



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΗΠΕΙΡΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ Ε.Π.
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΣ ΗΠΕΙΡΟΥ

**Επιχειρησιακό Πρόγραμμα
Περιφέρειας Ηπείρου
2014-2020**

Ειδική Υπηρεσία Διαχείρισης Επιχειρησιακού Προγράμματος Περιφέρειας Ηπείρου

Με την συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Έργο : «Βιοπληροφορική Ανάλυση Μεγάλου Όγκου Γενωμικών Δεδομένων Ασθενών με Όγκο Εγκεφάλου και Ανάπτυξη Εξελιγμένων Αλγορίθμων για την Εύρεση Βιοδεικτών και την Πρόβλεψη της Πιθανότητας Κυτταρικών Μεταλλάξεων – ΒΙΟΡΕΔΙΣΤΟΡ»

Αρ. Σύμβασης : ΗΠ1ΑΒ-00128

Παραδοτέο 1.1: «Τρέχουσα τεχνολογία για την ανίχνευση χαρακτηριστικών που σχετίζονται με γενετικές αλλοιώσεις (βιοδείκτες) σε δεδομένα βιολογικής αλληλουχίας»

Ιωάννινα, 31/03/2019



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

ΠΑΚΕΤΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 1

Παραδοτέο 1.1

Τίτλος Παραδοτέου 1.1.: Τρέχουσα τεχνολογία για την ανίχνευση χαρακτηριστικών που σχετίζονται με γενετικές αλλοιώσεις (βιοδείκτες) σε δεδομένα βιολογικής αλληλουχίας

Είδος Παραδοτέου: Έκθεση

Πακέτο εργασίας: Ανασκόπηση της πρόσφατης βιβλιογραφίας

Υπεύθυνος: ΠΙ-ΕΛΚΕ-ΧΗΜΕΙΑΣ-ΕΟΧ

Παράδοση: 31 Μαρτίου 2019

ΛΙΣΤΑ ΑΤΟΜΩΝ ΠΟΥ ΣΥΝΕΙΣΕΦΕΡΑΝ

- ΓΛΑΡΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ-Comitech ΑΕ
- ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ- Comitech ΑΕ
- ΣΑΒΒΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ- Comitech ΑΕ
- ΠΟΜΩΝΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ- Comitech ΑΕ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Περιεχόμενα

Παραδοτέο 1.1: Τρέχουσα τεχνολογία για την ανίχνευση χαρακτηριστικών που σχετίζονται με γενετικές αλλοιώσεις (βιοδείκτες) σε δεδομένα βιολογικής αλληλουχίας.....	4
1.1.1 Εισαγωγή.....	4
1.1.2. Καρκινικοί όγκοι εγκεφάλου – γλιοβλάστωμα.....	6
1.1.3. Περιγραφή του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης και της επίπτωσης στην ανάπτυξη, μετάσταση και αγγειογένεση κυτταρικών σειρών με γλιοβλάστωμα.....	24
1.1.4. Περιγραφή του ρόλου του NAD βιοσυνθετικού μονοπατιού στη χημειοευαισθησία στο γλιοβλάστωμα.....	34
1.1.5. Βιολογικές αλληλουχίες και βιοδείκτες.....	41
1.1.6. Ανασκόπηση τεχνολογιών ανίχνευσης βιοδεικτών σε βιολογικές αλληλουχίες.....	44



Παραδοτέο 1.1: Τρέχουσα τεχνολογία για την ανίχνευση χαρακτηριστικών που σχετίζονται με γενετικές αλλοιώσεις (βιοδείκτες) σε δεδομένα βιολογικής αλληλουχίας

1.1.1 Εισαγωγή

Στο παρόν έργο συνεργαζόμαστε με το Imperial College London και το εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας που μελετά το γλοιοβλάστωμα (GBM, glioblastoma), το οποίο είναι η πιο επιθετική μορφή καρκίνου του εγκεφάλου. Εστιάζουν στη χρήση φαρμάκων που έχουν ήδη δοκιμαστεί κλινικά σε μοντέλα όγκου του εγκεφάλου που έχουν αναπτύξει, για να καθορίσουν αν θα ωφελήσουν τους ασθενείς με γλοιοβλάστωμα. Με τη χρήση RNA-sequencing (εύρεση αλληλουχίας RNA) συλλέγουν τα δεδομένα που απαιτούνται για να κατανοήσουν τις αλλαγές που συμβαίνουν σε γενετικό επίπεδο όταν θανατώνονται τα καρκινικά κύτταρα με συγκεκριμένα φάρμακα. Όλα τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό αλληλουχίας RNA είχαν αριθμό ακεραιότητας RNA υψηλότερο από 8. Η εξαγωγή RNA και η εύρεση της αλληλουχίας πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν και τα ακατέργαστα δεδομένα ακολουθίας FASTQ χαρτογραφήθηκαν χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα TopHat2 (Kim D *et al.* 2013) για τη δημιουργία ευθυγραμμισμένων αρχείων BAM. Αυτά περαιτέρω επεξεργάστηκαν χρησιμοποιώντας το πακέτο HTseq (Anders S *et al.*, 2015) και τέλος το πακέτο DESeq2 (Love IL *et al.*, 2014) για να δώσουν λίστες γονιδίων με σημαντική διαφορική έκφραση μεταξύ των ομάδων θεραπείας. Η ανάλυση του βιολογικού μονοπατιού και της αλληλεπίδρασης των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων των γονιδίων που εκφράζονται σημαντικά διαφορικά ($P < 0,01$) έγινε χρησιμοποιώντας EnrichR (Chen EY *et al.*, 2013, Kuleshov MV *et al.*, 2016), g: Profiler (Reimand J *et al.*, 2016) και Reactome (Croft *et al.*, 2011).

Βασικό αντικείμενο του παρόντος έργου είναι η βιοπληροφορική ανάλυση αυτού του μεγάλου όγκου γενωμικών δεδομένων και των βιολογικών μονοπατιών για την εύρεση γονιδιακών αλλαγών που θα εξηγήσουν τις γενετικές και επιγενετικές αλλαγές που συμβαίνουν κατά τη χορήγηση συγκεκριμένων φαρμάκων σε συγκεκριμένα καρκινικά κυτταρικά μοντέλα γλοιοβλαστώματος. Η πιθανή εύρεση βιοδεικτών θα βοηθήσει στην πρόβλεψη της πιθανότητας κυτταρικών μεταλλάξεων που οδηγούν σε καρκινογένεση. Επίσης, θα διερευνήσουμε τους υποδοχείς AGTR1 και AGTR2 του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης που είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και έχει εμπλακεί στην εμφάνιση καρκίνου. Ειδικά, πρόσφατα η ερευνητική μας ομάδα έδειξε ότι οι ανταγωνιστές του υποδοχέα AGTR2, PD123319 και EMA401 αναστέλλουν την ανάπτυξη μελανώματος και αγγειογένεσης ενώ επίσης τα επίπεδα μεθυλίωσης του γονιδίου AGTR1 θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτης μεταστατικού μελανώματος (Renziehausen *et al.* 2019). Θα προσπαθήσουμε να προσδιορίσουμε αν η χρήση μορίων όπως αγγειοτενσίνη II (ενεργοποιεί AGTR1 και AGTR2 υποδοχείς), PD123319 και EMA401 (και οι δύο αναστολείς AGTR2) και κατ' επέκταση η αναστολή AGTR2 αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική θεραπείας για τους ασθενείς με γλοιοβλάστωμα.



Θα εξετάσουμε επίσης το ρόλο των βιοσυνθετικών οδών NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide) στη χημειοευαισθησία στο γλοιοβλάστωμα. Πιο συγκεκριμένα το φάρμακο FK866 αναστέλλει ένα βασικό, περιοριστικό ένζυμο που ονομάζεται NAMPT και συμμετέχει στη βιοσύνθεση του NAD. Ακόμα, αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του γλοιοβλαστώματος γεγονός που το καθιστά σημαντικό υποψήφιο για τη χρήση του σε θεραπείες ασθενών με GBM. Ένας ακόμη στόχος του παρόντος έργου θα είναι και ο προσδιορισμός των διαφορετικών μοριακών αποκρίσεων στο φάρμακο FK866 σε κυτταρικές σειρές GBM, οι οποίες παρουσιάζουν ευαισθησία και ανθεκτικότητα στο FK866.

Βιβλιογραφία

Anders Simon, Paul Theodor and Wolfgang Huber. HTSeq – a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics*. 2015 Jan 15; 31(2): 166–169. .Published online 2014 Sep 25. doi: [10.1093/bioinformatics/btu638](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu638)

Edward Y Chen, Christopher M Tan, Yan Kou, Qiaonan Duan, Zichen Wang, Gabriela Vaz Meirelles, Neil R Clark and Avi Ma'ayan . Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. *BMC Bioinformatics* 2013;14:128. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-128>.

Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. *Nucleic Acid. Res.* 2016 Jul 8;44(W1):W90-7. doi: 10.1093/nar/gkw377. Epub 2016 May 3. Kuleshov MV, Jones MR, Rouillard AD, Fernandez NF, Duan Q, Wang Z, Koplev S, Jenkins SL, Jagodnik KM, Lachmann A, McDermott MG, Monteiro CD, Gundersen GW, Ma'ayan A.

g:Profiler – a web server for functional interpretation of gene lists (2016 update). *Nucleic Acid. Res.* 2016 Jul 8;44(W1):W83-9. doi: 10.1093/nar/gkw199. Epub 2016 Apr 20. Reiman J, Arak T, Adler P, Kolberg L, Reisberg S, Peterson H, Vilo J.

Kim Daehwan, Geo Perfea, Cole Trapnell, Harold Pimentel, Ryan Kelley and Steven L Salzberg Top Hat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biology* 2013;14:R36 <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-4-r36>

Love I Michael, Wolfgang Huber and Simon Anders. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 *Genome Biology* 2014;15:550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>

The Reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acid. Res.* 2014 Jan;42(Database issue):D472-7. doi: 10.1093/nar/gkt1102. Epub 2013 Nov 15. Croft D, Mundo AF, Milacic M, Weiser J, Wu G, Caudy M, Garapati P, Gollerspie M, Kamdar MR, Jassal B, Jupe S, Matthews L, May B, Palatnik S, Rothfels K, Shamovsky V, Song H, Williams M, Birney E, Hermjakob H, Stein L, D'Eustachio P.

Alexander Renziehausen, Hexiao Wang, Bhavya Rao, Lynda Weir, Cristiana Lo Nigro, Laura Lattanzio, Marco Merlano, Antonio Vega-Rioja, Maria del Carmen Fernandez-Carranco, Nabil Hajji, Rubeta Matin, Catherine Harwood, Su Li, Van Ren Sim, Kevin O'Neill, Alan Evans, Alastair Thompson, Peter Szlosarek, Colin Fleming, Justin Stebbing, Charlotte Proby, Andreas G. Tzacos, Nelofer Syed & Tim Crook; The renin angiotensin system (RAS) mediates bifunctional growth regulation in melanoma and is a novel target



1.1.2. Καρκινικοί όγκοι εγκεφάλου – γλοιοβλάστωμα

Ο καρκίνος αποτελεί την δεύτερη κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως. Σύμφωνα με την Αμερικανική Αντικαρκινική Εταιρεία 1.7 εκατομμύρια κρούσματα καρκίνου διαγνώστηκαν το 2013. Ο Καρκίνος, επίσης γνωστός ως κακοήθης όγκος ή κακαοήθες νεόπλασμα, είναι μία ομάδα ασθενειών που έχουν σχέση με την αφύσικη κυτταρική ανάπτυξη, με πιθανότητα εισβολής ή διάδοσης σε άλλα μέρη του σώματος. Υπάρχουν πάνω από 100 διαφορετικοί τύποι καρκίνου και κάθε ένας από αυτούς έχει χαρακτηριστεί από τον τύπο του κυττάρου που επηρεάζεται αρχικά. Αυτοί οι διαφορετικοί τύποι προκύπτουν από γενετικές μεταλλάξεις και επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες ωθούν τα φυσιολογικά κύτταρα να εξελιχθούν σε καρκινικά. Οι γενετικές μεταλλάξεις οφείλονται στην αλληλεπίδραση γενετικών και εξωτερικών παραγόντων, καθώς και στην παρέκκλιση ομάδων γονιδίων, τα οποία στη συνέχεια μπορούν να μεταλλαχθούν, να υπερεκφραστούν ή να διαγραφούν. Κατά την καρκινογένεση, οι γονιδιακές μεταβολές έχουν ως συνέπεια τη διαταραχή του κυτταρικού κύκλου και κατ' επέκταση τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Οι επιγενετικές αλλαγές είναι μεταβολές στην γονιδιακή έκφραση προκαλούμενες από μηχανισμούς οι οποίοι εκτός από τις αλλαγές στην ακολουθία του DNA περιλαμβάνουν και την ενεργοποίηση ή καταστολή γονιδίων χωρίς να μεταβάλλεται η βασική δομή του DNA. Τα τελευταία χρόνια διαπιστώνεται ότι ο καρκίνος συνδέεται και με επιγενετικές αλλαγές που πραγματοποιούνται στα πρώτα στάδια της καρκινικής ανάπτυξης και οδηγούν σε αύξηση του βαθμού κακοήθειας. (Nair *et al.*, 2018; Biswas *et al.*, 2017)

Το πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (Glioblastoma multiforme - GBM) είναι ο πιο κοινός και πιο επιθετικός τύπος πρωτογενούς εγκεφαλικού όγκου στους ανθρώπους, εμπλέκοντας νευρογλοιακά κύτταρα και αποτελώντας το 52% όλων των περιπτώσεων παρεγχυματικών εγκεφαλικών όγκων και το 20% όλων των ενδοκρανιακών όγκων (Recent advances in the molecular understanding of glioblastoma). Δεν υπάρχει σαφής τρόπος πρόληψης της νόσου (Nonsurgical treatment of recurrent glioblastoma O. Gallego) και έχει μέσο χρονικό διάστημα διαβίωσης από τη στιγμή που θα πραγματοποιηθεί η διάγνωση μόλις 12 μήνες, το οποίο αυξάνεται στους 14-16 μήνες μετά από χορήγηση της βασικής θεραπείας. Τυπικά, η θεραπεία περιλαμβάνει χειρουργική επέμβαση, μετά την οποία ακολουθείται χημειοθεραπεία και ακτινοβολία. Χαρακτηρίζεται από υψηλό βαθμό ετερογένειας, ανυπαρξία αποτελεσματικής θεραπείας και πολύ χαμηλό ποσοστό επιβίωσης. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας κατηγοριοποιείται ως διάχυτο γλοίωμα βαθμού IV, και ιστολογικά μπορεί να χαρακτηριστεί ως αστροκύτωμα (Louis *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2018; McFaline-Figueroa & Lee, 2018)



Η αδυναμία θεραπείας του γλοιοβλαστώματος οφείλεται αφ' ενός στην τοποθεσία του, αφ' ετέρου στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της αλληλεπίδρασης των καρκινικών κυττάρων με το μικροπεριβάλλον του εγκεφάλου. Ο εγκέφαλος είναι ένα πολυσύνθετο όργανο με ιδιότητες που το διακρίνουν από τα υπόλοιπα όργανα του σώματος. Η πολυπλοκότητά του αντικατοπτρίζεται τόσο στο πλήθος των τύπων καρκίνου του εγκεφάλου και την ποικιλία χαρακτηριστικών τους, όσο και στη δυσκολία ή και αδυναμία θεραπείας πολλών από αυτών. Ένα μοναδικό για τον εγκέφαλο στοιχείο είναι το φράγμα αίματος-εγκεφάλου (blood-brain barrier, BBB), που συνιστά ένα εμπόδιο μεταξύ της συστημικής κυκλοφορίας και του εγκεφάλου, προστατεύοντάς τον από μολυσματικούς, τοξικούς αλλά και θεραπευτικούς παράγοντες. Άλλο ένα διαφοροποιητικό στοιχείο του εγκεφάλου είναι η σύνθεση της εξωκυττάριας μήτρας του (extracellular matrix, ECM), η οποία έχει ως αποτέλεσμα οι μηχανισμοί που σχετίζονται με τον καρκίνο, όπως η αγγειογένεση και η εξάπλωση, να παρουσιάζουν διαφορές σε σύγκριση με τους άλλους ιστούς. Επιπλέον, τα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος έχουν την ικανότητα να προσαρμόζονται στο εγκεφαλικό περιβάλλον και να αναδιαμορφώνουν την εξωκυττάρια μήτρα, με αποτέλεσμα να μπορούν να εξαπλώνονται μέσω διαφορετικών διαδρομών. Η εξάπλωσή τους διευκολύνεται ακόμη από την ικανότητά τους να διαμορφώνουν ένα διασυνδεδεμένο δίκτυο καρκινικών κυττάρων μέσω μικροσωληνίσκων (Quail *et al.*, 2017; deGooijer *et al.*, 2018)

Οι προσπάθειες για την κατανόηση του καρκίνου, τη βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων και την ανακάλυψη νέων αντικαρκινικών φαρμάκων και θεραπειών οδηγεί όλο και περισσότερο τους επιστήμονες στη μελέτη του γενετικού και επιγενετικού υπόβαθρου του καρκίνου, και συγκεκριμένα στους βιοδείκτες που συνδέονται με αυτόν. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας [World Health Organization, (WHO)], βιοδείκτης είναι κάθε ουσία, δομή ή διαδικασία που μπορεί να μετρηθεί ώστε να προβλέψει την επίπτωση μίας ασθένειας ή ενός αποτελέσματος. Οι βιοδείκτες είναι αντιπροσωπευτικοί της βιολογικής κατάστασης ενός οργανισμού και χρησιμοποιούνται για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών που συνδέονται με την εκδήλωση διάφορων τύπων ασθενειών, ανάμεσα στις οποίες είναι και ο καρκίνος. Η ανάλυση βιοδεικτών μπορεί να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τα αρχικά στάδια ανάπτυξης ενός όγκου συμβάλλοντας στην έγκαιρη διάγνωσή του. Επίσης, οι βιοδείκτες μπορούν να έχουν προγνωστική αξία όσον αφορά την ανταπόκριση του ασθενή σε μία θεραπεία και την πιθανότητα επανεμφάνισης του όγκου, να καθοδηγήσουν την επιλογή θεραπευτικής μεθόδου και να συμβάλλουν στην επιτυχημένη εξατομικευμένη διάγνωση και θεραπεία. Η πρόοδος όσον αφορά την ανακάλυψη νέων μοριακών δεικτών έχει διευκολυνθεί από την ανάπτυξη τεχνολογιών ανάλυσης του DNA και RNA, όπως το Next Generation Sequencing. Όπως φαίνεται από τα επίσημα δεδομένα του οργανισμού Food and Drug Administration (FDA), οι βιοδείκτες βρίσκονται στο επίκεντρο της έρευνας της φαρμακευτικής βιομηχανίας, με 355 εγκεκριμένα φάρμακα να συνδέονται με αυτούς (21.01.2019). (Nair *et al.*, 2018; Dancey, 2014; <https://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/ucm572698.htm>)

Οι βιοδείκτες μπορούν να διακριθούν σε προγνωστικούς (prognostic), προβλεπτικούς (predictive) και διαγνωστικούς (diagnostic). Οι προγνωστικοί βιοδείκτες αξιολογούν την



κατάσταση ενός ασθενή μετά από την κύρια θεραπεία και προβλέπουν την πορεία μίας ασθένειας ή την ανταπόκριση σε μία θεραπευτική αγωγή για ένα σύνολο ασθενών με κοινά χαρακτηριστικά. Παραδείγματα προγνωστικών βιοδεικτών είναι το γονίδιο BRCA1, η μετάλλαξη του οποίου αυξάνει σημαντικά την πιθανότητα εκδήλωσης καρκίνου του μαστού, και το αντιγόνο CA19-9, του οποίου η αυξημένη τιμή υποδεικνύει ανάπτυξη παγκρεατικού καρκίνου. Οι προβλεπτικοί δείκτες αξιολογούν το θεραπευτικό όφελος από μία συγκεκριμένη κλινική παρέμβαση ή τις διαφορετικές επιπτώσεις δύο ή περισσότερων παρεμβάσεων και υποδεικνύουν την ευαισθησία ή αντίσταση του ασθενή σε μία συγκεκριμένη θεραπεία. Παραδείγματα προβλεπτικών δεικτών είναι οι υποδοχείς οιστρογόνου (ER), μεταγραφικοί παράγοντες που υποκινούν ένα μεγάλο ποσοστό καρκίνων του μαστού. Οι διαγνωστικοί δείκτες αναγνωρίζουν αν ένας ασθενής έχει μία συγκεκριμένη ασθένεια αξιολογώντας την ευαισθησία ή αντίσταση σε μία συγκεκριμένη θεραπεία. Παράδειγμα διαγνωστικού δείκτη είναι η πρωτεΐνη CA-125 που παρατηρείται σε αυξημένη συγκέντρωση στο αίμα ασθενών με καρκίνο ωοθηκών. (Nair *et al.*, 2018; Dancey, 2014)

Οι βασικότεροι βιοδείκτες που μέχρι στιγμής έχουν συνδεθεί με το γλοιοβλάστωμα είναι τα γονίδια IDH και MGMT. Η ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο IDH έχει διαδραματίσει κρίσιμο ρόλο στην πιο πρόσφατη ταξινόμηση των γλοιοβλαστωμάτων από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, τα οποία πλέον διακρίνονται στις κατηγορίες IDH wildtype, IDH mutant και NOS (not otherwise specified). Τα γλοιοβλαστώματα που δεν περιλαμβάνουν μετάλλαξη στο γονίδιο IDH (κατηγορία IDH wildtype) έχουν χαμηλές πιθανότητες επιβίωσης, ενώ τα γλοιοβλαστώματα με μετάλλαξη στο γονίδιο IDH (κατηγορία IDH mutant) συνήθως χαρακτηρίζονται από λιγότερο δυσμενείς προβλέψεις επιβίωσης. Το γονίδιο MGMT (O6-methylguanine-DNA methyltransferase) κωδικοποιεί ένα ένζυμο επιδιόρθωσης του DNA που λειτουργεί απομακρύνοντας αλκυλικές ομάδες από το DNA. Στα γλοιοβλαστώματα, ο βαθμός μεθυλίωσης του εκκινητή του γονιδίου MGMT είναι προβλεπτικός βιοδείκτης της ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία με τον αλκυλιωτικό παράγοντα temozolomide. Πιο συγκεκριμένα, αν ο εκκινητής του γονιδίου MGMT είναι μεθυλιωμένος, αναστέλλεται η παραγωγή του ενζύμου MGMT με αποτέλεσμα τα κύτταρα να είναι ευάλωτα στη θεραπεία με αλκυλιωτικούς παράγοντες. Αντίθετα, αν ο εκκινητής του γονιδίου MGMT δεν είναι μεθυλιωμένος, το ένζυμο MGMT παράγεται και αντιτίθεται στη χημειοθεραπεία με αλκυλιωτικούς παράγοντες. (Gusyatiner *et al.*, 2017; Louis *et al.*, 2016).

