νάτριο (Sodium butyrate, NaB) (Εικόνα 18), ανήκει στα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσού. Πέραν των άλλων ιδιοτήτων του, αναστέλλει τις HDAC Τάξης I και II [565], προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επάγει την διαφοροποίηση και την απόπτωση [566]. Η ανωτέρω αντικαρκινική δράση εμφανίζεται τόσο κατά τη χορήγησή του ως μονοθεραπεία όσο και μαζί με άλλους αντικαρκινικούς

παράγοντες. Για παράδειγμα, ως HDACi προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο του παχέος εντέρου [567], διακοπή του κυτταρικού κύκλου, αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, επαγωγή της απόπτωσης και αναστολή της κυτταρικής μετανάστευσης και μετάστασης στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [568], αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, γήρανση των καρκινικών κυττάρων και επαγωγή της απόπτωσης στον καρκίνο του προστάτη [569, 570], γήρανση των καρκινικών κυττάρων του νευροβλαστώματος [570] και επαγωγή της απόπτωσης στον καρκίνο του ρινοφάρυγγα [571]. Στον καρκίνο του μαστού, προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου, αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση [270, 572, 573], συγχρησιμοποιούμενο δε με 5-Aza-2'-deoxycytidine ή Sodium propionate, δείχνει να εμφανίζει υποσχόμενα αποτελέσματα [572, 574]. Μάλιστα, ο συνδυασμός του Βουτυρικού νατρίου με 5-Aza-2'-deoxycytidine, δείχνει αποτελεσματικός και για τον καρκίνο του παχέος εντέρου [574] και του προστάτη [575]. Επιπρόσθετα, το Βουτυρικό νάτριο έχει καλύτερα αποτελέσματα όταν χορηγείται με Cisplatin [576] ή Haemanthamine [577] στον καρκίνο των ωοθηκών, με Quercetin στο γλοιοβλάστωμα [578], ή με Sunitinib στον καρκίνο του νεφρού [579]. Τέλος, εξίσου ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα από τη χορήγησή του Βουτυρικού νατρίου με άλλους HDACi, όπως SAHA στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού [239, 580] και Panobinostat στη χρόνια μυελοειδή λευχαιμία [581].

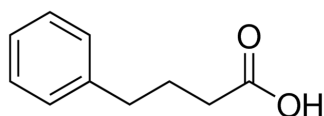
Εικόνα 18: Χημικός τύπος του Βουτυρικού νατρίου (C₄H₇NaO₂).



4.2.2.2.2 Φαινυλο-βουτυρικό οξύ

Το Φαινυλο-βουτυρικό οξύ (Phenylbutyric Acid, PBA) (Εικόνα 19) ανήκει στα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου και διαθέτει ένα ευρύ φάσμα μοριακών λειτουργιών. Ενώ αρχικά χρησιμοποιήθηκε για την κάθαρση της αμμωνίας σε ασθενείς με διαταραχές του κύκλου της ουρίας, η καλή βιοδιαθεσιμότητα σε συνδυασμό με τη χαμηλή κυτταροτοξικότητά του, έστρεψαν το ερευνητικό ενδιαφέρον και προς άλλες κατευθύνσεις [582]. Έτσι λοιπόν φάνηκε πως το Φαινυλο-βουτυρικό οξύ αποτελεί αναστολέα των HDAC Τάξης I και II [582, 583]. Η κυτταρική πρόσληψη του Φαινυλο-βουτυρικού οξέος διαμεσολαβείται κυρίως από δύο πρωτεΐνες-μεταφορείς: Το μεταφορέα μονοκαρβοξυλάσης 1 (Monocarboxylase Transporter 1, MCT1) και το συζευγμένο με νάτριο μεταφορέα μονοκαρβοξυλάσης 1 (Sodium-coupled Monocarboxylase Transporter 1, SMCT1) και ακολούθως δεσμεύεται στα ιόντα Zn^{2+} των HDAC, αναστέλλοντας την ενζυμική τους δραστηριότητα [584]. Συνεπώς, ο μηχανισμός της αντικαρκινικής του δράσης περιλαμβάνει τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου [585, 586], την καταστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού [587] και της κυτταρικής μετανάστευσης [588], την αναστολή της αγγειογένεσης [589] και την επαγωγή της διαφοροποίησης [590, 591] και της απόπτωσης [592, 593]. Όπως και οι άλλοι HDACi, έτσι και το Φαινυλο-βουτυρικό οξύ έχει μελετηθεί ως προς την αντικαρκινική του δράση είτε ως μονοθεραπεία, για παράδειγμα στον καρκίνο του μαστού, του παχέος εντέρου [594], του προστάτη [595] στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [594] και το γλοιοβλάστωμα [582], είτε συγχορηγούμενο με Selenium, Rosiglitazone και Hydralazine στον καρκίνο του πνεύμονα [596], με 13-cis Retinoic acid στον καρκίνο του προστάτη [589, 597] και 5-Azacytidine σε ποικίλους συμπαγείς όγκους [598].

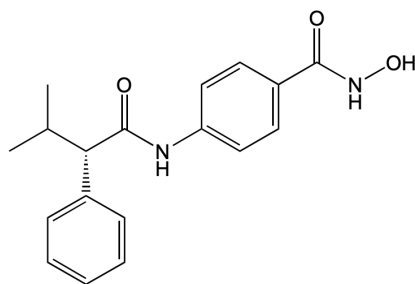
Εικόνα 19: Χημικός τύπος του 4-φαινυλο-βουτυρικό οξέος (C₁₀H₁₂O₂).



4.2.2.2.3 AR-42

Το παράγωγο του Φαινυλο-βουτυρικού οξέος, AR-42 (OSU-HDAC42) (Εικόνα 20), είναι ένας αρκετά ισχυρός αναστολέας των HDAC Τάξης I και II και προκαλεί υπερακετυλίωση της ιστόνης H3, υπερέκφραση του *p21* και ακετυλίωσης της α-τουμπουλίνης [456, 599]. Επίσης, ασκεί ισχυρή αντικαρκινική δράση - είτε ως μονοθεραπεία είτε συγχρησιμοποιούμενο - εναντίον ποικίλων καρκίνων, όπως στον καρκίνο του προστάτη και του ήπατος και στο οστεοσάρκωμα μέσω επαγωγής της απόπτωσης [600-602], στον καρκίνο του παγκρέατος μέσω ρύθμισης της έκφρασης του *p53*, διακοπής του κυτταρικού κύκλου κυρίως στη φάση G2/M και ενεργοποίησης αποπτωτικών μονοπατιών [603, 604], στον καρκίνο του παχέος εντέρου μέσω παραγωγής Ceramide (C4) [605], στον καρκίνο του οισοφάγου μέσω καταστολής της αγγειογένεσης [606] και στο ρετινοβλάστωμα μέσω διακοπής του κυτταρικού κύκλου και επαγωγής της απόπτωσης [607]. Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού, το AR-42 αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων και έχει συνεργική δράση συγχρησιμοποιούμενο με 5-Φθοριοουρακίλη (5-FU) [608]. Τέλος, υποσχόμενη διαφαίνεται η δράση του στο πολλαπλό μυέλωμα και στο T και B λέμφωμα [609].

Εικόνα 20: Χημικός τύπος του AR-42 (C₁₈H₂₀N₂O₃).



4.2.3 Κυκλικά πεπτίδια

Τα κυκλικά πεπτίδια αντιπροσωπεύουν την πλέον δομικά περίπλοκη και ποικιλόμορφη κατηγορία των HDACI. Όπως αναφέρθηκε και στο Κεφάλαιο 3, κάθε μέλος της οικογένειας των HDAC παίζει ξεχωριστό ρόλο στη γονιδιακή έκφραση και καθώς τα κυκλικά πεπτίδια με τις άφθονες επιφάνειες επαφής, το μακροκυκλικό σκελετό και τις περιοχές δέσμευσης ιόντων Zn^{2+} μπορούν να δεσμεύονται σε καθεμία από αυτές (τις HDAC), προκαλώντας τους δομικές και λειτουργικές τροποποιήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι διαφορές στο μακροκυκλικό σκελετό των κυκλικών πεπτιδίων, είναι υπεύθυνες για τη διαφορετική βιολογική τους δραστηριότητα και την εκλεκτικότητά τους έναντι των HDAC. Παράλληλα, τα κυκλικά πεπτίδια είναι πολύ ισχυροί αναστολείς των HDAC. Τα ανωτέρω χαρακτηριστικά τους, οδήγησαν στη μελέτη της αντικαρκινικής δράσης όχι μόνο των φυσικών αλλά και των συνθετικών και ημισυνθετικών κυκλικών πεπτιδίων [610, 611]. Και ενώ η έρευνα αυτή είναι συνεχής, ήδη ο FDA έχει εγκρίνει την εφαρμογή τους στην κλινική πράξη [383, 384].

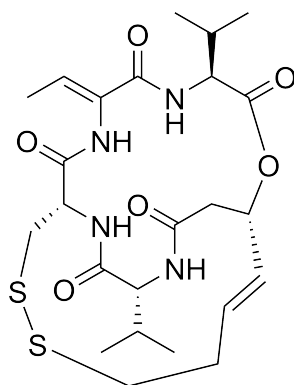
4.2.3.1 Romidepsin

Η Romidepsin (FK228) ή Depsipeptide ή FR901228 (Εικόνα 21) όπως ονομάστηκε αρχικά, αναγνωρίστηκε ως προϊόν ζύμωσης του *Chromobacterium violaceum*. Ήδη από τις πρώτες *in vitro* μελέτες φάνηκε η κυτταροτοξική της δράση έναντι ποικίλων τύπων αδενοκαρκινώματος, όπως του μαστού, του πνεύμονα, του

στομάχου και του παχέος εντέρου. Αντίθετα, παρουσίασε ελάχιστη κυτταροτοξικότητα σε φυσιολογικά κύτταρα. Επιπρόσθετα, και οι *in vivo* μελέτες επιβεβαίωσαν την κυτταροτοξικότητα έναντι κακοήθων κυττάρων [612]. Από τις μελέτες που ακολούθησαν, φάνηκε ότι η Romidepsin είναι αναστολέας των HDAC και κυρίως των Τάξης I, αφού η δραστηρότητά της έναντι των Τάξης II ήταν ελάχιστη [613]. Ασκεί τη δράση της στο καταλυτικό κέντρο μέσω σύνδεσης με το ιόν Zn^{2+} των HDAC, που της επιτρέπει να επηρεάζει τον κυτταρικό κύκλο, τη μετανάστευση και την αγγειογένεση και εν τέλει να επάγει τη διαφοροποίηση και την απόπτωση [614, 615]. Επιπλέον, δείχνει να είναι καλώς ανεκτή [612]. Λόγω των ανωτέρω ιδιοτήτων της, η Romidepsin και τα παράγωγά της τυγχάνουν αντικείμενο αντικαρκινικής έρευνας με αποτελέσματα που δείχνουν υποσχόμενα [616]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το T δερματικό λέμφωμα για τη θεραπεία του οποίου η Romidepsin είναι εγκεκριμένη από το FDA [383, 384] - θα περιγραφεί εκτενώς στο Εδάφιο 4.5.1.2. Έτσι λοιπόν, φαίνεται ότι επάγει την απόπτωση στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [617] και τον καρκίνο του πνεύμονα [618], αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων του καρκίνου του ενδομητρίου [619], προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο του παγκρέατος [465] και προκαλεί διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στον καρκίνο του προστάτη [620]. Από την άλλη, ο συνδυασμός της Romidepsin και με άλλους παράγοντες δείχνει επίσης να έχει υποσχόμενα αποτελέσματα. Για παράδειγμα, η συγχορήγησή της με Gemcitabine καταδεικνύει βελτίωση των αντικαρκινικών αποτελεσμάτων παρά τις αιματολογικές της παρενέργειες σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους [621]. Εξίσου όμως ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα όταν συγχορηγείται και με Bendamustine ή Pralatrexate στο υποτροπιάζον/ανθεκτικό T λέμφωμα [622, 623], με Erlotinib στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [625], με Cisplatin στον καρκίνο των ωοθηκών [626] και του

παχέος εντέρου [627], με Gemcitabine ή/και Cisplatin στον καρκίνο του μαστού [628, 629].

Εικόνα 21: Χημικός τύπος της Romidepsin ($C_{24}H_{36}N_4O_6S_2$).

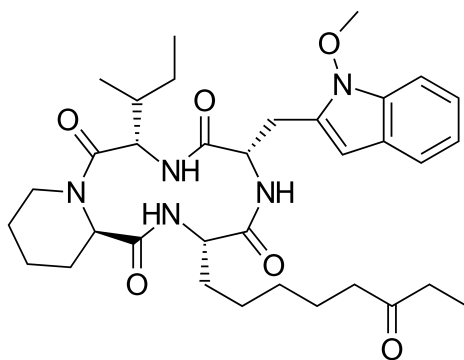


4.2.3.2 Apicidin

Η Apicidin (Εικόνα 22) είναι ένα κυκλικό τετραπεπίδιο και αποτελεί προϊόν ζύμωσης του μύκητα *Fusarium pallidoroseum* [630]. Ενώ αρχικά αναγνωρίστηκε ως αντιπαρασιτικός παράγοντας, στη συνέχεια αποδείχθηκε η ανασταλτική της δράση έναντι των HDAC και η σχετικά χαμηλή δεσμευτική της ικανότητα στα ιόντα Zn^{2+} , γεγονός που ενισχύει την εκλεκτικότητά της έναντι των HDAC [631, 632]. Για την ακρίβεια αναστέλλει τις HDAC Τάξης I και συγκεκριμένα τις HDAC-2 και -3 ισχυρά ενώ την HDAC-8 ασθενώς [633]. Απόρροια των ανωτέρω είναι οι αντνευροεκφυλιστικές και αντνεοπλασματικές της δράσεις [634]. Οι τελευταίες μάλιστα εκδηλώνονται μέσω διακοπής του κυτταρικού κύκλου και επαγωγής της απόπτωσης [635]. Έχουν επίσης περιγραφεί και αντι-αγγειογενετικές ιδιότητες [636]. Προκειμένου να αποσαφηνιστεί ο ακριβής μηχανισμός αντικαρκινικής δράσης της Apicidin, πλήθος μελετών εξετάζει τα αποτελέσματα από τη χορήγησή της είτε ως μονοθεραπεία είτε συνδυαστικά με άλλους παράγοντες. Έτσι λοιπόν, βρέθηκε ότι αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο

του μαστού [637, 638], του παγκρέατος [630] και του μη μικροκυτταρικού καρκίνου πνεύμονα [639], αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων, διακόπτει τον κυτταρικό κύκλο και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο του ενδομητρίου και των ωοθηκών [640] και αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση και την αυτοφαγία στο πλακώδες καρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας [641, 642] και το βλεννοεπιδερμοειδές καρκίνωμα των σιελογόνων αδένων [635]. Ενθαρρυντικά όμως είναι και τα αποτελέσματα από τη συγχορήγηση της Arpicidin με Docetaxel στο μεταστατικό καρκίνο του μαστού [643], με Doxorubicin στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [644] και με Gemcitabine στον καρκίνο του παγκρέατος [645]. Άλλες θεραπευτικές στρατηγικές συγχορήγησης της Arpicidin, περιλαμβάνουν αναστολείς πρωτεασώματος στον καρκίνο του παχέος εντέρου [646] και στόχευση του TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand) στη λευχαιμία [647].

Εικόνα 22: Χημικός τύπος της Arpicidin (C₃₄H₄₉N₅O₆).

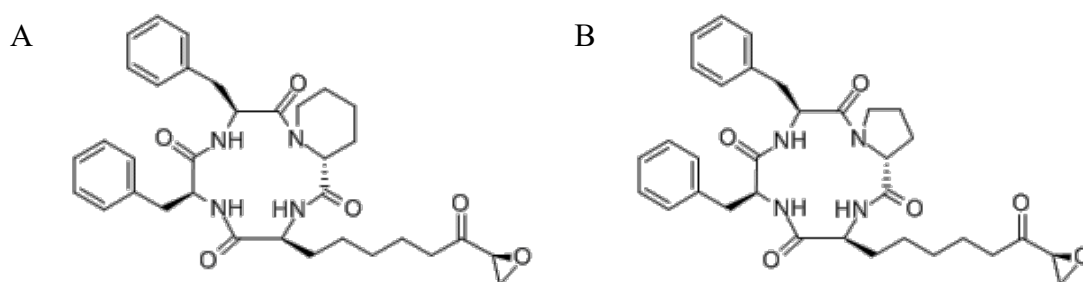


4.2.3.3 Taproxin

Οι Taproxin A και B (RF-103) (Εικόνα 22A, B) αποτελούν προϊόντα μεταβολισμού του μύκητα *Helicoma ambiens*, είναι κυκλικά τετραπεπίδια και αποτελούνται από τρία τμήματα: Τον πεπτιδικό δακτύλιο, ένα ενδιάμεσο τμήμα και την περιοχή πρόσδεσης στα ιόντα Zn²⁺, μέσω της οποίας αλληλεπιδρούν με τις HDAC

αναστέλλοντας τη δράση τους [648]. Έτσι λοιπόν η Traroxin A και B αναστέλλουν κυρίως τις HDAC Τάξης I [649]. Λόγω της τοξικότητάς τους δεν έχουν εισαχθεί σε κλινικές μελέτες [650].

Εικόνα 23: Χημικός τύπος των Traroxin A και B. **A:** Traroxin A ($C_{34}H_{42}N_4O_6$). **B:** Traroxin A ($C_{33}H_{40}N_4O_6$).



4.2.4 Βενζαμίδες

Οι Βενζαμίδες (ή Αμινιβενζαμίδες) και τα παράγωγά τους αποτελούν μια πολύ σημαντική κατηγορία HDACI με κυρίαρχο χαρακτηριστικό τους αξιοσημείωτη εκλεκτικότητα στην αναστολή των HDAC Τάξης I, σε σχέση με άλλους αναστολείς π.χ. τα παράγωγα του υδροξαμικού οξέος. Στο σημείο αυτό να υπενθυμίσουμε πως οι ανεπιθύμητες ενέργειες των παν-HDACI μπορούν να περιοριστούν με τη βελτίωση της εκλεκτικότητας των HDACI. Το κυριότερο μειονέκτημα των Βενζαμίδων είναι η χαμηλή θεραπευτική τους αποτελεσματικότητα, πράγμα το οποίο γίνεται αντιληπτό από το γεγονός ότι κανένας HDACI αυτής της κατηγορίας, δεν έχει λάβει έγκριση από το FDA. Και παρόλο που η υψηλή εκλεκτικότητα μπορεί να περιορίσει τις ανεπιθύμητες ενέργειες, η αμινομάδα στο δακτύλιο των Βενζαμίδων παραμένει ως αιτία τοξικότητας. Επιπρόσθετα, υπάρχει και το ενδεχόμενο ανθεκτικότητας στη θεραπεία με Βενζαμίδες ως HDACI. Άλλωστε, οι μοριακοί μηχανισμοί που σχετίζονται με την ανάπτυξη αντίστασης στη θεραπεία με HDACI, σχετίζονται με την

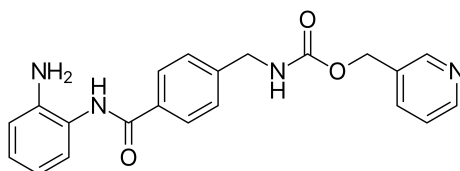
υπερέκφραση, τη μετάλλαξη και την απευαισθητοποίηση των στόχων. Για το λόγο αυτό άλλωστε οι νεότερης γενιάς HDACI έχουν σχεδιασθεί με βάση τη χημική δομή των κλινικά αποτελεσματικών παραγώγων των Βενζαμίδων. Έτσι πλέον οι Βενζαμίδες αποτελούν αντικείμενο κλινικών μελετών [456]. Παρακάτω παρατίθενται τα πλέον υποσχόμενα όσον αφορά την αντινεοπλασματική τους δράση, μέλη αυτής της κατηγορίας.

4.2.4.1 Entinostat

Η Entinostat (MS-275) (Εικόνα 24) αποτελεί συνθετικό παράγωγο των Βενζαμίδων και είναι δραστικός και εκλεκτικός αναστολέας των HDAC με τη δράση της να αφορά κυρίως τις HDAC Τάξης I. Η εκλεκτικότητά της αυτή, καθιστά την Entinostat ασφαλέστερη και αποτελεσματικότερη σε σχέση με άλλους παν-HDAC αναστολείς. Η δράση της μπορεί να οδηγήσει σε αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και επαγωγή της διαφοροποίησης και της απόπτωσης [321, 651, 652]. Οι πρώτες κλινικές μελέτες για την Entinostat ξεκίνησαν το 2006 και αφορούν συμπαγείς όγκους, λευχαιμία και λεμφώματα [653]. Έκτοτε, πληθώρα μελετών - κλινικών και εργαστηριακών - έχει καταδείξει τις αντικαρκινικές δράσεις της, είτε ως μονοθεραπεία είτε ως συνδυασμός με άλλους παράγοντες [654]. Φάνηκε λοιπόν πως η Entinostat αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων στον καρκίνο των ωοθηκών [655], προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο του ενδομητρίου [537, 656], αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και περιορίζει το μεταστατικό δυναμικό στον καρκίνο του παχέος εντέρου [657], αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου, αναστέλλει την κυτταρική μετανάστευση και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο του οισοφάγου [658], προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επάγει τον κυτταρικό θάνατο στον

καρκίνο του προστάτη [659], στοχεύει την πρωτεΐνη SALL4 (Sal-like protein 4) της οποίας η έκφραση σχετίζεται με ογκογένεση στον πνεύμονα [660] και ενισχύει την κυτταροτοξική δραστηριότητα των κυττάρων φυσικών-φονέων (Natural Killers cells, NK) μέσω αυξημένης έκφρασης των MHC (Major Histocompatibility Complex) MICA και MICB (MHC Class I polypeptide-related sequence A/B) και της HSP70 (Heat Shock Protein) στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [661]. Ωστόσο τα πλέον υποσχόμενα αποτελέσματα αφορούν τον καρκίνο του μαστού - συμπεριλαμβανομένου του τριπλά αρνητικού - όπου η Entinostat ως μονοθεραπεία αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, επάγει την απόπτωση, προλαμβάνει τις μεταστάσεις [239, 270, 662-664], ενώ συγχρησιμοποιούμενη με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες, έχει ενισχυμένη δραστηριότητα ακόμα και έναντι ανθεκτικών στη θεραπεία κυττάρων [662, 665]. Τέτοιοι παράγοντες είναι η Pentoxifylline [666], η Doxorubicin [667], η Pimasertib [668], η Lapatinib, η Trastuzumab ή συνδυασμός τους [669-671] και η ενδοκρινική θεραπεία [672-674]. Κατ' αντιστοιχία, η Entinostat μελετάται συγχρησιμοποιούμενη με Survivin στον καρκίνο του πνεύμονα [675], με Salermide στον καρκίνο του παγκρέατος [676], με Azacytidine στον καρκίνο του οισοφάγου [677], με Cisplatin στον καρκίνο των ωοθηκών [678], με Sorafenib σε ποικίλους συμπαγείς όγκους [679] και με Fludarabine σε λευχαιμίες [680], επιδεικνύοντας ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

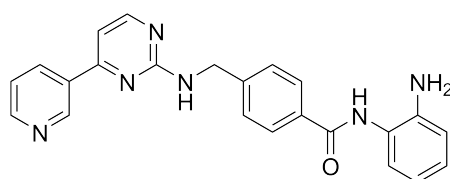
Εικόνα 24: Χημικός τύπος της Entinostat ($C_{21}H_{20}N_4O_3$).



4.2.4.2 Mocetinostat

Η Mocetinostat (MGCD0103) (Εικόνα 25) αποτελεί συνθετικό παράγωγο των Βενζαμίδων και είναι εκλεκτικός αναστολέας των HDAC Τάξης I και IV και συγκεκριμένα των HDAC-1, HDAC-2, HDAC-3 και HDAC-11 [681]. Ωστόσο, φαίνεται να έχει και άλλους πολλαπλούς στόχους πέραν των ιστονών στα καρκινικά κύτταρα, γεγονός που αυξάνει τη δραστηριότητά της [682]. Έτσι λοιπόν η Mocetinostat εκδηλώνει τις αντινεοπλασματικές της ιδιότητες μέσω διακοπής του κυτταρικού κύκλου, επαγωγής του κυτταρικού θανάτου και της απόπτωσης, αυτοφαγίας, αναστολής των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA και καταστολής των αυξητικών παραγόντων [683, 684]. Η Mocetinostat ως μονοθεραπεία προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επάγει την απόπτωση και την αυτοφαγία στον καρκίνο του ήπατος [685], προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο του παχέος εντέρου [686], σε τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο ουροδόχου κύστης [687], προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επάγει την απόπτωση στο λέμφωμα Hodgkin [688], επάγει την απόπτωση στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία [689]. Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού τα δεδομένα είναι φτωχά ωστόσο διαφαίνεται η θεραπευτική αξία της Mocetinostat έναντι των basal-like καρκίνων [239, 690]. Ενθαρρυντικά όμως είναι και τα αποτελέσματα από τη συγχορήγηση της Mocetinostat με άλλους παράγοντες όπως η Gemcitabine στον καρκίνο του παγκρέατος [691] και το λειομυοσάρκωμα [692] και η Docetaxel στον καρκίνο του προστάτη [693].

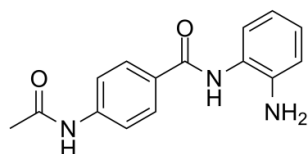
Εικόνα 25: Χημικός τύπος της Mocetinostat (C₂₃H₂₀N₆O).



4.2.4.3 Tacedinaline

Η Tacedinaline (N-acetyldinaline, CI994 ή PD 123654) (Εικόνα 26) αποτελεί συνθετικό παράγωγο των Βενζαμίδων και είναι εκλεκτικός αναστολέας κυρίως των HDAC Τάξης I. Εκδηλώνει την αντικαρκινική της δράση μέσω διακοπής του κυτταρικού κύκλου, αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και επαγωγής της απόπτωσης [694, 695]. Αν και τα ερευνητικά δεδομένα για τη Tacedinaline παραμένουν φτωχά, είναι ωστόσο ενθαρρυντικά τόσο *in vitro* που συγκορηγούμενη με Gemcitabine εμφανίζει ευεργετική δράση στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [696] όσο και *in vivo* έναντι ποικίλων συμπαγών όγκων συμπεριλαμβανομένων των καρκίνων του μαστού, του παγκρέατος, του παχέος εντέρου και του προστάτη [697].

Εικόνα 26: Χημικός τύπος της Tacedinaline (C₁₅H₁₅N₃O₂).

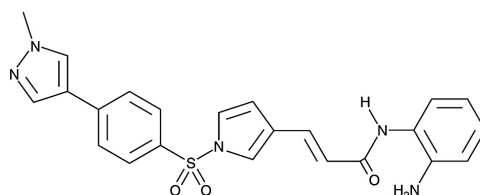


4.2.4.4 Domatinostat

Η Domatinostat (4SC202) (Εικόνα 27) αποτελεί συνθετικό παράγωγο των Βενζαμίδων και είναι εκλεκτικός αναστολέας των HDAC Τάξης I και της δεμεθυλάσης 1 (Lysine Specific Demethylase 1, LSD1). Δεδομένου ότι ανακαλύφθηκε αρκετά πρόσφατα, δεν έχει πλήρως χαρακτηριστεί όσον αφορά τις ιδιότητες και το μηχανισμό δράσης της [698-700]. Ωστόσο, φαίνεται να εμφανίζει τόσο κυτταροτοξικές όσο και κυτταροστατικές ιδιότητες και να εκδηλώνει την αντικαρκινική της δράση καταστέλλοντας τον κυτταρικό κύκλο, αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγοντας την απόπτωση [698, 700-702]. Οι ανωτέρω αντικαρκινικές δράσεις της

Domatinostat - είτε ως μονοθεραπεία είτε ως συνδυασμός με άλλους παράγοντες - έχουν καταδειχθεί σε ποικίλες νεοπλασίες συμπεριλαμβανομένου των καρκίνων του παγκρέατος [703], του παχέος εντέρου [704], των ηπατοκυττάρων [705], της στοματικής κοιλότητας [706, 707] και του ουροθηλίου [708], του μυελοβλαστώματος [701, 709] και αιματολογικών κακοηθειών [699, 710]. Σίγουρα χρειάζονται πολλές επιπλέον μελέτες.

Εικόνα 27: Χημικός τύπος της Domatinostat ($C_{30}H_{29}N_5O_6S_2$).

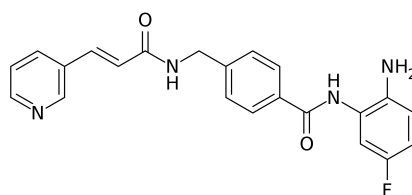


4.2.4.5 Chidamide

Η Chidamide (CS055) ή Tucidinostat ή HBI-8000 όπως αλλιώς ονομάζεται (Εικόνα 28), είναι ένας αναστολέας των HDAC και συγκεκριμένα των Τάξης I και II. Ασκεί τη δράση της μέσω διακοπής του κυτταρικού κύκλου και επαγωγής της απόπτωσης [711-714]. Για το λόγο αυτό, ήδη από το 2014 έχει λάβει έγκριση από τον Κινέζικο Οργανισμό Διοίκησης Ιατρικών Προϊόντων (National Medical Products Administration, NMPA), αρχικά για τη θεραπεία του περιφερικού T κυτταρικού λεμφώματος [715, 716] και στη συνέχεια για τη θεραπεία συγκεκριμένων μορφών καρκίνου του μαστού [717]. Για τις υπόλοιπες, τα δεδομένα είναι πενιχρά. Φαίνεται πάντως ότι η Chidamide αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την κυτταρική μετανάστευση στον τριπλά αρνητικό καρκίνο μαστού, [718] ενώ ενθαρρυντική είναι και η δράση της στον προχωρημένο καρκίνο με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς [719, 720].

Όσον αφορά τα υπόλοιπα ερευνητικά δεδομένα, υποσχόμενη δείχνει η δράση της Chidamide είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες, τόσο έναντι συμπαγών όγκων όσο και αιματολογικών κακοηθειών, που περιλαμβάνουν τον καρκίνο του ήπατος [721], του παγκρέατος [722-724], του παχέος εντέρου [725, 726], του πνεύμονα [727-730], των σιελογόνων αδένων [731] και του εγκεφάλου [732], μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα [711, 733-737], λευχαιμίες [738-745] και λεμφώματα, πέραν του περιφερικού T κυτταρικού [746, 747]. Τα δεδομένα για τη Chidamide αναλύονται εκτενώς στο Εδάφιο 4.5.1.4.

Εικόνα 28: Χημικός τύπος της Chidamide ($C_{22}H_{19}FN_4O_2$).

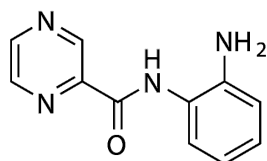


4.2.4.6 BG45

Το BG45 (Εικόνα 29) είναι ένας εκλεκτικός HDACi και συγκεκριμένα αναστέλλει την απακετυλάση HDAC-3 (HDAC Τάξης I). Επιφέρει υπερακετυλίωση της ιστόνης H3 και εκδηλώνει την αντικαρκινική του δράση διακόπτοντας τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G0/G1, αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγοντας την απόπτωση είτε μέσω αρνητικής έκφρασης των Bcl-2 and Bcl-xl, υπερέκφρασης των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών, ενεργοποιώντας την poly(ADP-ribose)polymerase και μειώνοντας τα επίπεδα των πρωτεϊνών p-JAK2 and p-STAT3 είτε μέσω κασπασών [748, 749]. Ωστόσο, λόγω της τοξικότητάς του BG45 και της εμφανιζόμενης αντίστασης στη θεραπεία με αυτό, είτε αναπτύσσονται συνθετικά παράγωγα που διατηρούν τις ιδιότητές του [750], είτε μελετάται κυρίως συγχορηγούμενο με άλλους

παράγοντες [749]. Ενθαρρυντικά είναι λοιπόν τα αποτελέσματα από το BG45 είτε μόνο του είτε μαζί με Bortezomib [748] ή Lenalidomide [749] ή 5-azacytidine (AZA) [751] στο πολλαπλό μυέλωμα [749] και με Μετφορμίνη στο χολαγγειοκαρκίνωμα [752].

Εικόνα 29: Χημικός τύπος του BG45 (C₁₁H₁₀N₄O).



4.2.5 Διάφοροι HDACI

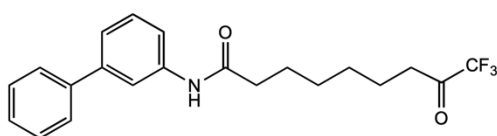
Εκτός από τις ανωτέρω περιγραφείσες κύριες κατηγορίες των αναστολέων των HDAC, διακρίνουμε και HDACI που έχουν ως βάση τους Κετόνες, Εποξειδίο ή Θειοεστέρες.

4.2.5.1 Βασιζόμενοι σε κετόνες

Η μεταβολική αστάθεια και το χαμηλό προφίλ τοξικότητας των υδροξαμικών οξέων, οδήγησαν στην ανάγκη για εναλλακτικά μόρια δέσμευσης των HDAC στα ιόντα Zn²⁺. Έτσι, μετά από ατελέσφορες δοκιμές με γνωστούς υποκαταστάτες του υδροξαμικού οξέως όπως το φωσφορικό οξύ, βρέθηκε ότι οι ηλεκτρόφιλες κετόνες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως HDACI [753-755]. Για την ακρίβεια, οι φθοριωμένες κετόνες είναι ισχυρές ηλεκτρόφιλες ενώσεις λόγω της αξιοσημείωτης απελευθέρωσης ηλεκτρονίων από το φθόριο οι οποίες έχουν ιδιότητες αναστολέων πρωτεασών έναντι των φωσφολιπασών, του ασπαρτυλίου, της κυστεΐνης και της σερίνης [755, 756]. Επιπρόσθετα, οι ηλεκτρόφιλες κετόνες εμφανίζουν ανασταλτική δράση έναντι εξαρτωμένων από ιόντα Zn²⁺ ενζύμων όπως είναι η Carboxypeptidase

[757] και η Metallo- β -lactamase [758]. Κρίθηκε λοιπόν εύλογο πως θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν και ως HDACI. Όντως τα ερευνητικά δεδομένα έδειξαν πως οι τρι-φθοριο-μεθυλ-κετόνες (Εικόνα 30) που περιέχουν ένα αρωματικό αμίδιο, παρουσιάζουν ανασταλτικές δραστηριότητες έναντι των HDAC σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού και των ινοσαρκωμάτων. Επίσης, ισχυροί HDACI με πιθανή αντικαρκινική δράση είναι και τα τετραπεπίδια που περιέχουν πεντα-φθοριο-μεθυλ-κετόνη [759]. Το αρωματικό αμίδιο φαίνεται να δρα ως μονάδα πρόσδεσης των ιόντων Zn^{2+} . Έτσι, η Silanediol και η Bisthiazole - μόρια δέσμευσης ιόντων Zn^{2+} - μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη μη υδροξυαμικών αναστολέων έναντι των HDAC Τάξης I και II [760, 761]. Αντίθετα, και οι τρι-φθορο-μεθυλιωμένες α -δικετόνη και α -υδροξυ-κετόνες επέδειξαν επιλεκτική κυτταροτοξικότητα έναντι κακοηθειών παρά την έλλειψη της ομάδας αμιδίου, καταδεικνύοντας ότι αυτή η χαρακτηριστική ομάδα μάλλον δεν είναι θεμελιώδης για την εκδήλωση αντικαρκινικής δράσης [762].

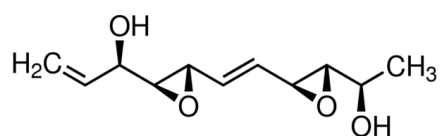
Εικόνα 30: Χημικός τύπος των Τρι-φθοριο-μεθυλ-κετονών.



4.2.5.2 Βασιζόμενοι σε εποξείδια

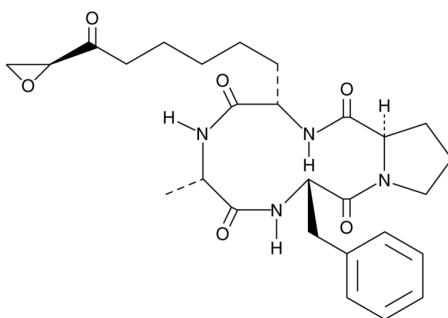
Τα Εποξείδια είναι και αυτά HDACI εξαρτώμενοι από ιόντα Zn^{2+} . Φυσικές ενώσεις που φέρουν εποξυ-ομάδα όπως η Depudecin (Εικόνα 31), σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς με τις HDAC, ασκώντας μια ανασταλτική δράση έναντι αυτών, ακόμα και σε νανομοριακές συγκεντρώσεις [763-765]. Για την ακρίβεια η Depudecin είναι ένας μεταβολίτης που φέρει 2 εποξυ-ομάδες [766].

Εικόνα 31: Χημικός τύπος της Depudecin ($C_{11}H_{16}O_4$).



Επιπρόσθετα, η 1-Alaninechlamydocin (Εικόνα 32), ένα κυκλικό τετραπεπτιδίο που απομονώθηκε από το *Tolypocladium sp*, εμφάνισε ισχυρές αντιπολλαπλασιαστικές και κυτταροτοξικές ιδιότητες, προκαλώντας διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M και επαγωγή της απόπτωσης σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του παγκρέατος, ακόμα και σε νανομοριακές συγκεντρώσεις [767].

Εικόνα 32: Χημικός τύπος της 1-Alaninechlamydocin ($C_{27}H_{36}N_4O_6$).

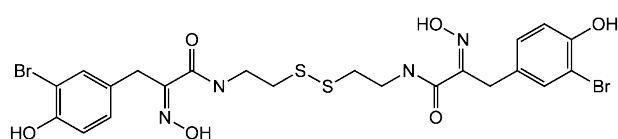


4.2.5.3 Βασιζόμενοι σε θειοεστέρες

Η Psammarlin A (Εικόνα 33) είναι ένα φυσικό προφάρμακο, που όταν μειώνεται η ισχύς του δισουλφιδικού δεσμού στο αντίστοιχο μονομερές Θειόλης 4 ($X = OH$), αναστέλλει δυναμικά τις HDAC Τάξης I. Το προκύπτον τμήμα Θειόλης δρα ως μονάδα πρόσδεσης στα ιόντα Zn^{2+} των HDAC, αναστέλλοντάς τες [768, 769]. Ωστόσο, η Psammarlin A και τα ανάλογά της, που περιέχουν Θειόλη, ενώ παρουσίαζαν ισχυρή δράση *in vitro* ακόμα και σε νανομοριακές συγκεντρώσεις, δεν είχε αντίστοιχα αποτελέσματα δραστηριότητας σε κυτταρικές καρκίνου μαστού ή πνεύμονα, γεγονός

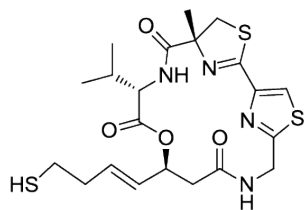
που αποδόθηκε στη μειωμένη διαπερατότητα ή/και σταθερότητα της ελεύθερης Θειόλης στα κύτταρα. Προκειμένου να αντιμετωπισθεί το κώλυμα αυτό για την παραγωγή προφαρμάκων, μια προσέγγιση θα ήταν ο σχηματισμός του αντίστοιχου Θειοεστέρα και εν συνεχεία η δραστική μορφή της Θειόλης προκύπτει από τη διάσπαση της ακυλ-ομάδας από εστεράσες [769].

Εικόνα 33: Χημικός τύπος της Psammaphin A ($C_{22}H_{24}Br_2N_4O_6S_2$).



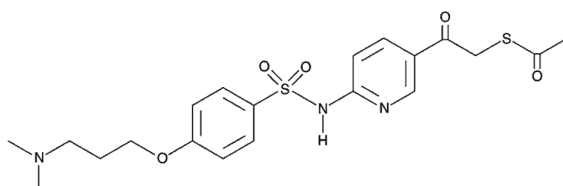
Η Largazole (Εικόνα 34) είναι ένα κυκλικό διπεπτιδίο, προερχόμενο από το θαλάσσιο κυανοβακτήριο *Symploca sp.* και με την υδρόλυσή της ελευθερώνεται η δραστική μορφή της, με Θειόλη (Largazole thiol) [770, 771]. Όσον αφορά τα δομικά χαρακτηριστικά της, αξίζει να σημειωθεί ότι το θειοεστερικό της τμήμα χρησιμεύει ως λειτουργική ομάδα για ισχυρή αντικαρκινική δραστηριότητα. Συγκεκριμένα, το τμήμα Θειόλης λειτουργεί ως μονάδα πρόσδεσης στα ιόντα Zn^{2+} των HDAC, αναστέλλοντας τη δράση τους (των HDAC Τάξης I) [771-773]. Έτσι λοιπόν η Largazole και τα ανάλογά της προκαλούν αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επαγωγή της απόπτωσης [774, 775]. Η ανωτέρω αντινεοπλασματική δράση έχει καταδειχθεί έναντι του καρκίνου του μαστού είτε ως μονοθεραπεία [776, 777] είτε ως συνδυασμός με γλυκοκορτικοειδή [778], του πνεύμονα [775, 779], του παχέος εντέρου [779-782], του προστάτη [783], στο μελάνωμα [784] και σε λευχαιμίες [785].

Εικόνα 34: Χημικός τύπος της Largazole ($C_{21}H_{28}N_4O_4S_3$).



Το KD5170 (Εικόνα 35), άλλο ένα προφάρμακο με βάση Θειοεστέρα, ανήκει στις μερκαπτοκετόνες και είναι αναστολέας των HDAC Τάξης I και II. Συγκεκριμένα, το Θειοεστερικό προφάρμακο υδρολύεται και παράγει μερκαπτοκετόνη που αλληλεπιδρά με τα ιόντα Zn^{2+} των HDAC, αναστέλλοντάς τες. Με τον τρόπο αυτό επιδεικνύει κυτταροτοξικότητα έναντι καρκινικών κυττάρων [786, 787]. Έτσι λοιπόν, ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα από τη δράση του KD5170 έναντι του καρκίνου του μαστού, τον ωοθηκών, του παχέος εντέρου και του πνεύμονα όπου αναστέλλει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων [786, 787], του καρκίνου του προστάτη, όπου συγχορηγούμενο με Docetaxel ή Am80 επίσης αναστέλλει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων [787, 788] και στο μυέλωμα, όπου χορηγούμενο είτε μόνο του είτε μαζί με Bortezomib, επάγει την απόπτωση [789].

Εικόνα 35: Χημικός τύπος του KD5170 ($C_{20}H_{25}N_3O_5S_2$).



4.3 Συνδυασμός HDACi και άλλων αντικαρκινικών παραγόντων

Όπως αναφέρθηκε, η συγχορήγηση των HDACi με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες αποτελεί αντικείμενο έρευνας. Τέτοιοι παράγοντες είναι:

- Αναστολείς τοποϊσομεράσης.

- Χημειοθεραπευτικά με βάση την πλατίνα.
- Αναστολείς πρωτεασώματος.
- Ορμονοθεραπεία.
- Αναστολείς τυροσινικής κινάσης.
- Αναστολείς των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού.
- Λοιποί επιγενετικοί τροποποιητές.
- Ακτινοθεραπεία.

Οι κυριότερες μελέτες με τους ανωτέρω συνδυασμούς συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 2) [473].

Πίνακας 2: Κυριότεροι συνδυασμοί των HDACI με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες σε κλινικές μελέτες.

HDACI	Παράγοντας	Νεοπλασία	Φάση
Vorinostat	Carboplatin ή/+ Paclitaxel	Συμπαγείς όγκοι	II
	Carboplatin + Paclitaxel + Placebo	Πνεύμονα - MM	II
	Carfilizomib	B λέμφωμα	II
	Bortezomib	Πνεύμονα - MM	II
	Tamoxifen	Μαστού	II
	Tamoxifen + Pembrolizumab	Μαστού	II
	Pembrolizumab	Μαστού	II
	Pembrolizumab	Πνεύμονα - MM	I, II
	Pembrolizumab	Νεφρού	I
	Gefitinib	Πνεύμονα - MM	I, II
Sorafenib	Ήπατος	I	

	Bicalutamide + Ριζική προστατεκτομή Rituximab	Προστάτη Λέμφωμα Λευχαιμία	II II
Panobinostat	Bortezomib Bicalutamide Carfilzomib Everolimus Ipilimumab Sorafenib Ακτινοθεραπεία	T λέμφωμα Προστάτη Πολλαπλό μυέλωμα Πολλαπλό μυέλωμα Λέμφωμα Μελάνωμα Ήπατος Νεφρού Προστάτη Οισοφάγου Κεφαλής-Τραχήλου	II I, II I, II I, II I I I
Belinostat	Carboplatin ή/+ Paclitaxel Doxorubicin	Συμπαγείς όγκοι Σαρκώματα	I I, II
Abexinostat	Doxorubicin Pazopanib	Συμπαγείς όγκοι Μεταστατικοί όγκοι	I, II I
Resminostat	Sorafenib	Ήπατος	I, II
Quisinostat	Paclitaxel + Carboplatin	Ωοθηκών	II
CUDC-101	Cisplatin	Κεφαλής-Τραχήλου	I
Valproic acid	Decitabine Epirubicin FEC Temozolomide + Ακτινοθεραπεία	Λευχαιμία Συμπαγείς όγκοι Μαστού Εγκεφάλου	I, II I I, II II

Sodium butyrate	Azacitidine	ΜΔΣ Λευχαιμία	I
AR42	Decitabine Pomalidomide	Λευχαιμία Πολλαπλό μυέλωμα	I I
Romidepsin	5-azacitidine Carfilzomib GDC	Λεμφικού ιστού Τ Λέμφωμα Τ και Β Λέμφωμα	I, II I, II I
Entinostat	Atezolizumab Avelumab Exemestane Nivolumab Pembrolizumab Sorafenib	Μαστού Ωοθηκών Μαστού Πνεύμονα - MM Συμπαγείς όγκοι Μελάνωμα οφθαλμού Συμπαγείς όγκοι Λευχαιμία	I, II I, II I II I II I
Mocetinostat	Azaxitidine Brentuximab Docetaxel Durvalumab	ΜΔΣ Λευχαιμία Λέμφωμα Hodgkin Συμπαγείς όγκοι Στόματος	I, II I, II I I
Tacedinaline	Gemcitabine	Παγκρέατος Πνεύμονα - MM	II III
Domatinostat	Pembrolizumab	Μελάνωμα	I, II
Chidamide	Nivolumab	Μελάνωμα	I, II

		Νεφρού	
		Πνεύμονα - MM	

MM: Μη μικροκυτταρικό, FEC: Fluorouracil + Epirubicin + Cyclophosphamide, ΜΔΣ:

Μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, GDC: Gemcitabine + Dexamethazone + Cisplatin.

4.4 HDACI από φυσικές πηγές

Στο εδάφιο αυτό θα γίνει ειδική μνεία στους HDACI που προέρχονται από φυσικές πηγές, παρόλο που κάποιοι εξ' αυτών παρουσιάστηκαν εκτενώς προηγουμένως.

Συχνά, οι φυσικές ενώσεις παρέχουν ποικίλους και ισχυρούς αναστολείς διαφόρων μηχανισμών που εμπλέκονται στον καρκίνο. Έτσι, πολλοί από τους HDACI που έχουν ανακαλυφθεί μέχρι σήμερα, είναι φυσικής προέλευσης. Για παράδειγμα το 1976, ο Tsuji και οι συνεργάτες του απομόνωσαν έναν φυσικής προέλευσης HDACI, τη Trichostatin A (TSA) από το *Streptomyces hygroscopicus* [790]. Το FK322, είναι ένα κυκλικό πεπτίδιο που απομονώθηκε από το *Chromobacterium violaceum* και αναστέλλει εκλεκτικά τη δράση των HDAC-1 και -2 [791]. Και η Romidepsin, αποτελεί προϊόν ζύμωσης του *Chromobacterium violaceum* [612, 792]. Οι Trapoxins (A και B) και η Depudepsin αποτελούν προϊόντα μεταβολισμού των μυκήτων *Helicoma ambiens* [648] και *Alternaria brassicicola* [766], αντίστοιχα. Οι θαλάσσιοι οργανισμοί επίσης έχουν αποτελέσει πηγή φυσικών HDACI, όπως για παράδειγμα ο *Psammaphysilla sp.* από τον οποίο προέρχεται η Psammaphlin A [793], ο *Symploca sp.* από τον οποίο προέρχεται η Largazole [770] και το Santacruzamate A [794], ο *Mycale izuensis* από τον οποίο προέρχονται οι Azumamides (A-E) [795] και ο *Microsporium cf. gypseum* από τον οποίο προέρχονται οι Microsporins (A και B) [796]. Η HC toxin που απομονώθηκε από το μύκητα *Helminthosporium carbonum*, αποτελεί το πρώτο κυκλικό πεπτίδιο που απομονώθηκε από φυσικές πηγές [797, 798]. Οι Cyl-1 και -2

προέρχονται από το μύκητα *Cylindrocladium scoparium* [799, 800] ενώ η Chlamydocin από το μύκητα *Diheterospora chlamydosporia* [801]. Η Apicidin αποτελεί προϊόν ζύμωσης του μύκητα *Fusarium pallidoroseum* [630] ενώ το FR235222 προέρχεται από το μύκητα *Acremonium sp.* [802]. Το FR901375 απομονώθηκε από τη *Pseudomonas chloroaphis* [803], οι Spiruchostatins από τη *Pseudomonas sp.* [804], οι Amamistatins (A and B) από τη *Nocardia asteroides* [805], ενώ οι Burkholdacs και οι Thailandepsins από το βακτήριο *Burkholderia thailandensis* [806].

Τέλος, άλλοι φυσικοί HDACI έχουν απομονωθεί από φυτά, φρούτα ή λαχανικά [427]. Για παράδειγμα, οι Diallyl disulfide και Trisulfide προέρχονται από το σκόρδο [807, 808], η Sulphoraphane από το μπρόκολο [809] ενώ η Resveratrol και το ανάλογό της η Piceatannol από τα σταφύλια [810]. Μάλιστα, μοριακές μελέτες σε ποικίλους διατροφικούς παράγοντες ανέδειξαν πως η Βιταμίνη E (Vitamin E) και οι μεταβολίτες της, η Βιοτίνη (Biotin) και το α -Λιποϊκό (α -Lipoic Acid, ALA) και το συζευγμένο Λινελαϊκό οξύ (Linoleic Acid, LA), εμφανίζουν HDACI δραστηριότητα [811-813].

Λεπτομερή χαρακτηριστικά των προερχομένων από φυσικές πηγές HDACI παρατίθενται στον Πίνακα 3 [427, 814].

Πίνακας 3: Κατηγοριοποίηση των παραγώγων από φυσικές πηγές με δράση HDACI.

Παράγωγο	Πηγή	Στόχος
Φαινολικές ενώσεις		
Psammaplin A	<i>Psammaplysilla sp</i>	HDAC Τάξης I
Protocatechuic aldehyde	<i>Hordeum vulgare</i>	HDAC Τάξης I
Aceroside VIII	<i>Betula platyphylla</i>	HDAC Τάξης IIB
Resveratrol	<i>Vitis vinifera</i>	HDAC Τάξης I, II και IV
Butein		HDAC Τάξης I, II και IV

Homobutein	<i>Toxicodendrom vernificlum</i>	HDAC Τάξης I, II και IV
Kaempferol	<i>Butea frondosa</i>	HDAC Τάξης I, II και IV
Marein	<i>Aloe vera</i>	HDAC Τάξης I, II και IV
Isoliquiritigenin	<i>Coreopsis maritima</i>	HDAC Τάξης I, II και IV
Sinapinic acid	<i>Glycyrhiza glabra</i> <i>Hydnophytum formicarum</i> <i>Jack</i>	Όλες οι HDAC
Τετραπεπτίδια		
Apicidin	<i>Fusarium pallidoroseum</i>	HDAC Τάξης I
Trapoxins (A και B)	<i>Helicoma ambiens</i>	HDAC Τάξης I
Azumamides (A-E)	<i>Mycale izuensis</i>	HDAC Τάξης I
Chlamydocin	<i>Diheterospora chlamydosporia</i>	HDAC Τάξης I και IIB
Τερπενοειδή		
β-Thujaplicin	<i>Cupressaceae spp.</i>	HDAC Τάξης I
Zerumbone	<i>Zingiber zerumbet</i>	Όλες οι HDAC
6-methoxy-2 <i>E</i> ,9 <i>E</i> - humuladien-8-one	<i>Zingiber zerumbet</i>	Όλες οι HDAC
Διπεπτίδια		
FK228	<i>Symploca spp.</i>	HDAC Τάξης I
Largazole	<i>Chromobacterium violaceum</i>	HDAC Τάξης I
Οργανοθειούχες ενώσεις		
Diallyl di- και trisulfide	<i>Allium sativum</i>	Δεν προσδιορίζεται

(s)-allylmercaptocysteine	<i>Allium sativum</i>	Δεν προσδιορίζεται
Υδροξαμικά οξέα		
Trichostatin A	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Όλες οι HDAC
Λιπαρά οξέα		
9-Hydroxystearic acid	Υπεροξειδωση λιπιδίων	HDAC Τάξης I
Πολυκετίδια		
Depudecin	<i>Alternaria brassicicola</i>	HDAC Τάξης I
Αλκαλοειδή		
Lycorine	<i>Amaryllidaceae</i>	Όλες οι HDAC

4.5 HDACI στην κλινική πράξη

4.5.1 Εγκεκριμένοι HDACI

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, μέχρι σήμερα, τέσσερις HDACI έχουν λάβει έγκριση από τον Αμερικάνικο Οργανισμό Φαρμάκων και Τροφίμων (Food and Drug Administration, US FDA). Πρόκειται για τους Vorinostat, Romidepsin, Belinostat και Panobinostat που κυκλοφορούν με τις εμπορικές ονομασίες Zolinza, Istodax, Beleodaq και Farydak αντίστοιχα, για τη θεραπεία του δερματικού και περιφερικού T κυτταρικού λεμφώματος και του πολλαπλού μυελώματος [383, 384]. Εξ' αυτών, μόνο η Panobinostat (Farydak) έχει εγκριθεί και από τον αντίστοιχο Ευρωπαϊκό οργανισμό (European Medicines Agency, EMA) [384]. Άλλος ένας HDACI, η Chidamide που διατίθεται με την εμπορική ονομασία Epidaza, έχει λάβει έγκριση από τον Κινέζικο Οργανισμό Διοίκησης Ιατρικών Προϊόντων (National Medical Products

Administration, NMPA) αρχικά για τη θεραπεία του περιφερικού T κυτταρικού λεμφώματος και πρόσφατα και για του καρκίνου του μαστού [715-717]. Τα χαρακτηριστικά των ανωτέρω 5 εγκεκριμένων στην κλινική πράξη HDACI περιγράφονται στον Πίνακα 4 [383, 384, 717].

Πίνακας 4: Εγκεκριμένοι στην κλινική πράξη, HDACI.

HDACI	Κατηγορία	Σκεύασμα	Έγκριση	Ένδειξη
Vorinostat	Υδροξαμικό οξύ	Zolinza	FDA/2006	Δερματικό T κυτταρικό λέμφωμα
Romidepsin	Κυκλικό πεπτίδιο	Istodax	FDA/2009	Δερματικό T κυτταρικό λέμφωμα
Belinostat	Υδροξαμικό οξύ	Beleodaq	FDA/2014	Περιφερικό T κυτταρικό λέμφωμα
Chidamide	Βενζαμίδη	Epidaza	NMPA/2014 NMPA/2019	Περιφερικό T κυτταρικό λέμφωμα Καρκίνος μαστού
Panobinostat	Υδροξαμικό οξύ	Farydak	FDA/2015 EMA/2015	Πολλαπλούν μυέλωμα

4.5.1.1 Vorinostat

Η Vorinostat ή αλλιώς υποεραλανιλιδικό υδροξαμικό οξύ (Suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) είναι ένα συνθετικό παράγωγο του υδροξαμικού οξέος. Πρόκειται για τον πρώτο HDACI που έλαβε έγκριση από τον FDA στις 6 Οκτωβρίου του 2006 και κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία Zolinza από την εταιρεία Merck

& Co. για τη θεραπεία του Δερματικού Τ κυτταρικού λεμφώματος [383, 384, 427, 456, 471, 472, 815, 816]. Ωστόσο, δεν κατάφερε να αποσπάσει την αντίστοιχη έγκριση του EMA [384].

Η Vorinostat αναστέλλει όλες τις HDAC (Τάξης I, II και IV) μέσω πρόσδεσής της στα ιόντα Zn^{2+} του ενεργού κέντρου τους [461], οδηγώντας σε αυξημένη ακετυλίωση των ιστονών, εκδηλώνοντας μεταγραφική και μη-μεταγραφική δραστηριότητα [321, 472, 817].

Η μεταγραφική δραστηριότητα προκύπτει είτε άμεσα από τη σύνδεσή της με τις HDAC, είτε έμμεσα επιδρώντας σε διάφορους μεταγραφικούς παράγοντες όπως οι Bcl-6, E2F-1 και -4, p 53, YY-1, Smad 7, PCNA και GATA-1, επιφέροντας μεταβολές της γονιδιακής έκφρασης [472, 818, 819]. Άλλες έμμεσες μεταγραφικές δραστηριότητες της Vorinostat είναι η ακετυλίωση των υπολειμμάτων λυσίνης, της α -τουμπουλίνης (alpha Tubulin) και της πρωτεΐνης θερμικού σοκ 90 (Heat Shock Protein-90, Hsp90), γεγονός συνδέεται με αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνών όπως οι AKT, FLT-3, c-raf και Bcr-Abl [423, 472].

Στη μη μεταγραφική δραστηριότητα συγκαταλέγονται μηχανισμοί που περιλαμβάνουν τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου, την επαγωγή της απόπτωσης, την αναστολή της αγγειογένεσης και την καταστολή των ιντερλευκινών. Αναλυτικά, η Vorinostat επηρεάζει τον εξαρτώμενο από κυκλίνη αναστολέα κινάσης *p21* ο οποίος με τη σειρά του ανταγωνίζεται τα σύμπλοκο κυκλίνης/CDK, επιφέροντας διακοπή του κύκλου κακοήθων κυττάρων, στη φάση G1 [820-822]. Παράλληλα, επιδρά στο μονοπάτι Rb-E2F1 (που συχνά εμφανίζεται διαταραγμένο στον καρκίνο) όπου προκαλώντας μειωμένη δραστηριότητα των εξαρτωμένων από κυκλίνη κινασών, επιφέρει υποφωσφορυλίωση της Rb (Retinoblastoma protein) και επηρεάζει έτσι έμμεσα τη δραστηριότητα του μεταγραφικού παράγοντα E2F [823-825].

Επιπλέον, η Vorinostat επάγει την απόπτωση μέσω μεταγραφικών και μη, μηχανισμών [321]. Η αναστολή των HDAC μεταβάλλει την ισορροπία μεταξύ προ- και αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών που εμπλέκονται στον κυτταρικό θάνατο. Έτσι, η Vorinostat εμπλέκεται στη ρύθμιση των προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών της οικογένειας BCL2. Συγκεκριμένα, εμπλέκεται στην καταστολή της BCL2A1, επάγοντας την απόπτωση [826]. Επιπρόσθετα, έχει φανεί συσχέτιση ανάμεσα στην αυξημένη έκφραση των BCL2L1, BMF και NOXA και την υπερακετυλίωση της ιστόνης H4, μετά από χορήγηση Vorinostat [827]. Επίσης, υπερεκφράζει τις προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες Bim, Bak και Bax, που εμπλέκονται με το κυτταρικό stress [828]. Τέλος, η υπερακετυλίωση που προκαλείται από τη Vorinostat, προάγει την επαγόμενη από την p53 απόπτωση [829].

Δεδομένου ότι η Vorinostat δρα υπό συνθήκες υποξίας, φαίνεται να καταστέλλει τον επαγόμενο από την υποξία μεταγραφικό παράγοντα 1α (Hypoxia Inducible Factor 1 alpha, HIF-1α), τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) [472], καθώς και την επαγόμενη από την p53 αγγειογένεση [830].

Τέλος, η Vorinostat περιορίζει τις ιντερλευκίνες (Interleukin, IL) 6 και 10 και αυξάνει την έκφραση των *IL-2* και *IL-4* RNA [831, 832].

Λόγω των ανωτέρω ιδιοτήτων και βασιζόμενος στα αποτελέσματα των φάσης II μελετών που ανέδειξαν ποσοστό ανταπόκρισης 24-30% στη Vorinostat, ο FDA την ενέκρινε για τη θεραπεία του δερματικού T κυτταρικού λεμφώματος [816, 833]. Η ενδεδειγμένη χορήγηση είναι από του στόματος σε δοσολογία 400mg ημερησίως [816]. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν κόπωση, διάρροια, ναυτία, θρομβοπενία, αφυδάτωση, πνευμονική εμβολή, αναιμία και καρκίνο δέρματος [472].

Πέραν της κλινικής της εφαρμογής για τη θεραπεία του δερματικού Τ κυτταρικού λεμφώματος, η Vorinostat δείχνει να είναι αποτελεσματική και έναντι συμπαγών όγκων και αιματολογικών κακοηθειών. Για παράδειγμα, στον καρκίνο του μαστού είτε ως μονοθεραπεία [834, 835] είτε συγχρηγούμενη με άλλους παράγοντες όπως Buthionine sulfoximine (BSO) [835], Ixabepilone [836], Simvastatin [837], Doxorubicin και Cyclophosphamide [838] ή Paclitaxel και Bevacizumab [839]. Εξίσου ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα από τη δράση της Vorinostat είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα, στο χολαγγειοκαρκίνωμα [840] και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [841-843], στον καρκίνο του παγκρέατος [844, 845], του παχέος εντέρου [846-848], του οισοφάγου [849], του νεφρού [850, 851], του προστάτη [852] και του πνεύμονα [853-855] και γυναικολογικούς καρκίνους [856], στο νευροβλάστωμα [857, 858], στο γλοιοβλάστωμα και το γλοίωμα [859], στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα και τη λευχαιμία [860, 861]. Η Vorinostat αποτελεί αντικείμενο πληθώρας τρεχουσών μελετών.

4.5.1.2 Romidepsin

Η Romidepsin (FK228) ή Depsipeptide ή FR901228 όπως αναφέρθηκε και πριν είναι ένα κυκλικό τετραπεπτίδιο - προϊόν ζύμωσης του *Chromobacterium violaceum*, το οποίο λόγω της ανασταλτικής του δράσης έναντι των HDAC Τάξης I και των επακόλουθων αντινεοπλασματικών του ιδιοτήτων, αποτέλεσε τον δεύτερο HDAC που έλαβε έγκριση από τον FDA για τη θεραπεία του δερματικού Τ κυτταρικού λέμφωμα στις 5 Νοεμβρίου του 2009 και κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία Istodax, από την φαρμακευτική εταιρεία Gloucester Pharmaceuticals [383, 384, 427, 456, 613]. Ωστόσο, δεν κατάφερε να αποσπάσει την αντίστοιχη έγκριση του EMA [384].

Η Romidepsin εκδηλώνει την κυτταροτοξική της δράση μέσω ποικίλων μηχανισμών. Αρχικά, η ισχύς του δισουλφιδικού δεσμού του προφαρμάκου Romidepsin μειώνεται, δημιουργώντας έτσι μια λειτουργική ομάδα Θειόλης που επιδρά αναστρέψιμα με τα ιόντα Zn^{2+} των HDAC, με αποτέλεσμα την αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητάς τους [862]. Αυτή η αναστολή των HDAC μπορεί να αποκαταστήσει τη φυσιολογική γονιδιακή έκφραση και να οδηγήσει σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου και απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα. Έχει φανεί ότι Romidepsin προκαλεί τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου σε καρκινικά κύτταρα αυξάνοντας το βαθμό έκφρασης του p21Waf1/Cip1, του p19INK4d της κυκλίνης B1, της υποφωσφορυλιωμένης Rb [863-865]. Επιπλέον, μέσω της ενεργοποίησης των μονοπατιών Erk/cdc25C/cdc2/cyclinB και JNK/c-Jun/caspase3 προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επαγωγή της απόπτωσης αντίστοιχα [617]. Άλλοι μηχανισμοί μέσω των οποίων εκδηλώνεται η κυτταροτοξική της δράση, περιλαμβάνουν την αναστολή της οδού PI3K/AKT, την αυξημένη έκφραση των DHRS2, GADD45B και DUSP1 και τη μειωμένη έκφραση του ARID1A [866-870]. Εκτός των ανωτέρω, η απόπτωση επάγεται και μέσω άλλων μηχανισμών όπως είναι η παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου (Hydrogen peroxide, H_2O_2) και δραστικών ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) που με τη σειρά του οδηγεί σε ενεργοποίηση των κασπασών [871, 872]. Τέλος, η Romidepsin αναστέλλει την αγγειογένεση μέσω καταστολής του επαγόμενου από την υποξία HIF-1 και του VEGF [873, 874].

Λόγω των ανωτέρω ιδιοτήτων η Romidepsin χορηγείται για τη θεραπεία του δερματικού T κυτταρικού λεμφώματος, με ποσοστό ανταπόκρισης 25-34% [427, 875]. Ωστόσο, φαίνεται να σχετίζεται με σημαντικές παρενέργειες που περιλαμβάνουν από κεφαλαλγία, ναυτία, έμετο και διάρροια ή δυσκοιλιότητα μέχρι φλεβίτιδα, δύσπνοια,

καρδιοτοξικότητα και μυελοτοξικότητα [385, 395, 427, 764]. Χορηγείται ενδοφλεβίως [384].

Πέραν όμως της κλινικής της εφαρμογής για τη θεραπεία του δερματικού Τ κυτταρικού λεμφώματος, η Romidepsin δείχνει να είναι αποτελεσματική και έναντι ποικίλων κακοηθειών, όπως άλλωστε αναφέρθηκε και στο Εδάφιο 4.2.3.1. Έτσι λοιπόν η μονοθεραπεία με Romidepsin είναι ενθαρρυντική στον καρκίνο του μαστού [450, 876, 877], του παχέος εντέρου [878-880], του παγκρέατος [465, 881], του ενδομητρίου [619], των ωοθηκών [882], του προστάτη [620, 883], του πνεύμονα [618, 865, 884], στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [617, 863] και σε αιματολογικές κακοήθειες όπως μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα [885], λευχαιμίες [885-887] και λεμφώματα [888, 889]. Όμως και ο συνδυασμός της Romidepsin με άλλους παράγοντες, φαίνεται επίσης να έχει υποσχόμενα αποτελέσματα τόσο σε επί συμπαγών όγκων όσο και επί αιματολογικών κακοηθειών. Έτσι, καταδεικνύει θεραπευτικό όφελος συγχρηγούμενη με Cisplatin [628] ή Cisplatin και Gemcitabine [629] ή Paclitaxel [877] ή 5-aza-2'-deoxycytidine [890] στον καρκίνο του μαστού, με Cisplatin [627] ή 5-fluorouracil (5-FU) [891] στον καρκίνο του παχέος εντέρου, με Cisplatin [626] ή Aspirin [892] στον καρκίνο των ωοθηκών, με Cisplatin στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως [627], με Docetaxel στον καρκίνο του προστάτη [893] και με Erlotinib [625, 894] ή Bortezomib στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [895]. Εξίσου ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα όταν συγχρηγείται με Bendamustine [622], ή Pralatrexate [623] στο υποτροπιάζον/ανθεκτικό Τ λέμφωμα, με Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine και Prednisone (CHOP) στο περιφερικό Τ κυτταρικό λέμφωμα [896]. Η Vorinostat αποτελεί αντικείμενο πληθώρας τρεχουσών μελετών.

4.5.1.3 Belinostat

Η Belinostat (PXD101) όπως αναφέρθηκε και πριν, είναι ένας νεότερος παν-HDAC αναστολέας [477]. Εκδηλώνει την ανασταλτική της δράση έναντι των HDAC Τάξης I, II και IV μέσω πρόσδεσής της στα ιόντα Zn^{2+} του ενεργού κέντρου των ιστονών [614]. Έχει παρουσιάσει σημαντική αποτελεσματικότητα και καλό προφίλ τοξικότητας για αιματολογικές κακοήθειες και συμπαγείς όγκους και ως εκ τούτου αποτέλεσε τον τρίτο κατά σειρά HDACi που έλαβε έγκριση από τον FDA, στις 3 Ιουλίου του 2014, για τη θεραπεία του περιφερικού T κυτταρικού λεμφώματος. Διατίθεται με την εμπορική ονομασία Beleodaq από την εταιρεία Spectrum Pharmaceuticals [383, 384, 614, 897, 898].

Η Belinostat εκδηλώνει την αντικαρκινική της δράση μέσω ποικίλων μηχανισμών. Επάγει τη διακοπή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων αναστέλλοντας μονοπάτια σηματοδότησης που περιλαμβάνουν τα HIF, NFκB και mTOR [899]. Επίσης, προκαλεί διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού μέσω απενεργοποίησης της οδού Wnt/ β -catenin και προκαλώντας την απόπτωση μέσω της οδού PKC [274]. Στην επαγωγή της απόπτωσης εμπλέκονται και άλλοι μηχανισμοί, όπως αυξημένη έκφραση των p21 και p27, ακετυλίωση της p53, καταστολή των Bcl2 and Bcl-xL που οδηγεί στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M, σημαντική μείωση της δραστηριότητας των Survivin, IAPs και Akt/pAkt και αύξηση της έκφρασης και της δραστηριότητας των caspase-8 και -9 [478]. Τέλος, στην επαγωγή της απόπτωσης έχει φανεί να εμπλέκεται και η επαγόμενη από την ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού ROS-TAK1-AMPK [900] και η καταστολή της SOS/ERK [901].

Λόγω των ανωτέρω ιδιοτήτων της, η Belinostat ενδείκνυται για τη θεραπεία του περιφερικού T κυτταρικού λεμφώματος, με ποσοστό ανταπόκρισης 25,8%. Χορηγείται ενδοφλεβίως και είναι καλώς ανεκτή, με ανεπιθύμητες ενέργειες που περιλαμβάνουν ναυτία, έμετο, κόπωση, πυρετό και αναιμία [384, 902, 903].

Πέραν όμως της κλινικής της εφαρμογής για τη θεραπεία του δερματικού Τ κυτταρικού λεμφώματος, η Belinostat δείχνει να είναι αποτελεσματική και έναντι συμπαγών όγκων και αιματολογικών κακοηθειών. Έτσι, ως μονοθεραπεία, υποσχόμενα είναι τα αποτελέσματα από τη δράση της στον καρκίνο του μαστού [274], του ήπατος [904-906], του παγκρέατος [899, 900, 907], του παχέος εντέρου [908], του προστάτη [478, 909], της ουροδόχου κύστης [910], των ωοθηκών [911, 912], του πνεύμονα [901], στο ραβδομυοσάρκωμα [913], στο γλοιοβλάστωμα [914], σε μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα [915], λευχαιμίες [916] και λεμφώματα (πέραν του δερματικού Τ κυτταρικού) [917]. Όμως και ο συνδυασμός της Belinostat με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες όπως είναι οι αναστολείς τοποϊσομεράσης (π.χ. Doxorubicin) και τα χημειοθεραπευτικά που βασίζονται στην πλατίνα (Carboplatin και/ή Paclitaxel), αποτελεί αντικείμενο μελετών με ενθαρρυντικά αποτελέσματα [473]. Οι μελέτες αυτές συμπεριλαμβάνουν τη συγχορήγησή της με 17-AAG (αναστολέας της HSP90) στον καρκίνο του μαστού [918], με Bortezomib στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [919], με Gemcitabine [899, 907] ή Bortezomib [919] στον καρκίνο του παγκρέατος, με 5-Fluorouracil [920] ή Irinotecan [921] στον καρκίνο του παχέος εντέρου, με αντιανδρογονική ορμονοθεραπεία στον καρκίνο του προστάτη [922], με Carboplatin ή/και Paclitaxel ή Docetaxel στον καρκίνο των ωοθηκών [911, 923], με Bortezomib ή Cisplatin [980] ή Seliciclib [924] ή Cisplatin και Etoposide [925] στον καρκίνο του πνεύμονα, με Doxorubicin στο χονδροσάρκωμα [821], με Retinoic acid και 3-Deazaneplanocin A [926] ή Bortezomib [927] σε λευχαιμίες και Vincristine [928] ή Bortezomib [929] σε λεμφώματα. Η Belinostat αποτελεί αντικείμενο πληθώρας τρεχουσών μελετών.

4.5.1.4 Chidamide

Η Chidamide (CS055) ή Tucidinostat ή HBI-8000 όπως αλλιώς ονομάζεται, είναι ένας εκλεκτικός HDACI που για την ακρίβεια, αναστέλλει τις HDAC-1, -2, -3 και -10 (HDAC Τάξης I και IIΒ). Ασκεί την αντικαρκινική του δράση μέσω καταστολής της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων, διακοπής του κυτταρικού κύκλου και επαγωγής της απόπτωσης [711-714]. Για το λόγο αυτό, διατίθεται με την εμπορική ονομασία Epidaza από την εταιρεία Chipseen Biosciences αφού έχει λάβει έγκριση από τον Κινέζικο Οργανισμό Διοίκησης Ιατρικών Προϊόντων (National Medical Products Administration, NMPA), αρχικά στις 23 Δεκεμβρίου του 2014 για τη θεραπεία του περιφερικού T κυτταρικού λεμφώματος [384, 715, 716] και πρόσφατα, στις 29 Νοεμβρίου του 2019 για τη θεραπεία κάποιων μορφών καρκίνου του μαστού [717]. Συγκεκριμένα ενδείκνυται ο συνδυασμός της Chidamide με Exemestane, ενδείκνυται για μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με καρκίνο μαστού με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς, HER-2 αρνητικό προχωρημένο με προηγούμενα ενδοκρινική θεραπεία, επί υποτροπής ή προόδου της νόσου. Χορηγείται από του στόματος και είναι γενικά καλώς ανεκτή με πολλά υποσχόμενη αποτελεσματικότητα ενώ οι ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν ναυτία, διάρροια, κόπωση, ανορεξία, θρομβοπενία, λευκοπενία, ουδετεροπενία και αναιμία [715, 719, 720]. Ωστόσο, για τον τριπλά αρνητικό καρκίνο τα δεδομένα είναι πενιχρά. Φαίνεται πάντως πως αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και την κυτταρική μετανάστευση στοχεύοντας τον άξονα miR-33a-5p-LDHA (Lactate Dehydrogenase A) [718].

Όσον αφορά τα ερευνητικά δεδομένα για άλλες νεοπλασίες, υποσχόμενη δείχνει η δράση της μονοθεραπείας με Chidamide έναντι ποικίλων καρκίνων όπως του ήπατος [721], του παγκρέατος [722, 723], του παχέος εντέρου [725], του πνεύμονα [727, 728], των σιελογόνων αδένων [731] και του εγκεφάλου [732] και αιματολογικών παθήσεων πέραν του λεμφώματος, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα [711, 733-735] και λευχαιμίες

[738, 739]. Ενθαρρυντικά αποτελέσματα έχει όμως και η συγχορήγηση της Chidamide με άλλους παράγοντες, όπως με Gemcitabine στον καρκίνο του παγκρέατος [724], με 5-Fluorouracil στον καρκίνο του παχέος εντέρου [726], με Icotinib ή Carboplatin στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [729, 730], με Cytarabine ή/και Sorafenib [740, 741] ή Cytarabine, Daunorubicin και Idarubicin [742] ή Decitabine [743, 744] ή Betulinic acid [745] στις λευχαιμίες, με Decitabine ή Rituximab στα λεμφώματα [746, 747] και με Cytarabine ή Βαλπροϊκό οξύ στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα [736, 737].

Η Belinostat αποτελεί αντικείμενο πληθώρας τρεχουσών μελετών.