Υπάρχουν περισσότεροι από 120 τύποι καρκίνου του κεντρικού νευρικού συστήματος, οι οποίοι ποικίλλουν ως προς τα κύτταρα προέλευσης, την τοποθεσία, το βαθμό επιθετικότητας, τα ιστολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά. Ένα βασικό χαρακτηριστικό είναι το σύστημα προέλευσης, με βάση το οποίο οι όγκοι εγκεφάλου χαρακτηρίζονται ως πρωτογενείς (primary), όταν ξεκινούν από κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος, και ως δευτερογενείς (secondary) όταν ξεκινούν από κύτταρα άλλου είδους και κάνουν μετάσταση στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι πρωτογενείς όγκοι εγκεφάλου αποτελούν το 2% όλων των περιπτώσεων καρκίνου, με ετήσια επίπτωση 22 περιστατικά ανά 100.000. Η συχνότητα εμφάνισης των πρωτογενών όγκων εγκεφάλου ποικίλει με την ηλικία, το φύλο και την εθνικότητα. Η συχνότητα εμφάνισης αυξάνεται με την ηλικία, και είναι υψηλότερη σε



άτομα μεγαλύτερα των 85 ετών. Οι κακοήθεις όγκοι τείνουν να εμφανίζονται συχνότερα στους άντρες, αλλά συνολικά οι εγκεφαλικοί όγκοι, είτε κακοήθεις είτε καλοήθεις, πλήττουν συχνότερα τις γυναίκες. Επίσης, οι περισσότεροι πρωτογενείς όγκοι έχουν μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στη λευκή φυλή παρά στην αφροαμερικάνικη. Οι κακοήθεις πρωτογενείς εγκεφαλικοί όγκοι έχουν μέση ετήσια θνησιμότητα 4,32 ανά 100.000, και μέσο ποσοστό πενταετούς επιβίωσης 35%. (Lapointe et al., 2018)

Οι όγκοι συνήθως αντιστοιχίζονται σε έναν βαθμό που αντιπροσωπεύει τη μορφή των κυττάρων και την ταχύτητα εξάπλωσής του. Τα κριτήρια ανάθεσης βαθμού συνοψίζονται ως ο ρυθμός ανάπτυξης του όγκου, η ομοιότητα των καρκινικών κυττάρων με τα φυσιολογικά, οι ενδείξεις ανεξέλεγκτης ανάπτυξης, η ύπαρξη νεκρών κυττάρων στο κέντρο του όγκου, το δυναμικό εξάπλωσης του όγκου με βάση τη μορφή των ορίων του όγκου και η παροχή αίματος. Σύμφωνα με το σύστημα βαθμονόμησης του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization-WHO), οι όγκοι βαθμού I είναι καλοήθεις, έχουν αργό ρυθμό ανάπτυξης και σχεδόν φυσιολογική όψη όταν παρατηρούνται στο μικροσκόπιο. Οι όγκοι βαθμού II έχουν σχετικά αργό ρυθμό ανάπτυξης και ελαφρώς μη φυσιολογική όψη. Σε μερικές περιπτώσεις εξαπλώνονται σε κοντινούς φυσιολογικούς ιστούς ή και επανεμφανίζονται ως όγκοι υψηλότερου βαθμού. Οι όγκοι βαθμού III θεωρούνται κακοήθεις, τα κύτταρά τους παράγουν νέα μη φυσιολογικά κύτταρα που εξαπλώνονται στον κοντινό φυσιολογικό εγκεφαλικό ιστό και τείνουν να επανεμφανίζονται ως όγκοι υψηλότερου βαθμού. Οι όγκοι βαθμού IV είναι οι πιο κακοήθεις. Έχουν ταχύ ρυθμό ανάπτυξης, αφύσικη όψη και παρουσιάζουν ευκολία εξάπλωσης στον περιβάλλοντα φυσιολογικό εγκεφαλικό ιστό. Χαρακτηριστικό των όγκων βαθμού IV είναι η δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων για την υποστήριξη των αναγκών των καρκινικών κυττάρων σε θρεπτικά συστατικά και οξυγόνο, καθώς και η παρουσία νεκρών κυττάρων στο κέντρο του όγκου. Το γλοιοβλάστωμα είναι το πιο σύνθητες παράδειγμα όγκου βαθμού IV. (<https://www.abta.org/>)

Για την καλύτερη περιγραφή του συστήματος ταξινόμησης των όγκων εγκεφάλου είναι χρήσιμη η αναφορά στα είδη εγκεφαλικών κυττάρων, τους νευρώνες και τα νευρογλοιακά κύτταρα. Οι νευρώνες έχουν ως ρόλο τη μετάδοση ηλεκτρικών και χημικών σημάτων. Τα νευρογλοιακά κύτταρα διακρίνονται σε αστροκύτταρα, ολιγοδενδροκύτταρα, μικρογλοία και επενδυματικά κύτταρα, και έχουν υποστηρικτικό ρόλο που συμπεριλαμβάνει την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στους νευρώνες και την απομάκρυνση των νεκρών κυττάρων. Τα αστροκύτταρα εκτελούν λειτουργίες όπως η παροχή θρεπτικών συστατικών στον νευρικό ιστό, η αποκατάσταση του νευρικού συστήματος μετά από τραυματισμούς στον εγκέφαλο και τη σπονδυλική στήλη, καθώς και η βιοχημική υποστήριξη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα ολιγοδενδροκύτταρα παράγουν μυελίνη, ένα μονωτικό στρώμα που περιβάλλει τους άξονες των νευρικών ινών. Τα μικρογλοία αποτελούν εξειδικευμένα ανοσοκύτταρα του Κ.Ν.Σ.(μακροφάγα) και έχουν χαμηλό επίπεδο φαγοκυτταρικής δραστηριότητας, αλλά βρίσκονται στην πρώτη γραμμή άμυνας του Κ.Ν.Σ. υποβοηθούμενα και από άλλα μονοκύτταρα που εισέρχονται από το αίμα στον εγκέφαλο όταν χρειαστεί. Τέλος, τα επενδυματικά κύτταρα διαμορφώνουν τον επιθηλιακό ιστό των



εγκεφαλικών κοιλιών και το κεντρικό κανάλι της σπονδυλικής στήλης.
(<https://www.abta.org/>)

Μέχρι πρόσφατα, η ταξινόμηση των όγκων εγκεφάλου σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας βασιζόταν σε ιστολογικά κριτήρια, όπως τα κύτταρα προέλευσης του όγκου και τα επίπεδα διαφοροποίησης των κυττάρων αυτών. Για παράδειγμα, οι όγκοι που προέρχονταν από αστροκύτταρα ομαδοποιούνταν ξεχωριστά από τους όγκους που προέρχονταν από ολιγοδενδροκύτταρα, ανεξάρτητα από το αν οι όγκοι ίδιας κυτταρικής προέλευσης παρουσίαζαν κλινικές διαφορές. Με βάση τα κύτταρα προέλευσης, οι εγκεφαλικοί όγκοι διαχωρίζονται στην ευρεία κατηγορία των γλοιωμάτων, δηλαδή των όγκων που αναπτύσσονται από τα νευρογλοιακά κύτταρα, και την κατηγορία των υπόλοιπων όγκων με άλλου είδους κύτταρα προέλευσης. Τα γλοιώματα διακρίνονται περαιτέρω σε αστροκυττώματα, ολιγοδενδρογλοιώματα και επενδυμώματα, αν και η επίσημη κατηγοριοποίηση των γλοιωμάτων πλέον έχει γίνει πιο σύνθετη, συμπεριλαμβάνοντας τόσο ιστολογικά όσο και γενετικά χαρακτηριστικά. Παραδείγματα τέτοιων όγκων είναι το μηνιγγίωμα, το κρανιοφαρυγγίωμα, το ακουστικό νευρίωμα και το επιφυσίωμα. (Louis *et al.*, 2016; <https://www.cancer.net/cancer-types/brain-tumor/introduction>)

Η επιστημονική πρόοδος όσον αφορά τη γενετική βάση των διαφόρων ειδών καρκίνου είχε ως αποτέλεσμα τη μεταβολή του τρόπου κατηγοριοποίησης των τύπων καρκίνου εγκεφάλου, ώστε να στηρίζεται όχι μόνο σε ιστολογικά αλλά και τα γενετικά χαρακτηριστικά τους. Το 2016 πραγματοποιήθηκε σημαντική αναθεώρηση του συστήματος κατηγοριοποίησης των καρκίνου εγκεφάλου από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization - WHO), ενσωματώνοντας για πρώτη φορά γενετικές και μοριακές παραμέτρους στα κριτήρια ταξινόμησης. Ο συνδυασμός φαινοτυπικών και γονοτυπικών παραμέτρων για την ταξινόμηση των όγκων του ΚΝΣ εισάγει ουσιαστικά ένα επιπλέον επίπεδο αντικειμενικότητας, το οποίο έλλειπε από τις προηγούμενες ταξινομήσεις, ελπίζοντας σε ακριβέστερες, αντικειμενικότερες και βιολογικά ομογενοποιημένες διαγνώσεις και ως εκ τούτου στην καλύτερη αντιμετώπιση και κατά το δυνατό βέλτιστο και εξατομικευμένο θεραπευτικό πλάνο. ΑκόμαΤ έχει ως αποτέλεσμα όγκοι με παρόμοιους προγνωστικούς δείκτες να ομαδοποιούνται και να γίνεται χρήση κατάλληλων θεραπειών. Οι κυριότερες κατηγορίες εγκεφαλικών όγκων σύμφωνα με το νέο σύστημα ταξινόμησης ακολουθούν παρακάτω. (Louis *et al.*, 2016; McFaline-Figueroa & Lee, 2018)

Διάχυτα γλοιώματα (Diffuse gliomas)

Τα διάχυτα γλοιώματα είναι η πιο συνήθης κακοήθης κατηγορία όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος, και περιλαμβάνουν τα αστροκυττώματα, τα ολιγοδενδρογλοιώματα, τα επενδυμώματα και ένα σύνολο σπάνιων παραλλαγών. Τα γλοιώματα με διάχυτο μοτίβο ανάπτυξης θεωρούνται ως μία κατηγορία ανεξάρτητα από το είδος κυττάρων προέλευσης, αφού τα κοινά στοιχεία τους, όπως η συμπεριφορά, το μοτίβο ανάπτυξης, και οι μεταλλάξεις στα γονίδια IDH1, IDH2, κρίνονται σημαντικότερα. Επομένως, τα διάχυτα γλοιώματα



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

περιλαμβάνουν τα αστροκυτώματα βαθμού II-III, τα ολιγοδενδρογλιώματα βαθμού II-III, τα γλιοβλαστώματα βαθμού IV, καθώς και τα σχετικά διάχυτα γλιώματα της παιδικής ηλικίας. Αντίθετα, δεν περιλαμβάνουν τα αστροκυτώματα που έχουν ένα πιο οριοθετημένο μοτίβο ανάπτυξης, δεν έχουν μεταλλάξεις στα γονίδια της οικογένειας IDH, ενώ έχουν μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF (πυλοκυτταρικό αστροκύττωμα, πλειόμορφο ξανθοαστροκύττωμα) ή στα γονίδια TSC1/TSC2 (υποεπενδυματικό γιγαντοκυτταρικό αστροκύττωμα). Επομένως, τα διάχυτα αστροκυτώματα και ολιγοδενδρογλιώματα, παρά το διαφορετικό είδος κυττάρων προέλευσής τους, θεωρείται ότι έχουν περισσότερες ομοιότητες από ότι το διάχυτο αστροκύττωμα με το πυλοκυτταρικό αστροκύττωμα. (Louis *et al.*, 2016; McFaline-Figueroa & Lee, 2018)

Τα διάχυτα αστροκυτώματα βαθμού II και τα αναπλαστικά αστροκυτώματα βαθμού III διακρίνονται στις κατηγορίες IDH άγριου τύπου (IDH-wildtype), IDH μεταλλαγμένα (IDH-mutant) με κριτήριο την ύπαρξη ή απουσία μετάλλαξης στο γονίδιο IDH1. Η κατηγορία IDH-wildtype είναι σπάνια στα αστροκυτώματα βαθμού II, III, και αντιστοιχεί στους όγκους που δεν χαρακτηρίζονται από μετάλλαξη στο γονίδιο IDH1. Η κατηγορία IDH-mutant είναι η συνηθέστερη για τα αστροκυτώματα βαθμού II, III και χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη μετάλλαξης στο γονίδιο IDH. Στην περίπτωση που ο έλεγχος IDH για οποιοδήποτε λόγο δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί, το αστροκύττωμα χαρακτηρίζεται ως NOS (Not Otherwise Specified). (Louis *et al.*, 2016)

Τα γλιοβλαστώματα ιστολογικά χαρακτηρίζονται και ως αστροκυτώματα βαθμού IV και αποτελούν την πιο συνήθη και πιο επιθετική κατηγορία γλιωμάτων. Με βάση το προαναφερθέν κριτήριο του γονιδίου IDH1, διαχωρίζονται επίσης στις κατηγορίες IDH άγριου τύπου (IDH-wildtype), IDH μεταλλαγμένα (IDH-mutant), και μη άλλως ταξινομημένα (NOS). Το γλιοβλάστωμα IDH-wildtype αποτελεί περίπου το 90% των περιπτώσεων, αντιστοιχεί κυρίως στο πρωτογενές γλιοβλάστωμα, και εμφανίζεται συχνότερα σε ηλικίες από 55 ετών και άνω. Το γλιοβλάστωμα IDH-mutant αποτελεί περίπου το 10% των περιπτώσεων, πρόκειται για δευτερογενές γλιοβλάστωμα που εξελίχθηκε από διάχυτο γλιοβλάστωμα χαμηλότερου βαθμού και εμφανίζεται κυρίως σε νεότερους ασθενείς. Ο όρος γλιοβλάστωμα NOS αντιπροσωπεύει τους όγκους για τους οποίους δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί πλήρης αξιολόγηση του γονιδίου IDH. (Louis *et al.*, 2016; McFaline-Figueroa & Lee, 2018; [Ohgaki et al., 2013](#))

Τα διάχυτα γλιώματα περιλαμβάνουν ακόμη τα ολιγοδενδρογλιώματα και τα αναπλαστικά ολιγοδενδρογλιώματα που χαρακτηρίζονται από μετάλλαξη σε γονίδιο της οικογένειας IDH και συνέλλειψης 1p/19q. Στην περίπτωση που δεν είναι δυνατός ο καθορισμός του γονοτύπου IDH, ή/και 1p/19q, το ολιγοδενδρογλιώμα ταξινομείται ως NOS. Σε κάθε περίπτωση απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή για τον αποκλεισμό γλιωμάτων με παρόμοια ιστολογικά χαρακτηριστικά, όπως είναι το πυλοκυτταρικό αστροκύττωμα, ο δυσεμβρυοπλαστικός νευροεπιθηλιακός όγκος και το επενδύωμα καθαρών κυττάρων. (Louis *et al.*, 2016)



Στην κατηγορία των διάχυτων γλοιωμάτων τυπικά περιλαμβάνονται και τα ολιγοαστροκυτώματα. Παρ' όλα αυτά, η διάγνωση του ολιγοαστροκυτώματος αποφεύγεται, αφού σχεδόν όλοι οι όγκοι με ιστολογικά χαρακτηριστικά που παραπέμπουν και σε αστροκυτταρικά και σε ολιγοδενδρογλοιακά στοιχεία μπορούν να ταξινομηθούν ως είτε αστροκύττωμα είτε ως ολιγοδενδρογλοίωμα με βάση τα αποτελέσματα γενετικών ελέγχων. Επομένως, το ολιγοαστροκύττωμα βαθμού II και το αναπλαστικό ολιγοαστροκύττωμα βαθμού III συνοδεύονται πάντα από τον όρο NOS, υποδεικνύοντας ότι δεν είναι εφικτή η πραγματοποίηση κατάλληλου μοριακού ελέγχου. (Louis *et al.*, 2016)

Στο παρελθόν, τα διάχυτα γλοιώματα της παιδικής ηλικίας ταξινομούταν μαζί με τους αντίστοιχους τύπους των ενηλίκων, χωρίς να λαμβάνονται υπόψιν οι σημαντικές διαφορές ως προς την βιολογική συμπεριφορά τους. Πλέον διαχωρίζονται τα γλοιώματα που χαρακτηρίζονται από μεταλλάξεις K27M των ιστονών H3 του γονιδίου H3F3A, ή σπανιότερα του γονιδίου HIST1H3B, διάχυτο μοτίβο ανάπτυξης και εντόπιση στη μέση γραμμή, τα οποία εμφανίζονται κυρίως στην παιδική ηλικία. Γλοιώματα με τα παραπάνω χαρακτηριστικά ταξινομούνται πλέον ως διάχυτα γλοιώματα μέσης γραμμής με μεταλλάξεις H3 K27M και συμπεριλαμβάνουν τα παλαιότερα χαρακτηριζόμενα διάχυτα εγγενή γεφυρικά γλοιώματα. (Louis *et al.*, 2016)

Επενδυμώματα (Ependymomas)

Τα επενδυμώματα εμφανίζονται στον εγκέφαλο ή στη σπονδυλική στήλη, και προέρχονται από τα επενδυματικά κύτταρα. Είναι σχετικά σπάνια, αποτελώντας περίπου το 1-2% των πρωτογενών όγκων, το 6-7% των γλοιωμάτων και το 5% των παιδικών όγκων εγκεφάλου. Τα επενδυμώματα, αν και ιστολογικά ανήκουν στα γλοιώματα, σύμφωνα με τη νέα ταξινόμηση θεωρούνται ανεξάρτητη κατηγορία όγκων, διαφορετική από τα διάχυτα γλοιώματα, και αναμένεται να προκύψουν δεδομένα που θα οδηγήσουν σε εκ νέου ταξινόμηση. Μέχρι στιγμής, διακρίνονται σε υποεπενδυμώματα (βαθμού I), μυξοθλώδη επενδυμώματα (βαθμού I), τα επενδυμώματα (βαθμού II), καθώς και τα αναπλαστικά επενδυμώματα (βαθμού III). Τα επενδυμώματα βαθμού II διαχωρίζονται επιπλέον σε θηλώδη (papillary), διαυγοκυτταρικά (clear cell), και τανυκυτταρικά (tanycytic) επενδυμώματα. Επίσης, ένας νέος γενετικός υπότυπος έχει αναγνωριστεί, το επενδυμώμα RELN-fusion positive (βαθμού II ή III), που αποτελεί τον συχνότερο τύπο υπερσκηθιδίων όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος στην παιδική ηλικία. Το κυτταροβριθές επενδυμώμα (cellular ependymoma) δεν υφίσταται πλέον ως ξεχωριστός τύπος, αφού έχει μεγάλη επικάλυψη με το κλασικό επενδυμώμα. (Louis *et al.*, 2016) <https://www.abta.org/>; <https://www.cancer.gov/nci/rare-brain-spine-tumor/tumors/ependymoma>

Εμβρυικοί όγκοι (Embryonal tumors)



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Οι εμβρυικοί όγκοι του κεντρικού νευρικού συστήματος είναι κακοήθεις όγκοι βαθμού IV που προέρχονται από τα εμβρυικά κύτταρα του εγκεφάλου. Μπορούν να εμφανιστούν σε οποιαδήποτε ηλικία, με μεγαλύτερη συχνότητα στα βρέφη και τα παιδιά. Οι εμβρυικοί όγκοι συμπεριλαμβάνουν το μυελοβλάστωμα (medulloblastoma), το μυελοεπιθηλίωμα (medulloepithelioma), τον άτυπο τερατοειδή ραβδοειδή όγκο (atypical teratoid/rhabdoid tumour), τον εμβρυικό όγκο με πολυστιβαδωτές ροζέτες (embryonal tumours with multilayered rosettes), τον ROS εμβρυικό όγκο του ΚΝΣ (CNS embryonal tumor NOS), και τον εμβρυικό όγκο ΚΝΣ με ραβδοειδή χαρακτηριστικά (CNS embryonal tumor with rhabdoid features). (Louis *et al.*, 2016)

Το μυελοβλάστωμα είναι ο πιο συνηθής εμβρυικός όγκος, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 13% των εγκεφαλικών όγκων στα παιδιά κάτω από την ηλικία των 14 ετών, και το 3% των εγκεφαλικών όγκων στους ενήλικες. Εντοπίζεται στην παρεγκεφαλίδα, κοντά στην τέταρτη εγκεφαλική κοιλία, στην οποία αν εξαπλωθεί μπορεί να επεκταθεί στη σπονδυλική στήλη μέσω του εγκεφαλονωτιαίου υγρού ή να παρεμποδίσει την κυκλοφορία του. Με βάση γενετικά κριτήρια, το μυελοβλάστωμα διακρίνεται στις κατηγορίες WNT-activated, SHH-activated και τις ομάδες 3 και 4. Με βάση ιστολογικά κριτήρια, διακρίνεται στο δεσμοπλαστικό μυελοβλάστωμα (desmoplastic/nodular), στο μυελοβλάστωμα με εκτεταμένη κομβικότητα (medulloblastoma with extensive nodularity), στο μεγαλοκυτταρικό (large cell), και στο αναπλαστικό (anaplastic) μυελοβλάστωμα. (Louis *et al.*, 2016; <https://www.abta.org/>)

Ο εμβρυικός όγκος με πολυστιβαδωτές ροζέτες (embryonal tumors with multilayered rosettes, ETMRs) είναι ένας σπάνιος κακοήθης όγκος που τυπικά πλήττει βρέφη και νέα παιδιά. Συνήθως εμφανίζεται στο κύριο μέρος του εγκεφάλου που ελέγχει τη σκέψη και την εκούσια κίνηση. Στη συχνή περίπτωση που ο όγκος χαρακτηρίζεται από ενίσχυση της περιοχής C19MC του χρωμοσώματος 19 (19q13.42), ορίζεται ως εμβρυικός όγκος με πολυστιβαδωτές ροζέτες, C19MC-altered. Στην αντίθετη περίπτωση, συνοδεύεται από τον όρο NOS (Not Otherwise Specified). (Louis *et al.*, 2016; <https://www.abta.org/>)

Το μυελοεπιθηλίωμα είναι ένας σπάνιος, κακοήθης όγκος που επίσης μπορεί να χαρακτηρίζεται από ενίσχυση της περιοχής C19MC στο χρωμόσωμα 19 (19q13.42), και τυπικά εμφανίζεται στον εγκέφαλο ή τη σπονδυλική στήλη των βρεφών και μικρών παιδιών. Ο ατυπικός τερατοειδής / ραβδοειδής όγκος είναι σπάνιος, κακοήθης όγκος που εμφανίζεται στην παρεγκεφαλίδα παιδιών κάτω των 3 ετών, και χαρακτηρίζεται από μεταβολές του γονιδίου INI1, ή πολύ σπάνια, του γονιδίου BRG1. Αν ένας όγκος έχει ιστολογικά χαρακτηριστικά του ατυπικού τερατοειδή/ραβδοειδή όγκου αλλά δεν έχει καμία από αυτές τις δύο γενετικές μεταβολές, ορίζεται ως εμβρυικός όγκος ΚΝΣ με ραβδοειδή χαρακτηριστικά (CNS embryonal tumour with rhabdoid features). (Louis *et al.*, 2016; <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/embryonal-tumor/cdc-20367985>)

Μηνιγγιώματα (Meningiomas)



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Τα μηνιγγιώματα είναι συνήθως καλοήθεις όγκοι που ξεκινούν στην αραχνοειδή μήνιγγα, μία από τις μεμβράνες που περιβάλλουν τον εγκέφαλο και συνήθως εντοπίζονται μεταξύ των εγκεφαλικών ημισφαιρίων, μεταξύ των μηνίγγων, στη βάση του κεφαλιού και στο πίσω κάτω μέρος του εγκεφάλου (posterior fossa). Αποτελούν το 35% των περιστατικών πρωτογενών όγκων εγκεφάλου και συχνά πλήττουν γυναίκες 35-50 ετών. Τρεις βασικές υποκατηγορίες τους είναι τα καλοήθη μηνιγγιώματα (βαθμού I), τα ατυπικά μηνιγγιώματα (βαθμού II) και τα αναπλαστικά κακοήθη μηνιγγιώματα (βαθμού III). Κριτήριο ταξινόμησης του μηνιγγιώματος ως δευτέρου βαθμού είναι η παρουσία τριών από ένα σύνολο πέντε στοιχείων, τα οποία είναι η νέκρωση, η απώλεια δομής, οι εμφανείς πυρηνίσκοι, τα μικρού μεγέθους κύτταρα με αυξημένο λόγο πυρήνα/κυτταροπλάσματος και η αυξημένη κυτταρική πυκνότητα. Επιπλέον κριτήρια ταξινόμησης του όγκου ως άτυπου δευτέρου βαθμού μηνιγγιώματος είναι η εισβολή του μηνιγγιώματος εντός του εγκεφαλικού παρεγχύματος και η παρουσία περισσότερων από τεσσάρων μτώσεων ανά 10 οπτικά πεδία υψηλής μεγέθυνσης. (McFaline-Figueroa & Lee, 2018; Louis *et al.*, 2016; <https://www.abta.org/>)

Όγκοι επίφυσης (Tumors of the pineal region)

Οι όγκοι επίφυσης προέρχονται από τα κύτταρα της επίφυσης, που βρίσκεται στο κέντρο του εγκεφάλου και ευθύνεται για την παραγωγή συγκεκριμένων ορμονών. Αντιπροσωπεύουν λιγότερο από το 1% των περιστατικών πρωτογενών όγκων εγκεφάλου και τείνουν να εμφανίζονται σε ενήλικες 20-40 χρονών. Περιλαμβάνουν το επιφυσιοκύττωμα βαθμού I, τον όγκο επίφυσης ενδιάμεσης διαφοροποίησης βαθμού II ή III, το επιφυσιοβλάστωμα βαθμού IV και τον θηλώδη παρεγχυματικό όγκο επίφυσης βαθμού II ή III. (Louis *et al.*, 2016; <https://www.abta.org/>)

Νευρωνικοί και μεικτοί νευρωνικοί-νευρογλοιακοί όγκοι (Neuronal and mixed neuronal-glia tumors)

Οι νευρωνικοί και μεικτοί νευρωνικοί-νευρογλοιακοί όγκοι προέρχονται από τα γάγγλια, που συνιστούν ομάδες νευρικών κυττάρων. Είναι σπάνιοι, συνήθως καλοήθεις όγκοι με μικρό μέγεθος, αργό ρυθμό ανάπτυξης και πλήττουν κυρίως παιδιά ή νέους ενήλικες. Κάποιες από τις υποκατηγορίες τους είναι ο δυσεμβρυοπλαστικός νευροεπιθηλιακός όγκος (βαθμού I), το γαγγλιοκύττωμα (βαθμού I), το γαγγλιογλοίωμα (βαθμού I), το αναπλαστικό γαγγλιογλοίωμα (βαθμού III), το θηλωματώδη γλοιονευρωνικό όγκο (βαθμού I), το κεντρικό νευροκύττωμα (βαθμού II), το εξωκοιλιακό νευροκύττωμα (βαθμού II) και το παρεγκεφαλιδικό λιπονευροκύττωμα (βαθμού II). Επίσης, περιλαμβάνουν την πρόσφατα αναγνωρισμένη υποκατηγορία των διάχυτων λεπτομηνιγγικών γλοιονευρωνικών όγκων, που ουσιαστικά αποτελεί τον λεγόμενο ολιγοδενδρογλοιακόμορφο λεπτομηνιγγικό όγκο της παιδικής ηλικίας. (Louis *et al.*, 2016; <https://www.abta.org/>)



Όγκοι κρανιακών και παρασπονδύλιων νεύρων/Όγκοι νευρικού ελύτρου (Tumours of the cranial and paraspinal nerves)

Οι όγκοι νευρικού ελύτρου προέρχονται από τα κύτταρα Schwann, που έχουν ως ρόλο την επένδυση των κυττάρων του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος με ένα προστατευτικό στρώμα μυελίνης. Οι κύριες κατηγορίες των όγκων αυτών είναι το σβάννωμα (βαθμού I), η νευροϊνωμάτωση (βαθμού I), το περινευρίωμα (βαθμού I) και ο κακοήθης όγκος από τα περιβλήματα νευρικών ελύτρων (βαθμού II, III ή IV). Το μελανωτικό σβάννωμα έχει διαχωριστεί από τα συνήθη σβαννώματα ως διακριτή υποκατηγορία. Επίσης, έχει προστεθεί η υποκατηγορία των υβριδικών όγκων του νευρικού ελύτρου και δύο νέες υποκατηγορίες των κακοήθων όγκων του ελύτρου των περιφερικών νεύρων, ο επιθηλιώδης όγκος και ο όγκος με περινευρική διαφοροποίηση. (Rodriguez *et al.*, 2012; Louis *et al.*, 2016)

Λεμφώματα και Ιστιοκυτταρικοί όγκοι (Lymphomas and histiocytic tumours)

Τα λεμφώματα και οι ιστοκυτταρικοί όγκοι του κεντρικού νευρικού συστήματος ταξινομούνται ως μία κατηγορία. Το λέμφωμα είναι ένα είδος καρκίνου που προέρχεται από τα κύτταρα του λεμφικού συστήματος και ονομάζεται πρωτογενές λέμφωμα κεντρικού νευρικού συστήματος (PCNSL) όταν προκύπτει στον εγκέφαλο. Παρατηρείται κυρίως στα εγκεφαλικά ημισφαίρια και μπορεί να εξαπλωθεί εύκολα μέσω του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η συχνότητα εμφάνισης του λεμφώματος στον εγκέφαλο έχει αυξηθεί τα τελευταία 20 χρόνια, αντιπροσωπεύοντας το 2-3% των πρωτογενών όγκων εγκεφάλου. Οι ιστοκυτταρικοί όγκοι προέρχονται από τα ιστοκύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και εμφανίζονται σπάνια στο νευρικό σύστημα. (Louis *et al.*, 2016; So *et al.*, 2014; <https://www.abta.org/>)

Χαρακτηριστικά, παράγοντες κινδύνου και τελευταίες προσπάθειες αντιμετώπισης του γλοιοβλαστώματος.

Το γλοιοβλάστωμα είναι η πιο συνήθης και πιο επιθετική μορφή καρκίνου εγκεφάλου στους ενήλικες. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας κατηγοριοποιείται ως διάχυτο γλοίωμα βαθμού IV, και ιστολογικά μπορεί να χαρακτηριστεί ως αστροκύττωμα (Louis *et al.*, 2016). Το γλοιοβλάστωμα είναι μία ασθένεια με χαμηλό ποσοστό εμφάνισης (3,1 στις 100.000) σε σύγκριση με τύπους καρκίνου που ξεκινούν από άλλα όργανα (π.χ. 171,20 στις 100.000 για τον καρκίνο στήθους). Παρ' όλα αυτά, αποτελεί το 15% των πρωτογενών όγκων εγκεφάλου και το 45.6% των πρωτογενών κακοήθων εγκεφαλικών όγκων, με μέση ηλικία διάγνωσης τα 65 χρόνια. Χαρακτηρίζεται από υψηλό βαθμό ετερογένειας, ανυπαρξία αποτελεσματικής θεραπείας και πολύ χαμηλό ποσοστό επιβίωσης. Τα συμπτώματα της ασθένειας περιλαμβάνουν πονοκέφαλο, απώλεια μνήμης, αλλαγές προσωπικότητας,



σύγχυση, νευρολογικές ανεπάρκειες και κρίσεις επιληψίας. (Wirsching *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2018; Tipping *et al.*, 2017; deGooijer *et al.*, 2018 ; McFaline-Figueroa & Lee, 2018; Alifieris & Trafalis, 2015; Ostrom *et al.*, 2016)

Η ετήσια ηλικιακά προσαρμοσμένη επίπτωση (annual age-adjusted incidence rate, AAAIR) του γλοιοβλαστώματος ποικίλει σημαντικά ανάλογα με το φύλο, τη φυλή, την εθνικότητα και την ηλικία. Συγκεκριμένα, η επίπτωση αυξάνεται με την ηλικία, όντας χαμηλότερη στους ανθρώπους ηλικίας 0-19 ετών (AAAIR 0,15) και υψηλότερη στους ανθρώπους από 75 ετών και άνω (AAAIR 13.66). Το γλοιοβλάστωμα είναι 1,6 φορές πιο σύνηθες στους άντρες (AAAIR 3,99 στους 100.000) από ό,τι στις γυναίκες (AAAIR 2,53 στις 100.000), και 2 φορές πιο σύνηθες στη λευκή φυλή (Ostrom *et al.*, 2016)

Παρά το γεγονός ότι η θεραπευτική αγωγή που ακολουθείται για την αντιμετώπισή του είναι αρκετά επιθετική, το γλοιοβλάστωμα χαρακτηρίζεται από ένα από τα χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης σε σύγκριση με τους κακοήθεις καρκίνους εγκεφάλου. Το μέσο χρονικό διάστημα διαβίωσης από τη στιγμή της διάγνωσης είναι 12 μήνες, το οποίο αυξάνεται στους 14-16 μήνες στην περίπτωση χορήγησης της κύριας θεραπείας. Τα ποσοστά διαβίωσης για τα δύο και πέντε χρόνια μετά τη διάγνωση είναι περίπου 30% και 10%, αντίστοιχα. Η διαβίωση σχετίζεται αντίστροφα με την ηλικία, αφού ενώ το 5% του συνόλου των ασθενών με γλοιοβλάστωμα έχουν επιβιώσει 5 χρόνια μετά τη διάγνωση, το ποσοστό αυτό πέφτει στο 2% για τους ασθενείς από 65 χρονών και άνω. (Wirsching *et al.*, 2016; Ostrom *et al.*, 2016)

Πολλοί εξωγενείς και ενδογενείς παράγοντες έχουν διερευνηθεί ως πιθανές αιτίες εμφάνισης του γλοιοβλαστώματος. Ένα μικρό ποσοστό (<1%) των περιστατικών σχετίζεται με κληρονομικά σύνδρομα καρκίνου, όπως η νευροϊνωμάτωση τύπου 1 και 2, καθώς και τα σύνδρομα Turcot και Li-Fraumeni. Έχει σημειωθεί η έκφραση των γονιδίων του κυτταρομεγαλοϊού (cytomegalovirus, CMV) και η αλληλεπίδραση των προϊόντων τους με κάποια μεταβολικά μονοπάτια του γλοιοβλαστώματος, χωρίς να έχει επικυρωθεί ο ρόλος των γονιδίων αυτών στο γλοιοβλάστωμα. Επίσης, έχει παρατηρηθεί μειωμένος κίνδυνος γλοιοβλαστώματος στους ανθρώπους με ιστορικό αλλεργίας ή άλλης ατοπικής δερματίτιδας. Η ιοντίζουσα ακτινοβολία (όπως η ακτινοβολία που παράγεται από ατομικές βόμβες, η ακτινογραφία ακτίνων Χ, η αξονική και μαγνητική τομογραφία) του εγκεφάλου είναι ο μόνος αναγνωρισμένος εξωγενής παράγοντας που έχει αναγνωριστεί ότι συμβάλλει στην ανάπτυξη γλοιοβλαστώματος. Δεν έχει αποδειχθεί η συσχέτιση του γλοιοβλαστώματος με το κάπνισμα ή άλλους καρκινογόνους παράγοντες, αν και έχει σημειωθεί αυξημένη συχνότητα εμφάνισης γλοιοβλαστώματος σε ανθρώπους που έκαναν μονόπλευρη χρήση κινητού τηλεφώνου για τουλάχιστον 10 χρόνια. (Wirsching *et al.*, 2016; Alifieris & Trafalis, 2015; Ostrom *et al.*, 2016)

Ο ιδιαίτερα επιθετικός χαρακτήρας της εξάπλωσης του γλοιοβλαστώματος οφείλεται στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της αλληλεπίδρασης των καρκινικών κυττάρων με το μικροπεριβάλλον του εγκεφάλου. Τα γλοιώματα φαίνεται να εξαπλώνονται σε μεγαλύτερες αποστάσεις σε σύγκριση με άλλους εγκεφαλικούς όγκους. Τα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος τυπικά πολλαπλασιάζονται εντός του εγκεφάλου και σπάνια κάνουν



μετάσταση σε άλλους ιστούς. Διαμορφώνουν ένα διασυνδεδεμένο δίκτυο καρκινικών κυττάρων μέσω μικροσκληνίσκων, το οποίο διευκολύνει την εξάπλωσή τους. Επίσης, τα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος προσαρμόζονται στο εγκεφαλικό περιβάλλον και έχουν την ικανότητα να αναδιαμορφώνουν την εξωκυττάρια μήτρα, με αποτέλεσμα να μπορούν να εξαπλώνονται μέσω διαφορετικών διαδρομών. (deGooijer *et al.*, 2018)

Κατηγοριοποιήσεις γλοιοβλαστώματος

Το γλοιοβλάστωμα έχει κατηγοριοποιηθεί με βάση διάφορα κριτήρια. Ένα βασικό κριτήριο διαχωρισμού της ασθένειας αυτής είναι η κλινική μορφή, σύμφωνα με την οποία το γλοιοβλάστωμα διαχωρίζεται σε πρωτογενές (primary) και δευτερογενές (secondary). Το πρωτογενές γλοιοβλάστωμα είναι η πιο συνήθης περίπτωση (περίπου 95%) και κατά κανόνα εμφανίζεται de novo σε μεγαλύτερους ασθενείς, σε χρονικό διάστημα 3-6 μηνών. Το δευτερογενές γλοιοβλάστωμα εμφανίζεται σε νεότερους ασθενείς ως εξέλιξη αστροκυττώματος χαμηλότερου βαθμού, και εκδηλώνεται σε χρονικό διάστημα 10-15 χρόνων. Οι δύο αυτές κατηγορίες παρουσιάζουν διαφορές σε μοριακό επίπεδο, με το πρωτογενές γλοιοβλάστωμα να έχει συνήθως ενισχυμένο, μεταλλαγμένο υποδοχέα επιδερμοειδούς αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor receptor - EGFR), ενώ το δευτερογενές γλοιοβλάστωμα παρουσιάζει αυξημένη σηματοδότηση μέσω του υποδοχέα PDGF-A. Το πρωτογενές γλοιοβλάστωμα συνήθως παρουσιάζει ενίσχυση του γονιδίου MDM2, μεταλλάξεις του γονιδίου PTEN και ομόζυγες διαγραφές του γονιδίου CDKN2A, ενώ το δευτερογενές γλοιοβλάστωμα συνήθως παρουσιάζει πιο έντονες μεταλλάξεις στα γονίδια p53, IDH1, ενίσχυση του γονιδίου MET και υπερέκφραση του γονιδίου PDGFRA. Τέλος, η εξέλιξη γλιώματος χαμηλότερου βαθμού σε γλοιοβλάστωμα υψηλότερου βαθμού σχετίζεται με απενεργοποίηση του γονιδίου ρετινοβλαστώματος (RB1) και αυξημένη ενεργή και αυξημένη δράση της πρωτεΐνης HDM2. Παρά τις μοριακές διαφορές τους, το πρωτογενές και δευτερογενές γλοιοβλάστωμα παρουσιάζουν ομοιότητες όσον αφορά την ανταπόκριση των μεταβολικών μονοπατιών στη θεραπευτική αγωγή. Οι μεταλλάξεις και των δύο τύπων γλοιοβλαστώματος συνεπάγονται αυξημένη δραστηριότητα του υποδοχέα κινάσης τυροσίνης (tyrosine kinase receptor, TKR) και κατ' επέκταση ενεργοποίηση των μεταβολικών μονοπατιών RAS, PI3K. Επίσης, και οι δύο τύποι γλοιοβλαστώματος χαρακτηρίζονται από μη φυσιολογική ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και των μονοπατιών σηματοδότησης που επηρεάζονται από αυξητικούς παράγοντες, δύο συστήματα που έχουν σημαντικό ρόλο στην αυξημένη κυτταρική ανάπτυξη, την αναστολή της απόπτωσης, την αγγειογένεση και τη εξάπλωση. (Alifieris & Trafalis, 2015)

Το γλοιοβλάστωμα έχει ακόμη κατηγοριοποιηθεί με κριτήριο τις γενετικές μεταβολές και τα προφίλ έκφρασης των γονιδίων PDGFRA, EGFR, NF1 και IDH1 σε τέσσερις υπότυπους, τον προνευρικό (proneural), νευρικό (neural), μεσεγχυματικό (mesenchymal), και κλασικό (classical). Ο κλασικός υπότυπος χαρακτηρίζεται από ασυνήθιστη ενίσχυση του γονιδίου EGFR, αστροκυτταρικό προφίλ έκφρασης και απώλεια του χρωμοσώματος 10, ενώ οι



μεταλλάξεις των γονιδίων IDH1, TP53 και NF1 δεν είναι συχνές. Ο μεσεγχυματικός υπότυπος χαρακτηρίζεται από μεταλλάξεις των γονιδίων NF1 και PTEN, μεσεγχυματικό προφίλ έκφρασης και μικρότερη ενίσχυση του EGFR σε σύγκριση με τους υπόλοιπους υπότυπους γλοιοβλαστώματος. Ο προνευρικός υπότυπος χαρακτηρίζεται από ενίσχυση του PDGRA, μεταλλάξεις στα γονίδια TP53, IDH1, ολιγοδενδροκυτταρικό προφίλ έκφρασης και μικρότερη ηλικία εκδήλωσης. Τέλος, ο νευρικός υπότυπος χαρακτηρίζεται από φυσιολογικό προφίλ γενετικής έκφρασης και αστροκυτταρικούς και ολιγοδενδροκυτταρικούς δείκτες. Ο προνευρικός υπότυπος συσχετίζεται με μεγαλύτερο διάστημα επιβίωσης σε σύγκριση με τους υπόλοιπους υπότυπους. Παρ' όλα αυτά, οι ασθενείς με κλασικό ή μεσεγχυματικό γλοιοβλάστωμα φαίνονται να ανταποκρίνονται περισσότερο σε επιθετικές θεραπείες. (Lee *et al.*, 2018; Scott & Kesari, 2018)

Άλλη μία παρεμφερής κατηγοριοποίηση του γλοιοβλαστώματος έχει γίνει με κριτήριο τα επικρατέστερα χαρακτηριστικά από τη γονιδιακή λίστα κάθε υποκατηγορίας σε τρεις υπότυπους, τον προνευρικό (proneural), τον πολλαπλασιαστικό (proliferative) και τον μεσεγχυματικό (mesenchymal). Ο πολλαπλασιαστικός υπότυπος χαρακτηρίζεται από υπερέκφρασμένους δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, ενώ ο μεσεγχυματικός υπότυπος χαρακτηρίζεται από υπερέκφραση των δεικτών VEGF, PECAM1. Από τους τρεις υπότυπους, ο προνευρικός έχει συσχετιστεί με το καλύτερο ποσοστό επιβίωσης. Η παραπάνω ταξινόμηση έχει αποδειχθεί ότι έχει προγνωστική αξία. (Lee *et al.*, 2018; Scott & Kesari, 2018)

Ίσως η πιο σημαντική κατηγοριοποίηση του γλοιοβλαστώματος, που επιλέχθηκε από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, γίνεται με βάση το κριτήριο της μετάλλαξης του γονιδίου IDH1. Η απουσία μετάλλαξης στο γονίδιο IDH1 παρατηρείται κυρίως στο πρωτογενές γλοιοβλάστωμα, συνδέεται με χαμηλές πιθανότητες επιβίωσης και αντιστοιχεί στην κατηγορία IDH άγριου τύπου (IDH-wildtype). Αντίθετα, η ύπαρξη μετάλλαξης στο γονίδιο IDH1 εμφανίζεται κυρίως στα δευτερογενή γλοιοβλαστώματα και στους νεότερους ασθενείς, συνδέεται με καλύτερες πιθανότητες επιβίωσης και αντιστοιχεί στην κατηγορία γλοιοβλαστώματος IDH μεταλλαγμένο (IDH-mutant). Στην περίπτωση που δεν είναι δυνατός ο έλεγχος του γονιδίου IDH1, χρησιμοποιείται ο χαρακτηρισμός NOS (not otherwise specified). Τα περισσότερα γλοιοβλαστώματα με μεταλλάξεις του γονιδίου IDH1 έχουν το προνευρικό προφίλ γενετικής έκφρασης, αλλά μόνο το 30% των προνευρικών γλοιοβλαστωμάτων έχουν τη μετάλλαξη IDH1. Με βάση τα παραπάνω, η μετάλλαξη IDH1 είναι ο εγκυρότερος διαγνωστικός μοριακός δείκτης για το γλοιοβλάστωμα, και συνιστά ένα πιο αξιόπιστο κριτήριο από ό,τι τα κλινικά ή παθολογικά. (Louis *et al.*, 2016; McFaline-Figueroa & Lee, 2018; [Alifieris & Trafalis, 2015](#); [Ohgaki *et al.*, 2013](#); [Scott & Kesari, 2018](#))