4.5.1.5 Panobinostat

Η Panobinostat (LBH589), είναι ένα ανάλογο του κινναμικού οξέως που εκδηλώνει αντικαρκινικές ιδιότητες αναστέλλοντας τις HDAC Τάξης I, II και IV [474, 930, 931]. Ως μη εκλεκτικός HDACi, επιφέρει υπερακετυλίωση των ιστονών επηρεάζοντας επιγενετικές διαδικασίες στις οποίες συμμετέχουν οι p21, TPRM, Herp27 και Thymidine kinase [931]. Επιπλέον, επηρεάζει την πρωτεϊνική έκφραση, προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M και επάγει την απόπτωση. Τέλος, η Panobinostat φαίνεται να επηρεάζει την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την αγγειογένεση (HIF-1 α , VEGF) μεταβάλλοντας τη χημειοταξία των ενδοθηλιακών κυττάρων και επομένως, την κακοήθη εισβολή [456].

Λόγω των ανωτέρω ιδιοτήτων της και κατόπιν των σχετικών μελετών, η Panobinostat διατίθεται από την εταιρεία Novartis με την εμπορική ονομασία Farydak που σε συνδυασμό με Bortezomib και Dexamethasone, χορηγείται από του στόματος για τη θεραπεία του ανθεκτικού ή υποτροπιάζοντος πολλαπλού μυελώματος, με ποσοστό απόκρισης 59%. Τη σχετική έγκριση έλαβε αρχικά από τον FDA στις 23 Φεβρουαρίου του 2015 και λίγους μήνες αργότερα (στις 28 Αυγούστου του ίδιου

έτους) και από τον EMA [383, 384, 931-933]. Ωστόσο η έγκριση δόθηκε υπό την προϋπόθεση στρατηγικού προγράμματος αξιολόγησης και μετριάσμου των κινδύνων (Risk Evaluation and Mitigation Strategy) λόγω των σοβαρών του ανεπιθύμητων ενεργειών που περιλαμβάνουν σοβαρές διάρροιες και σοβαρά και θανατηφόρα καρδιακά συμβάματα, όπως ισχαιμικά επεισόδια και αρρυθμίες [933].

Πέραν όμως του πολλαπλού μυελώματος, η Panobinostat δείχνει να είναι αποτελεσματική και έναντι άλλων κακοηθειών. Ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα από τη χορήγησή της ως μονοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού [273, 934-939], των ωοθηκών [940], του θυρεοειδούς [941] και του πνεύμονα, στο μεσοθηλίωμα [942] και στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [568]. Όμως και ο συνδυασμός της Panobinostat με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες όπως αναστολείς πρωτεασώματος, αναστολείς τυροσινικής κινάσης, ορμονοθεραπεία και ακτινοθεραπεία, δείχνει να έχει υποσχόμενα αποτελέσματα που είναι υπό αξιολόγηση [473]. Οι συνδυασμοί αυτοί περιλαμβάνουν Letrozole για τον καρκίνο του μαστού [943], Cisplatin [944], Docetaxel [945], Gemcitabine, Paclitaxel, Doxorubicin και Carboplatin [946] για τον καρκίνο των ωοθηκών, Medroxyprogesterone acetate (MPA) για τον καρκίνο του ενδομητρίου [947], με Pazopanib ή Dasatinib για τον καρκίνο του θυρεοειδούς [948], με Osimertinib για τον καρκίνο του πνεύμονα [949], με Sorafenib για το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [950], με Decitabine [951], αναστολείς LSD1 [952], Cytarabine και Idarubicin [953] στην οξεία μυελοειδή λευχαιμία και με Ibrutinib [954] ή Ifosfamide, Carboplatin και Etoposide (ICE) [955] σε λεμφώματα. Η Panobinostat αποτελεί αντικείμενο πληθώρας τρεχουσών μελετών.

4.5.2 Φαρμακοδυναμικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες

4.5.2.1 Φαρμακοδυναμικές ιδιότητες

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως στα επιμέρους εδάφια, οι Vorinostat, Belinostat και Panobinostat χαρακτηρίζονται ως παν-HDACI, με την ανασταλτική τους δραστηριότητα να εκδηλώνεται έναντι των HDAC Τάξης I, II και IV. Αντίθετα, η Chidamide αναστέλλει τις HDAC Τάξης I και IIB ενώ η Romidepsin τις Τάξης I. Τα ακριβή δεδομένα παρατίθενται στον Πίνακα 5 [384].

Πίνακας 5: Φαρμακοδυναμικές ιδιότητες των εγκεκριμένων HDACI.

HDACI	Στόχος
Vorinostat	HDAC-1, -2, -3, -6
Romidepsin	HDAC-1, -2, -3
Belinostat	HDAC-1, -2, -3, -6, -9, -10, -11
Chidamide	HDAC-1, -2, -3, -10
Panobinostat	HDAC-1, -2, -3, -6

4.5.2.2 Φαρμακοκινητικές ιδιότητες

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 6) συνοψίζονται οι φαρμακοδυναμικές ιδιότητες των εγκεκριμένων HDACI [384].

Πίνακας 6: Φαρμακοκινητικές ιδιότητες των εγκεκριμένων HDACI.

HDACI	Οδός χορήγησης	Οδός μεταβολισμού	Απορρόφηση T_{max}	Χρόνος ημιζωής
Vorinostat	PO	Γλυκουρονιδίωση (UGT2B17, 1A3, 1A7, 1A8, 1A9, 1A10)	5,5 ώρες	2 ώρες

Romidepsin	IV	CYP3A4, CYP1A1, CYP2B6, CYP2C19	-	3 ώρες
Belinostat	IV	UGT1A1, UGT2B7, CYP2C9, CYP3A4	-	1,1-2,9 ώρες
Chidamide	PO	Υδρόλυση, Οξείδωση	1-2 ώρες	17-18 ώρες
Panobinostat	PO	Αναγωγή, Υδρόλυση, Οξείδωση (CYP3A, CYP2D6, CYP2C19), Γλυκουρονιδίωση (UGT1A1, 1A3, 1A7, 1A8, 1A9, 2B4)	2 ώρες	37 ώρες

Tmax: Χρόνος μέγιστης συγκέντρωσης στο πλάσμα, PO: Από του στόματος χορήγηση,

IV: Ενδοφλέβια χορήγηση.

4.5.3 Ανεπιθύμητες ενέργειες

Παρόλο που οι ανεπιθύμητες ενέργειες των εγκεκριμένων HDACI αναφέρθηκαν μεμονωμένα ανά αναστολέα προηγουμένως, στο παρόν εδάφιο θα γίνει μια συλλογική περιγραφή.

Οι HDACI γενικά, σχετίζονται με μια ολόκληρη γκάμα ανεπιθύμητων ενεργειών που περιλαμβάνει ναυτία, έμετο, κόπωση, εξανθήματα, βήχας, πυρετός, κεφαλαλγία και ανορεξία, οι οποίες ωστόσο δεν αποτελούν ένδειξη για να διακόψει κανείς τη θεραπεία. Όμως δεν απουσιάζουν και οι σοβαρές ή απειλητικές για τη ζωή παρενέργειες οι οποίες μπορούν να χωριστούν σε γενικές, που σχετίζονται με τη συγκεκριμένη κατηγορία φαρμάκων και σε ειδικές, που σχετίζονται με το συγκεκριμένο μόνο αναστολέα [384, 385, 427, 452, 956].

4.5.3.1 Γενικές

Οι γενικές επιπλοκές περιλαμβάνουν εκδηλώσεις από την καρδιά, το γαστρεντερικό και το αιμοποιητικό σύστημα. Οι καρδιακές επιπλοκές εκδηλώνονται σε ένα εύρος που περιλαμβάνει από ηλεκτροκαρδιογραφικές αλλοιώσεις στα QT, ST και T έως θανατηφόρα κοιλιακή ταχυαρρυθμία [957-961]. Ιδιαίτερα πάντως η Panobinostat έχει συσχετισθεί με σοβαρά και θανατηφόρα καρδιακά συμβάματα, όπως ισχαιμικά επεισόδια και αρρυθμίες [933]. Οι διαταραχές από το γαστρεντερικό περιλαμβάνουν ανορεξία, ναυτία, έμετο, αφυδάτωση και διάρροιες. Να σημειωθεί ότι η Panobinostat σχετίζεται με σοβαρές διάρροιες. Όσον αφορά την ηπατοτοξικότητα, εκδηλώνεται εργαστηριακά με διαταραχή της ηπατικής βιοχημείας και όχι κλινικά [384]. Η μυελοκαταστολή εκδηλώνεται με θρομβοπενία, λευκοπενία, ουδετεροπενία και αναιμία που ενίοτε είναι σοβαρές. Τέλος άλλες παρενέργειες περιλαμβάνουν κόπωση, κεφαλαλγία, πυρετό, πνευμονική εμβολή και καρκίνο του δέρματος [384, 385, 395, 427, 715, 719, 720, 764, 902, 903, 933].

4.5.3.2 Ειδικές

Οι λοιμώξεις που έχουν συσχετισθεί με τη Romidepsin ή τη Belinostat πιθανώς να είναι απότοκες της ουδετεροπενίας, ενώ οι περικαρδιακές συλλογές που σχετίζονται με τη Chidamide και οι αιμορραγίες που σχετίζονται με την Panobinostat ενδεχομένως οφείλονται στη θρομβοπενία που προκαλείται από αυτές. Επιπρόσθετα, μετά από θεραπεία με Chidamide και Panobinostat έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα φωσφορικής κινάσης και καρδιακή ισχαιμία αντίστοιχα, γεγονός που καταδεικνύει την καρδιοτοξικότητα αυτών των δύο HDACI. Το σύνδρομο λύσης όγκου, το οποίο παρουσιάζεται πιο συχνά λίγες μέρες μετά την έναρξη θεραπείας με Romidepsin ή Belinostat, παρατηρείται συνήθως σε ασθενείς με προχωρημένη νόσο. Συνοδεύεται

από σοβαρές ηλεκτρολυτικές διαταραχές που περιλαμβάνουν υπερουριχαιμία, υπερφωσφαταιμία, υπερκαλιαιμία ή υποκαλιαιμία, που μπορεί να οδηγήσουν σε οξεία νεφρική ανεπάρκεια, επιληπτικές κρίσεις, καρδιακές αρρυθμίες και θάνατο. Τέλος, η Vorinostat φαίνεται να συνδέεται με υπεργλυκαιμικά και θρομβοεμβολικά συμβάματα [384]. Οι αναφερθείσες ανεπιθύμητες ενέργειες συνοψίζονται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7: Ανεπιθύμητες ενέργειες των εγκεκριμένων HDACI.

HDACI	Παρενέργεια
Vorinostat	Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση Πνευμονική εμβολή Υπεργλυκαιμία
Romidepsin	Λοιμώξεις Σύνδρομο λύσης όγκου
Belinostat	Λοιμώξεις Σύνδρομο λύσης όγκου
Chidamide	Περικαρδιακή συλλογή
Panobinostat	Αιμορραγία Ισχαιμία μυοκαρδίου

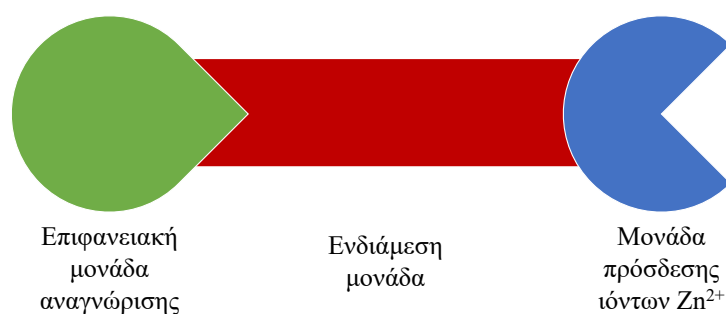
4.6 Δομή των HDACI

Παρά τα ιδιαίτερη δομή του καθενός από τους HDACI, αρκετοί εμφανίζουν και κοινά δομικά χαρακτηριστικά μεταξύ τους. Έτσι, στη φαρμακοφόρο δομή των εξαρτώμενων από ιόντα Zn^{2+} (HDAC-1-11) αναγνωρίζονται τρεις κοινές μονάδες (Εικόνα 36): 1/ Η καλυπτική ή επιφανειακή μονάδα αναγνώρισης που είναι υδρόφοβη και αλληλοεπιδρά με το χείλος του θύλακα σύνδεσης, 2/ Η μονάδα πρόσδεσης των

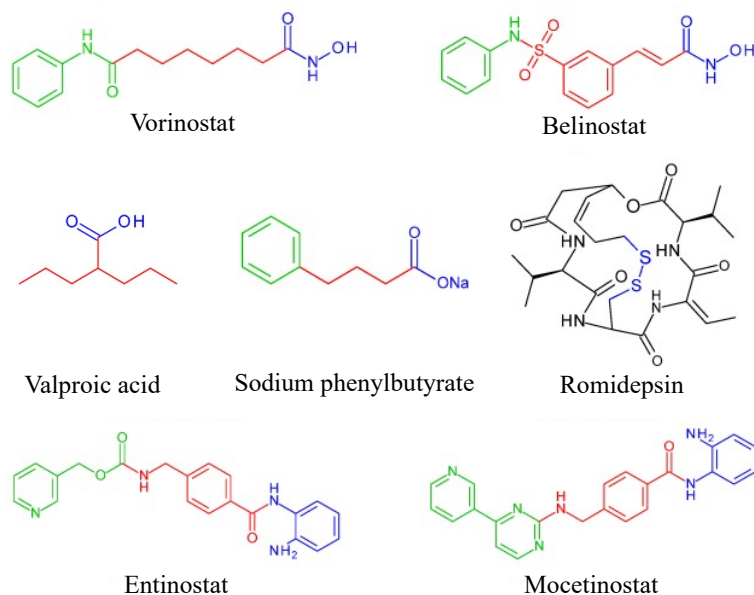
iónτων Zn^{2+} και 3/ Η ενδιάμεση συνδετική μονάδα, συνήθως υδρόφοβη, η οποία μπορεί να είναι κορεσμένη ή ακόρεστη με γραμμική ή κυκλική δομή και συνδέει τις άλλες δύο μεταξύ τους [456, 764, 956, 962, 963].

Κρυσταλλογραφικές αναλύσεις συμπλεγμάτων των HDAC με υδροξαμικά οξέα, έδειξαν ότι η καλυπτική ομάδα εκτίθεται σε διαλύτες και αλληλοεπιδρά με αμινοξέα κοντά στο ενεργό κέντρο, ενώ το τμήμα πρόσδεσης ιόντων βρίσκεται στο εσωτερικό της πρωτεϊνικής δομής και συνδέεται με τα ιόντα Zn^{2+} . Η μονάδα πρόσδεσης περιέχει ως λειτουργική ομάδα υδροξαμικό οξύ, βενζαμίδια, θειόλες, κετόνες ή εποξειδία. Η υψηλή συγγένεια των ενώσεων αυτών με το ενεργό κέντρο των ενζύμων, διασφαλίζεται από τη σωστή διάταξη της καλυπτικής μονάδας και της μονάδας πρόσδεσης των ιόντων Zn^{2+} , που επιτελείται από την ενδιάμεση συνδετική μονάδα. Γενικά, οι ενώσεις που περιέχουν υδροξαμικό οξύ είναι πιο ισχυροί HDACI σε σχέση με αυτές που περιέχουν καρβοξυλικό οξύ ή βενζαμίδες. Αυτό πιθανώς σχετίζεται με τη βελτιωμένη ικανότητα συντονισμού των ιόντων Zn^{2+} . Οποιαδήποτε τροποποίηση της φαρμακοφόρου δομής των HDACI μπορεί να τροποποιήσει την εκλεκτικότητα και τη δραστηρότητά τους [456, 764]. Η Εικόνα 37 περιγράφει τη φαρμακοφόρο δομή των κυριότερων HDACI [764].

Εικόνα 36: Κοινά δομικά χαρακτηριστικά των HDACI.



Εικόνα 37: Φαρμακοφόρος δομή των κυριότερων HDACI. Σε συμφωνία με την Εικόνα 36, με πράσινο απεικονίζεται η επιφανειακή μονάδα αναγνώρισης, με κόκκινο η ενδιάμεση μονάδα και με μπλε η μονάδα πρόσδεσης ιόντων Zn²⁺.



Πηγή: Mottamal M, Zheng S, Huang TL, Wang G. Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for new anticancer agents. *Molecules*. 2015;20:3898-3941.

4.7 Μηχανισμοί δράσης των HDACI

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, οι HDACI αναστέλλοντας τις HDAC αυξάνουν το βαθμό ακετυλίωσης των ιστονών. Ωστόσο, αυτό από μόνο του δεν αρκεί για να εξηγήσει την αντινεοπλασματική τους δράση. Άλλωστε οι HDAC δεν τροποποιούν απλά τις ιστόνες αλλά εμπλέκονται και σε ποικίλους μοριακούς μηχανισμούς που στοχεύουν πρωτεΐνες που σχετίζονται με την καρκινογένεση, τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση. Αντίστοιχα λοιπόν, οι HDACI έχουν πολλαπλές αντικαρκινικές δράσεις οι οποίες εκδηλώνονται με διακοπή του κυτταρικού κύκλου, ενεργοποίηση των αποπτωτικών μονοπατιών, επαγωγή της αυτοφαγίας, παραγωγή αντιδραστικών ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) και αναστολή της αγγειογένεσης. Στο σημείο αυτό να σημειωθεί ότι τα φυσιολογικά

κύτταρα είναι σχετικά ανθεκτικά στον κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από τους HDACI, ενώ η απόκριση στη θεραπεία με αυτούς, φαίνεται να εξαρτάται, εν μέρει τουλάχιστον, από τη φύση του αναστολέα, τη συγκέντρωση του και το χρόνο έκθεσης σε αυτόν [321, 383, 427, 452, 764, 956, 964, 965].

Στα εδάφια που ακολουθούν θα περιγραφούν αναλυτικά οι ανωτέρω μηχανισμοί.

4.7.1 Διακοπή του κυτταρικού κύκλου

Οι HDACI σε μικρές συγκεντρώσεις προκαλούν διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 ενώ σε μεγαλύτερες και στη φάση G1 και στη G2/M [321, 966]. Αυτό, διαμεσολαβείται από διάφορους μηχανισμούς, ο σημαντικός των οποίων φαίνεται να είναι η αυξημένη έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στον κυτταρικό κύκλο, όπως για παράδειγμα το CDKN1A (εξαρτώμενος από κυκλίνη αναστολέας κινάσης *p21*) που περιγράφεται σε διάφορα καρκινικά κύτταρα. Έτσι, παρεμποδίζεται ο σχηματισμός διμερών από κυκλίνες και εξαρτώμενες από κυκλίνη κινάσες, οδηγώντας σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου και αναστολή της κυτταρικής διαφοροποίησης [289, 472, 820, 822, 863-865, 966, 967]. Η έκφραση της πρωτεΐνης *p21* επηρεάζεται από την πρωτεΐνη *p53* που αλληλεπιδρά με τον υποκινητή του *p21*, ανταγωνιζόμενη την HDAC-1, περιορίζοντας τη μεταγραφή του *p21* [968]. Αντίστοιχα, μετά από χορήγηση HDACI, η πρωτεΐνη HDAC-1 αποδεσμεύεται από τον Sp1 (Promoter-specific RNA polymerase II transcription factor), που αυξάνει την έκφραση του *p21*. Επιπλέον, η αναστολή των HDAC αυξάνει την ακετυλίωση της πρωτεΐνης *p53* οδηγώντας σε αύξηση του χρόνου ημιζωής της, αυξάνοντας έτσι την αλληλεπίδρασή της με τον υποκινητή του *p21* [452, 478, 969]. Επιπρόσθετα, οι αλληλεπιδράσεις της πρωτεΐνης *p53* με τους ενεργοποιητές της εξαρτώνται από την κατάσταση ακετυλίωσής της που επηρεάζεται από τους HDACI [969, 970]. Έχει παρατηρηθεί, ότι η αύξηση της *p21* επιφέρει διακοπή του

κυτταρικού κύκλου [966, 969], ενώ αντίθετα η απώλειά της p21 αναστρέφει τη διακοπή αυτή στη φάση G1 [321]. Τέλος, οι HDACI μπορούν να αυξήσουν τη σταθερότητα και τις μεταγραφικές δραστηριότητες του RUNX3 (Runt-related transcription factor 3), το οποίο συνεργάζεται με τις πρωτεΐνες Smad3 (Sma- και Mad-related protein 3) και προκαλεί επαγωγή της p21 και του *Bim* [452, 971].

Επιπλέον, οι αναστολείς HDACI μπορούν επίσης να αναστέλλουν την έκφραση γονιδίων όπως του *p27*, που κωδικοποιούν τις κυκλίνες D και A με αποτέλεσμα την απουσία δραστηριότητας των κινασών CDK2 και CDK4 αντίστοιχα [820, 972].

Άλλος ένας μηχανισμός που εξηγεί τη δράση των HDACI στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου, είναι η υποφωσφορυλίωση της Rb (Retinoblastoma protein) και η παρεμπόδιση δραστηριότητας του E2F που εμποδίζουν την μετάβαση του κυτταρικού κύκλου στην S φάση [823, 824, 865].

Τέλος, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η επαγόμενη από τους HDACI διακοπή του κυτταρικού κύκλου, επηρεάζει όχι μόνο τα καρκινικά κύτταρα αλλά σε κάποιο βαθμό και τα φυσιολογικά [321, 973].

4.7.2 Επαγωγή της απόπτωσης

Η θεραπεία με HDACI επιφέρει αυξημένη ακετυλίωση των ιστονών και επηρεάζει τη γονιδιακή έκφραση, αυξάνοντας έτσι την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στην απόπτωση. Η απόπτωση φαίνεται να είναι κυρίαρχη οδός κυτταρικού θανάτου που προκαλείται από HDACI και αυτό έχει σημαντικό ρόλο στις θεραπευτικές στρατηγικές κατά του καρκίνου [974]. Διαμεσολαβείται από τη ρύθμιση προ- και αντι-αποπτωτικών γονιδίων και επάγεται τόσο μέσω εξωγενών όσο και ενδογενών οδών [452, 527, 748, 749, 826, 828, 974, 975].

4.7.2.1 Εξωγενής οδός

Έχει αποδειχθεί ότι οι HDACI αυξάνουν τη σηματοδότηση μέσω της εξωγενούς οδού απόπτωσης με ποικίλους μηχανισμούς που περιλαμβάνουν την αύξηση της έκφρασης των υποδοχέων θανάτου των κυτταρικών επιφανειών ή/και του προσδέτη, τη μείωση των επιπέδων της κυτταροπλασματικής ανασταλτικής πρωτεΐνης τύπου FLICE (c-FLIP) και την αυξημένη πρόσληψη συμπλεγμάτων που προκαλούν κυτταρικό θάνατο (Death Inducing Signal Complex, DISC). Οι επιδράσεις των HDACI στην εξωγενή οδό απόπτωσης, ενισχύσουν την ευαισθησία πολλών τύπων καρκινικών κυττάρων σε ενεργοποιητές αυτής της οδού, όπως οι υποδοχείς θανάτου όπως είναι ο TRAIL (TNF Related Apoptosis Inducing Ligand), ο TNF (Tumor necrosis factor), ο Fas (TNF superfamily 6), ο DR5 (Death receptor 5) και οι σχετικοί TNF προσδέτες όπως Fas-L, LIGHT (TNF superfamily member 14) και TLA1 (Transparent leaf area peptide) [452, 647, 974]. Για παράδειγμα, οι HDACI ρυθμίζουν την έκφραση του υποδοχέα θανάτου TRAIL-R2 και προκαλούν μείωση της έκφρασης της c-FLIP σε διάφορα κακοήθη ανθρώπινα κύτταρα, γεγονός που οδηγεί στην ταχεία παραγωγή DISC συμπεριλαμβανομένου του TRAIL και στην ενεργοποίηση της Caspase-8 [647, 976-979]. Κατά συνέπεια, οι HDACI επάγουν συνεργικά την απόπτωση που διαμεσολαβείται από το TRAIL, ενίοτε μέσω ενεργοποίησης του υποκινητή του γονιδίου TNFS10 [980, 981]. Επιπλέον, οι HDACI φαίνεται ότι διευκολύνουν την πρόσληψη πρωτεϊνών FADD (FAS-associated death domain) και Caspase-8, προκειμένου να σχηματίσουν το ενεργό σύμπλεγμα DISC [979]. Αντίθετα, η χορήγηση anti-TRAIL μονοκλωνικών αντισωμάτων ή siRNA (small inhibitor RNA), περιορίζει τον επαγόμενο από τους HDACI κυτταρικό θάνατο [321, 979].

Παρά το σημαντικό ρόλο της επαγόμενης από τους HDAC1 εξωγενούς οδού της απόπτωσης, τα αποτελέσματα ποικίλουν, πιθανώς αναλόγως του τύπου των καρκινικών κυττάρων [974].

4.7.2.2 Ενδογενής οδός

Η μιτοχονδριακή οδός ξεκινά με την απελευθέρωση του κυτοχρώματος *c* (CytC), από τον μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό χώρο στο κυτταρόπλασμα, όπου συνδέεται με το Araf-1. Η δέσμευση του κυτοχρώματος *c* στο Araf-1 πυροδοτεί το σχηματισμό του αποπτωσώματος, το οποίο ενεργοποιεί την pro-Caspase-9 [982]. Η ενεργοποιημένη Caspase-9 διασπά και ενεργοποιεί τις Caspase-3 και -7, οι οποίες στη συνέχεια αλληλεπιδρούν με πολλά ενδοκυττάρια υποστρώματα, οδηγώντας στις χαρακτηριστικές μορφολογικές αλλαγές που σχετίζονται με την απόπτωση [983]. Εκτός όμως από το κυτόχρωμα *c*, αρκετές άλλες αποπτογόνες πρωτεΐνες απελευθερώνονται επίσης από τον μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό χώρο, συμπεριλαμβανομένων των Smac/Diablo, που ανταγωνίζονται τις πρωτεΐνες-αναστολείς των κασπασών (IAP) [984-986].

Η ενδογενής οδός κυτταρικού θανάτου περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση προ- και αντι-αποπρωτικών πρωτεϊνών της υπεροικογένειας Bcl-2. Η υπεροικογένεια αυτή χαρακτηρίζεται από την παρουσία τουλάχιστον ενός Bcl-2 ομόλογου τομέα (BH). Οι πρωτεΐνες αυτές διακρίνονται σε επιμέρους κατηγορίες: 1/ Τις αντι-αποπρωτικές που προστατεύουν τη μιτοχονδριακή ακεραιότητα και στις οποίες συμπεριλαμβάνονται οι Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1, Bcl-w και A1/Bfl1 και 2/ Τις προ-αποπρωτικές που προάγουν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος *c* και με τη σειρά τους διακρίνονται σε δύο υποκατηγορίες, με την πρώτη να περιλαμβάνει τις πρωτεΐνες Bax και Bak που ρυθμίζουν τη διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης και τη δεύτερη να

περιλαμβάνει και τις πρωτεΐνες εκείνες που έχουν ως κοινή τους αλληλουχία τον τομέα BH3, δηλαδή τις Bad, Bik, Bid, Bim, Bmf, Puma και Noxa, που δρουν ως αισθητήρες του κυτταρικού stress για την ενεργοποίηση της ενδογενούς αποπτωτικής οδού [974, 986, 987].

Εκτός από τη δράση μέσω της εξωγενούς οδού και των υποδοχέων θανάτου, οι HDACI επάγουν την απόπτωση μέσω ενεργοποίησης της ενδογενούς μιτοχondριακής οδού που εκδηλώνεται με μειωμένη έκφραση των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl2 και Bcl-xL και με αυξημένη έκφραση των προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών Bax and Bak [478, 593, 826-828]. Επιπλέον, οι HDACI επηρεάζουν τα μέλη της οικογένειας Bcl2 όπως τις πρωτεΐνες Bim, Bmf, Bad, Bid, Noxa, Puma, Bax και Bak τόσο σε μεταγραφικό όσο και σε μέτα-μεταγραφικό επίπεδο. Μάλιστα οι μεταγραφικές ενεργοποιήσεις των Bim, Bmf, Noxa και Puma ύστερα από θεραπεία με HDACI φαίνεται να οφείλονται σε αυξημένη ακετυλίωση των ιστονών H3 ή/και H4 [988-991].

Όμως και οι υποδοχείς θανάτου μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν την ενδογενή αποπτωτική οδό, πέραν της εξωγενούς. Έτσι, υπό την επίδραση των HDACI και της διαμεσολαβούμενης από το TRAIL εξωγενούς απόπτωσης, επέρχεται αύξηση της βλάβης των μιτοχondρίων, της ενεργοποίησης των κασπασών και απόπτωσης. Στη συνέχεια η αύξηση αυτή μειώνεται, με την Caspase-8 που οδηγεί σε διάσπαση του Bid και χρησιμεύει ως μοριακός σύνδεσμος μεταξύ των εξωγενών και ενδογενών οδών σηματοδότησης [992, 993]. Τέλος, πέραν από τα κλασικά μονοπάτια που εξαρτώνται από κασπάσες, φαίνεται ότι και άλλες μιτοχondριακές πρωτεΐνες όπως ο παράγοντας AIF (Apoptosis-Inducing Factor) δύνανται να επάγουν την απόπτωση [994, 995].

4.7.3 Επαγωγή της αυτοφαγίας

Η ακετυλίωση πολλών πρωτεϊνών που σχετίζονται με την αυτοφαγία, όπως αυτές που κωδικοποιούν τα σχετιζόμενα με την αυτοφαγία γονίδια (Autophagy-related genes, *ATG*), ρυθμίζεται από την ισορροπία μεταξύ HAT και HDAC [974]. Η αυτοφαγία μπορεί επίσης να ρυθμιστεί μέσω της ακετυλίωσης μεταγραφικών παραγόντων όπως το FOXO [996].

Παρόλο που δεν έχει ακόμα αποσαφηνισθεί κάτω από ποιες συνθήκες η αυτοφαγία προκαλεί κυτταρική επιβίωση ή κυτταρικό θάνατο, μέχρι στιγμής οι κυριότεροι διαμεσολαβούμενοι από τους HDAC1 μηχανισμοί αυτοφαγίας περιλαμβάνουν τον πυρηνικό παράγοντα-κάπα Β (NF-κΒ), την πρωτεΐνη mTOR (mammalian Target Of Rapamycin) και τις αντιδραστικές ρίζες οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) [452, 974].

4.7.3.1 NF-κΒ

Η υπερέκφραση γονιδίων *ATG* που προκαλείται από τους HDAC1, επάγεται από τη διέγερση της δραστηριότητας του NF-κΒ, μέσω αυξημένης ακετυλίωσης και διαμόρφωσης της σηματοδότησης RelA/p65 (υπομονάδα NF-κΒ p 65) [997, 998]. Άλλος μηχανισμός επαγωγής της αυτοφαγίας από τους HDAC1 είναι η αναστολή της Yes-associated protein 1 (YAP1)/NF-κΒ [999].

4.7.3.2 mTOR

Ο mTOR είναι ένας από τους σημαντικότερους καταστολείς της αυτοφαγίας μέσω φωσφορυλίωσης και απενεργοποίησης του συμπλόκου ULK1 (Unc 51 like autophagy activating kinase 1) που ανταγωνίζεται την αυτοφαγία. Έτσι λοιπόν, η απενεργοποίηση του mTOR από τους HDAC1 αποκαθιστά τις λειτουργίες του συμπλέγματος ULK1 και επάγει την αυτοφαγία [1000, 1001].

4.7.3.3 ROS

Ύστερα από θεραπεία με HDACI παρατηρήθηκαν διαταραχές σε διάφορες ομάδες ενζύμων που σχετίζονται με τον μεταβολισμό και το οξειδωτικό stress, γεγονός και που υποδηλώνει μια μη φυσιολογική παραγωγή αντιδραστικών ριζών οξυγόνου (ROS). Τα ανωτέρω, οδήγησαν σε ενεργοποίηση της αυτοφαγίας. Επομένως οι HDACI επάγουν την εξαρτώμενη από τις ROS αυτοφαγία, η οποία μάλιστα μπορεί να περιοριστεί όταν χορηγηθεί ο αναστολέας των ROS, ο NAC (N-acetylcysteine) [1002-1004].

4.7.4 Επίδραση στα μη κωδικοποιούντα RNA

Οι HDACI έχει φανεί ότι μεταβάλλουν την έκφραση του μη κωδικοποιούντος RNA. Για παράδειγμα, οι HDACI προκαλούν υπερέκφραση του miR-129-5p η οποία είναι απαραίτητη προκειμένου να προκληθεί κυτταρικός θάνατος [1005, 1006]. Επιπλέον, η θεραπεία με HDACI αυξάνει την έκφραση του miR-31 η οποία προκαλεί κυτταρική γήρανση μέσω αναστολής του BIM1 (Bisindolylmaleimide-based protein kinase C inhibitor 1) [1007]. Πέραν όμως των miR-129-5p και miR-31, οι HDACI επηρεάζουν και την έκφραση των miR-129-3p [728], miR-34a [1008], miR-17-92 [1009], miR-143, miR-145, miR-101 [1010], miR-29b [1011], miR-200 [1012], miR-200c [1013], miR-675 [1014], miR-19a ή/και miR-19b [1015] σε διάφορα είδη καρκίνου. Τέλος, οι HDACI περιορίζουν την ελεγχόμενη από τα miR-15 και let-7 miRNA καταστολή της μεταγραφής, γεγονός που καταστέλλει τα αντι-αποπτωτικά γονίδια *Bcl-2* και *Bcl-xL* και εν τέλει, επάγει την απόπτωση [1016]. Από τα παραπάνω, γίνεται εμφανές ότι πολλές HDAC αποτελούν στόχο των miRNA στον καρκίνο, επομένως κρίνεται ιδιαίτερα σημαντικός ο ρόλος των HDACI.

Τα μακρά μη κωδικοποιούντα RNA (Long non-coding RNA lncRNA) είναι ρυθμιστικά στοιχεία τόσο σε μεταγραφικό όσο και σε μέτα-μεταγραφικό επίπεδο.

Παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών όπως η ρύθμιση του εναλλακτικού ματίσματος, των μεταγραφικών προτύπων και της πρωτεϊνικής δραστηριότητας. Έχουν επίσης επιγενετικές επιδράσεις και είναι πρόδρομοι των miRNA. Ένας από τους μηχανισμούς ρύθμισης της μεταγραφής από lncRNA είναι η πρόσληψη συμπλοκών τροποποίησης ιστονών (Polycomb Repressive Complex, PRC) για στόχευση επίτοπων που είναι ενεργοποιημένοι ή σιωπηλοί [1017].

Γενικά, ύστερα από θεραπεία με HDACI, το lncRNA και τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, φαίνεται ότι εκφράζονται διαφορετικά [1018]. Καθότι το lncRNA είναι άφθονο εντός του γονιδιώματος και έχει έναν ξεχωριστό βιολογικό ρόλο, είναι εύλογο ότι οι μεταλλάξεις στις αλληλουχίες του, θα έχουν κλινικές επιπτώσεις [1017] στις οποίες φαίνεται υποσχόμενη η δράση των HDACI.

4.7.5 Επίδραση σε κυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης

Ένας άλλος μηχανισμός αντικαρκινικής δράσης των HDACI είναι η ρύθμιση της κυτταρικής διαφοροποίησης μέσω ενεργοποίησης ορισμένων πρωτεϊνικών κινασών, όπως της ERK (Extracellular signal-regulated kinase). Οι πρωτεϊνικές κινάσες γενικώς, συμμετέχουν σε βιολογικές διεργασίες όπως η κυτταρική ανάπτυξη, η διαφοροποίηση και η απόπτωση. Οι HDACI αυξάνουν τη σύνδεση στο DNA και την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 μέσω ενεργοποίησης της ERK, καθώς και την έκφραση του c-Jun. Αν και δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος ο τρόπος που οι HDACI επηρεάζουν την ERK, εικάζεται ότι είτε προάγουν τη σύνθεση ενός ακόμη άγνωστου παράγοντα που ενεργοποιεί την οδό σηματοδότησης ERK ή ενσωματώνεται σε μόρια φωσφολιπιδίων που ενεργοποιούν την ERK μέσω της οδού PI3K/JAK2/MEK-1 ή της Ras μέσω των μονοπατιών της τυροσινικής κινάσης [1019-1023].

Οι HDACI επηρεάζουν επίσης το μονοπάτι σηματοδότησης Wnt που παίζει σημαντικό ρόλο σε ποικίλους καρκίνους, μέσω αποφωσφορυλίωσης της GSK-3β (Glycogen Synthase Kinase-3beta) [1024-1026].

Επιπλέον, η ακετυλίωση της p53, η οποία μπορεί να προκληθεί από τους HDACI, περιορίζει τη δημιουργία ενός συμπλόκου p53/Mdm2 E3 λιγάσης, ενώ η υποακετυλίωσή της αυξάνει την αποδόμησή της από το πρωτεάσωμα και αναστέλλει τις διαμεσολαβούμενες από την p53 διακοπή του κυτταρικού κύκλου και απόπτωση [1027].

Τέλος, η ακετυλίωση που προκαλείται από τους HDACI, επηρεάζει την έκφραση πρωτεασωματικών ενζύμων που σχετίζονται με την ουμπικουιτίνη (E2 ubiquitin conjugase Ubc8, E3 ubiquitin ligase RLIM) [1028].

4.7.6 Αντι-αγγειογενετική δράση

Οι HDACI μπορούν να επηρεάσουν την αγγειογένεση από τον καρκίνου και να αναστείλουν τις οδούς απόκρισης στο κυτταρικό stress, παρεμποδίζοντας έτσι τη διαδικασία των μεταστάσεων. Η αντι-αγγειογενετική τους δράση συνδέεται με την καταστολή προ-αγγειογενετικών γονιδίων, όπως είναι τα γονίδια του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) και η ενδοθηλιακή συνθετάση του νιτρικού οξειδίου (Endothelial Nitric Oxide Synthase, eNOS) [1029,1030]. Η έκφραση και η ενζυμική δραστηριότητα του eNOS επηρεάζονται από τη φωσφορυλίωση του που καταλύεται από Akt και από πολλά αιμοδυναμικά και ορμονικά ερεθίσματα [1031, 1032]. Φαίνεται ότι οι HDACI μειώνουν όχι μόνο τη σταθερότητα του eNOS mRNA [1033] αλλά και τα επίπεδα έκφρασης των υποδοχέων VEGF [1030].

Επιπλέον, οι HDACI προκαλούν υπερακετυλίωση του προ-αγγειογενετικού μεταγραφικού παράγοντα HIF-1α (Hypoxia-Inducible Factor-1 alpha), καταστέλλοντάς τον [472, 1030, 1034, 1035]. Επιπλέον, αναστέλλουν την αγγειογένεση επάγοντας την παραγωγή των αντι-αγγειογενετικών πρωτεϊνών Thrombospondin-1 και Activin A, μέσω καταστολής προ-αγγειογενετικών παραγόντων όπως ο bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) [1036]. Επίσης επάγουν την έκφραση των γονιδίων *TSP1* (Thrombospondin-1), *TIMP* (Tissue inhibitor of metalloproteinase) και *TGFβ* (Transforming growth factor β), ενώ καταστέλλουν την έκφραση του *IGF1* (Insulin-like Growth Factor 1) και του *VEGF* [1037].

Τέλος, κάποιοι HDACI περιορίζουν το σχηματισμό τριχοειδών σωλήνων από HUVEC (Human Vascular Endothelial Cells) [1038].

4.7.7 Αναστολή των μεταστάσεων

Σε καρκινικά κύτταρα, οι HDACI αυξάνουν την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που καταστέλλουν τη μετάσταση όπως οι Kangai 1, Ras, RhoB, RECK και TIMP-1 και να καταστείλουν την έκφραση αυτών που κωδικοποιούν πρωτεΐνες οι οποίες προάγουν τη μετάσταση όπως οι MMP και Integrin α5 [1039]. Με τον τρόπο αυτό οι HDACI εκδηλώνουν την αντι-μεταστατική τους δράση.

4.7.8 Τροποποίηση της ανοσολογικής απόκρισης

Οι HDAC φαίνεται πως επιδρούν στο μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility Complex, MHC) μεταβάλλοντας την έκφρασή αυτού καθώς και των συνδιεγερτικών μορίων [698, 1040-1042]. Η επακόλουθη αύξηση της ανοσογονικότητας εντείνει την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων κυττάρων που σχετίζεται με την οδό AKT/mTOR/p65 και με μεταγραφικούς παράγοντες όπως Bcl-6,

Eomes, HIF-1 και T-bet [1043-1045]. Η HDAC-6 μάλιστα, εμφανίζει ιδιαίτερη επίδραση στα T κύτταρα, γεγονός που την καθιστά θεραπευτικό στόχο [1046].

Επιπλέον, οι HDACI επηρεάζουν διαφορετικούς πληθυσμούς λεμφοκυττάρων. Για παράδειγμα, βελτιώνουν τον αριθμό και τη λειτουργία των αναστολέων Treg και ενισχύουν τις λειτουργίες των NK (Natural Killers) και των CD8 T κυττάρων [1047].

Τέλος οι HDACI φαίνεται ότι επηρεάζουν τη ρύθμιση γονιδίων που σχετίζονται με HLA [1040].

4.7.9 Επίδραση στα βλαστικά κύτταρα

Οι επιγενετικές αλλαγές είναι σημαντικές για τη μετατροπή των σωματικών κυττάρων σε πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα. Ως εκ τούτου, αρκετοί αναστολείς των επιγενετικών τροποποιητικών ενζύμων συμπεριλαμβανομένου των HDAC, είναι σε θέση να επαναπρογραμματίσουν τη μετατροπή αυτή τροποποιώντας τη δομή της χρωματίνης, καθιστώντας την πιο προσβάσιμη στους μεταγραφικούς παράγοντες [964, 1048]. Αν και ακόμα δεν είναι σαφές, φαίνεται πως οι HDACI περιορίζουν την έκφραση του CD133, που είναι δείκτης των καρκινικών βλαστικών κυττάρων [452, 1049]. Καθότι υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, χρειάζονται επιπλέον μελέτες.

4.7.10 Λοιπές επιδράσεις

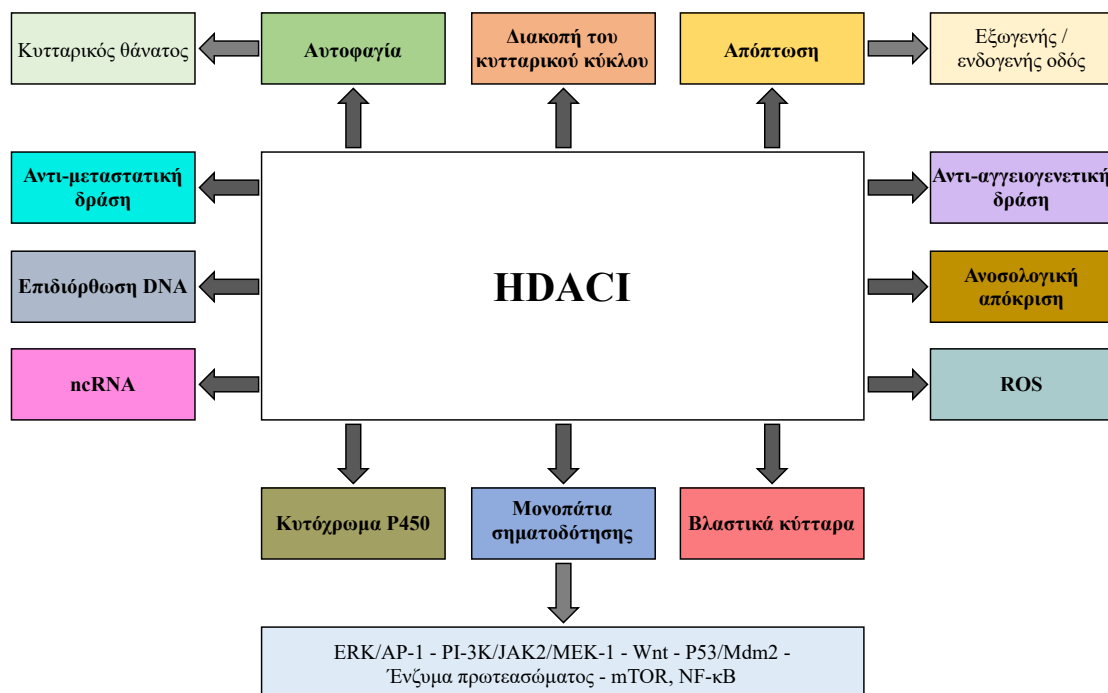
Αρκετοί HDACI μεταβολίζονται από το κυτόχρωμα P450 (CYP) και επηρεάζουν επίσης την έκφραση και τη δράση των ενζύμων του CYP. Δεδομένου ότι τα ένζυμα του CYP εμπλέκονται στη βιοσύνθεση και το μεταβολισμό πολλών ενδογενών φυσιολογικών δραστικών ουσιών και φαρμάκων, εικάζεται ότι αυτός ο μηχανισμός μπορεί να διαμεσολαβεί τη δράση ορισμένων αντικαρκινικών φαρμάκων, όπως οι

HDAC1. Άλλωστε έχει βρεθεί ότι οι HDAC1 μεταβάλλουν την έκφραση των ενζύμων του CYP [1050, 1051].

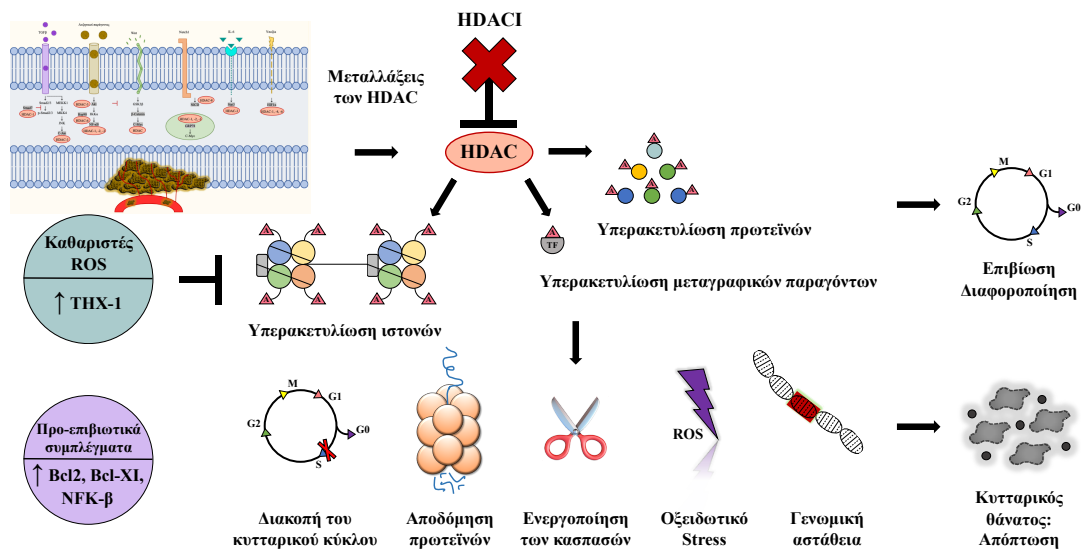
Τέλος οι HDAC1 εμπλέκονται στην επιδιόρθωση του DNA. Αρκετές πρωτεΐνες σημαντικές για την επιδιόρθωση του DNA, όπως οι Ku70, FEN1 (Flap Structure-specific Endonuclease 1), ATM (Ataxia Teleangiectasia Mutated), WRN (Werner syndrome), MDC1 (Mediator of DNA Damage Checkpoint 1) και DNA PK (DNA-Dependent Protein Kinases) εξαρτώνται από την ακετυλίωση στην οποία επιδρούν οι HDAC1 αυξάνοντάς την [1052]. Άλλες τέτοιες πρωτεΐνες είναι BBAP (BAL-Associated Protein) και η α-τουμπουλίνη [452, 513, 1053].

Οι ανωτέρω μηχανισμοί συνοψίζονται στο διάγραμμα (Διάγραμμα 1) και την εικόνα (Εικόνα 38) που ακολουθούν.

Διάγραμμα 1: Μηχανισμός αντικαρκινικής δράσης των HDAC1.



Εικόνα 38: Μηχανισμός αντικαρκινικής δράσης των HDACi.



4.8 HDACi και καρκίνος του μαστού

Όπως αναφέρθηκε, οι HDACi εκδηλώνουν την αντικαρκινική τους δράση με διάφορους μηχανισμούς. Στο εδάφιο αυτό θα εστιάσουμε στο όφελος από τους HDACi και τους μηχανισμούς αυτούς στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού.

4.8.1 Trichostatin A

Η Trichostatin A (TSA) προκαλεί αναστολή της εξαρτώμενης από ERα μεταγραφής [1054], αναστολή της εισβολής και της μετανάστευσης [1055] στα κύτταρα MCF-7 και επαγωγή της απόπτωσης στα κύτταρα MCF-7TN-R του καρκίνου μαστού [1056]. Επιπλέον, η TSA προκάλεσε καταστολή της κυκλίνης D1 (που εξαρτάται από την ουμπικουΐνη) μέσω διακοπής του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1-S. Παρόλο που η TSA επηρέασε την καταστολή της κυκλίνης D1 σε Era-αρνητικά κύτταρα καρκίνου μαστού (MDA-MB231), δε φάνηκε να επηρεάζει και τη μεταγραφή της κυκλίνης D1 [1054].

Επιπλέον, η TSA ευαισθητοποιεί τον τριπλά αρνητικά καρκίνο του μαστού στη δράση της ταμοξιφαίνης, τροποποιώντας τη μεταγραφική δραστηριότητα του ERb σε ERa-αρνητικά κύτταρα [1057]. Μια μελέτη αναφέρει ότι ο συνδυασμός TSA και 5-aza-20-deoxycytidine (αναστολέας DNMT), μπορεί να ενισχύσει την ευαισθησία στην ταμοξιφαίνη και να επανεκφράσει τους υποδοχείς ERa στα κύτταρα MDA-MB-231 του τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού, κάνοντας ακόμα και τα ERa-αρνητικά κύτταρα να ανταποκρίνονται στην ενδοκρινική θεραπεία [1058]. Αντίστοιχα είναι τα αποτελέσματα από το συνδυασμό της TSA με Genistein [1059].

Άλλη μελέτη απέδειξε ότι η συγχρόνηση TSA και BEZ235 (αναστολέας σηματοδοτικής PI3K/mTOR/AKT) μπορεί να εμφανίσει σημαντικές αντικαρκινικές δράσεις και να προκαλέσει απόπτωση στα κύτταρα MCF-7, T47D και MDA-MB-231 καρκίνου μαστού. Στην ίδια μελέτη αναφέρθηκε επίσης, μείωση της ανάπτυξης των όγκων MDA-MB-231 σε μοντέλα ξενομοσχεύματος ποντικού με συνθετική αγωγή TSA και BEZ235 [1060].

Αλλά και η συγχρόνηση με Doxorubicin επιτείνει την ιδιότητα της TSA να αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στις κυτταρικές σειρές HCC1806 και HCC38 τριπλά αρνητικού καρκίνου μαστού [1061].

Τέλος, βρέθηκε ότι ο συνδυασμός TSA και CG-1521 (HDACI με βάση το υδροξαμικό οξύ) μπορεί να προκαλέσει απόπτωση και διακοπή του κυτταρικού κύκλου στις φλεγμονώδεις κυτταρικές σειρές καρκίνου μαστού, SUM149PT και SUM190PT. Μάλιστα, η TSA και η CG-1521 προκάλεσαν αύξηση των επιπέδων της ακετυλιωμένης α-τουμπουλίνης και διαφορετικά αποτελέσματα, με τη CG-1521 να εμποδίζει το σχηματισμό μιτωτικών ατράκτων και τη TSA να αυξάνει το μέγεθος των SUM149PT κυττάρων. Στα κύτταρα SUM190PT, η TSA αύξησε την ακετυλίωση της

τουμπουλίνης, ενώ η CG-1521 δεν προκάλεσε αύξηση στα επίπεδα της ακετυλιωμένης α-τουμπουλίνης χωρίς μορφολογικές αλλαγές των κυττάρων [1062].

4.8.2 Vorinostat

Η Vorinostat (SAHA) αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (MDA-MB-231) του τριπλά αρνητικού καρκίνου μαστού, ρυθμίζοντας την έκφραση του καταστολέα miR-200c μέσω στόχευσης του CRKL (CRK-Like) πρωτο-ογκογονιδίου. Τα παραπάνω ευρήματα υποδεικνύουν ότι η στόχευση του άξονα σηματοδότησης HDAC/miR-200c/CRKL από HDACI, αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την αναστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης και θεραπευτικός στόχος για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού με HDACI [1013].

Το SAHA ανέστειλε την ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό και τη διηθητική ικανότητα των κυττάρων SUM190 και SUM149 του φλεγμονώδους καρκίνου του μαστού και προκάλεσε μετατόπιση της E-cadherin από τη μεμβράνη του πλάσματος στο κυτταρόπλασμα [1063].

Επιπρόσθετα, το SAHA αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ανθεκτικών στην ταμοξιφαίνη κυττάρων καρκίνου μαστού TAMR/MCF-7, μέσω απόπτωσης και αυτοφαγίας [1064, 1065]. Ο αυτοφαγικός κυτταρικός θάνατος στα κύτταρα TAMR/MCF-7 που εκτέθηκαν σε SAHA επιβεβαιώθηκε από τους σχετικούς δείκτες Beclin-1 και LC3-II και τις αντίστοιχες μορφολογικές αλλαγές. Το SAHA προκάλεσε επίσης μείωση της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων σε επίμυες με όγκους TAMR/MCF-7 [1065].

Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (1,25 και 2,5 mM) το SAHA προκαλεί τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου κυττάρων MCF-7 στη φάση G1, ενώ σε υψηλότερες

συγκεντρώσεις (>5 mM) η διακοπή του κυτταρικού κύκλου ήταν κυρίως φάση G2-M. Στα κύτταρα αυτά παρατηρήθηκε και αυξημένη ακετυλίωση της ιστόνης H3 και αυξημένη κυτταροτοξική και αποπτωτική δράση. Επιπλέον το SAHA προκαλεί διαφοροποίηση των κυττάρων SKBR-3 και MDA-MB-468, ανεξαρτήτως της κατάστασης ER [444].

Επιπρόσθετα, επιφέρει υπερακετυλίωση της πρωτεΐνης θερμικού σοκ HSP90, περιορίζει τη δέσμευσή της από τους ERα και μειώνει την έκφραση των ERα σε ERα-θετικά κύτταρα καρκίνου μαστού. Περαιτέρω, αναστέλλει την έκφραση των παραγόντων απόκρισης στα οιστρογόνα, που ενεργοποιήθηκαν από τη 17β-Estradiol, περιορίζει την έκφραση των πρωτεϊνών HSP90 και ευαισθητοποιεί στην ταμοξιφαίνη τα κύτταρα με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς [449].

Το SAHA προσφέρει θεραπευτικό όφελος και έναντι των μεταστάσεων του καρκίνου του μαστού [1066] όπως σε εγκέφαλο [1067, 1068] και πνεύμονες [1069].

Όμως και ο συνδυασμός του SAHA με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες παρουσιάζει υποσχόμενα αποτελέσματα. Για παράδειγμα, η συγχορήγηση με Σιμβαστατίνη επάγει την απόπτωση και αναστέλλει την προπυλίωση της Rab7 σε κύτταρα τριπλά αρνητικού καρκίνου μαστού [837].

Σε μια μελέτη φάνηκε ότι ο συνδυασμός του SAHA με Docetaxel ή Trastuzumab προκαλεί τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και την επαγωγή της απόπτωσης στα κύτταρα SKBR-3 και BT-474 καρκίνου μαστού, μέσω εξασθένησης της σηματοδότησης AKT. Η ίδια μελέτη έδειξε ότι το SAHA προκάλεσε αύξηση της ρύθμισης των *p21* (WAF1) και *p27* (KIP1), επαγωγή της απόπτωσης και αύξηση της ακετυλίωσης των ιστονών H3 και H4 στα κύτταρα SKBR-3 και MCF-7. Παρατηρήθηκε επίσης αυξημένη ακετυλίωση της HSP90 και μειωμένα επίπεδα p-AKT και ERK1/2 σε κύτταρα SKBR-3 και MCF-7 BC που εξετέθησαν στο SAHA [1070].

Άλλοι υποσχόμενοι συνδυασμοί περιλαμβάνουν Epirubicin [1071], Doxorubicin και Cyclophosphamide [838], Ixabepilone [836], Paclitaxel και Bevacizumab [839] ή Trastuzumab [1072].

Όμως και ο συνδυασμός με ιονίζουσα ακτινοβολία παρέχει ενθαρρυντικά αποτελέσματα καθώς προκαλεί επαγωγή της απόπτωσης και αναστέλλει την κυτταρική μετανάστευση και εισβολή στα κύτταρα MCF-7, MDA-MB-231 και 4T1 καρκίνου μαστού και μάλιστα χωρίς ανιχνεύσιμη τοξικότητα [1069]. Επιπλέον, ο ανωτέρω συνδυασμός προστατεύει από τις μεταστάσεις [1067, 1069].

Ανοσοδιαμόρφωση με ενίσχυση της διαμεσολαβούμενης από T-κύτταρα λύσης κυττάρων τριπλά αρνητικού καρκίνου μαστού (MDA-MB-231) έχει αναφερθεί μετά από θεραπεία με SAHA. [1073]. Μια άλλη μελέτη αναφέρει ότι το SAHA μπορεί να ευαισθητοποιήσει τα κύτταρα καρκίνου μαστού στην Epirubicin (αναστολέας τοποϊσομεράσης II) και να προκαλέσει αρχικά υπερακετυλίωση των ιστονών και στη συνέχεια αποσυμπύκνωση της χρωματίνης και συσσώρευση Epirubicin στον πυρήνα με επακόλουθη βλάβη του DNA σε κύτταρα καρκίνου μαστού [1071]. Επιπλέον παρατηρείται αυξημένη έκφραση της PD-L1 στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού ύστερα από θεραπεία με SAHA. Η αυξημένη έκφραση της PD-L1 σχετίζεται με περισσότερα λεμφοκύτταρα που διεισδύουν στον όγκο, τα οποία συνδέονται με ισχυρότερη ανοσοαπόκριση και καλύτερη επιβίωση [1074].

Τέλος ο συνδυασμός του SAHA με Letrozole (αναστολέας αρωματάσης) επιφέρει αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων MCF-7, επαγωγή της απόπτωσης και αναστολή της διαφοροποίησης των μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερειακού αίματος (Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC) σε οστεοκλάστες, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτός ο συνδυασμός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την

ελαχιστοποίηση του κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης σε ασθενείς με καρκίνο μαστού [1075].

4.8.3 Panobinostat

Προκλινικά στοιχεία δείχνουν ότι η Panobinostat μπορεί να αυξήσει σημαντικά την ακετυλίωση της ιστόνης προκαλώντας διακοπή του κυτταρικού κύκλου και απόπτωση στα κύτταρα καρκίνου του μαστού [271]. Συγκεκριμένα, αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στις κυτταρικές σειρές τριπλά αρνητικού καρκίνου μαστού MDA-MB157, MDA-MB-231, MDA-MB-468 και BT-549. Περαιτέρω, η διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M και η επαγωγή της απόπτωσης είναι εμφανής σε κύτταρα καρκίνου μαστού μετά από θεραπεία με Panobinostat. Η ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης έδειξε ότι η Panobinostat μπορεί να ρυθμίσει τα ογκοκατασταλτικά γονίδια στα κύτταρα καρκίνου μαστού MDA-MB-231 (*CDHI*) και MDA-MB-468 (*CDKN1A*, *SPRR1B* και *THBS1*). Επίσης, η Panobinostat αναστέλλει *in vivo* τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων MDAMB-231 και BT-549 και το σχηματισμό όγκων [935]. Στα κύτταρα MDA-MB-231 αναστέλλει και τη μετανάστευση και τη διείσδυση παρεμποδίζοντας έτσι τις μεταστάσεις [273, 936, 937]. Τις μεταστάσεις όμως αναστέλλει και σε άλλους υπότυπους - πέραν του τριπλά αρνητικού [273]. Επίσης στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού, η Panobinostat προκαλεί καταστολή του μεσεγχυματικού φαινοτύπου σε Claudin-low υπότυπους [934]. Τέλος, μπορεί να εκφράσει εκ νέου το σιωπηλό γονίδιο *ERa*, αποκαθιστώντας τις πρωτεΐνες που σχετίζονται με ετεροχρωματίνη χωρίς υπερμεθυλίωση του προαγωγέα. Μάλιστα, η αποκατάσταση του *ERa* προκαλεί ευαισθησία στην ταμοξιφαίνη [1076].

Η συνδυαστική θεραπεία με Panobinostat και Letrozole, φαίνεται να έχει ενθαρρυντικά αποτελέσματα [943]. Ο συνδυασμός αυτός αναστέλλει την έκφραση της αρωματάσης σε ορμονοευαίσθητα κύτταρα καρκίνου μαστού, υποδεικνύοντας ότι ο συνδυασμός αυτός αποτελεί θεραπευτική στρατηγική για αρωματάση θετικούς όγκους μαστού με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς [1077]. Υποσχόμενη όμως είναι και η συγχορήγηση της Panobinostat και με Trastuzumab σε όγκους HER2+ επιδεικνύοντας αντικαρκινική δράση που επάγεται από τα κύτταρα NK (Natural Killers) [1078].

4.8.4 Belinostat

Η Belinostat περιορίζει την κυτταρική ανάπτυξη και επάγει την απόπτωση στις κυτταρικές σειρές MDA-MB-231, SKBR-3 και MCF-7 καρκίνου μαστού, με εξαρτώμενο από κασπάσες τρόπο. Η διακοπή του κυτταρικού κύκλου (στις φάσεις G1 και S) σε κύτταρα καρκίνου μαστού μετά από αγωγή με Belinostat επιβεβαιώθηκε με αξιολόγηση της έκφρασης των πρωτεϊνών p21, CDK4, CDK6 και CDK2. Η Belinostat προκαλεί επίσης αυξημένη ακετυλίωση των ιστονών στις θέσεις H3K18, H3K56 και H4K16 στα κύτταρα MDA-MB-231 και SKBR-3 [1079]. Η Belinostat στα κύτταρα MCF-7 αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση επιδρώντας στις οδούς Wnt/ β -catenin and PKC [274] και στα επίπεδα ακετυλιωμένων τουμπουλινών [1080].

Επιπρόσθετα, υποσχόμενα αποτελέσματα έχει και ο συνδυασμός της Belinostat με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες. Για παράδειγμα, με 17-AAG (αναστολέας της HSP90) δρα συνεργικά αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων MDA-MB-231 του τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού [918]. Αλλά και ο συνδυασμός με Olaparib (αναστολέας PARP) προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επαγωγή της απόπτωσης σε κυτταρικές σειρές τριπλά αρνητικού καρκίνου

του μαστού [1081]. Ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα και από τη συγχορήγηση με 13-cis-retinoic acid [1082].

4.8.5 Βαλπροϊκό οξύ

Το Βαλπροϊκό οξύ (Valproic acid, VPA) προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου, αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση στον καρκίνο του μαστού [270, 545-547]. Μάλιστα, φαίνεται ότι καταστέλλει την ανάπτυξη των ER-θετικών καρκινικών κυττάρων σε χαμηλότερη δόση από εκείνη που απαιτείται για τα ER-αρνητικά [1083]. Επιπλέον, η έκταση της καταστολής της κυτταρικής ανάπτυξης από το Βαλπροϊκό οξύ δεν σχετίζεται με την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στα οιστρογόνα [1084]. Το Βαλπροϊκό οξύ αναστέλλει την ανάπτυξη των HER2+ κυττάρων BC (SKBR-3) αυξάνοντας την έκφραση του p21 WAF1. Επιπλέον επάγει την απόπτωση στα κύτταρα SKBR-3 μέσω αυξημένης ακετυλίωσης της ιστόνης H3 και διακοπής της δραστηριότητας της HSP90 μέσω υπερακετυλίωσης της HSP70 [545]. Επιπρόσθετα, επάγει την απόπτωση στα κύτταρα A549 καρκίνου μαστού και καταστέλλει την έκφραση του ογκογονιδίου *H19* αναστέλλοντας τη δραστηριότητα της HDAC-1 και μεταβάλλοντας την κατάσταση μεθυλίωσης της H19 μέσω αυξημένης έκφρασης του ενζύμου DNA μεθυλτρανσφεράση 1 (DNMT1) [1085]. Αυξημένη ακετυλίωση της ιστόνης H3 παρατηρείται και σε βλαστικά κύτταρα καρκίνου μαστού στο οποία το Βαλπροϊκό οξύ αναστέλλει την ανάπτυξη και επάγει την απόπτωση [547].

Υποσχόμενα είναι τα αποτελέσματα και από τη συγχορήγηση του Βαλπροϊκού οξέως με άλλους παράγοντες έναντι του καρκίνου του μαστού. Έτσι, σε συνδυασμό με Melatonin αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων [558] ή με Capecitabine περιορίζει τις μεταστάσεις [559]. Επιπλέον, ο συνδυασμός με υδροξουρία (αναστολέας ριβονουκλεοτιδικής ρεντουκτάσης) αναστέλλει την

ανάπτυξη των κυττάρων MCF-7 παρεμποδίζοντας τη δράση της της πρωτεΐνης RPA2 [1086] ενώ με 5-αζα2'-δεοξυκυτιδίνη (αναστολέας μεθυλτρανσφεράσης) και all-trans ρετινοϊκό οξύ (ATRA) επανενεργοποιεί τη μεταγραφή του γονιδίου *RARB2* σε κύτταρα καρκίνου μαστού [1087]. Τέλος, αυξημένη κυτταροτοξική δράση στον καρκίνο του μαστού φαίνεται να έχει ο συνδυασμός του Βαλπροϊκού οξέως με Polyamidoamine (G4 PAMAM) [1088] και Trastuzumab [1089].

Τέλος το Βαλπροϊκό οξύ προκαλεί ραδιοευαισθητοποίηση και προκαλεί δυσλειτουργία στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA μέσω των οδών BRCA1-Rad51 και Ku80 σε κύτταρα MCF-7 καρκίνου μαστού [1090].

4.8.6 Βουτυρικό νάτριο

Το Βουτυρικό νάτριο (NAB) στον καρκίνο του μαστού προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου, αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση [270, 572, 573]. Επάγει την απόπτωση μέσω οξειδωτικού stress στις κυτταρικές σειρές MCF-7 και MDA-MB-468 [573]. Άλλοι μηχανισμοί επαγωγής της απόπτωσης περιλαμβάνουν την αλληλεπίδραση του PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) με το P21waf1/cip1 και τη συνεργική δράση του Βουτυρικού νατρίου με το TRAIL (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand) και το αντι-Fas αντίσωμα. Επιπλέον, το Βουτυρικό νάτριο επάγει την απόπτωση σε κύτταρα MCF-BC και με τρόπο ανεξάρτητο από το p53, διαμορφώνοντας τη σηματοδότηση Fas [271].

Συγχορηγούμενο δε με Sodium propionate αναστέλλει τον κυτταρικό κύκλο και επάγει την απόπτωση [572] ενώ με 5-Aza-2'-deoxycytidine προκαλεί ραδιοευαισθητοποίηση σε κύτταρα MCF-7 [574].

4.8.7 Romidepsin

Η Romidepsin προκαλεί αυξημένη ακετυλίωση της ιστόνης H3, αυξημένη έκφραση του p21WAF1 και επαγωγή της απόπτωσης σε κύτταρα SUM149 φλεγμονώδους καρκίνου μαστού. Ο δε συνδυασμός της με Paclitaxel ανέστειλε σημαντικά την ανάπτυξη πρωτοπαθών και μεταστατικών όγκων [877].

Επιπλέον, η Romidepsin και το ογκογονίδιο H-Ras ενεργοποιούν συνεργικά την οδό ERK, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των Nox-1 και ROS, οδηγώντας σε απόπτωση σε H-Ras MCF-10A κύτταρα καρκίνου μαστού [1091]. Περαιτέρω, η Romidepsin αναστέλλει την εξαρτώμενη από οιστρογόνα ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του μαστού παύοντας την αντίστασή τους στην Ταμοξιφαίνη [450]. Η συνδυαστική θεραπεία Romidepsin και Χλωροκίνης μειώνει σημαντικά την ικανότητα σχηματισμού καρκινικών αποικιών και προκαλεί την απόπτωση στα βλαστικά κύτταρα καρκίνου μαστού. Επιπρόσθετα, επιφέρει σημαντική μείωση του πληθυσμού βλαστικών κυττάρων CD44+/CD24 *in vivo* [1092]. Ο συνδυασμός της με Cisplatin ενισχύει το μονοπάτι Ras-ERK-Nox, αυξάνει τα επίπεδα ROS και οδηγεί σε θάνατο και μείωση της αντίστασης στη θεραπεία σε κύτταρα MCF-10A-Ras [628]. Ο τριπλός συνδυασμός Romidepsin - Cisplatin - Gemcitabine με τρόπο εξαρτώμενο από τις ROS επιφέρει κυτταρικό θάνατο στις σειρές MDA-MB-231, MDA-MB-468, MCF-7, MCF10A και MCF-10A-Ras καρκίνου μαστού [629]. Τέλος, αντικείμενο τρέχουσας έρευνας αποτελεί ο συνδυασμός με Cisplatin και Nivolumab σε ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο μαστού [271].

4.8.8 Entinostat

Στον καρκίνο του μαστού η Entinostat (MS-275) αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, επάγει την απόπτωση και προλαμβάνει τις μεταστάσεις [239, 270, 662-664]. Στον τριπλά αρνητικό καρκίνο βρέθηκε ότι περιορίζει σημαντικά τα κύτταρα

TIC (Tumor-Initiating Cells) τα οποία σχετίζονται με κακή πρόγνωση της νόσου. Επιπρόσθετα, ελαττώνει το CD44(high)/CD24(low) πληθυσμό κυττάρων, τη δραστικότητα της ALDH1 και την έκφραση πρωτεϊνών και mRNA που σχετίζονται με τα TIC, όπως είναι τα Bmi-1, Nanog και Oct-4 [663]. Η σχετιζόμενη με τη FOXO3 έκφραση της Bim1 επάγει την απόπτωση [669].

Επιπλέον, η Entinostat μπορεί να αντιστρέψει την Επιθηλιακή-Μεσεγγυματική μετάβαση (Epithelial to Mesenchymal Transition, EMT), καταστέλλοντας τη δέσμευση των μεταγραφικών παραγόντων Snail and Twist στον προαγωγό της E-cadherin σε κύτταρα τριπλά αρνητικού καρκίνου μαστού. Επιπλέον, η Entinostat καταστέλλει τη μετανάστευση των κυττάρων και την παραγωγή μικροσωματιδίων με βάση την τουμπουλίνη, γεγονός που υποδηλώνει την αναστολή της EMT και την καταστολή της μετάστασης [1093].

Όμως και συγχρηγούμενη με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες η Entinostat επιδεικνύει ενθαρρυντικά αποτελέσματα για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Έτσι, η συγχρηγήση με ATRA και Doxorubicin στον τριπλά αρνητικό καρκίνο επιφέρει αναστολή της ογκογένεσης και αποκατάσταση της έκφρασης της RAR-β, ενώ μόνο με Doxorubicin αναστέλλει την τοποϊσομεράση II-β [1094]. Ο συνδυασμός μόνο με ATRA αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων TIC σε ανθεκτικούς στην αρωματάση όγκους μαστού, μέσω στόχευσης της οδού HER2 [1095]. Η συγχρηγήση με Lapatinib (αναστολέας τυροσινικής κινάσης) ενδείκνυται σε HER2+ καρκίνο μαστού [669]. Άλλοι υποσχόμενοι συνδυασμοί περιλαμβάνουν Pentoxifylline [666], η Doxorubicin [667], η Pimasertib [668], η Trastuzumab με ή χωρίς Lapatinib [670, 671] και η ενδοκρινική θεραπεία [672-674].

Στο σημείο αυτό, θα πρέπει να αναφερθεί και ο αναστολέας SK7041. Πρόκειται για ένα υβριδικό μόριο που συντίθεται από Trichostatin A (TSA) και Entinostat. Το

SK7041 φάνηκε να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και να επάγει την απόπτωση στα κύτταρα MDA-MB-231, MCF-7 και SKBR-3 καρκίνου μαστού. Προκαλεί ακετυλίωση των ιστονών H3 και H4, προκαλώντας διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2-M και G1 στα κύτταρα MDA-MB-231 [1096].

4.8.9 Mocetinostat

Η Mocetinostat φαίνεται να εκδηλώνει την αντινεοπλασματική της δράση στους basal-like καρκίνους μαστού στους οποίους η HDAC-2 υπερεκφράζεται. Συγκεκριμένα η Mocetinostat προκάλεσε διακοπή του κυτταρικού κύκλου κυρίως στη φάση G2/M στα κύτταρα SUM149 και επαγωγή της απόπτωσης στα κύτταρα SUM149 και HCC1937 [690].

Η Mocetinostat στοχεύει τις HDAC-1 και -7 σε βλαστικά κύτταρα καρκίνου μαστού στα οποία αυτές υπερεκφράζονται σε σχέση με τα μη βλαστικά. Η στόχευση αυτή έχει αντινεοπλασματική δράση [1097].

Ο συνδυασμός Mocetinostat και JQ1 (αναστολέας BET) αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων MDA-MB-231 τριπλά αρνητικού καρκίνου μαστού και ρυθμίζει τα γονίδια *USP17* (Ubiquitin-Specific Protease superfamily) υποδηλώνοντας την ισχυρή ανασταλτική επίδρασή του στην οδό σηματοδότησης Ras/MAPK. Τέλος, η αναστολή της απακετυλίωσης των ιστονών H3 και H4 από τη Mocetinostat παρατηρήθηκε στις κυτταρικές σειρές MDA-MB-231, BT-549, MCF-7 και T47D - γεγονός που ενισχύθηκε από το συνδυασμό με JQ1 [1098].

4.8.10 Chidamide

Η Chidamide που κυκλοφορεί από το 2014 από την εταιρεία Chipscreen Biosciences με την εμπορική ονομασία Epidaza για τη θεραπεία του T κυτταρικού

λεμφώματος, είναι ο πρώτος εγκεκριμένος HDACI για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Συγκεκριμένα, πρόσφατα στις 29 Νοεμβρίου του 2019 έλαβε τη σχετική έγκριση από τον Κινέζικο Οργανισμό Διοίκησης Ιατρικών Προϊόντων (National Medical Products Administration, NMPA). Έτσι, ο συνδυασμός της Chidamide με Exemestane, ενδείκνυται για μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με καρκίνο μαστού με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς, HER-2 αρνητικό προχωρημένο με προηγηθείσα ενδοκρινική θεραπεία, επί υποτροπής ή προόδου της νόσου [384, 715-717].

Στον τριπλά αρνητικό καρκίνο, η Chidamide αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση καρκινικών κυττάρων. Επίσης, αυξάνει την έκφραση του microRNA (miR)-33a-5p μέσω του RT-qPCR. Το miR-33a-5p συνδέεται στην 3'-αμετάφραστη περιοχή της LDHA (Lactate Dehydrogenase A) περιορίζοντας την έκφρασή της. Επιπρόσθετα, η Chidamide καταπιέζει την έκφραση της LDHA και περιορίζει τη γλυκόλυση στα κύτταρα. Συλλογικά, τα αποτελέσματα αυτά εισηγούνται τον υποσχόμενο θεραπευτικό ρόλο της Chidamide στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού [718].

4.8.11 Suberoylbis-hydroxamic acid

Το Suberoylbis-hydroxamic acid (SBHA) είναι ένας HDACI που εμφανίζει παρόμοια δομή με το SAHA και το TSA και ανήκει στα υδροξαμικά οξέα. Στον καρκίνο του μαστού φαίνεται πως αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση. Συγκεκριμένα, το SBHA στα κύτταρα MCF-7 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό, προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G0-G1 και επιφέρει αποπτωτικό θάνατο. Επιπλέον, αυξήθηκαν τα επίπεδα των πρωτεϊνών p21 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1, WAF1) και p27 (kinesin-like protein, KIP1), όπως και τα επίπεδα έκφρασης του ρυθμιστή της απόπτωσης BAX (BCL-2-like protein

4). Αντίθετα, τα επίπεδα έκφρασης του ρυθμιστή της απόπτωσης BCL2 (B-cell lymphoma) μειώθηκαν [1099].

4.8.12 Octanedioic acid

Το Octanedioic acid (YCW1) σε συνδυασμό με ιονίζουσα ακτινοβολία στις κυτταρικές σειρές 4-T1 (από επίμυες) και MDA-MB-231 (ανθρώπινη) τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού, βρέθηκε ότι αυξάνει την αυτοφαγία. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα του BNIP3 μειώθηκαν σημαντικά στα 4-T1 κύτταρα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με τον ανωτέρω συνδυασμό, σε σχέση με εκείνα που έλαβαν θεραπεία μόνο με Octanedioic acid ή ιονίζουσα ακτινοβολία. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν επίσης σε ορθοτοπικό μοντέλο ποντικού καρκίνου του μαστού. Επομένως, στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού, η συγχρόνηση Octanedioic acid με ιονίζουσα ακτινοβολία προκάλεσε αυτοφαγικό θάνατο, μέσω της αναστολής του BNIP3 [1100].

4.8.13 N-(2-Hydroxyphenyl)-2propylpentanamide

Το N-(2-Hydroxyphenyl)-2propylpentanamide είναι παράγωγο που προκύπτει συνδυάζοντας το Βαλπροϊκό οξύ (VPA) με τον πυρήνα αρυλαμίνης της Vorinostat (SAHA). Μέσω στόχευσης της HDAC-8 προκαλεί διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού [1101].

4.8.14 Φαινυλο-βουτυρικό οξύ

Το Φαινυλο-βουτυρικό οξύ και τα παράγωγά του επάγουν την απόπτωση στα κύτταρα MDA-MB-231 καρκίνου μαστού και μάλιστα με δόσοεξαρτώμενο τρόπο. Επιπλέον, εμφανίζει υψηλή εκλεκτικότητα μεταξύ καρκινικών και μη-καρκινικών επιθηλιακών κυτταρικών σειρών μαστού MCF-10A [594].

4.8.15 CUDC-101

Το CUDC-101, στα κύτταρα MDA-MB-468 προκαλεί αναστολή της ανάπτυξης όγκων σε ανθεκτικό στη Lapatinib, HER2- που υπερεκφράζει το EGFR καρκίνου του μαστού [516].

4.8.16 Apicidin

Στον καρκίνο του μαστού η Apicidin αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση. Συγκεκριμένα, η Apicidin αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα της ακετυλίωσης των ιστονών H3 και H4 στις κυτταρικές σειρές MCF-10A-Ras και MCF-10A. Μειώνει την έκφραση της κυκλίνης E και του CDK2 στα κύτταρα MCF-10A καθώς και τα επίπεδα της κυκλίνης D1 και της κυκλίνης E στα κύτταρα MCF-10A-Ras ενώ αυξάνει τα επίπεδα των αναστολέων CDK, p21WAF1/Cip1 και p27Kip1 και στις δύο κυτταρικές σειρές. Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης Rb είναι χαμηλότερα στα κύτταρα MCF-10A-Ras, μετά τη θεραπεία με Apicidin. Επιπλέον, η Apicidin επάγει την ανοδική ρύθμιση του p53 και την ενεργοποίηση του ERK στα κύτταρα MCF-10A-Ras. Η ανοδική ρύθμιση του p53 προάγει την έκφραση των Bax που οδηγεί σε ενεργοποίηση των caspase-9 και -6, και τελικά επάγει την απόπτωση στα κύτταρα MCF-10A-Ras. Επίσης αυξάνονται σημαντικά τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των ERK1/2 στα κύτταρα MCF-10A-ras. Επομένως, η οδός ERK που ενεργοποιείται από την Apicidin επάγει την προ-αποπτωτική οδό στα κύτταρα MCF-10A-Ras [638].

Όμως και στα ER+ κύτταρα MCF-7 η Apicidin αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μεταβάλλοντας την έκφραση των ρυθμιστικών πρωτεϊνών του κυτταρικού κύκλου (κυκλίνη D1/CDK4 και κυκλίνη E/CDK2) προκαλώντας αποπτωτικό θάνατο [637].

Τέλος ο συνδυασμός της Apicidin με Docetaxel σε κύτταρα μεταστατικού καρκίνου του μαστού, επάγει την έκφραση της πρωτεΐνης CTCF-like και άλλων αντιγόνων, διεγείροντας έτσι την ανοσοανταπόκριση. Επιπλέον, ο συνδυασμός αυτός επάγει την απόπτωση που χαρακτηρίζεται από αυξημένο λόγο Bax/Bcl-2 και ενεργοποιεί την caspase-8 [643].

4.8.17 AR-42

Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού, το AR-42 καταστέλλει την κυτταρική ανάπτυξη με τρόπο δόσο- και χρόνο-εξαρτώμενο και επάγει την απόπτωση στα κύτταρα MCF-7. Συγκεκριμένα, αυξάνει την ακετυλίωση και παρατείνει τον χρόνο ημίσειας ζωής της πρωτεΐνης p53. Επιπλέον, αυξάνει την έκφραση των p21 και PUMA. Τέλος, το AR-42 έχει συνεργική δράση συγχορηγούμενο με 5-Φθοριοουρακίλη (5-FU) [608].

4.8.18 Scriptaid

Στις κυτταρικές σειρές MDA-231, MDA-MB-435 και Hs578t ER- καρκίνου μαστού, το Scriptaid προκαλεί αυξημένη ακετυλίωση των ιστονών H3 και H4. Στις σειρές αυτές, όχι μόνο αναστέλλεται η ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων αλλά αποκαθίσταται και η έκφραση των ER. Η συγχορήγηση του Scriptaid με AZA (αναστολέας μεθυλτρανσφεράσης) έχει βελτιωμένα αποτελέσματα σε σύγκριση με τον κάθε παράγοντα χωριστά [1102].

4.8.19 Fingolimod

Το Fingolimod (TY720), ένα ανάλογο της sphingosine, είναι εγκεκριμένο ένα προ-φάρμακο για τη θεραπεία της σκλήρυνσης κατά πλάκας, το οποίο εμφανίζει και

αντινεοπλασματική δράση [1103]. Έτσι στον καρκίνο του μαστού προκαλεί διακοπή της ανάπτυξης των κυττάρων, επάγει την απόπτωση και αναστέλλει τις μεταστάσεις [1104].

4.8.20 Άλλοι HDACI

Άλλοι HDACI που εμφανίζουν δράση εναντίον του καρκίνου του μαστού είναι οι Tacedinaline [697], Psammaplin A [769], Largazole [776, 777], KD5170 [786, 787], Ferrocenyl [1105] και Santacruzamate A [1106].

Ο πίνακας που ακολουθεί (Πίνακας 8) συνοψίζει τις σημαντικότερες δράσεις των HDACI για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού.

Πίνακας 8: Δράσεις των HDACI στον καρκίνο του μαστού.

HDACI	Δράση
Trichostatin A (TSA)	Διακοπή κυτταρικού κύκλου Απόπτωση
Vorinostat (SAHA)	Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού Διακοπή κυτταρικού κύκλου Απόπτωση Αναστολή μεταστάσεων
Panobinostat	Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού Διακοπή κυτταρικού κύκλου Απόπτωση Αναστολή μεταστάσεων
Belinostat	Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού

	<p>Διακοπή κυτταρικού κύκλου</p> <p>Απόπτωση</p>
Valproic acid (VPA)	<p>Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού</p> <p>Διακοπή κυτταρικού κύκλου</p> <p>Απόπτωση</p>
Sodium butyrate (NAB)	<p>Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού</p> <p>Διακοπή κυτταρικού κύκλου</p> <p>Απόπτωση</p>
Romidepsin	<p>Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού</p> <p>Απόπτωση</p> <p>Αναστολή μεταστάσεων</p>
Entinostat	<p>Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού</p> <p>Απόπτωση</p> <p>Αναστολή μεταστάσεων</p>
SK7041	<p>Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού</p> <p>Διακοπή κυτταρικού κύκλου</p> <p>Απόπτωση</p>
Mocetinostat	<p>Διακοπή κυτταρικού κύκλου</p> <p>Απόπτωση</p>
Chidamide	<p>Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού</p> <p>Αναστολή μεταστάσεων</p> <p>Χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη</p>
Suberoylbis-hydroxamic acid (SBHA)	<p>Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού</p> <p>Διακοπή κυτταρικού κύκλου</p>

	Απόπτωση
Apicidin	Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού Απόπτωση Αναστολή μεταστάσεων
AR-42	Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού Απόπτωση
Fingolimod (TY720)	Απόπτωση Αναστολή μεταστάσεων

4.9 HDACI και μη νεοπλασματική νόσος

Εκτός από τη θεραπεία του καρκίνου, οι HDAC έχουν μελετηθεί και σε διάφορες μη νεοπλασματικές νόσους, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις [396, 1107], σακχαρώδης διαβήτης [1108], νευροεκφυλιστικά νοσήματα [1109], αθηρωματική νόσος, οστεοπόρωση [1110] και φλεγμονώδεις ασθένειες οι οποίες καλύπτουν και το μεγαλύτερο φάσμα. Οι HDACI εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες λόγω της μείωσης της παραγωγής και αναστολής των επιδράσεων των κυτοκινών. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι HDACI εμφανίζουν τη δράση τους σε μικρότερες συγκεντρώσεις σε μη νεοπλασματικές νόσους, σε σύγκριση με υψηλές συγκεντρώσεις που απαιτούνται για τη θεραπεία καρκινικών κυττάρων [1111].

Επομένως οι HDACI αποτελούν μια ιδιαίτερα ελκυστική θεραπεία για ένα ευρύ φάσμα ασθενειών. Χρειάζονται περαιτέρω μελέτες.

4.10 Αντίσταση στους HDACI

Οι μηχανισμοί αντίστασης στη θεραπεία με HDACI δεν έχουν ακόμα διευκρινισθεί, φαίνεται να σχετίζεται με τον ίδιο τον αναστολέα, τις επιγενετικές τροποποιήσεις, τους μηχανισμούς απόκρισης στο stress και τους αντι-αποπτωτικούς και προ-επιβιωτικούς μηχανισμούς [956, 1112]. Για παράδειγμα, αυξημένα επίπεδα των BCL-2, Thioredoxins και Peroxiredoxins ανευρίσκονται σε καρκίνους ανθεκτικούς στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία [321]. Η αντίσταση στους HDACI μπορεί επίσης να συνδεθεί με παράγοντες, όπως η κακή φαρμακοκινητική (μικρή διαλυτότητα, μικρός χρόνος ημίσειας ζωής) και το μικροπεριβάλλον των καρκινικών κυττάρων [956].

Η υπερμεθυλίωση του DNA μπορεί να προκαλέσει ανθεκτικότητα στους HDACI, προκαλώντας συμπαγή νουκλεοσώματα με επακόλουθο αποκλεισμό της πρόσβασης των ακετυλασών γεγονός που μπορεί εν τέλει να οδηγήσει σε σίγαση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Οι αυξημένες δραστηριότητες των μηχανισμών επιδιόρθωσης βλαβών του DNA μπορεί να είναι ένας προσαρμοστικός μηχανισμός για την ανάπτυξη αντίστασης του καρκίνου στους HDACI [956, 1112].

Σε γενικές γραμμές, η αντίσταση στη θεραπεία που προκαλείται από τους μηχανισμούς βιοδιαθεσιμότητας των φαρμάκων δεν ισχύει για τα καρκινικά κύτταρα και τους HDACI, με μόνη πιθανή εξαίρεση τη Romidepsin της οποίας το υπόστρωμα αποτελείται από P γλυκοπρωτεΐνες (PGP), η επαγωγή των οποίων δύναται να οδηγήσει σε ανάπτυξη χημειοθεραπευτικής πολυανθεκτικότητας [956, 1113].

Αλλοιώσεις στη δομή και την έκφραση συγκεκριμένων HDAC φαίνεται να συμμετέχουν στους μηχανισμούς αντίστασης στους HDACI [956, 1112]. Για παράδειγμα, μια σιωπηλή μετάλλαξη της HDAC-2 σε ορισμένες ανθρώπινες κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου και του ενδομητρίου, φαίνεται να σχετίζεται με ανθεκτικότητα στη θεραπεία με Trichostatin A (TSA) [441].

Οι κυτταρικές πολυαμίνες είναι κατιονικά μόρια που συμμετέχουν στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, επηρεάζοντας το μικροπεριβάλλον της χρωματίνης. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυαμίνες μπορούν να ρυθμίσουν την απόκριση σε δομικά διαφορετικούς HDACI και η μείωσή τους σχετίζεται με την αντίσταση στην απόπτωση που επάγεται από τους HDACI [956].

Η αντίσταση στους HDACI μπορεί επίσης να σχετίζεται με αυξημένη ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να ανθίστανται στο οξειδωτικό στρες. Οι HDACI προκαλούν αυξημένη παραγωγή ROS. Αυτό μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας στις προ-αποπτωτικές επιδράσεις τους. Η αυξημένη δραστηριότητα των πρωτεϊνών Thioredoxins και Peroxiredoxins, οξειδοαναγωγικών πρωτεϊνών που παίζουν ρόλο στην προστασία των κυττάρων από τις ROS, μπορεί να προκαλέσει αντίσταση στους HDACI [1114, 1115].

Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί και η επίκτητη αντοχή στους αντικαρκινικούς παράγοντες. Μάλιστα, η αντίσταση αυτή δεν αφορά μόνο το χρησιμοποιούμενο αντικαρκινικό φάρμακο αλλά και άλλα στα οποία τα συγκεκριμένα καρκινικά κύτταρα δεν έχουν εκτεθεί (cross-resistance, διασταρούμενη αντίσταση) [1116]. Αυτό ισχύει και για τους HDACI [1117], και παρόλο που οι μηχανισμοί δεν έχουν πλήρως αποσαφηνισθεί, η αντίσταση αυτή μπορεί να είναι αναστρέψιμη [1118].

Ο πίνακας που ακολουθεί (Πίνακας 9) συνοψίζει τους μηχανισμούς ανάπτυξης αντίστασης στη θεραπεία με HDACI [1119].

Πίνακας 9: Μηχανισμοί αντίστασης στους HDACI.

1.	Μηχανισμοί κυτταρικής σηματοδότησης	BCL-2
		NF-kB
		JAK και STAT

		Ρετινοϊκό οξύ
2.	Μηχανισμοί επιδιόρθωσης βλαβών του DNA	Τροποποίηση στην έκφραση πρωτεϊνών επιδιόρθωσης του DNA
		Διαταραχές στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και στα μιτωτικά χρωμοσώματα
3.	Αντιδραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) και REDOX	
4.	Αυτοφαγία	
5.	Stress του ενδοπλασματικού δικτύου	
6.	Βιοδιαθεσιμότητα HDAC1	
7.	Έκφραση των HDAC	
8.	Επίκτητη αντίσταση	

4.11 Βιοδείκτες ανταπόκρισης στους HDAC1

Δεδομένης της εμφάνισης αντίστασης στη θεραπεία με HDAC1, καθίσταται εύλογη η ανάγκη να βρεθούν προγνωστικοί δείκτες και βιομόρια που να μπορούν να προβλέψουν την αντίσταση ή την ευαισθησία στους HDAC1 ώστε να βελτιωθεί το κλινικό όφελος.

Δεδομένου ότι ορισμένες κακοήθειες έχουν συσχετισθεί με υπερέκφραση συγκεκριμένων HDAC (Κεφάλαιο 3, Εδάφιο 3.3), ένας τέτοιος δείκτης θα μπορούσε να είναι η συσχέτιση HDAC και HDAC1 [1120]. Για παράδειγμα, υπερέκφραση της HDAC-2 ανευρέθη στον καρκίνο του παχέος εντέρου και μάλιστα σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση [1121]. Τα ευρήματα αυτά εισηγούνται την αξιολόγηση των

επιπέδων έκφρασης των HDAC σε ασθενείς με καρκίνο και ταυτόχρονα υποδεικνύουν εκείνες τις ομάδες των ασθενών που θα επωφεληθούν από τη θεραπεία με τον αντίστοιχο HDACI [1120]. Αυτό είναι άλλωστε και το αντικείμενο της παρούσης διδακτορικής διατριβής, η έκφραση της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού και ο καθορισμός εκείνων των ασθενών που θα επωφεληθούν με τον αναστολέα της.

Καθώς οι HDACI εμπλέκονται στη μεταγραφική ρύθμιση ενός μικρού μόνο αριθμού γονιδίων, υπάρχει η σκέψη μήπως ένα σύνολο γονιδίων θα μπορούσε να αναγνωριστεί ως δείκτης απόκρισης στους HDACI. Έτσι, ποικίλες μελέτες σε μικροσυστοιχίες του DNA ανέδειξαν διαφορετικά προφίλ γονιδιακής έκφρασης μετά τη χορήγηση HDACI και ταυτοποίησαν γονίδια που συμμετείχαν σε συγκεκριμένη λειτουργία (π.χ. απόπτωση, αγγειογένεση κλπ) τα οποία και συσχέτισαν με τα επίπεδα ευαισθησίας στους HDACI. Γενικά, μπορεί να είναι δυνατή η αναγνώριση μιας γονιδιακής αλλαγής για τους HDACI, ωστόσο, λόγω του πολυπαραγοντικού ρόλου των HDAC, η αλλαγή αυτή είναι πιθανό να μην αποτελεί ειδικό δείκτη και να ποικίλει ανάλογα με τον τύπο του όγκου αλλά και τη διάρκεια της έκθεσης και τη συγκέντρωση του αναστολέα. Μελλοντική πρόκληση είναι ο εντοπισμός γονιδιακών αλλαγών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικός δείκτης παρά τις επιδράσεις του HDACI [1120].

Άλλος ένας βιοδείκτης - ευρέως χρησιμοποιούμενος - είναι ο βαθμός ακετυλίωσης των ιστονών και συγκεκριμένα των H3 και H4. Η στρατηγική αυτή εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα: 1/ Η ακετυλίωση των ιστονών εξαρτάται από τις HDAC, και μπορεί να παρακολουθείται σε κύτταρα εντός του όγκου, 2/ Η ακετυλίωση των ιστονών μπορεί να ελεγχθεί και σε μονοπύρηννα κύτταρα περιφερειακού αίματος, τα οποία συχνά λαμβάνονται ως υποκατάστατος ιστός για όγκους στους οποίους οι βιοψίες δεν είναι εφικτές χωρίς επεμβατικές διαδικασίες και 3/ Η επαγωγή της ακετυλίωσης των ιστονών

μετά από χορήγηση με HDACI μπορεί επίσης να καταγραφεί άμεσα. Ωστόσο, η αξία αυτού του δείκτη έχει αμφισβητηθεί καθότι δε φαίνεται να αντικατοπτρίζει την απόκριση του όγκου [1120].

Η επαγωγή της p21 χρησιμοποιείται επίσης ως δείκτης αναστολής των HDAC. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ποικίλοι HDACI, όπως για παράδειγμα η Vorinostat (SAHA), αύξησαν τα επίπεδα της p21, με τρόπο εξαρτώμενο από τη συγκέντρωση [1120]. Άλλες πρωτεΐνες των οποίων τα επίπεδα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες είναι αυτές που σχετίζονται με την HSP90, όπως η HSP72, που αυξάνεται με την αναστολή του HSP90 (αποτέλεσμα της αναστολής της HDAC-6) και η c-Raf που μειώνεται όταν το HSP90 δεν μπορεί να ανταποκριθεί στο κυτταρικό stress [1122]. Σημαντική αξία έχουν και τα επίπεδα έκφρασης της TYMS (Thymidylate synthetase). Και το γονίδιο *TYMS* αποτελεί θεραπευτικό στόχο των HDACI και η έκφρασή του καταστέλλεται επί ανταπόκρισης στη θεραπεία [1123].

Ο απόλυτος βιοδείκτης είναι αυτός που προβλέπει την απόκριση του όγκου στην αντικαρκινική αγωγή. Στην προσπάθεια ανεύρεσης τέτοιων προγνωστικών δεικτών, εντοπίστηκε πλήθος γονιδίων που η αποσιώπησή τους εμπόδισε την επαγόμενη από τους HDACI απόπτωση. Ένα τέτοιο γονίδιο, είναι το *HR23B*, έχει αναδειχθεί ως ενδεικτικός παράγοντας για την απόπτωση που προκαλείται από τους HDACI. Το *HR23B* ρυθμίζει επίσης την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων σε φάρμακα που δρουν απευθείας στο πρωτεόσωμα ενώ τα επίπεδα της *HR23B* επηρεάζουν την ανταπόκριση των καρκινικών κυττάρων στη θεραπεία με HDACI [1124]. Άλλα τέτοια γονίδια είναι τα *ODC1*, *SKI* και *STAT1* [1123].

4.12 Αναστολείς Sirtuins και καρκίνος του μαστού

Στα προηγούμενα εδάφια έγινε εκτενής αναφορά στους HDACI, δηλαδή στους αναστολείς των εξαρτώμενων από ιόντα Zn^{2+} HDAC (Τάξεις I, II και III) και στην αντινεοπλασματική τους δράση - συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Στο παρόν εδάφιο θα γίνει αναφορά στους αναστολείς των Sirtuins (HDAC Τάξης III).

Οι Sirtuins (SIRT1-7) είναι εξαρτώμενοι από το NAD^+ [383]. Στα κύτταρα των θηλαστικών, βρίσκονται σε διάφορες δομές, όπως ο πυρήνας (SIRT-1, -2, -6 και -7), τα μιτοχόνδρια (SIRT-3, -4 και -5) και το κυτταρόπλασμα (SIRT-1 και -2) και εμπλέκονται στη ρύθμιση της επιβίωσης, του μεταβολισμού, της γήρανσης και της γονιδιωματικής σταθερότητας κυττάρων. Ολοένα όμως και περισσότερα στοιχεία υποδεικνύουν τη συμμετοχή τους στον καρκίνο. Για την ακρίβεια, οι Sirtuins όχι μόνο διαδραματίζουν εξέχοντα ογκοκατασταλτικό ρόλο, αλλά συμμετέχουν επίσης και στην ανάπτυξη όγκων [1125]. Επομένως, η ταυτοποίηση των ενεργοποιητών και των αναστολέων τους θα ήταν χρήσιμη για την ανάπτυξη νέων αντικαρκινικών θεραπειών. Μάλιστα αναστολείς των Sirtuins όπως οι Sirtinol, Cambinol και Suramin έχουν διερευνηθεί σε αρκετά μοντέλα καρκινικών κυττάρων [1126].

Για παράδειγμα, η Sirtinol προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G0/G1 στα κύτταρα MDA-MB-231 και MCF-7 καρκίνου μαστού [1127]. Η αναστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων διαμεσολαβείται από αναστολή της σηματοδοτικής οδού Ras/MAPK [1128]. Επιπλέον, στα κύτταρα MDA-MB-231 επάγει την απόπτωση μέσω της αναστολής του Bcl-2 [1127] ενώ στα MCF-7 προκαλεί αποπτωτικό και αυτοφαγικό κυτταρικό θάνατο, μέσω αναστολής της έκφρασης των SIRT-1 και -2 [1129].

Επιπρόσθετα, ο συνδυασμός της Suramin με αναστολείς DNMT (DNA Methyltransferase) εμφανίζει κυτταροτοξική δράση σε κύτταρα καρκίνου μαστού με αυξημένη διηθητική ικανότητα, μέσω της ενεργοποίησης της PKD1. Τέλος, η ανωτέρω

συνδυαστική θεραπεία, αναστέλλει τη διηθητική ικανότητα και των κυττάρων των τριπλά αρνητικών καρκίνων *in vivo* [1130].

4.13 Συμπεράσματα και προοπτικές

Από τα ανωτέρω καθίσταται σαφές ότι οι HDACI αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη νέα κατηγορία αντικαρκινικών φαρμάκων. Αναμένουμε λοιπόν πως η περαιτέρω ανάπτυξη των HDACI και η πληρέστερη κατανόηση των μηχανισμών μέσω των οποίων οι HDAC συμμετέχουν στην καρκινογένεση, θα προσφέρουν νέες στοχευμένες αντικαρκινικές θεραπείες που θα είναι πιο ασφαλείς και πιο αποτελεσματικές από τις υπάρχουσες. Οι HDACI μπορούν να προκαλέσουν κυτταρικό θάνατο σε ένα ευρύ φάσμα αιματολογικών κακοηθειών και συμπαγών όγκων. Οι μηχανισμοί του θανάτου των καρκινικών κυττάρων που προκαλείται από HDACI απαιτούν περαιτέρω διαλεύκανση. Είναι σαφές ότι οι παράγοντες αυτοί μπορούν να προκαλέσουν διακοπή της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων και κυτταρικό θάνατο με περισσότερες από μία οδούς που περιλαμβάνουν τον εξωγενή και ενδογενή αποπτωτικό θάνατο, την αυτοφαγία και το μιτωτικό θάνατο, την αναστολή της κυτταρικής μετανάστευσης και της αγγειογένεσης και τη μεταβολή της ανοσοαπόκρισης. Οι HDACI έχουν ως πρωτεϊνικό υπόστρωμα όχι μόνο τις ιστόνες, αλλά και πολλές μη ιστόνες. Τα φυσιολογικά κύτταρα είναι σχετικά ανθεκτικά στον κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από HDACI. Το υπόβαθρο της αντίστασης των φυσιολογικών κυττάρων στους HDACI δεν είναι κατανοητό. Εικάζεται ότι τα καρκινικά κύτταρα, δεν μπορούν να αντιστρέψουν τις κρίσιμες επιδράσεις των HDACI, όπως μπορεί να κάνουν τα φυσιολογικά κύτταρα. Ως εκ τούτου, οι HDACI, είναι γενικώς καλώς ανεκτοί στην κλινική πράξη.

Οι HDACI που έχουν αναπτυχθεί μέχρι σήμερα, εμφανίζουν μεταξύ τους δομικές διαφορές και γενικά, αναστέλλουν πολλές και διαφορετικές HDAC. Ενώ οι HDACI έχουν δείξει αντικαρκινική δράση τόσο σε προκλινικές όσο και σε κλινικές μελέτες έναντι μιας ευρείας ποικιλίας νεοπλασιών, μόνο ένα ποσοστό των ασθενών με φαίνεται να ανταποκρίνεται στη θεραπεία με αυτούς. Επιπλέον, οι HDACI μπορεί να είναι πιο δραστηριοί συγχορηγούμενοι με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες ή με ακτινοθεραπεία. Κρίνεται λοιπόν επιτακτική ανάγκη το να κατανοήσουμε καλύτερα τους μηχανισμούς δράσης των HDACI και να εντοπίσουμε τις ομάδες των ασθενών που θα επωφεληθούν από τη θεραπεία με αυτούς. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να καθιερώσουμε προγνωστικούς βιολογικούς δείκτες που δύνανται να προβλέψουν την απόκριση στη θεραπεία με HDACI.

Επί του παρόντος, ήδη πέντε HDACI έχουν λάβει τις σχετικές εγκρίσεις από τους αρμόδιους οργανισμούς και έτσι διατίθενται ως φαρμακευτικά σκευάσματα για αιματολογικές κυρίως κακοήθειες (ένας και για τον καρκίνο του μαστού). Παράλληλα, πλήθος εργαστηριακών και κλινικών μελετών εξετάζουν τη δραστηριότητα των HDACI είτε ως μονοθεραπεία, είτε ως συνδυαστική θεραπεία με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες, όπως χημειοθεραπεία, στοχευμένες θεραπείες ή ακτινοθεραπεία, ενάντια ευρέως φάσματος νεοπλασιών.

Βασικός πυλώνας για τη μελλοντική έρευνα και την ανάπτυξη των HDACI είναι η κατανόηση των μηχανισμών όχι μόνο των HDACI και των HDAC αλλά και εκείνων που εμπλέκονται στην καρκινογένεση. Η ανάπτυξη HDACI που θα αναστέλλουν στοχευμένα τις HDAC, θα είναι πολύ χρήσιμη όχι μόνο γιατί προϋποθέτει την κατανόηση του μηχανισμού δράσης τους, αλλά θα συμβάλλει και στη θεραπευτική αποτελεσματικότητα περιορίζοντας την τοξικότητα και τις ανεπιθύμητες ενέργειες τους. Ένα καίριο σχετικό ερώτημα που πρέπει να αποσαφηνισθεί είναι αν οι εκλεκτικοί

αναστολείς των HDAC, είναι πιο αποτελεσματικοί και ασφαλείς από τους παν-αναστολείς. Επιπλέον, η πολυπλοκότητα της δράσης των HDACI ίσως να στηρίζεται και στις ποικίλες βιολογικές επιδράσεις των HDAC - πέραν της απακετυλίωσης των ιστονών. Αν λάβουμε δε, υπόψιν το γεγονός ότι και μη ιστόνες αποτελούν πρωτεϊνικό υπόστρωμα για τις HDAC, γίνεται κατανοητό γιατί θα ήταν πιο δόκιμος για να περιγράψει τις HDAC, ο όρος «Αποακετυλάσες της λυσίνης». Τέλος, τα καρκινικά κύτταρα συνήθως εμφανίζουν πολλαπλές γενετικές βλάβες που διαταράσσουν βασικές κυτταρικές οδούς, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης της κυτταρικής διαίρεσης, της κυτταρικής μετανάστευσης και του κυτταρικού θανάτου. Για το λόγο αυτό άλλωστε οι θεραπευτικές στρατηγικές που στοχεύουν συγκεκριμένα βιολογικά μόρια ή βιολογικές οδούς είναι πιθανώς πιο αποτελεσματικές και λιγότερο τοξικές από φάρμακα που στοχεύουν σε ένα μόνο γονίδιο ή μια πρωτεΐνη. Αυτά τα δεδομένα επιτείνουν την ανάγκη για συνεχή ανάπτυξη των HDACI και της έρευνας γύρω από αυτούς.

Στην κατεύθυνση αυτή, συμβάλλει και η παρούσα διδακτορική διατριβή η οποία μελετά τις διαταραχές έκφρασης της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού και αξιολογεί εκείνες τις πληθυσμιακές ομάδες στις οποίες θα ήταν αποτελεσματική η θεραπεία με έναν εκλεκτικό για αυτήν αναστολέα. Τα δεδομένα της μελέτης περιγράφονται στο Μέρος II, που ακολουθεί.

ΜΕΡΟΣ ΙΙ

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

1. Εισαγωγή

Η ρύθμιση της μεταγραφής -όπως αναφέρθηκε και στο Γενικό Μέρος- ελέγχεται από την κατάσταση της ακετυλίωσης των ιστονών. Ο ανταγωνισμός μεταξύ των απακετυλασών των ιστονών (HDAC) και των ακετυλοτρανσφερασών των ιστονών (HAT) διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο είτε αναστέλλοντας είτε επάγοντας αντίστοιχα, τη μεταγραφική δραστηριότητα [1131, 1132]. Η απομάκρυνση ακετυλομάδων από τα κατάλοιπα λυσίνης στις ιστόνες από τις HDAC, οδηγεί στον σχηματισμό της ετεροχρωματίνης, στην οποία καταστέλλεται η διαδικασία της μεταγραφής [328]. Στον άνθρωπο έχει βρεθεί και αναγνωριστεί μεγάλος αριθμός HDAC. Οι HDAC κατατάσσονται σε τέσσερις ομάδες ανάλογα με τη δομή και τη λειτουργία τους [1133]. Έτσι, διακρίνονται σε: Τάξης I που περιλαμβάνει τις HDAC-1, -2, -3 και -8, Τάξης II που περιλαμβάνει τις HDAC-4, -5, -7, -6, -9 και -10, Τάξης III που είναι ευρέως γνωστή ως Sirtuins και περιλαμβάνει τις SIRT-1-7 και Τάξης IV που περιλαμβάνει αποκλειστικά την HDAC-11. Οι HDAC Τάξης I, II και IV είναι εξαρτώμενες από ιόντα Zn^{2+} , ενώ οι HDAC Τάξης III (Sirtuins) είναι εξαρτώμενες από NAD^+ [383, 1133, 1134]. Η αυξημένη δράση των HDAC οδηγεί σε αύξηση της απακετυλίωσης των ιστονών και παρεμποδίζει τη μεταγραφή των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, επάγοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή των καρκινικών κυττάρων [1135]. Η κάθε HDAC φαίνεται να σχετίζεται με διαφορετικές βιολογικές λειτουργίες. Η HDAC-2 για παράδειγμα, εμπλέκεται στην αγγειακή και λεμφαγγειακή διήθηση, σε ποικίλες κακοήθειες [383].

Οι αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών (HDACi) είναι ένζυμα που οδηγούν σε αυξημένη ακετυλίωση των ιστονών. Έχουν περιγραφεί τέσσερις βασικές κατηγορίες HDACi, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη δομή. Πρόκειται για τα υδροξαμικά οξέα, τα λιπαρά οξέα βραχείων αλύσων, τα κυκλικά πεπτίδια και τις

βενζαμίδες [333, 383]. Μια άλλη ταξινόμηση, η οποία επίσης χρησιμοποιείται, βασίζεται στην ομάδα των HDAC την οποία αναστέλλουν. Έτσι, υπάρχουν αναστολείς των HDAC Τάξης I, αναστολείς των HDAC Τάξης II και αναστολείς όλων των τάξεων των HDAC (παν-HDAC αναστολείς) [383, 465]. Οι HDACI, καταστέλλουν τη δράση των HDAC και εκδηλώνουν την αντικαρκινική τους δράση μέσω ποικίλων μηχανισμών όπως είναι οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης βλαβών του DNA, οι διαταραχές της κυτταρικής διαφοροποίησης, η διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, η επαγωγή της απόπτωσης, οι διαταραχές των μιτώσεων, η αναστολή της αγγειογένεσης, η παρεμπόδιση των μεταστάσεων ή οι αντιδραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) και ο μεταβολισμός της γλυκόζης [383]. Είναι πρωταρχικής σημασίας να τονισθεί ότι η δράση των HDACI περιορίζεται σχεδόν στα κακοήθη κύτταρα, ενώ τα φυσιολογικά επηρεάζονται ελάχιστα. Ποικίλες κλινικές έρευνες έχουν καταδείξει τις αντινεοπλασματικές ιδιότητες των HDACI [383, 465, 1136, 1137]. Μάλιστα, ήδη πέντε εξ' αυτών έχουν λάβει έγκριση από τους σχετικούς οργανισμούς και χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών. Ο ένας δε, ενδείκνυται και για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού [383, 384].

Στον καρκίνο του μαστού, όπως άλλωστε αναφέρθηκε και προηγουμένως (Μέρος I, Κεφάλαιο 4, Εδάφιο 4.8) HDACI όπως η Trichostatin A (TSA), η Vorinostat (SAHA), το Βαλπροϊκό οξύ (VPA) και άλλοι, φαίνεται να παρουσιάζουν θεραπευτικό όφελος είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλη αντικαρκινική θεραπεία ή ακτινοβολία [239, 270, 271].

Προηγουμένως (Μέρος I, Κεφάλαιο 2, Εδάφιο 2.3), αναφέρθηκε ότι καρκίνος του μαστού αποτελεί τον πλέον συχνά διαγνωσμένο καρκίνο στις γυναίκες και κυμαίνεται σε ποσοστό περίπου 26% όλων των περιστατικών καρκίνου στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ) [94]. Αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου από κακοήθεια μετά

τον καρκίνο του πνεύμονα στις ανεπτυγμένες χώρες και την πρώτη στις αναπτυσσόμενες, στο γυναικείο πληθυσμό [95, 96]. Είναι η βασική αιτία θανάτου στις Αμερικανίδες ηλικίας 40 έως 55 ετών [97].

Παρόλο που έχει σημειωθεί εκτεταμένη πρόοδος τόσο στη θεραπεία όσο και στη διάγνωση, μόνο το 2018, παρουσιάστηκαν 2.088.849 νέες περιπτώσεις και 626.679 θάνατοι από καρκίνο μαστού [96, 98]. Διάφορες θεραπευτικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για τη θεραπεία αυτών των ασθενών, συμπεριλαμβανομένων χειρουργικών επεμβάσεων, ακτινοθεραπείας και χημειοθεραπείας [1138-1141]. Οι μέθοδοι αυτές, έχουν ποικίλες παρενέργειες, συμπεριλαμβανομένης της τοξικότητας και της αντοχής στα φάρμακα [1142]. Ως εκ τούτου, κρίνεται αναγκαίο να διερευνηθούν νέοι πιθανοί στόχοι, όσον αφορά τη θεραπεία και την πρόγνωση του καρκίνου του μαστού.

Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες, έχει επιτευχθεί μεγάλη πρόοδος στην κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών του καρκίνου του μαστού, οδηγώντας στην ανάπτυξη πιθανών καινοτόμων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Επιπλέον, τα σύγχρονα ερευνητικά δεδομένα έχουν αναδείξει αυξημένη έκφραση των HDAC σε πληθώρα ανθρωπίνων κακοηθειών, όπως είναι ο καρκίνος του στομάχου [390], του παγκρέατος [391], του παχέος εντέρου [393], του προστάτη [1143], του νεφρού [1144] ή τα λεμφώματα [1145]. Για την ακρίβεια, η πλειονότητα των μελετών αυτών κατέδειξε συσχέτιση της αυξημένης έκφρασης των HDAC τόσο με τα ιστολογικά χαρακτηριστικά και το στάδιο του όγκου, όσο και με την επιβίωση των ασθενών HDACi [390, 391, 393, 1142-1145]. Ωστόσο, οι πληροφορίες όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού παραμένουν ελάχιστες.

Λαμβάνοντας υπόψη τα ανωτέρω, αντικείμενο της παρούσης μελέτης είναι η έρευνα της έκφρασης των HDAC στον καρκίνο του μαστού. Για την ακρίβεια

μελετήσαμε το βαθμό της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 σε ιστοτεμάχια που προέρχονταν από καρκίνου του μαστού και ακολούθως έγιναν συσχετίσεις με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του όγκου και την πρόγνωση των ασθενών. Παρακάτω περιγράφεται αναλυτικά όλη η μελέτη και παρατίθενται τα δεδομένα αυτής.

2. Υλικό και μέθοδοι

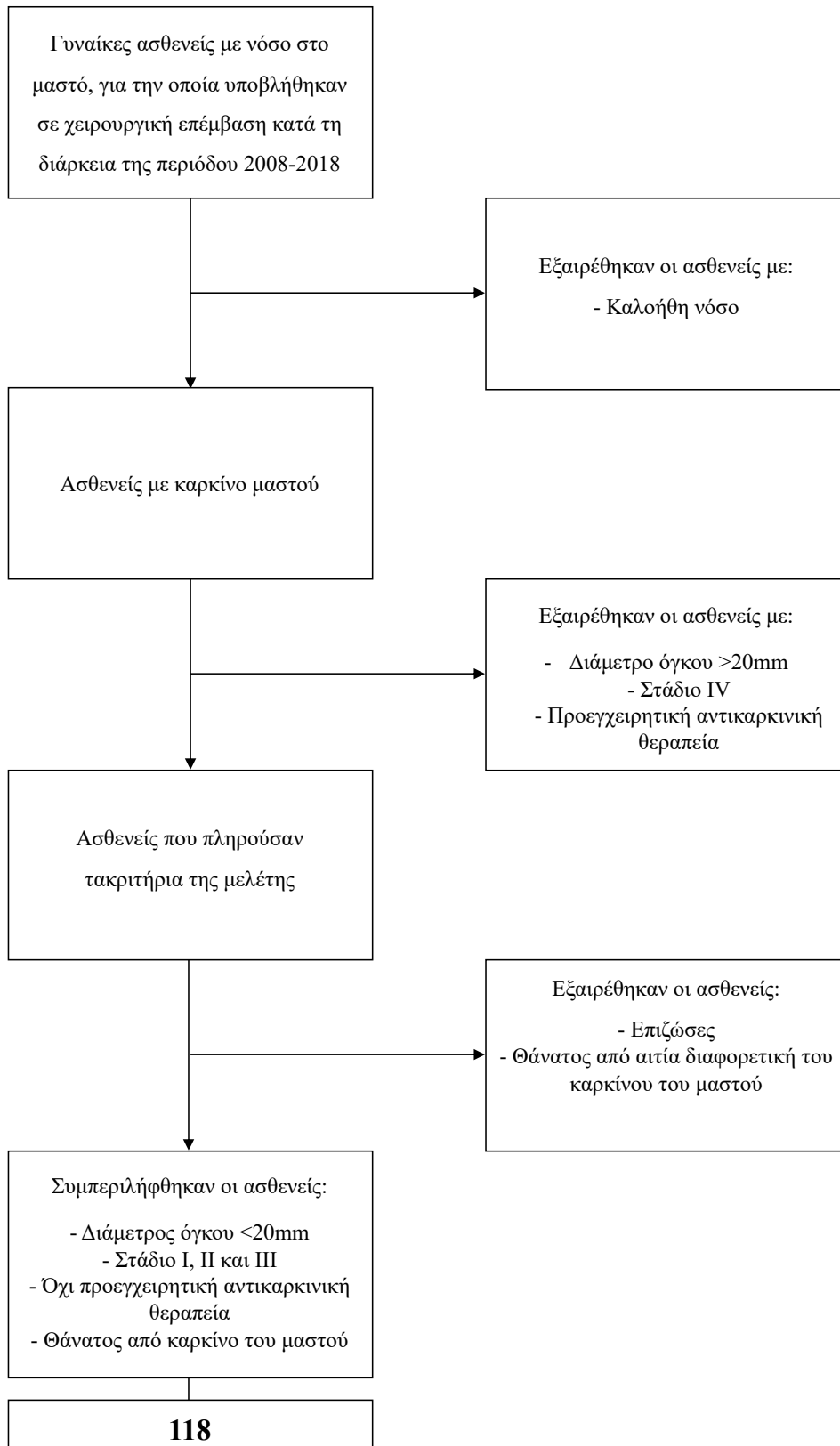
Το ερευνητικό πρωτόκολλο της μελέτης έλαβε έγκριση από την Αρχή Βιοηθικής και Δεοντολογίας και την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

2.1 Υλικό

2.1.1 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού ασθενών

Στην παρούσα μελέτη εντάχθηκαν αποκλειστικά γυναίκες ασθενείς με καρκίνο μαστού διαμέτρου <20mm και σταδίου I, II και III, οι οποίες υπεβλήθησαν σε χειρουργική θεραπεία χωρίς μικροσκοπικό ή μακροσκοπικό υπόλειμμα νόσου (R0 εκτομή), κατά τη διάρκεια της περιόδου 2008-2018. Ουδεμία εκ των ανωτέρω ασθενών έλαβε κάποια προεγχειρητική αντικαρκινική θεραπεία (χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία). Στη μελέτη εντάχθηκαν αποκλειστικά ασθενείς που εμφάνισαν υποτροπή της νόσου και κατέληξαν από αυτήν. Ως ολική επιβίωση (Overall Survival, OS) ορίστηκε η περίοδος που μεσολάβησε από τη χειρουργική επέμβαση έως το θάνατο, ενώ ως χρόνος ελεύθερος υποτροπής (Disease Free Survival, DFS) ορίζεται η περίοδος που μεσολάβησε από τη χειρουργική επέμβαση μέχρι την υποτροπή της νόσου. Εν τέλει, η μελέτη περιλαμβάνει 118 ασθενείς. Τα κριτήρια της μελέτης συνοψίζονται στο κάτωθι Διάγραμμα (Διάγραμμα 1).

Διάγραμμα 1: Κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού ασθενών που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη



2.1.2 Δείγματα μελέτης

Το δείγμα της παρούσης μελέτης αποτελείται από 118 ιστοτεμάχια από ισάριθμες γυναίκες ασθενείς, μέσης ηλικίας 63,7 ετών (SD + 8,2 έτη), με καρκίνο μαστού διαμέτρου μικρότερης των 20mm. Το μέσο μέγεθος των όγκων ήταν 9,5mm (SD = 7,6mm) και το μέσο ελεύθερο όριο εκτομής ήταν 0,27mm (SD = 0,65mm).

Όσον αφορά τον ιστολογικό τύπο του όγκου, η πλειοψηφία των ασθενών εμφάνισε πορογενές καρκίνωμα (86,4%) και οι υπόλοιπες είτε λοβιακό (8,5%) είτε άλλο ιστολογικό τύπο. Στα ανωτέρω δείγματα έγινε καταγραφή του βαθμού έκφρασης των ορμονικών υποδοχέων και ακολούθως κατάταξη των όγκων με βάση το μοριακό υπότυπό τους. Έτσι, το 40,7% των δειγμάτων παρουσίασε υπότυπο Luminal A, το 32,2% Luminal B, το 16,9% τριπλά αρνητικό (Triple negative, TN) και το υπόλοιπο HER-2. Παράλληλα, έγινε καταγραφή του βαθμού διαφοροποίησης (Grade). Σχεδόν τα μισά δείγματα είχαν Grade 2, με το ποσοστό να είναι 50,8% και το 32,2% είχε Grade 3. Στους Πίνακες που ακολουθούν (Πίνακας 1-5) περιγράφονται τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του δείγματος.

Πίνακας 1: Ηλικία, ιστολογικός τύπος, βαθμός διαφοροποίησης, μοριακός υπότυπος και παθολογοανατομικό στάδιο του δείγματος.

		N	%
Ηλικία, μέση τιμή (SD)		63,7 (8,2)	
Ιστολογικός τύπος	Πορογενές	102	86,4
	Λοβιακό	10	8,5
	Άλλο	6	5,1
Grade	1,0	20	16,9
	2,0	60	50,8

	3,0	38	32,2
	1-2	80	67,8
	3	38	32,2
Μοριακός υπότυπος	Basal like	0	0,0
	HER-2	12	10,2
	Luminal A	48	40,7
	Luminal B	38	32,2
	Triple negative	20	16,9

Πίνακας 2: Μέγεθος και ελεύθερα όρια εκτομής των όγκων του δείγματος.

	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)
Μέγεθος (mm)	9,5 (7,6)	8 (6 - 10)
Όριο (mm)	0,27 (0,65)	0 (0 - 0)

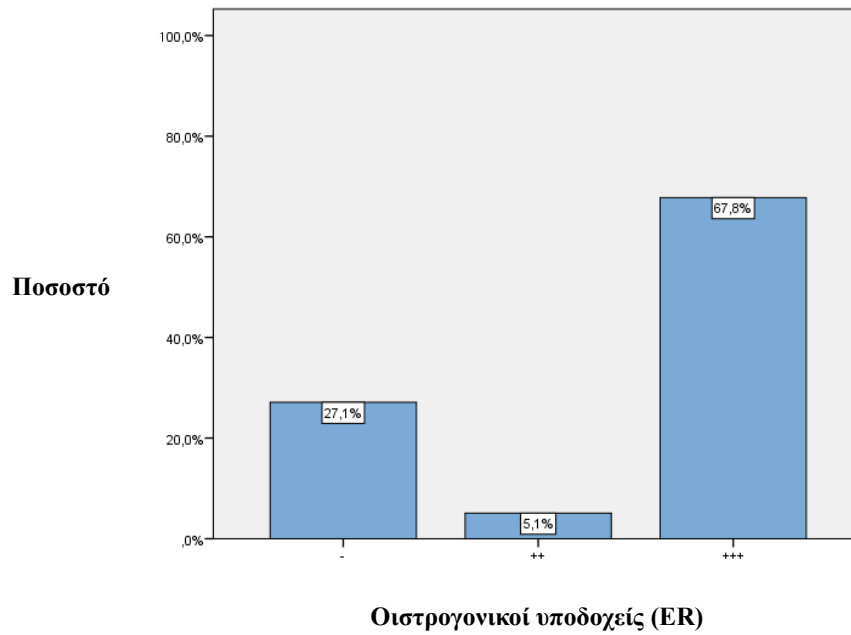
Πίνακας 3: Έκφραση των οιστρογονικών (ER) και των προγεστερονικών (PR) υποδοχέων των όγκων του δείγματος.

	N	%
ER %, μέση τιμή (SD) διάμεσος (ενδ. εύρος)	63,5 (38,2)	80 (10 - 95)
-	32	27,1

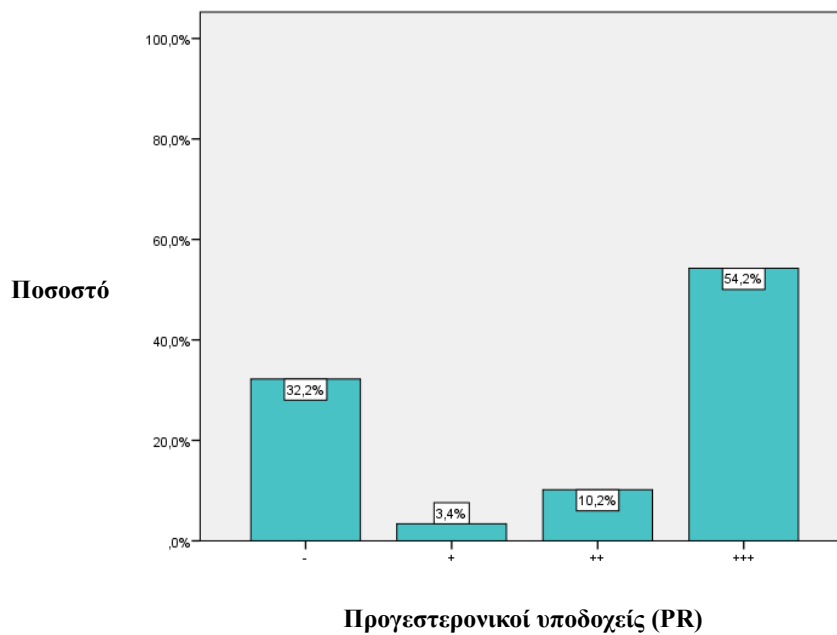
ER	+	0	0
	++	6	5,1
	+++	80	67,8
	Αρνητικοί	32	27,1
	Θετικοί	86	72,9
PR %, μέση τιμή (SD) διάμεσος (ενδ. εύρος)		42,2 (38,2)	40 (0 - 80)
PR	-	38	32,2
	+	4	3,4
	++	12	10,2
	+++	64	54,2
	Αρνητικοί	38	32,2
	Θετικοί	80	67,8

Όπως αποτυπώνεται στον ανωτέρω Πίνακα, το διάμεσο ποσοστό έκφρασης των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) ήταν 80% (10-95%). Το 72,9% των συμμετεχουσών είχαν θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ER). Επίσης, το διάμεσο ποσοστό έκφρασης των προγεστερονικών υποδοχέων (PR) ήταν 40% (0-80%). Το 67,8% των συμμετεχουσών είχαν θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς (PR). Στα Διαγράμματα που ακολουθούν (Διάγραμμα 2, 3) δίνεται ο βαθμός έκφρασης των ανωτέρω υποδοχέων.

Διάγραμμα 2: Βαθμός έκφρασης των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) των συμμετεχουσών.



Διάγραμμα 3: Βαθμός έκφρασης των προγεστερονικών υποδοχέων (PR) των συμμετεχουσών.



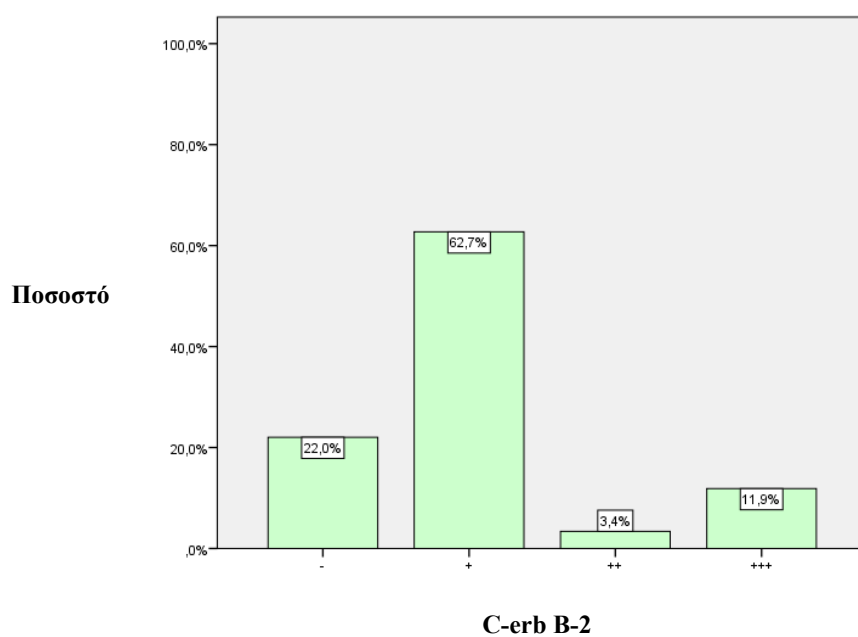
Το 15,3% είχαν θετική έκφραση του C-erb B-2 και το 16,9% είχε τριπλά αρνητικό καρκίνο (Triple negative, TN) (Πίνακας 4).

Πίνακας 4: Έκφραση του C-erb B-2 των συμμετεχουσών καθώς και το ποσοστό των τριπλά αρνητικών όγκων (Triple negative, TN).

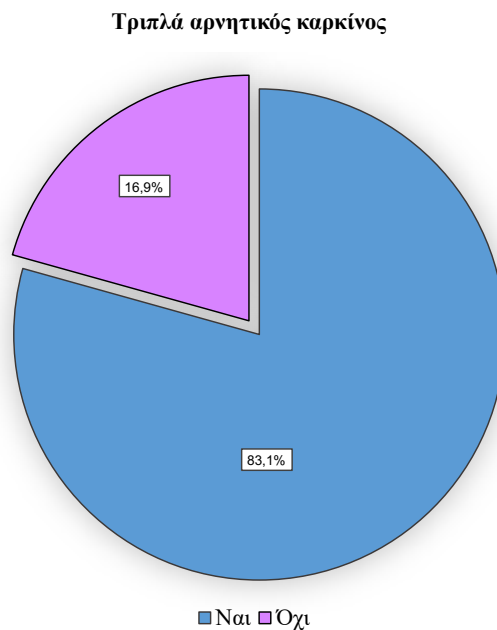
		N	%
C-erb B-2	-	26	22,0
	+	74	62,7
	++	4	3,4
	+++	14	11,9
	Αρνητικοί	100	84,7
	Θετικοί	18	15,3
Triple negative	No	98	83,1
	Yes	20	16,9

Στα Διαγράμματα που ακολουθούν (Διάγραμμα 4, 5) δίνεται ο βαθμός έκφρασης του C-erb B-2 και το ποσοστό των τριπλά αρνητικών όγκων (Triple negative, TN).

Διάγραμμα 4: Βαθμός έκφρασης του C-erb B-2 των συμμετεχουσών.



Διάγραμμα 5: Ποσοστό ασθενών με τριπλά αρνητικό καρκίνο (Triple negative, TN).



Το 72,7% των ασθενών είχε θετική έκφραση του p53, με τη μέση τιμή να είναι 40,3% (SD = 19,5%). Επίσης, το μέσο Ki67 ήταν 23,6% (SD = 15,1%) (Πίνακας 5).

Πίνακας 5: Καταγραφή των p53 και Ki67 των ασθενών.

		N	%
p53%, μέση τιμή (SD) διάμεσος		40,3	35,2
(ενδ. εύρος)		(19,5)	(35,2 - 35,2)
p53	-	6	27,3
	+	4	18,2
	++	4	18,2
	+++	8	36,4
Ki67, μέση τιμή (SD) διάμεσος		23,6	25
(ενδ. εύρος)		(15,1)	(15 - 30)

2.2 Μέθοδοι

2.2.1 Σταδιοποίηση

Η σταδιοποίηση του δείγματος έγινε χρησιμοποιώντας την 7^η έκδοση του Συστήματος Tumour, Node, Metastasis (TNM) και το Σύστημα Σταδιοποίησης της Αμερικανικής Κοινής Επιτροπής για τον Καρκίνο (American Joint Committee on Cancer (AJCC) Grouping system) (Πίνακας 6, 7, 8) [1146]. Το σύστημα αυτό αποτελεί χρήσιμο κλινικό εργαλείο για τη σταδιοποίηση και τη διαχείριση των ασθενών με καρκίνο στο μαστό. Η ακριβής σταδιοποίηση της νόσου είναι σημαντική για τη σωστή κατάταξη των ασθενών σε ομάδες όχι μόνο για τον προσδιορισμό της πρόγνωσης αλλά και για την επιλογή της ενδεικνυόμενης ανάλογα με το στάδιο της νόσου θεραπείας.

Πίνακας 6: 7^η έκδοση του συστήματος ταξινόμησης TNM για τον του καρκίνου του μαστού.

T (Tumor) - Πρωτοπαθής εστία	
Tx	Η πρωτοπαθής εστία δε μπορεί να εκτιμηθεί.
T0	Απουσία πρωτοπαθούς όγκου.
Tis	Καρκίνωμα in situ.
Tis (DCIS)	Πορογενές καρκίνωμα in situ.
Tis (LCIS)	Λοβιακό καρκίνωμα in situ.
Tis (Paget's)	Νόσος Paget της θηλής χωρίς παρουσία όγκου.
T1	Όγκος <20mm.

T1mi	Όγκος <1mm.
T1a	Όγκος >1mm αλλά <5mm.
T1b	Όγκος >5mm αλλά <10mm.
T1c	Όγκος >10mm αλλά <20mm.
T2	Όγκος >20mm και <50mm.
T3	Όγκος >50mm.
T4	Όγκος οποιουδήποτε μεγέθους με επέκταση στο θωρακικό τοίχωμα ή στο δέρμα.
T4a	Επέκταση στο θωρακικό τοίχωμα.
T4b	Οίδημα (που περιλαμβάνει το δέρμα «δίκηνη φλοιού πορτοκαλιού», εξέλκωση του δέρματος ή ύπαρξη δορυφορικών όζων του δέρματος στον ίδιο μαστό.
T4c	T4a και T4b.
T4d	Φλεγμονώδης μορφή καρκινώματος.
N (Nodes) - Λεμφαδένες	
NX	Οι περιοχικοί λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν.
N0	Χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις.
N1	Μεταστάσεις σε 1-3 κινητούς ομόπλευρους

N1mi	<p>μασχαλιαίους λεμφαδένες.</p> <p>Μικρομεταστάσεις σε λεμφαδένες >0,2mm και <2mm.</p>
<p>N2</p> <p>N2a</p> <p>N2b</p>	<p>Μετάσταση σε 4-9 ομόπλευρους μασχαλιαίους λεμφαδένες επιπέδου I, II σχηματίζοντας block ή ομόπλευροι έσω μαστικοί λεμφαδένες με απουσία κλινικά εμφανούς μασχαλιαίας μετάστασης.</p> <p>Μετάσταση σε ομόπλευρους μασχαλιαίους λεμφαδένες επιπέδου I, II σχηματίζοντας block και τουλάχιστον ένας λεμφαδένας >2mm.</p> <p>Μετάσταση σε ομόπλευρους έσω μαστικούς λεμφαδένες με απουσία κλινικά εμφανούς μασχαλιαίας μετάστασης.</p>
N3	<p>Μετάσταση σε περισσότερους από 10 ομόπλευρους υποκλείδιους λεμφαδένες (μασχαλιαίο επίπεδο III) με ή χωρίς συμμετοχή των επιπέδου I, II μασχαλιαίων λεμφαδένων, ή ομόπλευροι έσω μαστικοί λεμφαδένες με προσβολή μασχαλιαίων λεμφαδένων επιπέδου I, II ή μετάσταση ομόπλευρου υπερκλείδιου λεμφαδένα με ή χωρίς συμμετοχή μασχαλιαίων ή έσω μαστικών</p>

N3a	λεμφαδένων. Μετάσταση σε ομόπλευρους υποκλείδιους λεμφαδένες (μασχαλιαίο επίπεδο III).
N3b	Μετάσταση σε ομόπλευρους έσω μαστικούς λεμφαδένες με προσβολή μασχαλιαίων λεμφαδένων.
N3c	Μετάσταση σε ομόπλευρους υποκλείδιους λεμφαδένες (μασχαλιαίο επίπεδο III).
M (Metastasis) - Μεταστάσεις	
MX	Οι απομακρυσμένες μεταστάσεις δεν μπορούν να εκτιμηθούν.
M0	Όχι κλινική ή ακτινολογική ένδειξη απομακρυσμένων μεταστάσεων.
M0(i+)	Όχι κλινική ή ακτινολογική ένδειξη απομακρυσμένων μεταστάσεων με παρουσία καρκινικών κυττάρων ή εναποθέσεων μεγαλύτερων των 2mm ανιχνεύσιμων μικροσκοπικά ή με μοριακές μεθόδους στο αίμα, το μυελό των οστών ή σε άλλον ιστό.
M1	Απομακρυσμένες μεταστάσεις ανιχνεύσιμες κλινικά ή ακτινογραφικά.

Πίνακας 7: Σταδιοποίηση καρκίνου του μαστού.

Στάδιο (Stage)	T	N	M	
0	Tis	N0	M0	
IA	T1	N0	M0	
IB	T0	N1mi	M0	
	T1	N1mi	M0	
IIA	T0	N1	M0	
	T1	N1	M0	
	T2	N0	M0	
	IIB	T2	N1	M0
		T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0	
	T1	N2	M0	
	T2	N2	M0	
	T3	N1	M0	
	T3	N2	M0	
	IIIB	T4	N0	M0
		T4	N1	M0
		T4	N2	M0
		Κόθε T	N3	M0

IV	Κάθε T	Κάθε T	M1
-----------	--------	--------	----

Με βάση το ανωτέρω σύστημα σταδιοποίησης για το δείγμα της μελέτης μας, προέκυψε ο κάτωθι Πίνακας (Πίνακας 8).

Πίνακας 8: Σταδιοποίηση του δείγματος βάσει της 7^{ης} έκδοσης του Συστήματος TNM.

		N	%
Στάδιο	0	6	5,1
	I	14	11,9
	II	40	33,9
	III	58	49,2

Επιπλέον συνυπολογίζοντας τα χαρακτηριστικά του όγκου (< 20mm), την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων και το ανωτέρω σύστημα (TNM 7th Ed), γίνεται σαφές ότι οι ασθενείς της μελέτης είχαν όγκους Tis και T1 και λεμφαδένες N0, N1mi, N1, N2 και N3.

2.2.2 Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις

Οι ανοσοϊστοχημικές χρώσεις για τις HDAC-2 πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα ιστών με καρκίνο μαστού, μονιμοποιημένα με διάλυμα φορμόλης και εγκλεισμένα σε παραφίνη. Για τις ανοσοχρώσεις χρησιμοποιήθηκαν πολυκλωνικά αντί-HDAC-2 (sc-7899, Santa Cruz Biotechnology) αντισώματα, σε έτοιμο διάλυμα 200μg/ml. Τα αντισώματα προέρχονται από λαγούς, με επίτοπο που αντιστοιχεί στο 435-488 του C-terminus του HDAC-2.

Οι ιστοί αρχικά τεμαχίστηκαν σε τεμάχια πάχους 4μm, και κατόπιν παρασκευής με διάλυμα ξυλόλης και αλκοόλης, ξεπλύθηκαν με νερό. Η λήψη των αντιγόνων έγινε ύστερα από έκθεση των δειγμάτων σε μικροκύματα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών ιόντων 10mM (pH 6.1) σε μέγιστη ένταση για δεκαπέντε λεπτά, ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή. Προκειμένου να κατασταλεί η ενδογενής δραστηριότητα της υπεροξειδάσης, τα ιστοτεμάχια τοποθετήθηκαν σε φρέσκο διάλυμα 0.3% υπεροξειδίου του υδρογόνου και μεθανόλη, σε σκότος, για τριάντα λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Η σύνδεση με μη ειδικά αντισώματα παρεμποδίστηκε χρησιμοποιώντας την ουσία Background Sniper (Sniper, Biocare Medical, Concord, California, USA) για πέντε λεπτά. Η ουσία αυτή βοηθά περιορίζοντας το μη ειδικό χρωματισμό των δειγμάτων από μη ειδικά αντισώματα και την επιμόλυνση των δειγμάτων από μικροβιακούς παράγοντες. Τα δείγματα παρέμειναν για δέκα λεπτά και στη συνέχεια ξεπλύθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα.

Στη συνέχεια, τα ιστοτεμάχια παρέμειναν για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου σε επαφή με τα αντι-HDAC-2 αντισώματα, σε τιτλοποίηση 1:200 σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών/άλατος (Phosphate Buffered Saline, PBS), ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή και κατόπιν τούτου τοποθετήθηκαν αρχικά σε βιοτινυλιωμένο αντιδραστήριο σύνδεσης (Biocare Medical) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και μετά σε διάλυμα στρεπταβιδίνης σεσημασμένης με υπεροξειδάση (Biocare Medical). Η υπολειπόμενη ανοσολογική δραστηριότητα αναπτύχθηκε σε υπόστρωμα 3,3-διάμινοβενζιδίνης ή DAB (Vector Laboratories, California, USA) για επίσης δέκα λεπτά. Οι χρώσεις των ιστοτεμαχίων έγιναν με αιματοξυλίνη Harris και στη συνέχεια τα ιστοτεμάχια αναρτήθηκαν σε Entellan (Merck, Darmstadt, Germany). Τα αρνητικά δείγματα ελέγχου δημιουργήθηκαν παραλείποντας τα κύρια αντισώματα. Ως θετικά δείγματα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν

ιστοτεμάχια από αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος στο οποίο είναι αποδεδειγμένη η έκφραση των HDAC-2 (33). Η δυνατότητα κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων εξετάστηκε μέσω της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του Ki-67.

Πίνακας 9: Τεχνική επεξεργασίας ιστοτεμαχίων της μελέτης.

1. Εμπέδωση τομών ιστού πάχους 4μm σε παραφίνη.
2. Αποπαραφίνωση σε ξυλόλη για 20 λεπτά.
3. Ενυδάτωση σε διαδοχικές συγκεντρώσεις αιθανόλης (100°, 100°, 96°, 80°, 75°, 70°) για 5 λεπτά στη καθεμία.
4. Έκπλυση με απεσταγμένο νερό.
5. Κορεσμός της ενδογενούς υπεροξειδάσης με 0.3% H ₂ O ₂ σε μεθανόλη για 30 λεπτά στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Εμβάπτιση σε διάλυμα Background Sniper για 10 λεπτά.
7. Έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα.
8. Προσθήκη διαλυμένου πρωτογενούς αντι-HDAC-2 αντισώματος σε τιτλοποίηση 1:200 και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 60 λεπτά.
9. Εμβάπτιση για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε βιοτινυλιωμένο αντιδραστήριο σύνδεσης.
10. Εμβάπτιση σε διάλυμα στρεπταβιδίνης σεσημασμένης με υπεροξειδάση.
11. Επώαση με 3,3-τετραυδροχλωρική διάμινο-βενζιδίνη (DAB) σε θερμοκρασία δωματίου.
12. Χρώση με αιματοξιλίνη Harris και ανάρτηση σε Entellan.

2.2.3 Εκτίμηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης

Η εκτίμηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης έγινε από τρεις ανεξάρτητους παρατηρητές, ο οποίοι δεν είχαν πρόσβαση στα δεδομένα της μελέτης. Έγινε καταμέτρηση τουλάχιστον χιλίων καρκινικών κυττάρων ανά δείγμα και θετικά για την HDAC-2 θεωρήθηκαν εκείνα τα δείγματα στα οποία τουλάχιστον το 5% των καρκινικών κυττάρων είχε χρωματιστεί θετικά. Για την εκτίμηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης για την HDAC-2, χρησιμοποιήθηκε φωτονικό μικροσκόπιο ενώ η βαθμολόγηση έγινε βάσει μιας ημιποσοτικής κλίμακας (Score) από 0 έως 4, η οποία ορίστηκε ως ο λόγος των κυττάρων με θετική ανοσοϊστοχημική χρώση - πυρηνική ή/και κυτταροπλασματική - προς το συνολικό αριθμό των κυττάρων του όγκου. Με βάση λοιπόν την ανωτέρω κλίμακα, προκύπτει: 0: Αρνητική χρώση, 1: Θετική χρώση για <10% των καρκινικών κυττάρων, 2: Θετική χρώση για $\geq 10\%$ και <33% των καρκινικών κυττάρων, 3: Θετική χρώση για $\geq 33\%$ και <66% των καρκινικών κυττάρων και 4: Θετική χρώση για $\geq 66\%$ των καρκινικών κυττάρων. Η βαθμολόγηση της έντασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης έγινε χρησιμοποιώντας μια ημιποσοτική κλίμακα (Score) από 0 έως 3, βάσει της οποίας 0: Αρνητική χρώση, 1: Μέτρια χρώση, 2: Ενδιάμεση χρώση και 3: Έντονη χρώση. Τελικώς, η ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2 υπολογίστηκε από το γινόμενο των τιμών των ανωτέρω κλιμάκων και έτσι χαρακτηρίστηκε ως χαμηλή αν το αποτέλεσμα ήταν από 0 έως 6, και ως υψηλή αν το αποτέλεσμα ήταν από 8 έως 12. Το ανωτέρω σύστημα ποσοτικοποίησης συνοψίζεται στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 10).

Πίνακας 10: Κλίμακες ποσοτικοποίησης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης της HDAC-2.

Βαθμολογία	0	1	2	3	4
Ποσοστό θετικών κυττάρων (%)	0	<10	≥ 10 και <33	≥ 33 και <66	≥ 66

Ανοσοϊστοχημική χρώση	Αρνητική	Θετική		
		Μέτρια	Ενδιάμεση	Έντονη
	0	1	2	3
Ένταση ανοσοϊστοχημικής χρώσης	0-6		8-12	
	Χαμηλή		Υψηλή	

Με τον τρόπο αυτό διασφαλίστηκε ο επαρκής αριθμός και ο ομοιογενής χαρακτήρας των περιστατικών ανά ομάδα, έτσι ώστε στη συνέχεια να μπορούμε να οδηγηθούμε σε συγκριτικά αποτελέσματα και συμπεράσματα.

Η ανοσοαντίδραση της Ki-67 ποσοτικοποιήθηκε με βάση το επί τοις εκατό ποσοστό των θετικά χρωματισμένων καρκινικών πυρήνων, επεκτείνοντας την μέση ποσοστιαία τιμή σε δύο κατηγορίες: άνωθεν και κάτωθεν της μέσης τιμής.

2.2.4 Στατιστική ανάλυση

Οι μέσες τιμές (Mean), οι τυπικές αποκλίσεις (Standard Deviation = SD), οι διάμεσοι (Median) και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (Interquartile Range) χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποσοτικών μεταβλητών. Οι απόλυτες (N) και οι σχετικές (%) συχνότητες χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποιοτικών μεταβλητών. Για τη σύγκριση αναλογιών χρησιμοποιήθηκε το Pearson's χ^2 test ή το Fisher's exact test, όπου ήταν απαραίτητο. Για τη σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ δυο ομάδων χρησιμοποιήθηκε το Student's t-test ή το μη παραμετρικό κριτήριο Mann-Whitney. Για τη σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ περισσότερων από δυο ομάδων χρησιμοποιήθηκε το μη παραμετρικό κριτήριο Kruskal-Wallis. Για τον έλεγχο του σφάλματος τύπου I, λόγω των πολλαπλών συγκρίσεων χρησιμοποιήθηκε η

διόρθωση κατά Bonferroni σύμφωνα με την οποία το επίπεδο σημαντικότητας είναι $0,05/\kappa$ (όπου κ = αριθμός των συγκρίσεων). Για τον έλεγχο της σχέσης δυο ποσοτικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (r). Η συσχέτιση θεωρείται χαμηλή όταν ο συντελεστής συσχέτισης (r) κυμαίνεται από 0,1 έως 0,3, μέτρια όταν ο συντελεστής συσχέτισης κυμαίνεται από 0,31 έως 0,5 και υψηλή όταν ο συντελεστής είναι μεγαλύτερος από 0,5. Για την απεικόνιση της αθροιστικής πιθανότητας επιβίωσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kaplan-Meier. Για τη σύγκριση των καμπυλών επιβίωσης χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος log-rank test. Για την εύρεση ανεξάρτητων παραγόντων που σχετίζονται με την υποτροπή και την επιβίωση των συμμετεχόντων έγινε πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης με χρήση μοντέλων αναλογικού κινδύνου Cox (Cox proportional-hazard models), από την οποία προέκυψαν οι σχετικοί κίνδυνοι (Hazard ratio) με τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης τους (95% ΔΕ). Οι αλληλεπιδράσεις των μεταβλητών με το χρόνο χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να ελεγχθούν οι θεωρητικές προϋποθέσεις του μοντέλου. Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα και η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0,05. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 22.0 για υπολογιστές με λειτουργικό Windows (SPSS Inc, 2003, Chicago, USA).

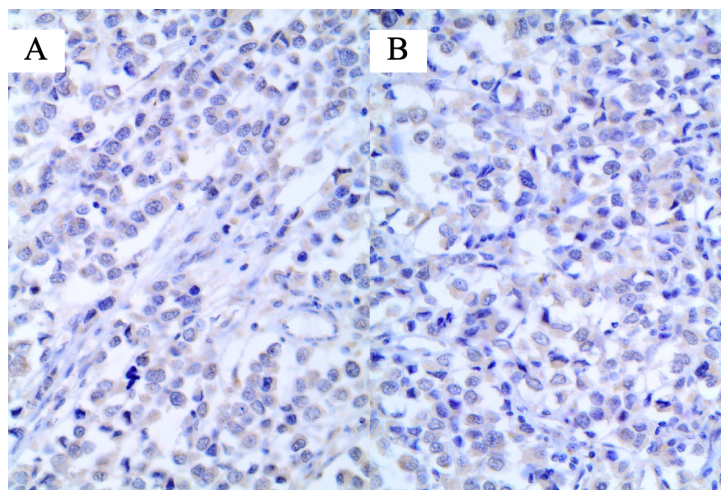
3. Αποτελέσματα

3.1 Συσχέτιση της έκφρασης της HDAC-2 με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους

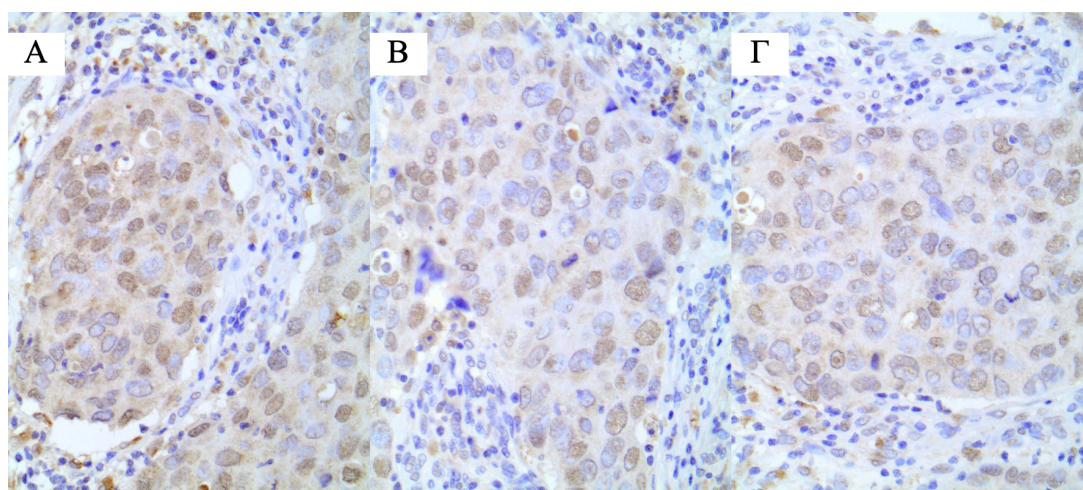
114 (96,6%) εκ των 118 περιπτώσεων καρκίνου του μαστού απεδείχθησαν θετικές για την HDAC-2. Συνεπώς, μόνο σε 4 περιπτώσεις η ανοσοϊστοχημική χρώση για την HDAC-2 ήταν αρνητική (Εικόνα 1). Σε όλες τις θετικές περιπτώσεις, η κατανομή της HDAC-2 ήταν στον πυρήνα. Με βάση την ανωτέρω περιγραφήσα εκτίμηση της

έντασης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης, 22 περιπτώσεις (18,6%) είχαν υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 (Εικόνα 2) και οι υπόλοιπες 96 (81,4%) είχαν χαμηλό (Εικόνα 3).