Θεραπεία

Η κύρια θεραπευτική μέθοδος για την αντιμετώπιση του γλοιοβλαστώματος είναι κατ' αρχήν η χειρουργική αφαίρεση του μεγαλύτερου δυνατού ποσοστού του όγκου και ακολούθως η εφαρμογή ενός συνδυασμού ραδιοθεραπείας και χημειοθεραπείας. Η θεραπευτική αγωγή



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

είναι παρόμοια για τους νεότερους και τους ηλικιωμένους ασθενείς με γλοιοβλάστωμα, με στόχο τη μεγιστοποίηση του θεραπευτικού οφέλους και την ελαχιστοποίηση του κινδύνου. Παρ' όλα αυτά, στην περίπτωση των ηλικιωμένων ασθενών είναι απαραίτητη μια πιο λεπτομερής εκτίμηση των ωφελειών και των κινδύνων, δεδομένο ότι τα οφέλη είναι λιγότερα σε σύγκριση με τους νεότερους ασθενείς. Οι επιλογές περιλαμβάνουν συνδυασμό ραδιοθεραπείας και χημειοθεραπείας, μόνο ραδιοθεραπεία ή μόνο χημειοθεραπεία. (Lee *et al.*, 2018; Alifieris & Trafalis, 2015; Tipping *et al.*, 2017; Sousa *et al.*, 2018; Wick *et al.*, 2018)

Η χειρουργική επέμβαση είναι χρήσιμη τόσο για την αντιμετώπιση του γλοιοβλαστώματος όσο και για την δειγματοληψία ιστών από διαφορετικές περιοχές του όγκου, επιτρέποντας τον χαρακτηρισμό των διαφορετικών περιοχών του όγκου. Στα πλαίσια της αναγνώρισης αυτής, η χειρουργική επέμβαση μπορεί να εμπλουτιστεί με φθορισμό με στόχο την επισήμανση των τμημάτων του γλοιοβλαστώματος με υψηλότερα ή χαμηλότερα επίπεδα οξυγόνου και διαφορετικό περιεχόμενο βλαστοκυττάρων, ή με διαχειρουργική μαγνητική τομογραφία για τη βελτιστοποίηση της μακροσκοπικής αφαίρεσης όγκου. Η έκταση της χειρουργικής αφαίρεσης είναι συχνά ένας από τους πιο σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες στις κλινικές δοκιμές. Συνήθως είναι αδύνατη η αφαίρεση ολόκληρου του όγκου, αφ' ενός γιατί τα καρκινικά κύτταρα του γλοιοβλαστώματος εισβάλλουν στους γειτονικούς ιστούς με ιδιαίτερη επιθετικότητα, αφ' ετέρου γιατί παράγοντες όπως το σχήμα και το μέγεθος του όγκου, η τοποθεσία των αγγείων και οι νευρολογικές συντεταγμένες μπορεί να είναι περιοριστικοί. (Sousa *et al.*, 2018; [Wick *et al.*, 2018](#))

Η ραδιοθεραπεία μετά τη χειρουργική αφαίρεση συνήθως διεκπεραιώνεται σε χρονικό διάστημα 6 εβδομάδων, 5 συνεδρίες την εβδομάδα. Η ραδιοθεραπεία λειτουργεί προκαλώντας βλάβες στο DNA των βαλλόμενων κυττάρων, οδηγώντας τα σε απόπτωση. Η αντίσταση στη ραδιοθεραπεία εκδηλώνεται συχνά στα περιστατικά γλοιοβλαστώματος, φαινόμενο που πιθανώς οφείλεται στον μεταλλαγμένο υποδοχέα EGFRVIII, ο οποίος εμπλέκεται στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. (Sousa *et al.*, 2018)

Η χημειοθεραπεία για την αντιμετώπιση του γλοιοβλαστώματος περιλαμβάνει κυρίως το κυτταροτοξικό φάρμακο τεμοζολομίδη (TMZ), το οποίο χορηγείται από τη στοματική οδό σε δοσολογία 150–200mg/m², μέρες 1-5, για 4 εβδομάδες. Το τεμοζολομίδη προκαλεί κυτταρική απόπτωση με μεθυλίωση των πουρίνων του DNA. Η ανταπόκριση σε αυτή τη θεραπεία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την παρουσία της πρωτεΐνης MGMT (O-6-methylguanine-DNA methyltransferase) στο μικροπεριβάλλον του όγκου, αφού έχει τη δυνατότητα να επιδιορθώνει το DNA μετά από γενετικές κακώσεις μέσω μεθυλιακών παραγόντων. Παρά τον προγνωστικό χαρακτήρα του γονιδίου MGMT όσον αφορά την επιτυχία της χημειοθεραπείας με τεμοζολομίδη, ο έλεγχος του γονιδίου αυτού μέχρι στιγμής δεν έχει σημαντική επίδραση στις κλινικές αποφάσεις, με εξαίρεση τους ηλικιωμένους ασθενείς. Η επέκταση της χημειοθεραπείας με τεμοζολομίδη πέρα από τους 6 κύκλους δεν έχει αποδειχθεί ότι επιφέρει θεραπευτικό όφελος. Αντίθετα, υπάρχουν ενδείξεις για όφελος στη συνολική διαβίωση από το συνδυασμό ραδιοθεραπείας με τεμοζολομίδη και τον παράγοντα lomustine (CCNU). ([Wick *et al.*, 2018](#); Sousa *et al.*, 2018)



Τα GLIADEL Wafers (carmustine implants) είναι βιοδιασπώμενα συμπολυμερή εμποτισμένα με τον κυτταροτοξικό παράγοντα carmustine. Αναπτύχθηκαν τη δεκαετία του 1990 για τη θεραπεία του γλοιοβλαστώματος με στόχο την παράκαμψη του μη διαπερατού από τους αντικαρκινικούς παράγοντες φράγματος αίματος-εγκεφάλου. Τα αποτελέσματα των σχετικών κλινικών δοκιμών έδειξαν ότι ο συνδυασμός των GLIADEL Wafers, της ραδιοθεραπείας και της χημειοθεραπείας με τεμοζολομίδη προσφέρουν θεραπευτικό όφελος. Αποτέλεσμα της εφαρμογής των τριών αυτών θεραπειών είναι η αύξηση του μέσου χρόνου διαβίωσης κατά περίπου 2 μήνες σε σύγκριση με την εφαρμογή μόνο ραδιοθεραπείας. (Ashby *et al.*, 2016)

Τα Tumor-Treating fields (TTFields) είναι ηλεκτρικά εναλλασσόμενα πεδία χαμηλής έντασης που μεταδίδονται μέσω ηλεκτροδίων, τα οποία τοποθετούνται στο κρανίο του ασθενή και συνδέονται σε μία φορητή συσκευή. Τα TTFields λειτουργούν εμποδίζοντας τον μιτωτικό κυτταρικό κύκλο, οδηγώντας τα κύτταρα σε απόπτωση. Έχουν εφαρμοστεί σε μία ποικιλία κατηγοριών όγκων με ελπιδοφόρα αποτελέσματα. Η εφαρμογή των TTFields σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθέν γλοιοβλάστωμα σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία με τεμοζολομίδη επιμήκυνε την συνολική επιβίωση (overall survival, OS) και τη συνολική επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (progression-free survival, PFS), με αποτέλεσμα το 2015 να εγκριθούν από τον FDA ως θεραπευτική αγωγή για νεοδιαγνωσθέν γλοιοβλάστωμα. (Hottinger *et al.*, 2016; Wick *et al.*, 2018)

Στην περίπτωση επανεμφάνισης του γλοιοβλαστώματος, η αντιμετώπισή του βασίζεται στο ίδιο πρωτόκολλο, δηλαδή χειρουργική αφαίρεση του όγκου ακολουθούμενη από συμπληρωματική ραδιοθεραπεία και χημειοθεραπεία. Όπως έχει προαναφερθεί, το γλοιοβλάστωμα προκαλεί τη δημιουργία νέων αγγείων στην τοποθεσία των καρκινικών κυττάρων του, με χαρακτηριστικό την υψηλή έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα VEGF. Επομένως, μία επιπλέον μέθοδος αντιμετώπισης του επανεμφανιζόμενου γλοιοβλαστώματος είναι η αντιαγγειογενετική θεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα bevacizumab. (Sousa *et al.*, 2018)

Το bevacizumab (BEV) είναι ένα εξανθρωπισμένο μονοκλωνικό αντίσωμα (IgG1) που στοχεύει στον παράγοντα VEGF και έχει επιστρατευτεί για τη θεραπεία αρκετών ειδών καρκίνου. Λειτουργεί προσδένοντας στον παράγοντα VEGF, αποτρέποντας τη σύνδεσή του με τους κατ'εξοχήν υποδοχείς του, και κατ'επέκταση εμποδίζοντας τη δημιουργία νέων αγγείων. Η εφαρμογή του bevacizumab για την αντιμετώπιση του γλοιοβλαστώματος είχε μέτρια αποτελέσματα, αφού σύμφωνα με δύο κλινικές δοκιμές η χρήση του ως θεραπεία πρώτης γραμμής δεν παρουσίασε πλεονέκτημα έναντι της ραδιοθεραπείας και της χορήγησης TMZ. Με βάση τα υποσχόμενα αποτελέσματα άλλων κλινικών δοκιμών, εγκρίθηκε από τον FDA για τη θεραπεία του επανεμφανιζόμενου γλοιοβλαστώματος το 2009. Η συνήθης δοσολογία του bevacizumab είναι 10mg/kg κάθε 2 εβδομάδες ως μοναδικός παράγοντας, ή 125mg/m² κάθε 2 εβδομάδες σε συνδυασμό με τον παράγοντα irinotecan, με τη βελτιστοποίηση της δοσολογίας και τη διάρκεια της θεραπείας να παραμένουν αντικείμενο έρευνας. Το bevacizumab μέχρι στιγμής δεν έχει συνδεθεί με κάποιο βιοδείκτη ή γενετική ένδειξη που να



οδηγεί σε κάποια πρόβλεψη ως προς την ανταπόκριση των ασθενών σε αυτό. Σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες, βελτιώνει τη διαβίωση των ασθενών. (Sousa *et al.*, 2018; Tipping *et al.*, 2017)

Αντισώματα με διαφορετικούς από τον VEGF στόχους είναι αντικείμενα μελέτης για τη θεραπεία του γλοιοβλαστώματος. Συγκεκριμένα, έχει διερευνηθεί η θεραπευτική δράση αντισωμάτων που έχουν στόχο τον υποδοχέα EGFR, όπως τα cetuximab, nimotuzumab, ranitumumab, με μέτρια μέχρι στιγμής αποτελέσματα. Μέχρι στιγμής, το bevacizumab παραμένει το μόνο μονοκλωνικό αντίσωμα που έχει εγκριθεί για θεραπεία του γλοιοβλαστώματος. Οι βασισμένες σε αντισώματα θεραπείες του γλοιοβλαστώματος, αν και αρκετά υποσχόμενες, έχουν περιορισμούς που οφείλονται στο χαμηλό ποσοστό διαπέρασης του φράγματος αίματος-εγκεφάλου από τα αντισώματα, αφ' ενός λόγω του μεγάλου μοριακού μεγέθους των αντισωμάτων, αφ' ετέρου λόγω του ότι η Fc περιοχή των αντισωμάτων κάποτε προσδένεται στους υποδοχείς FcγRIIb των μακροφάγων ή λευκοκυττάρων, με αποτέλεσμα να μην έχουν επίδραση στα καρκινικά κύτταρα. (Sousa *et al.*, 2018)

Ένας υποσχόμενος τρόπος βελτίωσης της συστημικής θεραπείας του γλοιοβλαστώματος είναι με τη χρήση νανοτεχνολογίας, δηλαδή σωματιδίων με μέγεθος της τάξης νανομέτρων. Συγκεκριμένα, τα νανοσωματίδια έχουν χρησιμοποιηθεί ως μεταφορείς θεραπευτικών παραγόντων στον εγκέφαλο, επιτυγχάνοντας καλύτερη διαπέραση του φράγματος αίματος-εγκεφάλου και μεγαλύτερη τοπική συγκέντρωση των θεραπευτικών παραγόντων στον εγκέφαλο. Παραδείγματα νανοσωματιδίων είναι τα λιποσώματα, τα πολυμερικά νανοσωματίδια, τα στερεά λιπώδη νανοσωματίδια, και τα μεταλλικά σωματίδια. Οι νανομεταφορείς για τη θεραπεία του γλοιοβλαστώματος έχουν εξεταστεί σε κάποιες κλινικές μελέτες με υποσχόμενα αποτελέσματα, παρουσιάζοντας κλινική ασφάλεια και βελτιωμένες φαρμακοκινητικές ιδιότητες. (Glaser *et al.*, 2017)

Τέλος, μία νέα υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση για το γλοιοβλάστωμα είναι η ρύθμιση του μεταβολισμού, και συγκεκριμένα η μείωση της διαθέσιμης γλυκόζης στο αίμα με την κετογενική διαίτα. Η λογική της μεθόδου αυτής στηρίζεται στο ότι οι κακοήθεις όγκοι έχουν ιδιαίτερα αυξημένες ανάγκες σε γλυκόζη, με αποτέλεσμα η ελάττωση της διαθεσιμότητάς της να συμβάλλει στην αναχαίτιση της καρκινικής ανάπτυξης. Οι κλινικές δοκιμές που εφάρμοσαν αυτή την προσέγγιση είχαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, και αναμένεται η περαιτέρω διερεύνηση της αποτελεσματικότητάς της. (Woolf *et al.*, 2016)

<https://www.abta.org/>

<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/brain-tumor/symptoms-causes/syc-20350084>

<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/embryonal-tumor/cdc-20367985>

<https://www.cancer.net/cancer-types/brain-tumor/introduction>

<https://www.cancer.gov/nci/rare-brain-spine-tumor/tumors/ependymoma>



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Βιβλιογραφία

- Alifieris, C., & Trafalis, D. T. (2015). Glioblastoma multiforme: Pathogenesis and treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, 152, 63–82. <http://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2015.05.005>
- Ashby, L. S., Smith, K. A., & Stea, B. (2016). Gliadel wafer implantation combined with standard radiotherapy and concurrent followed by adjuvant temozolomide for treatment of newly diagnosed high-grade glioma: a systematic literature review. *World Journal of Surgical Oncology*, 14(1), 225. <http://doi.org/10.1186/s12957-016-0975-5>
- Dancey, J. E. (2014). Biomarker Discovery and Development through Genomics. *Cancer Genomics*, 93–107. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-396967-5.00007-4>
- de Gooijer, M. C., Guillén Navarro, M., Bernards, R., Wurdinger, T., & van Tellingen, O. (2018). An Experimenter's Guide to Glioblastoma Invasion Pathways. *Trends in Molecular Medicine*, 24(9), 763–780. <http://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2018.07.003>
- de Gooijer, M. C., Guillén Navarro, M., Bernards, R., Wurdinger, T., & van Tellingen, O. (2018). An Experimenter's Guide to Glioblastoma Invasion Pathways. *Trends in Molecular Medicine*, 24(9), 763–780. <http://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2018.07.003>
- Felder, M., Kapur, A., Gonzalez-Bosquet, J., Horibata, S., Heintz, J., Albrecht, R., Patankar, M. S. (2014). MUC16 (CA125): tumor biomarker to cancer therapy, a work in progress. *Molecular Cancer*, 13(1), 129. <http://doi.org/10.1186/1476-4598-13-129>
- Glaser, T., Han, I., Wu, L., & Zeng, X. (2017). Targeted Nanotechnology in Glioblastoma Multiforme. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 166. <http://doi.org/10.3389/fphar.2017.00166>
- Gusyatiner, O., & Hegi, M. E. (2018). Glioma epigenetics: From subclassification to novel treatment options. *Seminars in Cancer Biology*, 51, 50–58. <http://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2017.11.010>
- Hottinger, A. F., Pacheco, P., & Stupp, R. (2016). Tumor treating fields: a novel treatment modality and its use in brain tumors. *Neuro-Oncology*, 18(10), 1338–49. <http://doi.org/10.1093/neuonc/now182>
- Lapointe, S., Perry, A., & Butowski, N. A. (2018). Primary brain tumours in adults. *The Lancet*, 392(10145), 432–446. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30990-5](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30990-5)
- Lee, E., Yong, R. L., Paddison, P., & Zhu, J. (2018). Comparison of glioblastoma (GBM) molecular classification methods. *Seminars in Cancer Biology*, 53, 201–211. <http://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2018.07.006>
- Lee, E., Yong, R. L., Paddison, P., & Zhu, J. (2018). Comparison of glioblastoma (GBM) molecular classification methods. *Seminars in Cancer Biology*, 53, 201–211. <http://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2018.07.006>
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., ... Ellison, D. W. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathologica*, 131(6), 803–820. <http://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., ... Ellison, D. W. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous



System: a summary. *Acta Neuropathologica*, 131(6), 803–820. <http://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>

McFaline-Figueroa, J. R., & Lee, E. Q. (2018). Brain Tumors. *The American Journal of Medicine*, 131(8), 874–882. <http://doi.org/10.1016/J.AMJMED.2017.12.039>

McFaline-Figueroa, J. R., & Lee, E. Q. (2018). Brain Tumors. *The American Journal of Medicine*, 131(8), 874–882. <http://doi.org/10.1016/J.AMJMED.2017.12.039>

Nair, M., Sandhu, S. S., & Sharma, A. K. (2018). Cancer molecular markers: A guide to cancer detection and management. *Seminars in Cancer Biology*, 52, 39–55. <http://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2018.02.002>

Nair, M., Sandhu, S. S., & Sharma, A. K. (2018). Cancer molecular markers: A guide to cancer detection and management. *Seminars in Cancer Biology*, 52, 39–55. <http://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2018.02.002>

Ohgaki, H., & Kleihues, P. (2013). The Definition of Primary and Secondary Glioblastoma. *Clinical Cancer Research*, 19(4), 764–772. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-3002>

Ostrom, Q. T., Gittleman, H., Farah, P., Ondracek, A., Chen, Y., Wolinsky, Y., ... Barnholtz-Sloan, J. S. (2013). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2006-2010. *Neuro-Oncology*, 15(suppl 2), ii1-ii56. <http://doi.org/10.1093/neuonc/not151>

Ostrom, Q. T., Liao, P., Stetson, L. C., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2016). Epidemiology of Glioblastoma and Trends in Glioblastoma Survivorship. In *Glioblastoma*. <http://doi.org/10.1016/B978-0-323-47660-7.00002-1>

Quail, D. F., & Joyce, J. A. (2017). The Microenvironmental Landscape of Brain Tumors. *Cancer Cell*, 31(3), 326–341. <http://doi.org/10.1016/J.CCELL.2017.02.009>

Scott, B. J., & Kesari, S. (2018). An Overview of Molecular Genetics of Brain Tumors. *Handbook of Brain Tumor Chemotherapy, Molecular Therapeutics, and Immunotherapy*, 249–255. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-812100-9.00017-6>

So, H., Kim, S. A., Yoon, D. H., Khang, S. K., Hwang, J., Suh, C. H., & Suh, C. (2014). Primary Histiocytic Sarcoma of the Central Nervous System. *Cancer Research and Treatment*, 47(2), 322–328. <http://doi.org/10.4143/crt.2013.163>

Sousa, F., Moura, R. P., Moreira, E., Martins, C., & Sarmiento, B. (2018). Therapeutic Monoclonal Antibodies Delivery for the Glioblastoma Treatment. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 112, 61–80. <http://doi.org/10.1016/BS.APCSB.2018.03.001>

Tipping, M., Eickhoff, J., & Ian Robins, H. (2017). Clinical outcomes in recurrent glioblastoma with bevacizumab therapy: An analysis of the literature. *Journal of Clinical Neuroscience*, 44, 101–106. <http://doi.org/10.1016/J.JOCN.2017.06.070>

Wick, W., & Platten, M. (2018). Understanding and Treating Glioblastoma. *Neurologic Clinics*, 36(3), 485–499. <http://doi.org/10.1016/J.NCL.2018.04.006>

Wirsching, H.-G., & Galanis, E. (2016). Glioblastoma. *Handbook of Clinical Neurology*, 134, 381–397. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2>



Woolf, E. C., Syed, N., & Scheck, A. C. (2016). Tumor Metabolism, the Ketogenic Diet and β -Hydroxybutyrate: Novel Approaches to Adjuvant Brain Tumor Therapy. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 9, 122. <http://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00122>

1.1.3. Περιγραφή του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης και της επίπτωσης στην ανάπτυξη, μετάσταση και αγγειογένεση κυτταρικών σειρών με γλειοβλάστωμα

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα γλοιώματα είναι ο συνηθέστερος πρωτογενής ενδογενής όγκος στον εγκέφαλο και ταξινομούνται ως χαμηλής ή υψηλής ποιότητας σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ). Οι ασθενείς με υψηλού βαθμού γλοιώματα [High Grade Gliomas, (HGG)] που υποβάλλονται σε χειρουργική εκτομή με ανοσοενισχυτική θεραπεία έχουν μέση συνολική επιβίωση 15 μηνών και 100% υποτροπή (Xavier-Magalhaes A *et al.*, 2013, Louis DN *et al.*, 2016. Το σύστημα ρενίνης - αγγειοτενσίνης (RAS), ο πρωταρχικός ρυθμιστής της καρδιαγγειακής κυκλοφορίας, επιδεικνύει τοπική δράση και λειτουργεί ως παρακρινικό σύστημα. Στο πλαίσιο αυτής της τοπικής ρύθμισης, η έκφραση των RAS πεπτιδίων και υποδοχέων έχει ανιχνευθεί σε διαφορετικά είδη όγκων, συμπεριλαμβανομένων των γλοιωμάτων (Wegman-Ostrosky T *et al.*, 2015).

Η δυσλειτουργία των RAS συστατικών παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό, την αγγειογένεση και την εισβολή αυτών των όγκων, και συνεπώς στα αποτελέσματά τους. Η μελέτη και η πιθανή εφαρμογή των RAS πεπτιδίων και υποδοχέων ως βιοδείκτες σε γλοιώματα θα πρέπει να αποτελέσει σημείο εξέτασης για το μέλλον γιατί μπορεί να επιφέρει πλεονεκτήματα έναντι των περιορισμών που εμφανίζουν οι σημερινοί δείκτες όγκου. Η στόχευση των RAS συστατικών από αναστολείς RAS έχει δείξει πιθανότητα να προστατεύει από καρκίνο και να βελτιώνει την ανοσοθεραπεία.