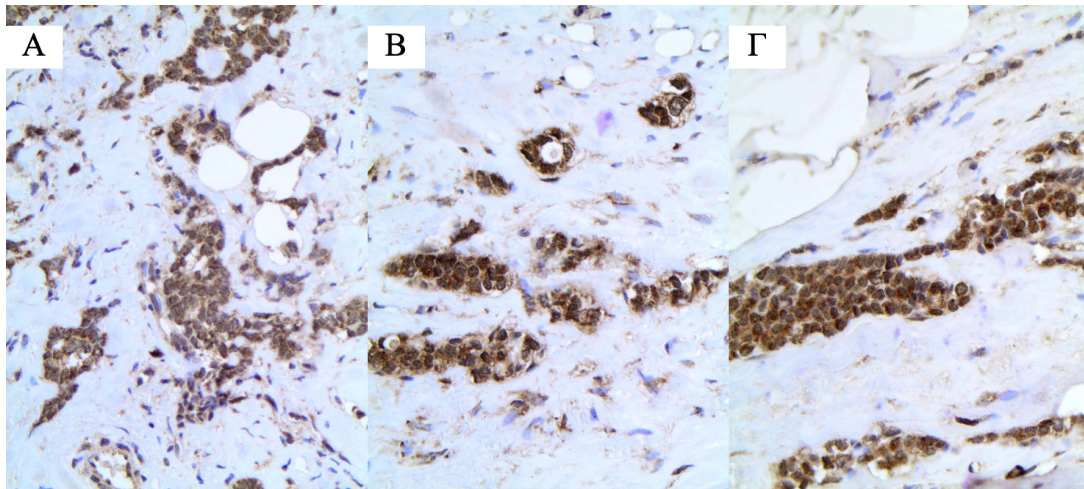
Εικόνα 1: Αρνητική ανοσοϊστοχημική χρώση για την HDAC-2 σε ιστοτεμάχια καρκίνου μαστού. A, B: Μεγέθυνση x400.



Εικόνα 2: Χαμηλή προς μέτρια ανοσοϊστοχημική χρώση για την HDAC-2 σε ιστοτεμάχια καρκίνου μαστού. A, B, Γ: Μεγέθυνση x400.

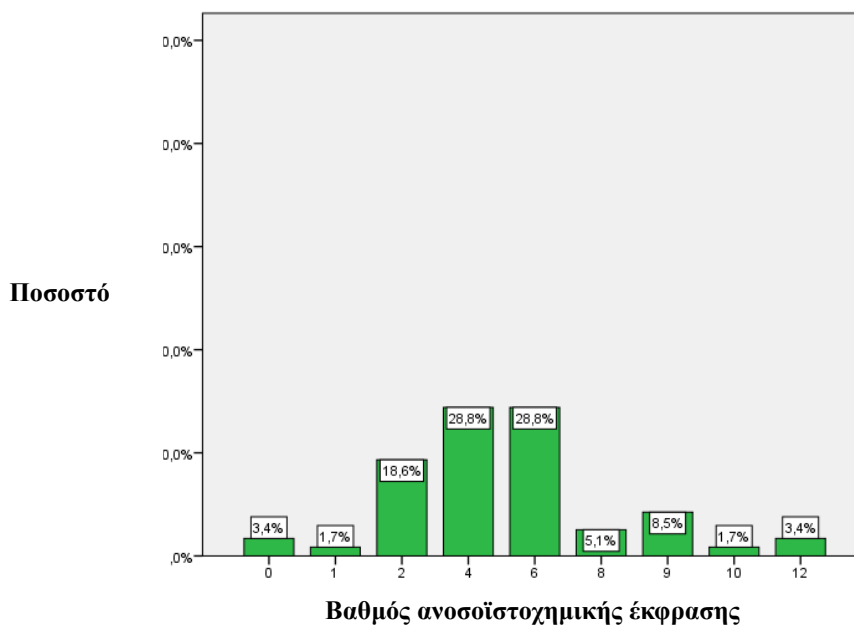


Εικόνα 3: Υψηλή ανοσοϊστοχημική χρώση για την HDAC-2 σε ιστοτεμάχια καρκίνου μαστού. Α, Β, Γ: Μεγέθυνση x400.

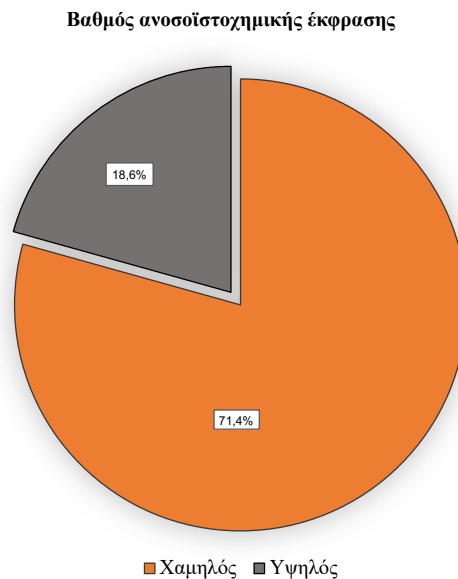


Ο μέσος βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των συμμετεχουσών ήταν 5,02 μονάδες (SD = 2,71 μονάδες). Στα Γραφήματα (Διάγραμμα 6-16) και στους Πίνακες (Πίνακας 11-25) που ακολουθούν παρουσιάζονται αναλυτικά οι συσχετίσεις της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με ποικίλες κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους των συμμετεχουσών.

Διάγραμμα 6: Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.



Διάγραμμα 7: Επίπεδα της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.



Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 11) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 σε σχέση με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους όπως: η ηλικία, ο ιστολογικός τύπος, ο βαθμός διαφοροποίησης (Grade) και ο μοριακός υπότυπος του όγκου των συμμετεχουσών.

Πίνακας 11: Συσχέτιση βαθμού ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με την ηλικία, τον ιστολογικό τύπο, το βαθμό διαφοροποίησης (Grade) και το μοριακό υπότυπο.

	Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης				<i>p</i>
	Χαμηλός		Υψηλός		
	N	%	N	%	

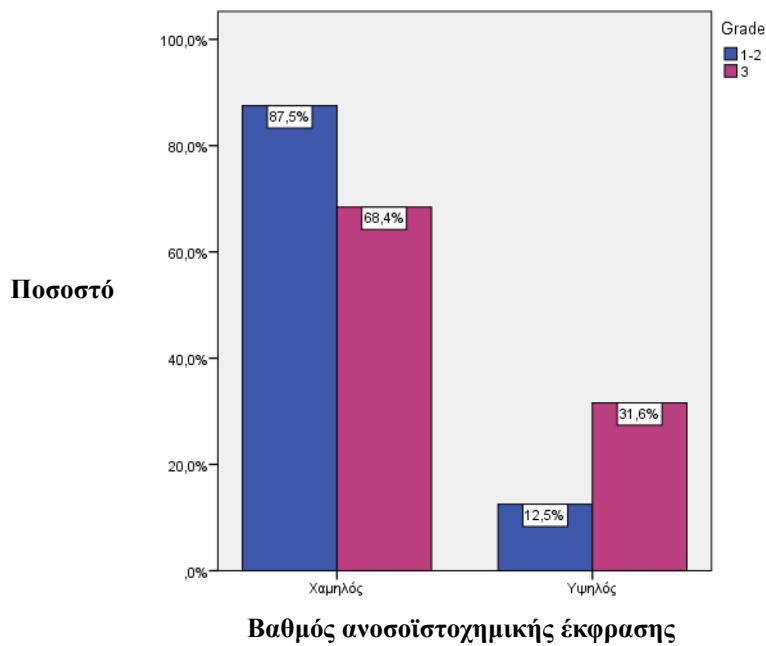
Ηλικία, μέση τιμή (SD)		63,4 (8,5)		64,8 (7,1)		0,475‡
Ιστολογικός τύπος	Πορογενές	86	84,3	16	15,7	0,004++
	Λοβιακό	4	40,0	6	60,0	
	Άλλο	6	100,0	0	0,0	
Grade	1-2	70	87,5	10	12,5	0,013+
	3	26	68,4	12	31,6	
Μοριακός υπότυπος	Basal like	0	0,0	0	0,0	0,057++
	HER-2	12	100,0	0	0,0	
	Luminal A	40	83,3	8	16,7	
	Luminal B	26	68,4	12	31,6	
	Triple negative	18	90,0	2	10,0	
Στάδιο	0	6	100,0	0	0,0	<0,001++
	I	14	100,0	0	0,0	
	II	40	100,0	0	0,0	
	III	36	62,1	22	37,9	

+Pearson's χ^2 test ++Fisher's exact test ‡Student's t-test

Τα ποσοστά υψηλής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 διέφεραν σημαντικά ανάλογα με τον ιστολογικό τύπο, το Grade και το στάδιο των συμμετεχουσών. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με λοβιακό καρκίνο ($p = 0,004$) είχαν σε υψηλότερο ποσοστό υψηλή ανοσοϊστοχημική έκφραση, όπως και οι ασθενείς με Grade 3 ($p = 0,05$) και οι ασθενείς Σταδίου III ($p = 0,001$). Όσον αφορά το μοριακό υπότυπο, φαίνεται ότι οι ασθενείς με Luminal B είχαν σε οριακά υψηλότερο ποσοστό υψηλής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης ($p = 0,057$).

Στο παρακάτω Γράφημα (Διάγραμμα 8) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ανάλογα με το βαθμό διαφοροποίησης (Grade) των συμμετεχουσών.

Διάγραμμα 8: Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης ανάλογα με το Grade των συμμετεχουσών.



Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 12) περιγράφεται το μέγεθος (διάμετρος) και το ελεύθερο χειρουργικό όριο εκτομής του όγκου των συμμετεχουσών, σε σχέση με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

Πίνακας 12: Συσχέτιση βαθμού ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με το μέγεθος του όγκου και το όριο εκτομής.

	Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης		<i>P</i>
	Χαμηλός	Υψηλός	

	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	
Μέγεθος (mm)	9,8 (8,3)	8 (7 - 10)	8,2 (2,9)	9 (5 - 10)	0,767 ^{‡‡}
Όριο (mm)	0,21 (0,52)	0 (0 - 0)	0,55 (1,04)	0 (0 - 0,5)	0,304 ^{‡‡}

^{‡‡} Mann-Whitney test

Παρόμοια ήταν το μέγεθος και το ελεύθερο χειρουργικό όριο εκτομής του όγκου των συμμετεχουσών με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης και εκείνων με υψηλό βαθμό. Συνεπώς δε φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 και στο μέγεθος του όγκου και το ελεύθερο χειρουργικό όριο εκτομής.

Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 13) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ανάλογα με την έκφραση των οιστρογονικών (ER) και προγεστερονικών υποδοχέων (PR) τους καρκίνου των συμμετεχουσών.

Πίνακας 13: Συσχέτιση βαθμού ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με την έκφραση οιστρογονικών (ER) και προγεστερονικών (PR) υποδοχέων.

		Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης				<i>p</i>
		Χαμηλός		Υψηλός		
		N	%	N	%	
ER %	μέση τιμή (SD)	60,5	80	76,3	80	0,163 ^{‡‡}
	διάμεσος (ενδ. εύρος)	(39,7)	(10 - 92,5)	(28,1)	(75 - 95)	
ER	Αρνητικοί	30	93,8	2	6,3	0,035+

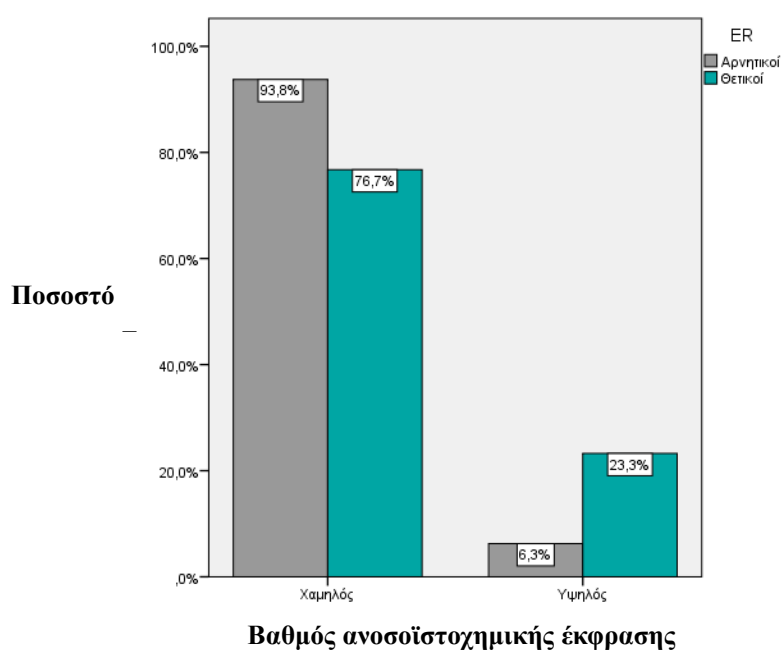
	Θετικοί	66	76,7	20	23,3	
PR % , μέση τιμή (SD)		39,5	32,5	54	50	0,122 ^{††}
διάμεσος (ενδ. εύρος)		(37,8)	(0 - 80)	(38,7)	(1 - 90)	
PR	Αρνητικοί	32	84,2	6	15,8	0,583 ⁺
	Θετικοί	64	80,0	16	20,0	

⁺Pearson's χ^2 test ^{††}Mann-Whitney test

Οι ασθενείς με καρκίνους με θετική έκφραση οιστρογονικών υποδοχέων (ER) είχαν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό ($p = 0,035$) υψηλή ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2.

Στο παρακάτω Διάγραμμα (Διάγραμμα 9) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 σε σχέση με τη θετική έκφραση οιστρογονικών υποδοχέων (ER) του καρκίνου των συμμετεχουσών.

Διάγραμμα 9: Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ανάλογα με τους οιστρογονικούς υποδοχείς (ER) των συμμετεχουσών.



Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 14) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 στους όγκους των συμμετεχουσών σε σχέση με την έκφραση του C-erb B-2 και με το αν ήταν ή όχι τριπλά αρνητικοί (Triple negative, TN).

Πίνακας 14: Συσχέτιση βαθμού ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με την έκφραση του C-erb B-2 και την ύπαρξη ή μη, τριπλά αρνητικού καρκίνου.

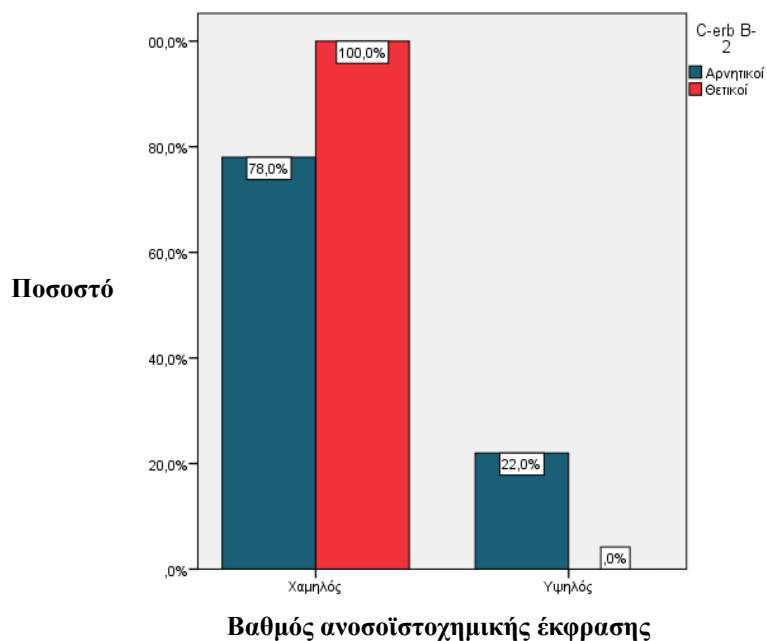
		Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης				<i>p</i>
		Χαμηλός		Υψηλός		
		N	%	N	%	
C-erb B-2	Αρνητικοί	78	78,0	22	22,0	0,023 ⁺⁺
	Θετικοί	18	100,0	0	0,0	
Triple negative	No	78	79,6	20	20,4	0,359 ⁺⁺
	Yes	18	90,0	2	10,0	

⁺⁺Fisher's exact test

Οι ασθενείς με αρνητική έκφραση του C-erb B-2 είχαν σε σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό ($p = 0,023$) υψηλή ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2.

Στο παρακάτω Διάγραμμα (Διάγραμμα 10) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 των συμμετεχουσών ανάλογα με την έκφραση (θετική ή αρνητική) του C-erb B-2 των όγκων.

Διάγραμμα 10: Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ανάλογα με την έκφραση του C-erb B-2 των συμμετεχουσών.



Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 15) δίνεται το p53 και το Ki67 των συμμετεχουσών ανάλογα με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

Πίνακας 15: Συσχέτιση του p53 και του Ki67 των συμμετεχουσών ανάλογα με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

	Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης				<i>p</i>
	Χαμηλός		Υψηλός		
	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	
p53%	35,2 (16,3)	35,2 (35,2 - 35,2)	62,5 (16,4)	62,5 (62,5 - 62,5)	0,167 ^{‡‡}
Ki67	24,2 (16,3)	25 (10 - 30)	20,9 (7,2)	20 (15 - 25)	0,791 ^{‡‡}

^{‡‡}Mann-Whitney test

Παρόμοια ήταν το p53 και το Ki67 των συμμετεχουσών με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 σε σχέση με εκείνες με υψηλό βαθμό.

Στη συνέχεια αναλύθηκε και ως ποσοτική μεταβλητή ο βαθμός της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 των συμμετεχουσών. Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 16) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ανάλογα με τον ιστολογικό τύπο, το βαθμό διαφοροποίησης (Grade) και το μοριακό υπότυπό τους.

Πίνακας 16: Συσχέτιση του βαθμού ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με τον ιστολογικό τύπο, το βαθμό διαφοροποίησης (Grade) και το μοριακό υπότυπο του όγκου των συμμετεχουσών.

		Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης		<i>p</i>
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	
Ιστολογικός τύπος	Πορογενές	4,9 (2,6)	4 (2 - 6)	0,075+
	Λοβιακό	6,6 (3,7)	8 (6 - 9)	
	Άλλο	4 (0)	4 (4 - 4)	
Grade	1-2	4,8 (2,6)	4 (4 - 6)	0,118‡‡
	3	5,4 (2,9)	6 (2 - 8)	

Μοριακός υπότυπος	Basal like	-	-	0,240+
	HER-2	4,3 (1,4)	4 (4 - 6)	
	Luminal A	5,3 (2,5)	6 (4 - 6)	
	Luminal B	5,5 (3,1)	4 (2 - 8)	
	Triple negative	3,9 (2,8)	4 (2 - 6)	
Στάδιο	0	4 (1,8)	4 (2 - 6)	<0,001+
	I	1,3 (0,9)	2 (0 - 2)	
	II	4 (1,3)	4 (4 - 4)	
	III	6,7 (2,5)	6 (6 - 9)	

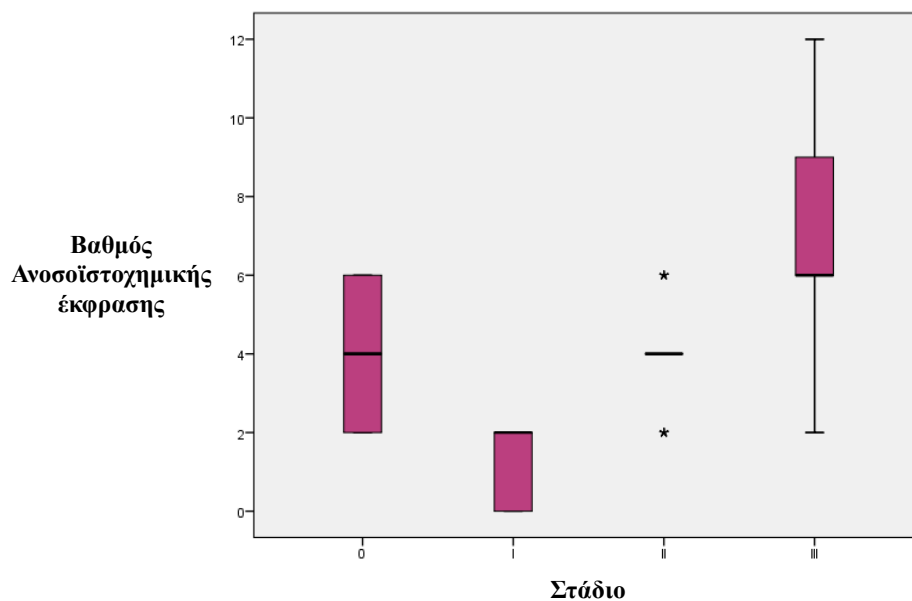
[†]Kruskal-Wallis test, ^{‡‡}Mann-Whitney test

Ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 των συμμετεχουσών βρέθηκε να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με το στάδιό τους. Συγκεκριμένα, μετά τη διόρθωση κατά Bonferroni βρέθηκε ότι οι ασθενείς σταδίου I είχαν σημαντικά χαμηλότερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης σε σύγκριση με τους ασθενείς σταδίου 0, II και III ($p = 0,003$, $p < 0,001$ και $p < 0,001$ αντίστοιχα). Επίσης, οι ασθενείς

σταδίου III είχαν σημαντικά υψηλότερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης σε σύγκριση με τους ασθενείς σταδίου II ($p < 0,001$).

Ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 των συμμετεχουσών ανάλογα με το στάδιο τους δίνεται στο ακόλουθο Διάγραμμα (Διάγραμμα 9).

Διάγραμμα 10: Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ανάλογα με το στάδιο του όγκου των συμμετεχουσών.



Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 17) δίνεται ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman της ηλικίας, του μεγέθους και του ελεύθερου χειρουργικού ορίου εκτομής του όγκου των συμμετεχουσών με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

Πίνακας 17: Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 σε σχέση με την ηλικία, τις διαστάσεις και το όριο εκτομής.

		Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης	
Ηλικία (έτη)	r	0,03	
	p	0,730	
Μέγεθος (mm)	r	-0,05	
	p	0,633	
Όριο εκτομής (mm)	r	-0,07	
	p	0,470	

Δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση της ηλικίας, του μεγέθους και του ελεύθερου χειρουργικού ορίου εκτομής του όγκου των συμμετεχουσών, με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 18) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 των συμμετεχουσών ανάλογα με την έκφραση των οιστρογονικών (ER) και προγεστερονικών (PR) υποδοχέων.

Πίνακας 18: Συσχέτιση βαθμού ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με την έκφραση οιστρογονικών (ER) και προγεστερονικών (PR) υποδοχέων.

		Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης		<i>p</i>
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	
ER	Αρνητικοί	4,1 (2,4)	4 (2 - 6)	0,044^{††}

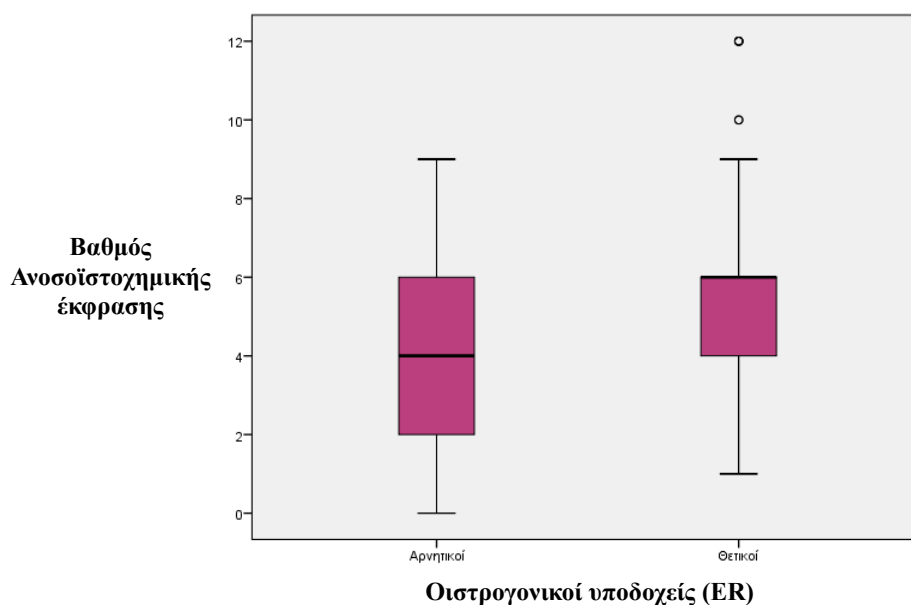
	Θετικοί	5,4 (2,7)	6 (4 - 6)	
PR	Αρνητικοί	4,7 (3,2)	4 (2 - 6)	0,270 ^{‡‡}
	Θετικοί	5,2 (2,5)	5 (4 - 6)	

^{‡‡}Mann-Whitney test

Οι ασθενείς με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ER) είχαν σημαντικά μεγαλύτερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 σε σύγκριση με τους ασθενείς με αρνητικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ER).

Στο παρακάτω Διάγραμμα (Διάγραμμα 11) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 των συμμετεχουσών ανάλογα με την ύπαρξη ή μη θετικών οιστρογονικών υποδοχέων (ER).

Διάγραμμα 11: Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ανάλογα με τους οιστρογονικούς υποδοχείς (ER) των συμμετεχουσών.



Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 19) δίνεται ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman του βαθμού έκφρασης οιστρογονικών (ER) και προγεστερονικών (PR) υποδοχέων των συμμετεχουσών με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

Πίνακας 19: Συσχέτιση του βαθμού ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με οιστρογονικούς (ER) και των προγεστερονικούς (PR) υποδοχείς.

		Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης
ER %	r	0,12
	p	0,186
PR %	r	0,20
	p	0,032

Η έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) βρέθηκε να συσχετίζεται με χαμηλό βαθμό συσχέτισης με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2. Υψηλότερη έκφραση των προγεστερονικών υποδοχέων σχετιζόταν με υψηλότερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης.

Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 20) δίνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 των συμμετεχουσών ανάλογα με την έκφραση του C-erb B-2 και την ύπαρξη τριπλά αρνητικού (Triple negative, TN) όγκου.

Πίνακας 20: Συσχέτιση βαθμού ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με την έκφραση του C-erb B-2 και την ύπαρξη τριπλά αρνητικού (Triple negative, TN) όγκου.

		Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης		<i>p</i>
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	
C-erb B-2	Αρνητικοί	5,2 (2,9)	5 (4 - 6)	0,218 ^{‡‡}
	Θετικοί	4,2 (1,5)	4 (4 - 6)	
Triple negative	Όχι	5,2 (2,6)	4 (4 - 6)	0,082 ^{‡‡}
	Ναι	3,9 (2,8)	4 (2 - 6)	

^{‡‡}Mann-Whitney test

Ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 των συμμετεχουσών δε διέφερε σημαντικά σε σχέση με την έκφραση του C-erb B-2. Ωστόσο οι τριπλά αρνητικοί (Triple negative, TN) όγκοι είχαν ενδεικτικά σημαντικά ($p < 0.1$) χαμηλότερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης.

Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 21) δίνεται ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman των p53 και Ki67 των συμμετεχουσών με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

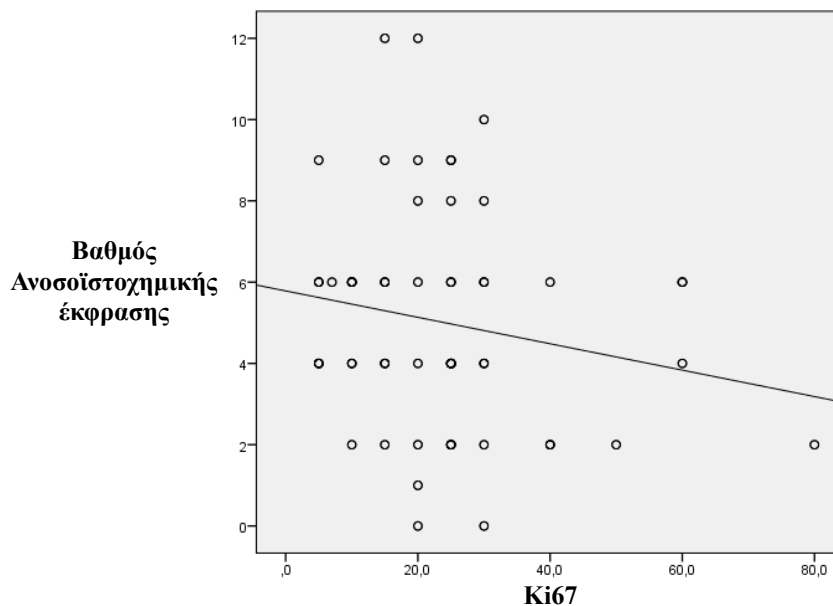
Πίνακας 21: Συσχέτιση του p53 και του Ki67 των συμμετεχουσών ανάλογα με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

		Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης
p53%	<i>r</i>	0,30
	<i>p</i>	0,001
Ki67	<i>r</i>	-0,18
	<i>p</i>	0,050

Υψηλότερες τιμές του p53 σχετίζονταν με σημαντικά υψηλότερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2. Αντίθετα, υψηλότερες τιμές του Ki67 σχετίζονταν με σημαντικά χαμηλότερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης, ωστόσο η συσχέτιση αυτή ήταν χαμηλού βαθμού (οριακή συσχέτιση).

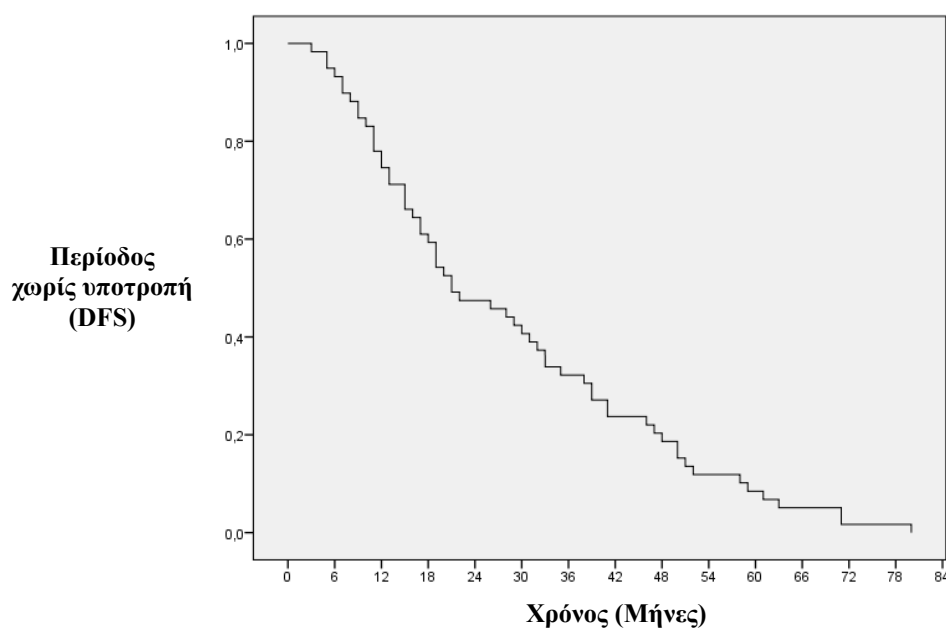
Στο Διάγραμμα που ακολουθεί (Διάγραμμα 12) παρουσιάζεται το διάγραμμα διασποράς (Scatter plot) για τη συσχέτιση του Ki67 με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

Διάγραμμα 12: Διασπορά (Scatter plot) συσχέτισης του Ki67 με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.



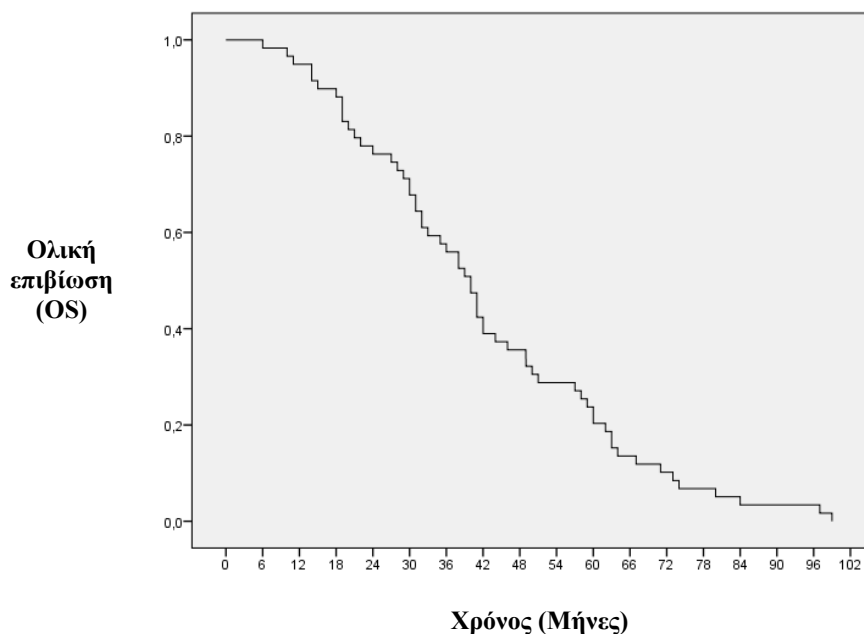
Στη συνέχεια, έγινε συσχέτιση των ανωτέρω παραμέτρων με την υποτροπή και το θάνατο. Όπως αναφέρθηκε αρχικά, στο πρωτόκολλο της μελέτης εντάχθηκαν ασθενείς που υπεβλήθησαν αποκλειστικά σε χειρουργική θεραπεία με εκτομή του όγκου χωρίς υπολειπόμενη νόσο (R0 εκτομή) και κατέληξαν αποκλειστικά από καρκίνο μαστού. Επομένως, όλες οι ασθενείς είχαν υποτροπή και θάνατο. Ο μέσος χρόνος χωρίς υποτροπή (Disease Free Survival, DFS) ήταν 28,6 μήνες (SE = 1,80 μήνες) και ο διάμεσος ήταν 21 μήνες. Η καμπύλη του χρόνου μέχρι την υποτροπή με τη μέθοδο Kaplan-Meier δίνεται στο γράφημα που ακολουθεί (Διάγραμμα 13).

Διάγραμμα 13: Καμπύλη περιόδου χωρίς υποτροπή της νόσου (DFS).



Ο μέσος χρόνος επιβίωσης (Overall Survival, OS) ήταν 42,2 μήνες (SE = 1,99 μήνες) και ο διάμεσος ήταν 40 μήνες. Η καμπύλη του χρόνου επιβίωσης με τη μέθοδο Kaplan-Meier δίνεται στο γράφημα που ακολουθεί (Διάγραμμα 14).

Διάγραμμα 14: Καμπύλη ολικής επιβίωσης (OS).



Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 22) δίνονται τα αποτελέσματα των μονοπαραγοντικών μοντέλων Cox για το χρόνο χωρίς υποτροπή (DFS) και ανεξάρτητη μεταβλητή το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ως ποσοτική και ως ποιοτική μεταβλητή.

Πίνακας 22: Συσχέτιση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με το χρόνο χωρίς υποτροπή (DFS).

Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης		HR (95% ΔΕ) ⁺	<i>p</i>
Ποσοτική μεταβλητή		1,27 (1,17 - 1,36)	<0,001
Ποιοτική μεταβλητή	Χαμηλός (Αναφορά)		
	Υψηλός	3,96 (2,31 - 6,8)	<0,001

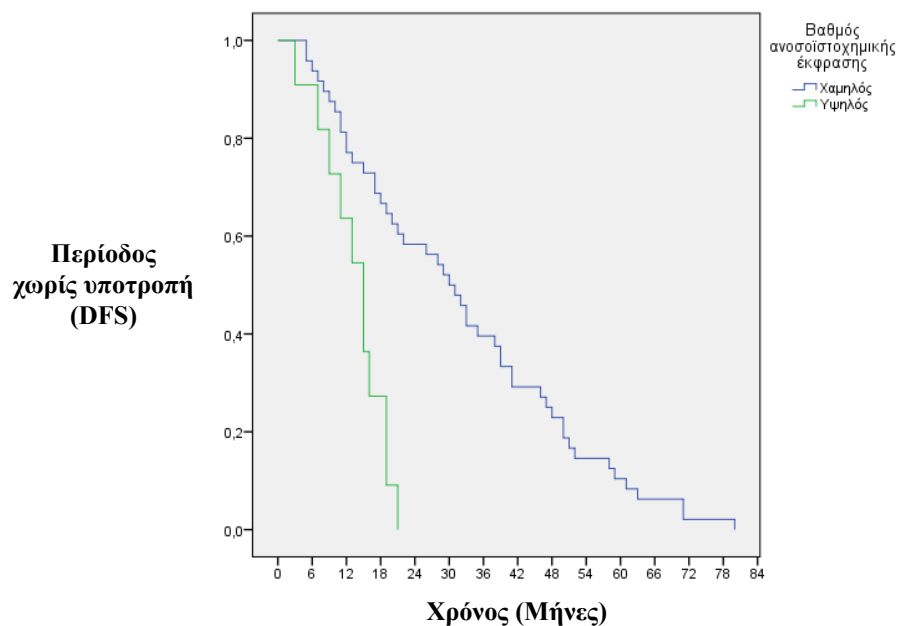
⁺Σχετικός κίνδυνος (95% Διάστημα εμπιστοσύνης)

Ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με την υποτροπή τόσο ως ποσοτική αλλά και ως ποιοτική μεταβλητή. Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι:

- Όσο αυξάνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης τόσο αυξάνεται ο κίνδυνος υποτροπής.
- Οι συμμετέχουσες με υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης είχαν 3,96 φορές υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης.

Η καμπύλη του χρόνου μέχρι την υποτροπή (DFS) με τη μέθοδο Kaplan-Meier, ανάλογα με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, δίνεται στο Γράφημα που ακολουθεί (Διάγραμμα 15).

Διάγραμμα 15: Χρόνος μέχρι την υποτροπή (DFS) σε σχέση με την ανοσοϊστοχημική έκφρασης της HDAC-2.



Για τις ασθενείς με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, ο μέσος χρόνος μέχρι την υποτροπή της νόσου (DFS) ήταν 32,08 μήνες (SE = 2,03 μήνες) και ο διάμεσος ήταν 30 μήνες. Για τις ασθενείς με υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης, ο μέσος χρόνος μέχρι την υποτροπή της νόσου (DFS) ήταν σημαντικά χαμηλότερος και ίσος με 13,46 μήνες (SE = 1,15 μήνες) και ο διάμεσος ήταν 15 μήνες ($p_{\log\text{-rank}} < 0,001$).

Στη συνέχεια έγινε πολυπαραγοντική ανάλυση Cox με εξαρτημένη μεταβλητή τον χρόνο μέχρι την υποτροπή (DFS) και ανεξάρτητες τα δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχουσών, τα κλινικά τους στοιχεία καθώς και τα στοιχεία που αφορούν στη νόσο τους. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον κάτωθι Πίνακα (Πίνακας 23).

Πίνακας 23: Συσχέτιση του χρόνου χωρίς υποτροπή (DFS) και των κλινικοεργαστηριακών παραμέτρων των ασθενών.

		HR (95% ΔΕ)+	<i>p</i>
Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης	Χαμηλός (Αναφορά)		
	Υψηλός	3,32 (1,57 - 7,01)	0,002
Ηλικία		0,99 (0,96 - 1,01)	0,316
Ιστολογικός τύπος	Πορογενές (Αναφορά)		
	Λοβιακό	2,32 (0,95 - 5,67)	0,065
	Άλλο	3,25 (1,27 - 8,36)	0,014
Grade	1-2 (Αναφορά)		

	3	0,61 (0,31 - 1,19)	0,144
Στάδιο		3,04 (2,15 - 4,3)	<0,001
ER	Αρνητικοί (Αναφορά)		
	Θετικοί	1,66 (0,57 - 4,87)	0,356
PR	Αρνητικοί (Αναφορά)		
	Θετικοί	0,17 (0,07 - 0,43)	<0,001
C-erb B-2	Αρνητικοί (Αναφορά)		
	Θετικοί	2,36 (1,33 - 4,2)	0,003
Triple negative	Όχι (Αναφορά)		
	Ναι	1,40 (0,86 - 2,29)	0,179

⁺Σχετικός κίνδυνος (95% Διάστημα εμπιστοσύνης)

Ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, ο ιστολογικός τύπος, το στάδιο και η θετική έκφραση των προγεστερονικών υποδοχέων (PR) και του C-erb B-2 βρέθηκαν να σχετίζονται ανεξάρτητα με την υποτροπή. Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι:

- Οι συμμετέχουσες με υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, είχαν 3,32 φορές υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης.

- Οι συμμετέχουσες με ιστολογικό τύπο διαφορετικό του πορογενούς και του λοβιακού, είχαν 3,25 φορές υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με πορογενή τύπο.
- Πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου σχετιζόνταν με υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής.
- Οι συμμετέχουσες με θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς (PR) είχαν κατά 83% χαμηλότερο κίνδυνο υποτροπής σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με αρνητικούς υποδοχείς.
- Οι συμμετέχουσες με θετική έκφραση του C-erb B-2 είχαν 2,36 φορές υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με αρνητικούς υποδοχείς.

Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 24) δίνονται τα αποτελέσματα των μονοπαραγοντικών μοντέλων Cox με εξαρτημένη μεταβλητή το χρόνο μέχρι το θάνατο και ανεξάρτητη το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 ως ποσοτική και ως ποιοτική μεταβλητή.

Πίνακας 24: Συσχέτιση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με την ολική επιβίωση (OS).

Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης		HR (95% ΔΕ)+	p
Ποσοτική μεταβλητή		1,24 (1,15 - 1,33)	<0,001
Ποιοτική μεταβλητή	Χαμηλός (Αναφορά)		
	Υψηλός	3,23 (1,94 - 5,4)	<0,001

⁺Σχετικός κίνδυνος (95% Διάστημα εμπιστοσύνης)

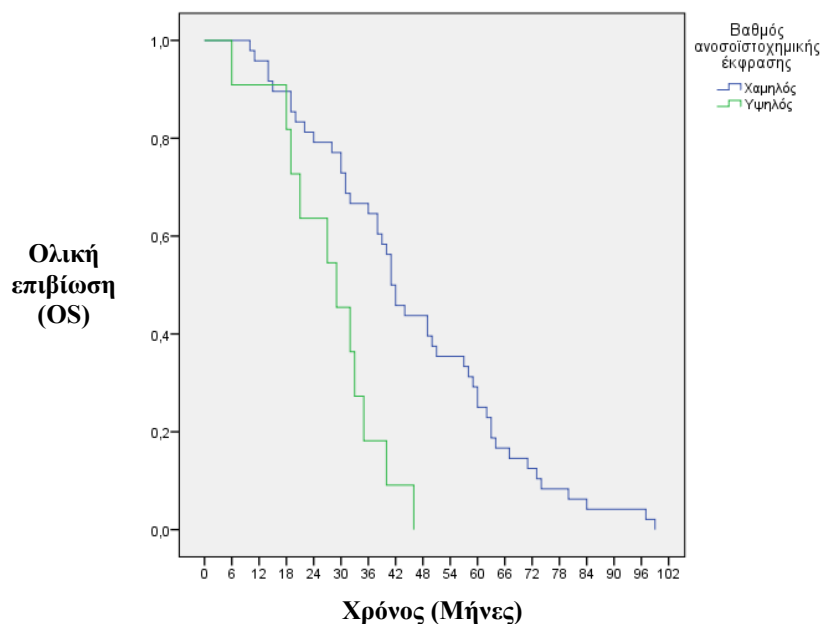
Ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με την επιβίωση (OS) τόσο ως ποσοτική αλλά και ως ποιοτική μεταβλητή.

Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι:

- Όσο αυξάνεται ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης τόσο αυξάνεται ο κίνδυνος θανάτου.
- Οι συμμετέχουσες με υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης είχαν 3,23 φορές υψηλότερο κίνδυνο σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης.

Η καμπύλη του χρόνου επιβίωσης (OS) με τη μέθοδο Kaplan-Meier, ανάλογα με το βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, δίνεται στο Γράφημα που ακολουθεί (Διάγραμμα 16).

Διάγραμμα 16: Χρόνος μέχρι το θάνατο (OS) σε σχέση με την ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2.



Για τις ασθενείς με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, ο μέσος χρόνος επιβίωσης (OS) ήταν 45,46 μήνες (SE = 2,26 μήνες) και ο διάμεσος ήταν 41 μήνες. Για τις ασθενείς με υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης, ο μέσος χρόνος επιβίωσης (OS) ήταν σημαντικά χαμηλότερος και ίσος με 27,82 μήνες (SE = 2,35 μήνες) και ο διάμεσος ήταν 29 μήνες ($p_{\log\text{-rank}} < 0,001$).

Στη συνέχεια έγινε πολυπαραγοντική ανάλυση Cox, με εξαρτημένη μεταβλητή το χρόνο μέχρι το θάνατο (OS) και ανεξάρτητες τα δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχουσών, τα κλινικά τους στοιχεία καθώς και τα στοιχεία που αφορούν στη νόσο τους. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον κάτωθι Πίνακα (Πίνακας 25).

Πίνακας 25: Συσχέτιση της ολικής επιβίωσης (OS) και των κλινικοεργαστηριακών παραμέτρων των ασθενών.

		HR (95% ΔΕ)+	p
Βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης	Χαμηλός (Αναφορά)		
	Υψηλός	2,56 (1,31 - 4,99)	0,006
Ηλικία		0,99 (0,96 - 1,01)	0,236
Ιστολογικός τύπος	Πορογενές (Αναφορά)		
	Λοβιακό	2,67 (0,97 - 7,38)	0,058
	Άλλο	6,48 (2,46 - 17,06)	<0,001
Grade	1-2 (Αναφορά)		

	3	0,62 (0,32 - 1,2)	0,155
Στάδιο		3,38 (2,43 - 4,71)	<0,001
ER	Αρνητικοί (Αναφορά)		
	Θετικοί	0,65 (0,22 - 1,89)	0,431
PR	Αρνητικοί (Αναφορά)		
	Θετικοί	0,35 (0,13 - 0,92)	0,034
C-erb B-2	Αρνητικοί (Αναφορά)		
	Θετικοί	3,24 (1,76 - 5,98)	<0,001
Triple negative	Όχι (Αναφορά)		
	Ναι	1,56 (0,96 - 2,55)	0,075

⁺Σχετικός κίνδυνος (95% Διάστημα εμπιστοσύνης)

Ο βαθμός ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, ο ιστολογικός τύπος, το στάδιο και η θετική έκφραση των προγεστερονικών υποδοχέων (PR) και του C-erb B-2 βρέθηκαν να σχετίζονται ανεξάρτητα με την επιβίωση (OS). Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι:

- Οι συμμετέχουσες με υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, είχαν 2,56 φορές υψηλότερο κίνδυνο θανάτου σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης.

- Οι συμμετέχουσες με ιστολογικό τύπο διαφορετικό του πορογενούς και του λοβιακού, είχαν 6,48 φορές υψηλότερο κίνδυνο θανάτου σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με πορογενή τύπο.
- Πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου σχετίζονταν με υψηλότερο κίνδυνο θανάτου.
- Οι συμμετέχουσες με θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς (PR) είχαν κατά 65% χαμηλότερο κίνδυνο θανάτου σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με αρνητικούς υποδοχείς.
- Οι συμμετέχουσες με θετικούς υποδοχείς C-erb B-2 είχαν 3,24 φορές υψηλότερο κίνδυνο θανάτου σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες με αρνητικούς υποδοχείς.

3.2 Κλινική σημασία της έκφρασης της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού

Στο παρόν εδάφιο συνοψίζονται τα αποτελέσματα της μελέτης και παρατίθενται η κλινική ερμηνεία και οι συνεπαγόμενες πιθανές μελλοντικές θεραπευτικές στρατηγικές.

Η παρούσα μελέτη κατέδειξε πως τα ποσοστά υψηλής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 διέφεραν σημαντικά ανάλογα με τον ιστολογικό τύπο, το Grade και το στάδιο των συμμετεχουσών. Συγκεκριμένα: Υψηλή ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2 παρουσίασε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το λοβιακό καρκίνωμα και το βαθμό διαφοροποίησης Grade 3. Συνεπώς, διαφαίνεται πως η αγωγή με αναστολείς της HDAC-2 σε ασθενείς με λοβιακό καρκίνωμα, πιθανώς να παρέχει θεραπευτικό όφελος. Ομοίως και για ασθενείς με Grade 3. Πιθανώς να επωφεληθούν και οι ασθενείς με μοριακό υπότυπο Luminal B, στους οποίους η συσχέτιση με την αυξημένη ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2, ήταν οριακή.

Άλλο υποσχόμενο εύρημα της παρούσης μελέτης αποτελεί η στατιστικά σημαντική συσχέτιση της υψηλής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με τη θετική έκφραση οιστρογονικών υποδοχέων (ER) και την αρνητική έκφραση του C-erb B-2. Αυτό σημαίνει πως πιθανό θεραπευτικό όφελος από τη χορήγηση αναστολέων της HDAC-2, θα έχουν οι ασθενείς με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς και αρνητικό έλεγχο για C-erb B-2. Η κλινική αξία των ανωτέρω ευρημάτων αφενός έγκειται στο ότι ενδεχομένως η θεραπεία με αναστολείς της HDAC-2 μπορεί να συνδυαστεί με άλλες θεραπείες που χορηγούνται επί θετικών ορμονικών υποδοχέων (ταμοξιφαίνη, αναστραζόλη, εξεμεστάνη κ.α) και αφετέρου στο ότι μπορεί δυνητικά να παρέχει μια νέα υποσχόμενη θεραπεία για ασθενείς με αρνητική έκφραση του C-erb B-2 για τις οποίες δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα ιδιαίτερες θεραπευτικές επιλογές. Υπενθυμίζουμε πως η θεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα Trastuzumab (Herceptin) ενδείκνυται μόνο επί θετικών C-erb B-2 υποδοχέων, στερώντας έτσι τα θεραπευτικά του οφέλη από τις ασθενείς με αρνητικούς C-erb B-2 υποδοχείς. Άλλη δυνητική θεραπευτική στρατηγική θα μπορούσε να είναι η στόχευση των όγκων με βάση τις τιμές του p53 και του Ki67, καθότι υψηλές τιμές τους φάνηκε να σχετίζονται (έστω και οριακά για το Ki67) με υψηλότερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2.

Άλλη μια παράμετρος που φάνηκε να σχετίζεται με την υψηλή ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2 είναι το στάδιο της νόσου. Για την ακρίβεια ασθενείς σταδίου III είχαν σημαντικά υψηλότερο βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης σε σύγκριση με τους ασθενείς λοιπών σταδίων. Το αποτέλεσμα αυτό, συνυπολογίζοντας το δείγμα της μελέτης μας (διάμετρος όγκου <20mm) και το σύστημα σταδιοποίησης που χρησιμοποιήσαμε (TNM 7th Edition), μεταφράζεται πως ασθενείς με θετικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες επιπέδου I και II ή/και με θετικούς έσω μαστικούς λεμφαδένες, εμφάνισαν υψηλή ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2. Συνεπώς οι

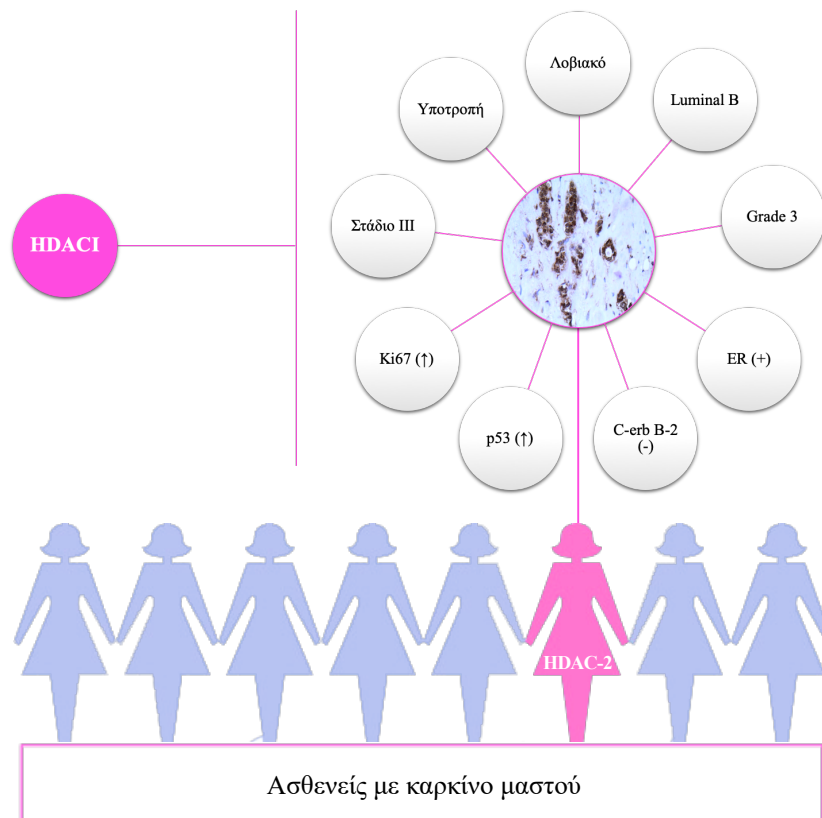
αναστολείς της HDAC-2 μπορεί όχι μόνο να έχουν ένδειξη επί μεταστατικής στους λεμφαδένες νόσου, αλλά μπορεί ακόμα και να προφυλάσσουν από λεμφαδενικές μεταστάσεις.

Εκτός όμως από τις ανωτέρω παραμέτρους, μεγάλης κλινικής σημασία είναι η συσχέτιση της υψηλής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2 με την υποτροπή της νόσου και τη συνολική επιβίωση. Η μελέτη αυτή κατέδειξε ότι οι συμμετέχουσες με υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, εμφάνιζαν υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής της νόσου αφού ο μέσος χρόνος μέχρι την υποτροπή της νόσου ήταν σημαντικά χαμηλότερος σε σχέση με εκείνες με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2. Όσον αφορά την ολική επιβίωση, η μελέτη αυτή κατέδειξε ότι οι συμμετέχουσες με υψηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2, εμφάνιζαν υψηλότερο κίνδυνο θανάτου από τη νόσο καθότι ο μέσος χρόνος επιβίωσης ήταν σημαντικά χαμηλότερος σε σχέση με των ασθενών με χαμηλό βαθμό ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της HDAC-2. Τα δεδομένα αυτά θέτουν την υπόνοια πως η θεραπεία με αναστολείς της HDAC-2 αφενός αυξάνει την επιβίωση των ασθενών και αφετέρου όχι μόνο ενδείκνυται επί υποτροπής της νόσου αλλά δρα και προστατευτικά, προφυλάσσοντας ίσως από πιθανή υποτροπή.

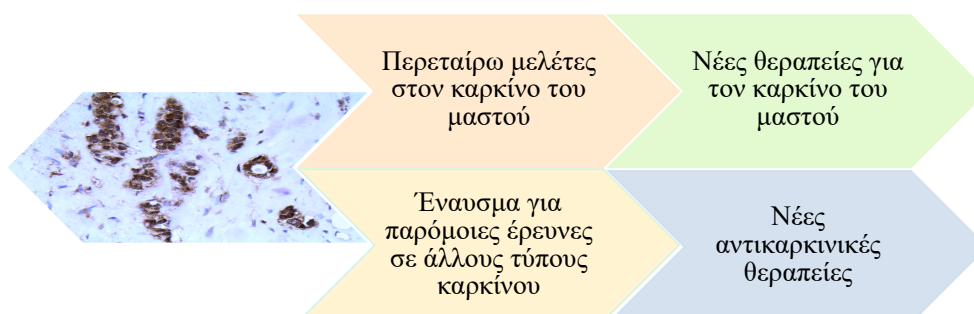
Συνοψίζοντας τα ανωτέρω, η κλινική σημασία της έκφρασης της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού είναι διπλή: Από τη μια ορίζονται οι ομάδες των ασθενών που θα ωφεληθούν θεραπευτικά από τη στόχευση των HDAC-2 (Εικόνα 4) και από την άλλη τίθενται οι βάσεις προσανατολισμού της έρευνας για την εξεύρεση νέων θεραπευτικών στόχων και την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών που θα μπορούσαν να εφαρμοστούν είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με ήδη υπάρχουσες θεραπείες. Με άλλα λόγια, τα ευρήματα της παρούσης μελέτης σε συνδυασμό με τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα (περιγράφονται στο εδάφιο που ακολουθεί), θέτουν τη βάση

για νέες μελέτες - πειραματικές και κλινικές, όχι μόνο ενάντια στον καρκίνο του μαστού αλλά και σε άλλες νεοπλασματικές νόσους (Εικόνα 5).

Εικόνα 4: Προτεινόμενες με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης ομάδες ασθενών που θα ωφεληθούν θεραπευτικά από τη στόχευση των απακετυλασών HDAC-2.



Εικόνα 5: Τα ευρήματα της παρούσης μελέτης, θέτουν τη βάση για νέες μελέτες - πειραματικές και κλινικές, όχι μόνο ενάντια στον καρκίνο του μαστού αλλά και σε άλλες νεοπλασματικές νόσους.



4. Συζήτηση

Είναι πλέον αποδεκτό ότι οι απακετυλάσες των ιστονών (HDAC) αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου - συμπεριλαμβανομένης της διαφοροποίησης, της απόπτωσης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού - σε ποικίλους τύπους καρκίνου [383]. Επιπλέον, ο αυξημένος βαθμός έκφρασής τους σχετίζεται με τη διαχείριση και την επιβίωση των ασθενών [390, 391, 393, 1142-1145].

Στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε την κλινική σημασία της έκφρασης της HDAC-2 σε 118 περιπτώσεις ανθρώπινου καρκίνου του μαστού. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι υψηλά επίπεδα HDAC-2 συσχετίζονταν με λοβιακό ιστολογικό τύπο καρκίνου του μαστού ($p < 0,005$). Επιπλέον, θετικά δείγματα με θετική έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων (ER+) και του C-erbB-2, ήταν πιο πιθανό να παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα ανοσοϊστοχημικής χρώσης της HDAC-2 σε σύγκριση με εκείνα με θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς (PR+) ή με τριπλά αρνητικά καρκινώματα. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υπερέκφρασης της HDAC-2 και του Σταδίου III ($p < 0.001$) και του Grade 3 που υποδηλώνουν επιθετική συμπεριφορά του όγκου και χειρότερη πρόγνωση. Άλλο εξίσου σημαντικό αποτέλεσμα της μελέτης είναι ότι η ελεύθερη υποτροπής νόσου περίοδος (DFS) και η ολική επιβίωση (OS) ήταν αρνητικά σχετιζόμενες με την υψηλή ανοσοϊστοχημική έκφραση της HDAC-2, επιβεβαιώνοντας τις ανωτέρω παρατηρήσεις σχετικά με την πρόγνωση.

Όσον αφορά τα βιβλιογραφικά δεδομένα, ένας πολύ μικρός αριθμός μελετών έχει αξιολογήσει την κλινική σημασία της έκφρασης της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού. Η πλειοψηφία αυτών των μελετών συμφωνεί με τα αποτελέσματά μας, ωστόσο υπάρχουν και μελέτες με αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Το 2013, η μελέτη του Derr και των συνεργατών του, κατέδειξε ότι μόνο ο συνδυασμός των υψηλής έκφρασης SIRT-1, LSD1 και HDAC-2 σχετίζεται με

μικρότερη επιβίωση και αυξημένη πιθανότητα υποτροπής [1147]. Η υπέρ-έκφραση της HDAC-2 δε φάνηκε να έχει κάποια κλινική σημασία. Την ίδια χρονιά, ο Seo και οι συνεργάτες του κατέγραψαν ότι τα υψηλά επίπεδα έκφρασης της HDAC-2 σχετίζονται με μεγαλύτερη ολική επιβίωση σε ασθενείς με όγκους με αρνητική έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) [1148]. Τα ανωτέρω αντικρουόμενα αποτελέσματα σε σχέση με την παρούσα μελέτη, μπορούν να εξηγηθούν από το διαφορετικό περιβάλλον και τη διαφορετική εθνικότητα των ασθενών. Επιπλέον, το μέγεθος του δείγματος είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στον οποίο μπορεί να αποδοθεί η διαφοροποίηση των αποτελεσμάτων. Η μελέτη του Deir και των συνεργατών του περιλάμβανε 822 ασθενείς [1147] ενώ η μελέτη του Seo και των συνεργατών του 300 [1148], σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη στην οποία χρησιμοποιήσαμε δείγματα από 118 ασθενείς. Επιπροσθέτως, διαφορετικά τεχνικής φύσεως ζητήματα όπως είναι τα αντισώματα, τα διαλύματα, οι μέθοδοι χρώσης συμπεριλαμβανομένων των επιπέδων αραιώσεως και η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης, θα μπορούσαν να δικαιολογήσουν την ποικιλομορφία των αποτελεσμάτων. Για παράδειγμα, στην παρούσα μελέτη η ανοσοϊστοχημική χρώση εξετάστηκε λαμβάνοντας υπόψιν τόσο την έντασή της όσο και την εκατοστιαία αναλογία των χρωματισμένων κυττάρων. Τελευταία αλλά εξίσου σημαντική παράμετρος που πρέπει να αναφερθεί, είναι ότι κάθε μελέτη είχε διαφορετικά κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού των συμμετεχουσών ασθενών, σε σχέση με την ηλικία, το στάδιο της νόσου, τον ιστολογικό τύπο και την πολυεστιακότητα ή μη της νόσου. Αυτό εκ των πραγμάτων οδηγεί σε ετερογένεια του πληθυσμού μεταξύ των μελετών και έτσι μπορεί να δικαιολογήσει τα προαναφερθέντα αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Αντιθέτως, άλλες μελέτες δείχνουν αντίστοιχα αποτελέσματα με την παρούσα όσον αφορά την έκφραση της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού. Το 2013 η μελέτη

του Muller και των συνεργατών του, έδειξε ότι η HDAC-2 σχετίζεται με πιο επιθετικούς τύπους καρκίνου του μαστού και με λεμφαδενικές μεταστάσεις [1149]. Το 2016, μια μελέτη από την Κίνα έδειξε ότι υψηλότερα επίπεδα HDAC-2 σχετίζονται με χειρότερη κλινική έκβαση σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού, καθώς οι μεταστάσεις, η υποτροπή της νόσου και η αντοχή στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα, εμφανίζονται νωρίτερα. Συγκεκριμένα η υπερέκφρασή της HDAC-2 έδειξε ότι σχετίζεται με αντοχή στην χημειοθεραπεία που περιέχει ανθρακικλίνες, με λεμφαδενικές μεταστάσεις, έκφραση Ki67, προχωρημένο στάδιο TNM και υψηλότερο ιστολογικό βαθμό [1150]. Ένα χρόνο αργότερα, μια άλλη μελέτη έδειξε παρόμοια αποτελέσματα, περιγράφοντας ότι η υπερέκφραση της HDAC-2 σχετιζόταν με διήθηση των λεμφαδένων, κακώς διαφοροποιημένα καρκινώματα και χειρότερη κλινική έκβαση [690]. Συνεπώς, η παρούσα μελέτη επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών, ωστόσο για πρώτη φορά συσχετίζει την υπερέκφραση της HDAC-2 με τόσες πολλές δυσμενείς κλινικοπαθολογικές παραμέτρους των ασθενών με καρκίνο του μαστού. Ίσως όμως το πιο σημαντικό είναι πως η μελέτη αυτή είναι η μοναδική που κατέδειξε τη συσχέτιση ανάμεσα στην αυξημένη έκφραση της HDAC-2 και την αρνητική έκφραση του C-erb B-2. Αυτό αυτομάτως ανοίγει το δρόμο για νέες έρευνες και πιθανές θεραπευτικές επιλογές στις ασθενείς με αρνητικό C-erb B-2 οι οποίες δε μπορούν να επωφεληθούν της αγωγής με το μονοκλωνικό αντίσωμα Trastuzumab (Herceptin) το οποίο ενδείκνυται μόνο επί θετικών C-erb B-2 υποδοχέων, μη έχοντας λοιπόν μέχρι σήμερα ιδιαίτερες θεραπευτικές δυνατότητες.

Η στόχευση των HDAC μπορεί να είναι μια νέα υποσχόμενη θεραπευτική στρατηγική κατά του καρκίνου του μαστού, καθώς η έκφρασή τους παρατηρείται αυξημένη στη νόσο αυτή. Κάτι τέτοιο θα μπορούσε να επιτευχθεί με τη χρήση των HDACI. Το 2001, μια *in vitro* μελέτη έδειξε ότι οι HDACI βελτιώνουν την

ανταπόκριση στην ορμονοθεραπεία και αυξάνουν την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων σε κύτταρα καρκίνου μαστού [1151]. Αργότερα, ο Munster και οι συνεργάτες του παρατήρησαν σε μια κλινική μελέτη φάσης II, ότι ο συνδυασμός ταμοξιφαίνης και βορινοστάτης (αναστολέας απακετυλασών των ιστονών, HDACI) έχει καλύτερα κλινικά αποτελέσματα από τη μονοθεραπεία με ταμοξιφαίνη [1152]. Το 2019, μια άλλη μελέτη έδειξε ότι ένα φυσικός HDACI μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της έκφρασης της HDAC-2 σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού επάγοντας την απόπτωση και αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό των όγκων [1153]. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των HDAC, της έκφρασής τους και των HDACI, είναι ένα πολύπλοκο ζήτημα το οποίο είναι απαραίτητο να διευκρινιστεί με περαιτέρω μελέτες.

5. Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη διερεύνησε το βαθμό έκφρασης της HDAC-2 σε 118 γυναίκες ασθενείς με καρκίνο του μαστού και αποσκοπούσε στη συσχέτισή του με ποικίλες κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους του όγκου και την πρόγνωση των ασθενών. Η υψηλή έκφραση αυτής της πρωτεΐνης συνδέεται με επιθετικότερο όγκο, πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου και χειρότερη πρόγνωση. Αν και χρειάζονται περεταίρω μελέτες, η παρούσα απέδειξε ότι η έκφραση της HDAC-2 θα μπορούσε να αποτελέσει ένα νέο δυνητικό δείκτη επιθετικότητας και θεραπευτικού στόχου κατά του καρκίνου του μαστού. Εκτός από την HDAC-2, χρειάζονται μελλοντικές μελέτες τόσο σε ερευνητικό όσο και σε κλινικό επίπεδο για την κατανόηση των HDAC, του βιολογικού τους ρόλου και τους μηχανισμούς συμμετοχής τους στην ογκογένεση, στους ιστούς στους οποίους εκφράζονται. Κατά συνέπεια, οι αναστολείς τους, οι HDACI που ήδη χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη κατεξοχήν έναντι αιματολογικών κακοηθειών, θα μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν με πιο στοχευμένο και

αποτελεσματικό τρόπο, ενισχύοντας τις αντικαρκινικές τους δράσεις και ελαχιστοποιώντας την τοξικότητα και τις παρενέργειες τους όχι μόνο ενάντια στον καρκίνο του μαστού αλλά και σε άλλους καρκίνους.

ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Schiebinger L. Why mammals are called mammals: Gender politics in eighteenth-century natural history. *Am Historical Rev.* 1993;98:382-411.
2. Malliou S, Ajanantis N, Pavlidis N, Kappas A, Kriaras J, Geroulanos S. History of mastectomy. *Arch Hell Med.* 2006;23:260-278.
3. Λυδία Ιωαννίδου-Μουζάκα. Σύγχρονη Μαστολογία. Σελ. 55-61. 1996, Εκδόσεις Παρισιάνου.
4. Μάλλιου-Κριαρά Σ. Ο μαστός στην τέχνη. www.emedi.gr.
5. Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. Thorax. In: *Clinically oriented anatomy (7th ed)*. Eds: Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. Pages: 71-180. 2014, Lippincott Williams & Wilkins.
6. Χατζημπούγιας Ι. Ο Μαστός. Στοιχεία ανατομικής του ανθρώπου. Χατζημπούγιας Ι. Σελ. 267-276. 2000, Εκδόσεις GM Design.
7. Javed A, Lteif A. Development of the human breast. *Semin Plast Surg.* 2013;27:5-12.
8. Heffner LJ, Schust DJ. The breast and lactation. In: *The reproductive system at a glance (3rd ed)*. Eds: Heffner LJ, Schust DJ. Pages: 54-55. 2010, John Wiley & Sons Ltd.
9. Πανίτσα-Φαφλιά ΧΓ. Στοιχεία παιδικής και εφηβικής γυναικολογίας. Επίτομη μαιευτική και γυναικολογία. Μιχαλάς ΣΠ. Σελ. 359-376. 2000, Εκδόσεις Παρισιάνου.
10. Emmanuel M, Bokor BR. Tanner stages. *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019.
11. Mescher AL. The female reproductive system. *Junqueira's basic histology (13th ed)*. Eds: Mescher AL. Pages: 449-477. 2013, McGraw-Hill Education.

12. Young B, Lowe JS, Stevens A, Heath JW. Female reproductive system. Wheater's functional histology (5th ed). Eds: Young B, Lowe JS, Stevens A, Heath JW. Pages: 359-391. 2006, Elsevier.
13. Lowe JS, Anderson PG. Skin and breast. In: Stevens & Lowe's human histology (4th ed). Ιστολογία του Ανθρώπου. Eds: Lowe JS, Anderson PG. Pages: 363-384. 2015, Elsevier Mosby.
14. Helgason CM. Commentary on the significance for modern neurology of the 17th century B.C. Surgical Papyrus. Can J Neurol Sci. 1987;14:560-563.
15. Brawanski A. On the myth of the Edwin Smith papyrus: Is it magic or science? Acta Neurochir (Wien). 2012;154:2285-2291.
16. Harding F. Sorting historical fact from fiction. In: Breast Cancer. A cure at last! Eds: Harding F. Pages: 48-61. 2006, Tekline Publishing.
17. Rayter Z. History of breast cancer therapy. In: Medical therapy of breast. Eds: Rayter Z, Mansi J. Pages: 1-36. 2003, Cambridge University Press.
18. Cooper WH. The history of the radical mastectomy. Ann Med Hist. 1941;3:36-54.
19. De Moulin D. Antiquity. In: A short history of breast cancer. Eds: De Moulin D. Pages: 1-9. 1898, Springer.
20. Karpozilos A, Pavlidis N. The treatment of cancer in Greek antiquity. Eur J Cancer. 2004;40:2033-2040.
21. Papavramidou N, Papavramidis T, Demetriou T. Ancient Greek and Greco-Roman methods in modern surgical treatment of cancer. Ann Surg Oncol. 2010;17:665-667.
22. Lukong KE. Understanding breast cancer - The long and winding road. BBA Clin. 2017;7:64-77.

23. Cotlar AM, Dubose JJ, Rose DM. History of surgery for breast cancer: Radical to the sublime. *Curr Surg.* 2003;60:329-337.
24. Chikly B. Who discovered the lymphatic system. *Lymphology.* 1997;30:186-193.
25. Haas LF. Franciscus de le Boë or Sylvius 1614-72. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992;55:727.
26. Tubbs RS, Linganna S, Loukas M. Franciscus Sylvius (1614-1672): A historical review. *Childs Nerv Syst.* 2007;23:1-2.
27. Pope MH. Bernardino Ramazzini: The father of occupational medicine. *Spine (Phila Pa 1976).* 2004;29:2335-2338.
28. Mandell JB. Bathsheba's breast women, cancer & history. *J Clin Invest.* 2005;115:1397.
29. Boyd S. On oöphorectomy in the treatment of cancer. *Br Med J.* 1987;2:890-896.
30. Press DJ, Pharoah P. Risk factors for breast cancer: A reanalysis of two case-control studies from 1926 and 1931. *Epidemiology.* 2010;21:566-572.
31. Wainwright JM. A comparison of conditions associated with breast cancer in Great Britain and America. *Am J Cancer.* 1931;15:2610.
32. Dunn PM. Wilhelm Conrad Röntgen (1845-1923), the discovery of x rays and perinatal diagnosis *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2001;84:F138-F139.
33. Picard JD. History of mammography. *Bull Acad Natl Med.* 1998;182:1613-1620.
34. Bassett LW, Gold RH. The evolution of mammography. *AJR Am J Roentgenol.* 1988;150:493-498.
35. Kalaf JM. Mammography: A history of success and scientific enthusiasm. *Radiol Bras.* 2014;47:VII-VIII.
36. Fisher B, Bauer M, Margolese R, Poisson R, Pilch Y, Redmond C, Fisher E, Wolmark N, Deutsch M, Montague E, Saffer E, Wickerham L, Lerner H, Glass A,

- Shibata H, Deckers P, Ketcham A, Oishi R, Russell I. Five-year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and segmental mastectomy with or without radiation in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med.* 1985;312:665-673.
37. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Bauer M, Wolmark N, Wickerham DL, Deutsch M, Montague E, Margolese R, Foster R, Ten-year results of a randomized clinical trial comparing radical mastectomy and total mastectomy with or without radiation. *N Engl J Med.* 1985;312:674-681.
38. Fisher B. The evolution of paradigms for the management of breast cancer: A personal perspective. *Cancer Res.* 1992;52:2371-2383.
39. Lerner BH. No shrinking violet: Rose Kushner and the rise of American breast cancer activism. *West J Med.* 2001;174:362-365.
40. Braun S. The history of breast cancer advocacy. *Breast J.* 2003;9 Suppl 2;S101-S103.
41. Tata JR. One hundred years of hormones. *EMBO Rep.* 2005;6:490-496.
42. Jensen EV, Jacobson HI, Walf AA, Frye CA. Estrogen action: A historic perspective on the implications of considering alternative approaches. *Physiol Behav.* 2010;99:151-162.
43. Gorski J, Toft D, Shyamala G, Smith D, Notides A. Hormone receptors: Studies on the interaction of estrogen with the uterus. *Recent Prog Horm Res.* 1968;24:45-80.
44. Jordan VC. Tamoxifen: A most unlikely pioneering medicine. *Nat Rev Drug Discov.* 2003;2:205-213.
45. Plouffe L Jr. Selective estrogen receptor modulators (SERMs) in clinical practice. *J Soc Gynecol Investig.* 2000;7 Suppl 1:S38-S46.

46. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W, Bell R, Rosenthal J, Hussey C, Tran T, McClure M, Frye C, Hattier T, Phelps R, Haugen-Strano A, Katcher H, Yakumo K, Gholami Z, Shaffer D, Stone S, Bayer B, Wray C, Bogden R, Dayananth P, Ward J, Tonin P, Narod S, Bristow PK, Norris FH, Helvering L, Morrison P, Rosteck P, Lai M, Barrett JC, Lewis C, Neuhausen S, Cannon-Albright L, Goldgar D, Wiseman R, Kamb A, Skolnick MH. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*. 1994;266:66-71.
47. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, Collins N, Gregory S, Gumbs C, Micklem G. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*. 1995;378:789-792.
48. Cornejo-Moreno BA, Uribe-Escamilla D, Salamanca-Gomez F. Breast cancer genes: Looking for BRACA's lost brother. *Isr Med Assoc J*. 2014;16:787-792.
49. Scottish/Northern Irish BRCA1/BRCA2 Consortium. BRCA1 and BRCA2 mutations in Scotland and Northern Ireland. *Br J Cancer*. 2003;88:1256-1262.
50. Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *Annu Rev Biochem*. 1979;48:193-216.
51. Ullrich A, Coussens L, Hayflick JS, Dull TJ, Gray A, Tam AW, Lee J, Yarden Y, Libermann TA, Schlessinger J, Downward J, Mayes ELV, Whittle N, Waterfield MD, Seeburg PH. Human epidermal growth factor receptor cDNA sequence and aberrant expression of the amplified gene in A431 epidermoid carcinoma cells. *Nature*. 1984;309:418-425.
52. Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K. Similarity of protein encoded by the human c-erb-B-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature*. 1986;319:230-234.

53. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire RL. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, 1987;235:177-182.
54. Muller WJ, Sinn E, Pattengale PK, Wallace R, Leder P. Single-step induction of mammary adenocarcinoma in transgenic mice bearing the activated c-neu oncogene. 1988;54:105-115.
55. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406:747-752.
56. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Lønning PE, Børresen-Dale AL. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:10869-10874.
57. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, Martiat P, Fox SB, Harris AL, Liu ET. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:10393-10398.
58. Curtis C, Shah SP, Chin SF, Turashvili G, Rueda OM, Dunning MJ, Speed D, Lynch AG, Samarajiwa S, Yuan Y, Gräf S, Ha G, Haffari G, Bashashati A, Russell R, McKinney S; METABRIC Group, Langerød A, Green A, Provenzano E, Wishart G, Pinder S, Watson P, Markowitz F, Murphy L, Ellis I, Purushotham A, Børresen-Dale AL, Brenton JD, Tavaré S, Caldas C, Aparicio S; and Collaborators. The

- genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature*. 2012;486:346-352.
59. Rakha EA, Ellis IO. Triple-negative/basal-like breast cancer: Review. *Pathology*. 2009;41:40-47.
60. Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol*. 2011;5:5-23.
61. Kirk R. Risk factors. Oncotype DX assay predicts local recurrence in breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7:300.
62. Carlson B. Oncotype DX test offers guidance for women debating chemotherapy. *Biotechnol Healthc*. 2006;3:12-14.
63. Bao T, Davidson NE. Gene expression profiling of breast cancer. *Adv Surg*. 2008;42:249-260.
64. Morris SR, Carey LA. Gene expression profiling in breast cancer. *Curr Opin Oncol*. 2007;19:547-551.
65. Wakeling AE. Similarities and distinctions in the mode of action of different classes of antioestrogens. *Endocr Relat Cancer*. 2000;7:17-28.
66. Samavat H, Kurzer MS. Estrogen metabolism and breast cancer. *Cancer Lett*. 2015;356:231-243.
67. Chumsri S, Howes T, Bao T, Sabnis G, Brodie A. Aromatase, aromatase inhibitors, and breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011;125:13-22.
68. Clarke BL, Khosla S. New selective estrogen and androgen receptor modulators. *Curr Opin Rheumatol*. 2009;21:374-379.
69. Rimawi MF, Schiff R, Osborne CK. Targeting HER2 for the treatment of breast cancer. *Annu Rev Med*. 2015;66:111-128.

70. Paoletti C, Hayes DF. Molecular testing in breast cancer. *Annu Rev Med.* 2014;65:95-110.
71. Advani P, Moreno-Aspitia A. Current strategies for the prevention of breast cancer. *Breast Cancer (Dove Med Press).* 2014;6:59-71.
72. Domchek SM, Friebel TM, Singer CF, Evans DG, Lynch HT, Isaacs C, Garber JE, Neuhausen SL, Matloff E, Eeles R, Pichert G, Van t'veer L, Tung N, Weitzel JN, Couch FJ, Rubinstein WS, Ganz PA, Daly MB, Olopade OI, Tomlinson G, Schildkraut J, Blum JL, Rebbeck TR. Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality. *JAMA.* 2010;304:967-975.
73. Evans DG, Barwell J, Eccles DM, Collins A, Izatt L, Jacobs C, Donaldson A, Brady AF, Cuthbert A, Harrison R, Thomas S, Howell A; FH02 Study Group; RGC teams, Miedzybrodzka Z, Murray A. The Angelina Jolie effect: How high celebrity profile can have a major impact on provision of cancer related services. *Breast Cancer Res.* 2014;16:442.
74. Narod SA. The impact of contralateral mastectomy on mortality in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;128:581-583.
75. Swain SM, Baselga J, Kim SB, Ro J, Semiglazov V, Campone M, Ciruelos E, Ferrero JM, Schneeweiss A, Heeson S, Clark E, Ross G, Benyunes MC, Cortés J; CLEOPATRA Study Group. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2015;372:724-734.
76. Swain SM, Kim SB, Cortés J, Ro J, Semiglazov V, Campone M, Ciruelos E, Ferrero JM, Schneeweiss A, Knott A, Clark E, Ross G, Benyunes MC, Baselga J. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast

- cancer (CLEOPATRA study): Overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2013;14:461-471.
77. Wang J, Song P, Schrieber S, Liu Q, Xu Q, Blumenthal G, Amiri Kordestani L, Cortazar P, Ibrahim A, Justice R, Wang Y, Tang S, Booth B, Mehrotra N, Rahman A. Exposure-response relationship of T-DM1: Insight into dose optimization for patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;95:558-564.
78. Lambert JM, Chari RV. Ado-trastuzumab Emtansine (T-DM1): An antibody-drug conjugate (ADC) for HER2-positive breast cancer. *J Med Chem.* 2014;57:6949-6964.
79. Martínez MT, Pérez-Fidalgo JA, Martín-Martorell P, Cejalvo JM, Pons V, Bermejo B, Martín M, Albanell J, Lluch A. Treatment of HER2 positive advanced breast cancer with T-DM1: A review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;97:96-106.
80. Wang Z, Dabrosin C, Yin X, Fuster MM, Arreola A, Rathmell WK, Generali D, Nagaraju GP, El-Rayes B, Ribatti D, Chen YC, Honoki K, Fujii H, Georgakilas AG, Nowsheen S, Amedei A, Niccolai E, Amin A, Ashraf SS, Helferich B, Yang X, Guha G, Bhakta D, Ciriolo MR, Aquilano K, Chen S, Halicka D, Mohammed SI, Azmi AS, Bilsland A, Keith WN, Jensen LD. Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy. *Semin Cancer Biol.* 2015;35 Suppl:S224-S243.
81. O'Reilly EA, Gubbins L, Sharma S, Tully R, Guang MH, Weiner-Gorzel K, McCaffrey J, Harrison M, Furlong F, Kell M, McCann A. The fate of chemoresistance in triple negative breast cancer (TNBC). *BBA Clin.* 2015;3:257-275.

82. Gluz O, Liedtke C, Gottschalk N, Pusztai L, Nitz U, Harbeck N. Triple-negative breast cancer--current status and future directions. *Ann Oncol.* 2009;20:1913-1927.
83. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, Gerber B, Eiermann W, Hilfrich J, Huober J, Jackisch C, Kaufmann M, Konecny GE, Denkert C, Nekljudova V, Mehta K, Loibl S. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol.* 2012;30:1796-1804.
84. Denkert C, Liedtke C, Tutt A, von Minckwitz G. Molecular alterations in triple-negative breast cancer-the road to new treatment strategies. *Lancet.* 2017;389:2430-2442.
85. Miah S, Banks CA, Adams MK, Florens L, Lukong KE, Washburn MP. Advancement of mass spectrometry-based proteomics technologies to explore triple negative breast cancer. *Mol Biosyst.* 2016;13:42-55.
86. Crown J, O'Shaughnessy J, Gullo G. Emerging targeted therapies in triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2012;23 Suppl 6:VI56-65.
87. Liang H, Tan AR. Iniparib, a PARP1 inhibitor for the potential treatment of cancer, including triple-negative breast cancer. *IDrugs.* 2010;13:646-656.
88. Kong Q, Qiu M. Long noncoding RNA SNHG15 promotes human breast cancer proliferation, migration and invasion by sponging miR-211-3p. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;495:1594-1600.
89. Damaskos C, Garmpi A, Nikolettos K, Vavourakis M, Diamantis E, Patsouras A, Farmaki P, Nonni A, Dimitroulis D, Mantas D, Antoniou EA, Nikolettos N, Kontzoglou K, Garmpis N. Triple-negative breast cancer: The progress of targeted therapies and future tendencies. *Anticancer Res.* 2019;39:5285-5296.

90. Carrasco E, Alvarez PJ, Prados J, Melguizo C, Rama AR, Aránega A, Rodríguez-Serrano F. Cancer stem cells and their implication in breast cancer. *Eur J Clin Investig.* 2014;44:678-687.
91. Hayes EL, Lewis-Wambi JS. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer: An overview of the proposed roles of noncoding RNA. *Breast Cancer Res.* 2015;17:40.
92. Wu Q, Yang Z, Nie Y, Shi Y, Fan D. Multi-drug resistance in cancer chemotherapeutics: Mechanisms and lab approaches. *Cancer Lett.* 2014;347:159-166.
93. Rondon-Lagos M, Villegas VE, Rangel N, Sanchez MC, Zaphiropoulos PG. Tamoxifen resistance: Emerging molecular targets. *Int J Mol Sci.* 2016;17:E1357.
94. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008;58:71-96.
95. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394-424.
96. The Global Cancer Observatory (gco.iarc.fr).
97. Harris J, Lippman M, Veronesi U. Breast cancer. *N Engl J Med.* 1992;327:319-328.
98. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer.* 2019;144:1941-1953.
99. American Cancer Society. Breast cancer facts & figures 2017-2018. Atlanta: American Cancer Society, Inc. 2017.
100. American Cancer Society. Breast cancer facts & figures 2019-2020. Atlanta: American Cancer Society, Inc. 2019.

101. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (seer.cancer.gov).
102. Jatoi I, Anderson WF, Rosenberg PS. Qualitative age-interactions in breast cancer: A tale of two diseases? *Am J Clin Oncol*. 2008;31:504-506.
103. Colditz GA, Rosner BA, Chen WY, Holmes MD, Hankinson SE. Risk factors for breast cancer according to estrogen and progesterone receptor status. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96:218-228.
104. Kelsey JL, Bernstein L. Epidemiology and prevention of breast cancer. *Annu Rev Public Health*. 1996;17:47-67.
105. Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, Folger SG, Mandel MG, Daling JR, Bernstein L, Malone KE, Ursin G, Strom BL, Norman SA, Wingo PA, Burkman RT, Berlin JA, Simon MS, Spirtas R, Weiss LK. Oral contraceptives and the risk of breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;346:2025-2032.
106. Garbe E, Levesque L, Suissa S. Variability of breast cancer risk in observational studies of hormone replacement therapy: A meta-regression analysis. *Maturitas*. 2004;47:175-183
107. Kollias J, Ellis IO, Elston CW, Blamey RW. Clinical and histological predictors of contralateral breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 1999;25:584-589.
108. Hill DA, Gilbert E, Dores GM, Gospodarowicz M, van Leeuwen FE, Holowaty E, Glimelius B, Andersson M, Wiklund T, Lynch CF, Van't Veer M, Storm H, Pukkala E, Stovall M, Curtis RE, Allan JM, Boice JD, Travis LB. Breast cancer risk following radiotherapy for Hodgkin lymphoma: Modification by other risk factors. *Blood*. 2005;106:3358-3365.

109. Gammon MD, Eng SM, Teitelbaum SL, Britton JA, Kabat GC, Hatch M, Paykin AB, Neugut AI, Santella RM. Environmental tobacco smoke and breast cancer incidence. *Environ Res.* 2004;96:176-185.
110. Smith-Bindman R. Environmental causes of breast cancer and radiation from medical imaging: Findings from the Institute of Medicine report. *Arch Intern Med.* 2012;172:1023-1027.
111. Baer HJ, Colditz GA, Rosner B, Michels KB, Rich-Edwards JW, Hunter DJ, Willett WC. Body fatness during childhood and adolescence and incidence of breast cancer in premenopausal women: A prospective cohort study. *Breast Cancer Res.* 2005;7:R314-325.
112. Renoir JM, Marsaud V, Lazennec G. Estrogen receptor signaling as a target for novel breast cancer therapeutics. *Biochem Pharmacol.* 2013;85:449-465.
113. Saha Roy S, Vadlamudi RK. Role of estrogen receptor signaling in breast cancer metastasis. *Int J Breast Cancer.* 2012;2012:654698.
114. Said TK, Conneely OM, Medina D, O'Malley BW, Lydon JP. Progesterone, in addition to estrogen, induces cyclin D1 expression in the murine mammary epithelial cell, in vivo. *Endocrinology.* 1997;138:3933-3939.
115. Cicatiello L, Addeo R, Sasso A, Altucci L, Petrizzi VB, Borgo R, Cancemi M, Caporali S, Caristi S, Scafoglio C, Teti D, Bresciani F, Perillo B, Weisz A. Estrogens and progesterone promote persistent CCND1 gene activation during G1by inducing transcriptional derepression via c-Jun/c-Fos/estrogen receptor (progesterone receptor) complex assembly to a distal regulatory element and recruitment of cyclin D1 to its own gene promoter. *Mol Cell Biol.* 2004;24:7260-7274.

116. Zwijssen RM, Wientjens E, Klompmaker R, van der Sman J, Bernards R, Michalides RJ. CDK-independent activation of estrogen receptor by cyclin D1. *Cell*. 1997;88:405-415.
117. Lundberg AS, Weinberg RA. Control of the cell cycle and apoptosis. *Eur J Cancer*. 1999;35:1886-1894.
118. Wee P, Wang Z. Epidermal growth factor receptor cell proliferation signaling pathways. *Cancers (Basel)*. 2017;9:52.
119. Wieduwilt MJ, Moasser MM. The epidermal growth factor receptor family: Biology driving targeted therapeutics. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65:1566-1584.
120. Burgess AW. EGFR family: Structure physiology signalling and therapeutic targets. *Growth Factors*. 2008;26:263-274.
121. Ono M, Kuwano M. Molecular mechanisms of epidermal growth factor receptor (EGFR) activation and response to gefitinib and other EGFR-targeting drugs. *Clin Cancer Res*. 2006;12:7242-7251.
122. Elizalde PV, Cordo Russo RI, Chervo MF, Schillaci R. ErbB-2 nuclear function in breast cancer growth, metastasis and resistance to therapy. *Endocr Relat Cancer*. 2016;23:T243-T257.
123. Robert S, Schwartz MD, John K, Erban MD. Timing of metastasis in breast cancer. *N Engl J Med*. 2017;376:2486-2488.
124. Kolyadina IV, Zavalishina LE, Ganshina IP, Andreeva YY, Frank GA, Gordeeva OO, Zhukova LG, Meshcheryakov AA, Savelov NA, Tuzova EA, Morozov DA, Poddubnaya IV. Role of clustered HER2/neu amplification as a marker for a special sensitivity to neoadjuvant anti-HER2 therapy with trastuzumab in patients with stage II-III breast cancer]. *Arkh Patol*. 2019;81:56-62.

125. Yang K, Wang X, Zhang H, Wang Z, Nan G, Li Y, Zhang F, Mohammed MK, Haydon RC, Luu HH2, Bi Y, He TC. The evolving roles of canonical WNT signaling in stem cells and tumorigenesis: Implications in targeted cancer therapies. *Lab Invest.* 2016;96:116-136.
126. Mohammed MK, Shao C, Wang J, Wei Q, Wang X, Collier Z, Tang S, Liu H, Zhang F, Huang J, Guo D, Lu M, Liu F, Liu J, Ma C, Shi LL, Athiviraham A, He TC, Lee MJ. Wnt/beta-catenin signaling plays an ever-expanding role in stem cell self-renewal, tumorigenesis and cancer chemoresistance. *Genes Dis.* 2016;3:11-40.
127. Clevers H, Nusse R. Wnt/beta-catenin signaling and disease. *Cell.* 2012;149:1192-1205.
128. Nusse R, Clevers H. Wnt/beta-Catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell.* 2017;169:985-999.
129. He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science.* 1998;281:1509-1512.
130. Narod SA, Salmena L. BRCA1 and BRCA2 mutations and breast cancer. *Discov Med.* 2011;12:445-453.
131. Trainer AH, Lewis CR, Tucker K, Meiser B, Friedlander M, Ward RL. The role of BRCA mutation testing in determining breast cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010;7:708-717.
132. Metcalfe KA, Lubinski J, Gronwald J, Huzarski T, McCuaig J, Lynch HT, Karlan B, Foulkes WD, Singer CF, Neuhausen SL, Senter L, Eisen A, Sun P, Narod SA; Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group. The risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers without a first-degree relative with breast cancer. *Clin Genet.* 2018;93:1063-1068.

133. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, deFazio A, Emmanuel C, George J, Dobrovic A, Birrer MJ, Webb PM, Stewart C, Friedlander M, Fox S, Bowtell D, Mitchell G. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: A report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 2012;30:2654-2663.
134. Taketo MM. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis (part I). *J Natl Cancer Inst.* 1998;90:1529-1536.
135. Nurse PM. Nobel Lecture. Cyclin dependent kinases and cell cycle control. *Biosci Rep.* 2002;22:487-499.
136. Sutherland RL, Musgrove EA. Cyclins and breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2004;9:95-104.
137. Mohammadizadeh F, Hani M, Ranaee M, Bagheri M. Role of cyclin D1 in breast carcinoma. *J Res Med Sci.* 2013;18:1021-1025.
138. Mitchell PJ, Barker KT, Martindale JE, Kamalati T, Lowe PN, Page MJ, Gusterson BA, Crompton MR. Cloning and characterisation of cDNAs encoding a novel non-receptor tyrosine kinase, brk, expressed in human breast tumours. *Oncogene.* 1994;9:2383-2390.
139. Miah S, Martin A, Lukong KE. Constitutive activation of breast tumor kinase accelerates cell migration and tumor growth in vivo. *Oncogenesis.* 2012;1:E11.
140. Koren S, Reavie L, Couto JP, De Silva D, Stadler MB, Roloff T, Britschgi A, Eichlisberger T, Kohler H, Aina O, Cardiff RD, Bentires-Alj M. PIK3CA(H1047R) induces multipotency and multi-lineage mammary tumours. *Nature.* 2015;525:114-118.

141. Pérez-Tenorio G, Stål O; Southeast Sweden Breast Cancer Group. Activation of AKT/PKB in breast cancer predicts a worse outcome among endocrine treated patients. *Br J Cancer*. 2002;86:540-545.
142. Mukohara T. PI3K mutations in breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2015;7:111-123.
143. Stemke-Hale K, Gonzalez-Angulo AM, Lluch A, Neve RM, Kuo WL, Davies M, Carey M, Hu Z, Guan Y, Sahin A, Symmans WF, Pusztai L, Nolden LK, Horlings H, Berns K, Hung MC, van de Vijver MJ, Valero V, Gray JW, Bernardis R, Mills GB, Hennessy BT. An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer. *Cancer Res*. 2008;68:6084-6091.
144. Fiaschi M, Rozell B, Bergstrom A, Toftgard R, Kleman MI. Targeted expression of GLI1 in the mammary gland disrupts pregnancy-induced maturation and causes lactation failure. *J Biol Chem*. 2007;282:36090-36101.
145. Jeng KS, Sheen IS, Jeng WJ, Yu MC, Hsiau HI, Chang FY. High expression of Sonic Hedgehog signaling pathway genes indicates a risk of recurrence of breast carcinoma. *Onco Targets Ther*. 2013;7:79-86.
146. Sansone P, Storci G, Giovannini C, Pandolfi S, Pianetti S, Taffurelli M, Santini D, Ceccarelli C, Chieco P, Bonafé M. p66Shc/Notch-3 interplay controls self-renewal and hypoxia survival in human stem/progenitor cells of the mammary gland expanded in vitro as mammospheres. *Stem Cell*. 2007;25:807-815.
147. Zhang Y, Xie ZY, Guo XT, Xiao XH, Xiong LX. Notch and breast cancer metastasis: Current knowledge, new sights and targeted therapy. *Oncol Lett*. 2019;18:2743-2755.

148. Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, Ji X, Liu W, Huang B, Luo W, Liu B, Lei Y, Du S, Vuppalapati A, Luu HH, Haydon RC, He TC, Ren G. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes Dis.* 2018;5:77-106.
149. Forbes C, Fayter D, de Kock S, Quek RG. A systematic review of international guidelines and recommendations for the genetic screening, diagnosis, genetic counseling, and treatment of BRCA-mutated breast cancer. *Cancer Manag Res.* 2019;11:2321-2337.
150. Nelson HD, Pappas M, Cantor A, Haney E, Holmes R. Risk assessment, genetic counseling, and genetic testing for BRCA-related cancer in women: Updated evidence report and systematic review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 2019;322:666-685.
151. Μαρκόπουλος X. Εξέταση του μαστού. Παθήσεις του μαστού. Μαρκόπουλος X. Σελ. 7-16. 2004, Εκδόσεις Πασχαλίδη.
152. Δημητρόπουλος, Α. Κεραμόπουλος. Η Μαστογραφία στην κλινική πράξη. 2000, Εκδόσεις Παρισιάνου.
153. Elmore JG, Armstrong K, Lehman CD, Fletcher SW. Screening for breast cancer. *JAMA.* 2005;293:1245-1256.
154. Nyström L, Andersson I, Bjurstram N, Frisell J, Nordenskjöld B, Rutqvist LE. Long-term effects of mammography screening: Updated overview of the Swedish randomised trials. *Lancet.* 2002;359:909-919.
155. Hemdal B, Andersson I, Thilander Klang A, Bengtsson G, Leitz W, Bjurstram N, Jarlman O, Mattsson S. Mammography -recent technical developments and their clinical potential. *SSI Rapport.* 2002;08.

156. Oeffinger KC, Fontham ET, Etzioni R, Herzig A, Michaelson JS, Shih YC, Walter LC, Church TR, Flowers CR, LaMonte SJ, Wolf AM, DeSantis C, Lortet-Tieulent J, Andrews K, Manassaram-Baptiste D, Saslow D, Smith RA, Brawley OW, Wender R; American Cancer Society. Breast cancer screening for women at average risk: 2015 Guideline update from the American Cancer Society. *JAMA*. 2015;314:1599-1614.
157. James JJ, Tennant SL. Contrast-enhanced spectral mammography (CESM). *Clin Radiol*. 2018;73:715-723.
158. ACR: Illustrated breast imaging reporting and data system (BI-RADS). 4th edition. Reston, VA: American College of Radiology, 2003.
159. ACR-BI-RADS® Atlas 5th edition. American College of Radiology, 2003.
160. Gossman W, Shikhman R, Keppke AL. Breast, Imaging, Reporting and Data System (BI RADS). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019.
161. Hooley RJ, Scoutt LM, Philpotts LE. Breast ultrasonography: State of the art. *Radiology*. 2013;268:642-659.
162. Stavros AT, Thickman D, Rapp CL, Dennis MA, Parker SH, Sisney GA. Solid breast nodules: Use of sonography to distinguish between benign and malignant lesions. *Radiology*. 1995;196:123-134.
163. Yang W, Dempsey PJ. Diagnostic breast ultrasound: Current status and future directions. *Radiol Clin North Am*. 2007;45:845-861.
164. Böz E, Madjar H, Reuss C, Vetter M, Hackelöer B, Holz K. The role of enhanced Doppler ultrasound in differentiation of benign vs. malignant scar lesion after breast surgery for malignancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000;15:377-382.

165. Stuhmann M, Aronius R, Schietzel M. Tumor vascularity of breast lesions: Potentials and limits of contrast-enhanced Doppler sonography. *AJR Am J Roentgenol.* 2000;175:1585-1589.
166. Itoh A, Ueno E, Tohno E, Kamma H, Takahashi H, Shiina T, Yamakawa M, Matsumura T. Breast disease: Clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology.* 2006;239:341-350.
167. Buist DSM, Abraham L, Lee CI, Lee JM, Lehman C, O'Meara ES, Stout NK, Henderson LM, Hill D, Wernli KJ, Haas JS, Tosteson ANA, Kerlikowske K, Onega T; Breast Cancer Surveillance Consortium. Breast biopsy intensity and findings following breast cancer screening in women with and without a personal history of breast cancer. *JAMA Intern Med.* 2018;178:458-468.
168. Nunes LW, Schnall MD, Orel SG. Update of breast MR imaging architectural interpretation model. *Radiology.* 2001;219:484-494.
169. Kuhl CK. Current status of breast MR imaging. Part 2. Clinical applications. *Radiology.* 2007;244:672-691.
170. O'Higgins N, Linos DA, Blichert-Toft M, Cataliotti L, de Wolf C, Rochard F, Rutgers EJ, Roberts PJ, Mattheiem W, da Silva MA, Holmberg L, Schulz KD, Smola MG, Mansel RE. European guidelines for quality assurance in the surgical management of mammographically detected lesions. European Breast Cancer Working Group. *Ann Chir Gynaecol.* 1998;87:110-112.
171. Morris EA. Diagnostic breast MR imaging: Current status and future directions. *Radiol Clin North Am.* 2007;45:863-880.
172. Frei KA, Kinkel K, Bonel HM, Lu Y, Esserman LJ, Hylton NM. MR imaging of the breast in patients with positive margins after lumpectomy: Influence of the

- time interval between lumpectomy and MR imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 2000;175:1577-1584.
173. Wolmark N, Wang J, Mamounas E, Bryant J, Fisher B. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: Nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2001;2001:96-102.
174. Saslow D, Boetes C, Burke W, Harms S, Leach MO, Lehman CD, Morris E, Pisano E, Schnall M, Sener S, Smith RA, Warner E, Yaffe M, Andrews KS, Russell CA; American Cancer Society Breast Cancer Advisory Group. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. *CA Cancer J Clin.* 2007;57:75-89.
175. Kuhl CK, Jost P, Morakkabati N, Zivanovic O, Schild HH, Gieseke J. Contrast-enhanced MR imaging of the breast at 3.0 and 1.5 T in the same patients: Initial experience. *Radiology.* 2006;239:666-676.
176. Pickles MD, Gibbs P, Lowry M, Turnbull LW. Diffusion changes precede size reduction in neoadjuvant treatment of breast cancer. *Magn Reson Imaging.* 2006;24:843-847.
177. Tozaki M, Maruyama K. Current status and future prospects of proton MR spectroscopy of the breast with a 1.5T MR unit. *J Oncol.* 2010;2010:781621.
178. Dooley WC. Biopsy techniques in nonpalpable or palpable breast lesions. In: Aydiner A, Igci A, Soran A (Eds). *Breast Disease.* 2019;1:3-10. Springer.
179. Iakovou I, Giannoula E. Nuclear medicine in the diagnosis of breast cancer. *Hell J Nucl Med.* 2014;17:221-227.
180. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Breast Cancer. National Comprehensive Cancer Network. Version 3.2019.

181. Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre-Garau X, Bussolati G, Tavassoli FA, Eusebi V, Peterse JL, Mukai K, Tabár L, Jacquemier J, Cornelisse CJ, Sasco AJ, Kaaks R, Pisani P, Goldgar DE, Devilee P, Cleton-Jansen MJ, Børresen-Dale AL, van't Veer L, Sapino A. Invasive breast carcinoma. In: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. Tavassoli FA, Devilee P. 13-59. IARC Press, 2003.
182. Zheng J, Zhou T, Li F, Shi J, Zhang L. Clinic-pathological features of breast ductal carcinoma in situ with micro-invasion. *Cancer Invest.* 2020;38:113-121.
183. Gilleard O, Goodman A, Cooper M, Davies M, Dunn J. The significance of the Van Nuys prognostic index in the management of ductal carcinoma in situ. *World J Surg Oncol.* 2008;6:61.
184. Ernster VL, Barclay J, Kerlikowske K, Wilkie H, Ballard-Barbash R. Mortality among women with ductal carcinoma in situ of the breast in the population-based surveillance, epidemiology and end results program. *Arch Intern Med.* 2000;160:953-958.
185. Page DL, Kidd TE Jr, Dupont WD, Simpson JF, Rogers LW. Lobular neoplasia of the breast: Higher risk for subsequent invasive cancer predicted by more extensive disease. *Hum Pathol.* 1991;22:1232-1239.
186. Frost AR, Tsangaris TN, Silverberg SG. Pleomorphic lobular carcinoma in situ. *Pathol Case Rev.* 1996;1:27-31.
187. Singh K, Paquette C, Kalife ET, Wang Y, Mangray S, Quddus MR, Steinhoff MM. Evaluating agreement, histological features, and relevance of separating pleomorphic and florid lobular carcinoma in situ subtypes. *Hum Pathol.* 2018;78:163-170.

188. Kosmidis X, Anthimidis G, Vasiliadou K, Fahantidis E. Paget's disease of the nipple. *Helen Obstet Gynecol.* 2009;21:170-174.
189. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19:403-410.
190. American Joint Committee on Cancer. Breast. Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, Gershenwald JE, Compton CC, Hess KR, Sullivan DC, Jessup JM, Brierley JD, Gaspar LE, Schilsky RL, Balch CM, Winchester DP, Asare EA, Madera M, Gress DM, Meyer LR. (Eds.). *AJCC Cancer Staging Manual.* Eighth edition. New York, Springer, 2017.
191. American Joint Committee on Cancer. Breast. Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Meyer L, Gress DM, Byrd DR, Winchester DP. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin.* 2017;67:93-99.
192. van Seijen M, Lips EH, Thompson AM, Nik-Zainal S, Futreal A, Hwang ES, Verschuur E, Lane J, Jonkers J, Rea DW, Wesseling J; PRECISION team. Ductal carcinoma in situ: To treat or not to treat, that is the question. *Br J Cancer.* 2019;121:285-292.
193. Barrio AV, Van Zee KJ. Ductal carcinoma in situ of the breast: Controversies and current management. *Adv Surg.* 2019;53:21-35.
194. Desai AA, Jimenez RE, Hoskin TL, Day CN, Boughey JC, Hieken TJ. Treatment outcomes for pleomorphic lobular carcinoma in situ of the breast. *Ann Surg Oncol.* 2018;25:3064-3068.

195. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Cecchini RS, Cronin WM, Robidoux A, Bevers TB, Kavanah MT, Atkins JN, Margolese RG, Runowicz CD, James JM, Ford LG, Wolmark N. Tamoxifen for prevention of breast cancer: Current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:1652-1662.
196. Vogel VG, Costantino JP, Wickerham DL, Cronin WM, Cecchini RS, Atkins JN, Bevers TB, Fehrenbacher L, Pajon ER Jr, Wade JL 3rd, Robidoux A, Margolese RG, James J, Lippman SM, Runowicz CD, Ganz PA, Reis SE, McCaskill-Stevens W, Ford LG, Jordan VC, Wolmark N; National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP). Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: The NSABP Study of tamoxifen and raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA.* 2006;295:2727-2741.
197. Young OE, Renshaw L, Macaskill EJ, White S, Faratian D, Thomas JS, Dixon JM. Effects of fulvestrant 750mg in premenopausal women with oestrogen-receptor-positive primary breast cancer. *Eur J Cancer.* 2008;44:391-399.
198. Fisher ER, Land SR, Fisher B, Mamounas E, Gilarski L, Wolmark N. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: Twelve-year observations concerning lobular carcinoma in situ. *Cancer.* 2004;100:238-244.
199. Hammer C, Fanning A, Crowe J. Overview of breast cancer staging and surgical treatment options. *Cleve Clin J Med.* 2008;75 Suppl 1:S10-16.
200. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, Aguilar M, Marubini E. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med.* 2002;347:1227-1232.

201. Lagendijk M, van Maaren MC, Saadatmand S, Strobbe LJA, Poortmans PMP, Koppert LB, Tilanus-Linthorst MMA, Siesling S. Breast conserving therapy and mastectomy revisited: Breast cancer-specific survival and the influence of prognostic factors in 129,692 patients. *Int J Cancer*. 2018;142:165-175.
202. Matsen CB, Neumayer LA. Breast cancer: A review for the general surgeon. *JAMA Surg*. 2013;148:971-979.
203. Weber WP, Soysal SD, Fulco I, Barandun M, Babst D, Kalbermatten D, Schaefer DJ, Oertli D, Kappos EA, Haug M. Standardization of oncoplastic breast conserving surgery. *Eur J Surg Oncol*. 2017;43:1236-1243.
204. Bertozzi N, Pesce M, Santi PL, Raposio E. Oncoplastic breast surgery: Comprehensive review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21:2572-2585.
205. Weber WP, Soysal SD, Zeindler J, Kappos EA, Babst D, Schwab F, Kurzeder C, Haug M. Current standards in oncoplastic breast conserving surgery. *Breast*. 2017;34 Suppl 1:S78-S81.
206. Natale M, Di Leone A, Scardina L, D'Archi S, Masetti R, Franceschini G. The modern concept of breast conserving surgery. *Transl Cancer Res*. 2018;7 Suppl 3:S281-294.
207. Chinese Association of Breast Surgery. A consensus statement on the breast-conserving surgery of early-stage breast cancer (2019). *Chin J Surg*. 2019;57:81-84.
208. Choi J, Laws A, Hu J, Barry W, Golshan M, King T. Margins in breast-conserving surgery after neoadjuvant therapy. *Ann Surg Oncol*. 2018;25:3541-3547.
209. Kaufman CS. Increasing role of oncoplastic surgery for breast cancer. *Curr Oncol Rep*. 2019;21:111.

210. Radtke C. Standards in oncoplastic breast reconstruction. *Breast Care (Basel)*. 2019;14:269-270.
211. Jones C, Lancaster R. Evolution of operative technique for mastectomy. *Surg Clin North Am*. 2018;98:835-844.
212. Manca G, Rubello D, Tardelli E, Giammarile F, Mazzarri S, Boni G, Chondrogiannis S, Marzola MC, Chiacchio S, Ghilli M, Roncella M, Volterrani D, Colletti PM. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: Indications, contraindications, and controversies. *Clin Nucl Med*. 2016;41:126-133.
213. Dixon JM. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer surgery. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:3426-3428.
214. Cheng G, Kurita S, Torigian DA, Alavi A. Current status of sentinel lymph-node biopsy in patients with breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38:562-575.
215. Mastrangelo S, McMasters K, Ajkay N. Surgical management of the axilla in breast cancer. *Am Surg*. 2016;82:475-486.
216. Millet A, Fuster CA, Lluch A, Dirbas F. Axillary surgery in breast cancer patients. *Clin Transl Oncol*. 2007;9:513-520.
217. Sparano JA, Wang M, Martino S, Jones V, Perez EA, Saphner T, Wolff AC, Sledge GW Jr, Wood WC, Davidson NE. Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer. *N Engl J Med*. 2008;358:1663-1671.
218. Fisher B, Jeong JH, Dignam J, Anderson S, Mamounas E, Wickerham DL, Wolmark N. Findings from recent National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project adjuvant studies in stage I breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2001;62-66.

219. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Tseng LM, Liu MC, Lluch A, Starosławska E, de la Haba-Rodriguez J, Im SA, Pedrini JL, Poirier B, Morandi P, Semiglazov V, Srimuninnimit V, Bianchi GV, Magazzù D, McNally V, Douthwaite H, Ross G, Valagussa P. 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer (NeoSphere): A multicentre, open-label, phase 2 randomised trial. *Lancet Oncol.* 2016;17:791-800.
220. Viani GA, Afonso SL, Stefano EJ, De Fendi LI, Soares FV. Adjuvant trastuzumab in the treatment of her-2-positive early breast cancer: A meta-analysis of published randomized trials. *BMC Cancer.* 2007;7:153.
221. Chan A, Delaloge S, Holmes FA, Moy B, Iwata H, Harvey VJ, Robert NJ, Silovski T, Gokmen E, von Minckwitz G, Ejlersen B, Chia SK, Mansi J, Barrios CH, Gnant M, Buyse M, Gore I, Smith J 2nd, Harker G, Masuda N, Petrakova K, Zotano AG, Iannotti N, Rodriguez G, Tassone P, Wong A, Bryce R, Ye Y, Yao B, Martin M; ExteNET Study Group. Neratinib after trastuzumab-based adjuvant therapy in patients with HER2-positive breast cancer (ExteNET): A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17:367-377.
222. Roché H, Fumoleau P, Spielmann M, Canon JL, Delozier T, Serin D, Symann M, Kerbrat P, Soulié P, Eichler F, Viens P, Monnier A, Vindevoghel A, Campone M, Goudier MJ, Bonnetterre J, Ferrero JM, Martin AL, Genève J, Asselain B. Sequential adjuvant epirubicin-based and docetaxel chemotherapy for node-positive breast cancer patients: The FNCLCC PACS 01 Trial. *J Clin Oncol.* 2006;24:5664-5671.

223. Martín M, Rodríguez-Lescure A, Ruiz A, Alba E, Calvo L, Ruiz-Borrego M, Munárriz B, Rodríguez CA, Crespo C, de Alava E, López García-Asenjo JA, Guitián MD, Almenar S, González-Palacios JF, Vera F, Palacios J, Ramos M, Gracia Marco JM, Lluch A, Alvarez I, Seguí MA, Mayordomo JI, Antón A, Baena JM, Plazaola A, Modolell A, Pelegrí A, Mel JR, Aranda E, Adrover E, Alvarez JV, García Puche JL, Sánchez-Rovira P, Gonzalez S, López-Vega JM; GEICAM 9906 Study Investigators; Collaborators (52). Randomized phase 3 trial of fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide alone or followed by Paclitaxel for early breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100:805-814.
224. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTG). Tamoxifen for early breast cancer: An overview of the randomised trials. *Lancet.* 1998;351:1451-1467.
225. Dowsett M, Cuzick J, Ingle J, Coates A, Forbes J, Bliss J, Buyse M, Baum M, Buzdar A, Colleoni M, Coombes C, Snowdon C, Gnant M, Jakesz R, Kaufmann M, Boccardo F, Godwin J, Davies C, Peto R. Meta-analysis of breast cancer outcomes in adjuvant trials of aromatase inhibitors versus tamoxifen. *J Clin Oncol.* 2010; 28:509-518.
226. Cuzick J, Sestak I, Baum M, Buzdar A, Howell A, Dowsett M, Forbes JF; ATAC/LATTE investigators. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 10-year analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol.* 2010;11:1135-1141.
227. Goss PE, Ingle JN, Martino S, Robert NJ, Muss HB, Piccart MJ, Castiglione M, Tu D, Shepherd LE, Pritchard KI, Livingston RB, Davidson NE, Norton L, Perez EA, Abrams JS, Cameron DA, Palmer MJ, Pater JL. Randomized trial of letrozole following tamoxifen as extended adjuvant therapy in receptor-positive breast

- cancer: Updated findings from NCIC CTG MA.17. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:1262-1271.
228. Goss PE, Ingle JN, Pater JL, Martino S, Robert NJ, Muss HB, Piccart MJ, Castiglione M, Shepherd LE, Pritchard KI, Livingston RB, Davidson NE, Norton L, Perez EA, Abrams JS, Cameron DA, Palmer MJ, Tu D. Late extended adjuvant treatment with letrozole improves outcome in women with early-stage breast cancer who complete 5 years of tamoxifen. *J Clin Oncol.* 2008;26:1948-1955.
229. Giordano SH, Lin YL, Kuo YF, Hortobagyi GN, Goodwin JS. Decline in the use of anthracyclines for breast cancer. *J Clin Oncol.* 2012;30:2232-2239.
230. von Minckwitz G, Schwedler K, Schmidt M, Barinoff J, Mundhenke C, Cufer T, Maartense E, de Jongh FE, Baumann KH, Bischoff J, Harbeck N, Lück HJ, Maass N, Zielinski C, Andersson M, Stein RC, Nekljudova V, Loibl S; GBG 26/BIG 03-05 study group and participating investigators. Trastuzumab beyond progression: Overall survival analysis of the GBG 26/BIG 3-05 phase III study in HER2-positive breast cancer. *Eur J Cancer.* 2011;47:2273-2281.
231. Miller K, Wang M, Gralow J, Dickler M, Cobleigh M, Perez EA, Shenkier T, Cella D, Davidson NE. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2007;357:2666-2676.
232. Robson M, Im SA, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, Delaloge S, Li W, Tung N, Armstrong A, Wu W, Goessl C, Runswick S, Conte P. Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation. *N Engl J Med.* 2017;377:523-533.
233. Roskell DE, Buley ID. Traditional and established indicators of prognosis and treatment success. In: Brooks SA, Harris A (Eds). *Breast cancer research protocols.* 2006;9:79-89. Springer.

234. Veronesi U, Boyle P, Goldhirsch A, Orecchia R, Viale G. Breast cancer. *Lancet*. 2005;365:1727-1741.
235. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast C. Familial breast cancer: Collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet*. 2001;358:1389-1399.
236. Hulka BS. Epidemiology of susceptibility to breast cancer. *Prog Clin Biol Res*. 1996;395:159-174.
237. Colditz GA, Kaphingst KA, Hankinson SE, Rosner B. Family history and risk of breast cancer: Nurses' health study. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;133:1097-1104.
238. Allison KH. Molecular pathology of breast cancer: What a pathologist needs to know. *Am J Clin Pathol*. 2012;138:770-780.
239. Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Kalampokas E, Kalampokas T, Spartalis E, Daskalopoulou A, Valsami S, Kontos M, Nonni A, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Dimitroulis D. Histone deacetylases as new therapeutic targets in triple-negative breast cancer: Progress and promises. *Cancer Genomics Proteomics*. 2017;14:299-313.
240. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, Lickley LA, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Triple-negative breast cancer: Clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res*. 2007;13:4429-4434.
241. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: A

- population-based study from the California cancer registry. *Cancer*. 2007;109:1721-1728.
242. Loibl S, Muller BM, von Minckwitz G, Schwabe M, Roller M, Darb-Esfahani S, Ataseven B, du Bois A, Fissler-Eckhoff A, Gerber B, Kulmer U, Alles JU, Mehta K, Denkert C. Androgen receptor expression in primary breast cancer and its predictive and prognostic value in patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;130:477-487.
243. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, Pietenpol JA. Identification of human triple negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest*. 2011;121:2750-2767.
244. Smid M, Wang Y, Zhang Y, Sieuwerts AM, Yu J, Klijn JG, Foekens JA, Martens JW. Subtypes of breast cancer show preferential site of relapse. *Cancer Res*. 2008;68:3108-3114.
245. Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, Sneige N. Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype: From expression profiling to clinical practice. *Adv Anat Pathol*. 2007;14:419-430.
246. O'Toole SA, Beith JM, Millar EK, West R, McLean A, Cazet A, Swarbrick A, Oakes SR. Therapeutic targets in triple negative breast cancer. *J Clin Pathol*. 2013;66:530-542.
247. Prat A, Adamo B, Cheang MC, Anders CK, Carey LA, Perou CM. Molecular characterization of basal-like and nonbasal-like triple-negative breast cancer. *Oncologist*. 2013;18:123-133.
248. Somali I, Ustaoglu BY, Tarhan MO, Yigit SC, Demir L, Ellidokuz H, Erten C, Alacacioglu A. Clinicopathologic and demographic evaluation of triple-negative

- breast cancer patients among a Turkish patient population: A single center experience. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14:6013-6017.
249. Atchley D, Albarracin C, Lopez A, Valero V, Amos CI, Gonzalez-Angulo AM, Hortobagyi GN, Arun BK. Clinical and pathologic characteristics of patients with BRCA-positive and BRCA-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:4282-4288.
250. Bertucci F, Finetti P, Birnbaum D. Basal breast cancer: A complex and deadly molecular subtype. *Curr Mol Med.* 2012;12:96-110.
251. Cancer Genome Atlas Network; Collaborators (357). Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2012;490:61-70.
252. Bianchini G, Balko JM, Mayer IA, Sanders ME, Gianni L. Triple-negative breast cancer: Challenges and opportunities of a heterogeneous disease. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016;13:674-690.
253. Kandoth C, McLellan MD, Vandin F, Ye K, Niu B, Lu C, Xie M, Zhang Q, McMichael JF, Wyczalkowski MA, Leiserson MDM, Miller CA, Welch JS, Walter MJ, Wendl MC, Ley TJ, Wilson RK, Raphael BJ, Ding L. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature.* 2013;502:333-339.
254. Criscitiello C, Azim HA Jr, Schouten PC, Lin SC, Sotiriou C. Understanding the biology of triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2012;23 Suppl 6:VI13-18.
255. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, Tordai A, Mejia JA, Symmans WF, Gonzalez-Angulo AM, Hennessy B, Green M, Cristofanilli M, Hortobagyi GN, Pusztai L. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:1275-1281.
256. Jatoi I, Anderson WF, Jeong JH, Redmond CK. Breast cancer adjuvant therapy: Time to consider its time-dependent effects. *J Clin Oncol.* 2011;29:2301-2304.

257. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, Bonnefoi H, Cameron D, Gianni L, Valagussa P, Swain SM, Prowell T, Loibl S, Wickerham DL, Bogaerts J, Baselga J, Perou C, Blumenthal G, Blohmer J, Mamounas EP, Bergh J, Semiglazov V, Justice R, Eidtmann H, Paik S, Piccart M, Sridhara R, Fasching PA, Slaets L, Tang S, Gerber B, Geyer CE Jr, Pazdur R, Ditsch N, Rastogi P, Eiermann W, von Minckwitz G. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: The CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*. 2014;384:164-172.
258. Fedele P, Orlando L, Cinieri S. Targeting triple negative breast cancer with histone deacetylase inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs*. 2017;26:1199-1206.
259. Saloustros E, Nikolaou M, Kalbakis K, Polyzos A, Christofillakis C, Kentepozidis N, Pistamaltzian N, Kourousis C, Vamvakas L, Georgoulas V, Mavroudis D. Weekly paclitaxel and carboplatin plus bevacizumab as first-line treatment of metastatic triple-negative breast cancer. A multicenter phase II trial by the Hellenic Oncology Research Group. *Clin Breast Cancer*. 2018;18:88-94.
260. O'Shaughnessy J, Osborne C, Pippen JE, Yoffe M, Patt D, Rocha C, Koo IC, Sherman BM, Bradley C. Iniparib plus chemotherapy in metastatic triple-negative breast cancer. *New Engl J Med*. 2011;364:205-214.
261. Cameron D, Brown J, Dent R, Jackisch C, Mackey J, Pivot X, Steger GG, Suter TM, Toi M, Parmar M, Laeufle R, Im YH, Romieu G, Harvey V, Lipatov O, Pienkowski T, Cottu P, Chan A, Im SA, Hall PS, Bubuteishvili-Pacaud L, Henschel V, Deurloo RJ, Pallaud C, Bell R. Adjuvant bevacizumab-containing therapy in triple-negative breast cancer (BEATRICE): Primary results of a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2013;14:933-942.

262. Curigliano G, Pivot X, Cortés J, Elias A, Cesari R, Khosravan R, Collier M, Huang X, Cataruozolo PE, Kern KA, Goldhirsch A. Randomized phase II study of sunitinib versus standard of care for patients with previously treated advanced triple-negative breast cancer. *Breast*. 2013;22:650-656.
263. Li XX, Wang DQ, Sui CG, Meng FD, Sun SL, Zheng J, Jiang YH. Oleandrin induces apoptosis via activating endoplasmic reticulum stress in breast cancer cells. *Biomed Pharmacother*. 2020;124:109852.
264. Mery B, Rowinski E, Vallard A, Jacquin JP, Simoens X, Magné N, Doucey P. Advocacy for a new oncology research paradigm: The model of bevacizumab in triple-negative breast cancer in a French cohort study. *Oncology*. 2019;97:1-6.
265. Emens LA. Breast cancer immunotherapy: Facts and hopes. *Clin Cancer Res*. 2018;24:511-520.
266. García-Aranda M, Redondo M. Immunotherapy: A challenge of breast cancer treatment. *Cancers (Basel)*. 2019;11;E1822.
267. Zhang X, Chen J, Weng Z, Li Q, Zhao L, Yu N, Deng L, Xu W, Yang Y, Zhu Z, Huang H. A new anti-HER2 antibody that enhances the anti-tumor efficacy of trastuzumab and pertuzumab with a distinct mechanism of action. *Mol Immunol*. 2020;119:48-58.
268. Zhao W, Hu H, Mo Q, Guan Y, Li Y, Du Y, Li L. Function and mechanism of combined PARP-1 and BRCA genes in regulating the radiosensitivity of breast cancer cells. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12:3915-3920.
269. Jerez Y, Márquez-Rodas I, Aparicio I, Alva M, Martín M, López-Tarruella S. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition in patients with breast cancer and BRCA 1 and 2 mutations. *Drugs*. 2020;80:131-146.

270. Damaskos C, Garmpis N, Valsami S, Kontos M, Spartalis E, Kalampokas T, Kalampokas E, Athanasiou A, Moris D, Daskalopoulou A, Davakis S, Tsourouflis G, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Dimitroulis D. Histone deacetylase inhibitors: An attractive therapeutic strategy against breast cancer. *Anticancer Res.* 2017;37:35-46.
271. Ediriweera MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR. Emerging role of histone deacetylase inhibitors as anti-breast-cancer agents. *Drug Discov Today.* 2019;24:685-702.
272. Kiweler N, Wünsch D, Wirth M, Mahendrarajah N, Schneider G, Stauber RH, Brenner W, Butter F, Krämer OH. Histone deacetylase inhibitors dysregulate DNA repair proteins and antagonize metastasis-associated processes. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2020;146:343-356.
273. Qin G, Li Y, Xu X, Wang X, Zhang K, Tang Y, Qiu H, Shi D, Zhang C, Long Q, Lee K, Zhai Q, Wang S, Chen M, Deng W. Panobinostat (LBH589) inhibits Wnt/ β -catenin signaling pathway via upregulating APC expression in breast cancer. *Cell Signal.* 2019;59:62-75.
274. Lu P, Gu Y, Li L, Wang F, Yang X, Yang Y. Belinostat suppresses cell proliferation by inactivating Wnt/ β -catenin pathway and promotes apoptosis through regulating PKC pathway in breast cancer. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2019;47:3955-3960.
275. Wu J, Grunstein M. 25 years after the nucleosome model: Chromatin modifications. *Trends Biochem Sci.* 2000;25:619-623.
276. Zhou K, Gaullier G, Luger K. Nucleosome structure and dynamics are coming of age. *Nat Struct Mol Biol.* 2019;26:3-13.

277. Zentner GE, Henikoff S. Regulation of nucleosome dynamics by histone modifications. *Nat Struct Mol Biol.* 2013;20:259-266.
278. Shilatifard A. Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: Implications in the regulation of gene expression. *Annu Rev Biochem.* 2006;75:243-269.
279. Tessarz P, Kouzarides T. Histone core modifications regulating nucleosome structure and dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15:703-708.
280. Fenlet AP, Anandakrishnan R, Kidane YH, Onufriev AV. Modulation of nucleosomal DNA accessibility via charge-altering post-translational modifications in histone core. *Epigenetics Chromatin.* 2018;11:11.
281. Chatterjee N, North JA, Dechassa ML, Manohar M, Prasad R, Luger K, Ottesen JJ, Poirier MG, Bartholomew B. Histone acetylation near the nucleosome dyad axis enhances nucleosome disassembly by RSC and SWI/SNF. *Mol Cell Biol.* 2015;35:4083-4092.
282. de Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, Kemp S, van Kuilenburg AB. Histone deacetylases (HDACs): Characterization of the classical HDAC family. *Biochem J.* 2003;370:737-749.
283. Wang S, Yan-Neale Y, Zeremski M, Cohen D. Transcription regulation by histone deacetylases. *Novartis Found Symp.* 2004;259:238-45; Discussion: 245-248, 285-288.
284. Falbo KB, Shen X. Histone modifications during DNA replication. *Mol Cells.* 2009;28:149-154.
285. Jørgensen S, Schotta G, Sørensen CS. Histone H4 lysine 20 methylation: Key player in epigenetic regulation of genomic integrity. *Nucleic Acids Res.* 2013;41:2797-2806.

286. Geiman TM, Robertson KD. Chromatin remodeling, histone modifications, and DNA methylation – how does it all fit together? *J Cell Biochem.* 2002;87:117-125.
287. Baylin SB. Reversal of gene silencing as a therapeutic target for cancer--roles for DNA methylation and its interdigitation with chromatin. *Novartis Found Symp.* 2004;259:226-233; Discussion 234-237, 285-288.
288. Kimura H. Histone modifications for human epigenome analysis. *J Hum Genet.* 2013;58:439-445.
289. Schuettengruber B, Bourbon HM, Di Croce L, Cavalli G. Genome regulation by polycomb and trithorax: 70 years and counting. *Cell.* 2017;171:34-57.
290. Wang Y, Yuan Q, Xie L. Histone modifications in aging: The underlying mechanisms and implications. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2018;13:125-135.
291. Meas R, Mao P. Histone ubiquitylation and its roles in transcription and DNA damage response. *DNA Repair (Amst).* 2015;36:36-42.
292. Mercurio C, Plyte S, Minucci S. Alterations of histone modifications in cancer. *Epigenetics in human disease.* Eds: Tollefsbol TO. Pages: 53-87. 2012, Elsevier.
293. Wotton D, Pemberton LF, Merrill-Schools J. SUMO and chromatin remodeling. *Adv Exp Med Biol.* 2017;963:35-50.
294. Nathan D, Sterner DE, Berger SL. Histone modifications: Now summoning sumoylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:13118-13120.
295. Shii Y, Eisenman RN. Histone sumoylation is associated with transcriptional repression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:13225-13230.
296. Ryu HY, Su D, Wilson-Eisele NR, Zhao D, López-Giráldez F, Hochstrasser M. The Ulp2 SUMO protease promotes transcription elongation through regulation of histone sumoylation. *EMBO J.* 2019;38:E102003.

297. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007;128:693-705.
298. Edwards JR, Yarychivska O, Boulard M, Bestor TH. DNA methylation and DNA methyltransferases. *Epigenetics Chromatin*. 2017;10:23.
299. Liyanage VR, Jarmasz JS, Murugesan N, Del Bigio MR, Rastegar M, Davie JR. DNA modifications: Function and applications in normal and disease states. *Biology (Basel)*. 2014;3:670-723.
300. Komiya R. Biogenesis of diverse plant phasiRNAs involves an miRNA-trigger and dicer-processing. *J Plant Res*. 2017;130:17-23.
301. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. Plant microRNA: A small regulatory molecule with big impact. *Dev Biol*. 2006;289:3-16.
302. Tahiri A, Aure MR, Kristensen VN. MicroRNA networks in breast cancer cells. *Methods Mol Biol*. 2018;1711:55-81.
303. Imani S, Wu RC, Fu J. MicroRNA-34 family in breast cancer: From research to therapeutic potential. *J Cancer*. 2018;9:3765-3775.
304. Ferreira LC, Orso F, Dettori D, Lacerda JZ, Borin TF, Taverna D, Zuccari DAPC. The role of melatonin on miRNAs modulation in triple-negative breast cancer cells. *PLoS One*. 2020;15:E0228062.
305. Nikaki A, Piperi C, Papavassiliou AG. Role of microRNAs in gliomagenesis: Targeting miRNAs in glioblastoma multiforme therapy. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012;21:1475-1488.
306. Davis PK, Brackmann RK. Chromatin remodeling and cancer. *Cancer Biol Ther*. 2003;2:22-29.
307. Wang GG, Allis CD, Chi P. Chromatin remodeling and cancer, Part II: ATP-dependent chromatin remodeling. *Trends Mol Med*. 2007;13:373-380.

308. Mayes K, Qiu Z, Alhazmi A, Landry JW. ATP-dependent chromatin remodeling complexes as novel targets for cancer therapy. *Adv Cancer Res.* 2014;121:183-233.
309. Peters AH, O'Carroll D, Scherthan H, Mechtler K, Sauer S, Schöfer C, Weipoltshammer K, Pagani M, Lachner M, Kohlmaier A, Opravil S, Doyle M, Sibilia M, Jenuwein T. Loss of the Suv39h histone methyltransferases impairs mammalian heterochromatin and genome stability. *Cell.* 2001;107:323-337.
310. Morera L, Lübbert M, Jung M. Targeting histone methyltransferases and demethylases in clinical trials for cancer therapy. *Clin Epigenetics.* 2016;8:57.
311. McCabe MT, Mohammad HP, Barbash O, Kruger RG. Targeting histone methylation in cancer. *Cancer J.* 2017;23:292-301.
312. Michalak EM, Visvader JE. Dysregulation of histone methyltransferases in breast cancer - Opportunities for new targeted therapies? *Mol Oncol.* 2016;10:1497-1515.
313. Chrun ES, Modolo F, Daniel FI. Histone modifications: A review about the presence of this epigenetic phenomenon in carcinogenesis. *Pathol Res Pract.* 2017;213:1329-1339.
314. Demetriadou C, Kirmizis A. Histone acetyltransferases in cancer: Guardians or hazards? *Crit Rev Oncog.* 2017;22:195-218.
315. Li Y, Seto E. HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6:a026831.
316. Seto E, Yoshida M. Erasers of histone acetylation: The histone deacetylase enzymes. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6:a018713.
317. Horn D. Histone deacetylases. *Adv Exp Med Biol.* 2008;625:81-86.

318. Micelli C, Rastelli G. Histone deacetylases: Structural determinants of inhibitor selectivity. *Drug Discov Today*. 2015;20:718-735.
319. Seidel C, Schnekenburger M, Dicato M, Diederich M. Histone deacetylase 6 in health and disease. *Epigenomics*. 2015;7:103-118.
320. Lombardi PM, Cole KE, Dowling DP, Christianson DW. Structure, mechanism, and inhibition of histone deacetylases and related metalloenzymes. *Curr Opin Struct Biol*. 2011;21:735-743.
321. Xu WS, Parmigiani RB, Marks PA. Histone deacetylase inhibitors: Molecular mechanisms of action. *Oncogene*. 2007;26:5541-5552.
322. Dokmanovic M, Clarke C, Marks PA. Histone deacetylase inhibitors: Overview and perspectives. *Mol Cancer Res*. 2007;5:981-989.
323. Lin PC, Hsieh HY, Chu PC, Chen CS. Therapeutic opportunities of targeting histone deacetylase isoforms to eradicate cancer stem cells. *Int J Mol Sci*. 2018;19:E1939.
324. Brooks CL, Gu W. The impact of acetylation and deacetylation on the p53 pathway. *Protein Cell*. 2011;2:456-462.
325. Luo J, Su F, Chen D, Shiloh A, Gu W. Deacetylation of p53 modulates its effect on cell growth and apoptosis. *Nature*. 2000;408:377-381.
326. Gu W, Luo J, Brooks CL, Nikolaev AY, Li M. Dynamics of the p53 acetylation pathway. *Novartis Found Symp*. 2004;259:197-205; Discussion 205-207, 223-225.
327. Parra M. Class IIa HDACs - new insights into their functions in physiology and pathology. *FEBS J*. 2015;282:1736-1744.
328. Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: Implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet*. 2009;10:32-42.

329. Zhang Y, Fang H, Jiao J, Xu W. The structure and function of histone deacetylases: The target for anti-cancer therapy. *Curr Med Chem.* 2008;15:2840-2849.
330. Raina S, Kalle A. HDAC11: The lone mystic member of Class IV HDAC. *Proc Indian Natn Sci Acad.* 2019;85:569-576.
331. Bauer I, Varadarajan D, Pidroni A, Gross S, Vergeiner S, Faber B, Hermann M, Tribus M, Brosch G, Graessle S. A Class 1 histone deacetylase with potential as an antifungal target. *mBio.* 2016;7:E00831-16.
332. Abderrahmani A, Steinmann M, Plaisance V, Niederhauser G, Haefliger JA, Mooser V, Bonny C, Nicod P, Waeber G. The transcriptional repressor REST determines the cell-specific expression of the human MAPK8IP1 gene encoding IB1 (JIP-1). *Mol Cell Biol.* 2001;21:7256-7267.
333. Huang Y, Myers SJ, Dingledine R. Transcriptional repression by REST: Recruitment of Sin3A and histone deacetylase to neuronal genes. *Nat Neurosci.* 1999;2:867-872.
334. McDonel P, Costello I, Hendrich B. Keeping things quiet: Roles of NuRD and Sin3 co-repressor complexes during mammalian development. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41:108-116.
335. Ahringer J. NuRD and SIN3 histone deacetylase complexes in development. *Trends Genet.* 2000;16:351-356.
336. Roopra A, Sharling L, Wood IC, Briggs T, Bachfischer U, Paquette AJ, Buckley NJ. Transcriptional repression by neuron-restrictive silencer factor is mediated via the Sin3-histone deacetylase complex. *Mol Cell Biol.* 2000;20:2147-2157.

337. Li J, Wang J, Wang J, Nawaz Z, Liu JM, Qin J, Wong J. Both corepressor proteins SMRT and N-CoR exist in large protein complexes containing HDAC3. *EMBO J.* 2000;19:4342-4350.
338. Guenther MG, Barak O, Lazar MA. The SMRT and N-CoR corepressors are activating cofactors for histone deacetylase 3. *Mol Cell Biol.* 2001;21:6091-6101.
339. Wolfson NA, Pitcairn CA, Fierke CA. HDAC8 substrates: Histones and beyond. *Biopolymers.* 2013;99:112-126.
340. Waltregny D, Glénisson W, Tran SL, North BJ, Verdin E, Colige A, Castronovo V. Histone deacetylase HDAC8 associates with smooth muscle alpha-actin and is essential for smooth muscle cell contractility. *FASEB J.* 2005;19:966-968.
341. Reichert N, Choukrallah MA, Matthias P. Multiple roles of class I HDACs in proliferation, differentiation, and development. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69:2173-2187.
342. Gong P, Wang Y, Jing Y. Apoptosis induction by histone deacetylase inhibitors in cancer cells: Role of Ku70. *Int J Mol Sci.* 2019;20:E1601.
343. Jurkin J, Zupkovitz G, Lagger S, Grausenburger R, Hagelkruys A, Kenner L, Seiser C. Distinct and redundant functions of histone deacetylases HDAC1 and HDAC2 in proliferation and tumorigenesis. *Cell Cycle.* 2011;10:406-412.
344. Segré CV, Chiocca S. Regulating the regulators: The post-translational code of class I HDAC1 and HDAC2. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:690848.
345. Ma P, Schultz RM. HDAC1 and HDAC2 in mouse oocytes and preimplantation embryos: Specificity versus compensation. *Cell Death Differ.* 2016;23:1119-1127.
346. Bhaskara S, Knutson SK, Jiang G, Chandrasekharan MB, Wilson AJ, Zheng S, Yenamandra A, Locke K, Yuan JL, Bonine-Summers AR, Wells CE, Kaiser JF, Washington MK, Zhao Z, Wagner FF, Sun ZW, Xia F, Holson EB, Khabele D,

- Hiebert SW. Hdac3 is essential for the maintenance of chromatin structure and genome stability. *Cancer Cell*. 2010;18:436-447.
347. Stengel KR, Hiebert SW. Class I HDACs affect DNA replication, repair, and chromatin structure: Implications for cancer therapy. *Antioxid Redox Signal*. 2015;23:51-65.
348. Li J, Chen S, Cleary RA, Wang R, Gannon OJ, Seto E, Tang DD. Histone deacetylase 8 regulates cortactin deacetylation and contraction in smooth muscle tissues. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2014;307:C288-C295.
349. Lawlor L, Yang XB. Harnessing the HDAC-histone deacetylase enzymes, inhibitors and how these can be utilised in tissue engineering. *Int J Oral Sci*. 2019;11:20.
350. Bertos NR, Wang AH, Yang XJ. Class II histone deacetylases: Structure, function, and regulation. *Biochem Cell Biol*. 2001;79:243-252.
351. Porter NJ, Christianson DW. Structure, mechanism, and inhibition of the zinc-dependent histone deacetylases. *Curr Opin Struct Biol*. 2019;59:9-18.
352. Verdin E, Dequiedt F, Kasler HG. Class II histone deacetylases: Versatile regulators. *Trends Genet*. 2003;19:286-293.
353. Zhang CL, McKinsey TA, Olson EN. Association of class II histone deacetylases with heterochromatin protein 1: Potential role for histone methylation in control of muscle differentiation. *Mol Cell Biol*. 2002;22:7302-7312.
354. Nishino TG, Miyazaki M, Hoshino H, Miwa Y, Horinouchi S, Yoshida M. 14-3-3 regulates the nuclear import of class IIa histone deacetylases. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;377:852-856.
355. Sinnott-Smith J, Ni Y, Wang J, Ming M, Young SH, Rozengurt E. Protein kinase D1 mediates class IIa histone deacetylase phosphorylation and nuclear

- extrusion in intestinal epithelial cells: Role in mitogenic signaling. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2014;306:C961-971.
356. Weeks KL, Avkiran M. Roles and post-translational regulation of cardiac class IIa histone deacetylase isoforms. *J Physiol.* 2015;593:1785-1797.
357. Yang XJ, Seto E. The Rpd3/Hda1 family of lysine deacetylases: From bacteria and yeast to mice and men. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9:206-218.
358. Fischle W, Dequiedt F, Hendzel MJ, Guenther MG, Lazar MA, Voelter W, Verdin E. Enzymatic activity associated with class II HDACs is dependent on a multiprotein complex containing HDAC3 and SMRT/N-CoR. *Mol Cell.* 2002;9:45-57.
359. Seidel C, Schnekenburger M, Dicato M, Diederich M. Histone deacetylase 6 in health and disease. *Epigenomics.* 2015;7:103-118.
360. Wang XX, Wan RZ, Liu ZP. Recent advances in the discovery of potent and selective HDAC6 inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2018;143:1406-1418.
361. Rodriguez-Gonzalez A, Lin T, Ikeda AK, Simms-Waldrip T, Fu C, Sakamoto KM. Role of the aggresome pathway in cancer: Targeting histone deacetylase 6-dependent protein degradation. *Cancer Res.* 2008;68:2557-2560.
362. Boyault C, Sadoul K, Pabion M, Khochbin S. HDAC6, at the crossroads between cytoskeleton and cell signaling by acetylation and ubiquitination. *Oncogene.* 2007;26:5468-5476.
363. Zhang M, Urabe G, Little C, Wang B, Kent AM, Huang Y, Kent KC, Guo LW. HDAC6 regulates the MRTF-A/SRF axis and vascular smooth muscle cell plasticity. *JACC Basic Transl Sci.* 2018;3:782-795.
364. Wu JY, Xiang S, Zhang M, Fang B, Huang H, Kwon OK, Zhao Y, Yang Z, Bai W, Bepler G, Zhang XM. Histone deacetylase 6 (HDAC6) deacetylates

- extracellular signal-regulated kinase 1 (ERK1) and thereby stimulates ERK1 activity. *J Biol Chem.* 2018;293:1976-1993.
365. Guardiola AR, Yao TP. Molecular cloning and characterization of a novel histone deacetylase HDAC10. *J Biol Chem.* 2002;277:3350-3356
366. Duan B, Ye D, Zhu S, Jia W, Lu C, Wang G, Guo X, Yu Y, Wu C, Kang J. HDAC10 promotes angiogenesis in endothelial cells through the PTPN22/ERK axis. *Oncotarget.* 2017;8:61338-61349.
367. Tao X, Yan Y, Lu L, Chen B. HDAC10 expression is associated with DNA mismatch repair gene and is a predictor of good prognosis in colon carcinoma. *Oncol Lett.* 2017;14:4923-4929.
368. Hai Y, Shinsky SA, Porter NJ, Christianson DW. Histone deacetylase 10 structure and molecular function as a polyamine deacetylase. *Nat Commun.* 2017;8:15368.
369. Carafa V, Nebbioso A, Altucci L. Sirtuins and disease: The road ahead. *Front Pharmacol.* 2012;3:4.
370. Shin J, Kim J, Park H, Kim J. Investigating the role of Sirtuins in cell reprogramming. *BMB Rep.* 2018;51:500-507.
371. Singh CK, Chhabra G, Ndiaye MA, Garcia-Peterson LM, Mack NJ, Ahmad N. The role of Sirtuins in antioxidant and redox signaling. *Antioxid Redox Signal.* 2018;28:643-661.
372. Frydzińska Z, Owczarek A, Winiarska K. Sirtuins and their role in metabolism regulation. *Postepy Biochem.* 2019;65:31-40.
373. Chang HC, Guarente L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2014;25:138-145.

374. Morigi M, Perico L, Benigni A. Sirtuins in renal health and disease. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29:1799-1809.
375. Gao L, Cueto MA, Asselbergs F, Atadja P. Cloning and functional characterization of HDAC11, a novel member of the human histone deacetylase family. *J Biol Chem.* 2002;277:25748-25755.
376. Chen J, Sahakian E, Powers J, Lienlaf M, Perez-Villarroel P, Knox T, Villagra A. Functional analysis of histone deacetylase 11 (HDAC11). *Methods Mol Biol.* 2016;1436:147-165.
377. Yanginlar C, Logie C. HDAC11 is a regulator of diverse immune functions. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech.* 2018;1861:54-59.
378. Villagra A, Cheng F, Wang HW, Suarez I, Glozak M, Maurin M, Nguyen D, Wright KL, Atadja PW, Bhalla K, Pinilla-Ibarz J, Seto E, Sotomayor EM. The histone deacetylase HDAC11 regulates the expression of interleukin 10 and immune tolerance. *Nat Immunol.* 2009;10:92-100.
379. Cao J, Sun L, Aramsangtienchai P, Spiegelman NA, Zhang X, Huang W, Seto E, Lin H. HDAC11 regulates type I interferon signaling through defatty-acylation of SHMT2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116:5487-5492.
380. Sun L, Marin de Evsikova C, Bian K, Achille A, Telles E, Pei H, Seto E. Programming and regulation of metabolic homeostasis by HDAC11. *EBioMedicine.* 2018;33:157-168.
381. Elsheikh SE, Green AR, Rakha EA, Powe DG, Ahmed RA, Collins HM, Soria D, Garibaldi JM, Paish CE, Ammar AA, Grainge MJ, Ball GR, Abdelghany MK, Martinez-Pomares L, Heery DM, Ellis IO. Global histone modifications in breast cancer correlate with tumor phenotypes, prognostic factors, and patient outcome. *Cancer Res.* 2009;69:3802-3809.

382. Su J, Wang F, Cai Y, Jin J. The functional analysis of histone acetyltransferase MOF in tumorigenesis. *Int J Mol Sci.* 2016;17:E99.
383. Garmpi A, Garmpis N, Damaskos C, Valsami S, Spartalis E, Lavaris A, Patelis N, Margonis GA, Apostolou KG, Spartalis M, Andreatos N, Diamantis E, Tsivelekas K, Moschos MM, Nonni A, Tsourouflis G, Markatos K, Antoniou EA, Kontzoglou K, Nikiteas N, Dimitroulis D. Histone deacetylase inhibitors as a new anticancer option: How far can we go with expectations? *J BUON.* 2018;23:846-861.
384. Shah RR. Safety and tolerability of histone deacetylase (HDAC) inhibitors in oncology. *Drug Saf.* 2019;42:235-245.
385. Bassett SA, Barnett MP. The role of dietary histone deacetylases (HDACs) inhibitors in health and disease. *Nutrients.* 2014;6:4273-4301.
386. Losson H, Schnekenburger M, Dicato M, Diederich M. *Molecules.* Natural compound histone deacetylase inhibitors (HDACi): Synergy with inflammatory signaling pathway modulators and clinical applications in cancer. 2016;21:E1608.
387. Giaginis C, Alexandrou P, Delladetsima I, Giannopoulou I, Patsouris E, Theocharis S. Clinical significance of histone deacetylase (HDAC)-1, HDAC-2, HDAC-4, and HDAC-6 expression in human malignant and benign thyroid lesions. *Tumour Biol.* 2014;35:61-71.
388. Choi JH, Kwon HJ, Yoon BI, Kim JH, Han SU, Joo HJ, Kim DY. Expression profile of histone deacetylase 1 in gastric cancer tissues. *Jpn J Cancer Res.* 2001;92:1300-1304.
389. Witt O, Deubzer HE, Milde T, Oehme I. HDAC family: What are the cancer relevant targets? *Cancer Lett.* 2009;277:8-21.

390. Weichert W, Röske A, Gekeler V, Beckers T, Ebert MP, Pross M, Dietel M, Denkert C, Röcken C. Association of patterns of class I histone deacetylase expression with patient prognosis in gastric cancer: A retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2008;9:139-148.
391. Giaginis C, Damaskos C, Koutsounas I, Zizi-Serbetzoglou A, Tsoukalas N, Patsouris E, Kouraklis G, Theocharis S. Histone deacetylase (HDAC)-1, -2, -4 and -6 expression in human pancreatic adenocarcinoma: Associations with clinicopathological parameters, tumor proliferative capacity and patients' survival. *BMC Gastroenterol.* 2015;15:148.
392. Weichert W, Röske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K, Fritzsche FR, Niesporek S, Denkert C, Dietel M, Kristiansen G. Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. *Br J Cancer.* 2008;98:604-610.
393. Weichert W, Röske A, Niesporek S, Noske A, Buckendahl AC, Dietel M, Gekeler V, Boehm M, Beckers T, Denkert C. Class I histone deacetylase expression has independent prognostic impact in human colorectal cancer: Specific role of class I histone deacetylases in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res.* 2008;14:1669-1677.
394. Rikimaru T, Taketomi A, Yamashita Y, Shirabe K, Hamatsu T, Shimada M, Maehara Y. Clinical significance of histone deacetylase 1 expression in patients with hepatocellular carcinoma. *Oncology.* 2007;72:69-74.
395. Sasaki H, Moriyama S, Nakashima Y, Kobayashi Y, Kiriyama M, Fukai I, Yamakawa Y, Fujii Y. Histone deacetylase 1 mRNA expression in lung cancer. *Lung Cancer.* 2004;46:171-178.

396. Yoon S, Eom GH. HDAC and HDAC inhibitor: From cancer to cardiovascular diseases. *Chonnam Med J.* 2016;52:1-11.
397. Krusche CA, Wülfing P, Kersting C, Vloet A, Böcker W, Kiesel L, Beier HM, Alfer J. Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: A tissue microarray analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2005;90:15-23.
398. Glaser KB, Li J, Staver MJ, Wei RQ, Albert DH, Davidsen SK. Role of class I and class II histone deacetylases in carcinoma cells using siRNA. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;310:529-536.
399. Senese S, Zaragoza K, Minardi S, Muradore I, Ronzoni S, Passafaro A, Bernard L, Draetta GF, Alcalay M, Seiser C, Chiocca S. Role for histone deacetylase 1 in human tumor cell proliferation. *Mol Cell Biol.* 2007;27:4784-4795.
400. Keshelava N, Davicioni E, Wan Z, Ji L, Sposto R, Triche TJ, Reynolds CP. Histone deacetylase 1 gene expression and sensitization of multidrug-resistant neuroblastoma cell lines to cytotoxic agents by depsipeptide. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99:1107-1119.
401. Huang BH, Laban M, Leung CH, Lee L, Lee CK, Salto-Tellez M, Raju GC, Hooi SC. Inhibition of histone deacetylase 2 increases apoptosis and p21Cip1/WAF1 expression, independent of histone deacetylase 1. *Cell Death Differ.* 2005;12:395-404.
402. Harms KL, Chen X. Histone deacetylase 2 modulates p53 transcriptional activities through regulation of p53-DNA binding activity. *Cancer Res.* 2007;67:3145-3152.
403. West AC, Johnstone RW. New and emerging HDAC inhibitors for cancer treatment. *J Clin Invest.* 2014;124:30-39.

404. Wang JC, Kafeel MI, Avezbakiyev B, Chen C, Sun Y, Rathnasabapathy C, Kalavar M, He Z, Burton J, Lichter S. Histone deacetylase in chronic lymphocytic leukemia. *Oncology*. 2011;81:325-329.
405. Lane AA, Chabner BA. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27:5459-5468.
406. Atsumi A, Tomita A, Kiyoi H, Naoe T. Histone deacetylase 3 (HDAC3) is recruited to target promoters by PML-RARalpha as a component of the N-CoR co-repressor complex to repress transcription in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;345:1471-1480.
407. Vannini A, Volpari C, Filocamo G, Casavola EC, Brunetti M, Renzoni D, Chakravarty P, Paolini C, De Francesco R, Gallinari P, Steinkühler C, Di Marco S. Crystal structure of a eukaryotic zinc-dependent histone deacetylase, human HDAC8, complexed with a hydroxamic acid inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:15064-15069.
408. Oehme I, Deubzer HE, Wegener D, Pickert D, Linke JP, Hero B, Kopp-Schneider A, Westermann F, Ulrich SM, von Deimling A, Fischer M, Witt O. Histone deacetylase 8 in neuroblastoma tumorigenesis. *Clin Cancer Res*. 2009;15:91-99.
409. Lee H, Sengupta N, Villagra A, Rezai-Zadeh N, Seto E. Histone deacetylase 8 safeguards the human ever-shorter telomeres 1B (hEST1B) protein from ubiquitin-mediated degradation. *Mol Cell Biol*. 2006;26:5259-5269.
410. Ozdağ H, Teschendorff AE, Ahmed AA, Hyland SJ, Blenkiron C, Bobrow L, Veerakumarasivam A, Burt G, Subkhankulova T, Arends MJ, Collins VP, Bowtell D, Kouzarides T, Brenton JD, Caldas C. Differential expression of selected histone modifier genes in human solid cancers. *BMC Genomics*. 2006;7:90.