Οι αναστολείς RAS έχουν δείξει ένα ευρύ φάσμα ευεργετικών αποτελεσμάτων στα γλοιώματα και λαμβάνονται υπ' όψιν για χρήση σε πρωτόκολλα θεραπείας. Παρακάτω, θα συνοψίσουμε τον τρόπο με τον οποίο το RAS συμμετέχει στη γένεση των γλοιωμάτων και θα διερευνήσουμε τα στοιχεία εκείνα που θα μπορούσαν να οδηγήσουν στη χρήση τους ως βιοδείκτες και βοηθητικά θεραπείας.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα διάχυτα γλοιώματα έχουν υψηλό ρυθμό επανεμφάνισης και τάση εξέλιξης από χαμηλής ποιότητας (βαθμού II) έως υψηλής ποιότητας όγκων, είτε αναπλαστικού βαθμού III είτε ακόμη δευτερογενούς γλιοβλαστώματος [Glioblastomas, (GBM)] βαθμού IV. Λόγω του επιθετικού χαρακτήρα τους, τα GBMs θεωρούνται ανίατα και έχουν δυσμενή πρόγνωση με σημαντική νοσηρότητα. Η ολική εκτομή [Cross Total Resection, (GTR)] των διάχυτων γλοιωμάτων δεν εμποδίζει την επανεμφάνιση (Ferris SP *et al.*, 2017). Για τους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με GTR, επικουρική θεραπεία με ακτινοβολία και



χημειοθεραπεία ανοσοενισχυτικού με τεμοζολομίδη [Temozolomide, (TMZ)], η μέση επιβίωση είναι 14,6 μήνες (Stupp R *et al.*, 2009).

Δεδομένου ότι οι τρέχουσες θεραπείες έχουν περιορισμένο όφελος, είναι απαραίτητο να διερευνηθούν νέοι τρόποι προσέγγισης της διάγνωσης και θεραπείας των γλοιομάτων, συμπεριλαμβανομένης της ενσωμάτωσης μοριακών στόχων στη διαχείρισή τους (Aldape K *et al.*, 2015). Υπάρχουν πολλά γονίδια που έχουν προταθεί ως βιομοριακοί δείκτες επιθετικών ασθενειών που παρέχουν ενδείξεις της παθοφυσιολογίας των όγκων του εγκεφάλου υποδεικνύοντας μερικούς πιθανούς στόχους για θεραπεία (Karsy M *et al.*, 2015).

Στο GBM, η πλειοψηφία αυτών των δεικτών ανιχνεύεται απευθείας από ιστό όγκου. Συγκριτικά, οι πρωτεΐνες που κυκλοφορούν στο αίμα που παρατηρούνται σε άλλους τύπους καρκίνου (όπως το ειδικό για τον προστάτη αντιγόνο στον καρκίνο του προστάτη) χρησιμεύουν ως δείκτες της νόσου δίνοντας πολύτιμες πληροφορίες για τη διαφορική διάγνωση, την πρόγνωση και την ανταπόκριση στη θεραπεία με λιγότερο επεμβατικό τρόπο (Preusser M *et al.*, 2014).

Τα τελευταία χρόνια, έχουν προταθεί δέκα μηχανισμοί γνωστοί ως "χαρακτηριστικά γνωρίσματα" του καρκίνου για να εξηγήσουν τη διαδρομή που παίρνουν τα καρκινικά κύτταρα για να αποκτήσουν τα χαρακτηριστικά που τα καταστούν κακοήθη (Hanahan D *et al.*, 2011)

Αυτά τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα συνδέονται με πολλά βιοχημικά μονοπάτια που αποτέλεσαν το επίκεντρο πολλών ερευνών, συμπεριλαμβανομένου του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης (RAS) (Wegman-Ostrosky T *et al.*, 2015). Το σύστημα RAS έχει μελετηθεί ως θεμελιώδες συστημικό συστατικό της καρδιαγγειακής ομοιόστασης. Ωστόσο, το RAS εκφράζεται επίσης σε αρκετούς ιστούς και όργανα (ήπαρ, νεφρά, πάγκρεας, αναπαραγωγικά όργανα, εγκέφαλο), όπου έχει παρακρινική ρύθμιση. Είναι ενδιαφέρον ότι μερικές από αυτές τις τοπικές επιδράσεις σχετίζονται με καρκινογένεση συμπεριλαμβανομένης της γένεσης των γλοιομάτων (Ager EI *et al.*, 2008).

Οι επιδημιολογικές μελέτες έχουν διφορούμενη άποψη σχετικά με τη χρήση αντιυπερτασικών φαρμάκων ως προστατευτικών παραγόντων κατά του καρκίνου. Μια από τις πρώτες μελέτες για τη διερεύνηση της προστατευτικής επίδρασης των αναστολέων RAS στον καρκίνο σε κλινικό περιβάλλον ήταν μια αναδρομική μελέτη κοόρτης με βάση 5207 ασθενείς, η οποία διαπίστωσε ότι η συχνότητα εμφάνισης θανατηφόρων καρκίνων μειώθηκε σε ασθενείς με μακροχρόνια χρήση αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης-2 [Angiotensin-2-Converting-Enzyme-Inhibitors (ACEI)] (Lever AF *et al.*, 1998). Οι άλλες επιδημιολογικές μελέτες έχουν συνδυάσει τον γονότυπο με τη θεραπεία των αναστολέων RAS, όπως η μελέτη του Rotterdam, μια προοπτική μελέτη κοόρτης με 7983 συμμετέχοντες με 1 από 4 καρκίνους (καρκίνο του παχέος εντέρου, του πνεύμονα, του μαστού ή του προστάτη). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι αναστολείς RAS φαίνεται να προστατεύουν από τον καρκίνο ασθενείς που φέρουν τον γονότυπο ACE DD (van der Knaap R *et al.*, 2008). Πρόσφατα, οι Sun H *et al.*, δημοσίευσαν μια μετα-ανάλυση που περιλάμβανε



55 μελέτες για την αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ αναστολέων RAS και υποτροπής, μετάστασης και επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνο. Διαπίστωσαν ότι εκείνοι που χρησιμοποίησαν αναστολείς RAS είχαν μεγαλύτερη επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου αλλά και επιβίωση χωρίς καθόλου ασθένεια. Επιπλέον, φαίνεται ότι η θετική επίδραση των αναστολέων RAS στη συνολική επιβίωση [Overall Survival, (OS)] εξαρτάται από τον τύπο του καρκίνου και τον τύπο του αναστολέα RAS που χρησιμοποιείται. Ο ρόλος του RAS στους όγκους του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) έχει προκαλέσει αυξανόμενο ενδιαφέρον μεταξύ των ερευνητών στον τομέα της νευρο-ογκολογίας τα τελευταία 20 χρόνια.

Το RAS παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της συστημικής κυκλοφορίας στο ανθρώπινο σώμα σαν απάντηση στη χαμηλή πίεση του αίματος ή τη μείωση των επιπέδων νατρίου στον ορό. Ένα συστατικό αυτού του μοντέλου είναι το αγγειοτενσινογόνο [Angiotensinogen (AGT)], μια πρωτεΐνη που συντίθεται και εκκρίνεται από το ήπαρ στη γενική κυκλοφορία. Αυτή η πρωτεΐνη μετατρέπεται από την πρωτεϊνική ρενίνη σε αγγειοτενσίνη I [Angiotensin I (AngI)] και στη συνέχεια, η AngI μετατρέπεται σε αγγειοτενσίνη II [Angiotensin II (AngII)] από το ένζυμο μετατροπής της πνευμονικής αγγειοτενσίνης [Angiotensin-Converting Enzyme (ACE)]. Η AngII είναι ένα ενεργό οκταπεπτίδιο το οποίο δρα κυρίως στον υποδοχέα τύπου 1 της AngII (AT1R). Αυτό προάγει την καρδιαγγειακή ομοίωση αυξάνοντας τα επίπεδα ορού της αλδοστερόνης, συσφίγγοντας τα αιμοφόρα αγγεία και αυξάνοντας την επαναρρόφηση του αλατιού και την κατακράτηση νερού.

Η νέα κατανόηση του RAS είναι περισσότερο πολύπλοκη και έχουν προστεθεί δύο σημαντικές έννοιες. Πρώτον, το σύστημα δεν εκφράζεται μόνο σε συστημικό επίπεδο αλλά λειτουργεί επίσης τοπικά σε παρακρινική λειτουργία στο αγγειακό σύστημα, στο νεφρό, στην καρδιά, στους πνεύμονες, στο ήπαρ και στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ). Δεύτερον, άλλα πεπτίδια, ένζυμα και υποδοχείς έχουν προστεθεί στο προηγούμενο πλαίσιο του δικτύου RAS και περιλαμβάνουν και άλλα βιοδραστικά πεπτίδια εκτός από την AngII. Τα νέα RAS βιοδραστικά πεπτίδια που ανακαλύφθηκαν είναι η αγγειοτενσίνη III (AngIII), η αγγειοτενσίνη IV (AngIV), η αγγειοτενσίνη (3-7) και η αγγειοτενσίνη (1-7), προερχόμενα σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό από AngII (Crowley SD *et al.*, 2012). Επιπλέον, όταν η ρενίνη απελευθερώνει Ang1 από AGT, σχηματίζεται μια πρόσθετη μεγάλη πρωτεΐνη (des (Ang I) AGT). Τόσο η AGT όσο και η des (Ang I) AGT είναι μη ανασταλτικές σερπίνες και μπορούν να αναστείλουν την αγγειογένεση (Celerier J *et al.*, 2002).

Τα αποτελέσματα των βιοδραστικών πεπτιδίων αγγειοτενσίνης εκφράζονται κυρίως μέσω του AT1R και του AT2R, αλλά και μέσω του υποδοχέα Mas, του υποδοχέα AngII τύπου 4 (AT4R), της ρυθμισμένης με ινσουλίνη αμινοπεπτιδάσης (IRAP) και του ACE2 (Crowley SD *et al.*, 2002;). Επιπλέον, το Ang- (1-7) λειτουργεί κυρίως μέσω του υποδοχέα Mas που συνδέεται με την πρωτεΐνη G [26]. Επί του παρόντος, θεωρείται ότι ο άξονας ACE2 / Ang- (1-7) / Mas και ο AngII / ATR2 είναι ανταγωνιστές του άξονα ACE / Ang II / AT1R, ιδιαίτερα υπό παθολογικές καταστάσεις (Santos RA *et al.*, 2013).



Το RAS στον εγκέφαλο

Στη δεκαετία του '80, αποδείχθηκε ότι η AngII δεν διεισδύει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό [Blood Brain Barrier (BBB)] και συνεπώς η AngII του εγκεφάλου δεν προέρχεται από το συστηματικό RAS (Harding JW *et al.*, 1988). Αργότερα, αποδείχθηκε ότι όλα τα απαραίτητα υποστρώματα και ένζυμα που απαιτούνται για τη σύνθεση, τον μεταβολισμό και τη δράση των βιοδραστικών πεπτιδίων αγγειοτενσίνης μπορούν να παραχθούν τοπικά στον εγκέφαλο, εκτός από το περιφερικό σύστημα. Παρ' όλα αυτά, όλα τα συστατικά RAS δεν έχουν βρεθεί σε ένα μόνο κύτταρο εγκεφάλου. Επιπλέον, τα διαφορετικά στοιχεία RAS του εγκεφάλου κατανέμονται σε ένα ετερογενές και αταίριαστο μοτίβο, με μερικά από αυτά τα εξαρτήματα να έχουν ευρεία κατανομή και άλλα να εντοπίζονται σε περιορισμένες θέσεις. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι ο RAS του εγκεφάλου απαιτεί ένα σύνθετο δίκτυο διακυτταρικών αλληλεπιδράσεων για την παραγωγή των βιοδραστικών νευροπεπτιδίων του, με τη δυνατότητα χρήσης βιοχημικών ή ενζυματικών οδών (Saavedra JM, 2005). Οι περιφερικές αγγειοτενσίνες είναι ικανές να αλληλεπιδράσουν με το εγκεφαλικό RAS στα περιφερικά σωματίδια [Circumventricular Organs (CVO)] που είναι δομές στον εγκέφαλο που αντιπροσωπεύουν μια σύνδεση μεταξύ του ΚΝΣ και της περιφερικής ροής του αίματος και χαρακτηρίζονται από την έλλειψη BBB και την μεγάλη τους αγγείωση (Fry M *et al.*, 2007). Θεωρείται ότι οι περιφερικά παραγόμενες αγγειοτενσίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο ορισμένων συμπεριφορών, ενδοκρινικών και αυτόνομων λειτουργιών μέσω αλληλεπιδράσεων στα CVOs. Από την άλλη πλευρά, οι αγγειοτενσίνες του εγκεφάλου εκτελούν κεντρικές δράσεις που δεν σχετίζονται άμεσα με τις συστηματικές (Ferguson AV *et al.*, 2001). Στον εγκέφαλο, αυτό το κεντρικό σύστημα έχει συνδεθεί με τη νευροφλεγμονή, τις αισθητικές πληροφορίες, τη μάθηση και τη μνήμη, τον νευροεκφυλισμό, τη νευροπροστασία, τις αντιδράσεις συναισθηματικού στρες και τη γέννηση των γλοιωμάτων (Wright JW *et al.*, 2011)

Ο Ρόλος του RAS στον καρκίνο

Πολλαπλά πειράματα έχουν καταδείξει την επίδραση του RAS στην αποφυγή των καταστολών ανάπτυξης, την απόσβεση της απόπτωσης, την πρόκληση αγγειογένεσης, την απορρύθμιση της κυτταρικής ενέργειας, καθώς και το ρόλο στην φλεγμονή, κυτταρική μετανάστευση, εισβολή και μετάσταση (George AJ *et al.*, 2011.; Li H *et al.*, 2009). Μελέτες έχουν δείξει ότι ο AT1R εκφράζεται σε διάφορους όγκους και ότι η έκφρασή του σχετίζεται σημαντικά με την ανάπτυξη του όγκου και ιδιαίτερα με πιο επιθετική ασθένεια (Leung PS *et al.*, 2003). Η Arrieta *et al.*, ανέλυσε 77 όγκους του μαστού και διαπίστωσε ότι η έκφραση του υποδοχέα AT1R σχετίζεται με υψηλότερο μιτωτικό δείκτη, κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αγγειογένεση (Arrieta O *et al.*, 2015). Οι AT1R και AT2R είναι υποδοχείς συζευγμένοι με πρωτεΐνη G (G-Protein-Coupled-Receptors, GPRs) με πλειοτροπικές δραστηριότητες και με ανταγωνιστικές επιδράσεις. Όταν ενεργοποιείται, ο AT1R προωθεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αγγειογένεση, ενώ ο AT2R έχει αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες.



Ο AT1R ενεργοποιεί αρκετές ενδοκυτταρικές οδούς σηματοδότησης (Wegman-Ostrosky T *et al.*, 2015).

Επίσης, η AngII οδηγεί στην αυξορρύθμιση του TGF- β (transforming growth factor beta) σε νευροφλεγμονώδεις διεργασίες, μέσω της ενεργοποίησης του AT1R και της θρομβοσπονδίνης-1 [Thrombospondin-1 (TSP-1)]. Είναι σημαντικό ότι η σηματοδότηση του AT1R οδηγεί σε ισχυρή διέγερση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα [Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)] (Kawai T *et al.*, 2017). Η γνώση αυτού του μηχανισμού οδήγησε στην ενδιαφέρουσα δουλειά των Levin *et al.*, όπου περιγράφεται μια καλύτερη επιβίωση σε ασθενείς με γλοιώμα που χρησιμοποιούν αναστολείς του συστήματος αγγειοτενσίνης που έλαβαν bevacizumab (BVZ) με/ χωρίς κυτταροτοξική χημειοθεραπεία σε σύγκριση με εκείνους που δεν χρησιμοποιούσαν αυτούς τους αναστολείς (Levin VA *et al.*, 2017). Παρά το γεγονός ότι ο ρόλος του AT2R στον καρκίνο είναι λιγότερο κατανοητός, είναι δυνατό να δούμε τα αποτελέσματά του όπως για παράδειγμα, σε μοντέλο AT2R knockout ποντικών, αποδείχθηκε ότι η αναστολή του AT2R καθυστερεί την ανάπτυξη όγκου με την εξασθένιση της έκφρασης του VEGF (Clere N *et al.*, 2010) .

Το RAS στην γέννηση των γλοιωμάτων και πιθανοί βιοδείκτες

Αρκετά γνωστά κλινικά κριτήρια χρησιμεύουν ως καλοί προγνωστικοί δείκτες για τα γλοιώματα, όπως νεαρή ηλικία, μέγιστη ασφαλής εκτομή, χαμηλότερος καρκινικός βαθμός (Louis DN *et al.*, 2016) και καλύτερος βαθμός απόδοσης Karnofsky ([Karnofsky Performance Score, (KPS)]. Η κλίμακα Karnofsky είναι μια κλίμακα μέτρησης που χρησιμοποιείται για να συγκρίνει την αποτελεσματικότητα των διαφορετικών θεραπειών και να αξιολογήσει την πρόγνωση σε μεμονωμένους ασθενείς. Στις πιο σοβαρές ασθένειες, όσο χαμηλότερη είναι η βαθμολογία Karnofsky, τόσο χειρότερη είναι η πιθανότητα επιβίωσης. Στην περίπτωση του GBM, ορισμένοι βιοδείκτες έχουν δείξει ότι προσφέρουν προγνωστική αξία. Από αυτούς τους δείκτες, η μετάλλαξη IDH 1/2, η μεθυλίωση του υποκινητή O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) και η απώλεια ετεροζυγωτίας [Loss Of Heterozygosity, (LOH)] του 1p19q, χρησιμοποιούνται συνήθως για διαγνωστικούς και προγνωστικούς σκοπούς και όλες θεωρούνται όλοι καλοί προγνωστικοί παράγοντες (Thakkar JP *et al.*, 2014). Ακριβώς όπως αυτοί οι βιοδείκτες σχετίζονται με καρκινογένεση, η έκφραση και η ρύθμιση των RAS γονιδίων παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και τη συμπεριφορά των όγκων, συμπεριλαμβανομένων των γλοιωμάτων. Αυτό έχει παρατηρηθεί τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* και έχει οδηγήσει στην υπόθεση ότι η ανίχνευση συγκεκριμένων RAS συστατικών μπορεί να οδηγήσει στην εφαρμογή τους ως μοριακών βιοδεικτών και ότι οι ανταγωνιστές RAS θα μπορούσαν να είναι προστατευτικοί έναντι του καρκίνου (Wegman-Ostrosky T *et al.*, 2015). Η ανακάλυψη των RAS πεπτιδίων και υποδοχέων στη GBM οδήγησε σε διάφορες μελέτες. Σε μια από αυτές το 2004 οι Juillerat-Jeanneret *et al.*, ανέφεραν ότι AGT, προρενίνη, ACE, AT1R και AT2R παράγονται και εκφράζονται από ανθρώπινα κύτταρα GBM και GBM σε κυτταρικές καλλιέργειες. Επίσης, παρατηρήθηκε η παρουσία της AGT στην ψευδοκύστη της GBM και η



έκφραση του ACE σε αγγειακό σύστημα σχετιζόμενο με όγκους. Σε άλλη μελέτη, το 2016, οι Bradshaw AR *et al.*, έδειξαν ότι τα συστατικά του RAS εκφράζονται επίσης σε καρκινικά βλαστοκύτταρα GBM. Παρακάτω περιγράφονται ορισμένα RAS συστατικά που έχουν διερευνηθεί σε σχέση με τη γέννηση των γλοιωμάτων και έχουν δώσει ενδείξεις για το πώς θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες:

AGT

Οι παράγοντες πρόβλεψης της ανταπόκρισης στο BVZ αναλύθηκαν σε υποτροπιάζοντες ασθενείς με GBM. Διαπιστώθηκε μια συσχέτιση χαμηλής έκφρασης του AGT και υψηλής έκφρασης του γονιδίου HLA τάξης II (σύμπλεγμα ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου κατηγορίας II DQ άλφα 1, HLA-DQA1) (Urup T *et al.*, 2006).

Γονίδιο ACE

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει μια συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού ACE I/D και ορισμένων τύπων καρκίνου (Medeiros R *et al.*, 2004; Sierra Diaz E *et al.*, 2009). Πρόσφατα, μια μελέτη Κινέζικου πληθυσμού προσδιόρισε τον γονότυπο του ACE DD ως παράγοντα κινδύνου για το γλοίωμα. Ο γονότυπος DD συσχετίζεται με υψηλότερη δραστικότητα ACE πλάσματος σε σύγκριση με τους άλλους γονότυπους. Αυτή η ελεγχόμενη από τη μελέτη δοκιμή συνέκρινε τους γονότυπους ACE I/D μεταξύ 800 ασθενών με γλοιώματα και 800 μαρτύρων και παρουσίασε υψηλότερη παρουσία γονότυπου ACE DD στις περιπτώσεις του γλοιώματος (Lian M *et al.*, 2015).

AT1R και AT2R

Ο AT1R ρυθμίζει θετικά μια σειρά επιδράσεων στην αγγειογένεση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη φλεγμονή και την κυτταρική απόπτωση. Αντίθετα, το AT2R μειώνει την αγγειογένεση και τη φλεγμονή. Αυτή η μεταβλητότητα στις βιολογικές αποκρίσεις υπογραμμίζει την πολυπλοκότητα του ρόλου του RAS στην αγγειογένεση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, είτε με άμεσο είτε έμμεσο τρόπο. Αυτές οι βιολογικές επιδράσεις υποδεικνύουν μια σύνδεση μεταξύ των AT1R και AT2R και του καρκίνου στον πολλαπλασιασμό των όγκων και την αγγειογένεση. Η θετική έκφραση των AT1R και AT2R σχετίζεται με τη ρύθμιση διαφορετικών ομάδων Hub γονιδίων που σχετίζονται με την εξέλιξη του γλοιώματος. (Azevedo H *et al.*, 2014).

Ang- (1-7) / υποδοχέας Mas υποδοχέα



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Έχει αποδειχθεί ότι μερικά RAS συστατικά αποτελούν μέρος ενός άξονα αντίθετης ισορροπίας που αντιτίθεται στην AngII. Μεταξύ αυτών των αντισταθμιστικών συστατικών RAS είναι η Ang- (1-7) και ο υποδοχέας MAS. Αυτός ο άξονας Ang-(1-7)/Mas παίζει έναν ρόλο κατά του όγκου, μειώνοντας την ανάπτυξη και την εισβολή σε κάποιες μορφές καρκίνου. Η *in-vitro*, Ang-(1-7)/Mas αναστολή σήμανσης από υποκοκυξίνη αύξησε την κυτταρική εισβολή και τον πολλαπλασιασμό σε GBMs (Liu B *et al.*, 2015).