411. Chauchereau A, Mathieu M, de Saintignon J, Ferreira R, Pritchard LL, Mishal Z, Dejean A, Harel-Bellan A. HDAC4 mediates transcriptional repression by the acute promyelocytic leukaemia-associated protein PLZF. *Oncogene*. 2004;23:8777-8784.
412. Geng H, Harvey CT, Pittsenbarger J, Liu Q, Beer TM, Xue C, Qian DZ. HDAC4 protein regulates HIF1 α protein lysine acetylation and cancer cell response to hypoxia. *J Biol Chem*. 2011;286:38095-38102.
413. Wilson AJ, Byun DS, Nasser S, Murray LB, Ayyanar K, Arango D, Figueroa M, Melnick A, Kao GD, Augenlicht LH, Mariadason JM. HDAC4 promotes growth of colon cancer cells via repression of p21. *Mol Biol Cell*. 2008;19:4062-4075.
414. Milde T, Oehme I, Korshunov A, Kopp-Schneider A, Remke M, Northcott P, Deubzer HE, Lodrini M, Taylor MD, von Deimling A, Pfister S, Witt O. HDAC5 and HDAC9 in medulloblastoma: Novel markers for risk stratification and role in tumor cell growth. *Clin Cancer Res*. 2010;16:3240-3252.
415. Watamoto K, Towatari M, Ozawa Y, Miyata Y, Okamoto M, Abe A, Naoe T, Saito H. Altered interaction of HDAC5 with GATA-1 during MEL cell differentiation. *Oncogene*. 2003;22:9176-9184.
416. Osada H, Tatematsu Y, Saito H, Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T. Reduced expression of class II histone deacetylase genes is associated with poor prognosis in lung cancer patients. *Int J Cancer*. 2004;112:26-32.
417. Mottet D, Bellahcène A, Pirotte S, Waltregny D, Deroanne C, Lamour V, Lidereau R, Castronovo V. Histone deacetylase 7 silencing alters endothelial cell migration, a key step in angiogenesis. *Circ Res*. 2007;101:1237-1246.
418. Moreno DA, Scrideli CA, Cortez MA, de Paula Queiroz R, Valera ET, da Silva Silveira V, Yunes JA, Brandalise SR, Tone LG. Differential expression of HDAC3,

- HDAC7 and HDAC9 is associated with prognosis and survival in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2010;150:665-673.
419. Kotian S, Liyanarachchi S, Zelent A, Parvin JD. Histone deacetylases 9 and 10 are required for homologous recombination. *J Biol Chem.* 2011;286:7722-7726.
420. Barneda-Zahonero B, Parra M. Histone deacetylases and cancer. *Mol Oncol.* 2012;6:579-589.
421. Sakuma T, Uzawa K, Onda T, Shiiba M, Yokoe H, Shibahara T, Tanzawa H. Aberrant expression of histone deacetylase 6 in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2006;29:117-124.
422. Haggarty SJ, Koeller KM, Wong JC, Grozinger CM, Schreiber SL. Domain-selective small-molecule inhibitor of histone deacetylase 6 (HDAC6)-mediated tubulin deacetylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:4389-4394.
423. Bali P, Pranpat M, Bradner J, Balasis M, Fiskus W, Guo F, Rocha K, Kumaraswamy S, Boyapalle S, Atadja P, Seto E, Bhalla K. Inhibition of histone deacetylase 6 acetylates and disrupts the chaperone function of heat shock protein 90: A novel basis for antileukemia activity of histone deacetylase inhibitors. *J Biol Chem.* 2005;280:26729-26734.
424. Deskin B, Lasky J, Zhuang Y, Shan B. Requirement of HDAC6 for activation of Notch1 by TGF- β 1. *Sci Rep.* 2016;6:31086.
425. Lee JH, Jeong EG, Choi MC, Kim SH, Park JH, Song SH, Park J, Bang YJ, Kim TY. Inhibition of histone deacetylase 10 induces thioredoxin-interacting protein and causes accumulation of reactive oxygen species in SNU-620 human gastric cancer cells. *Mol Cells.* 2010;30:107-112.

426. Yang Y, Huang Y, Wang Z, Wang HT, Duan B, Ye D, Wang C, Jing R, Leng Y, Xi J, Chen W, Wang G, Jia W, Zhu S, Kang J. HDAC10 promotes lung cancer proliferation via AKT phosphorylation. *Oncotarget*. 2016;7:59388-59401.
427. Singh AK, Bishayee A, Pandey AK. Targeting histone deacetylases with natural and synthetic agents: An emerging anticancer strategy. *Nutrients*. 2018;10:E731.
428. Chalkiadaki A, Guarente L. The multifaceted functions of sirtuins in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2015;15:608-624.
429. Mei Z, Zhang X, Yi J, Huang J, He J, Tao Y. Sirtuins in metabolism, DNA repair and cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016;35:182.
430. Bradbury CA, Khanim FL, Hayden R, Bunce CM, White DA, Drayson MT, Craddock C, Turner BM. Histone deacetylases in acute myeloid leukaemia show a distinctive pattern of expression that changes selectively in response to deacetylase inhibitors. *Leukemia*. 2005;19:1751-1759.
431. Hida Y, Kubo Y, Murao K, Arase S. Strong expression of a longevity-related protein, SIRT1, in Bowen's disease. *Arch Dermatol Res*. 2007;299:103-106.
432. Huffman DM, Grizzle WE, Bamman MM, Kim JS, Eltoum IA, Elgavish A, Nagy TR. SIRT1 is significantly elevated in mouse and human prostate cancer. *Cancer Res*. 2007;67:6612-6618.
433. Hiratsuka M, Inoue T, Toda T, Kimura N, Shirayoshi Y, Kamitani H, Watanabe T, Ohama E, Tahimic CG, Kurimasa A, Oshimura M. Proteomics-based identification of differentially expressed genes in human gliomas: Down-regulation of SIRT2 gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;309:558-566.
434. Shen X, Li P, Xu Y, Chen X, Sun H, Zhao Y, Liu M, Zhang W. Association of sirtuins with clinicopathological parameters and overall survival in gastric cancer. *Oncotarget*. 2017;8:74359-74370.

435. Lennerz V, Fatho M, Gentilini C, Frye RA, Lifke A, Ferel D, Wölfel C, Huber C, Wölfel T. The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:16013-16018.
436. Ashraf N, Zino S, Macintyre A, Kingsmore D, Payne AP, George WD, Shiels PG. Altered sirtuin expression is associated with node-positive breast cancer. *Br J Cancer.* 2006;95:1056-1061.
437. de Céu Teixeira M, Sanchez-Lopez E, Espina M, Garcia ML, Durazzo A, Lucarini M, Novellino E, Souto SB, Santini A, Souto EB. Sirtuins and SIRT6 in carcinogenesis and in diet. *Int J Mol Sci.* 2019;20:E4945.
438. Chu F, Chou PM, Zheng X, Mirkin BL, Rebbaa A. Control of multidrug resistance gene *mdr1* and cancer resistance to chemotherapy by the longevity gene *sirt1*. *Cancer Res.* 2005;65:10183-10187.
439. Skov V, Larsen TS, Thomassen M, Riley CH, Jensen MK, Bjerrum OW, Kruse TA, Hasselbalch HC. Increased gene expression of histone deacetylases in patients with Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Leuk Lymphoma.* 2012;53:123-129.
440. Hagelkruys A, Sawicka A, Rennmayr M, Seiser C. The biology of HDAC in cancer: The nuclear and epigenetic components. *Handb Exp Pharmacol.* 2011;206:13-37.
441. Ropero S, Fraga MF, Ballestar E, Hamelin R, Yamamoto H, Boix-Chornet M, Caballero R, Alaminos M, Setien F, Paz MF, Herranz M, Palacios J, Arango D, Orntoft TF, Aaltonen LA, Schwartz S Jr, Esteller M. A truncating mutation of HDAC2 in human cancers confers resistance to histone deacetylase inhibition. *Nat Genet.* 2006;38:566-569.

442. Head PE, Zhang H, Bastien AJ, Koyen AE, Withers AE, Daddacha WB, Cheng X, Yu DS. Sirtuin 2 mutations in human cancers impair its function in genome maintenance. *J Biol Chem.* 2017;292:9919-9931.
443. Biçaku E, Marchion DC, Schmitt ML, Münster PN. Selective inhibition of histone deacetylase 2 silences progesterone receptor-mediated signaling. *Cancer Res.* 2008;68:1513-1519.
444. Munster PN, Troso-Sandoval T, Rosen N, Rifkind R, Marks PA, Richon VM. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid induces differentiation of human breast cancer cells. *Cancer Res.* 2001;61:8492-8497.
445. Osborne CK, Yochmowitz MG, Knight WA 3rd, McGuire WL. The value of estrogen and progesterone receptors in the treatment of breast cancer. *Cancer.* 1980;46 Suppl 12:2884-2888.
446. Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, Ando Y, Mita K, Hamaguchi M, Hara Y, Kobayashi S, Iwase H. Quantitation of HDAC1 mRNA expression in invasive carcinoma of the breast*. *Breast Cancer Res Treat.* 2005;94:11-16.
447. Cameron EE, Bachman KE, Myöhänen S, Herman JG, Baylin SB. Synergy of demethylation and histone deacetylase inhibition in the re-expression of genes silenced in cancer. *Nat Genet.* 1999;21:103-107.
448. Sharma D, Blum J, Yang X, Beaulieu N, Macleod AR, Davidson NE. Release of methyl CpG binding proteins and histone deacetylase 1 from the estrogen receptor alpha (ER) promoter upon reactivation in ER-negative human breast cancer cells. *Mol Endocrinol.* 2005;19:1740-1751.
449. Fiskus W, Ren Y, Mohapatra A, Bali P, Mandawat A, Rao R, Herger B, Yang Y, Atadja P, Wu J, Bhalla K. Hydroxamic acid analogue histone deacetylase inhibitors attenuate estrogen receptor-alpha levels and transcriptional activity: A

- result of hyperacetylation and inhibition of chaperone function of heat shock protein 90. *Clin Cancer Res.* 2007;13:4882-4890.
450. Hirokawa Y, Arnold M, Nakajima H, Zalcborg J, Maruta H. Signal therapy of breast cancers by the HDAC inhibitor FK228 that blocks the activation of PAK1 and abrogates the tamoxifen-resistance. *Cancer Biol Ther.* 2005;4:956-960.
451. Ceccacci E, Minucci S. Inhibition of histone deacetylases in cancer therapy: Lessons from leukaemia. *Br J Cancer.* 2016;114:605-611.
452. Eckschlager T, Plch J, Stiborova M, Hrabeta J. Histone deacetylase inhibitors as anticancer drugs. *Int J Mol Sci.* 2017;18:E1414.
453. Lernoux M, Schnekenburger M, Dicato M, Diederich M. Anti-cancer effects of naturally derived compounds targeting histone deacetylase 6-related pathways. *Pharmacol Res.* 2018;129:337-356.
454. De Souza C, Chatterji BP. HDAC inhibitors as novel anti-cancer therapeutics. *Recent Pat Anticancer Drug Discov.* 2015;10:145-162.
455. Krämer OH, Göttlicher M, Heinzl T. Histone deacetylase as a therapeutic target. *Trends Endocrinol Metab.* 2001;12:294-300.
456. Cappellacci L, Perinelli DR, Maggi F, Grifantini M, Petrelli R. Recent progress in histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. *Curr Med Chem.* 2018 [Epub ahead of print].
457. Dey P. Chromatin remodeling, cancer and chemotherapy. *Curr Med Chem.* 2006;13:2909-2919.
458. Tandon N, Ramakrishnan V, Kumar SK. Clinical use and applications of histone deacetylase inhibitors in multiple myeloma. *Clin Pharmacol.* 2016;8:35-44.
459. Briere D, Sudhakar N, Woods DM, Hallin J, Engstrom LD, Aranda R, Chiang H, Sodr  AL, Olson P, Weber JS, Christensen JG. The class I/IV HDAC inhibitor

- mocetinostat increases tumor antigen presentation, decreases immune suppressive cell types and augments checkpoint inhibitor therapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2018;67:381-392.
460. Mutule I, Borovika D, Rozenberga E, Romanchikova N, Zalubovskis R, Shestakova I, Trapencieris P. 5-membered cyclic hydroxamic acids as HDAC inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2015;30:216-223.
461. Codd R, Braich N, Liu J, Soe CZ, Pakchung AA. Zn(II)-dependent histone deacetylase inhibitors: Suberoylanilide hydroxamic acid and trichostatin A. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41:736-739.
462. Shen Z, Liao X, Shao Z, Feng M, Yuan J, Wang S, Gan S, Ha Y, He Z, Jie W. Short-term stimulation with histone deacetylase inhibitor trichostatin a induces epithelial-mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma cells without increasing cell invasion ability. *BMC Cancer.* 2019;19:262.
463. Ma J, Guo X, Zhang S, Liu H, Lu J, Dong Z, Liu K, Ming L. Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, suppresses proliferation and promotes apoptosis of esophageal squamous cell lines. *Mol Med Rep.* 2015;11:4525-4531.
464. Hoshikawa Y, Kwon HJ, Yoshida M, Horinouchi S, Beppu T. Trichostatin A induces morphological changes and gelsolin expression by inhibiting histone deacetylase in human carcinoma cell lines. *Exp Cell Res.* 1994;214:189-197.
465. Damaskos C, Garpis N, Karatzas T, Nikolidakis L, Kostakis ID, Garpis A, Karamaroudis S, Boutsikos G, Damaskou Z, Kostakis A, Kouraklis G. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors: Current evidence for therapeutic activities in pancreatic cancer. *Anticancer Res.* 2015;35:3129-3135.
466. Spartalis E, Athanasiadis DI, Chrysikos D, Spartalis M, Boutzios G, Schizas D, Garpis N, Damaskos C, Paschou SA, Ioannidis A, Tsourouflis G, Dimitroulis D,

- Nikiteas NI. Histone deacetylase inhibitors and anaplastic thyroid carcinoma. *Anticancer Res.* 2019;39:1119-1127.
467. Damaskos C, Garmpis N, Valsami S, Spartalis E, Antoniou EA, Tomos P, Karamaroudis S, Zoumpou T, Pergialiotis V, Stergios K, Michaelides C, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Dimitroulis D. Histone deacetylase inhibitors: A novel therapeutic weapon against medullary thyroid cancer? *Anticancer Res.* 2016;36:5019-5024.
468. Herold C, Ganslmayer M, Ocker M, Hermann M, Geerts A, Hahn EG, Schuppan D. The histone-deacetylase inhibitor Trichostatin A blocks proliferation and triggers apoptotic programs in hepatoma cells. *J Hepatol.* 2002;36:233-240.
469. Strait KA, Dabbas B, Hammond EH, Warnick CT, Istrup SJ, Ford CD. Cell cycle blockade and differentiation of ovarian cancer cells by the histone deacetylase inhibitor trichostatin A are associated with changes in p21, Rb, and Id proteins. *Mol Cancer Ther.* 2002;1:1181-1190.
470. Sato H, Uzu M, Kashiba T, Fujiwara T, Hatakeyama H, Ueno K, Hisaka A. Trichostatin A modulates cellular metabolism in renal cell carcinoma to enhance sunitinib sensitivity. *Eur J Pharmacol.* 2019;847:143-157.
471. Olsen EA, Kim YH, Kuzel TM, Pacheco TR, Foss FM, Parker S, Frankel SR, Chen C, Ricker JL, Arduino JM, Duvic M. Phase IIb multicenter trial of vorinostat in patients with persistent, progressive, or treatment refractory cutaneous T-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007;25:3109-3115.
472. Bubna AK. Vorinostat-An overview. *Indian J Dermatol.* 2015;60:419.
473. Suraweera A, O'Byrne KJ, Richard DJ. Combination therapy with histone deacetylase inhibitors (HDACi) for the treatment of cancer: Achieving the full therapeutic potential of HDACi. *Front Oncol.* 2018;8:92.

474. Copeland A, Buglio D, Younes A. Histone deacetylase inhibitors in lymphoma. *Curr Opin Oncol.* 2010;22:431-436.
475. Atadja P. Development of the pan-DAC inhibitor panobinostat (LBH589): Successes and challenges. *Cancer Lett.* 2009;280:233-241.
476. Venkannagari S, Fiskus W, Peth K, Atadja P, Hidalgo M, Maitra A, Bhalla KN. Superior efficacy of co-treatment with dual PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 and pan-histone deacetylase inhibitor against human pancreatic cancer. *Oncotarget.* 2012;3:1416-1427.
477. Zhang C, Guo S, Zhong Q, Zhang Q, Hossain A, Zheng S, Wang G. Metabolism and pharmacokinetic study of the boron-containing prodrug of belinostat (ZL277), a pan HDAC inhibitor with enhanced bioavailability. *Pharmaceuticals (Basel).* 2019;12:E180.
478. Gravina GL, Marampon F, Giusti I, Carosa E, Di Sante S, Ricevuto E, Dolo V, Tombolini V, Jannini EA, Festuccia C. Differential effects of PDX101 (belinostat) on androgen-dependent and androgen-independent prostate cancer models. *Int J Oncol.* 2012;40:711-720.
479. Bhalla S, Balasubramanian S, David K, Sirisawad M, Buggy J, Mauro L, Prachand S, Miller R, Gordon LI, Evens AM. PCI-24781 induces caspase and reactive oxygen species-dependent apoptosis through NF-kappaB mechanisms and is synergistic with bortezomib in lymphoma cells. *Clin Cancer Res.* 2009;15:3354-3365.
480. Morschhauser F, Terriou L, Coiffier B, Bachy E, Varga A, Kloos I, Lelièvre H, Sarry AL, Depil S, Ribrag V. Phase 1 study of the oral histone deacetylase inhibitor abexinostat in patients with Hodgkin lymphoma, non-Hodgkin lymphoma, or chronic lymphocytic leukaemia. *Invest New Drugs.* 2015;33:423-431.

481. Ribrag V, Kim WS, Bouabdallah R, Lim ST, Coiffier B, Illes A, Lemieux B, Dyer MJS, Offner F, Felloussi Z, Kloos I, Luan Y, Vezen R, Graef T, Morschhauser F. Safety and efficacy of abexinostat, a pan-histone deacetylase inhibitor, in non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia: Results of a phase II study. *Haematologica*. 2017;102:903-909.
482. Brunetto AT, Ang JE, Lal R, Olmos D, Molife LR, Kristeleit R, Parker A, Casamayor I, Olaleye M, Mais A, Hauns B, Strobel V, Hentsch B, de Bono JS. First-in-human, pharmacokinetic and pharmacodynamic phase I study of Resminostat, an oral histone deacetylase inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2013;19:5494-5504.
483. Mandl-Weber S, Meinel FG, Jankowsky R, Oduncu F, Schmidmaier R, Baumann P. The novel inhibitor of histone deacetylase resminostat (RAS2410) inhibits proliferation and induces apoptosis in multiple myeloma (MM) cells. *Br J Haematol*. 2010;149:518-528.
484. Walewski J, Paszkiewicz-Kozik E, Borsaru G, Hellmann A, Janikova A, Warszevska A, Mais A, Ammendola A, Herz T, Krauss B, Henning SW. Resminostat in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: Results of the phase II SAPHIRE study. *Leuk Lymphoma*. 2019;60:675-684.
485. Ganai SA. Histone deacetylase inhibitor givinostat: The small-molecule with promising activity against therapeutically challenging haematological malignancies. *J Chemother*. 2016;28:247-254.
486. Locatelli SL, Cleris L, Stirparo GG, Tartari S, Saba E, Pierdominici M, Malorni W, Carbone A, Anichini A, Carlo-Stella C. BIM upregulation and ROS-dependent necroptosis mediate the antitumor effects of the HDACi Givinostat and Sorafenib in Hodgkin lymphoma cell line xenografts. *Leukemia*. 2014;28:1861-1871.

487. Zappasodi R, Cavanè A, Iorio MV, Tortoreto M, Guarnotta C, Ruggiero G, Piovan C, Magni M, Zaffaroni N, Tagliabue E, Croce CM, Zunino F, Gianni AM, Di Nicola M. Pleiotropic antitumor effects of the pan-HDAC inhibitor ITF2357 against c-Myc-overexpressing human B-cell non-Hodgkin lymphomas. *Int J Cancer*. 2014;135:2034-2045.
488. Arts J, King P, Mariën A, Floren W, Beliën A, Janssen L, Pilatte I, Roux B, Decrane L, Gilissen R, Hickson I, Vreys V, Cox E, Bol K, Talloen W, Goris I, Andries L, Du Jardin M, Janicot M, Page M, van Emelen K, Angibaud P. JNJ-26481585, a novel "second-generation" oral histone deacetylase inhibitor, shows broad-spectrum preclinical antitumoral activity. *Clin Cancer Res*. 2009;15:6841-6851.
489. He B, Dai L, Zhang X, Chen D, Wu J, Feng X, Zhang Y, Xie H, Zhou L, Wu J, Zheng S. The HDAC inhibitor quisinostat (JNJ-26481585) suppresses hepatocellular carcinoma alone and synergistically in combination with sorafenib by G0/G1 phase arrest and apoptosis induction. *Int J Biol Sci*. 2018;14:1845-1858.
490. Li F, Wang T, Wang Z, Chen X, Liu R. Histone deacetylase inhibitor quisinostat activates caspase signaling and upregulates p53 acetylation to inhibit the proliferation of HepG2 cells. *Mol Med Rep*. 2017;16:6094-6101.
491. Bao L, Diao H, Dong N, Su X, Wang B, Mo Q, Yu H, Wang X, Chen C. Histone deacetylase inhibitor induces cell apoptosis and cycle arrest in lung cancer cells via mitochondrial injury and p53 up-acetylation. *Cell Biol Toxicol*. 2016;32:469-482.
492. Zhong L, Zhou S, Tong R, Shi J, Bai L, Zhu Y, Duan X, Liu W, Bao J, Su L, Peng Q. Preclinical assessment of histone deacetylase inhibitor quisinostat as a therapeutic agent against esophageal squamous cell carcinoma. *Invest New Drugs*. 2019;37:616-624.

493. Heinicke U, Kupka J, Fichter I, Fulda S. Critical role of mitochondria-mediated apoptosis for JNJ-26481585-induced antitumor activity in rhabdomyosarcoma. *Oncogene*. 2016;35:3729-3741.
494. Maes K, De Smedt E, Lemaire M, De Raeve H, Menu E, Van Valckenborgh E, McClue S, Vanderkerken K, De Bruyne E. The role of DNA damage and repair in decitabine-mediated apoptosis in multiple myeloma. *Oncotarget*. 2014;5:3115-3129.
495. Moschos MM, Dettoraki M, Androudi S, Kalogeropoulos D, Lavaris A, Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Tsatsos M. The role of histone deacetylase inhibitors in uveal melanoma: Current evidence. *Anticancer Res*. 2018;38:3817-3824.
496. Cao J, Lv W, Wang L, Xu J, Yuan P, Huang S, He Z, Hu J. Ricolinostat (ACY-1215) suppresses proliferation and promotes apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma via miR-30d/PI3K/AKT/mTOR and ERK pathways. *Cell Death Dis*. 2018;9:817.
497. Adeegbe DO, Liu Y, Lizotte PH, Kamihara Y, Aref AR, Almonte C, Dries R, Li Y, Liu S, Wang X, Warner-Hatten T, Castrillon J, Yuan GC, Poudel-Neupane N, Zhang H, Guerriero JL, Han S, Awad MM, Barbie DA, Ritz J, Jones SS, Hammerman PS, Bradner J, Quayle SN, Wong KK. Synergistic immunostimulatory effects and therapeutic benefit of combined histone deacetylase and bromodomain inhibition in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov*. 2017;7:852-867.
498. Wang F, Zhong BW, Zhao ZR. ACY 1215, a histone deacetylase 6 inhibitor, inhibits cancer cell growth in melanoma. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2018;32:851-858.

499. Dasmahapatra G, Patel H, Friedberg J, Quayle SN, Jones SS, Grant S. In vitro and in vivo interactions between the HDAC6 inhibitor ricolinostat (ACY1215) and the irreversible proteasome inhibitor carfilzomib in non-Hodgkin lymphoma cells. *Mol Cancer Ther.* 2014;13:2886-2897.
500. Mishima Y, Santo L, Eda H, Cirstea D, Nemani N, Yee AJ, O'Donnell E, Selig MK, Quayle SN, Arastu-Kapur S, Kirk C, Boise LH, Jones SS, Raje N. Ricolinostat (ACY-1215) induced inhibition of aggresome formation accelerates carfilzomib-induced multiple myeloma cell death. *Br J Haematol.* 2015;169:423-434.
501. Vogl DT, Raje N, Jagannath S, Richardson P, Hari P, Orlowski R, Supko JG, Tamang D, Yang M, Jones SS, Wheeler C, Markelewicz RJ, Lonial S. Ricolinostat, the first selective histone deacetylase 6 inhibitor, in combination with bortezomib and dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2017;23:3307-3315.
502. Yee AJ, Bensinger WI, Supko JG, Voorhees PM, Berdeja JG, Richardson PG, Libby EN, Wallace EE, Birrer NE, Burke JN, Tamang DL, Yang M, Jones SS, Wheeler CA, Markelewicz RJ, Raje NS. Ricolinostat plus lenalidomide, and dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma: A multicentre phase 1b trial. *Lancet Oncol.* 2016;17:1569-1578.
503. Lee DH, Won HR, Ryu HW, Han JM, Kwon SH. The HDAC6 inhibitor ACY-1215 enhances the anticancer activity of oxaliplatin in colorectal cancer cells. *Int J Oncol.* 2018;53:844-854.
504. Lee EK, Tan-Wasielewski Z, Matulonis UA, Birrer MJ, Wright AA, Horowitz N, Konstantinopoulos PA, Curtis J, Liu JF. Results of an abbreviated Phase Ib study of the HDAC6 inhibitor ricolinostat and paclitaxel in recurrent ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal cancer. *Gynecol Oncol Rep.* 2019;29:118-122.

505. Garcia-Manero G, Abaza Y, Takahashi K, Medeiros BC, Arellano M, Khaled SK, Patnaik M, Odenike O, Sayar H, Tummala M, Patel P, Maness-Harris L, Stuart R, Traer E, Karamlou K, Yacoub A, Ghalie R, Giorgino R, Atallah E. Pracinostat plus azacitidine in older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia: Results of a phase 2 study. *Blood Adv.* 2019;3:508-518.
506. Novotny-Diermayr V, Hart S, Goh KC, Cheong A, Ong LC, Hentze H, Pasha MK, Jayaraman R, Ethirajulu K, Wood JM. The oral HDAC inhibitor pracinostat (SB939) is efficacious and synergistic with the JAK2 inhibitor pacritinib (SB1518) in preclinical models of AML. *Blood Cancer J.* 2012;2:E69.
507. Zorzi AP, Bernstein M, Samson Y, Wall DA, Desai S, Nicksy D, Wainman N, Eisenhauer E, Baruchel S. A phase I study of histone deacetylase inhibitor, pracinostat (SB939), in pediatric patients with refractory solid tumors: IND203 a trial of the NCIC IND program/C17 pediatric phase I consortium. *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60:1868-1874.
508. Namdar M, Perez G, Ngo L, Marks PA. Selective inhibition of histone deacetylase 6 (HDAC6) induces DNA damage and sensitizes transformed cells to anticancer agents. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:20003-20008.
509. Yin C, Li P. Growth suppression of glioma cells using HDAC6 inhibitor, tubacin. *Open Med (Wars).* 2018;13:221-226.
510. Aldana-Masangkay GI, Rodriguez-Gonzalez A, Lin T, Ikeda AK, Hsieh YT, Kim YM, Lomenick B, Okemoto K, Landaw EM, Wang D, Mazitschek R, Bradner JE, Sakamoto KM. Tubacin suppresses proliferation and induces apoptosis of acute lymphoblastic leukemia cells. *Leuk Lymphoma.* 2011;52:1544-1555.
511. Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Dimitroulis D, Spartalis E, Margonis GA, Schizas D, Deskou I, Doula C, Magkouti E, Andreatos N, Antoniou EA, Nonni A,

- Kontzoglou K, Mantas D. Targeting histone deacetylases in malignant melanoma: A future therapeutic agent or just great expectations? *Anticancer Res.* 2017;37:5355-5362.
512. Deskin B, Yin Q, Zhuang Y, Saito S, Shan B, Lasky JA. Inhibition of HDAC6 attenuates tumor growth of non-small cell lung cancer. *Transl Oncol.* 2020;13:135-145.
513. Bergman JA, Woan K, Perez-Villarroel P, Villagra A, Sotomayor EM, Kozikowski AP. Selective histone deacetylase 6 inhibitors bearing substituted urea linkers inhibit melanoma cell growth. *J Med Chem.* 2012;55:9891-9899.
514. Ledezma DK, Balakrishnan PB, Cano-Mejia J, Sweeney EE, Hadley M, Bollard CM, Villagra A, Fernandes R. Indocyanine green-Nexturastat A-PLGA nanoparticles combine photothermal and epigenetic therapy for melanoma. *Nanomaterials (Basel).* 2020;10:E161.
515. Sun X, Xie Y, Sun X, Yao Y, Li H, Li Z, Yao R, Xu K. The selective HDAC6 inhibitor Nexturastat A induces apoptosis, overcomes drug resistance and inhibits tumor growth in multiple myeloma. *Biosci Rep.* 2019;39:BSR20181916.
516. Cai X, Zhai HX, Wang J, Forrester J, Qu H, Yin L, Lai CJ, Bao R, Qian C. Discovery of 7-(4-(3-ethynylphenylamino)-7-methoxyquinazolin-6-yloxy)-N-hydroxyheptanamide (CUDc-101) as a potent multi-acting HDAC, EGFR, and HER2 inhibitor for the treatment of cancer. *J Med Chem.* 2010;53:2000-2009.
517. Lai CJ, Bao R, Tao X, Wang J, Atoyian R, Qu H, Wang DG, Yin L, Samson M, Forrester J, Zifcak B, Xu GX, DellaRocca S, Zhai HX, Cai X, Munger WE, Keegan M, Pepicelli CV, Qian C. CUDC-101, a multitargeted inhibitor of histone deacetylase, epidermal growth factor receptor, and human epidermal growth factor receptor 2, exerts potent anticancer activity. *Cancer Res.* 2010;70:3647-3656.

518. Ji M, Li Z, Lin Z, Chen L. Antitumor activity of the novel HDAC inhibitor CUDC-101 combined with gemcitabine in pancreatic cancer. *Am J Cancer Res.* 2018;8:2402-2418.
519. Wang J, Pursell NW, Samson ME, Atoyan R, Ma AW, Selmi A, Xu W, Cai X, Voi M, Savagner P, Lai CJ. Potential advantages of CUDC-101, a multitargeted HDAC, EGFR, and HER2 inhibitor, in treating drug resistance and preventing cancer cell migration and invasion. *Mol Cancer Ther.* 2013;12:925-936.
520. Zhang L, Zhang Y, Mehta A, Boufraqueh M, Davis S, Wang J, Tian Z, Yu Z, Boxer MB, Kiefer JA, Copland JA, Smallridge RC, Li Z, Shen M, Kebebew E. Dual inhibition of HDAC and EGFR signaling with CUDC-101 induces potent suppression of tumor growth and metastasis in anaplastic thyroid cancer. *Oncotarget.* 2015;6:9073-9085.
521. Zhang L, Boufraqueh M, Lake R, Kebebew E. Carfilzomib potentiates CUDC-101-induced apoptosis in anaplastic thyroid cancer. *Oncotarget.* 2016;7:16517-16528.
522. Komatsu Y, Tomizaki KY, Tsukamoto M, Kato T, Nishino N, Sato S, Yamori T, Tsuruo T, Furumai R, Yoshida M, Horinouchi S, Hayashi H. Cyclic hydroxamic-acid-containing peptide 31, a potent synthetic histone deacetylase inhibitor with antitumor activity. *Cancer Res.* 2001;61:4459-4466.
523. Murakami K, Matsubara H, Hoshino I, Akutsu Y, Miyazawa Y, Matsushita K, Sakata H, Nishimori T, Usui A, Kano M, Nishino N, Yoshida M. CHAP31 induces apoptosis only via the intrinsic pathway in human esophageal cancer cells. *Oncology.* 2010;78:62-74.
524. Kano M, Yamada S, Hoshino I, Murakami K, Akutsu Y, Sakata H, Nishimori T, Usui A, Miyazawa Y, Kamada T, Tsujii H, Matsubara H. Effects of carbon-ion

- radiotherapy combined with a novel histone deacetylase inhibitor, cyclic hydroxamic-acid-containing peptide 31 in human esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.* 2009;29:4433-4438.
525. Meli M, Tolomeo M, Grifantini M, Mai A, Cappellacci L, Petrelli R, Rotili D, Ferro A, Saiko P, Szekeres T, Dusonchet L. Histone deacetylase inhibition modulates deoxyribonucleotide pools and enhances the antitumor effects of the ribonucleotide reductase inhibitor 3'-C-methyladenosine in leukaemia cells. *Int J Oncol.* 2011;38:1427-1436.
526. Franchetti P, Cappellacci L, Pasqualini M, Petrelli R, Vita P, Jayaram HN, Horvath Z, Szekeres T, Grifantini M. Antitumor activity of C-methyl-beta-D-ribofuranosyladenine nucleoside ribonucleotide reductase inhibitors. *J Med Chem.* 2005;48:4983-4989.
527. Stauber RH, Knauer SK, Habtemichael N, Bier C, Unruhe B, Weisheit S, Spange S, Nonnenmacher F, Fetz V, Ginter T, Reichardt S, Liebmann C, Schneider G, Krämer OH. A combination of a ribonucleotide reductase inhibitor and histone deacetylase inhibitors downregulates EGFR and triggers BIM-dependent apoptosis in head and neck cancer. *Oncotarget.* 2012;3:31-43.
528. Laschanzky RS, Humphrey LE, Ma J, Smith LM, Enke TJ, Shukla SK, Dasgupta A, Singh PK, Howell GM, Brattain MG, Ly QP, Black AR, Black JD. Selective inhibition of histone deacetylases 1/2/6 in combination with gemcitabine: A promising combination for pancreatic cancer therapy. *Cancers (Basel).* 2019;11:E1327.
529. Lopez G, Braggio D, Zewdu A, Casadei L, Batte K, Bid HK, Koller D, Yu P, Iwenofu OH, Strohecker A, Choy E, Lev D, Pollock R. Mocetinostat combined

- with gemcitabine for the treatment of leiomyosarcoma: Preclinical correlates. *PLoS One*. 2017;12:E0188859.
530. Choy E, Ballman K, Chen J, Dickson MA, Chugh R, George S, Okuno S, Pollock R, Patel RM, Hoering A, Patel S. SARC018_SPORE02: Phase II study of mocetinostat administered with gemcitabine for patients with metastatic leiomyosarcoma with progression or relapse following prior treatment with gemcitabine-containing therapy. *Sarcoma*. 2018;2018:2068517.
531. Lu Q, Yang YT, Chen CS, Davis M, Byrd JC, Etherton MR, Umar A, Chen CS. Zn²⁺-chelating motif-tethered short-chain fatty acids as a novel class of histone deacetylase inhibitors. *J Med Chem*. 2004;47:467-474.
532. Parada Venegas D, De la Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G, Harmsen HJM, Faber KN, Hermoso MA. Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Front Immunol*. 2019;10:277.
533. Blaheta RA, Michaelis M, Driever PH, Cinatl J Jr. Evolving anticancer drug valproic acid: Insights into the mechanism and clinical studies. *Med Res Rev*. 2005;25:383-397.
534. Takai N, Desmond JC, Kumagai T, Gui D, Said JW, Whittaker S, Miyakawa I, Koeffler HP. Histone deacetylase inhibitors have a profound antigrowth activity in endometrial cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2004;10:1141-1149.
535. Cook AM, Zafar MS, Mathias S, Stewart AM, Albuja AC, Bensalem-Owen M, Kapoor S, Baumann RJ. Pharmacokinetics and clinical utility of valproic acid administered via continuous infusion. *CNS Drugs*. 2016;30:71-77.

536. Landreville S, Agapova OA, Matatall KA, Kneass ZT, Onken MD, Lee RS, Bowcock AM, Harbour JW. Histone deacetylase inhibitors induce growth arrest and differentiation in uveal melanoma. *Clin Cancer Res.* 2012;18:408-416.
537. Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Spartalis E, Kalampokas E, Kalampokas T, Margonis GA, Schizas D, Andreatos N, Angelou A, Lavaris A, Athanasiou A, Apostolou KG, Spartalis M, Damaskou Z, Daskalopoulou A, Diamantis E, Tsivelekas K, Alavanos A, Valsami S, Moschos MM, Sampani A, Nonni A, Antoniou EA, Mantas D, Tsourouflis G, Markatos K, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Kostakis A, Dimitroulis, D. Targeting histone deacetylases in endometrial cancer: A paradigm-shifting therapeutic strategy? *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22:950-960.
538. Singh BN, Zhou H, Li J, Tipton T, Wang B, Shao G, Gilbert EN, Li Q, Jiang SW. Preclinical studies on histone deacetylase inhibitors as therapeutic reagents for endometrial and ovarian cancers. *Future Oncol.* 2011;7:1415-1428.
539. Chodurek E, Orchel A, Gawlik N, Kulczycka A, Gruchlik A, Dzierzewicz Z. Proliferation and cellular death of A375 cell line in the presence of HDACs inhibitors. *Acta Pol Pharm.* 2010;67:686-689.
540. Sanaei M, Kavooosi F, Roustazadeh A, Shahsavani H. In vitro effect of the histone deacetylase inhibitor valproic acid on viability and apoptosis of the PLC/PRF5 human hepatocellular carcinoma cell line. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018;19:2507-2510.
541. Sanaei M, Kavooosi F. Effect of 5-aza-2'-deoxycytidine in comparison to valproic acid and trichostatin A on histone deacetylase 1, DNA methyltransferase 1, and CIP/KIP family (p21, p27, and p57) genes expression, cell growth inhibition,

- and apoptosis induction in colon cancer SW480 cell line. *Adv Biomed Res.* 2019;8:52.
542. Kaiser M, Zavrski I, Sterz J, Jakob C, Fleissner C, Kloetzel PM, Sezer O, Heider U. The effects of the histone deacetylase inhibitor valproic acid on cell cycle, growth suppression and apoptosis in multiple myeloma. *Haematologica.* 2006;91:248-251.
543. Zhang YY, Zhang ZH, Zhao RJ, Li H, Wang TR, Yan LN, Gu CH, Zhao L, Hao CL. Valproic acid activates autophagy in multiple myeloma cell lines RPMI8226 and U266. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2016;37:478-483.
544. Karp M, Kosior K, Karczmarczyk A, Zając M, Zaleska J, Tomczak W, Chocholska S, Hus M, Dmoszyńska A, Giannopoulos K. Cytotoxic activity of valproic acid on primary chronic lymphocytic leukemia cells. *Adv Clin Exp Med.* 2015;24:55-62.
545. Mawatari T, Ninomiya I, Inokuchi M, Harada S, Hayashi H, Oyama K, Makino I, Nakagawara H, Miyashita T, Tajima H, Takamura H, Fushida S, Ohta T. Valproic acid inhibits proliferation of HER2-expressing breast cancer cells by inducing cell cycle arrest and apoptosis through Hsp70 acetylation. *Int J Oncol.* 2015;47:2073-2081.
546. Heers H, Stanislaw J, Harrelson J, Lee MW. Valproic acid as an adjunctive therapeutic agent for the treatment of breast cancer. *Eur J Pharmacol.* 2018;835:61-74.
547. Aztopal N, Erkisa M, Erturk E, Ulukaya E, Tokullugil AH, Ari F. Valproic acid, a histone deacetylase inhibitor, induces apoptosis in breast cancer stem cells. *Chem Biol Interact.* 2018;280:51-58.

548. Wheler JJ, Janku F, Falchook GS, Jackson TL, Fu S, Naing A, Tsimberidou AM, Moulder SL, Hong DS, Yang H, Piha-Paul SA, Atkins JT, Garcia-Manero G, Kurzrock R. Phase I study of anti-VEGF monoclonal antibody bevacizumab and histone deacetylase inhibitor valproic acid in patients with advanced cancers. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014;73:495-501.
549. Tran LNK, Kichenadasse G, Morel KL, Lavranos TC, Klebe S, Lower KM, Ormsby RJ, Elliot DJ, Sykes PJ. The combination of metformin and valproic acid has a greater anti-tumoral effect on prostate cancer growth in vivo than either drug alone. *In Vivo.* 2019;33:99-108.
550. Zhu W, Liang Q, Yang X, Yu Y, Shen X, Sun G. Combination of sorafenib and valproic acid synergistically induces cell apoptosis and inhibits hepatocellular carcinoma growth via down-regulating Notch3 and pAkt. *Am J Cancer Res.* 2017;7:2503-2514.
551. Shi M, Ren X, Wang X, Wang H, Liu G, Yuan X, Zheng S, Yu L, Pan S, Song G, Guo Q, Li L, Zhang X, Zhang Z, Ding H, Jiang G. A novel combination of oridonin and valproic acid in enhancement of apoptosis induction of HL-60 leukemia cells. *Int J Oncol.* 2016;48:734-746.
552. Leitch C, Osdal T, Andresen V, Molland M, Kristiansen S, Nguyen XN, Bruserud Ø, Gjertsen BT, McCormack E. Hydroxyurea synergizes with valproic acid in wild-type p53 acute myeloid leukaemia. *Oncotarget.* 2016;7:8105-8118.
553. Fritsche P, Seidler B, Schüler S, Schnieke A, Göttlicher M, Schmid RM, Saur D, Schneider G. HDAC2 mediates therapeutic resistance of pancreatic cancer cells via the BH3-only protein NOXA. *Gut.* 2009;58:1399-1409.
554. Damaskos C, Tomos I, Garpis N, Karakatsani A, Dimitroulis D, Garpis A, Spartalis E, Kampolis CF, Tsagkari E, Loukeri AA, Margonis GA, Spartalis M,

- Andreatos N, Schizas D, Kokkineli S, Antoniou EA, Nonni A, Tsourouflis G, Markatos K, Kontzoglou K, Kostakis A, Tomos P. Histone deacetylase inhibitors as a novel targeted therapy against non-small cell lung cancer: Where are we now and what should we expect? *Anticancer Res.* 2018;38:37-43.
555. Terranova-Barberio M, Pecori B, Roca MS, Imbimbo S, Bruzzese F, Leone A, Muto P, Delrio P, Avallone A, Budillon A, Di Gennaro E. Synergistic antitumor interaction between valproic acid, capecitabine and radiotherapy in colorectal cancer: Critical role of p53. *J Exp Clin Cancer Res.* 2017;36:177.
556. Kwiecińska P, Taubøll E, Grzyb E, Fiedor E, Ptak A, Gregoraszczyk EL. Valproic acid as a promising co-treatment with paclitaxel and doxorubicin in different ovarian carcinoma cell lines. *Int J Gynecol Cancer.* 2016;26:1546-1556.
557. Liu S, Liang B, Jia H, Jiao Y, Pang Z, Huang Y. Evaluation of cell death pathways initiated by antitumor drugs melatonin and valproic acid in bladder cancer cells. *FEBS Open Bio.* 2017;7:798-810.
558. Jawed S, Kim B, Ottenhof T, Brown GM, Werstiuk ES, Niles LP. Human melatonin MT1 receptor induction by valproic acid and its effects in combination with melatonin on MCF-7 breast cancer cell proliferation. *Eur J Pharmacol.* 2007;560:17-22.
559. Terranova-Barberio M, Roca MS, Zotti AI, Leone A, Bruzzese F, Vitagliano C, Scogliamiglio G, Russo D, D'Angelo G, Franco R, Budillon A, Di Gennaro E. Valproic acid potentiates the anticancer activity of capecitabine in vitro and in vivo in breast cancer models via induction of thymidine phosphorylase expression. *Oncotarget.* 2016;7:7715-7731.
560. Brodie SA, Brandes JC. Could valproic acid be an effective anticancer agent? The evidence so far. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2014;14:1097-1100.

561. Williams EA, Coxhead JM, Mathers JC. Anti-cancer effects of butyrate: Use of micro-array technology to investigate mechanisms. *Proc Nutr Soc.* 2003;62:107-115.
562. Steliou K, Boosalis MS, Perrine SP, Sangerman J, Faller DV. Butyrate histone deacetylase inhibitors. *Biores Open Access.* 2012;1:192-198.
563. Scharlau D, Borowicki A, Habermann N, Hofmann T, Klenow S, Miene C, Munjal U, Stein K, Glei M. Mechanisms of primary cancer prevention by butyrate and other products formed during gut flora-mediated fermentation of dietary fibre. *Mutat Res.* 2009;682:39-53.
564. Pattayil L, Balakrishnan-Saraswathi HT. In vitro evaluation of apoptotic induction of butyric acid derivatives in colorectal carcinoma cells. *Anticancer Res.* 2019;39:3795-3801.
565. Park MJ, Sohrabji F. The histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, exhibits neuroprotective effects for ischemic stroke in middle-aged female rats. *J Neuroinflammation.* 2016;13:300.
566. Kazemi Sefat NA, Mohammadi MM, Hadjati J, Talebi S, Ajami M, Daneshvar H. Sodium butyrate as a histone deacetylase inhibitor affects toll-like receptor 4 expression in colorectal cancer cell lines. *Immunol Invest.* 2019;48:759-769.
567. Han R, Sun Q, Wu J, Zheng P, Zhao G. Sodium butyrate upregulates miR-203 expression to exert anti-proliferation effect on colorectal cancer cells. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39:1919-1929.
568. Tsilimigras DI, Ntanasis-Stathopoulos I, Moris D, Spartalis E, Pawlik TM. Histone deacetylase inhibitors in hepatocellular carcinoma: A therapeutic perspective. *Surg Oncol.* 2018;27:611-618.

569. Kim J, Park H, Im JY, Choi WS, Kim HS. Sodium butyrate regulates androgen receptor expression and cell cycle arrest in human prostate cancer cells. *Anticancer Res.* 2007;27:3285-3292.
570. Lorenz V, Hessenkemper W, Rödiger J, Kyrylenko S, Kraft F, Baniahmad A. Sodium butyrate induces cellular senescence in neuroblastoma and prostate cancer cells. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2011;7:265-272.
571. Huang W, Zeng C, Liu J, Yuan L, Liu W, Wang L, Zhu H, Xu Y, Luo Y, Xie D, Jiang X, Ren C. Sodium butyrate induces autophagic apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells by inhibiting AKT/mTOR signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;514:64-70.
572. Semaan J, El-Hakim S, Ibrahim JN, Safi R, Elnar AA, El Boustany C. Comparative effect of sodium butyrate and sodium propionate on proliferation, cell cycle and apoptosis in human breast cancer cells MCF-7. *Breast Cancer.* 2020 [Epub ahead of print].
573. Salimi V, Shahsavari Z, Safizadeh B, Hosseini A, Khademian N, Tavakoli-Yaraki M. Sodium butyrate promotes apoptosis in breast cancer cells through reactive oxygen species (ROS) formation and mitochondrial impairment. *Lipids Health Dis.* 2017;16:208.
574. Cho HJ, Kim SY, Kim KH, Kang WK, Kim JI, Oh ST, Kim JS, An CH. The combination effect of sodium butyrate and 5-Aza-2'-deoxycytidine on radiosensitivity in RKO colorectal cancer and MCF-7 breast cancer cell lines. *World J Surg Oncol.* 2009;7:49.
575. Fialova B, Luzna P, Gursky J, Langova K, Kolar Z, Trtkova KS. Epigenetic modulation of AR gene expression in prostate cancer DU145 cells with the

- combination of sodium butyrate and 5'-Aza-2'-deoxycytidine. *Oncol Rep.* 2016;36:2365-2374.
576. Mrkvicova A, Chmelarova M, Peterova E, Havelek R, Baranova I, Kazimirova P, Rudolf E, Rezacova M. The effect of sodium butyrate and cisplatin on expression of EMT markers. *PLoS One.* 2019;14:E0210889.
577. Seifrtová M, Havelek R, Cahlíková L, Hulcová D, Mazánková N, Řezáčová M. Haemanthamine alters sodium butyrate-induced histone acetylation, p21WAF1/Cip1 expression, Chk1 and Chk2 activation and leads to increased growth inhibition and death in A2780 ovarian cancer cells. *Phytomedicine.* 2017;35:1-10.
578. Taylor MA, Khathayer F, Ray SK. Quercetin and sodium butyrate synergistically increase apoptosis in rat C6 and human T98G glioblastoma cells through inhibition of autophagy. *Neurochem Res.* 2019;44:1715-1725.
579. Sato H, Uzu M, Kashiba T, Suzuki R, Fujiwara T, Okuzawa H, Ueno K. Sodium butyrate enhances the growth inhibitory effect of sunitinib in human renal cell carcinoma cells. *Oncol Lett.* 2017;14:937-943.
580. Wang ZT, Chen ZJ, Jiang GM, Wu YM, Liu T, Yi YM, Zeng J, Du J, Wang HS. Histone deacetylase inhibitors suppress mutant p53 transcription via HDAC8/YY1 signals in triple negative breast cancer cells. *Cell Signal.* 2016;28:506-515.
581. Jia X, Zheng Y, Guo Y, Chen K. Sodium butyrate and panobinostat induce apoptosis of chronic myeloid leukemia cells via multiple pathways. *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7:E613.

582. Kusaczuk M, Krętowski R, Bartoszewicz M, Cechowska-Pasko M. Phenylbutyrate-a pan-HDAC inhibitor-suppresses proliferation of glioblastoma LN-229 cell line. *Tumour Biol.* 2016;37:931-942.
583. Kusaczuk M, Bartoszewicz M, Cechowska-Pasko M. Phenylbutyric Acid: Simple structure - multiple effects. *Curr Pharm Des.* 2015;21:2147-2166.
584. Al-Keilani MS, Al-Sawalha NA. Potential of phenylbutyrate as adjuvant chemotherapy: An overview of cellular and molecular anticancer mechanisms. *Chem Res Toxicol.* 2017;30:1767-1777.
585. Lopez CA, Feng FY, Herman JM, Nyati MK, Lawrence TS, Ljungman M. Phenylbutyrate sensitizes human glioblastoma cells lacking wild-type p53 function to ionizing radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007;69:214-220.
586. Li LZ, Deng HX, Lou WZ, Sun XY, Song MW, Tao J, Xiao BX, Guo JM. Growth inhibitory effect of 4-phenyl butyric acid on human gastric cancer cells is associated with cell cycle arrest. *World J Gastroenterol.* 2012;18:79-83.
587. Wang CT, Meng M, Zhang JC, Jin CJ, Jiang JJ, Ren HS, Jiang JM, Qin CY, Yu DQ. Growth inhibition and gene induction in human hepatocellular carcinoma cell exposed to sodium 4-phenylbutanoate. *Chin Med J (Engl).* 2008;121:1707-1711.
588. Engelhard HH, Homer RJ, Duncan HA, Rozental J. Inhibitory effects of phenylbutyrate on the proliferation, morphology, migration and invasiveness of malignant glioma cells. *J Neurooncol.* 1998;37:97-108.
589. Pili R, Kruszewski MP, Hager BW, Lantz J, Carducci MA. Combination of phenylbutyrate and 13-cis retinoic acid inhibits prostate tumor growth and angiogenesis. *Cancer Res.* 2001;61:1477-1485.

590. Liu L, Hudgins WR, Miller AC, Chen LC, Samid D. Transcriptional upregulation of TGF- α by phenylacetate and phenylbutyrate is associated with differentiation of human melanoma cells. *Cytokine*. 1995;7:449-456.
591. Samid D, Hudgins WR, Shack S, Liu L, Prasanna P, Myers CE. Phenylacetate and phenylbutyrate as novel, nontoxic differentiation inducers. *Adv Exp Med Biol*. 1997;400A:501-505.
592. Zhang X, Wei L, Yang Y, Yu Q. Sodium 4-phenylbutyrate induces apoptosis of human lung carcinoma cells through activating JNK pathway. *J Cell Biochem*. 2004;93:819-829.
593. Bai LY, Omar HA, Chiu CF, Chi ZP, Hu JL, Weng JR. Antitumor effects of (S)-HDAC42, a phenylbutyrate-derived histone deacetylase inhibitor, in multiple myeloma cells. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2011;68:489-496.
594. Mostoufi A, Baghcoli R, Fereidoonzhad M. Synthesis, cytotoxicity, apoptosis and molecular docking studies of novel phenylbutyrate derivatives as potential anticancer agents. *Comput Biol Chem*. 2019;80:128-137.
595. Carducci MA, Nelson JB, Chan-Tack KM, Ayyagari SR, Sweatt WH, Campbell PA, Nelson WG, Simons JW. Phenylbutyrate induces apoptosis in human prostate cancer and is more potent than phenylacetate. *Clin Cancer Res*. 1996;2:379-387.
596. Lyon CM, Klinge DM, Do KC, Grimes MJ, Thomas CL, Damiani LA, March TH, Stidley CA, Belinsky SA. Rosiglitazone prevents the progression of preinvasive lung cancer in a murine model. *Carcinogenesis*. 2009;30:2095-2099.
597. Xu Y, Zheng S, Chen B, Wen Y, Zhu S. Sodium phenylbutyrate antagonizes prostate cancer through the induction of apoptosis and attenuation of cell viability and migration. *Onco Targets Ther*. 2016;9:2825-2833.

598. Lin J, Gilbert J, Rudek MA, Zwiebel JA, Gore S, Jiemjit A, Zhao M, Baker SD, Ambinder RF, Herman JG, Donehower RC, Carducci MA. A phase I dose-finding study of 5-azacytidine in combination with sodium phenylbutyrate in patients with refractory solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2009;15:6241-6249.
599. Bagnall NH, Hines BM, Lucke AJ, Gupta PK, Reid RC, Fairlie DP, Kotze AC. Insecticidal activities of histone deacetylase inhibitors against a dipteran parasite of sheep, *Lucilia cuprina*. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2017;7:51-60.
600. Elshafae SM, Kohart NA, Altstadt LA, Dirksen WP, Rosol TJ. The effect of a histone deacetylase inhibitor (AR-42) on canine prostate cancer growth and metastasis. *Prostate.* 2017;77:776-793.
601. Zhang M, Pan Y, Dorfman RG, Chen Z, Liu F, Zhou Q, Huang S, Zhang J, Yang D, Liu J. AR-42 induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells via HDAC5 inhibition. *Oncotarget.* 2016;7:22285-22294.
602. Murahari S, Jalkanen AL, Kulp SK, Chen CS, Modiano JF, London CA, Kisseberth WC. Sensitivity of osteosarcoma cells to HDAC inhibitor AR-42 mediated apoptosis. *BMC Cancer.* 2017;17:67.
603. Chen YJ, Wang WH, Wu WY, Hsu CC, Wei LR, Wang SF, Hsu YW, Liaw CC, Tsai WC. Novel histone deacetylase inhibitor AR-42 exhibits antitumor activity in pancreatic cancer cells by affecting multiple biochemical pathways. *PLoS One.* 2017;12:E0183368.
604. Henderson SE, Ding LY, Mo X, Bekaii-Saab T, Kulp SK, Chen CS, Huang PH. Suppression of tumor growth and muscle wasting in a transgenic mouse model of pancreatic cancer by the novel histone deacetylase inhibitor AR-42. *Neoplasia.* 2016;18:765-774.

605. Xu W, Xu B, Yao Y, Yu X, Shen J. The novel HDAC inhibitor AR-42-induced anti-colon cancer cell activity is associated with ceramide production. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;463:545-550.
606. Zhu Y, Yuan T, Zhang Y, Shi J, Bai L, Duan X, Tong R, Zhong L. AR-42: A Pan-HDAC inhibitor with antitumor and antiangiogenic activities in esophageal squamous cell carcinoma. *Drug Des Devel Ther.* 2019;13:4321-4330.
607. Duan S, Gong X, Liu X, Cui W, Chen K, Mao L, Jun S, Zhou R, Sang Y, Huang G. Histone deacetylase inhibitor, AR-42, exerts antitumor effects by inducing apoptosis and cell cycle arrest in Y79 cells. *J Cell Physiol.* 2019;234:22411-22423.
608. Zhou R, Wu J, Tang X, Wei X, Ju C, Zhang F, Sun J, Shuai D, Zhang Z, Liu Q, Lv XB. Histone deacetylase inhibitor AR-42 inhibits breast cancer cell growth and demonstrates a synergistic effect in combination with 5-FU. *Oncol Lett.* 2018;16:1967-1974.
609. Sborov DW, Canella A, Hade EM, Mo X, Khountham S, Wang J, Ni W, Poi M, Coss C, Liu Z, Phelps MA, Mortazavi A, Andritsos L, Baiocchi RA, Christian BA, Benson DM, Flynn J, Porcu P, Byrd JC, Pichiorri F, Hofmeister CC. A phase 1 trial of the HDAC inhibitor AR-42 in patients with multiple myeloma and T- and B-cell lymphomas. *Leuk Lymphoma.* 2017;58:2310-2318.
610. Rajak H, Singh A, Dewangan PK, Patel V, Jain DK, Tiwari SK, Veerasamy R, Sharma PC. Peptide based macrocycles: Selective histone deacetylase inhibitors with antiproliferative activity. *Curr Med Chem.* 2013;20:1887-1903.
611. Vilwanathan R, Chidambaram A, Chidambaram RK. Pharmacoeugenetics: Novel mechanistic insights in drug discovery and development targeting chromatin-modifying enzymes. In: *Pharmacoeugenetics*. Ed: Cacabelos R. Pages: 437-445. 2019, Elsevier.

612. Bertino EM, Otterson GA. Romidepsin: A novel histone deacetylase inhibitor for cancer. *Expert Opin Investig Drugs*. 2011;20:1151-1158.
613. Furumai R, Matsuyama A, Kobashi N, Lee KH, Nishiyama M, Nakajima H, Tanaka A, Komatsu Y, Nishino N, Yoshida M, Horinouchi S. FK228 (depsipeptide) as a natural prodrug that inhibits class I histone deacetylases. *Cancer Res*. 2002;62:4916-4921.
614. Zhang Q, Wang S, Chen J, Yu Z. Histone deacetylases (HDACs) guided novel therapies for T-cell lymphomas. *Int J Med Sci*. 2019;16:424-442.
615. Imai T, Adachi S, Nishijo K, Ohgushi M, Okada M, Yasumi T, Watanabe K, Nishikomori R, Nakayama T, Yonehara S, Toguchida J, Nakahata T. FR901228 induces tumor regression associated with induction of Fas ligand and activation of Fas signaling in human osteosarcoma cells. *Oncogene*. 2003;22:9231-9242.
616. Pojani E, Barlocco D. Romidepsin (FK228), an histone deacetylase inhibitor, and its analogues in cancer chemotherapy. *Curr Med Chem*. 2020 [Epub ahead of print].
617. Sun WJ, Huang H, He B, Hu DH, Li PH, Yu YJ, Zhou XH, Lv Z, Zhou L, Hu TY, Yao ZC, Lu MD, Shen X, Zheng ZQ. Romidepsin induces G2/M phase arrest via Erk/cdc25C/cdc2/cyclinB pathway and apoptosis induction through JNK/c-Jun/caspase3 pathway in hepatocellular carcinoma cells. *Biochem Pharmacol*. 2017;127:90-100.
618. Yu XD, Wang SY, Chen GA, Hou CM, Zhao M, Hong JA, Nguyen DM, Schrupp DS. Apoptosis induced by depsipeptide FK228 coincides with inhibition of survival signaling in lung cancer cells. *Cancer J*. 2007;13:105-113.

619. Li LH, Zhang PR, Cai PY, Li ZC. Histone deacetylase inhibitor, romidepsin (FK228) inhibits endometrial cancer cell growth through augmentation of p53-p21 pathway. *Biomed Pharmacother.* 2016;82:161-166.
620. Lai MT, Yang CC, Lin TY, Tsai FJ, Chen WC. Depsipeptide (FK228) inhibits growth of human prostate cancer cells. *Urol Oncol.* 2008;26:182-189.
621. Jones SF, Infante JR, Spigel DR, Peacock NW, Thompson DS, Greco FA, McCulloch W, Burris HA 3rd. Phase 1 results from a study of romidepsin in combination with gemcitabine in patients with advanced solid tumors. *Cancer Invest.* 2012;30:481-486.
622. Nachmias B, Shaulov A, Lavie D, Goldschmidt N, Gural A, Saban R, Lebel E, Gatt ME. Romidepsin-bendamustine combination for relapsed/refractory T cell lymphoma. *Acta Haematol.* 2019;141:216-221.
623. Amengual JE, Lichtenstein R, Lue J, Sawas A, Deng C, Lichtenstein E, Khan K, Atkins L, Rada A, Kim HA, Chiuhan C, Kalac M, Marchi E, Falchi L, Francescone MA, Schwartz L, Cremers S, O'Connor OA. A phase 1 study of romidepsin and pralatrexate reveals marked activity in relapsed and refractory T-cell lymphoma. *Blood.* 2018;131:397-407.
624. Smolewski P, Robak T. The discovery and development of romidepsin for the treatment of T-cell lymphoma. *Expert Opin Drug Discov.* 2017;12:859-873.
625. Gerber DE, Boothman DA, Fattah FJ, Dong Y, Zhu H, Skelton RA, Priddy LL, Vo P, Dowell JE, Sarode V, Leff R, Meek C, Xie Y, Schiller JH. Phase 1 study of romidepsin plus erlotinib in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2015;90:534-541.

626. Wilson AJ, Lalani AS, Wass E, Saskowski J, Khabele D. Romidepsin (FK228) combined with cisplatin stimulates DNA damage-induced cell death in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2012;127:579-586.
627. Choudhary S, Sood S, Wang HC. Synergistic induction of cancer cell death and reduction of clonogenic resistance by cisplatin and FK228. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;436:325-330.
628. Pluchino LA, Choudhary S, Wang HC. Reactive oxygen species-mediated synergistic and preferential induction of cell death and reduction of clonogenic resistance in breast cancer cells by combined cisplatin and FK228. *Cancer Lett.* 2016;381:124-132.
629. Pattarawat P, Wallace S, Pfisterer B, Odoi A, Wang HR. Formulation of a triple combination gemcitabine plus romidepsin + cisplatin regimen to efficaciously and safely control triple-negative breast cancer tumor development. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2020;85:141-152.
630. Bauden M, Tassidis H, Ansari D. In vitro cytotoxicity evaluation of HDAC inhibitor Apicidin in pancreatic carcinoma cells subsequent time and dose dependent treatment. *Toxicol Lett.* 2015;236:8-15.
631. Darkin-Rattray SJ, Gurnett AM, Myers RW, Dulski PM, Crumley TM, Allocco JJ, Cannova C, Meinke PT, Colletti SL, Bednarek MA, Singh SB, Goetz MA, Dombrowski AW, Polishook JD, Schmatz DM. Apicidin: A novel antiprotozoal agent that inhibits parasite histone deacetylase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93:13143-13147.
632. Lai JI, Leman LJ, Ku S, Vickers CJ, Olsen CA, Montero A, Ghadiri MR, Gottesfeld JM. Cyclic tetrapeptide HDAC inhibitors as potential therapeutics for

- spinal muscular atrophy: Screening with iPSC-derived neuronal cells. *Bioorg Med Chem Lett*. 2017;27:3289-3293.
633. Abdalla MA. Medicinal significance of naturally occurring cyclotetrapeptides. *J Nat Med*. 2016;70:708-720.
634. Hu XT, Zhu BL, Zhao LG, Wang JW, Liu L, Lai YJ, He L, Deng XJ, Chen GJ. Histone deacetylase inhibitor apicidin increases expression of the α -secretase ADAM10 through transcription factor USF1-mediated mechanisms. *FASEB J*. 2017;31:1482-1493.
635. Ahn MY, Ahn JW, Kim HS, Lee J, Yoon JH. Apicidin inhibits cell growth by downregulating IGF-1R in salivary mucoepidermoid carcinoma cells. *Oncol Rep*. 2015;33:1899-1907.
636. Kim SH, Ahn S, Han JW, Lee HW, Lee HY, Lee YW, Kim MR, Kim KW, Kim WB, Hong S. Apicidin is a histone deacetylase inhibitor with anti-invasive and anti-angiogenic potentials. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;315:964-970.
637. Im JY, Park H, Kang KW, Choi WS, Kim HS. Modulation of cell cycles and apoptosis by apicidin in estrogen receptor (ER)-positive and-negative human breast cancer cells. *Chem Biol Interact*. 2008;172:235-244.
638. Park H, Im JY, Kim J, Choi WS, Kim HS. Effects of apicidin, a histone deacetylase inhibitor, on the regulation of apoptosis in H-ras-transformed breast epithelial cells. *Int J Mol Med*. 2008;21:325-333.
639. Zhang J, Lai Z, Huang W, Ling H, Lin M, Tang S, Liu Y, Tao Y. Apicidin inhibited proliferation and invasion and induced apoptosis via mitochondrial pathway in non-small cell lung cancer GLC-82 cells. *Anticancer Agents Med Chem*. 2017;17:1374-1382.

640. Ueda T, Takai N, Nishida M, Nasu K, Narahara H. Apicidin, a novel histone deacetylase inhibitor, has profound anti-growth activity in human endometrial and ovarian cancer cells. *Int J Mol Med.* 2007;19:301-308.
641. Ahn MY, Ahn SG, Yoon JH. Apicidin, a histone deacetylase inhibitor, induces both apoptosis and autophagy in human oral squamous carcinoma cells. *Oral Oncol.* 2011;47:1032-1038.
642. Ahn MY. HDAC inhibitor apicidin suppresses murine oral squamous cell carcinoma cell growth in vitro and in vivo via inhibiting HDAC8 expression. *Oncol Lett.* 2018;16:6552-6560.
643. Buoncervello M, Borghi P, Romagnoli G, Spadaro F, Belardelli F, Toschi E, Gabriele L. Apicidin and docetaxel combination treatment drives CTCFL expression and HMGB1 release acting as potential antitumor immune response inducers in metastatic breast cancer cells. *Neoplasia.* 2012;14:855-867.
644. Lai JP, Sandhu DS, Moser CD, Cazanave SC, Oseini AM, Shire AM, Shridhar V, Sanderson SO, Roberts LR. Additive effect of apicidin and doxorubicin in sulfatase 1 expressing hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *J Hepatol.* 2009;50:1112-1121.
645. Ansari D, Urey C, Hilmersson KS, Bauden MP, Ek F, Olsson R, Andersson R. Apicidin sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine by epigenetically regulating MUC4 expression. *Anticancer Res.* 2014;34:5269-5276.
646. Abaza MS, Bahman AM, Al-Attayah R. Superior antimitogenic and chemosensitization activities of the combination treatment of the histone deacetylase inhibitor apicidin and proteasome inhibitors on human colorectal cancer cells. *Int J Oncol.* 2014;44:105-128.

647. Park SJ, Kim MJ, Kim HB, Sohn HY, Bae JH, Kang CD, Kim SH. Cotreatment with apicidin overcomes TRAIL resistance via inhibition of Bcr-Abl signaling pathway in K562 leukemia cells. *Exp Cell Res.* 2009;315:1809-1818.
648. Servatius P, Kazmaier U. Total synthesis of trapoxin A, a fungal HDAC inhibitor from *helicoma ambiens*. *J Org Chem.* 2018;83:11341-11349.
649. Porter NJ, Christianson DW. Binding of the microbial cyclic tetrapeptide trapoxin A to the class I histone deacetylase HDAC8. *ACS Chem Biol.* 2017;12:2281-2286.
650. Monneret C. Histone deacetylase inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2005;40:1-13.
651. Suzuki T, Ando T, Tsuchiya K, Fukazawa N, Saito A, Mariko Y, Yamashita T, Nakanishi O. Synthesis and histone deacetylase inhibitory activity of new benzamide derivatives. *J Med Chem.* 1999;42:3001-3003.
652. Saito A, Yamashita T, Mariko Y, Nosaka Y, Tsuchiya K, Ando T, Suzuki T, Tsuruo T, Nakanishi O. A synthetic inhibitor of histone deacetylase, MS-27-275, with marked in vivo antitumor activity against human tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:4592-4597.
653. Surolia I, Bates SE. Entinostat finds a path: A new study elucidates effects of the histone deacetylase inhibitor on the immune system. *Cancer.* 2018;124:4597-4600.
654. Hess-Stumpp H, Bracker TU, Henderson D, Politz O. MS-275, a potent orally available inhibitor of histone deacetylases--the development of an anticancer agent. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39:1388-1405.
655. Smith HJ, McCaw TR, Londono AI, Katre AA, Meza-Perez S, Yang ES, Forero A, Buchsbaum DJ, Randall TD, Straughn JM Jr, Norian LA, Arend RC. The

- antitumor effects of entinostat in ovarian cancer require adaptive immunity. *Cancer*. 2018;124:4657-4666.
656. Takai N, Ueda T, Nishida M, Nasu K, Narahara H. Anticancer activity of MS-275, a novel histone deacetylase inhibitor, against human endometrial cancer cells. *Anticancer Res*. 2006;26:939-945.
657. Bracker TU, Sommer A, Fichtner I, Faus H, Haendler B, Hess-Stumpp H. Efficacy of MS-275, a selective inhibitor of class I histone deacetylases, in human colon cancer models. *Int J Oncol*. 2009;35:909-920.
658. Ma S, Liu T, Xu L, Wang Y, Zhou J, Huang T, Li P, Liu H, Zhang Y, Zhou X, Cui Y, Zang X, Wang Y, Guan F. Histone deacetylases inhibitor MS-275 suppresses human esophageal squamous cell carcinoma cell growth and progression via the PI3K/Akt/mTOR pathway. *J Cell Physiol*. 2019;234:22400-22410.
659. Qian DZ, Wei YF, Wang X, Kato Y, Cheng L, Pili R. Antitumor activity of the histone deacetylase inhibitor MS-275 in prostate cancer models. *Prostate*. 2007;67:1182-1193.
660. Yong KJ, Li A, Ou WB, Hong CK, Zhao W, Wang F, Tatetsu H, Yan B, Qi L, Fletcher JA, Yang H, Soo R, Tenen DG, Chai L. Targeting SALL4 by entinostat in lung cancer. *Oncotarget*. 2016;7:75425-75440.
661. Xiao W, Dong W, Zhang C, Saren G, Geng P, Zhao H, Li Q, Zhu J, Li G, Zhang S, Ye M. Effects of the epigenetic drug MS-275 on the release and function of exosome-related immune molecules in hepatocellular carcinoma cells. *Eur J Med Res*. 2013;18:61.

662. Trapani D, Esposito A, Criscitiello C, Mazzearella L, Locatelli M, Minchella I, Minucci S, Curigliano G. Entinostat for the treatment of breast cancer. *Expert Opin Investig Drugs*. 2017;26:965-971.
663. Schech A, Kazi A, Yu S, Shah P, Sabnis G. Histone deacetylase inhibitor entinostat inhibits tumor-initiating cells in triple-negative breast cancer cells. *Mol Cancer Ther*. 2015;14:1848-1857.
664. Fedele P, Orlando L, Cinieri S. Targeting triple negative breast cancer with histone deacetylase inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs*. 2017;26:1199-1206.
665. Liu CY, Wu CY, Petrossian K, Huang TT, Tseng LM, Chen S. Treatment for the endocrine resistant breast cancer: Current options and future perspectives. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;172:166-175.
666. Nidhyandan S, Boreddy TS, Chandrasekhar KB, Reddy ND, Kulkarni NM, Narayanan S. Phosphodiesterase inhibitor, pentoxifylline enhances anticancer activity of histone deacetylase inhibitor, MS-275 in human breast cancer in vitro and in vivo. *Eur J Pharmacol*. 2015;764:508-519.
667. Merino VF, Cho S, Nguyen N, Sadik H, Narayan A, Talbot C Jr, Cope L, Zhou XC, Zhang Z, Győrffy B, Sukumar S. Induction of cell cycle arrest and inflammatory genes by combined treatment with epigenetic, differentiating, and chemotherapeutic agents in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2018;20:145.
668. Torres-Adorno AM, Lee J, Kogawa T, Ordentlich P, Tripathy D, Lim B, Ueno NT. Histone deacetylase inhibitor enhances the efficacy of MEK inhibitor through NOXA-mediated MCL1 degradation in triple-negative and inflammatory breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2017;23:4780-4792.

669. Lee J, Bartholomeusz C, Mansour O, Humphries J, Hortobagyi GN, Ordentlich P, Ueno NT. A class I histone deacetylase inhibitor, entinostat, enhances lapatinib efficacy in HER2-overexpressing breast cancer cells through FOXO3-mediated Bim1 expression. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;146:259-272.
670. Lim B, Murthy RK, Lee J, Jackson SA, Iwase T, Davis DW, Willey JS, Wu J, Shen Y, Tripathy D, Alvarez R, Ibrahim NK, Brewster AM, Barcenas CH, Brown PH, Giordano SH, Moulder SL, Booser DJ, Moscow JA, Piekarz R, Valero V, Ueno NT. A phase Ib study of entinostat plus lapatinib with or without trastuzumab in patients with HER2-positive metastatic breast cancer that progressed during trastuzumab treatment. *Br J Cancer.* 2019;120:1105-1112.
671. Huang X, Wang S, Lee CK, Yang X, Liu B. HDAC inhibitor SNDX-275 enhances efficacy of trastuzumab in erbB2-overexpressing breast cancer cells and exhibits potential to overcome trastuzumab resistance. *Cancer Lett.* 2011;307:72-79.
672. Yeruva SLH, Zhao F, Miller KD, Tevaarwerk AJ, Wagner LI, Gray RJ, Sparano JA, Connolly RM. E2112: Randomized phase iii trial of endocrine therapy plus entinostat/placebo in patients with hormone receptor-positive advanced breast cancer. *NPJ Breast Cancer.* 2018;4:1.
673. Brodie AM, Chumsri S, Sukumar S, Sabnis GJ. Extending aromatase inhibitor sensitivity in hormone resistant breast cancer. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2011;5:97-103.
674. Yardley DA, Ismail-Khan RR, Melichar B, Lichinitser M, Munster PN, Klein PM, Cruickshank S, Miller KD, Lee MJ, Trepel JB. Randomized phase II, double-blind, placebo-controlled study of exemestane with or without entinostat in postmenopausal women with locally recurrent or metastatic estrogen receptor-

- positive breast cancer progressing on treatment with a nonsteroidal aromatase inhibitor. *J Clin Oncol*. 2013;31:2128-2135.
675. Luo BL, Zhou Y, Lv H, Sun SH, Tang WX. MS-275 potentiates the effect of YM-155 in lung adenocarcinoma via survivin downregulation induced by miR-138 and miR-195. *Thorac Cancer*. 2019;10:1355-1368.
676. Yar Saglam AS, Yilmaz A, Onen HI, Alp E, Kayhan H, Ekmekci A. HDAC inhibitors, MS-275 and salermide, potentiates the anticancer effect of EF24 in human pancreatic cancer cells. *EXCLI J*. 2016;15:246-255.
677. Ahrens TD, Timme S, Hoepfner J, Ostendorp J, Hembach S, Follo M, Hopt UT, Werner M, Busch H, Boerries M, Lassmann S. Selective inhibition of esophageal cancer cells by combination of HDAC inhibitors and azacytidine. *Epigenetics*. 2015;10:431-445.
678. Bandolik JJ, Hamacher A, Schrenk C, Weishaupt R, Kassack MU. Class I-histone deacetylase (HDAC) inhibition is superior to pan-HDAC inhibition in modulating cisplatin potency in high grade serous ovarian cancer cell lines. *Int J Mol Sci*. 2019;20:E3052.
679. Ngamphaiboon N, Dy GK, Ma WW, Zhao Y, Reungwetwattana T, DePaolo D, Ding Y, Brady W, Fetterly G, Adjei AA. A phase I study of the histone deacetylase (HDAC) inhibitor entinostat, in combination with sorafenib in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs*. 2015;33:225-232.
680. Maggio SC, Rosato RR, Kramer LB, Dai Y, Rahmani M, Paik DS, Czarnik AC, Payne SG, Spiegel S, Grant S. The histone deacetylase inhibitor MS-275 interacts synergistically with fludarabine to induce apoptosis in human leukemia cells. *Cancer Res*. 2004;64:2590-2600.