Αναστολείς RAS σε γλοιώματα

Τα αντιυπερτασικά φάρμακα, ιδιαίτερα εκείνα που στοχεύουν συστατικά RAS, όπως οι αναστολείς ACE (ACEI) και ανταγωνιστές AT1R, έχουν μελετηθεί ως μια καινούρια θεραπεία για να επηρεάσουν την εξέλιξη του όγκου. Μέχρι στιγμής, υπάρχουν τέσσερις γνωστές συστάδες αναστολέων RAS: άμεσοι αναστολείς ρενίνης (DRI) (δηλ. Αλίσικρένη), ACEIs (δηλαδή καπτοπρίλη, εναλαπρίλη), αναστολείς ATK (δηλαδή λοσαρτάνη) και ανταγωνιστές αλδοστερόνης (δηλ. σπιρονολακτόνη) (Ma TK *et al.*, 2010).

Αναφορικά με τα γλοιώματα αρκετές πειραματικές διαδικασίες χρησιμοποίησαν αναστολείς RAS. Ο Rivera E *et al.*, 2001 δημοσίευσε την πρώτη μελέτη που κατέδειξε την παρουσία του AT1R στα κύτταρα του γλοιώματος, καθώς και την επίδραση του αποκλεισμού του AT1R με λοσαρτάνη (ένας επιλεκτικός ανταγωνιστής AT1R που είναι σε θέση να διασχίσει το BBB) στην ανάπτυξη του όγκου. Υψηλότερη δόση λοσαρτάνης είχε σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερη μείωση του όγκου, του μιτωτικού δείκτη, του πολλαπλασιασμού των κυττάρων και του αριθμού των τριχοειδών αγγείων. Η παρουσία αγγειογενετικών κυτοκινών που σχετίζονται με αγγειογένεση όγκου (VEGF, PDGF, bFGF, EGF, TNFα και TGF α και β) είναι ασήμαντη στον εγκέφαλο υπό κανονικές συνθήκες (Lund EL *et al.*, 1998). Ωστόσο, η διέγερση του AT1R στο γλοίωμα μπορεί να οδηγήσει στην υπερέκφραση ορισμένων από αυτούς τους παράγοντες που σχετίζονται με την ανάπτυξη και συνεπώς να προωθήσει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την αγγειογένεση.

Μια μεταγενέστερη *in vitro* μελέτη του Juillerat-Jeanperet L *et al.*, αξιολόγησε την έκφραση και τη λειτουργία των πεπτιδίων RAS και των ενζύμων σε κυτταρικές καλλιέργειες GBM. Διαπίστωσαν ότι η AGT, η προρενίνη, το ACE, ο AT1R και ο AT2R σχηματίζονται και εκφράζονται ετερογενώς σε ανθρώπινα κύτταρα GBM. Επιπλέον, ανίχνευσαν AGT στο υγρό από ανθρώπινη GBM ψευδοκύστη, καθώς και ACE σε καρκινικά αγγεία. Αυτό ενισχύει την άποψη ότι όλα τα συστατικά RAS βρίσκονται ενδεχομένως, αλλά όχι ομοιογενώς, στο περιβάλλον του όγκου.

Πρόσφατα, οι Levin VA *et al.*, 2017, δημοσίευσαν μια σχετική αναδρομική κλινική ανάλυση, η οποία αξιολόγησε τον αντίκτυπο στην επιβίωση των αναστολέων υποδοχέων αγγειοτενσίνης II [Angiotensin II Receptor Blockers (ARB)] σε ασθενείς με GBM (νεοδιαγνωσμένο και επαναλαμβανόμενο GBM) που έλαβαν χημειοθεραπεία και / ή BVZ. Επίσης σε αυτή τη μελέτη, οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία είτε με ACEIs είτε με αναστολείς



AngII, αναλύθηκαν ως η ίδια ομάδα ARBs. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η χρήση ARBs προσφέρει ένα σημαντικό πλεονέκτημα συνολικής επιβίωσης σε ασθενείς με γλοιώματα, ιδιαίτερα σε υποτροπιάζοντες ασθενείς με GBM που υποβάλλονται σε θεραπεία με χαμηλή δόση BVZ (7,5 mg / kg κάθε 3-4 εβδομάδες) με έκθεση σε ARBs. Οι GBM υπερεκφράζουν τον VEGF και άλλους παράγοντες νεοαγγείωσης και επομένως έχουν προταθεί ως αντι-αγγειογενείς θεραπείες για αυτούς τους όγκους.

Η κατανόηση του RAS και ιδιαίτερα οι μηχανισμοί και τα βιοχημικά μονοπάτια που σχετίζονται με τα γλοιώματα έχουν αναπτυχθεί με γρήγορο ρυθμό τα τελευταία χρόνια. Η επιδίωξη μιας καλύτερης κατανόησης των μονοπατιών και των σύνθετων δικτύων τους μας οδήγησε στην ανακάλυψη μιας σχέσης μεταξύ αυτής της νέας έννοιας του RAS και της γλοιογένεσης. Η ανίχνευση των πεπτιδίων RAS και των υποδοχέων σε γλοιώματα έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον ιδιαίτερα των νευροκολόγων, νευρολόγων και νευροχειρουργών λόγω της πιθανής εφαρμογής τους ως μοριακοί βιοδείκτες ή ως στόχοι για θεραπεία. Τα πλεονεκτήματα είναι σαφή, για παράδειγμα, ως βιοδείκτες, μερικά από τα συστατικά RAS μπορούν να ανιχνευθούν με δείγμα αίματος και ως στόχοι για θεραπείες και τα ARBs είναι ευρέως διαθέσιμα για χαμηλότερο κόστος σε σύγκριση με άλλους αντινεοπλασματικούς παράγοντες. Μέχρι στιγμής, τα στοιχεία είναι σπάνια για τον προσδιορισμό του συνολικού ρόλου του RAS στην παθοφυσιολογία και την ανοσολογία του γλοιώματος, αλλά αρκεί να ενθαρρυνθεί ο σχεδιασμός τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών με στόχο την αποσαφήνιση των επιπτώσεων συγκεκριμένων RAS συστατικών και ARBs σε ασθενείς με γλοίωμα.

Βιβλιογραφία

Ager EI, Neo J, Christophi C (2008) The renin-angiotensin system and malignancy. *Carcinogenesis* 29(9):1675–1684. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgn171>

Aldape K, Zadeh G, Mansouri S, Reifenberger G, von Deimling A (2015) Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathol* 129(6):829–848. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1432-1>

Arrieta O, Villarreal-Garza C, Vizcaino G, Pineda B, HernandezPedro N, Guevara-Salazar P, Wegman-Ostrosky T, VillanuevaRodriguez G, Gamboa-Dominguez A (2015) Association between AT1 and AT2 angiotensin II receptor expression with cell proliferation and angiogenesis in operable breast cancer. *Tumour Biol* 36(7):5627–5634. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3235-3>

Azevedo H, Fujita A, Bando SY, Iamashita P, Moreira-Filho CA (2014) Transcriptional network analysis reveals that AT1 and AT2 angiotensin II receptors are both involved in the regulation of genes essential for glioma progression. *PLoS ONE* 9(11):e110934. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110934>

Bradshaw AR, Wickremesekera AC, Brasch HD, Chibnall AM, Davis PF, Tan ST, Itinteang T (2016) Glioblastoma multiforme cancer stem cells express components of the renin-angiotensin system. *Front Surg* 3:51. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2016.00051>



Carpentier AF, Januel E, Ursu R, Alkhafaji A, Marantidou A, Doridam J, Belin C, Levy-Piedbois C (2015) Impact of renin-angiotensin system blockade on clinical outcome in glioblastoma. *Eur J Neurol* 22(9):1304–1309. <https://doi.org/10.1111/ene.12746>

Celerier J, Cruz A, Lamande N, Gasc JM, Corvol P (2002) Angiotensinogen and its cleaved derivatives inhibit angiogenesis. *Hypertension* 39(2):224–228

Clere N, Corre I, Faure S, Guihot AL, Vessieres E, Chalopin M, Morel A, Coqueret O, Hein L, Delneste Y, Paris F, Henrion D (2010) Deficiency or blockade of angiotensin II type 2 receptor delays tumorigenesis by inhibiting malignant cell proliferation and angiogenesis. *Int J Cancer* 127(10):2279–2291. <https://doi.org/10.1002/ijc.25234>

Crowley SD, Coffman TM (2012) Recent advances involving the renin-angiotensin system. *Exp Cell Res* 318(9):1049–1056. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.02.023>

Crowley SD, Coffman TM (2012) Recent advances involving the renin-angiotensin system. *Exp Cell Res* 318(9):1049–1056. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.02.023>

Ferguson AV, Washburn DL, Latchford KJ (2001) Hormonal and neurotransmitter roles for angiotensin in the regulation of central autonomic function. *Exp Biol Med* 226(2):85–96

Ferris SP, Hofmann JW, Solomon DA, Perry A (2017) Characterization of gliomas: from morphology to molecules. *Virchows Arch*. <https://doi.org/10.1007/s00428-017-2181-4>

Fry M, Ferguson AV (2007). The sensory circumventricular organs: brain targets for circulating signals controlling ingestive behavior. *Physiol Behav* 91(4):413–423. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.04.003>

George AJ, Thomas WG, Hannan RD (2010) The renin-angiotensin system and cancer: old dog, new tricks. *Nat Rev Cancer* 10(11):745–759. <https://doi.org/10.1038/nrc2945>

Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144(5):646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

Harding JW, Sullivan MJ, Hanesworth JM, Cushing LL, Wright JW (1988) Inability of [125I]Sar1, Ile8-angiotensin II to move between the blood and cerebrospinal fluid compartments. *J Neurochem* 50(2):554–557

Juillerat-Jeanneret L, Celerier J, Chapuis Bernasconi C, Nguyen G, Wostl W, Maerki HP, Janzer RC, Corvol P, Gasc JM (2004) Renin and angiotensinogen expression and functions in growth and apoptosis of human glioblastoma. *Br J Cancer* 90(5):1059–1068. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601646>

Juillerat-Jeanneret L, Lohm S, Hamou MF, Pinet F (2000) Regulation of aminopeptidase A in human brain tumor vasculature: evidence for a role of transforming growth factor-beta. *Lab Invest* 80(6):973–980

Karsy M, Neil JA, Guan J, Mahan MA, Colman H, Jensen RL (2015) A practical review of prognostic correlations of molecular biomarkers in glioblastoma. *Neurosurg Focus* 38(3):E4. <https://doi.org/10.3171/2015.1.FOCUS14755>

Kawai T, Forrester SJ, O'Brien S, Baggett A, Rizzo V, Eguchi S (2017) AT1 receptor signaling pathways in the cardiovascular system. *Pharmacol Res* 125(Pt A):4–13. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.05.008>

Leung PS, Suen PM, Ip SP, Yip CK, Chen G, Lai PB (2003) Expression and localization of AT1 receptors in hepatic Kupffer cells: its potential role in regulating a fibrogenic response. *Regul Pept* 116(1–3):61–69



Lever AF, Hole DJ, Gillis CR, McCallum IR, McInnes GT, MacKinnon PL, Meredith PA, Murray LS, Reid JL, Robertson JW (1998) Do inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme protect against risk of cancer? *Lancet* 352(9123):179–184. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)03228-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)03228-0)
van der Knaap R, Siemes C, Coebergh JW, van Duijn CM, Hofman A, Stricker BH (2008) Renin-angiotensin system inhibitors, angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism, and cancer: the Rotterdam Study. *Cancer* 112(4):748–757. <https://doi.org/10.1002/cncr.23215>

Levin VA, Chan J, Datta M, Yee JL, Jain RK (2017) Effect of angiotensin system inhibitors on survival in newly diagnosed glioma patients and recurrent glioblastoma patients receiving chemotherapy and/or bevacizumab. *J Neuro Oncol* 134(2):325–330. <https://doi.org/10.1007/s11060-017-2528-3>
Chan J, Datta M, Yee JL, Jain RK (2017) Effect of angiotensin system inhibitors on survival in newly diagnosed glioma patients and recurrent glioblastoma patients receiving chemotherapy and/or bevacizumab. *J Neuro Oncol* 134(2):325–330. <https://doi.org/10.1007/s11060-017-2528-3>

Li H, Qi Y, Li C, Braseth LN, Gao Y, Shabashvili AE, Katovich MJ, Summers C (2009) Angiotensin type 2 receptor-mediated apoptosis of human prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 8(12):3255–3265. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-09-0237>

Lian M, Jiang H, Wang H, Guo S (2015) Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphisms is associated with risk of glioma in a Chinese population. *J Renin-AngiotensinAldosterone Syst* 16(2):443–447. <https://doi.org/10.1177/1470320313495910>

Liu B, Liu Y, Jiang Y (2015) Podocalyxin promotes glioblastoma multiforme cell invasion and proliferation by inhibiting angiotensin-(1–7)/Mas signaling. *Oncol Rep* 33(5):2583–2591. <https://doi.org/10.3892/or.2015.3813>

Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, FigarellaBranger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW (2016) The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathol* 131(6):803–820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>

Lund EL, Spang-Thomsen M, Skovgaard-Poulsen H, Kristjansen PE (1998) Tumor angiogenesis—a new therapeutic target in gliomas. *Acta Neurol Scand* 97(1):52–62

Ma TK, Kam KK, Yan BP, Lam YY (2010) Renin-angiotensinaldosterone system blockade for cardiovascular diseases: current status. *Br J Pharmacol* 160(6):1273–1292. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00750.x>

Medeiros R, Vasconcelos A, Costa S, Pinto D, Lobo F, Morais A, Oliveira J, Lopes C (2004) Linkage of angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism to the progression of human prostate cancer. *J Pathol* 202(3):330–335. <https://doi.org/10.1002/path.1529>

Pinter M, Jain RK (2017) Targeting the renin-angiotensin system to improve cancer treatment: implications for immunotherapy.

Preusser M (2014) Neuro-oncology: a step towards clinical blood biomarkers of glioblastoma. *Nat Rev Neurol* 10(12):681–682. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.208>

Rivera E, Arrieta O, Guevara P, Duarte-Rojo A, Sotelo J (2001) AT1 receptor is present in glioma cells; its blockage reduces the growth of rat glioma. *Br J Cancer* 85(9):1396–1399. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.2102>

Saavedra JM (2005) Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell Mol Neurobiol* 25(3–4):485–512. <https://doi.org/10.1007/s10571-005-4011-5>



Santos RA, Ferreira AJ, Verano-Braga T, Bader M (2013) Angiotensin-converting enzyme 2, angiotensin-(1–7) and Mas: new players of the renin-angiotensin system. *J Endocrinol* 216(2):R1–R17. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0341>

Sierra Diaz E, Sanchez Corona J, Rosales Gomez RC, Gutierrez Rubio SA, Vazquez Camacho JG, Solano Moreno H, Moran Moguel MC (2009) Angiotensin-converting enzyme insertion/ deletion and angiotensin type 1 receptor A1166C polymorphisms as genetic risk factors in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst* 10(4):241– 246. <https://doi.org/10.1177/1470320309352800>

Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, Ludwin SK, Allgeier A, Fisher B, Belanger K, Hau P, Brandes AA, Gijtenbeek J, Marosi C, Vecht CJ, Mokhtari K, Wesseling P, Villa S, Eisenhauer E, Gorlia T, Weller M, Lacombe D, Cairncross JG, Mirimanoff RO, European Organisation for R, Treatment of Cancer Brain. Radiation Oncology T G, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials G (2009) Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 10(5):459–466. <https://doi.org/10.1016/>

Sun H, Li T, Zhuang R, Cai W, Zheng Y (2017) Do renin-angiotensin system inhibitors influence the recurrence, metastasis, and survival in cancer patients?: evidence from a meta-analysis including 55 studies. *Medicine* 96(13):e6394. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006394>

Thakkar JP, Dolecek TA, Horbinski C, Ostrom QT, Lightner DD, Barnholtz-Sloan JS, Villano JL (2014) Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. *Cancer Epidemiol* 23(10):1985–1996. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0275>

Urup T, Michaelsen SR, Olsen LR, Toft A, Christensen IJ, Grunnet K, Winther O, Broholm H, Kosteljanetz M, Issazadeh-Navikas S, Poulsen HS, Lassen U (2016) Angiotensinogen and HLA class II predict bevacizumab response in recurrent glioblastoma patients. *Mol Oncol* 10(8):1160–1168. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2016.05.005>

Wegman-Ostrosky T, Soto-Reyes E, Vidal-Millan S, SanchezCorona J (2015) The renin-angiotensin system meets the hallmarks of cancer. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst* 16(2):227–233. <https://doi.org/10.1177/1470320313496858>

Wegman-Ostrosky T, Soto-Reyes E, Vidal-Millan S, SanchezCorona J (2015) The renin-angiotensin system meets the hallmarks of cancer. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst* 16(2):227–233. <https://doi.org/10.1177/1470320313496858>

Wright JW, Harding JW (2011) Brain renin-angiotensin—a new look at an old system. *Prog Neurobiol* 95(1):49–67. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.07.001>

Xavier-Magalhaes A, Nandhabalan M, Jones C, Costa BM (2013) Molecular prognostic factors in glioblastoma: state of the art and future challenges. *CNS Oncol* 2(6):495–510. <https://doi.org/10.2217/cns.13.48>

1.1.4. Περιγραφή του ρόλου του NAD βιοσυνθετικού μονοπατιού στη χημειοευαισθησία στο γλειοβλάστωμα

Το NAD είναι ένα ζωτικό μόριο σε όλους τους οργανισμούς. Είναι ένα βασικό συστατικό της ενέργειας και της μεταγωγής σήματος (signal transduction) που είναι διεργασίες που



υφίστανται κρίσιμες αλλαγές στα καρκινικά κύτταρα. Οι NAD⁺ εξαρτώμενες διαδρομές σηματοδότησης είναι πολλές και ποικίλες και ρυθμίζουν θεμελιώδη γεγονότα όπως μεταγραφή, επιδιόρθωση DNA, πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, απόπτωση και μεταβολισμό. Πολλές από αυτές τις διαδικασίες έχουν συνδεθεί με την ανάπτυξη του καρκίνου. Δεδομένου ότι οι NAD⁺ εξαρτώμενες αντιδράσεις σηματοδότησης περιλαμβάνουν την αποικοδόμηση του μορίου, η μόνιμη επανασύνθεση των νουκλεοτιδίων μέσω διαφορετικών βιοσυνθετικών οδών είναι κρίσιμη για τον συνεχή πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Αυτή η αναγκαιότητα υποστηρίζει τη στόχευση του μεταβολισμού του NAD ως μια νέα θεραπευτική έννοια για τη θεραπεία του καρκίνου.

Το NAD είναι ένας σημαντικός παράγοντας οξειδοαναγωγής και υπόστρωμα σε διάφορες διαδικασίες σηματοδότησης, στις οποίες αποικοδομείται ανεπανόρθωτα για να σχηματίσει μόρια που έχουν βασικό ρόλο στην κυτταρική ομοιόσταση. Και τα δύο NAD⁺ εξαρτώμενα μεταβολικά και σηματοδοτικά μονοπάτια μεταβάλλονται στα καρκινικά κύτταρα, παρέχοντας έναν αριθμό πιθανών στόχων φαρμάκου. Το NAD⁺ είναι απαραίτητο για τη ποσοADP και polyADP ριβοζυλίωση, την αποακετυλίωση της NAD-εξαρτώμενης πρωτεΐνης και τη δημιουργία μορίων όπως κυκλική ADP ριβόζη και NAADP [Nicotinic Acid Adenine Nucleotide Phosphate (NAADP), Berger F *et al.*, 2004; Houtkooper RH *et al.*, 2010]. Τα NAD-μεσολαβούμενα συμβάντα σηματοδότησης συμμετέχουν στη ρύθμιση κρίσιμων βιολογικών διεργασιών, περιλαμβανομένης της μεταγραφής, της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, της επιδιόρθωσης του DNA, των κρκαδικών ρυθμών και της μεταβολικής ρύθμισης. Ο έλεγχος αυτών των σημαντικών διεργασιών έχει φυσικά επιπτώσεις σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένου του νεοπλασματικού μετασχηματισμού και της προόδου του καρκίνου.

Η μόνιμη σύνθεση του NAD είναι απαραίτητη για την καύση βιοενεργειακών διεργασιών και τη διατήρηση ισορροπημένης ρύθμισης των κυττάρων. Το NAD⁺ συντίθεται από τη βιταμίνη B3 [νιασίνη, συμπεριλαμβανομένου και του νικοτιναμίδιου (Nicotinamide, Nam) και του νικοτινικού οξέος (Nicotinic Acid, NA)] και των αντίστοιχων νουκλεοσιδίων. Ωστόσο, η κυρίαρχη πηγή για τη διατήρηση των επιπέδων NAD είναι η νικοτιναμίδη (Nam), η οποία προκύπτει ενδογενώς από τις διαδικασίες της NAD⁺ εξαρτώμενης σηματοδότησης. Ως εκ τούτου, η νικοτιναμιδική φωσφοριβοζυλτρανσφεράση [Nicotinamide Phosphoribosyltransferase (NamPRT)] είναι εξαιρετικής σημασίας, καθώς είναι το μόνο ανθρώπινο ένζυμο που οδηγεί το Nam σε σύνθεση NAD⁺. Οι αναστολείς NamPRT αποτελούν αντικείμενο πειραμάτων για να αξιολογηθεί το δυναμικό τους στη θεραπεία του καρκίνου με βάση την εξάντληση του NAD⁺.

Το Nam που απελευθερώνεται σε NAD⁺ εξαρτώμενες αντιδράσεις σηματοδότησης πρέπει να ανακυκλωθεί πλήρως για να διατηρηθούν τα επίπεδα NAD των ιστών, διαδικασία η οποία απαιτεί την παρουσία του NamPRT. Το NamPRT έχει αναγνωριστεί ως το πιο κρίσιμο NAD⁺ βιοσυνθετικό ένζυμο στη φυσιολογία των θηλαστικών (Revollo JR *et al.*, 2004) και έχει επίσης καταδειχθεί ότι αλληλεπιδρά με βασικά συστατικά του κρκαδίου ρολογιού, καθώς και τη NAD⁺ εξαρτώμενη πρωτεΐνη δεακετυλάση SIRT1 (Nakahata Y *et al.*, 2004). Παρομοίως, οι



αναστολείς αδενυλοτρανσφεράσεων νουκλεϊναμιδίου (NMNATs) έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν τα επίπεδα NAD, καθώς αυτά τα ένζυμα απαιτούνται σε όλες τις οδούς της γενεάς NAD⁺ (σχήμα 1).