681. Fournel M, Bonfils C, Hou Y, Yan PT, Trachy-Bourget MC, Kalita A, Liu J, Lu AH, Zhou NZ, Robert MF, Gillespie J, Wang JJ, Ste-Croix H, Rahil J, Lefebvre S, Moradei O, Delorme D, Macleod AR, Besterman JM, Li Z. MGCD0103, a novel isotype-selective histone deacetylase inhibitor, has broad spectrum antitumor activity in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther.* 2008;7:759-768.
682. Chia K, Beamish H, Jafferri K, Gabrielli B. The histone deacetylase inhibitor MGCD0103 has both deacetylase and microtubule inhibitory activity. *Mol Pharmacol.* 2010;78:436-443.
683. Bumber Y, Younes A, Garcia-Manero G. Mocetinostat (MGCD0103): A review of an isotype-specific histone deacetylase inhibitor. *Expert Opin Investig Drugs.* 2011;20:823-829.
684. Younes A, Oki Y, Bociek RG, Kuruvilla J, Fanale M, Neelapu S, Copeland A, Buglio D, Galal A, Besterman J, Li Z, Drouin M, Patterson T, Ward MR, Paulus JK, Ji Y, Medeiros LJ, Martell RE. Mocetinostat for relapsed classical Hodgkin's lymphoma: An open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2011;12:1222-1228.
685. Liao B, Sun Q, Yuan Y, Yin Y, Qiao J, Jiang P. Histone deacetylase inhibitor MGCD0103 causes cell cycle arrest, apoptosis, and autophagy in liver cancer cells. *J Cancer.* 2020;11:1915-1926.
686. Sikandar S, Dizon D, Shen X, Li Z, Besterman J, Lipkin SM. The class I HDAC inhibitor MGCD0103 induces cell cycle arrest and apoptosis in colon cancer initiating cells by upregulating Dickkopf-1 and non-canonical Wnt signaling. *Oncotarget.* 2010;1:596-605.
687. Grivas P, Mortazavi A, Picus J, Hahn NM, Milowsky MI, Hart LL, Alva A, Bellmunt J, Pal SK, Bambury RM, O'Donnell PH, Gupta S, Guancial EA, Sonpavde

- GP, Faltaos D, Potvin D, Christensen JG, Chao RC, Rosenberg JE. Mocetinostat for patients with previously treated, locally advanced/metastatic urothelial carcinoma and inactivating alterations of acetyltransferase genes. *Cancer*. 2019;125:533-540.
688. Huang R, Zhang X, Min Z, Shadia AS, Yang S, Liu X. MGCD0103 induces apoptosis and simultaneously increases the expression of NF- κ B and PD-L1 in classical Hodgkin's lymphoma. *Exp Ther Med*. 2018;16:3827-3834.
689. El-Khoury V, Moussay E, Janji B, Palissot V, Aouali N, Brons NH, Van Moer K, Pierson S, Van Dyck E, Berchem G. The histone deacetylase inhibitor MGCD0103 induces apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells through a mitochondria-mediated caspase activation cascade. *Mol Cancer Ther*. 2010;9:1349-1360.
690. Shan W, Jiang Y, Yu H, Huang Q, Liu L, Guo X, Li L, Mi Q, Zhang K, Yang Z. HDAC2 overexpression correlates with aggressive clinicopathological features and DNA-damage response pathway of breast cancer. *Am J Cancer Res*. 2017;7:1213-1226.
691. Chan E, Chiorean EG, O'Dwyer PJ, Gabrail NY, Alcindor T, Potvin D, Chao R, Hurwitz H. Phase I/II study of mocetinostat in combination with gemcitabine for patients with advanced pancreatic cancer and other advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2018;81:355-364.
692. Lopez G, Braggio D, Zewdu A, Casadei L, Batte K, Bid HK, Koller D, Yu P, Iwenofu OH, Strohecker A, Choy E, Lev D, Pollock R. Mocetinostat combined with gemcitabine for the treatment of leiomyosarcoma: Preclinical correlates. *PLoS One*. 2017;12:E0188859.

693. Karandish F, Haldar MK, You S, Brooks AE, Brooks BD, Guo B, Choi Y, Mallik S. Prostate-specific membrane antigen targeted polymersomes for delivering mocetinostat and docetaxel to prostate cancer cell spheroids. *ACS Omega*. 2016;1:952-962.
694. Gräff J, Joseph NF, Horn ME, Samiei A, Meng J, Seo J, Rei D, Bero AW, Phan TX, Wagner F, Holson E, Xu J, Sun J, Neve RL, Mach RH, Haggarty SJ, Tsai LH. Epigenetic priming of memory updating during reconsolidation to attenuate remote fear memories. *Cell*. 2014;156:261-276.
695. Kraker AJ, Mizzen CA, Hartl BG, Miin J, Allis CD, Merriman RL. Modulation of histone acetylation by [4-(acetylamino)-N-(2-amino-phenyl) benzamide] in HCT-8 colon carcinoma. *Mol Cancer Ther*. 2003;2:401-408.
696. Loprevite M, Tiseo M, Grossi F, Scolaro T, Semino C, Pandolfi A, Favoni R, Ardizzoni A. In vitro study of CI-994, a histone deacetylase inhibitor, in non-small cell lung cancer cell lines. *Oncol Res*. 2005;15:39-48.
697. LoRusso PM, Demchik L, Foster B, Knight J, Bissery MC, Polin LM, Leopold WR 3rd, Corbett TH. Preclinical antitumor activity of CI-994. *Invest New Drugs*. 1996;14:349-356.
698. Bretz AC, Parnitzke U, Kronthaler K, Dreker T, Bartz R, Hermann F, Ammendola A, Wulff T, Hamm S. Domatinostat favors the immunotherapy response by modulating the tumor immune microenvironment (TIME). *J Immunother Cancer*. 2019;7:294.
699. Wobser M, Weber A, Glunz A, Tauch S, Seitz K, Butelmann T, Hesbacher S, Goebeler M, Bartz R, Kohlhof H, Schrama D, Houben R. Elucidating the mechanism of action of domatinostat (4SC-202) in cutaneous T cell lymphoma cells. *J Hematol Oncol*. 2019;12:30.

700. Hoffman MM, Zylla JS, Bhattacharya S, Calar K, Hartman TW, Bhardwaj RD, Miskimins WK, de la Puente P, Gnimpieba EZ, Messerli SM. Analysis of dual class I histone deacetylase and lysine demethylase inhibitor domatinostat (4SC-202) on growth and cellular and genomic landscape of atypical teratoid/rhabdoid. *Cancers (Basel)*. 2020;12:E756.
701. Gruber W, Peer E, Elmer DP, Sternberg C, Tesanovic S, Del Burgo P, Coni S, Canettieri G, Neureiter D, Bartz R, Kohlhof H, Vitt D, Aberger F. Targeting class I histone deacetylases by the novel small molecule inhibitor 4SC-202 blocks oncogenic hedgehog-GLI signaling and overcomes smoothed inhibitor resistance. *Int J Cancer*. 2018;142:968-975.
702. Inui K, Zhao Z, Yuan J, Jayaprakash S, Le LTM, Drakulic S, Sander B, Golas MM. Stepwise assembly of functional C-terminal REST/NRSF transcriptional repressor complexes as a drug target. *Protein Sci*. 2017;26:997-1011.
703. Mishra VK, Wegwitz F, Kosinsky RL, Sen M, Baumgartner R, Wulff T, Siveke JT, Schildhaus HU, Najafova Z, Kari V, Kohlhof H, Hessmann E, Johnsen SA. Histone deacetylase class-I inhibition promotes epithelial gene expression in pancreatic cancer cells in a BRD4- and MYC-dependent manner. *Nucleic Acids Res*. 2017;45:6334-6349.
704. Zhijun H, Shusheng W, Han M, Jianping L, Li-Sen Q, Dechun L. Pre-clinical characterization of 4SC-202, a novel class I HDAC inhibitor, against colorectal cancer cells. *Tumour Biol*. 2016;37:10257-10267.
705. Fu M, Wan F, Li Z, Zhang F. 4SC-202 activates ASK1-dependent mitochondrial apoptosis pathway to inhibit hepatocellular carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;471:267-273.

706. He Y, Tai S, Deng M, Fan Z, Ping F, He L, Zhang C, Huang Y, Cheng B, Xia J. Metformin and 4SC-202 synergistically promote intrinsic cell apoptosis by accelerating Δ Np63 ubiquitination and degradation in oral squamous cell carcinoma. *Cancer Med.* 2019;8:3479-3490.
707. Liang X, Deng M, Zhang C, Ping F, Wang H, Wang Y, Fan Z, Ren X, Tao X, Wu T, Xu J, Cheng B, Xia J. Combined class I histone deacetylase and mTORC1/C2 inhibition suppresses the initiation and recurrence of oral squamous cell carcinomas by repressing SOX2. *Cancer Lett.* 2019;454:108-119.
708. Pinkerneil M, Hoffmann MJ, Kohlhof H, Schulz WA, Niegisch G. Evaluation of the therapeutic potential of the novel isotype specific HDAC inhibitor 4SC-202 in urothelial carcinoma cell lines. *Target Oncol.* 2016;11:783-798.
709. Messerli SM, Hoffman MM, Gnimpieba EZ, Kohlhof H, Bhardwaj RD. 4SC-202 as a potential treatment for the pediatric brain tumor medulloblastoma. *Brain Sci.* 2017;7:E147.
710. von Tresckow B, Sayehli C, Aulitzky WE, Goebeler ME, Schwab M, Braz E, Krauss B, Krauss R, Hermann F, Bartz R, Engert A. Phase I study of domatinostat (4SC-202), a class I histone deacetylase inhibitor in patients with advanced hematological malignancies. *Eur J Haematol.* 2019;102:163-173.
711. Yuan XG, Huang YR, Yu T, Jiang HW, Xu Y, Zhao XY. Chidamide, a histone deacetylase inhibitor, induces growth arrest and apoptosis in multiple myeloma cells in a caspase-dependent manner. *Oncol Lett.* 2019;18:411-419.
712. Chi Z, Gao H, Liu H, Wu B, Zhang B, Gu M, Yang W. Chidamide induces necroptosis via regulation of c-FLIPL expression in Jurkat and HUT-78 cells. *Mol Med Rep.* 2020;21:936-944.

713. Wu Y, Wang L, Huang Y, Chen S, Wu S, Dong G, Sheng C. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) is a new target of antitumor agent chidamide. *ACS Med Chem Lett.* 2019;11:40-44.
714. Ning ZQ, Li ZB, Newman MJ, Shan S, Wang XH, Pan DS, Zhang J, Dong M, Du X, Lu XP. Chidamide (CS055/HBI-8000): A new histone deacetylase inhibitor of the benzamide class with antitumor activity and the ability to enhance immune cell-mediated tumor cell cytotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2012;69:901-909.
715. Lu X, Ning Z, Li Z, Cao H, Wang X. Development of chidamide for peripheral T-cell lymphoma, the first orphan drug approved in China. *Intractable Rare Dis Res.* 2016;5:185-191.
716. Gu R, Liu T, Zhu X, Gan H, Wu Z, Li J, Zheng Y, Dou G, Meng Z. Development and validation of a sensitive HPLC-MS/MS method for determination of chidamide (epidaza), a new benzamide class of selective histone deacetylase inhibitor, in human plasma and its clinical application. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2015;1000:181-186.
717. Sharma S. National Medical Products Administration (NMPA) approves Chipscreen Bioscience's Chidamide (Epidaza) for breast cancer indication. Pharmashots.com.
718. Bai X, Jiang H, Han G, He Q. Chidamide suppresses the glycolysis of triple negative breast cancer cells partially by targeting the miR-33a-5p-LDHA axis. *Mol Med Rep.* 2019;20:1857-1865.
719. Zhang Q, Wang T, Geng C, Zhang Y, Zhang J, Ning Z, Jiang Z. Exploratory clinical study of chidamide, an oral subtype-selective histone deacetylase inhibitor,

- in combination with exemestane in hormone receptor-positive advanced breast cancer. *Chin J Cancer Res.* 2018;30:605-612.
720. Jiang Z, Li W, Hu X, Zhang Q, Sun T, Cui S, Wang S, Ouyang Q, Yin Y, Geng C, Tong Z, Cheng Y, Pan Y, Sun Y, Wang H, Ouyang T, Gu K, Feng J, Wang X, Wang S, Liu T, Gao J, Cristofanilli M, Ning Z, Lu X. Tucidinostat plus exemestane for postmenopausal patients with advanced, hormone receptor-positive breast cancer (ACE): A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20:806-815.
721. Wang H, Guo Y, Fu M, Liang X, Zhang X, Wang R, Lin C, Qian H. Antitumor activity of chidamide in hepatocellular carcinoma cell lines. *Mol Med Rep.* 2012;5:1503-1508.
722. He M, Qiao Z, Wang Y, Kuai Q, Li C, Wang Y, Jiang X, Wang X, Li W, He M, Ren S, Yu Q. Chidamide inhibits aerobic metabolism to induce pancreatic cancer cell growth arrest by promoting Mcl-1 degradation. *PLoS One.* 2016;11:E0166896.
723. Zhao B, He T. Chidamide, a histone deacetylase inhibitor, functions as a tumor inhibitor by modulating the ratio of Bax/Bcl-2 and P21 in pancreatic cancer. *Oncol Rep.* 2015;33:304-310.
724. Qiao Z, Ren S, Li W, Wang X, He M, Guo Y, Sun L, He Y, Ge Y, Yu Q. Chidamide, a novel histone deacetylase inhibitor, synergistically enhances gemcitabine cytotoxicity in pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;434:95-101.
725. Liu L, Chen B, Qin S, Li S, He X, Qiu S, Zhao W, Zhao H. A novel histone deacetylase inhibitor chidamide induces apoptosis of human colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;392:190-195.

726. Liu L, Qiu S, Liu Y, Liu Z, Zheng Y, Su X, Chen B, Chen H. Chidamide and 5-fluorouracil show a synergistic antitumor effect on human colon cancer xenografts in nude mice. *Neoplasma*. 2016;63:193-200.
727. Lin SH, Wang BY, Lin CH, Chien PJ, Wu YF, Ko JL, Chen JJ. Chidamide alleviates TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in lung cancer cell lines. *Mol Biol Rep*. 2016;43:687-695.
728. Wu YF, Ou CC, Chien PJ, Chang HY, Ko JL, Wang BY. Chidamide-induced ROS accumulation and miR-129-3p-dependent cell cycle arrest in non-small lung cancer cells. *Phytomedicine*. 2019;56:94-102.
729. Zhou Y, Pan DS, Shan S, Zhu JZ, Zhang K, Yue XP, Nie LP, Wan J, Lu XP, Zhang W, Ning ZQ. Non-toxic dose chidamide synergistically enhances platinum-induced DNA damage responses and apoptosis in non-small-cell lung cancer cells. *Biomed Pharmacother*. 2014;68:483-491.
730. Zhang N, Liang C, Song W, Tao D, Yao J, Wang S, Ma L, Shi Y, Han X. Antitumor activity of histone deacetylase inhibitor chidamide alone or in combination with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor icotinib in NSCLC. *J Cancer*. 2019;10:1275-1287.
731. Yang S, Nan P, Li C, Lin F, Li H, Wang T, Zhou C, Zhang X, Meng X, Qian H, Wang H, Dong M. Inhibitory effect of chidamide on the growth of human adenoid cystic carcinoma cells. *Biomed Pharmacother*. 2018;99:608-614.
732. Zhou H, Han L, Wang H, Wei J, Guo Z, Li Z. Chidamide inhibits glioma cells by increasing oxidative stress via the miRNA-338-5p regulation of hedgehog signaling. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:7126976.

733. Liu Z, Ding K, Li L, Liu H, Wang Y, Liu C, Fu R. A novel histone deacetylase inhibitor chidamide induces G0/G1 arrest and apoptosis in myelodysplastic syndromes. *Biomed Pharmacother.* 2016;83:1032-1037.
734. Sun Y, Li J, Xu Z, Xu J, Shi M, Liu P. Chidamide, a novel histone deacetylase inhibitor, inhibits multiple myeloma cells proliferation through succinate dehydrogenase subunit A. *Am J Cancer Res.* 2019;9:574-584.
735. He J, Chen Q, Gu H, Chen J, Zhang E, Guo X, Huang X, Yan H, He D, Yang Y, Zhao Y, Wang G, He H, Yi Q, Cai Z. Therapeutic effects of the novel subtype-selective histone deacetylase inhibitor chidamide on myeloma-associated bone disease. *Haematologica.* 2018;103:1369-1379.
736. Liu Z, Chen J, Wang H, Ding K, Li Y, de Silva A, Sehgal V, Burbano JL, Sundararaj R, Gamage J, Audu V, Fu R. Chidamide shows synergistic cytotoxicity with cytarabine via inducing G0/G1 arrest and apoptosis in myelodysplastic syndromes. *Am J Transl Res.* 2017;9:5631-5642.
737. Liu Z, Jing Q, Wang Y, Li Y, Mi F, Xiang C, Fu R. The short-term effect of histone deacetylase inhibitors, chidamide and valproic acid, on the NF- κ B pathway in multiple myeloma cells. *Int J Mol Med.* 2019;43:285-293.
738. Gong K, Xie J, Yi H, Li W. CS055 (Chidamide/HBI-8000), a novel histone deacetylase inhibitor, induces G1 arrest, ROS-dependent apoptosis and differentiation in human leukaemia cells. *Biochem J.* 2012;443:735-746.
739. Shi P, Zhang L, Chen K, Jiang Z, Deng M, Zha J, Guo X, Li P, Xu B. Low-dose decitabine enhances chidamide-induced apoptosis in adult acute lymphoblast leukemia, especially for p16-deleted patients through DNA damage. *Pharmacogenomics.* 2017;18:1259-1270.

740. Li X, Yan X, Guo W, Huang X, Huang J, Yu M, Ma Z, Xu Y, Huang S, Li C, Zhou Y, Jin J. Chidamide in FLT3-ITD positive acute myeloid leukemia and the synergistic effect in combination with cytarabine. *Biomed Pharmacother.* 2017;90:699-704.
741. Huang H, Wenbing Y, Dong A, He Z, Yao R, Guo W. Chidamide enhances the cytotoxicity of cytarabine and sorafenib in acute myeloid leukemia cells by modulating H3K9me3 and autophagy levels. *Front Oncol.* 2019;9:1276.
742. Li Y, Wang Y, Zhou Y, Li J, Chen K, Zhang L, Deng M, Deng S, Li P, Xu B. Cooperative effect of chidamide and chemotherapeutic drugs induce apoptosis by DNA damage accumulation and repair defects in acute myeloid leukemia stem and progenitor cells. *Clin Epigenetics.* 2017;9:83.
743. Xu F, Guo H, Shi M, Liu S, Wei M, Sun K, Chen Y. A combination of low-dose decitabine and chidamide resulted in synergistic effects on the proliferation and apoptosis of human myeloid leukemia cell lines. *Am J Transl Res.* 2019;11:7644-7655.
744. Shi P, Zhang L, Chen K, Jiang Z, Deng M, Zha J, Guo X, Li P, Xu B. Low-dose decitabine enhances chidamide-induced apoptosis in adult acute lymphoblast leukemia, especially for p16-deleted patients through DNA damage. *Pharmacogenomics.* 2017;18:1259-1270.
745. Zhang H, Li L, Li M, Huang X, Xie W, Xiang W, Yao P. Combination of betulinic acid and chidamide inhibits acute myeloid leukemia by suppression of the HIF1 α pathway and generation of reactive oxygen species. *Oncotarget.* 2017;8:94743-94758.

746. Jiang T, Wang F, Hu L, Cheng X, Zheng Y, Liu T, Jia Y. Chidamide and decitabine can synergistically induce apoptosis of Hodgkin lymphoma cells by up-regulating the expression of PU.1 and KLF4. *Oncotarget*. 2017;8:77586-77594.
747. Guan XW, Wang HQ, Ban WW, Chang Z, Chen HZ, Jia L, Liu FT. Novel HDAC inhibitor chidamide synergizes with rituximab to inhibit diffuse large B-cell lymphoma tumour growth by upregulating CD20. *Cell Death Dis*. 2020;11:20.
748. Minami J, Suzuki R, Mazitschek R, Gorgun G, Ghosh B, Cirstea D, Hu Y, Mimura N, Ohguchi H, Cottini F, Jakubikova J, Munshi NC, Haggarty SJ, Richardson PG, Hideshima T, Anderson KC. Histone deacetylase 3 as a novel therapeutic target in multiple myeloma. *Leukemia*. 2014;28:680-689.
749. Tang S, Cheng B, Zhe N, Ma D, Xu J, Li X, Guo Y, Wu W, Wang J. Histone deacetylase inhibitor BG45-mediated HO-1 expression induces apoptosis of multiple myeloma cells by the JAK2/STAT3 pathway. *Anticancer Drugs*. 2018;29:61-74.
750. Trivedi P, Adhikari N, Amin SA, Jha T, Ghosh B. Design, synthesis and biological screening of 2-aminobenzamides as selective HDAC3 inhibitors with promising anticancer effects. *Eur J Pharm Sci*. 2018;124:165-181.
751. Harada T, Ohguchi H, Grondin Y, Kikuchi S, Sagawa M, Tai YT, Mazitschek R, Hideshima T, Anderson KC. HDAC3 regulates DNMT1 expression in multiple myeloma: Therapeutic implications. *Leukemia*. 2017;31:2670-2677.
752. Tang D, Xu L, Zhang M, Dorfman RG, Pan Y, Zhou Q, Zhou L, Wang Y, Li Y, Yin Y, Wang L, Zou X. Metformin facilitates BG45-induced apoptosis via an anti-Warburg effect in cholangiocarcinoma cells. *Oncol Rep*. 2018;39:1957-1965.

753. Jones P, Steinkühler C. From natural products to small molecule ketone histone deacetylase inhibitors: Development of new class specific agents. *Curr Pharm Des.* 2008;14:545-561.
754. Depetter Y, Geurs S, Vanden Bussche F, De Vreese R, Franceus J, Desmet T, De Wever O, D'hooghe M. Assessment of the trifluoromethyl ketone functionality as an alternative zinc-binding group for selective HDAC6 inhibition. *Medchemcomm.* 2018;9:1011-1016.
755. Curtin M, Glaser K. Histone deacetylase inhibitors: The Abbott experience. *Curr Med Chem.* 2003;10:2373-2392.
756. Frey RR, Wada CK, Garland RB, Curtin ML, Michaelides MR, Li J, Pease LJ, Glaser KB, Marcotte PA, Bouska JJ, Murphy SS, Davidsen SK. Trifluoromethyl ketones as inhibitors of histone deacetylase. *Bioorg Med Chem Lett.* 2002;12:3443-3447.
757. Christianson DW, Lipscomb WN. Complex between carboxypeptidase A and a possible transition-state analog: Mechanistic inferences from high-resolution x-ray structures of enzyme-inhibitor complexes. *J Am Chem Soc.* 1986;108:4998-5003.
758. Walter MW, Felici A, Galleni M, Sotob PR, Adlington RM, Baldwin JE, Frère JM, Gololobov M, Schofield CJ. Trifluoromethyl alcohol and ketone inhibitors of metallo- β -lactamases. *Bioorg Med Chem Lett.* 1996;6:2455-2458.
759. Jose B, Oniki Y, Kato T, Nishino N, Sumida Y, Yoshida M. Novel histone deacetylase inhibitors: Cyclic tetrapeptide with trifluoromethyl and pentafluoroethyl ketones. *Bioorg Med Chem Lett.* 2004;14:5343-5346.
760. Madsen AS, Kristensen HM, Lanz G, Olsen CA. The effect of various zinc binding groups on inhibition of histone deacetylases 1-11. *Chem Med Chem.* 2014;9:614-626.

761. Gong CJ, Gao AH, Zhang YM, Su MB, Chen F, Sheng L, Zhou YB, Li JY, Li J, Nan FJ. Design, synthesis and biological evaluation of bisthiazole-based trifluoromethyl ketone derivatives as potent HDAC inhibitors with improved cellular efficacy. *Eur J Med Chem.* 2016;112:81-90.
762. Ideo A, Sasaki M, Nakamura C, Mori K, Shimada J, Kanda Y, Kunii S, Kawase M, Sakagami H. Cytotoxic activity of selected trifluoromethyl ketones against oral tumor cells. *Anticancer Res.* 2006;26:4335-4341.
763. Salvador LA, Luesch H. Discovery and mechanism of natural products as modulators of histone acetylation. *Curr Drug Targets.* 2012;13:1029-1047.
764. Mottamal M, Zheng S, Huang TL, Wang G. Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for new anticancer agents. *Molecules.* 2015;20:3898-3941.
765. Kwon HJ, Owa T, Hassig CA, Shimada J, Schreiber SL. Depudecin induces morphological reversion of transformed fibroblasts via the inhibition of histone deacetylase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:3356-3361.
766. García-Ruiz C, Cheng-Sánchez I, Sarabia F. Stereoselective total synthesis of (-)-depudecin. *Org Lett.* 2015;17:5558-5561.
767. Du L, Risinger AL, King JB, Powell DR, Cichewicz RH. A potent HDAC inhibitor, 1-alaninechlamydocin, from a tolypocladium sp. induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in MIA PaCa-2 cells. *J Nat Prod.* 2014;77:1753-1757.
768. Kim DH, Shin J, Kwon HJ. Psammaplin A is a natural prodrug that inhibits class I histone deacetylase. *Exp Mol Med.* 2007;39:47-55.
769. Baud MG, Leiser T, Petrucci V, Gunaratnam M, Neidle S, Meyer-Almes FJ, Fuchter MJ. Thioester derivatives of the natural product psammaplin A as potent histone deacetylase inhibitors. *Beilstein J Org Chem.* 2013;9:81-88.

770. Taori K, Paul VJ, Luesch H. Structure and activity of largazole, a potent antiproliferative agent from the Floridian marine cyanobacterium *Symploca* sp. *J Am Chem Soc.* 2008;130:1806-1807.
771. Salvador LA, Park H, Al-Awadhi FH, Liu Y, Kim B, Zeller SL, Chen QY, Hong J, Luesch H. Modulation of activity profiles for largazole-based HDAC inhibitors through alteration of prodrug properties. *ACS Med Chem Lett.* 2014;5:905-910.
772. Kim B, Ratnayake R, Lee H, Shi G, Zeller SL, Li C, Luesch H, Hong J. Synthesis and biological evaluation of largazole zinc-binding group analogs. *Bioorg Med Chem.* 2017;25:3077-3086.
773. Poli G, Di Fabio R, Ferrante L, Summa V, Botta M. Largazole analogues as histone deacetylase inhibitors and anticancer agents: An overview of structure-activity relationships. *ChemMedChem.* 2017;12:1917-1926.
774. Pilon JL, Clausen DJ, Hansen RJ, Lunghofer PJ, Charles B, Rose BJ, Thamm DH, Gustafson DL, Bradner JE, Williams RM. Comparative pharmacokinetic properties and antitumor activity of the marine HDACi largazole and largazole peptide isostere. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015;75:671-682.
775. Wu LC, Wen ZS, Qiu YT, Chen XQ, Chen HB, Wei MM, Liu Z, Jiang S, Zhou GB. Largazole arrests cell cycle at G1 phase and triggers proteasomal degradation of E2F1 in lung cancer cells. *ACS Med Chem Lett.* 2013;4:921-926.
776. Benelkebir H, Marie S, Hayden AL, Lyle J, Loadman PM, Crabb SJ, Packham G, Ganesan A. Total synthesis of largazole and analogues: HDAC inhibition, antiproliferative activity and metabolic stability. *Bioorg Med Chem.* 2011;19:3650-3658.

777. Nasveschuk CG, Ungermannova D, Liu X, Phillips AJ. A concise total synthesis of largazole, solution structure, and some preliminary structure activity relationships. *Org Lett.* 2008;10:3595-3598.
778. Law ME, Corsino PE, Jahn SC, Davis BJ, Chen S, Patel B, Pham K, Lu J, Sheppard B, Nørgaard P, Hong J, Higgins P, Kim JS, Luesch H, Law BK. Glucocorticoids and histone deacetylase inhibitors cooperate to block the invasiveness of basal-like breast cancer cells through novel mechanisms. *Oncogene.* 2013;32:1316-1329.
779. Zeng X, Yin B, Hu Z, Liao C, Liu J, Li S, Li Z, Nicklaus MC, Zhou G, Jiang S. Total synthesis and biological evaluation of largazole and derivatives with promising selectivity for cancers cells. *Org Lett.* 2010;12:1368-1371.
780. Bhansali P, Hanigan CL, Casero RA, Tillekeratne LM. Largazole and analogues with modified metal-binding motifs targeting histone deacetylases: Synthesis and biological evaluation. *J Med Chem.* 2011 Nov 10;54(21):7453-7463.
781. Liu Y, Salvador LA, Byeon S, Ying Y, Kwan JC, Law BK, Hong J, Luesch H. Anticancer activity of largazole, a marine-derived tunable histone deacetylase inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;335:351-361.
782. Zhao Y, Fang X, Wang Y, Zhang J, Jiang S, Liu Z, Ma Z, Xu L, Li E, Zhang K. Comprehensive analysis for histone acetylation of human colon cancer cells treated with a novel HDAC inhibitor. *Curr Pharm Des.* 2014;20:1866-1873.
783. Wang B, Huang PH, Chen CS, Forsyth CJ. Total syntheses of the histone deacetylase inhibitors largazole and 2-epi-largazole: Application of N-heterocyclic carbene mediated acylations in complex molecule synthesis. *J Org Chem.* 2011;76:1140-1150.

784. Bowers A, West N, Taunton J, Schreiber SL, Bradner JE, Williams RM. Total synthesis and biological mode of action of largazole: A potent class I histone deacetylase inhibitor. *J Am Chem Soc.* 2008;130:11219-11222.
785. Souto JA, Vaz E, Lepore I, Pöppler AC, Franci G, Alvarez R, Altucci L, de Lera AR. Synthesis and biological characterization of the histone deacetylase inhibitor largazole and C7- modified analogues. *J Med Chem.* 2010;53:4654-4667.
786. Payne JE, Bonnefous C, Hassig CA, Symons KT, Guo X, Nguyen PM, Annable T, Wash PL, Hoffman TZ, Rao TS, Shiau AK, Malecha JW, Noble SA, Hager JH, Smith ND. Identification of KD5170: A novel mercaptoketone-based histone deacetylase inhibitor. *Bioorg Med Chem Lett.* 2008;18:6093-6096.
787. Hassig CA, Symons KT, Guo X, Nguyen PM, Annable T, Wash PL, Payne JE, Jenkins DA, Bonnefous C, Trotter C, Wang Y, Anzola JV, Milkova EL, Hoffman TZ, Dozier SJ, Wiley BM, Saven A, Malecha JW, Davis RL, Muhammad J, Shiau AK, Noble SA, Rao TS, Smith ND, Hager JH. KD5170, a novel mercaptoketone-based histone deacetylase inhibitor that exhibits broad spectrum antitumor activity in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther.* 2008;7:1054-1065.
788. Ishigami-Yuasa M, Ekimoto H, Kagechika H. Class IIb HDAC inhibition enhances the inhibitory effect of Am80, a synthetic retinoid, in prostate cancer. *Biol Pharm Bull.* 2019;42:448-452.
789. Feng R, Ma H, Hassig CA, Payne JE, Smith ND, Mapara MY, Hager JH, Lentzsch S. KD5170, a novel mercaptoketone-based histone deacetylase inhibitor, exerts antimyeloma effects by DNA damage and mitochondrial signaling. *Mol Cancer Ther.* 2008;7:1494-1505.
790. A new antifungal antibiotic, trichostatin. Tsuji N, Kobayashi M, Nagashima K, Wakisaka Y, Koizumi K. *J Antibiot (Tokyo).* 1976;29:1-6.

791. Pant K, Peixoto E, Richard S, Gradilone SA. Role of histone deacetylases in carcinogenesis: Potential role in cholangiocarcinoma. *Cells*. 2020;9:E780.
792. VanderMolen KM, McCulloch W, Pearce CJ, Oberlies NH. Romidepsin (Istodax, NSC 630176, FR901228, FK228, depsipeptide): A natural product recently approved for cutaneous T-cell lymphoma. *J Antibiot (Tokyo)*. 2011;64:525-531.
793. Quinoa E, Crews P. Phenolic constituents of *psammaphysilla*. *Tetrahedron Lett*. 1987;28:3229-3232.
794. Pavlik CM, Wong CY, Ononye S, Lopez DD, Engene N, McPhail KL, Gerwick WH, Balunas MJ. Santacruzamate A, a potent and selective histone deacetylase inhibitor from the Panamanian marine cyanobacterium cf. *Symploca* sp. *J Nat Prod*. 2013;76:2026-2033.
795. Nakao Y, Yoshida S, Matsunaga S, Shindoh N, Terada Y, Nagai K, Yamashita JK, Ganesan A, van Soest RW, Fusetani N. Azumamides A-E: Histone deacetylase inhibitory cyclic tetrapeptides from the marine sponge *mycale izuensis*. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2006;45:7553-7557.
796. Gu W, Cueto M, Jensen PR, Fenical W, Silverman RB. Microsporins A and B: New histone deacetylase inhibitors from the marine-derived fungus *microsporium* cf. *gypseum* and the solid-phase synthesis of microsporin A. *Tetrahedron*. 2007;63:6535-6541.
797. Walton JD. HC-toxin. *Phytochemistry*. 2006;67:1406-1413.
798. Pringle RB. Chemical constitution of the host-specific toxin of *Helminthosporium carbonum*. *Plant Physiol*. 1970;46:45-49.

799. Takayama S, Isogai A, Nakata M, Suzuki H, Suzuki A. Structure of cyl-1, a novel cyclotetrapeptide from *cylindrocladium scoparium*. *Agric Biol Chem.* 1984;48:839-842.
800. Hirota A, Suzuki A, Suzuki H, Tamura S. Isolation and biological activity of cyl-2, a metabolite of *Cylindrocladium scoparium*. *Agric Biol Chem.* 1973;37:643-647.
801. Closse A, Huguenin R. Isolation and structural clarification of chlamydocin. *Helv Chim Acta.* 1974;57:533-545.
802. Mori H, Urano Y, Abe F, Furukawa S, Furukawa S, Tsurumi Y, Sakamoto K, Hashimoto M, Takase S, Hino M, Fujii T. FR235222, a fungal metabolite, is a novel immunosuppressant that inhibits mammalian histone deacetylase (HDAC). I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *J Antibiot (Tokyo).* 2003;56:72-79.
803. Chen Y, Gambs C, Abe Y, Wentworth P Jr, Janda KD. Total synthesis of the depsipeptide FR-901375. *J Org Chem.* 2003;68:8902-8905.
804. Masuoka Y, Nagai A, Shinya K, Furihata K, Nagai K, Suzuki K, Hayakawa Y, Seto H. Spiruchostatins A and B, novel gene expression-enhancing substances produced by *Pseudomonas* sp. *Tetrahedron Lett.* 2001;42:41-44.
805. Fennell KA, Möllmann U, Miller MJ. Syntheses and biological activity of amamistatin B and analogs. *J Org Chem.* 2008;73:1018-1024.
806. Klausmeyer P, Shipley SM, Zuck KM, McCloud TG. Histone deacetylase inhibitors from *Burkholderia thailandensis*. *J Nat Prod.* 2011;74:2039-2044.
807. Altonsy MO, Habib TN, Andrews SC. Diallyl disulfide-induced apoptosis in a breast-cancer cell line (MCF-7) may be caused by inhibition of histone deacetylation. *Nutr Cancer.* 2012;64:1251-1260.

808. Wei Z, Shan Y, Tao L, Liu Y, Zhu Z, Liu Z, Wu Y, Chen W, Wang A, Lu Y. Diallyl trisulfides, a natural histone deacetylase inhibitor, attenuate HIF-1 α synthesis, and decreases breast cancer metastasis. *Mol Carcinog.* 2017;56:2317-2331.
809. Tortorella SM, Royce SG, Licciardi PV, Karagiannis TC. Dietary sulforaphane in cancer chemoprevention: The role of epigenetic regulation and HDAC inhibition. *Antioxid Redox Signal.* 2015;22:1382-1424.
810. Choi SY, Piao ZH, Jin L, Kim JH, Kim GR, Ryu Y, Lin MQ, Kim HS, Kee HJ, Jeong MH. Piceatannol attenuates renal fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction via downregulation of histone deacetylase 4/5 or p38-MAPK signaling. *PLoS One.* 2016;11:E0167340.
811. Dashwood RH, Myzak MC, Ho E. Dietary HDAC inhibitors: Time to rethink weak ligands in cancer chemoprevention? *Carcinogenesis.* 2006;27:344-249.
812. Dashwood RH, Ho E. Dietary histone deacetylase inhibitors: From cells to mice to man. *Semin Cancer Biol.* 2007;17:363-369.
813. Byun MR, Lee DH, Jang YP, Lee HS, Choi JW, Lee SK. Repurposing natural products as novel HDAC inhibitors by comparative analysis of gene expression profiles. *Phytomedicine.* 2019;59:152900.
814. Kim B, Hong J. An overview of naturally occurring histone deacetylase inhibitors. *Curr Top Med Chem.* 2015;14:2759-2782.
815. Grant S, Easley C, Kirkpatrick P. Vorinostat. *Nat Rev Drug Discov.* 2007;6:21-22.
816. Mann BS, Johnson JR, Cohen MH, Justice R, Pazdur R. FDA approval summary: Vorinostat for treatment of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma. *Oncologist.* 2007;12:1247-1252.

817. Huang J, Schriefer AE, Yang W, Cliften PF, Rudnick DA. Identification of an epigenetic signature of early mouse liver regeneration that is disrupted by Zn-HDAC inhibition. *Epigenetics*. 2014;9:1521-1531.
818. Bereshchenko OR, Gu W, Dalla-Favera R. Acetylation inactivates the transcriptional repressor BCL6. *Nat Genet*. 2002;32:606-613.
819. Said TK, Moraes RC, Sinha R, Medina D. Mechanisms of suberoylanilide hydroxamic acid inhibition of mammary cell growth. *Breast Cancer Res*. 2001;3:122-133.
820. Sandor V, Senderowicz A, Mertins S, Sackett D, Sausville E, Blagosklonny MV, Bates SE. P21-dependent G1 arrest with downregulation of cyclin D1 and upregulation of cyclin E by the histone deacetylase inhibitor FR901228. *Br J Cancer*. 2000;83:817-825.
821. Bernhart E, Stuendl N, Kaltenecker H, Windpassinger C, Donohue N, Leithner A, Lohberger B. Histone deacetylase inhibitors vorinostat and panobinostat induce G1 cell cycle arrest and apoptosis in multidrug resistant sarcoma cell lines. *Oncotarget*. 2017;8:77254-77267.
822. Natarajan U, Venkatesan T, Radhakrishnan V, Samuel S, Rasappan P, Rathinavelu A. Cell cycle arrest and cytotoxic effects of SAHA and RG7388 mediated through p21WAF1/CIP1 and p27KIP1 in cancer cells. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55:E30.
823. Zhao Y, Tan J, Zhuang L, Jiang X, Liu ET, Yu Q. Inhibitors of histone deacetylases target the Rb-E2F1 pathway for apoptosis induction through activation of proapoptotic protein Bim. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:16090-16095.
824. Tan J, Zhuang L, Jiang X, Yang KK, Karuturi KM, Yu Q. Apoptosis signal-regulating kinase 1 is a direct target of E2F1 and contributes to histone deacetylase

- inhibitor-induced apoptosis through positive feedback regulation of E2F1 apoptotic activity. *J Biol Chem.* 2006;281:10508-10515.
825. Noro R, Miyanaga A, Minegishi Y, Okano T, Seike M, Soeno C, Kataoka K, Matsuda K, Yoshimura A, Gemma A. Histone deacetylase inhibitor enhances sensitivity of non-small-cell lung cancer cells to 5-FU/S-1 via down-regulation of thymidylate synthase expression and up-regulation of p21(waf1/cip1) expression. *Cancer Sci.* 2010;101:1424-1430.
826. Bolden JE, Shi W, Jankowski K, Kan CY, Cluse L, Martin BP, MacKenzie KL, Smyth GK, Johnstone RW. HDAC inhibitors induce tumor-cell-selective pro-apoptotic transcriptional responses. *Cell Death Dis.* 2013;4:E519.
827. Inoue S, Riley J, Gant TW, Dyer MJ, Cohen GM. Apoptosis induced by histone deacetylase inhibitors in leukemic cells is mediated by Bim and Noxa. *Leukemia.* 2007;21:1773-1782.
828. Zhang Y, Adachi M, Kawamura R, Imai K. Bmf is a possible mediator in histone deacetylase inhibitors FK228 and CBHA-induced apoptosis. *Cell Death Differ.* 2006;13:129-140.
829. Palani CD, Beck JF, Sonnemann J. Histone deacetylase inhibitors enhance the anticancer activity of nutlin-3 and induce p53 hyperacetylation and downregulation of MDM2 and MDM4 gene expression. *Invest New Drugs.* 2012;30:25-36.
830. Fu S, Hou MM, Naing A, Janku F, Hess K, Zinner R, Subbiah V, Hong D, Wheler J, Piha-Paul S, Tsimberidou A, Karp D, Araujo D, Kee B, Hwu P, Wolff R, Kurzrock R, Meric-Bernstam F. Phase I study of pazopanib and vorinostat: A therapeutic approach for inhibiting mutant p53-mediated angiogenesis and facilitating mutant p53 degradation. *Ann Oncol.* 2015;26:1012-1018.

831. Makki MS, Haqqi TM. Histone deacetylase inhibitor vorinostat (SAHA, MK0683) perturb miR-9-MCPIP1 axis to block IL-1 β -induced IL-6 expression in human OA chondrocytes. *Connect Tissue Res.* 2017;58:64-75.
832. Tiffon C, Adams J, van der Fits L, Wen S, Townsend P, Ganesan A, Hodges E, Vermeer M, Packham G. The histone deacetylase inhibitors vorinostat and romidepsin downmodulate IL-10 expression in cutaneous T-cell lymphoma cells. *Br J Pharmacol.* 2011;162:1590-1602.
833. Duvic M, Vu J. Vorinostat
834. A new oral histone deacetylase inhibitor approved for cutaneous T-cell lymphoma. *Expert Opin Investig Drugs.* 2007;16:1111-1120.
835. Cohen LA, Marks PA, Rifkind RA, Amin S, Desai D, Pittman B, Richon VM. Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), a histone deacetylase inhibitor, suppresses the growth of carcinogen-induced mammary tumors. *Anticancer Res.* 2002;22:1497-1504.
836. Chiaradonna F, Barozzi I, Miccolo C, Bucci G, Palorini R, Fornasari L, Botrugno OA, Pruneri G, Masullo M, Passafaro A, Galimberti VE, Fantin VR, Richon VM, Pece S3, Viale G, Di Fiore PP, Draetta G, Pelicci PG, Minucci S, Chiocca S. Redox-mediated suberoylanilide hydroxamic acid sensitivity in breast cancer. *Antioxid Redox Signal.* 2015;23:15-29.
837. Luu T, Kim KP, Blanchard S, Anyang B, Hurria A, Yang L, Beumer JH, Somlo G, Yen Y. Phase IB trial of ixabepilone and vorinostat in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2018;167:469-478.
838. Kou X, Yang Y, Jiang X, Liu H, Sun F, Wang X, Liu L, Liu H, Lin Z, Jiang L. Vorinostat and simvastatin have synergistic effects on triple-negative breast cancer cells via abrogating Rab7 prenylation. *Eur J Pharmacol.* 2017;813:161-171.

839. Tu Y, Hershman DL, Bhalla K, Fiskus W, Pellegrino CM, Andreopoulou E, Makower D, Kalinsky K, Fehn K, Fineberg S, Negassa A, Montgomery LL, Wiechmann LS, Alpaugh RK, Huang M, Sparano JA. A phase I-II study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat plus sequential weekly paclitaxel and doxorubicin-cyclophosphamide in locally advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;146:145-152.
840. Ramaswamy B, Fiskus W, Cohen B, Pellegrino C, Hershman DL, Chuang E, Luu T, Somlo G, Goetz M, Swaby R, Shapiro CL, Stearns V, Christos P, Espinoza-Delgado I, Bhalla K, Sparano JA. Phase I-II study of vorinostat plus paclitaxel and bevacizumab in metastatic breast cancer: Evidence for vorinostat-induced tubulin acetylation and Hsp90 inhibition in vivo. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;132:1063-1072.
841. Asgar MA, Senawong G, Sripa B, Senawong T. Synergistic anticancer effects of cisplatin and histone deacetylase inhibitors (SAHA and TSA) on cholangiocarcinoma cell lines. *Int J Oncol.* 2016;48:409-420.
842. Li YL, Zhang NY, Hu X, Chen JL, Rao MJ, Wu LW, Li QY, Zhang B, Yan W, Zhang C. Evodiamine induces apoptosis and promotes hepatocellular carcinoma cell death induced by vorinostat via downregulating HIF-1 α under hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;498:481-486.
843. Liao B, Zhang Y, Sun Q, Jiang P. Vorinostat enhances the anticancer effect of oxaliplatin on hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Med.* 2018;7:196-207.
844. Gordon SW, McGuire WP 3rd, Shafer DA, Sterling RK, Lee HM, Matherly SC, Roberts JD, Bose P, Tombes MB, Shrader EE, Ryan AA, Kmiecik M, Nguyen T, Deng X, Bandyopadhyay D, Dent P, Poklepovic AS. Phase I study of sorafenib and

- vorinostat in advanced hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Oncol*. 2019;42:649-654.
845. Booth L, Roberts JL, Poklepovic A, Dent P. Prior exposure of pancreatic tumors to [sorafenib + vorinostat] enhances the efficacy of an anti-PD-1 antibody. *Cancer Biol Ther*. 2019;20:109-121.
846. Phase I trial of vorinostat added to chemoradiation with capecitabine in pancreatic cancer. Chan E, Arlinghaus LR, Cardin DB, Goff L, Berlin JD, Parikh A, Abramson RG, Yankeelov TE, Hiebert S, Merchant N, Bhaskara S, Chakravarthy AB. *Radiother Oncol*. 2016;119:312-318.
847. Pitts TM, Morrow M, Kaufman SA, Tentler JJ, Eckhardt SG. Vorinostat and bortezomib exert synergistic antiproliferative and proapoptotic effects in colon cancer cell models. *Mol Cancer Ther*. 2009;8:342-349.
848. Walker T, Mitchell C, Park MA, Yacoub A, Graf M, Rahmani M, Houghton PJ, Voelkel-Johnson C, Grant S, Dent P. Sorafenib and vorinostat kill colon cancer cells by CD95-dependent and -independent mechanisms. *Mol Pharmacol*. 2009;76:342-355.
849. Sanaei M, Kavooosi F, Mansoori O. Effect of valproic acid in comparison with vorinostat on cell growth inhibition and apoptosis induction in the human colon cancer SW48 cells in vitro. *Exp Oncol*. 2018;40:95-100.
850. Tzao C, Jin JS, Chen BH, Chung HY, Chang CC, Hsu TY, Sun GH. Anticancer effects of suberoylanilide hydroxamic acid in esophageal squamous cancer cells in vitro and in vivo. *Dis Esophagus*. 2014;27:693-702.
851. Okubo K, Isono M, Miyai K, Asano T, Sato A. Fluvastatin potentiates anticancer activity of vorinostat in renal cancer cells. *Cancer Sci*. 2020;111:112-126.

852. Pili R, Liu G, Chintala S, Verheul H, Rehman S, Attwood K, Lodge MA, Wahl R, Martin JJ, Miles KM, Paesante S, Adelaiye R, Godoy A, King S, Zwiebel J, Carducci MA. Combination of the histone deacetylase inhibitor vorinostat with bevacizumab in patients with clear-cell renal cell carcinoma: A multicentre, single-arm phase I/II clinical trial. *Br J Cancer*. 2017;116:874-883.
853. Majera D, Skrott Z, Bouchal J, Bartkova J, Simkova D, Gachechiladze M, Steigerova J, Kurfurstova D, Gursky J, Korinkova G, Cwiertka K, Hodny Z, Mistrik M, Bartek J. Targeting genotoxic and proteotoxic stress-response pathways in human prostate cancer by clinically available PARP inhibitors, vorinostat and disulfiram. *Prostate*. 2019;79:352-362.
854. Pan CH, Chang YF, Lee MS, Wen BC, Ko JC, Liang SK, Liang MC. Vorinostat enhances the cisplatin-mediated anticancer effects in small cell lung cancer cells. *BMC Cancer*. 2016;16:857.
855. Gray JE, Saltos A, Tanvetyanon T, Haura EB, Creelan B, Antonia SJ, Shafique M, Zheng H, Dai W, Saller JJ, Chen Z, Tchekmedyian N, Goas K, Thapa R, Boyle TA, Chen DT, Beg AA. Phase I/Ib study of pembrolizumab plus vorinostat in advanced/metastatic non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25:6623-6632.
856. Takeuchi S, Hase T, Shimizu S, Ando M, Hata A, Murakami H, Kawakami T, Nagase K, Yoshimura K, Fujiwara T, Tanimoto A, Nishiyama A, Arai S, Fukuda K, Katakami N, Takahashi T, Hasegawa Y, Ko TK, Ong ST, Yano S. Phase I study of vorinostat with gefitinib in BIM deletion polymorphism/epidermal growth factor receptor mutation double-positive lung cancer. *Cancer Sci*. 2020;111:561-570.
857. Matulonis U, Berlin S, Lee H, Whalen C, Obermayer E, Penson R, Liu J, Campos S, Krasner C, Horowitz N. Phase I study of combination of vorinostat,

- carboplatin, and gemcitabine in women with recurrent, platinum-sensitive epithelial ovarian, fallopian tube, or peritoneal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015;76:417-423.
858. Bishayee K, Habib K, Sadra A, Huh SO. Targeting the difficult-to-drug CD71 and MYCN with gambogic acid and vorinostat in a class of neuroblastomas. *Cell Physiol Biochem.* 2019;53:258-280.
859. Pinto N, DuBois SG, Marachelian A, Diede SJ, Taraseviciute A, Glade Bender JL, Tsao-Wei D, Groshen SG, Reid JM, Haas-Kogan DA, Reynolds CP, Kang MH, Irwin MS, Macy ME, Villablanca JG, Matthay KK, Park JR. Phase I study of vorinostat in combination with isotretinoin in patients with refractory/recurrent neuroblastoma: A new approaches to neuroblastoma therapy (NANT) trial. *Pediatr Blood Cancer.* 2018;65:E27023.
860. Sung GJ, Kim SH, Kwak S, Park SH, Song JH, Jung JH, Kim H, Choi KC. Inhibition of TFEB oligomerization by co-treatment of melatonin with vorinostat promotes the therapeutic sensitivity in glioblastoma and glioma stem cells. *J Pineal Res.* 2019;66:E12556.
861. Prebet T, Vey N. Vorinostat in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Expert Opin Investig Drugs.* 2011;20:287-295.
862. Kirschbaum M, Gojo I, Goldberg SL, Bredeson C, Kujawski LA, Yang A, Marks P, Frankel P, Sun X, Tosolini A, Eid JE, Lubiniecki GM, Issa JP. A phase 1 clinical trial of vorinostat in combination with decitabine in patients with acute myeloid leukaemia or myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol.* 2014;167:185-193.

863. Valdez BC, Brammer JE, Li Y, Murray D, Liu Y, Hosing C, Nieto Y, Champlin RE, Andersson BS. Romidepsin targets multiple survival signaling pathways in malignant T cells. *Blood Cancer J.* 2015;5:E357.
864. Zhou H, Cai Y, Liu D, Li M, Sha Y, Zhang W, Wang K, Gong J, Tang N, Huang A, Xia J. Pharmacological or transcriptional inhibition of both HDAC1 and 2 leads to cell cycle blockage and apoptosis via p21^{Waf1/Cip1} and p19^{INK4d} upregulation in hepatocellular carcinoma. *Cell Prolif.* 2018;51:E12447.
865. Kanno S, Maeda N, Tomizawa A, Yomogida S, Katoh T, Ishikawa M. Characterization of cells resistant to the potent histone deacetylase inhibitor spiruchostatin B (SP-B) and effect of overexpressed p21waf1/cip1 on the SP-B resistance or susceptibility of human leukemia cells. *Int J Oncol.* 2012;41:862-868.
866. Vinodhkumar R, Song YS, Devaki T. Romidepsin (depsipeptide) induced cell cycle arrest, apoptosis and histone hyperacetylation in lung carcinoma cells (A549) are associated with increase in p21 and hypophosphorylated retinoblastoma proteins expression. *Biomed Pharmacother.* 2008;62:85-93.
867. Kodani M, Igishi T, Matsumoto S, Chikumi H, Shigeoka Y, Nakanishi H, Morita M, Yasuda K, Hitsuda Y, Shimizu E. Suppression of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway is a determinant of the sensitivity to a novel histone deacetylase inhibitor, FK228, in lung adenocarcinoma cells. *Oncol Rep.* 2005;13:477-483.
868. Saijo K, Katoh T, Shimodaira H, Oda A, Takahashi O, Ishioka C. Romidepsin (FK228) and its analogs directly inhibit phosphatidylinositol 3-kinase activity and potently induce apoptosis as histone deacetylase/phosphatidylinositol 3-kinase dual inhibitors. *Cancer Sci.* 2012;103:1994-2001.

869. Wu Y, Dong L, Bao S, Wang M, Yun Y, Zhu R. FK228 augmented temozolomide sensitivity in human glioma cells by blocking PI3K/AKT/mTOR signal pathways. *Biomed Pharmacother.* 2016;84:462-469.
870. Nettersheim D, Berger D, Jostes S, Skowron M, Schorle H. Deciphering the molecular effects of romidepsin on germ cell tumours: DHRS2 is involved in cell cycle arrest but not apoptosis or induction of romidepsin effectors. *J Cell Mol Med.* 2019;23:670-679.
871. Nettersheim D, Jostes S, Fabry M, Honecker F, Schumacher V, Kirfel J, Kristiansen G, Schorle H. A signaling cascade including ARID1A, GADD45B and DUSP1 induces apoptosis and affects the cell cycle of germ cell cancers after romidepsin treatment. *Oncotarget.* 2016;7:74931-74946.
872. Mizutani H, Hiraku Y, Tada-Oikawa S, Murata M, Ikemura K, Iwamoto T, Kagawa Y, Okuda M, Kawanishi S. Romidepsin (FK228), a potent histone deacetylase inhibitor, induces apoptosis through the generation of hydrogen peroxide. *Cancer Sci.* 2010;101:2214-2219.
873. Choudhary S, Wang HC. Role of reactive oxygen species in proapoptotic ability of oncogenic H-Ras to increase human bladder cancer cell susceptibility to histone deacetylase inhibitor for caspase induction. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009;135:1601-1613.
874. Mie Lee Y, Kim SH, Kim HS, Jin Son M, Nakajima H, Jeong Kwon H, Kim KW. Inhibition of hypoxia-induced angiogenesis by FK228, a specific histone deacetylase inhibitor, via suppression of HIF-1 α activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;300:241-246.
875. Imesch P, Samartzis EP, Schneider M, Fink D, Fedier A. Inhibition of transcription, expression, and secretion of the vascular epithelial growth factor in

- human epithelial endometriotic cells by romidepsin. *Fertil Steril.* 2011;95:1579-1583.
876. Eyre TA. Predictive biomarkers for disease sensitivity in lymphoma - the holy grail for HDAC inhibitors? *Oncotarget.* 2018;9:37280-37281.
877. Rajgolikar G, Chan KK, Wang HC. Effects of a novel antitumor depsipeptide, FR901228, on human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;51:29-38.
878. Robertson FM, Chu K, Boley KM, Ye Z, Liu H, Wright MC, Moraes R, Zhang X, Green TL, Barsky SH, Heise C, Cristofanilli M. The class I HDAC inhibitor romidepsin targets inflammatory breast cancer tumor emboli and synergizes with paclitaxel to inhibit metastasis. *J Exp Ther Oncol.* 2013;10:219-233.
879. Wang TY, Jia YL, Zhang X, Sun QL, Li YC, Zhang JH, Zhao CP, Wang XY, Wang L. Treating colon cancer cells with FK228 reveals a link between histone lysine acetylation and extensive changes in the cellular proteome. *Sci Rep.* 2015;5:18443.
880. Wang TY, Chai YR, Jia YL, Gao JH, Peng XJ, Han HF. Crosstalk among the proteome, lysine phosphorylation, and acetylation in romidepsin-treated colon cancer cells. *Oncotarget.* 2016;7:53471-53501.
881. Xu DB, Wang YL, Yue Y, Wu SC, Ding H. Inhibitory effect of a novel histone deacetylases inhibitor FK228 on human colon cancer HCT-116 cells in vitro and in vivo. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2013;35:814-818.
882. Sato N, Ohta T, Kitagawa H, Kayahara M, Ninomiya I, Fushida S, Fujimura T, Nishimura G, Shimizu K, Miwa K. FR901228, a novel histone deacetylase inhibitor, induces cell cycle arrest and subsequent apoptosis in refractory human pancreatic cancer cells. *Int J Oncol.* 2004;24:679-685.

883. Padmanabhan S, Zou Y, Vancurova I. Flow cytometry analysis of surface PD-L1 expression induced by IFN γ and romidepsin in ovarian cancer cells. *Methods Mol Biol.* 2020;2108:221-228.
884. Molife LR, Attard G, Fong PC, Karavasilis V, Reid AH, Patterson S, Riggs CE Jr, Higano C, Stadler WM, McCulloch W, Dearnaley D, Parker C, de Bono JS. Phase II, two-stage, single-arm trial of the histone deacetylase inhibitor (HDACi) romidepsin in metastatic castration-resistant prostate cancer (CRPC). *Ann Oncol.* 2010;21:109-113.
885. Tsurutani J, Soda H, Oka M, Suenaga M, Doi S, Nakamura Y, Nakatomi K, Shiozawa K, Amada YY, Kamihira S, Kohno S. Antiproliferative effects of the histone deacetylase inhibitor FR901228 on small-cell lung cancer lines and drug-resistant sublines. *Int J Cancer.* 2003;104:238-242.
886. Klimek VM, Fircanis S, Maslak P, Guernah I, Baum M, Wu N, Panageas K, Wright JJ, Pandolfi PP, Nimer SD. Tolerability, pharmacodynamics, and pharmacokinetics studies of depsipeptide (romidepsin) in patients with acute myelogenous leukemia or advanced myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res.* 2008;14:826-832.
887. Clarke K, Young C, Liberante F, McMullin MF, Thompson A, Mills K. The histone deacetylase inhibitor Romidepsin induces as a cascade of differential gene expression and altered histone H3K9 marks in myeloid leukaemia cells. *Oncotarget.* 2019;10:3462-3471.
888. Cheung LC, Cruickshank MN, Hughes AM, Singh S, Chua GA, Ford J, Ferrari E, Oommen J, Malinge S, Lock RB, Kees UR, Kotecha RS. Romidepsin enhances the efficacy of cytarabine in vivo, revealing histone deacetylase inhibition as a

- promising therapeutic strategy for KMT2A-rearranged infant acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2019;104:E300-303.
889. Makita S, Maeshima AM, Maruyama D, Izutsu K, Tobinai K. Forodesine in the treatment of relapsed/refractory peripheral T-cell lymphoma: An evidence-based review. *Onco Targets Ther*. 2018;11:2287-2293.
890. Pro B, Horwitz SM, Prince HM, Foss FM, Sokol L, Greenwood M, Caballero D, Morschhauser F, Wilhelm M, Iyer SP, Shustov AR, Wolfson J, Balser BE, Coiffier B. Romidepsin induces durable responses in patients with relapsed or refractory angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Hematol Oncol*. 2017;35:914-917.
891. Gagnon J, Shaker S, Primeau M, Hurtubise A, Momparler RL. Interaction of 5-aza-2'-deoxycytidine and depsipeptide on antineoplastic activity and activation of 14-3-3sigma, E-cadherin and tissue inhibitor of metalloproteinase 3 expression in human breast carcinoma cells. *Anticancer Drugs*. 2003;14:193-202.
892. Okada K, Hakata S, Terashima J, Gamou T, Habano W, Ozawa S. Combination of the histone deacetylase inhibitor depsipeptide and 5-fluorouracil upregulates major histocompatibility complex class II and p21 genes and activates caspase-3/7 in human colon cancer HCT-116 cells. *Oncol Rep*. 2016;36:1875-1885.
893. Son DS, Wilson AJ, Parl AK, Khabele D. The effects of the histone deacetylase inhibitor romidepsin (FK228) are enhanced by aspirin (ASA) in COX-1 positive ovarian cancer cells through augmentation of p21. *Cancer Biol Ther*. 2010;9:928-935.
894. Zhang Z, Stanfield J, Frenkel E, Kabbani W, Hsieh JT. Enhanced therapeutic effect on androgen-independent prostate cancer by depsipeptide (FK228), a histone deacetylase inhibitor, in combination with docetaxel. *Urology*. 2007;70:396-401.

895. Zhang W, Peyton M, Xie Y, Soh J, Minna JD, Gazdar AF, Frenkel EP. Histone deacetylase inhibitor romidepsin enhances anti-tumor effect of erlotinib in non-small cell lung cancer (NSCLC) cell lines. *J Thorac Oncol.* 2009;4:161-166.
896. Karthik S, Sankar R, Varunkumar K, Ravikumar V. Romidepsin induces cell cycle arrest, apoptosis, histone hyperacetylation and reduces matrix metalloproteinases 2 and 9 expression in bortezomib sensitized non-small cell lung cancer cells. *Biomed Pharmacother.* 2014;68:327-334.
897. Dupuis J, Morschhauser F, Ghesquières H, Tilly H, Casasnovas O, Thieblemont C, Ribrag V, Bossard C, Le Bras F, Bachy E, Hivert B, Nicolas-Virelizier E, Jardin F, Bastie JN, Amorim S, Lazarovici J, Martin A, Coiffier B. Combination of romidepsin with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone in previously untreated patients with peripheral T-cell lymphoma: A non-randomised, phase 1b/2 study. *Lancet Haematol.* 2015;2:E160-165.
898. Poole RM. Belinostat: First global approval. *Drugs.* 2014;74:1543-1554.
899. Steele NL, Plumb JA, Vidal L, Tjørnelund J, Knoblauch P, Rasmussen A, Ooi CE, Buhl-Jensen P, Brown R, Evans TR, DeBono JS. A phase 1 pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the histone deacetylase inhibitor belinostat in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2008;14:804-810.
900. Chien W, Lee DH, Zheng Y, Wuensche P, Alvarez R, Wen DL, Aribi AM, Thean SM, Doan NB, Said JW, Koeffler HP. Growth inhibition of pancreatic cancer cells by histone deacetylase inhibitor belinostat through suppression of multiple pathways including HIF, NFkB, and mTOR signaling in vitro and in vivo. *Mol Carcinog.* 2014;53:722-735.

901. Wang B, Wang XB, Chen LY, Huang L, Dong RZ. Belinostat-induced apoptosis and growth inhibition in pancreatic cancer cells involve activation of TAK1-AMPK signaling axis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;437:1-6.
902. Kong LR, Tan TZ, Ong WR, Bi C, Huynh H, Lee SC1, Chng WJ1, Eichhorn PJA, Goh BC. Belinostat exerts antitumor cytotoxicity through the ubiquitin-proteasome pathway in lung squamous cell carcinoma. *Mol Oncol.* 2017;11:965-980.
903. Campbell P, Thomas CM. Belinostat for the treatment of relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma. *J Oncol Pharm Pract.* 2017;23:143-147.
904. O'Connor OA, Horwitz S, Masszi T, Van Hoof A, Brown P, Doorduijn J, Hess G, Jurczak W, Knoblauch P, Chawla S, Bhat G, Choi MR, Walewski J, Savage K, Foss F, Allen LF, Shustov A. Belinostat in patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma: Results of the pivotal phase II BELIEF (CLN-19) study. *J Clin Oncol.* 2015;33:2492-2499.
905. Ma BB, Sung F, Tao Q, Poon FF, Lui VW, Yeo W, Chan SL, Chan AT. The preclinical activity of the histone deacetylase inhibitor PXD101 (belinostat) in hepatocellular carcinoma cell lines. *Invest New Drugs.* 2010;28:107-114.
906. Yeo W, Chung HC, Chan SL, Wang LZ, Lim R, Picus J, Boyer M, Mo FK, Koh J, Rha SY, Hui EP, Jeung HC, Roh JK, Yu SC, To KF, Tao Q, Ma BB, Chan AW, Tong JH, Erlichman C, Chan AT, Goh BC. Epigenetic therapy using belinostat for patients with unresectable hepatocellular carcinoma: A multicenter phase I/II study with biomarker and pharmacokinetic analysis of tumors from patients in the Mayo Phase II Consortium and the Cancer Therapeutics Research Group. *J Clin Oncol.* 2012;30:3361-3367.

907. Wang LZ, Ramírez J, Yeo W, Chan MY, Thuya WL, Lau JY, Wan SC, Wong AL, Zee YK, Lim R, Lee SC, Ho PC, Lee HS, Chan A, Ansher S, Ratain MJ, Goh BC. Glucuronidation by UGT1A1 is the dominant pathway of the metabolic disposition of belinostat in liver cancer patients. *PLoS One*. 2013;8:E54522.
908. Dovzhanskiy DI, Arnold SM, Hackert T, Oehme I, Witt O, Felix K, Giese N, Werner J. Experimental in vivo and in vitro treatment with a new histone deacetylase inhibitor belinostat inhibits the growth of pancreatic cancer. *BMC Cancer*. 2012;12:226.
909. Beck HC, Petersen J, Nielsen SJ, Morszeck C, Jensen PB, Sehested M, Grauslund M. Proteomic profiling of human colon cancer cells treated with the histone deacetylase inhibitor belinostat. *Electrophoresis*. 2010;31:2714-2721.
910. Qian X, Ara G, Mills E, LaRochelle WJ, Lichenstein HS, Jeffers M. Activity of the histone deacetylase inhibitor belinostat (PXD101) in preclinical models of prostate cancer. *Int J Cancer*. 2008;122:1400-1410.
911. Buckley MT, Yoon J, Yee H, Chiriboga L, Liebes L, Ara G, Qian X, Bajorin DF, Sun TT, Wu XR, Osman I. The histone deacetylase inhibitor belinostat (PXD101) suppresses bladder cancer cell growth in vitro and in vivo. *J Transl Med*. 2007;5:49.
912. Qian X, LaRochelle WJ, Ara G, Wu F, Petersen KD, Thougard A, Sehested M, Lichenstein HS, Jeffers M. Activity of PXD101, a histone deacetylase inhibitor, in preclinical ovarian cancer studies. *Mol Cancer Ther*. 2006;5:2086-2095.
913. Mackay HJ, Hirte H, Colgan T, Covens A, MacAlpine K, Greci P, Wang L, Mason J, Pham PA, Tsao MS, Pan J, Zwiebel J, Oza AM. Phase II trial of the histone deacetylase inhibitor belinostat in women with platinum resistant epithelial ovarian

- cancer and micropapillary (LMP) ovarian tumours. *Eur J Cancer*. 2010;46:1573-1579.
914. Marampon F, Di Nisio V, Pietrantonio I, Petragliano F, Fasciani I, Scicchitano BM, Ciccarelli C, Gravina GL, Festuccia C, Del Fattore A, Tombolini M, De Felice F, Musio D, Cecconi S, Tini P, Maddalo M, Codenotti S, Fanzani A, Polimeni A, Maggio R, Tombolini V. Pro-differentiating and radiosensitizing effects of inhibiting HDACs by PXD-101 (Belinostat) in in vitro and in vivo models of human rhabdomyosarcoma cell lines. *Cancer Lett*. 2019;461:90-101.
915. Kusaczuk M, Krętownski R, Stypułkowska A, Cechowska-Pasko M. Molecular and cellular effects of a novel hydroxamate-based HDAC inhibitor - belinostat - in glioblastoma cell lines: A preliminary report. *Invest New Drugs*. 2016;34:552-564.
916. Cashen A, Juckett M, Jumonville A, Litzow M, Flynn PJ, Eckardt J, LaPlant B, Laumann K, Erlichman C, DiPersio J. Phase II study of the histone deacetylase inhibitor belinostat (PXD101) for the treatment of myelodysplastic syndrome (MDS). *Ann Hematol*. 2012;91:33-38.
917. Savickiene J, Treigyte G, Valiuliene G, Stirblyte I, Navakauskiene R. Epigenetic and molecular mechanisms underlying the antileukemic activity of the histone deacetylase inhibitor belinostat in human acute promyelocytic leukemia cells. *Anticancer Drugs*. 2014;25:938-949.
918. Molife LR, de Bono JS. Belinostat: Clinical applications in solid tumors and lymphoma. *Expert Opin Investig Drugs*. 2011;20:1723-1732.
919. Zuo Y, Xu H, Chen Z, Xiong F, Zhang B, Chen K, Jiang H, Luo C, Zhang H. 17-AAG synergizes with Belinostat to exhibit a negative effect on the proliferation and invasion of MDA-MB-231 breast cancer cells. *Oncol Rep*. 2020;43:1928-1944.

920. Spratlin JL, Pitts TM, Kulikowski GN, Morelli MP, Tentler JJ, Serkova NJ, Eckhardt SG. Synergistic activity of histone deacetylase and proteasome inhibition against pancreatic and hepatocellular cancer cell lines. *Anticancer Res.* 2011;31:1093-1103.
921. Tumber A, Collins LS, Petersen KD, Thougard A, Christiansen SJ, Dejligbjerg M, Jensen PB, Sehested M, Ritchie JW. The histone deacetylase inhibitor PXD101 synergises with 5-fluorouracil to inhibit colon cancer cell growth in vitro and in vivo. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2007;60:275-283.
922. Na YS, Jung KA, Kim SM, Hong YS, Ryu MH, Jang SJ, Moon DH, Cho DH, Kim JC, Lee JS, Kim TW. The histone deacetylase inhibitor PXD101 increases the efficacy of irinotecan in in vitro and in vivo colon cancer models. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011;68:389-398.
923. Gravina GL, Marampon F, Muzi P, Mancini A, Piccolella M, Negri-Cesi P, Motta M, Lenzi A, Di Cesare E, Tombolini V, Jannini EA, Festuccia C. PXD101 potentiates hormonal therapy and prevents the onset of castration-resistant phenotype modulating androgen receptor, HSP90, and CRM1 in preclinical models of prostate cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2013;20:321-337.
924. Dizon DS, Damstrup L, Finkler NJ, Lassen U, Celano P, Glasspool R, Crowley E, Lichenstein HS, Knoblach P, Penson RT. Phase II activity of belinostat (PXD-101), carboplatin, and paclitaxel in women with previously treated ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2012;22:979-986.
925. Ong PS, Wang L, Chia DM, Seah JY, Kong LR, Thuya WL, Chinnathambi A, Lau JY, Wong AL, Yong WP, Yang D, Ho PC, Sethi G, Goh BC. A novel combinatorial strategy using Seliciclib(®) and Belinostat(®) for eradication of non-

- small cell lung cancer via apoptosis induction and BID activation. *Cancer Lett.* 2016;381:49-57.
926. Balasubramaniam S, Redon CE, Peer CJ, Bryla C, Lee MJ, Trepel JB, Tomita Y, Rajan A, Giaccone G, Bonner WM, Figg WD, Fojo T, Piekarz RL, Bates SE. Phase I trial of belinostat with cisplatin and etoposide in advanced solid tumors, with a focus on neuroendocrine and small cell cancers of the lung. *Anticancer Drugs.* 2018;29:457-465.
927. Valiulienė G, Stirblytė I, Jasnauskaitė M, Borutinskaitė V, Navakauskienė R. Anti-leukemic effects of HDACi Belinostat and HMTi 3-Deazaneplanocin A on human acute promyelocytic leukemia cells. *Eur J Pharmacol.* 2017;799:143-153.
928. Dai Y, Chen S, Wang L, Pei XY, Kramer LB, Dent P, Grant S. Bortezomib interacts synergistically with belinostat in human acute myeloid leukaemia and acute lymphoblastic leukaemia cells in association with perturbations in NF- κ B and Bim. *Br J Haematol.* 2011;153:222-235.
929. Havas AP, Rodrigues KB, Bhakta A, Demirjian JA, Hahn S, Tran J, Scavello M, Tula-Sanchez AA, Zeng Y, Schmelz M, Smith CL. Belinostat and vincristine demonstrate mutually synergistic cytotoxicity associated with mitotic arrest and inhibition of polyploidy in a preclinical model of aggressive diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Biol Ther.* 2016;17:1240-1252.
930. Paoluzzi L, Scotto L, Marchi E, Zain J, Seshan VE, O'Connor OA. Romidepsin and belinostat synergize the antineoplastic effect of bortezomib in mantle cell lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2010;16:554-565.
931. Revill P, Mealy N, Serradell N, Bolos J, Rosa E. Panobinostat. *Drugs Fut.* 2007;32:315-322.

932. Tzogani K, van Hennik P, Walsh I, De Graeff P, Folin A, Sjöberg J, Salmonson T, Bergh J, Laane E, Ludwig H, Gisselbrecht C, Pignatti F. EMA review of panobinostat (Farydak) for the treatment of adult patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma. *Oncologist*. 2018;23:631-636.
933. Moore D. Panobinostat (Farydak): A novel option for the treatment of relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma. *P T*. 2016;41:296-300.
934. Raedler LA. Farydak (panobinostat): First HDAC inhibitor approved for patients with relapsed multiple myeloma. *Am Health Drug Benefits*. 2016;9(Spec Feature):84-87.
935. Matossian MD, Burks HE, Elliott S, Hoang VT, Bowles AC, Sabol RA, Bunnell BA, Martin EC, Burow ME, Collins-Burow BM. Panobinostat suppresses the mesenchymal phenotype in a novel claudin-low triple negative patient-derived breast cancer model. *Oncoscience*. 2018;5:99-108.
936. Tate CR, Rhodes LV, Segar HC, Driver JL, Pounder FN, Burow ME, Collins-Burow BM. Targeting triple-negative breast cancer cells with the histone deacetylase inhibitor panobinostat. *Breast Cancer Res*. 2012;14:R79.
937. Rhodes LV, Tate CR, Segar HC, Burks HE, Phamduy TB, Hoang V, Elliott S, Gilliam D, Pounder FN, Anbalagan M, Chrisey DB, Rowan BG, Burow ME, Collins-Burow BM. Suppression of triple-negative breast cancer metastasis by pan-DAC inhibitor panobinostat via inhibition of ZEB family of EMT master regulators. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;145:593-604.
938. Fortunati N, Marano F, Bandino A, Frairia R, Catalano MG, Boccuzzi G. The pan-histone deacetylase inhibitor LBH589 (panobinostat) alters the invasive breast cancer cell phenotype. *Int J Oncol*. 2014;44:700-708.

939. Rao R, Nalluri S, Kolhe R, Yang Y, Fiskus W, Chen J, Ha K, Buckley KM, Balusu R, Coothankandaswamy V, Joshi A, Atadja P, Bhalla KN. Treatment with panobinostat induces glucose-regulated protein 78 acetylation and endoplasmic reticulum stress in breast cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2010;9:942-952.
940. Kubo M, Kanaya N, Petrossian K, Ye J, Warden C, Liu Z, Nishimura R, Osako T, Okido M, Shimada K, Takahashi M, Chu P, Yuan YC, Chen S. Inhibition of the proliferation of acquired aromatase inhibitor-resistant breast cancer cells by histone deacetylase inhibitor LBH589 (panobinostat). *Breast Cancer Res Treat.* 2013;137:93-107.
941. Garrett LA, Growdon WB, Rueda BR, Foster R. Influence of a novel histone deacetylase inhibitor panobinostat (LBH589) on the growth of ovarian cancer. *J Ovarian Res.* 2016;9:58.
942. Lin CL, Tsai ML, Lin CY, Hsu KW, Hsieh WS, Chi WM, Huang LC, Lee CH. HDAC1 and HDAC2 double knockout triggers cell apoptosis in advanced thyroid cancer. *Int J Mol Sci.* 2019;20:E454.
943. Crisanti MC, Wallace AF, Kapoor V, Vandermeers F, Dowling ML, Pereira LP, Coleman K, Campling BG, Fridlender ZG, Kao GD, Albelda SM. The HDAC inhibitor panobinostat (LBH589) inhibits mesothelioma and lung cancer cells in vitro and in vivo with particular efficacy for small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther.* 2009;8:2221-2231.
944. Tan WW, Allred JB, Moreno-Aspitia A, Northfelt DW, Ingle JN, Goetz MP, Perez EA. Phase I study of panobinostat (LBH589) and letrozole in postmenopausal metastatic breast cancer patients. *Clin Breast Cancer.* 2016;16:82-86.

945. Ma YY, Lin H, Moh JS, Chen KD, Wang IW, Ou YC, You YS, Lung CC. Low-dose LBH589 increases the sensitivity of cisplatin to cisplatin-resistant ovarian cancer cells. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2011;50:165-171.
946. Chao H, Wang L, Hao J, Ni J, Chang L, Graham PH, Kearsley JH, Li Y. Low dose histone deacetylase inhibitor, LBH589, potentiates anticancer effect of docetaxel in epithelial ovarian cancer via PI3K/Akt pathway in vitro. *Cancer Lett.* 2013;329:17-26.
947. Budman DR, Tai J, Calabro A, John V. The histone deacetylase inhibitor panobinostat demonstrates marked synergy with conventional chemotherapeutic agents in human ovarian cancer cell lines. *Invest New Drugs.* 2011;29:1224-1229.
948. Ando H, Miyamoto T, Kashima H, Higuchi S, Ida K, Mvunta DH, Shiozawa T. Panobinostat enhances growth suppressive effects of progestin on endometrial carcinoma by increasing progesterone receptor and mitogen-inducible gene-6. *Horm Cancer.* 2017;8:257-267.
949. Chan D, Zheng Y, Tyner JW, Chng WJ, Chien WW, Gery S, Leong G, Braunstein GD, Koeffler HP. Belinostat and panobinostat (HDACI): In vitro and in vivo studies in thyroid cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2013;139:1507-1514.
950. Zang H, Qian G, Zong D, Fan S, Owonikoko TK, Ramalingam SS, Sun SY. Overcoming acquired resistance of epidermal growth factor receptor-mutant non-small cell lung cancer cells to osimertinib by combining osimertinib with the histone deacetylase inhibitor panobinostat (LBH589). *Cancer.* 2020;126:2024-2033.
951. Lachenmayer A, Toffanin S, Cabellos L, Alsinet C, Hoshida Y, Villanueva A, Minguéz B, Tsai HW, Ward SC, Thung S, Friedman SL, Llovet JM. Combination

- therapy for hepatocellular carcinoma: Additive preclinical efficacy of the HDAC inhibitor panobinostat with sorafenib. *J Hepatol.* 2012;56:1343-1350.
952. Fiskus W, Buckley K, Rao R, Mandawat A, Yang Y, Joshi R, Wang Y, Balusu R, Chen J, Koul S, Joshi A, Upadhyay S, Atadja P, Bhalla KN. Panobinostat treatment depletes EZH2 and DNMT1 levels and enhances decitabine mediated de-repression of JunB and loss of survival of human acute leukemia cells. *Cancer Biol Ther.* 2009;8:939-950.
953. Fiskus W, Sharma S, Shah B, Portier BP, Devaraj SG, Liu K, Iyer SP, Bearss D, Bhalla KN. Highly effective combination of LSD1 (KDM1A) antagonist and pan-histone deacetylase inhibitor against human AML cells. *Leukemia.* 2014;28:2155-2164.
954. Wieduwilt MJ, Pawlowska N, Thomas S, Olin R, Logan AC, Damon LE, Martin T, Kang M, Sayre PH, Boyer W, Gaensler KML, Anderson K, Munster PN, Andreadis C. Histone deacetylase inhibition with panobinostat combined with intensive induction chemotherapy in older patients with acute myeloid leukemia: Phase I study results. *Clin Cancer Res.* 2019;25:4917-4923.
955. Mondello P, Brea EJ, De Stanchina E, Toska E, Chang AY, Fennell M, Seshan V, Garippa R, Scheinberg DA, Baselga J, Wendel HG, Younes A. Panobinostat acts synergistically with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma cells with MyD88 L265P mutations. *JCI Insight.* 2017;2:E90196.
956. Hu B, Younes A, Westin JR, Turturro F, Claret L, Feng L, Fowler N, Neelapu S, Romaguera J, Hagemester FB, Rodriguez MA, Samaniego F, Fayad LE, Copeland AR, Nastoupil LJ, Nieto Y, Fanale MA, Oki Y. Phase-I and randomized phase-II trial of panobinostat in combination with ICE (ifosfamide, carboplatin,

- etoposide) in relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2018;59:863-870.
957. Marks PA, Xu WS. Histone deacetylase inhibitors: Potential in cancer therapy. *J Cell Biochem*. 2009;107:600-608.
958. Lynch DR Jr, Washam JB, Newby LK. QT interval prolongation and torsades de pointes in a patient undergoing treatment with vorinostat: A case report and review of the literature. *Cardiol J*. 2012;19:434-438.
959. Rivers ZT, Oostra DR, Westholder JS, Vercellotti GM. Romidepsin-associated cardiac toxicity and ECG changes: A case report and review of the literature. *J Oncol Pharm Pract*. 2018;24:56-62.
960. Allen PB, Lechowicz MJ. Hematologic toxicity is rare in relapsed patients treated with belinostat: A systematic review of belinostat toxicity and safety in peripheral T-cell lymphomas. *Cancer Manag Res*. 2018;10:6731-6742.
961. Shi Y, Dong M, Hong X, Zhang W, Feng J, Zhu J, Yu L, Ke X, Huang H, Shen Z, Fan Y, Li W, Zhao X, Qi J, Huang H, Zhou D, Ning Z, Lu X. Results from a multicenter, open-label, pivotal phase II study of chidamide in relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol*. 2015;26:1766-1771.
962. San-Miguel JF, Hungria VT, Yoon SS, Beksac M, Dimopoulos MA, Elghandour A, Jedrzejczak WW, Günther A, Nakorn TN, Siritanaratkul N, Corradini P, Chuncharunee S, Lee JJ, Schlossman RL, Shelekhova T, Yong K, Tan D, Numbenjapon T, Cavenagh JD, Hou J, LeBlanc R, Nahi H, Qiu L, Salwender H, Pulini S, Moreau P, Warzocha K, White D, Bladé J, Chen W, de la Rubia J, Gimsing P, Lonial S, Kaufman JL, Ocio EM, Veskovski L, Sohn SK, Wang MC, Lee JH, Einsele H, Sopala M, Corrado C, Bengoudifa BR, Binlich F, Richardson PG. Panobinostat plus bortezomib and dexamethasone versus placebo plus bortezomib

- and dexamethasone in patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma: A multicentre, randomised, double-blind phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15:1195-1206.
963. Miller TA, Witter DJ, Belvedere S. Histone deacetylase inhibitors. *J Med Chem.* 2003;46:5097-5116.
964. Zhang L, Zhang J, Jiang Q, Zhang L, Song W. Zinc binding groups for histone deacetylase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2018;33:714-721.
965. Kretsovali A, Hadjimichael C, Charmpilas N. Histone deacetylase inhibitors in cell pluripotency, differentiation, and reprogramming. *Stem Cells Int.* 2012;2012:184154.
966. Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: From mechanism to therapy. *Cell.* 2012;150:12-27.
967. Richon VM, Sandhoff TW, Rifkind RA, Marks PA. Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:10014-10019.
968. Rocchi P, Tonelli R, Camerin C, Purgato S, Fronza R, Bianucci F, Guerra F, Pession A, Ferreri AM. p21Waf1/Cip1 is a common target induced by short-chain fatty acid HDAC inhibitors (valproic acid, tributyrin and sodium butyrate) in neuroblastoma cells. *Oncol Rep.* 2005;13:1139-1144.
969. Mizuguchi Y, Specht S, Lunz JG 3rd, Isse K, Corbitt N, Takizawa T, Demetris AJ. SPRR2A enhances p53 deacetylation through HDAC1 and down regulates p21 promoter activity. *BMC Mol Biol.* 2012;13:20.
970. Suzuki T, Yokozaki H, Kuniyasu H, Hayashi K, Naka K, Ono S, Ishikawa T, Tahara E, Yasui W Effect of trichostatin A on cell growth and expression of cell

- cycle- and apoptosis-related molecules in human gastric and oral carcinoma cell lines. *Int J Cancer*. 2000;88:992-997.
971. Sachweh MC, Drummond CJ, Higgins M, Campbell J, Lain S. Incompatible effects of p53 and HDAC inhibition on p21 expression and cell cycle progression. *Cell Death Dis*. 2013;4:E533.
972. Kang KA, Piao MJ, Kim KC, Zheng J, Yao CW, Cha JW, Kim HS, Kim DH, Bae SC, Hyun JW. Compound K, a metabolite of ginseng saponin, inhibits colorectal cancer cell growth and induces apoptosis through inhibition of histone deacetylase activity. *Int J Oncol*. 2013;43:1907-1914.
973. Vidal A, Koff A. Cell-cycle inhibitors: Three families united by a common cause. *Gene*. 2000;247:1-15.
974. Marks PA, Dokmanovic M. Histone deacetylase inhibitors: Discovery and development as anticancer agents. *Expert Opin Investig Drugs*. 2005;14:1497-1511.
975. Zhang J, Zhong Q. Histone deacetylase inhibitors and cell death. *Cell Mol Life Sci*. 2014;71:3885-3901.
976. Miller CP, Singh MM, Rivera-Del Valle N, Manton CA, Chandra J. Therapeutic strategies to enhance the anticancer efficacy of histone deacetylase inhibitors. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:514261.
977. Zhang B, Liu B, Chen D, Setroikromo R, Haisma HJ, Quax WJ. Histone deacetylase inhibitors sensitize TRAIL-induced apoptosis in colon cancer cells. *Cancers (Basel)*. 2019;11:E645.
978. Fulda S. Modulation of TRAIL-induced apoptosis by HDAC inhibitors. *Curr Cancer Drug Targets* 2008;8:132-140.

979. VanOosten RL, Moore JM, Karacay B, Griffith TS. Histone deacetylase inhibitors modulate renal cell carcinoma sensitivity to TRAIL/Apo-2L-induced apoptosis by enhancing TRAIL-R2 expression. *Cancer Biol Ther.* 2005;4:1104-1112.
980. Sprick MR, Weigand MA, Rieser E, Rauch CT, Juo P, Blenis J, Krammer PH, Walczak H. FADD/MORT1 and caspase-8 are recruited to TRAIL receptors 1 and 2 and are essential for apoptosis mediated by TRAIL receptor 2. *Immunity.* 2000;12:599-609.
981. Ungerstedt JS. Epigenetic modifiers in myeloid malignancies: The role of histone deacetylase inhibitors. *Int J Mol Sci.* 2018;19:E3091.
982. Nebbioso A, Clarke N, Voltz E, Germain E, Ambrosino C, Bontempo P, Alvarez R, Schiavone EM, Ferrara F, Bresciani F, Weisz A, de Lera AR, Gronemeyer H, Altucci L. Tumor-selective action of HDAC inhibitors involves TRAIL induction in acute myeloid leukemia cells. *Nat Med.* 2005;11:77-84.
983. Zhou M, Li Y, Hu Q, Bai XC, Huang W, Yan C, Scheres SH, Shi Y. Atomic structure of the apoptosome: Mechanism of cytochrome c- and dATP-mediated activation of Apaf-1. *Genes Dev.* 2015;29:2349-2361.
984. Allan LA, Clarke PR. Apoptosis and autophagy: Regulation of caspase-9 by phosphorylation. *FEBS J.* 2009;276:6063-6073.
985. Adrain C, Creagh EM, Martin SJ. Apoptosis-associated release of Smac/DIABLO from mitochondria requires active caspases and is blocked by Bcl-2. *EMBO J.* 2001;20:6627-6636.
986. Rathore R, McCallum JE, Varghese E, Florea AM, Büsselberg D. Overcoming chemotherapy drug resistance by targeting inhibitors of apoptosis proteins (IAPs). *Apoptosis.* 2017;22:898-919.

987. Leibowitz B, Yu J. Mitochondrial signaling in cell death via the Bcl-2 family. *Cancer Biol Ther.* 2010;9:417-422.
988. Adams JM, Suzanne Cory S. The Bcl-2-regulated apoptosis switch: Mechanism and therapeutic potential *Curr Opin Immunol.* 2007;19:488-496.
989. Matthews GM, Newbold A, Johnstone RW. Intrinsic and extrinsic apoptotic pathway signaling as determinants of histone deacetylase inhibitor antitumor activity. *Adv Cancer Res.* 2012;116:165-197.
990. Fandy TE, Shankar S, Ross DD, Sausville E, Srivastava RK. Interactive effects of HDAC inhibitors and TRAIL on apoptosis are associated with changes in mitochondrial functions and expressions of cell cycle regulatory genes in multiple myeloma. *Neoplasia.* 2005;7:646-657.
991. Inoue S, Riley J, Gant TW, Dyer MJ, Cohen GM. Apoptosis induced by histone deacetylase inhibitors in leukemic cells is mediated by Bim and Noxa. *Leukemia.* 2007;21:1773-1782.
992. Akkoç Y, Berrak Ö, Arısan ED, Obakan P, Çoker-Gürkan A, Palavan-Ünsal N. Inhibition of PI3K signaling triggered apoptotic potential of curcumin which is hindered by Bcl-2 through activation of autophagy in MCF-7 cells. *Biomed Pharmacother.* 2015;71:161-171.
993. Khosravi-Far R, Esposti MD. Death receptor signals to mitochondria. *Cancer Biol Ther.* 2004;3:1051-1057.
994. Rosato RR, Almenara JA, Dai Y, Grant S. Simultaneous activation of the intrinsic and extrinsic pathways by histone deacetylase (HDAC) inhibitors and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) synergistically induces mitochondrial damage and apoptosis in human leukemia cells. *Mol Cancer Ther.* 2003;2:1273-1284.

995. Cregan SP, Fortin A, MacLaurin JG, Callaghan SM, Cecconi F, Yu SW, Dawson TM, Dawson VL, Park DS, Kroemer G, Slack RS. Apoptosis-inducing factor is involved in the regulation of caspase-independent neuronal cell death. *J Cell Biol.* 2002;158:507-517.
996. Watanabe M, Adachi S, Matsubara H, Imai T, Yui Y, Mizushima Y, Hiraumi Y, Watanabe K, Kamitsuji Y, Toyokuni SY, Hosoi H, Sugimoto T, Toguchida J, Nakahata T. Induction of autophagy in malignant rhabdoid tumor cells by the histone deacetylase inhibitor FK228 through AIF translocation. *Int J Cancer.* 2009;124:55-67.
997. Bánréti A, Sass M, Graba Y. The emerging role of acetylation in the regulation of autophagy. *Autophagy.* 2013;9:819-829.
998. Shulak L, Beljanski V, Chiang C, Dutta SM, Van Grevenynghe J, Belgnaoui SM, Nguyễn TL, Di Lenardo T, Semmes OJ, Lin R, Hiscott J. Histone deacetylase inhibitors potentiate vesicular stomatitis virus oncolysis in prostate cancer cells by modulating NF- κ B-dependent autophagy. *J Virol.* 2014;88:2927-2940.
999. Dai Y, Rahmani M, Dent P, Grant S. Blockade of histone deacetylase inhibitor-induced RelA/p65 acetylation and NF-kappaB activation potentiates apoptosis in leukemia cells through a process mediated by oxidative damage, XIAP downregulation, and c-Jun N-terminal kinase 1 activation. *Mol Cell Biol.* 2005;25:5429-5444.
1000. Rivera-Reyes A, Ye S, E Marino G, Egolf S, E Ciotti G, Chor S, Liu Y, Posimo JM, Park PMC, Pak K, Babichev Y, Sostre-Colón J, Tameire F, Leli NM, Koumenis C, C Brady D, Mancuso A, Weber K, Gladdy R, Qi J, Eisinger-Mathason TSK. YAP1 enhances NF- κ B-dependent and independent effects on clock-mediated

- unfolded protein responses and autophagy in sarcoma. *Cell Death Dis.* 2018;9:1108.
1001. Gammoh N, Marks PA, Jiang X. Curbing autophagy and histone deacetylases to kill cancer cells. *Autophagy.* 2012;8:1521-1522.
1002. Gammoh N, Lam D, Puente C, Ganley I, Marks PA, Jiang X. Role of autophagy in histone deacetylase inhibitor-induced apoptotic and nonapoptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109:6561-6565.
1003. Hui KF, Yeung PL, Chiang AK. Induction of MAPK- and ROS-dependent autophagy and apoptosis in gastric carcinoma by combination of romidepsin and bortezomib. *Oncotarget.* 2016;7:4454-4467.
1004. Chiu CF, Chin HK, Huang WJ, Bai LY, Huang HY, Weng JR. Induction of apoptosis and autophagy in breast cancer cells by a novel HDAC8 inhibitor. *Biomolecules.* 2019;9:E824.
1005. Jing B, Jin J, Xiang R, Liu M, Yang L, Tong Y, Xiao X, Lei H, Liu W, Xu H, Deng J, Zhou L, Wu Y. Vorinostat and quinacrine have synergistic effects in T-cell acute lymphoblastic leukemia through reactive oxygen species increase and mitophagy inhibition. *Cell Death Dis.* 2018;9:589.
1006. Brest P, Lassalle S, Hofman V, Bordone O, Gavric Tanga V, Bonnetaud C, Moreilhon C, Rios G, Santini J, Barbry P, Svanborg C, Mograbi B, Mari B, Hofman P. MiR-129-5p is required for histone deacetylase inhibitor-induced cell death in thyroid cancer cells. *Endocr Relat Cancer.* 2011;18:711-719.
1007. Hsieh TH, Hsu CY, Tsai CF, Long CY, Wu CH, Wu DC, Lee JN, Chang WC, Tsai EM. HDAC inhibitors target HDAC5, upregulate microRNA-125a-5p, and induce apoptosis in breast cancer cells. *Mol Ther.* 2015;23:656-666.

1008. Cho JH, Dimri M, Dimri GP. MicroRNA-31 is a transcriptional target of histone deacetylase inhibitors and a regulator of cellular senescence. *J Biol Chem.* 2015;290:10555-10567.
1009. Wen C, Xie YK, Chen YJ. Effect of miR-34a-targeted regulation of HDAC1 on apoptosis of AML cells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2019;27:790-795.
1010. Yang H, Lan P, Hou Z, Guan Y, Zhang J, Xu W, Tian Z, Zhang C. Histone deacetylase inhibitor SAHA epigenetically regulates miR-17-92 cluster and MCM7 to upregulate MICA expression in hepatoma. *Br J Cancer.* 2015;112:112-121.
1011. Ferreira AC, Robaina MC, Rezende LM, Severino P, Klumb CE. Histone deacetylase inhibitor prevents cell growth in Burkitt's lymphoma by regulating PI3K/Akt pathways and leads to upregulation of miR-143, miR-145, and miR-101. *Ann Hematol.* 2014;93:983-993.
1012. Mims A, Walker AR, Huang X, Sun J, Wang H, Santhanam R, Dorrance AM, Walker C, Hoellerbauer P, Tarighat SS, Chan KK, Klisovic RB, Perrotti D, Caligiuri MA, Byrd JC, Chen CS, James Lee L, Jacob S, Mrózek K, Bloomfield CD, Blum W, Garzon R, Schwind S, Marcucci G. Increased anti-leukemic activity of decitabine via AR-42-induced upregulation of miR-29b: A novel epigenetic-targeting approach in acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 2013;27:871-878.
1013. Mekala JR, Naushad SM, Ponnusamy L, Arivazhagan G, Sakthiprasad V, Pal-Bhadra M. Epigenetic regulation of miR-200 as the potential strategy for the therapy against triple-negative breast cancer. *Gene.* 2018;641:248-258.
1014. Bian X, Liang Z, Feng A, Salgado E, Shim H. HDAC inhibitor suppresses proliferation and invasion of breast cancer cells through regulation of miR-200c targeting CRKL. *Biochem Pharmacol.* 2018;147:30-37.

1015. Huang Y, Zheng Y, Jia L, Li W. Long noncoding RNA H19 promotes osteoblast differentiation via TGF- β 1/Smad3/HDAC signaling pathway by deriving miR-675. *Stem Cells*. 2015;33:3481-3492.
1016. Isozaki Y, Hoshino I, Nohata N, Kinoshita T, Akutsu Y, Hanari N, Mori M, Yoneyama Y, Akanuma N, Takeshita N, Maruyama T, Seki N, Nishino N, Yoshida M, Matsubara H. Identification of novel molecular targets regulated by tumor suppressive miR-375 induced by histone acetylation in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2012;41:985-994.
1017. Adams CM, Eischen CM. Histone deacetylase inhibition reveals a tumor-suppressive function of MYC-regulated miRNA in breast and lung carcinoma. *Cell Death Differ*. 2016;23:1312-1321.
1018. Dykes IM, Emanuelli C. Transcriptional and post-transcriptional gene regulation by long non-coding RNA. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2017;15:177-186.
1019. Wang J, Cui M, Sun F, Zhou K, Fan B, Qiu JH, Chen FQ. HDAC inhibitor sodium butyrate prevents allergic rhinitis and alters lncRNA and mRNA expression profiles in the nasal mucosa of mice. *Int J Mol Med*. 2020;45:1150-1162.
1020. Asghari V, Wang JF, Reiach JS, Young LT Differential effects of mood stabilizers on Fos/Jun proteins and AP-1 DNA binding activity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Brain Res Mol Brain Res*. 1998;58:95-102.
1021. Cieslik K, Abrams CS, Wu KK. Up-regulation of endothelial nitric-oxide synthase promoter by the phosphatidylinositol 3-kinase gamma /Janus kinase 2/MEK-1-dependent pathway. *J Biol Chem*. 2001;276:1211-1219.
1022. Barter MJ, Pybus L, Litherland GJ, Rowan AD, Clark IM, Edwards DR, Cawston TE, Young DA. HDAC-mediated control of ERK- and PI3K-dependent

- TGF- β -induced extracellular matrix-regulating genes. *Matrix Biol.* 2010;29:602-612.
1023. Ozaki K, Kosugi M, Baba N, Fujio K, Sakamoto T, Kimura S, Tanimura S, Kohno M. Blockade of the ERK or PI3K-Akt signaling pathway enhances the cytotoxicity of histone deacetylase inhibitors in tumor cells resistant to gefitinib or imatinib. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;391:1610-1615.
1024. Ozaki K, Minoda A, Kishikawa F, Kohno M. Blockade of the ERK pathway markedly sensitizes tumor cells to HDAC inhibitor-induced cell death. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339:1171-1177.
1025. Blaheta RA, Cinatl J Jr. Anti-tumor mechanisms of valproate: A novel role for an old drug. *Med Res Rev.* 2002;22:492-511.
1026. Taciak B, Pruszyńska I, Kiraga L, Bialasek M, Krol M. Wnt signaling pathway in development and cancer. *J Physiol Pharmacol.* 2018;69:185-196.
1027. Alao JP, Stavropoulou AV, Lam EW, Coombes RC. Role of glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3beta) in mediating the cytotoxic effects of the histone deacetylase inhibitor trichostatin A (TSA) in MCF-7 breast cancer cells. *Mol Cancer.* 2006;5:40.
1028. Tang Y, Zhao W, Chen Y, Zhao Y, Gu W. Acetylation is indispensable for p53 activation. *Cell.* 2008;133:612-626.
1029. Krämer OH, Zhu P, Ostendorff HP, Golebiewski M, Tiefenbach J, Peters MA, Brill B, Groner B, Bach I, Heinzl T, Göttlicher M. The histone deacetylase inhibitor valproic acid selectively induces proteasomal degradation of HDAC2. *EMBO J.* 2003;22:3411-3420.

1030. Qian DZ, Kato Y, Shabbeer S, Wei Y, Verheul HM, Salumbides B, Sanni T, Atadja P, Pili R. Targeting tumor angiogenesis with histone deacetylase inhibitors: The hydroxamic acid derivative LBH589. *Clin Cancer Res.* 2006;12:634-642.
1031. Ellis L, Hammers H, Pili R. Targeting tumor angiogenesis with histone deacetylase inhibitors. *Cancer Lett.* 2009;280:145-153.
1032. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature.* 1999;399:601-605.
1033. Michell BJ, Griffiths JE, Mitchelhill KI, Rodriguez-Crespo I, Tiganis T, Bozinovski S, de Montellano PR, Kemp BE, Pearson RB. The Akt kinase signals directly to endothelial nitric oxide synthase. *Curr Biol.* 1999;9:845-848.
1034. Rössig L, Li H, Fisslthaler B, Urbich C, Fleming I, Förstermann U, Zeiher AM, Dimmeler S. Inhibitors of histone deacetylation downregulate the expression of endothelial nitric oxide synthase and compromise endothelial cell function in vasorelaxation and angiogenesis. *Circ Res.* 2002;91:837-844.
1035. Hutt DM, Roth DM, Vignaud H, Cullin C, Bouche-careilh M. The histone deacetylase inhibitor, Vorinostat, represses hypoxia inducible factor 1 alpha expression through translational inhibition. *PLoS One.* 2014;9:E106224.
1036. Chen S, Sang N. Histone deacetylase inhibitors: The epigenetic therapeutics that repress hypoxia-inducible factors. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:197946.
1037. Kuljaca S, Liu T, Tee AE, Haber M, Norris MD, Dwarte T, Marshall GM. Enhancing the anti-angiogenic action of histone deacetylase inhibitors. *Mol Cancer.* 2007;6:68.

1038. Chelluri R, Caza T, Woodford MR, Reeder JE, Bratslavsky G, Byler T. Valproic acid alters angiogenic and trophic gene expression in human prostate cancer models. *Anticancer Res.* 2016;36:5079-5086. 37
1039. Jin G, Bausch D, Knightly T, Liu Z, Li Y, Liu B, Lu J, Chong W, Velmahos GC, Alam HB. Histone deacetylase inhibitors enhance endothelial cell sprouting angiogenesis in vitro. *Surgery.* 2011;150:429-435. 38
1040. Ma X, Ezzeldin HH, Diasio RB. Histone deacetylase inhibitors: Current status and overview of recent clinical trials. *Drugs.* 2009;69:1911-1934.
1041. Woan KV, Sahakian E, Sotomayor EM, Seto E, Villagra A. Modulation of antigen-presenting cells by HDAC inhibitors: Implications in autoimmunity and cancer. *Immunol Cell Biol.* 2012;90:55-65. 39
1042. Hull EE, Montgomery MR, Leyva KJ. HDAC inhibitors as epigenetic regulators of the immune system: Impacts on cancer therapy and inflammatory diseases. *Biomed Res Int.* 2016;2016:8797206. 40
1043. Ugurel S, Spassova I, Wohlfarth J, Drusio C, Cherouny A, Melior A, Sucker A, Zimmer L, Ritter C, Schadendorf D, Becker JC. MHC class-I downregulation in PD-1/PD-L1 inhibitor refractory Merkel cell carcinoma and its potential reversal by histone deacetylase inhibition: A case series. *Cancer Immunol Immunother.* 2019;68:983-990.
1044. Bae J, Hideshima T, Tai YT, Song Y, Richardson P, Raje N, Munshi NC, Anderson KC. Histone deacetylase (HDAC) inhibitor ACY241 enhances anti-tumor activities of antigen-specific central memory cytotoxic T lymphocytes against multiple myeloma and solid tumors. *Leukemia.* 2018;32:1932-1947.
1045. Akimova T, Beier UH, Liu Y, Wang L, Hancock WW. Histone/protein deacetylases and T-cell immune responses. *Blood.* 2012;119:2443-2451.

1046. Sun T, Li Y, Yang W, Wu H, Li X, Huang Y, Zhou Y, Du Z. Histone deacetylase inhibition up-regulates MHC class I to facilitate cytotoxic T lymphocyte-mediated tumor cell killing in glioma cells. *J Cancer*. 2019;10:5638-5645.
1047. Sodre Laino A, Woods DM, Cheng F, Wang H, Sotomayor EM. Histone deacetylase 6 (HDAC6) influences T-cell activation and survival: Implications for cancer immunotherapy. *Blood*. 2013;122:1050.
1048. Kroesen M, Gielen P, Brok IC, Armandari I, Hoogerbrugge PM, Adema GJ. HDAC inhibitors and immunotherapy; A double edged sword? *Oncotarget*. 2014;5:6558-6572.
1049. Sun G, Fu C, Shen C, Shi Y. Histone deacetylases in neural stem cells and induced pluripotent stem cells. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:835968.
1050. Shabason J, Dowling ML, Maquilan G, Malkowicz SB, Geiger GA, Kao GD. HDAC Inhibitors as a novel approach to modulate the cancer stem cell phenotype. *Ratnat Oncol*. 2008;72 Suppl:S29-30.
1051. Hooven LA, Mahadevan B, Keshava C, Johns C, Pereira C, Desai D, Amin S, Weston A, Baird WM. Effects of suberoylanilide hydroxamic acid and trichostatin A on induction of cytochrome P450 enzymes and benzo[a]pyrene DNA adduct formation in human cells. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005;15:1283-1287.
1052. Zapletal O, Tylichová Z, Neča J, Kohoutek J, Machala M, Milcová A, Pokorná M, Topinka J, Moyer MP, Hofmanová J, Kozubík A, Vondráček J. Butyrate alters expression of cytochrome P450 1A1 and metabolism of benzo[a]pyrene via its histone deacetylase activity in colon epithelial cell models. *Arch Toxicol*. 2017;91:2135-2150.

1053. Bose P, Dai Y, Grant S Histone deacetylase inhibitor (HDACI) mechanisms of action: Emerging insights. *Pharmacol Ther.* 2014;143:323-336.
1054. Sacco JJ, Kenyani J, Butt Z, Carter R, Chew HY, Cheeseman LP, Darling S, Denny M, Urbé S, Clague MJ, Coulson JM. Loss of the deubiquitylase BAP1 alters class I histone deacetylase expression and sensitivity of mesothelioma cells to HDAC inhibitors. *Oncotarget.* 2015;6:13757-13771.
1055. Alao JP, Lam EW, Ali S, Buluwela L, Bordogna W, Lockey P, Varshochi R, Stavropoulou AV, Coombes RC, Vigushin DM. Histone deacetylase inhibitor trichostatin A represses estrogen receptor alpha-dependent transcription and promotes proteasomal degradation of cyclin D1 in human breast carcinoma cell lines. *Clin Cancer Res.* 2004;10:8094-8104.
1056. Wang X, Chen S, Shen T, Lu H, Xiao D, Zhao M, Yao Y, Li X, Zhang G, Zhou X, Jiang X, Cheng Z. Trichostatin A reverses epithelial-mesenchymal transition and attenuates invasion and migration in MCF-7 breast cancer cells. *Exp Ther Med.* 2020;19:1687-1694.
1057. Rhodes LV, Nitschke AM, Segar HC, Martin EC, Driver JL, Elliott S, Nam SY, Li M, Nephew KP, Burow ME, Collins-Burow BM. The histone deacetylase inhibitor trichostatin A alters microRNA expression profiles in apoptosis-resistant breast cancer cells. *Oncol Rep.* 2012;27:10-16.
1058. Jang ER, Lim SJ, Lee ES, Jeong G, Kim TY, Bang YJ, Lee JS. The histone deacetylase inhibitor trichostatin A sensitizes estrogen receptor alpha-negative breast cancer cells to tamoxifen. *Oncogene.* 2004;23:1724-1736.
1059. Fan J, Yin WJ, Lu JS, Wang L, Wu J, Wu FY, Di GH, Shen ZZ, Shao ZM. ER alpha negative breast cancer cells restore response to endocrine therapy by

- combination treatment with both HDAC inhibitor and DNMT inhibitor. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008;134:883-890.
1060. Li Y, Meeran SM, Patel SN, Chen H, Hardy TM, Tollefsbol TO. Epigenetic reactivation of estrogen receptor- α (ER α) by genistein enhances hormonal therapy sensitivity in ER α -negative breast cancer. *Mol Cancer*. 2013;12:9.
1061. Chen L, Jin T, Zhu K, Piao Y, Quan T, Quan C, Lin Z. PI3K/mTOR dual inhibitor BEZ235 and histone deacetylase inhibitor Trichostatin A synergistically exert anti-tumor activity in breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8:11937-11949.
1062. Song X, Wu JQ, Yu XF, Yang XS, Yang Y. Trichostatin A inhibits proliferation of triple negative breast cancer cells by inducing cell cycle arrest and apoptosis. *Neoplasma*. 2018;65:898-906.
1063. Chatterjee N, Wang WL, Conklin T, Chittur S, Tenniswood M. Histone deacetylase inhibitors modulate miRNA and mRNA expression, block metaphase, and induce apoptosis in inflammatory breast cancer cells. *Cancer Biol Ther*. 2013;14:658-671.
1064. Robertson FM, Woodward WA, Pickei R, Ye Z, Bornmann W, Pal A, Peng Z, Hall CS, Cristofanilli M. Suberoylanilide hydroxamic acid blocks self-renewal and homotypic aggregation of inflammatory breast cancer spheroids. *Cancer*. 2010;116 Suppl 11:2760-2767.
1065. Park JH, Ahn MY, Kim TH, Yoon S, Kang KW, Lee J, Moon HR, Jung JH, Chung HY, Kim HS. A new synthetic HDAC inhibitor, MHY218, induces apoptosis or autophagy-related cell death in tamoxifen-resistant MCF-7 breast cancer cells. *Invest New Drugs*. 2012;30:1887-1898.

1066. Lee YJ, Won AJ, Lee J, Jung JH, Yoon S, Lee BM, Kim HS. Molecular mechanism of SAHA on regulation of autophagic cell death in tamoxifen-resistant MCF-7 breast cancer cells. *Int J Med Sci.* 2012;9:881-893.
1067. Luu TH, Morgan RJ, Leong L, Lim D, McNamara M, Portnow J, Frankel P, Smith DD, Doroshow JH, Wong C, Aparicio A, Gandara DR, Somlo G. A phase II trial of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in metastatic breast cancer: A California Cancer Consortium study. *Clin Cancer Res.* 2008;14:7138-7142.
1068. Baschnagel A, Russo A, Burgan WE, Carter D, Beam K, Palmieri D, Steeg PS, Tofilon P, Camphausen K. Vorinostat enhances the radiosensitivity of a breast cancer brain metastatic cell line grown in vitro and as intracranial xenografts. *Mol Cancer Ther.* 2009;8:1589-1595.
1069. Palmieri D, Lockman PR, Thomas FC, Hua E, Herring J, Hargrave E, Johnson M, Flores N, Qian Y, Vega-Valle E, Taskar KS, Rudraraju V, Mittapalli RK, Gaasch JA, Bohn KA, Thorsheim HR, Liewehr DJ, Davis S, Reilly JF, Walker R, Bronder JL, Feigenbaum L, Steinberg SM, Camphausen K, Meltzer PS, Richon VM, Smith QR, Steeg PS. Vorinostat inhibits brain metastatic colonization in a model of triple-negative breast cancer and induces DNA double-strand breaks. *Clin Cancer Res.* 2009;15:6148-6157.
1070. Chiu HW, Yeh YL, Wang YC, Huang WJ, Chen YA, Chiou YS, Ho SY, Lin P, Wang YJ. Suberoylanilide hydroxamic acid, an inhibitor of histone deacetylase, enhances radiosensitivity and suppresses lung metastasis in breast cancer in vitro and in vivo. *PLoS One.* 2013;8:E76340.
1071. Bali P, Pranpat M, Swaby R, Fiskus W, Yamaguchi H, Balasis M, Rocha K, Wang HG, Richon V, Bhalla K. Activity of suberoylanilide hydroxamic acid

- against human breast cancer cells with amplification of her-2. *Clin Cancer Res.* 2005;11:6382-6389.
1072. Marchion DC, Bicaku E, Daud AI, Richon V, Sullivan DM, Munster PN. Sequence-specific potentiation of topoisomerase II inhibitors by the histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid. *J Cell Biochem.* 2004;92:223-237.
1073. Laengle J, Kabiljo J, Hunter L, Homola J, Prodinger S, Egger G, Bergmann M. Histone deacetylase inhibitors valproic acid and vorinostat enhance trastuzumab-mediated antibody-dependent cell-mediated phagocytosis. *J Immunother Cancer.* 2020;8:E000195.
1074. Gameiro SR, Malamas AS, Tsang KY, Ferrone S, Hodge JW. Inhibitors of histone deacetylase 1 reverse the immune evasion phenotype to enhance T-cell mediated lysis of prostate and breast carcinoma cells. *Oncotarget.* 2016;7:7390-7402.
1075. Terranova-Barberio M, Thomas S, Ali N, Pawlowska N, Park J, Krings G, Rosenblum MD, Budillon A, Munster PN. HDAC inhibition potentiates immunotherapy in triple negative breast cancer. *Oncotarget.* 2017;8:114156-114172.
1076. Natarajan U, Samuel S, Vijayaraghavan R, Rathinavelu A. Treatment effects of vorinostat and letrozole combination on breast cancer cell survival and peripheral blood mononuclear cell differentiation. *FASEB J.* 2017;31 Suppl 1:161.
1077. Zhou Q, Atadja P, Davidson NE. Histone deacetylase inhibitor LBH589 reactivates silenced estrogen receptor alpha (ER) gene expression without loss of DNA hypermethylation. *Cancer Biol Ther.* 2007;6:64-69.

1078. Chen S, Ye J, Kijima I, Evans D. The HDAC inhibitor LBH589 (panobinostat) is an inhibitory modulator of aromatase gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:11032-11037.
1079. Medon M, Vidacs E, Vervoort SJ, Li J, Jenkins MR, Ramsbottom KM, Trapani JA, Smyth MJ, Darcy PK, Atadja PW, Henderson MA, Johnstone RW, Haynes NM. HDAC inhibitor panobinostat engages host innate immune defenses to promote the tumoricidal effects of trastuzumab in HER2+ tumors. *Cancer Res*. 2017;77:2594-2606.
1080. Hsu KW, Huang CY, Tam KW, Lin CY, Huang LC, Lin CL, Hsieh WS, Chi WM, Chang YJ, Wei PL, Chen ST, Lee CH. The application of non-invasive apoptosis detection sensor (NIADS) on histone deacetylation inhibitor (HDACi)-induced breast cancer cell death. *Int J Mol Sci*. 2018;19:452.
1081. Androutsopoulos VP, Spandidos DA. Antiproliferative effects of TSA, PXD-101 and MS-275 in A2780 and MCF7 cells: Acetylated histone H4 and acetylated tubulin as markers for HDACi potency and selectivity. *Oncol Rep*. 2017;38:3412-3418.
1082. Marijon H, Lee DH, Ding L, et al. Co-targeting poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) and histone deacetylase (HDAC) in triple-negative breast cancer: Higher synergism in BRCA mutated cells. *Biomed Pharmacother*. 2018;99:543-551.
1083. Luu T, Frankel P, Beumer JH, Lim D, Cristea M, Appleman LJ, Lenz HJ, Gandara DR, Kiesel BF, Piekarz RL, Newman EM. Phase I trial of belinostat in combination with 13-cis-retinoic acid in advanced solid tumor malignancies: A California Cancer Consortium NCI/CTEP sponsored trial. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2019;84:1201-1208.

1084. Fortunati N, Bertino S, Costantino L, Bosco O, Vercellinatto I, Catalano MG, Boccuzzi G. Valproic acid is a selective antiproliferative agent in estrogen-sensitive breast cancer cells. *Cancer Lett.* 2008;259:156-164.
1085. Travaglini L, Vian L, Billi M, Grignani F, Nervi C. Epigenetic reprogramming of breast cancer cells by valproic acid occurs regardless of estrogen receptor status. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41:225-234.
1086. Hao Y, Wang G, Lin C, Li D, Ji Z, Gao F, Li Z, Liu D, Wang D. Valproic acid induces decreased expression of H19 promoting cell apoptosis in A549 Cells. *DNA Cell Biol.* 2017;36:428-435.
1087. Tian Y, Liu G, Wang H, Tian Z, Cai Z, Zhang F, Luo Y, Wang S, Guo G, Wang X, Powell S, Feng Z. Valproic acid sensitizes breast cancer cells to hydroxyurea through inhibiting RPA2 hyperphosphorylation-mediated DNA repair pathway. *DNA Repair (Amst).* 2017;58:1-12.
1088. Mongan NP, Gudas LJ. Valproic acid, in combination with all-trans retinoic acid and 5-aza-2'-deoxycytidine, restores expression of silenced RARbeta2 in breast cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2005;4:477-486.
1089. Muñoz AM, Fragoso-Vázquez MJ, Martel BP, Chávez-Blanco A, Dueñas-González A, García-Sánchez JR, Bello M, Romero-Castro A, Correa-Basurto J. Targeting breast cancer cells with G4 PAMAM dendrimers and valproic acid derivative complexes. *Anticancer Agents Med Chem.* 2020 [Epub ahead of print].
1090. Laengle J, Kabiljo J, Hunter L, Homola J, Prodinger S, Egger G, Bergmann M. Histone deacetylase inhibitors valproic acid and vorinostat enhance trastuzumab-mediated antibody-dependent cell-mediated phagocytosis. *J Immunother Cancer.* 2020;8:E000195.

1091. Luo Y, Wang H, Zhao X, et al. Valproic acid causes radiosensitivity of breast cancer cells via disrupting the DNA repair pathway. *Toxicol Res (Camb)*. 2016;5:859-870.
1092. Choudhary S, Rathore K, Wang HC. FK228 and oncogenic H-Ras synergistically induce Mek1/2 and Nox-1 to generate reactive oxygen species for differential cell death. *Anticancer Drugs*. 2010;21:831-840.
1093. Choi DS and Chang JC. Chloroquine and romidepsin: Combination therapy for treatment of breast cancer metastases. *Cancer Res*. 2015;75 Suppl:4129.
1094. Shah P, Gau Y, Sabnis G. Histone deacetylase inhibitor entinostat reverses epithelial to mesenchymal transition of breast cancer cells by reversing the repression of E-cadherin. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;143:99-111.
1095. Merino VF, Nguyen N, Jin K, Sadik H, Cho S, Korangath P, Han L, Foster YMN, Zhou XC, Zhang Z, Connolly RM, Stearns V, Ali SZ, Adams C, Chen Q, Pan D, Huso DL, Ordentlich P, Brodie A, Sukumar S. Combined treatment with epigenetic, differentiating, and chemotherapeutic agents cooperatively targets tumor-initiating cells in triple-negative breast cancer. *Cancer Res*. 2016;76:2013-2024.
1096. Schech AJ, Shah P, Yu S, Sabnis GJ, Goloubeva O, Rosenblatt P, Kazi A, Chumsri S, Brodie A. Histone deacetylase inhibitor entinostat in combination with a retinoid downregulates HER2 and reduces the tumor initiating cell population in aromatase inhibitor-resistant breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2015;152:499-508.
1097. Lee KW, Kim JH, Park JH, Kim HP, Song SH, Kim SG, Kim TY, Jong HS, Jung KH, Im SA, Kim TY, Kim NK, Bang YJ. Antitumor activity of SK-7041, a

- novel histone deacetylase inhibitor, in human lung and breast cancer cells. *Anticancer Res.* 2006;26:3429-3438.
1098. Witt AE, Lee CW, Lee TI, Azzam DJ, Wang B, Caslini C, Petrocca F, Grosso J, Jones M, Cohick EB, Gropper AB, Wahlestedt C, Richardson AL, Shiekhattar R, Young RA, Ince TA. Identification of a cancer stem cell-specific function for the histone deacetylases, HDAC1 and HDAC7, in breast and ovarian cancer. Version 2. *Oncogene.* 2017;36:1707-1720.
1099. Borbely G, Haldosen LA, Dahlman-Wright K, Zhao C. Induction of USP17 by combining BET and HDAC inhibitors in breast cancer cells. *Oncotarget.* 2015;6:33623-33635.
1100. Yang X, Zhang N, Shi Z, Yang Z, Hu X. Histone deacetylase inhibitor suberoyl bis-hydroxamic acid suppresses cell proliferation and induces apoptosis in breast cancer cells. *Mol Med Rep.* 2015;11:2908-2912.
1101. Chiu HW, Yeh YL, Wang YC, Huang WJ, Ho SY, Lin P and Wang YJ: Combination of the novel histone deacetylase inhibitor YCW1 and radiation induces autophagic cell death through the downregulation of BNIP3 in triple-negative breast cancer cells in vitro and in an orthotopic mouse model. *Mol Cancer.* 2016;15:46.
1102. Prestegui-Martel B, Bermúdez-Lugo JA, Chávez-Blanco A, Dueñas-González A, García-Sánchez JR, Pérez-González OA, Padilla-Martínez II, Fragoso-Vázquez MJ, Mendieta-Wejebe JE, Correa-Basurto AM, Méndez-Luna D, Trujillo-Ferrara J, Correa-Basurto J. N-(2-hydroxyphenyl)-2-propylpentanamide, a valproic acid aryl derivative designed in silico with improved anti-proliferative activity in HeLa, rhabdomyosarcoma and breast cancer cells. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2016;31 Suppl 3:140-149.

1103. Keen JC, Yan L, Mack KM, Pettit C, Smith D, Sharma D, Davidson NE. A novel histone deacetylase inhibitor, scriptaid, enhances expression of functional estrogen receptor alpha (ER) in ER negative human breast cancer cells in combination with 5-aza 2'-deoxycytidine. *Breast Cancer Res Treat.* 2003;81:177-186.
1104. White C, Alshaker H, Cooper C, Winkler M, Pchejetski D. The emerging role of FTY720 (Fingolimod) in cancer treatment. *Oncotarget.* 2016;7:23106-23127.
1105. Azuma H, Takahara S, Ichimaru N, Wang JD, Itoh Y, Otsuki Y, Morimoto J, Fukui R, Hoshiga M, Ishihara T, Nonomura N, Suzuki S, Okuyama A, Katsuoka Y. Marked prevention of tumor growth and metastasis by a novel immunosuppressive agent, FTY720, in mouse breast cancer models. *Cancer Res.* 2002;62:1410-1419.
1106. Atmaca H, Özkan AN, Zora M. Novel ferrocenyl pyrazoles inhibit breast cancer cell viability via induction of apoptosis and inhibition of PI3K/Akt and ERK1/2 signaling. *Chem Biol Interact.* 2017;263:28-35.
1107. Gromek SM, deMayo JA, Maxwell AT, West AM, Pavlik CM, Zhao Z, Li J, Wiemer AJ, Zweifach A, Balunas MJ. Synthesis and biological evaluation of santacruzamate A analogues for anti-proliferative and immunomodulatory activity. *Bioorg Med Chem.* 2016;24:5183-5196.
1108. Zheng XX, Zhou T, Wang XA, Tong XH, Ding JW. Histone deacetylases and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2015;240:355-366.
1109. Sharma S, Taliyan R. Histone deacetylase inhibitors: Future therapeutics for insulin resistance and type 2 diabetes. *Pharmacol Res.* 2016;113:320-326.
1110. Fuller NO, Pirone A, Lynch BA, Hewitt MC, Quinton MS, McKee TD, Ivarsson M. CoREST complex-selective histone deacetylase inhibitors show prosynaptic

- effects and an improved safety profile to enable treatment of synaptopathies. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10:1729-1743.
1111. Marini F, Cianferotti L, Brandi ML. Epigenetic mechanisms in bone biology and osteoporosis: Can they drive therapeutic choices? *Int J Mol Sci*. 2016;17:1329.
1112. Dinarello CA, Fossati G, Mascagni P. Histone deacetylase inhibitors for treating a spectrum of diseases not related to cancer. *Mol Med*. 2011;17:333-352.
1113. Fantin VR, Richon VM. Mechanisms of resistance to histone deacetylase inhibitors and their therapeutic implications. *Clin Cancer Res*. 2007;13:7237-7242.
1114. Kim SN, Kim NH, Lee W, Seo DW, Kim YK. Histone deacetylase inhibitor induction of P-glycoprotein transcription requires both histone deacetylase 1 dissociation and recruitment of CAAT/enhancer binding protein beta and pCAF to the promoter region. *Mol Cancer Res*. 2009;7:735-744.
1115. Nonn L, Berggren M, Powis G. Increased expression of mitochondrial peroxiredoxin-3 (thioredoxin peroxidase-2) protects cancer cells against hypoxia and drug-induced hydrogen peroxide-dependent apoptosis. *Mol Cancer Res*. 2003;1:682-689.
1116. Parmigiani RB, Xu WS, Venta-Perez G, Erdjument-Bromage H, Yaneva M, Tempst P, Marks PA. HDAC6 is a specific deacetylase of peroxiredoxins and is involved in redox regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:9633-9868.
1117. Kartal-Yandim M, Adan-Gokbulut A, Baran Y. Molecular mechanisms of drug resistance and its reversal in cancer. *Crit Rev Biotechnol*. 2016;36:716-726.
1118. Lazarova D, Bordonaro M. ZEB1 Mediates drug resistance and EMT in p300-Deficient CRC. *J Cancer*. 2017;8:1453-1459.
1119. Dannenberg JH, Berns A. Drugging drug resistance. *Cell*. 2010;141:18-20.

1120. Lee JH, Choy ML, Marks PA. Mechanisms of resistance to histone deacetylase inhibitors. *Adv Cancer Res.* 2012;116:39-86.
1121. Stimson L, La Thangue NB. Biomarkers for predicting clinical responses to HDAC inhibitors. *Cancer Lett.* 2009;280:177-183.
1122. Ashktorab H, Belgrave K, Hosseinkhah F, Brim H, Nouraie M, Takkikto M, Hewitt S, Lee EL, Dashwood RH, Smoot D. Global histone H4 acetylation and HDAC2 expression in colon adenoma and carcinoma. *Dig Dis Sci.* 2009;54:2109-2117.
1123. de Bono JS, Kristeleit R, Tolcher A, Fong P, Pacey S, Karavasilis V, Mita M, Shaw H, Workman P, Kaye S, Rowinsky EK, Aherne W, Atadja P, Scott JW, Patnaik A. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of LAQ824, a hydroxamate histone deacetylase inhibitor with a heat shock protein-90 inhibitory profile, in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2008;14:6663-6673.
1124. Dejligbjerg M, Grauslund M, Christensen IJ, Tjørnelund J, Buhl Jensen P, Sehested M. Identification of predictive biomarkers for the histone deacetylase inhibitor belinostat in a panel of human cancer cell lines. *Cancer Biomark.* 2008;4:101-109.
1125. Khan O, Fotheringham S, Wood V, Stimson L, Zhang C, Pezzella F, Duvic M, Kerr DJ, La Thangue NB. HR23B is a biomarker for tumor sensitivity to HDAC inhibitor-based therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:6532-6537.
1126. Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: Biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:253-295.
1127. Villalba JM, Alcaín FJ. Sirtuin activators and inhibitors. *Biofactors.* 2012;38:349-359.

1128. Kuo SJ, Lin HY, Chien SY, Chen DR. SIRT1 suppresses breast cancer growth through downregulation of the Bcl-2 protein. *Oncol Rep.* 2013;30:125-130.
1129. Ota H, Tokunaga E, Chang K, Hikasa M, Iijima K, Eto M, Kozaki K, Akishita M, Ouchi Y, Kaneki M. Sirt1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene.* 2006;25:176-185.
1130. Wang J, Kim TH, Ahn MY, Lee J, Jung JH, Choi WS, Lee BM, Yoon KS, Yoon S, Kim HS. Sirtinol, a class III HDAC inhibitor, induces apoptotic and autophagic cell death in MCF-7 human breast cancer cells. *Int J Oncol.* 2012;41:1101-1109.
1131. Borges S, Döppler HR, Storz P. A combination treatment with DNA methyltransferase inhibitors and suramin decreases invasiveness of breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;144:79-91.
1132. Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1964;51:786-794.
1133. Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature.* 1997;389:349-352.
1134. Trapp J, Jung M. The role of NAD⁺ dependent histone deacetylases (sirtuins) in ageing. *Curr Drug Targets.* 2006;7:1553-1560.
1135. Olzscha H, Sheikh S, La Thangue NB. Deacetylation of chromatin and gene expression regulation: A new target for epigenetic therapy. *Crit Rev Oncog.* 2015;20:1-17.
1136. Glozak MA, Seto E. Histone deacetylases and cancer. *Oncogene.* 2007;26:5420-5432.

1137. Barbarotta L, Hurley K. Romidepsin for the treatment of peripheral T-Cell lymphoma. *J Adv Pract Oncol*. 2015;6:22-36.
1138. Libby EN, Becker PS, Burwick N, Green DJ, Holmberg L, Bensinger WI. Panobinostat: A review of trial results and future prospects in multiple myeloma. *Expert Rev Hematol*. 2015;8:9-18.
1139. Carlsson M, Hamrin E. Psychological and psychosocial aspects of breast cancer and breast cancer treatment. A literature review. *Cancer Nurs*. 1994;17:418-428.
1140. Chambers MS, Rugo HS, Litton JK, Meiller TF. Stomatitis associated with mammalian target of rapamycin inhibition: A review of pathogenesis, prevention, treatment, and clinical implications for oral practice in metastatic breast cancer. *JADA*. 2018;149:291-298.
1141. Ariana M, Arabi N, Pornour M, Vaseghi H, Ganji SM, Alivand MR, Salari M, Akbari ME. The diversity in the expression profile of caveolin II transcripts, considering its new transcript in breast cancer. *J Cell Biochem*. 2018;119:2168-2178.
1142. Rich JN, Bao S. Chemotherapy and cancer stem cells. *Cell Stem Cell*. 2007;1:353-355.
1143. Halkidou K, Gaughan L, Cook S. Upregulation and nuclear recruitment of HDAC1 in hormone refractory prostate cancer. *Prostate*. 2004;59:177-189.
1144. Fritzsche FR, Weichert W, Röske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K, Scholman K, Denkert C, Dietel M, Kristiansen G. Class I histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in renal cell cancer. *BMC Cancer*. 2008;8:381.
1145. Marquard L, Gjerdrum LM, Christensen IJ. Prognostic significance of the therapeutic targets histone deacetylase 1, 2, 6 and acetylated histone H4 in cutaneous T-cell lymphoma. *Histopathology*. 2008;53:267-77.

1146. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on cancer: The 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol.* 2010;17:1471-1474.
1147. Derr RS, van Hoesel AQ, Benard A, Goossens-Beumer IJ, Sajet A, Dekker-Ensink NG, de Kruijf EM, Bastiaannet E, Smit VT, van de Velde CJ, Kuppen PJ. High nuclear expression levels of histone-modifying enzymes LSD1, HDAC2 and SIRT1 in tumor cells correlate with decreased survival and increased relapse in breast cancer patients. *BMC Cancer.* 2014;14:604.
1148. Seo J, Min SK, Park HR, Kim DH, Kwon MJ, Kim LS, Ju YS. Expression of histone deacetylases HDAC1, HDAC2, HDAC3, and HDAC6 in invasive ductal carcinomas of the breast. *J Breast Cancer.* 2014;17:323-331.
1149. Muller BM, Jana L, Kasajima A, Lehmann A, Prinzler J, Budczies J, Winzer KJ, Dietel M, Weichert W, Denkert C. Differential expression of histone deacetylases HDAC1, 2 and 3 in human breast cancer - overexpression of HDAC2 and HDAC3 is associated with clinicopathological indicators of disease progression. *BMC Cancer.* 2013;13:215.
1150. Zhao H, Yu Z, Zhao L, He M, Ren J, Wu H, Chen Q, Yao W, Wei M. HDAC2 overexpression is a poor prognostic factor of breast cancer patients with increased multidrug resistance-associated protein expression who received anthracyclines therapy. *Jpn J Clin Oncol.* 2016;46:893-902.
1151. Yang X, Phillips DL, Ferguson AT, Nelson WG, Herman JG, Davidson NE. Synergistic activation of functional estrogen receptor (ER)- α by DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibition in human ER- α -negative breast cancer cells. *Cancer Res.* 2001;61:7025-7029.

1152. Munster PN, Thurn KT, Thomas S, Raha P, Lacevic M, Miller A, Melisko M, Ismail- Khan R, Rugo H, Moasser M, Minton SE. A phase II study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat combined with tamoxifen for the treatment of patients with hormone therapy-resistant breast cancer. *Br J Cancer*. 2011;104:1828-1835.
1153. Bayat S, Mansoori Derakhshan S, Mansoori Derakhshan N, Shekari Khaniani M, Alivand MR. Downregulation of HDAC2 and HDAC3 via oleuropein as a potent prevention and therapeutic agent in MCF-7 breast cancer cells. *J Cell Biochem*. 2019;120:9172-9180.

ΑΠΟΡΡΕΟΥΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Histone deacetylases as new therapeutic targets in triple negative breast cancer: Progress and promises.

Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Kalampokas E, Kalampokas T, Spartalis E, Daskalopoulou A, Valsami S, Kontos M, Nonni A, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Dimitroulis D.

Cancer Genomics Proteomics. 2017;14;299-313.

Περίληψη:

Triple-negative breast cancer (TNBC) lacks expression of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and HER2 gene. It comprises approximately 15-20% of breast cancers (BCs). Unfortunately, TNBC's treatment continues to be a clinical problem because of its relatively poor prognosis, its aggressiveness and the lack of targeted therapies, leaving chemotherapy as the mainstay of treatment. It is essential to find new therapies against TNBC, in order to surpass the resistance and the invasiveness of already existing therapies. Given the fact that epigenetic processes control both the initiation and progression of TNBC, there is an increasing interest in the mechanisms, molecules and signaling pathways that participate at the epigenetic modulation of genes expressed in carcinogenesis. The acetylation of histone proteins provokes the transcription of genes involved in cell growth, and the expression of histone deacetylases (HDACs) is frequently up-regulated in many malignancies. Unfortunately, in the field of BC, HDAC inhibitors have shown limited effect as single agents. Nevertheless, their use in combination with kinase inhibitors, autophagy inhibitors, ionizing radiation, or two HDAC inhibitors together is currently being evaluated. HDAC inhibitors such as suberoylanilidehydroxamic acid (SAHA), sodium butyrate, mocetinostat,

panobinostat, entinostat, YCW1 and N-(2-hydroxyphenyl)-2-propylpentanamide have shown promising therapeutic outcomes against TNBC, especially when they are used in combination with other anticancer agents. More studies concerning HDAC inhibitors in breast carcinomas along with a more accurate understanding of the TNBC's pathobiology are required for the possible identification of new therapeutic strategies.

Impact Factor: 3,147

Citations: 27

Molecular classification and future therapeutic challenges of triple negative breast cancer.

Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Nikolettos K, Dimitroulis D, Diamantis E, Farmaki P, Patsouras A, Voutyritsa E, Syllaios A, Zografos CG, Antoniou EA, Nikolettos N, Kostakis A, Kontzoglou K, Schizas D, Nonni A.

In Vivo. (Αποδεκτή προς δημοσίευση).

Περίληψη:

Triple-negative breast cancer (TNBC) is an extremely diverse group of breast tumors, with aggressive clinical behavior, higher rates of distant recurrence and worse overall survival compared to other types of breast cancers. The genetic, transcriptional histological and clinical heterogeneity of this disease has been an obstacle in the progression of targeted therapeutic approaches, as a ubiquitous TNBC marker has not yet been discerned. In terms of that, current studies focus on the classification of TNBC tumors in subgroups with similar characteristics in order to develop a treatment specialized for each group of patients. To date, a series of gene expression profiles analysis in order to identify the different molecular subtypes have been used. Complementary DNA microarrays, PAM50 assays, DNA and RNA sequencing as well as immunohistochemical analysis are some of the methods utilized to classify TNBC tumors. In 2012, the Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network conducted a major analysis of breast cancers using six different platforms, the genomic DNA copy number arrays, DNA methylation, exome sequencing, messenger RNA arrays, microRNA sequencing and reverse-phase protein arrays, in order to assort the tumors in homogenous subgroups. Since

then, an increasing number of breast cancer data sets are being examined in an attempt to distinguish the classification with biological interpretation and clinical implementation. In this review, the progress in molecular subtyping of TNBC is discussed, providing a brief insight in novel TNBC biomarkers and therapeutic strategies.

I.F.: 1,609

**Clinical significance of the histone deacetylase 2 (HDAC-2) expression in
human breast cancer.**

**Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Kontzoglou K, Dimitroulis D, Nikolettos K,
Patsouras A, Zografos CG, Syllaios A, Perrea D, Nonni A.**
Eur Rev Med Pharmacol Sci. (Αποδεκτή προς δημοσίευση).

Περίληψη:

Objective: There is strong association between malignancy and histone deacetylases (HDAC). Histone deacetylase inhibitors (HDACI) are now tested as antitumor agents in various clinical trials. We aim to assess the clinical importance of HDAC-2 in breast cancer (BC).

Materials and Methods: 118 BC specimens were examined immunohistochemically. A statistical analysis was conducted in order to examine the relation between HDAC-2 and clinicopathological features and survival of the patients.

Results: Higher HDAC-2 expression was related to lobular histological type of cancer, grade III and stage III. In addition, the disease-free and overall survival were shorter and negatively related to the over-expression of HDAC-2 respectively. Other factors correlated with worse survival were histological types different to ductal or lobular and stage of the disease.

Conclusions: This study showed a relationship between HDAC-2 and BC. Further studies are required in order to potentiate the role of HDACI as anticancer agents.

I.F.: 2,721 / C: -

Πέραν των ανωτέρω δημοσιεύσεων σε ξενόγλωσσα περιοδικά που εμφανίζονται στη βάση του PubMed, τα αποτελέσματα της παρούσης Διδακτορικής Έρευνας έχουν παρουσιασθεί σε πλήθος Διεθνών και Πανελληνίων συνεδρίων τα οποία αναφέρονται παρακάτω:

- 1. Histone deacetylase inhibitors: A novel targeted therapy against triple negative breast cancer.** Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Kontzoglou K. 3rd International conference on Women Health and Breast Cancer, France; Nice, Μάιος 30-31/2019.
- 2. Histone deacetylase 2 (HDAC-2) expression in human breast cancer and its association with clinicopathological factors and patient's survival.** Kontzoglou K, Damaskos C, **Garmpis N**, Garmpi A. Global Conference on Surgery and Anaesthesia; Dubai; UAE; Οκτώβριος 21-23/2019.
- 3. Δράση των αναστολέων των απακετυλασών των ιστονών στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού.** Δαμάσκος Χ, **Γαρμπής Ν**, Γαρμπή Α, Κόντζογλου Κ. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ογκολογίας, Αθήνα, Οκτώβριος 31-Νοέμβριος 3/2019.
- 4. Κλινική σημασία της έκφρασης της HDAC-2 στον καρκίνο του μαστού.** **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Νόννη Α, Μαντάς Δ, Περρέα Δ, Κόντζογλου Κ. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας Μαστού, Αθήνα, Νοέμβριος 1-3/2019.
- 5. Στοχευμένες θεραπείες για τον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού: Ερευνητικά δεδομένα και μελλοντικές προοπτικές.** **Γαρμπής Ν**, Δαμάσκος Χ, Γαρμπή Α, Νικολλέτος Κ, Βαβουράκης Μ, Κόντζογλου Κ, Μαντάς Δ. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας Μαστού, Αθήνα, Νοέμβριος 1-3/2019.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΕΡΕΥΝΑΣ

Εισαγωγή

Η ακετυλίωση των συζευγμένων με το DNA ιστονών αποτελεί σημαντικό μηχανισμό ρύθμισης της επιγενετικής μεταγραφής [1, 2]. Η ακετυλίωση της ιστόνης ρυθμίζεται από δύο ομάδες ενζύμων με μεταξύ τους αντίθετες δράσεις. Η μία ομάδα είναι οι ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (Histone Acetyltransferases, HAT), οι οποίες μεταφέρουν την ακετυλο-ομάδα από το ακετυλο-συνένζυμο Α σε ειδικά υπολείμματα της λυσίνης των ιστονών. Η άλλη ομάδα είναι αυτή των αποακετυλασών των ιστονών (Histone Deacetylases, HDAC), που καταλύουν την αφαίρεση των προαναφερθέντων ακετυλο-ομάδων ώστε να επανακτήσουν οι ιστόνες το θετικό τους φορτίο [2, 3]. Έως σήμερα έχουν αναγνωρισθεί 18 είδη HDAC στον άνθρωπο και κατηγοριοποιούνται σε τρεις ομάδες ανάλογα με την συγγένεια τους με τον μύκητα *S. Cerevisiae*. Μεταξύ αυτών, η ομάδα I των HDAC έχει κύριους εκπρόσωπους τις HDAC-1,-2,-3 και -8, συγγενείς του μύκητα Rpd3, στους οποίους ο καταλυτικός επίτοπος αποτελεί το μεγαλύτερο τμήμα της πρωτεΐνης και η ομάδα II αποτελείται από τις HDAC-4,-5,-6,-7,-9 και -10 [1-3]. Αμφότερες οι ομάδες των HAT και των HDAC θεωρούνται σημαντικοί ρυθμιστές του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της κυτταρικής διαφοροποίησης και της απόπτωσης σε διάφορες κακοήθειες, αιματολογικές και άλλες παθήσεις [4, 5].

Η τυχαία αποακετυλίωση των ιστονών από αυξημένη δραστηριότητα των HDAC σε ανθρώπινους όγκους έχει αποδειχθεί πως οδηγεί σε δομικές αλλαγές των νουκλεοσωμάτων, που με την σειρά τους οδηγούν στην καταπίεση της μεταγραφής γονιδίων που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση και την αρνητική ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της κυτταρικής μετανάστευσης και της μετάστασης. Είναι σημαντικό πως πολλοί εκπρόσωποι των αναστολέων των HDAC (HDACi) προωθούν την αναστολή της ανάπτυξης του κυτταρικού κύκλου στα φυσιολογικά και

στα μεταλλαγμένα κύτταρα και ενεργοποιούν την εσωτερική και την εξωτερική οδό της απόπτωσης [6, 7]. Τα δεδομένα από αμφότερες *in vitro* και *in vivo* έρευνες και τις τρέχουσες κλινικές μελέτες, πρόσφατα αποκάλυψαν πως οι HDACI μπορούν να χρησιμοποιηθούν ενάντια τόσο σε διάφορους συμπαγείς όγκους όσο και σε κακοήθεις αιματολογικές νόσους, αποτελώντας έτσι μια πολλά υποσχόμενη ομάδα αντικαρκινικών ουσιών [8-13].

Ο καρκίνος του μαστού είναι ο συχνότερα εμφανιζόμενος καρκίνος στο γυναικείο πληθυσμό των αναπτυγμένων χωρών στο δυτικό κόσμο [14] και μάλιστα είναι περίπου 100 φορές πιο συχνός στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες. Ετησίως, εμφανίζονται περίπου 1.500.000 νεοδιαγνωσθείσες περιπτώσεις παγκοσμίως. Σε γενικές γραμμές, ο καρκίνος του μαστού ευθύνεται για το ένα πέμπτο των περιπτώσεων καρκίνου στις γυναίκες [15-17]. Η αιτιολογία του παραμένει άγνωστη, αλλά έχουν εντοπισθεί αρκετοί προδιαθεσικοί παράγοντες της νόσου όπως η πρόωμη εμμηναρχή, η καθυστερημένη εμμηνόπαυση, η ατεκνία, το θετικό οικογενειακό ιστορικό και όσον αφορά τον κληρονομικό καρκίνο του μαστού, η εντόπιση γονιδιακών μεταλλάξεων BRCA1, BRCA2, p53, CHEK2 και PTEN/MMAC1 [18-21].

Ιδιαίτερα όσον αφορά το BRCA1, έχουν παρατηρηθεί τα εξής: Ο μηχανισμός επιδιόρθωσης του DNA στις θέσεις που έχουν υποστεί βλάβη απαιτεί την αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης BRCA1 με ειδικές πρωτεΐνες - ένζυμα που επιφέρουν αλλαγή στη διαμόρφωση της χρωματίνης. Μεταξύ αυτών είναι οι HDAC. Επιπλέον, η πρωτεΐνη BRCA1 συμμετέχει στο σύμπλοκο των HDAC καταδεικνύοντας τη συμμετοχή της στον έλεγχο της μεταγραφής [22]. Τα ανωτέρω δεδομένα καταδεικνύουν ότι οι αναστολείς των HDAC αντιπροσωπεύουν υποσχόμενες θεραπευτικές ουσίες την ώρα που κρίνεται αναγκαία η εξεύρεση νέων θεραπευτικών στρατηγικών για τον καρκίνο του μαστού.

Τα τελευταία έτη, έχει αποδειχθεί η υπερ-έκφραση των HDAC σε πολλές κακοήθεις ανθρώπινες παθήσεις οργάνων όπως η γλώσσα, ο πνεύμονας, ο στόμαχος, το κόλον, το ορθό, ο μαστός, οι ωοθήκες, το ενδομήτριο, το πάγκρεας, ο προστάτης, ο εγκέφαλος, ο θυρεοειδής και οι νεφροί, όπως επίσης και σε κακοήθειες του αίματος. Αξίζει να σημειωθεί πως η πλειοψηφία των παραπάνω μελετών αναφέρουν η έκφραση των HDAC συνδέεται άμεσα με τη διαφοροποίηση του όγκου, τον αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την κυτταρική εισβολή, το στάδιο της πάθησης και την πρόγνωση του ασθενή [23-38]. Δυστυχώς, τα έως τώρα δημοσιευμένα στοιχεία για την ανοσο-ιστολογική έκφραση των HDAC στο μαστό δεν είναι επαρκή.

Σκοπός

Ως συνέχεια των παραπάνω δεδομένων, η παρούσα μελέτη στοχεύει να αξιολογήσει ανοσο-ιστολογικά την έκφραση των HDAC σε δείγματα ιστού από ασθενείς με καρκίνο μαστού. Επίσης στοχεύει στην αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ της έκφρασης των HDAC και διαφόρων κλινικο-παθολογικών χαρακτηριστικών όπως για παράδειγμα ο ιστολογικός τύπος καρκίνου, και της δυνατότητας κυτταρικού πολλαπλασιασμού του όγκου.

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Morales V, Giamarchi C, Chailleux C, Moro F, Marsaud V, Le Ricousse S, Richard-Foy H. Chromatin structure and dynamics: Functional implications. *Biochimie*. 2001;83:1029-1039
2. Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: Causes and therapies. *Nat Rev Cancer*. 2001;1:194-202.

3. Grozinger CM, Schreiber SL. Deacetylase enzymes: Biological functions and the use of small-molecule inhibitors. *Chem Biol.* 2002;9:3-16.
4. Glozak MA, Seto E. Histone deacetylases and cancer. *Oncogene.* 2007;26:5420-32.
5. Tan J, Cang S, Ma Y, Petrillo RL, Liu D. Novel histone deacetylase inhibitors in clinical trials as anti-cancer agents. *J Hematol Oncol.* 2010;3:5.
6. Giaginis C, Damaskos C, Koutsounas I, Zizi-Serbetzoglou A, Tsoukalas N, Patsouris E, Kouraklis G, Theocharis S. Histone deacetylase (HDAC)-1, -2, -4 and -6 expression in human pancreatic adenocarcinoma: Associations with clinicopathological parameters, tumor proliferative capacity and patients' survival. *BMC Gastroenterol.* 2015;15:148.
7. Lane AA, Chabner BA. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *J Clin Oncol.* 2009;27:5459-5468.
8. Khan O, La Thangue NB. HDAC inhibitors in cancer biology: Emerging mechanisms and clinical applications. *Immunol Cell Biol.* 2012;90:85-94.
9. Koutsounas I, Giaginis C, Theocharis S. Histone deacetylase inhibitors and pancreatic cancer: are there any promising clinical trials? *World J Gastroenterol.* 2013;19:1173-1181.
10. Ma X, Ezzeldin HH, Diasio RB. Histone deacetylase inhibitors: Current status and overview of recent clinical trials. *Drugs.* 2009;69:1911-1934.
11. Molife LR, de Bono JS. Belinostat: clinical applications in solid tumors and lymphoma. *Expert Opin Investig Drugs.* 2011;20:1723-1732.
12. Katafygiotis P, Giaginis C, Patsouris E, Theocharis S. Histone deacetylase inhibitors as potential therapeutic agents for the treatment of malignant mesothelioma. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013;13:476-482.

13. Tasoulas J, Giaginis C, Patsouris E, Manolis E, Theocharis S. Histone deacetylase inhibitors in oral squamous cell carcinoma treatment. *Expert Opin Investig Drugs*. 2015;24:69-78.
14. Landis SH, Murray T, Bolden S Wingo PA. Cancer Statistics, 1999. *CA Cancer J Clin*. 1999;49:8-31.
15. Richie RC, Swanson JO. Breast cancer: A review of the literature. *J Insur Med*. 2003;35:85-101.
16. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol*. 2001;2:133-140.
17. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer*. 2001;94:153-156.
18. Ellisen LW, Haber DA. Hereditary breast cancer. *Annu Rev Med*. 1998;49:425-436.
19. Ford D, Easton DF, Peto J. Estimates of the gene frequency of BRCA1 and its contribution to breast and ovarian cancer incidence. *Am J Hum Genet*. 1995;57:1457-1462.
20. Adami HO, Adams G, Boyle P, Ewertz M, Lee NC, Lund E, Miller AB, Olsson H, Steel M, Trichopoulos D, et al. Breast-cancer etiology. Report of a working party for the Nordic Cancer Union. *Int J Cancer Suppl*. 1990;5:22-39.
21. Weber BL, Nathanson KL. Low penetrance genes associated with increased risk for breast cancer. *Eur J Cancer*. 2000;36:1193-1199.
22. Narod SA, Foulkes WD. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nat Rev Cancer*. 2004;4:665-676.

23. Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, Ando Y, Mita K, Hamaguchi M, Hara Y, Kobayashi S, Iwase H. Quantitation of HDAC1 mRNA expression in invasive carcinoma of the breast*. *Breast Cancer Res Treat.* 2005;94:11-16.
24. Fritzsche FR, Weichert W, Röske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K, Scholman K, Denkert C, Dietel M, Kristiansen G. Class I histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in renal cell cancer. *BMC Cancer.* 2008;8:381.
25. Weichert W, Röske A, Niesporek S, Noske A, Buckendahl AC, Dietel M, Gekeler V, Boehm M, Beckers T, Denkert C. Class I histone deacetylase expression has independent prognostic impact in human colorectal cancer: specific role of class I histone deacetylases in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res.* 2008;14:1669-1677.
26. Krusche CA, Wülfing P, Kersting C, Vloet A, Böcker W, Kiesel L, Beier HM, Alfer J. Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2005;90:15-23.
27. Oehme I, Deubzer HE, Wegener D, Pickert D, Linke JP, Hero B, Kopp-Schneider A, Westermann F, Ulrich SM, von Deimling A, Fischer M, Witt O. Histone deacetylase 8 in neuroblastoma tumorigenesis. *Clin Cancer Res.* 2009;15:91-99.
28. Halkidou K, Gaughan L, Cook S, Leung HY, Neal DE, Robson CN. Upregulation and nuclear recruitment of HDAC1 in hormone refractory prostate cancer. *Prostate.* 2004;59:177-189.
29. Theocharis S, Klijanienko J, Giaginis C, Rodriguez J, Jouffroy T, Girod A, Alexandrou P, Sastre-Garau X. Histone deacetylase-1 and -2 expression in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients survival. *J Oral Pathol Med* 2011;40:706-714.

30. Giaginis C, Alexandrou P, Delladetsima I, Giannopoulou I, Patsouris E, Theocharis S. Clinical significance of histone deacetylase (HDAC)-1, HDAC-2, HDAC-4, and HDAC-6 expression in human malignant and benign thyroid lesions. *Tumour Biol.* 2014;35:61-71.
31. Weichert W, Denkert C, Noske A, Darb-Esfahani S, Dietel M, Kalloger SE, Huntsman DG, Köbel M. Expression of class I histone deacetylases indicates poor prognosis in endometrioid subtypes of ovarian and endometrial carcinomas. *Neoplasia.* 2008;10:1021-1027.
32. Weichert W, Röske A, Gekeler V, Beckers T, Ebert MP, Pross M, Dietel M, Denkert C, Röcken C. Association of patterns of class I histone deacetylase expression with patient prognosis in gastric cancer: a retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2008;9:139-148.
33. Wang W, Gao J, Man XH, Li ZS, Gong YF. Significance of DNA methyltransferase-1 and histone deacetylase-1 in pancreatic cancer. *Oncol Rep.* 2009;21:1439-1447.
34. Rikimaru T, Taketomi A, Yamashita Y, Shirabe K, Hamatsu T, Shimada M, Maehara Y. Clinical significance of histone deacetylase 1 expression in patients with hepatocellular carcinoma. *Oncology.* 2007;72:69-74.
35. Sasaki H, Moriyama S, Nakashima Y, Kobayashi Y, Kiriyama M, Fukai I, Yamakawa Y, Fujii Y. Histone deacetylase 1 mRNA expression in lung cancer. *Lung Cancer.* 2004;46:171-178.
36. Marquard L, Gjerdrum LM, Christensen IJ, Jensen PB, Sehested M, Ralfkiaer E. Prognostic significance of the therapeutic targets histone deacetylase 1, 2, 6 and acetylated histone H4 in cutaneous T-cell lymphoma. *Histopathology.* 2008;53:267-277.

37. Damaskos C, Valsami S, Spartalis E, Antoniou EA, Tomos P, Karamaroudis S, Zoumpou T, Pergialiotis V, Stergios K, Michaelides C, Kontzoglou K, Perrea D, Nikiteas N, Dimitroulis D. Histone deacetylase inhibitors: A novel therapeutic weapon against medullary thyroid cancer? *Anticancer Res.* 2016;36:5019-5024.
38. Marquard L, Poulsen CB, Gjerdrum LM, de Nully Brown P, Christensen IJ, Jensen PB, Sehested M, Johansen P, Ralfkiaer E. Histone deacetylase 1, 2, 6 and acetylated histone H4 in B- and T-cell lymphomas. *Histopathology.* 2009;54:688-698.