Αρκετά NAD⁺ εξαρτώμενα μονοπάτια σηματοδότησης εμπλέκονται στον έλεγχο της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, της μεταγραφικής ρύθμισης και της επιδιόρθωσης του DNA και ως εκ τούτου έχουν αναγνωριστεί ως πολλά υποσχόμενοι στόχοι στη θεραπεία του καρκίνου. Οι NAD⁺ εξαρτώμενες δεακετυλάσες πρωτεΐνης (Sirtuins) SIRT1, SIRT3, SIRT6 και SIRT7 έχουν επίσης γίνει αντικείμενο μελέτης για την ανάπτυξη νέων θεραπειών για τον καρκίνο (Finley LWS *et al.*, 2011; Lim JH *et al.*, 2010). Οι Sirtuins μεσολαβούν στην καταστολή του όγκου με τον ανταγωνισμό των επιδράσεων του HIF1α. Ο HIF1α εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε έναν αριθμό όγκων και σταθεροποιείται υπό συνθήκες υποξίας. Προάγει την επιβίωση του όγκου, μεταξύ άλλων, προκαλώντας την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν γλυκολυτικά ένζυμα και μεταφορείς γλυκόζης.

Οι αναστολείς των πολυADP ριβόζης πολυμερασών [PolyADP Ribose PolymeraseS] (PARPs) παίζουν ενδεχομένως ρόλο στη θεραπεία του καρκίνου και χρησιμοποιούνται πρόσφατα στην κλινική έρευνα. Σημαντικές τρέχουσες προκλήσεις στη χρήση τους είναι η εκλεκτικότητα προς συγκεκριμένες ισομορφές PARP, η πιθανή βλάβη της επισκευής DNA σε υγιείς ιστούς και η ανάπτυξη ανοχής στα φάρμακα.

Το NamPRT είναι επί του παρόντος το μοναδικό ένζυμο της NAD⁺ βιοσύνθεσης θηλαστικών για το οποίο είναι διαθέσιμοι ιδιαίτερα εξειδικευμένοι και ισχυροί αναστολείς. Αυτοί οι αναστολείς δεν βοήθησαν μόνο στη μελέτη αυτού του ενζύμου και της ομοιόστασης του NAD αλλά έχουν επίσης δυνατότητες ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Τα επίπεδα του NamPRT είναι ιδιαίτερα αυξημένα σε ένα μεγάλο αριθμό όγκων (Bi TQ *et al.*, 2010) ενώ έχει επίσης εμπλακεί στην αγγειογένεση (Kim SR *et al.*, 2007) και στη φλεγμονή (Garten A *et al.*, 2011). Έτσι, η στόχευση του NamPRT σε ασθενείς με καρκίνο αναμένεται να επιφέρει αντικαρκινικές επιδράσεις εκτός από την άμεση εξασθένηση του μεταβολισμού των καρκινικών κυττάρων. Η πρώτη χημική ουσία που βρέθηκε να αναστέλλει το NamPRT, είναι το FK866 (επίσης γνωστή ως APO866), και αναγνωρίστηκε σε μια οθόνη για αντιπολλαπλασιαστικούς παράγοντες. Η δράση του θα μπορούσε να αποδοθεί σε σημαντική πτώση της κυτταρικής NAD⁺ συγκέντρωσης (Hasmann M *et al.*, 2003)

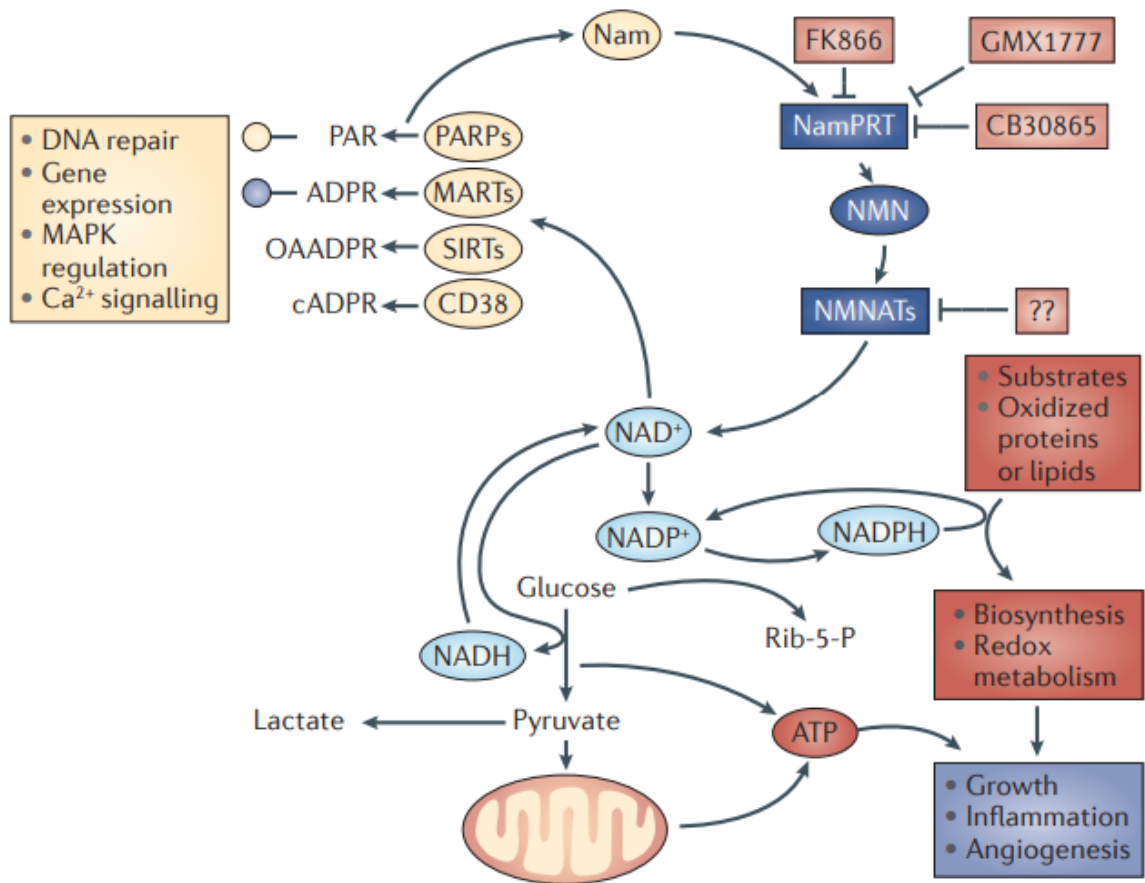
Είναι αξιοσημείωτο ότι το FK866 είναι πολύ λιγότερο τοξικό σε κυτταρικές καλλιέργειες όπου υπάρχει απουσία όγκου. Παρομοίως, υψηλή ευαισθησία στο φάρμακο εμφανίζεται σε κύτταρα λευχαιμίας και λεμφώματος, αλλά όχι από φυσιολογικούς αιματοποιητικούς προγόνους. Η αναστολή του NamPRT σταματά επίσης την ανάπτυξη διαφόρων ξενομοσχευμάτων όγκου, χωρίς εμφανείς ανεπιθύμητες ενέργειες (Bi TQ *et al.*, 2010). Η ένωση κυανογουανιδίνης GMX1777 (προηγουμένως γνωστή ως CHS828) μετατρέπεται στην ενεργή μορφή GMX1778, η οποία, με τη σειρά της, φωσφοριβοσυλιώνεται από το NamPRT. Η προκύπτουσα ένωση εξακολουθεί να αναστέλλει το ένζυμο αλλά δεν μπορεί να βγει από το κύτταρο, οδηγώντας πιθανώς σε μακροχρόνιο αποκλεισμό της επανασύνθεσης του NAD.



Αν και είναι ικανό να προκαλέσει το θάνατο σε καλλιεργημένα καρκινικά κύτταρα και ξενομοσχεύματα όγκου, το GMX1778 είναι θανατηφόρο σε ποντίκια που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία για 24 ώρες με υψηλή δόση (Garten A *et al.*, 2011), πιθανώς επειδή η ανακύκλωση του Nam είναι ζωτικής σημασίας για τα περισσότερα όργανα. Αξιοσημείωτο είναι ότι το GMX1777 ενισχύει τα αποτελέσματα της ακτινοθεραπείας *in vitro* και *in vivo* (Watson M *et al.*, 2009) και τα FK866 και GMX1777 αναστέλλουν την αγγειογένεση σε μοντέλα όγκου (Kato, H. *et al.*, 2010). Το CB30865 και τα ανάλογα του είναι πρόσθετοι αναστολείς του NamPRT που έχουν αντικαρκινικές επιδράσεις (Fleischer, T. C. *et al.*, 2010).

Αρκετές κλινικές δοκιμές έχουν διεξαχθεί για τη διερεύνηση των αντικαρκινικών επιδράσεων των αναστολέων NamPRT (von Heideman A *et al.*, 2010, www.clinicaltrials.gov). Το FK866 αποδείχτηκε ασφαλές όταν δοκιμάστηκε σε ασθενείς με προχωρημένους καρκίνους (Φάση 1), με τη θρομβοκυτοπενία να είναι το μοναδικό τοξικό αποτέλεσμα που περιορίζει τη δόση. Αν και δεν παρατηρήθηκε ανταπόκριση στον όγκο, τέσσερις ασθενείς είχαν σταθερή νόσο για τουλάχιστον 3 μήνες ενώ παρατηρήθηκαν επίσης μειώσεις στο μέγεθος της βλάβης σε ορισμένους ασθενείς. Το GMX1777 χρησιμοποιήθηκε για μεταστατικό μελάνωμα σε συνδυασμό με τεμοζολομίδη (temozolomide) ή ως μοναδική θεραπεία για συμπαγείς όγκους ή λεμφώματα. Το φάρμακο φάνηκε να είναι καλά ανεκτό, εκτός από τη θρομβοκυτοπενία. Συνολικά, τα τρέχοντα στοιχεία δείχνουν ότι οι αναστολείς NamPRT παρουσιάζουν αποδεκτό προφίλ ασφάλειας σε καρκινοπαθείς ασθενείς, αν και δεν παρατηρήθηκε αντικειμενική ύφεση του όγκου σε αυτές τις πρώτες δοκιμές (σχήμα 1).





Σχήμα 1 | Επιδράσεις στόχευσης της σύνθεσης NAD⁺ σε καρκινικά κύτταρα. Το NAD είναι βασικός ρυθμιστής διαφόρων οδών μεταβολισμού και σηματοδότησης που σχετίζονται με την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του όγκου. Λειτουργεί ως συνένζυμο (σε γαλάζιο χρώμα) σε μεταβολικές οδούς όπως η γλυκόλυση και η οδός φωσφορικής πεντόζης, επιτρέποντας έτσι την αποτελεσματική παραγωγή NADPH, φωσφορικής-ριβόζης-5 (Rib-5-P) και βιοσυνθετικών ενώσεων (κόκκινα κουτιά) που χρησιμοποιούνται από τον όγκο για ανάπτυξη και αγγειογένεση. Το NAD⁺ επίσης καταναλώνεται (εμφανίζεται με κίτρινο χρώμα) για σχηματισμό πολυADP ριβόζης [PolyADP Ribose (PAR)] από πολυμεράσες PAR [PAR Polymerases (PARPs)], μονοADP ριβοζυλίωση (ADPR) από μονοADP ριβοσυλτρασφεράσες [MonoADP RibosylTransferases (MARTS)], αποακετυλίωση από τις SIRT, με τον σχηματισμό 2'- και 3'-O-ακετυλ-ADP-ριβόζης [O-Acetyl-ADP Ribose (OAADPR)], ή με τη σύνθεση ελεύθερης ADPR και κυκλικής ADPR (cADPR) από CD38. Οι αναστολείς NamPRT FK866, GMX1778 και CB30865, καθώς επίσης και αναστολείς των NMNAT που δεν έχουν ακόμη αναγνωριστεί, εμποδίζουν την επανασύνθεση του NAD⁺, επηρεάζοντας έτσι τους πλειοτυπικούς μηχανισμούς μέσω των οποίων το δινουκλεοτίδιο ρυθμίζει τη σηματοδότηση, τον μεταβολισμό και τον γενικό πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων

Τα επίπεδα έκφρασης του NamPRT θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτης για ασθενείς με καρκίνο που θα συμμετέχουν σε πρωτόκολλα θεραπειών με παράγοντες που καταστρέφουν NAD. Η έκφραση του NamPRT σχετίζεται επίσης με την αντοχή σε διάφορους αντινεοπλασματικούς παράγοντες (Bi TQ *et al.*, 2010), ενισχύοντας έτσι τη διαγνωστική του αξία. Αν και η έκθεση σε αναστολείς NamPRT προάγει την απόπτωση και την αυτοφαγία σε καρκινικές κυτταρικές σειρές ή ξеноμοσχεύματα όγκου (Billington, R. A *et al.*, 2008), αυτά τα



φάρμακα θα μπορούσαν να είναι περισσότερο χρήσιμα ως ευαισθητοποιητές όγκου (tumor sensitizers) και όχι ως αυτοτελείς αντινεοπλασματικοί παράγοντες. Όπως αναφέρθηκε ήδη στις προκλινικές ρυθμίσεις (Travelli, C. *et al.*, 2011) οι αναστολείς NamPRT ευαισθητοποιούν τα καρκινικά κύτταρα τόσο στα γονοτοξικά φάρμακα όσο και στην ακτινοθεραπεία. Αυτό μπορεί να ενισχύσει την αντιμετώπιση των όγκων, να μειώσει την αντίσταση και να επιτρέψει τη μείωση της δόσης χημειοθεραπευτικών ή ακτινοβολίας με αποτέλεσμα την ελάττωση των παρενεργειών. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι αναστολείς NamPRT και γενικά οι παράγοντες που καταστρέφουν το NAD θα μπορούσαν επίσης να αξιοποιηθούν για την αύξηση της αντικαρκινικής αποτελεσματικότητας των μεταβολικών αναστολέων όπως η μετφορμίνη, η 2-δεοξυγλυκόζη και το διχλωροξικό άλας. Κατ' αναλογία, το FK866 ενισχύει τις αντικαρκινικές επιδράσεις ενός μικρού μοριακού αναστολέα της γαλακτικής αφυδρογονάσης A, προκαλώντας έτσι υποτροπή του λεμφώματος στους ποντικούς (Le A *et al.*, 2010).

Επιπλέον, δεδομένου ότι διάφοροι τύποι αναστολέων κινάσης επηρεάζουν τον μεταβολισμό των καρκινικών κυττάρων μειώνοντας την πρόσληψη γλυκόζης, οι παράγοντες που καταστρέφουν το NAD θα μπορούσαν επίσης να ενισχύσουν τις κλινικές επιδράσεις των αναστολέων κινάσης τυροσίνης. Συμπερασματικά, με βάση το μεταβολισμό της NAD, μπορούν να εξαχθούν νέες βασικές στρατηγικές για τη θεραπεία του καρκίνου. Ο φαρμακολογικός περιορισμός της διαθεσιμότητας του NAD, δηλαδή η αναστολή της σύνθεσής του, θα περιόριζε γενικά τις δραστηριότητες των μονοπατιών σηματοδότησης που εξαρτώνται από NAD⁺ και θα εξαντλούσε επιπλέον τους ενεργειακούς πόρους για πολλαπλασιασμό. Αντιστρόφως, οι θεραπείες όγκων θα μπορούσαν κατά προτίμηση να επιτεθούν στον μιτοχονδριακό (NMNAT3 και SIRT3) ή πυρηνικό (NMNAT1, PARPs, SIRT1 και SIRT7) NAD μεταβολισμό.

Ο στοχευόμενος μεταβολισμός του μιτοχονδριακού ή του πυρηνικού NAD θα αφορά τις ειδικές για τον καρκίνο μεταβολές και συνεπώς θα απαιτεί προσεκτικές αναλύσεις των επιμέρους τύπων καρκίνου και της ευαισθησίας τους, επειδή φαίνεται να υπάρχει μια σημαντική διακύμανση των εξαρτώμενων από NAD διεργασιών σε διαφορετικούς όγκους. Ωστόσο, ένα σαφές πλεονέκτημα των εξαιρετικά επιλεκτικών αναστολέων είναι η πιθανότητα μειωμένων παρενεργειών. Η αναστολή του NamPRT έχει αποδεδειγμένη δυνατότητα για θεραπεία του καρκίνου. Ωστόσο, η ανάπτυξη ισχυρών και ειδικών φαρμάκων που στοχεύουν άλλα ένζυμα της σύνθεσης του NAD⁺ εξακολουθεί να αποτελεί μεγάλη πρόκληση. Υπό το πρίσμα αυτό, καθώς υπάρχουν αρκετές ισομορφές NMNAT που δείχνουν εξειδικευμένη έκφραση για τον κάθε ιστό (όπως η εκλεκτική έκφραση του NMNAT2 στο κεντρικό νευρικό σύστημα και στο πάγκρεας), η ανάπτυξη των επιλεκτικών ισομορφών των NMNAT αναστολέων μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό στόχο στο εγγύς μέλλον. Η επιλεκτική αναστολή των ισομορφών NMNAT θα μπορούσε ενδεχομένως να μειώσει το βάρος της συστηματικής τοξικότητας και θα μπορούσε να συνδυαστεί με μέτρια αναστολή του NamPRT ή ειδικών μονοπατιών σηματοδότησης εξαρτώμενων από το NAD⁺.

Η τοξικότητα που προκαλείται από την αναστολή του NamPRT θα μπορούσε ενδεχομένως να αντιμετωπιστεί με τη χρήση προδρόμων βιοσύνθεσης NAD⁺ διαφορετικών από Nam. Η



επιλογή αυτή αξίζει περαιτέρω εξερεύνηση. Τέλος, για την καλύτερη κατανόηση της θεραπευτικής πιθανότητας των παραγόντων που καταστρέφουν το NAD σε ασθενείς με καρκίνο, θα είναι απαραίτητο να ταξινομηθούν οι ασθενείς στις κλινικές δοκιμές με ακριβές μεταβολικό προφίλ ώστε να υπάρχουν οι απαραίτητες πληροφορίες για την πρόσληψη γλυκόζης στους όγκους.

Βιβλιογραφία

Berger, F., Ramirez-Hernandez, M. H. & Ziegler, M. The new life of a centenarian: signalling functions of NAD(P). *Trends Biochem. Sci.* 29, 111–118 (2004).

Bi, T. Q. & Che, X. M. Nampt/PBEF/visfatin and cancer. *Cancer Biol. Ther.* 10, 119–125 (2010).

Billington, R. A., Genazzani, A. A., Travelli, C. & Condorelli, F. NAD depletion by FK866 induces autophagy. *Autophagy.* 4, 385–387 (2008).

Finley, L. W. S. et al. SIRT3 opposes reprogramming of cancer cell metabolism through HIF1 α destabilization. *Cancer Cell* 19, 416–428 (2011).

Fleischer, T. C. et al. Chemical proteomics identifies Nampt as the target of CB30865, an orphan cytotoxic compound. *Chem. Biol.* 17, 659–664 (2010).

Garten, A. et al. Nampt and its potential role in inflammation and type 2 diabetes. *Handb. Exp. Pharmacol.* 203, 147–164 (2011)

Garten, A. et al. Nampt and its potential role in inflammation and type 2 diabetes. *Handb. Exp. Pharmacol.* 203, 147–164 (2011)

Hasmann, M. & Schemainda, I. FK866, a highly specific noncompetitive inhibitor of nicotinamide phosphoribosyltransferase, represents a novel mechanism for induction of tumor cell apoptosis. *Cancer Res.* 63, 7436–7442 (2003).

Houtkooper, R. H., Canto, C., Wanders, R. J. & Auwerx, J. The secret life of NAD⁺: an old metabolite controlling new metabolic signaling pathways. *Endocr. Rev.* 31, 194–223 (2010).

Kato, H. et al. Efficacy of combining GMX1777 with radiation therapy for human head and neck carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 16, 898–911 (2010)

Kim, S. R. et al. Visfatin promotes angiogenesis by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 357, 150–156 (2007).

Le, A. et al. Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 107, 2037–2042 (2010).

Lim, J. H. et al. Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating hypoxia-inducible factor 1 α . *Mol. Cell* 38, 864–878 (2010).

Nakahata, Y., Sahar, S., Astarita, G., Kaluzova, M. & Sassone-Corsi, P. Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1. *Science* 324, 654–657 (2009).



Revollo, J. R., Grimm, A. A. & Imai, S. I. The NAD biosynthesis pathway mediated by nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 279, 50754–50763 (2004).

Travelli, C. *et al.* Reciprocal potentiation of the antitumoral activities of FK866, an inhibitor of nicotinamide phosphoribosyltransferase, and etoposide or cisplatin in neuroblastoma cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 338, 829–840 (2011).

von Heideman, A., Berglund, A., Larsson, R. & Nygren, P. Safety and efficacy of NAD depleting cancer drugs: results of a phase I clinical trial of CHS 828 and overview of published data. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 65, 1165–1172 (2010)

Watson, M. *et al.* The small molecule GMX1778 is a potent inhibitor of NAD⁺ biosynthesis: strategy for enhanced therapy in nicotinic acid phosphoribosyltransferase 1-deficient tumors. *Mol. Cell. Biol.* 29, 5872–5888 (2009).

1.1.5. Βιολογικές αλληλουχίες και βιοδείκτες

Όπως έχει αναφερθεί οι καρκινικοί βιοδείκτες μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τη χρήση τους σε προγνωστικούς, προβλεπτικούς και διαγνωστικούς. Οι καρκινικοί βιοδείκτες μπορούν να ανιχνευθούν στην κυκλοφορία (πλήρες αίμα, ορός ή πλάσμα) ή σε εκκρίσεις (κόπρανα, ούρα, πτύελα) ή σε άλλα ανθρώπινα βιολογικά υγρά ή μπορεί να προέρχονται από ιστό και να απαιτούν είτε βιοψία είτε χειρουργική εκτομή. Ένας ιδανικός βιοδείκτης όγκων θα πρέπει: (α) να παράγεται μόνο από τα καρκινικά κύτταρα (β) να συσχετίζεται με το φορτίο του όγκου και είναι εφοδιασμένο με επαρκή χρόνο “παράδοσης” (δηλ. ο χρόνος μεταξύ ασυμπτωματικού καρκίνου που εντοπίζεται ακόμη στο όργανο προέλευσης και κλινικής διάγνωσης · για παράδειγμα, οι επιθετικοί καρκίνοι έχουν μικρότερους χρόνους παράδοσης από τους κακοήθεις καρκίνους). (γ) να υπάρχει σε μετρήσιμες ποσότητες (ή σε συγκεντρώσεις σημαντικά υψηλότερες από τις κανονικές) στο αίμα (ή σε άλλα ανθρώπινα βιολογικά υγρά) ασθενών με καρκίνο σε πρώιμα ή προκλινικά στάδια (κατά προτίμηση σε έναν μόνο τύπο καρκίνου). (δ) να είναι μη ανιχνεύσιμος (ή παρόν σε πολύ χαμηλά επίπεδα) στο αίμα (ή σε άλλα βιολογικά υγρά) υγιών ατόμων ή με καλοήγη νόσο (ε) να είναι εύκολο να μετρηθεί ακόμη και σε μικρές ποσότητες και με μικρή προετοιμασία, μέσω αξιόπιστης δοκιμής, οικονομικά αποδοτικής και συνδεδεμένης με υψηλή αναλυτική ευαισθησία (το ποσοστό των ατόμων με καρκίνο που είναι θετικά για τον βιοδείκτη) και εξειδίκευση (το ποσοστό ατόμων χωρίς καρκίνο που δοκιμάζουν αρνητικά για τον βιοδείκτη). Μια ιδανική δοκιμή βιοδεικτών θα είχε 100% ευαισθησία και συγκεκριμένη πόλη (δηλαδή όλοι με καρκίνο θα είχαν θετικό τεστ, ενώ όλοι χωρίς καρκίνο θα παρουσίαζαν αρνητικό τεστ).

Γενετικοί βιοδείκτες



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Οι γενετικοί βιοδείκτες είναι βιοδείκτες που προέρχονται από τεχνολογίες που σχετίζονται με γονιδιωματικές μεταβολές, όπως προσδιορισμός αλληλουχίας του exome καθώς και όλου του γονιδιώματος, αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και υβριδισμό φθορισμού *in situ* [Fluorescent *in situ* Hybridization (FISH)]. Μπορούν να αναγνωρίσουν με ακρίβεια σε απλούς πολυνουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς [Single Nucleotide Polymorphisms, (SNPs)], παραλλαγές αριθμών αντιγράφων [Copy Number Variations (CNVs)] και δομικές παραλλαγές στο γονιδίωμα και να οριοθετήσουν τη λειτουργική τους σημασία στην παθοφυσιολογία ενός καθορισμένου φαινοτύπου. Αυτές οι τεχνολογίες συνέβαλαν στην εύρεση των βιοδεικτών στρωματοποίησης στην ογκολογία και ορισμένοι από αυτούς είναι ήδη σε κλινική πρακτική. Για παράδειγμα, η ανάλυση αλληλουχίας KRAS και η PCR χρησιμοποιήθηκαν για να ανακαλυφθεί ο προγνωστικός ρόλος της μετάλλαξης KRAS στον καρκίνο του παχέος εντέρου και στον καρκίνο του πνεύμονα για την ανθεκτικότητα έναντι της θεραπείας EGFR (Amado RG *et al.*, 2008).

Βιοδείκτες έκφρασης

Διαφορετικοί από τις παραδοσιακές μεμονωμένες βιοχημικές και ιστοπαθολογικές μετρήσεις, οι βιοδείκτες έκφρασης (transcriptomics βιοδείκτης) περιέχουν πολλαπλούς βιοδείκτες οι οποίοι συλλογικά δείχνουν μια συγκεκριμένη παθοφυσιολογία (Bhattacharya S *et al.*, 2009). Οι τεχνολογίες υψηλής απόδοσης, όπως οι μικροσυστοιχίες (microarrays) και οι πιο πρόσφατες τεχνολογίες RNAseq, είναι σε θέση να αναγνωρίσουν τη διαφορική έκφραση ολόκληρου του γονιδιώματος σε οποιοδήποτε συγκεκριμένο δείγμα σε οποιοδήποτε δεδομένο χρονικό σημείο.

Πρωτεϊνικοί βιοδείκτες

Οι τεχνολογίες μπορούν να μετρήσουν μικρές αλλαγές ορισμένων πρωτεϊνών του ανθρώπινου πλάσματος και είναι ανεκτίμητα εργαλεία για τον εντοπισμό των πρωτεϊνικών βιοδεικτών. Για παράδειγμα, η φασματομετρία μάζας μπορεί να συλλάβει μικρές αλλαγές στα επίπεδα πρωτεΐνης και η ανοσοϊστοχημεία μπορεί να αναγνωρίσει με ακρίβεια μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη στο ζωντανό σύστημα. Ο EGFR είναι ένας φαρμακοδυναμικός βιοδείκτης που ανακαλύφθηκε με ανοσοϊστοχημική ανάλυση σε δείγματα καρκίνου του παχέος εντέρου και καρκίνου του πνεύμονα που προσδίδουν ευαισθησία στη θεραπεία με cetuximab, panitumumab και gefitinib (Freeman DJ *et al.*, 2009)

Μεταβολικοί βιοδείκτες

Οι μεταβολικοί βιοδείκτες έχουν προσελκύσει την προσοχή των ερευνητών ώστε να αποτελέσουν ένα αποτελεσματικό βιοδείκτη για την έγκαιρη διάγνωση και πρόγνωση του



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

καρκίνου (Ward PS *et al.*, 2012). Από τότε, πολλές προσπάθειες έχουν αφιερωθεί στην αναγνώριση των μεταβολικών βιοδεικτών στην ογκολογία. Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), η ραδιοανοσοδοκιμασία, η υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (LCMS), η φασματομετρία μάζας αερίου χρωματογραφίας (GCMS) και η ανοσοδοκιμασία ενζύμου είναι καθοριστικής σημασίας για την ανάλυση των επιπέδων του μεταβολίτη σαν αποτέλεσμα παθοφυσιολογικών αλλαγών ή θεραπείας. Μέχρι τώρα μόνο δύο μεταβολικοί βιοδείκτες έχουν κάνει την κλινική πρακτική. Η μετανεφρίνη και η νορμετανεφρίνη είναι δύο μεταβολίτες που χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη της κατάστασης της νόσου που σχετίζεται με το φαιοχρωμοκύτωμα.

microRNA βιοδείκτες.

Η εμπλοκή των microRNAs (miRNAs) σε βασικές κυτταρικές διεργασίες όπως ο πολλαπλασιασμός και ο κυτταρικός θάνατος και η πολύ γνωστή αρνητική επίδραση πάνω στην έκφραση πολυάριθμων ογκοπρωτεϊνών τα καθιστούν πρωταρχικό υποψήφιο για καρκινικούς βιοδείκτες. Έχει επίσης αναφερθεί ότι τα σχετιζόμενα με τον καρκίνο miRNA ανιχνεύονται στο αίμα από τα προηγούμενα στάδια ανάπτυξης του όγκου, καθιστώντας τα πολύτιμους δείκτες ανάπτυξης του όγκου. Τα λειτουργικά είδη miRNA έχουν επικυρωθεί κυρίως *in vitro* χρησιμοποιώντας τη δραστηριότητα της λουσιφεράσης (Krutovskikh VA *et al.*, 2010)

Βάσεις γνώσης αφιερωμένες στην ερμηνεία των δεδομένων OMICs για την ανακάλυψη βιοδεικτών

Η αποστολή των βάσεων δεδομένων είναι η συλλογή και η συστηματοποίηση των βιοϊατρικών πληροφοριών μέσω της εξαγωγής πληροφοριών από τις πρωτογενείς δημοσιεύσεις με τη λεγόμενη διαδικασία επεξεργασίας. Η διαδικασία επεξεργασίας οργανώνει τη γνώση μέσω χαρτογράφησης των εξαγόμενων πληροφοριών σε μια υποκείμενη οντολογία. Τέτοιες βάσεις γνώσης παρέχουν ένα πλήθος χαρακτηριστικών για την ανάλυση δεδομένων OMICs που επιτρέπουν την αναγνώριση των βασικών μονοπατιών που διέπουν τις αλλαγές και την παροχή αλγορίθμων ανάλυσης για την αναγνώριση των βασικών ρυθμιστικών μορίων πίσω από τις αντίστοιχες γονιδιακές συμπεριφορές. Τα τελευταία χρόνια έχουν εισαχθεί αρκετές βάσεις γνώσεων για το κοινό και το εμπόριο, οι οποίες προσφέρουν ένα ολοκληρωμένο περιβάλλον που αποτελείται από σχολιασμένη βάση γνώσεων και αναλυτικά εργαλεία, έτσι ώστε να διευκολύνεται η εκτέλεση πλήρους λειτουργικής ανάλυσης.

Οι βάσεις δεδομένων και αναλύσεις βιολογικών οδών αντιπροσωπεύουν επί του παρόντος ένα χρήσιμο εργαλείο για την ερμηνεία, καθώς και την απεικόνιση των δεδομένων OMICs



που βοηθούν στην επιστημονική κατανόηση των υποκείμενων βιολογικών διεργασιών. Η πλειοψηφία των οδών που συσσωρεύονται στις βάσεις γνώσεων αντιπροσωπεύει ένα μείγμα ευρημάτων που περιγράφονται σε διαφορετικές υγιείς και παθολογικές καταστάσεις σε διάφορα βιολογικά συστήματα και ιστούς. Η δημιουργία των ειδικών οδών για ιστούς, θεραπείες ή μιας παθολογικής κατάστασης είναι μια πρόκληση και επί του παρόντος βρίσκεται στο επίκεντρο ερευνητικών διαδικασιών. Η έλλειψη τυποποιημένων μεταφραστικών αλγορίθμων που επιτρέπουν τη χρήση δεδομένων OMICs μαζί με τις γνώσεις που προέρχονται από την επιστημονική βιβλιογραφία εμποδίζει τις προσπάθειες να προβλεφθούν οι βιοδείκτες με μεγαλύτερη εμπιστοσύνη. Δεδομένων των πρόσφατων πρωτοβουλιών για την αντιμετώπιση του ζητήματος της ποιότητας και ανταλλαγής δεδομένων βιοδεικτών, αναμένεται ότι οι βάσεις γνώσεων βιοδεικτών επόμενης γενιάς, με βελτιωμένα πρότυπα ποιότητας δεδομένων και βελτιωμένη διαλειτουργικότητα των δεδομένων, θα διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στις μελλοντικές προσπάθειες για την αναγνώριση του βιολογικού δείκτη ολοκλήρωσης. Η γενική τάση υποδεικνύει ότι υπάρχει μια προσπάθεια να αποφύγουμε τους βιοδείκτες συσχέτισης και να οδηγηθούμε στους αιτιολογικούς βιοδείκτες. Επομένως, ο στόχος των ενοποιητικών μοντέλων επόμενης γενιάς είναι να συλλάβουν αιτιώδεις σχέσεις μεταξύ του υποψήφιου βιοδείκτη και του κλινικού αποτελέσματος. Αυτό θα οδηγήσει στο εγγύς μέλλον σε ένα νέο υπόδειγμα που θα εμπλέξει την ποσοτική και ποιοτική μοντελοποίηση για την προοπτική πρόβλεψη των βιοδεικτών.

Βιβλιογραφία

Amado, R.G. *et al.* (2008) Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 26, 1626–1634

Bhattacharya, S. and Mariani, T.J. (2009) Array of hope: expression profiling identifies disease biomarkers and mechanism. *Biochem. Soc. Trans.* 37, 855–862

Freeman, D.J. *et al.* (2009) Activity of panitumumab alone or with chemotherapy in non-small cell lung carcinoma cell lines expressing mutant epidermal growth factor receptor. *Mol. Cancer Ther.* 8, 1536–1546

Ward, P.S. and Thompson, C.B. (2012) Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even warburg did not anticipate. *Cancer Cell* 21, 297–308

Krutovskikh, V.A. and Herceg, Z. (2010) Oncogenic microRNAs (OncomiRs) as a new class of cancer biomarkers. *Bioessays* 32, 894–904

1.1.6. Ανασκόπηση τεχνολογιών ανίχνευσης βιοδεικτών σε βιολογικές αλληλουχίες



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Με την ανάπτυξη τεχνολογιών, ικανών να εκτελέσουν έναν τεράστιο αριθμό δοκιμών και να ανακτήσουν ένα τεράστιο όγκο δεδομένων ταυτόχρονα, αυξήθηκε σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες ο όγκος των εξαγόμενων δεδομένων που σχετίζονται με τις βιολογικές επιστήμες αναφορικά με την πολυπλοκότητα την ετερογένεια και το μέγεθος. Η διαχείριση βιολογικών δεδομένων και η κατανόηση των υποκείμενων συσχετισμών, δομών και μοντέλων είναι ένας από τους κύριους στόχους της βιοπληροφορικής, ενός διεπιστημονικού πεδίου που περιλαμβάνει τη βιολογία, τη βιοχημεία, τα μαθηματικά τη στατιστική και την τεχνολογία της πληροφορίας. Οι Huang X *et al.*, 2013 καθόρισαν μια γενική διαδικασία βιοπληροφορικής έρευνας που αποτελείται από 4 υπό διαδικασίες:

- Συλλογή πειραματικών δεδομένων και βιολογικών δειγμάτων σε εργαστήριο.
- Απόκτηση δεδομένων από υψηλής απόδοσης τεχνολογίες omics.
- Η ανάλυση των δεδομένων γίνεται με υπολογιστικές/μαθηματικές/στατιστικές μεθόδους.
- Επικύρωση των αποτελεσμάτων με περαιτέρω πειραματικές δοκιμές.

Η ανάπτυξη σημαντικών όγκων βιολογικών δεδομένων όσον αφορά την πολυπλοκότητα, την ετερογένεια και το μέγεθος, αποτελεί ουσιαστικά απεριόριστο δυναμικό ανάπτυξης πληροφοριών, αλλά δημιουργεί και διάφορες προκλήσεις. Η εξόρυξη δεδομένων είναι μια διαδικασία που προκύπτει από το συνδυασμό κλασικών εργαλείων στατιστικής και αλγορίθμων πληροφορικής, όπως η μηχανική μάθηση και επιτρέπει την εφαρμογή της γνώσης από ένα μεγάλο όγκο δεδομένων για επιστημονική, επιχειρησιακή ή βιομηχανική χρήση.

Ιστορικό και θεμελιώδη στοιχεία

Η ανακάλυψη της γνώσης που αποτελείται από διάφορα βήματα (διαδικασίες) και αποσκοπεί στην εξαγωγή μοντέλων ή, γενικά, επαναλαμβανόμενων δομών σε δεδομένα (πρότυπα) από δεδομένα που είναι:

- Έγκυρα, με την έννοια ότι τα ανακαλυφθέντα πρότυπα πρέπει να εμφανίζουν ένα ορισμένο βαθμό βεβαιότητας
- Πρωτότυπα, στη λογική ότι όσο περισσότερο η εξαγόμενη γνώση δεν είναι προφανής, τόσο πιο πολύτιμη είναι
- Πιθανώς χρήσιμα, με την έννοια ότι πρέπει να προσφέρει κάποιο όφελος στον τελικό χρήστη ή στο επόμενο βήμα της διαδικασίας
- Κατανοητά, δηλαδή τα πρότυπα που εξάγονται από τα δεδομένα πρέπει να διευκολύνουν την κατανόηση των ίδιων των δεδομένων.



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Η αναζήτηση έγκυρων, νέων, χρήσιμων και κατανοητών προτύπων υποδηλώνει ότι μπορούμε να ορίσουμε ποσοτικά μέτρα για την αξιολόγησή τους όπως για παράδειγμα εκτιμήσεις της ακρίβειας των προβλέψεων σε νέα δεδομένα, εκτιμήσεις για ένα καθορισμένο κέρδος, εκτιμήσεις περίπλοκων χαρακτηριστικών που εξήχθησαν κλπ. Οι Witten IH *et al.*, (2016) προσθέτουν στον προηγούμενο ορισμό ότι η διαδικασία πρέπει να είναι αυτόματη ή ημιαυτόματη, υπογραμμίζοντας τη σχέση μεταξύ Εξόρυξης Δεδομένων και Εκμάθησης Μηχανών. Όπως φαίνεται στο σχήμα 2, οι Han J *et al.*, (2011) συνθέτουν τα διάφορα στάδια που χαρακτηρίζουν την εξόρυξη δεδομένων που είναι τα ακόλουθα:

- Καθαρισμός δεδομένων. Τα σύνολα των δεδομένων παρουσιάζουν συνήθως δεδομένα που λείπουν, είναι ασυνεπή ή είναι ευαίσθητα στο "θόρυβο". Η χαμηλή ποιότητα των δεδομένων επηρεάζει αρνητικά τη διαδικασία εξαγωγής πληροφοριών και, για το λόγο αυτό, είναι απαραίτητο ένα πρώτο βήμα για την αφαίρεση ελλιπών ή ασυνεπών δεδομένων.
- Ενσωμάτωση δεδομένων. Αυτό το βήμα είναι απαραίτητο εάν τα δεδομένα προέρχονται από ετερογενείς πηγές και θα πρέπει να συσσωρευτούν με συνέπεια



Σχήμα 2. Τα διάφορα στάδια εξόρυξης δεδομένων.

- Επιλογή δεδομένων. Επιλέγονται τα σχετικά δεδομένα.
- Μετασχηματισμός δεδομένων. Σε αυτό το βήμα τα δεδομένα μετασχηματίζονται ή ενοποιούνται σε μια κατάλληλη μορφή για την ακόλουθη χρήση. Τα δεδομένα μπορούν να συγκεντρωθούν, να γενικευθούν με τη χρήση ιεραρχιών, να ομαλοποιηθούν σε ένα συγκεκριμένο εύρος και τέλος να ενσωματωθούν σε αυτά νέα χαρακτηριστικά ή χαρακτηριστικά, χρήσιμα για τη διαδικασία εξόρυξης δεδομένων.
- Εξόρυξη δεδομένων. Συνίσταται στην αναζήτηση μοντέλων που παρουσιάζουν ενδιαφέρον για τον χρήστη, με επακόλουθες βελτιώσεις που παρουσιάζονται σύμφωνα με ορισμένους τρόπους αναπαράστασης (ταξινόμηση, δέντρα αποφάσεων, παλινδρόμηση, ομαδοποίηση).

- Αξιολόγηση μοτίβου. Μόλις εξαχθούν, τα σχέδια που θεωρούνται έγκυρα επιλέγονται με βάση την εφαρμογή των κατάλληλων μέτρων.
- Παρουσίαση της γνώσης. Παρουσιάζονται οι πληροφορίες που συγκεντρώθηκαν.

Κάθε βήμα αυτής της διαδικασίας έχει αναπτυχθεί ανεξάρτητα από τα άλλα, παρέχοντας μια πληθώρα αλγορίθμων. Για το λόγο αυτό, μια κοινή προσέγγιση, επίσης χρήσιμη στο περιβάλλον της βιοπληροφορικής, περιλαμβάνει τη μοντελοποίηση της διαδικασίας ανακάλυψης μέσω της χρήσης ρών εργασίας που βοηθούν στην αυτοματοποίησή της, επιτρέποντας παράλληλα τη δυνατότητα παράλληλης δοκιμής διαφορετικών αλγορίθμων

Εξόρυξη δεδομένων

Στην Εξόρυξη Δεδομένων ή στην εργασία Ανάλυσης, οι νέες γνώσεις - θεωρούμενες ως νέες πληροφορίες υψηλού επιπέδου εκφραζόμενες σε μοντέλα, κανόνες σύνδεσης, τάσεις ή προβλέψεις - εξάγονται από δεδομένα χαμηλού επιπέδου μέσω προσεγγίσεων που προκύπτουν από το συνδυασμό στατιστικών και εργαλείων πληροφορικής, όπως η εκμάθηση μηχανών. Η Εξόρυξη Δεδομένων προέκυψε από τη διάκριση μεταξύ των εποπτευόμενων και των μη εποπτευόμενων προσεγγίσεων. Παρακάτω περιγράφονται σύντομα αυτές οι προσεγγίσεις σε σχέση με μελέτες στον ιατρικό τομέα.

Ας υποθέσουμε ότι έχουμε ένα σύνολο περιπτώσεων και κάθε περίπτωση αντιπροσωπεύεται από ένα σύνολο μεταβλητών ή χαρακτηριστικών. Το πρώτο βήμα της εποπτευόμενων τεχνικών μάθησης, είναι να οικοδομήσουμε ένα μοντέλο με την κατάρτιση ενός αλγορίθμου μηχανικής μάθησης σε ένα σύνολο παραδειγμάτων, δηλαδή περιπτώσεις που περιέχουν τόσο εισροές (αποκαλούμενες λειτουργίες ή χαρακτηριστικά) όσο και έξοδο, που αποτελείται από ένα χαρακτηριστικό που ονομάζεται στόχος μάθησης. Ο αλγόριθμος μάθησης χρησιμοποιεί αυτά τα χαρακτηριστικά για να καθορίσει το σύνολο των παραμέτρων που απαιτούνται για να είναι σε θέση να μάθει ένα μοντέλο που μπορεί να προβλέψει σωστά την έξοδο. Στη συνέχεια, το μοντέλο αυτό χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη των άγνωστων τιμών στόχων νέων περιπτώσεων.

Δύο τυπικά παραδείγματα εποπτευόμενης μάθησης είναι η ταξινόμηση και η παλινδρόμηση. Αν στην Ταξινόμηση ο στόχος είναι γενικά ονομαστικός και αντιπροσωπεύει την τάξη στην οποία ανήκει ένα περιστατικό, τότε ο στόχος της παλινδρόμησης είναι να προβλέψει την αξία εξόδου μιας αριθμητικά εξαρτημένης μεταβλητής ξεκινώντας από ένα ή περισσότερα ανεξάρτητα χαρακτηριστικά με το να συμπεραίνει μια πραγματική αποτίμηση.

Από αυτή την άποψη, οι τεχνικές εποπτευόμενης μάθησης μπορούν να χρησιμοποιηθούν, για παράδειγμα, για τον καθορισμό κριτηρίων διάγνωσης/πρόγνωσης ή για την πρόβλεψη μιας τάσης κλινικών/ζωτικών παραγόντων που εξαρτώνται από τα δεδομένα του κλινικού υποκειμένου.



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΗΠΕΙΡΟΣ
2014-2020



Μερικά από τα πιο γνωστά παραδείγματα αλγορίθμων εποπτικής μάθησης είναι

- Δέντρα ταξινόμησης,
- Γραμμικοί ταξινομητές (SVM, Νευρωνικό Δίκτυο),
- Κατηγοριοποιητές που βασίζονται σε κανόνες,
- Πιθανοί ταξινομητές (Naive Bayes, Bayesian δίκτυο, Μέγιστη Εντροπία).

Στις τεχνικές μη εποπτευόμενης μάθησης η δομή των δεδομένων επιδιώκεται να βρεθεί χωρίς να υπάρχουν παραδείγματα ή αποτελέσματα αλλά βασιζόμενη μόνο σε παρόμοια χαρακτηριστικά ενώ γίνεται ταυτόχρονα προσπάθεια για προβλέψεις και αιτιολογήσεις των δεδομένων.

Συγκεκριμένα, ο στόχος της ομαδοποίησης είναι το άθροισμα σε σύνολα ή συμπλέγματα δεδομένων που είναι παρόμοια κατά κάποιο τρόπο όταν, αντίθετα από την ταξινόμηση, οι ομάδες αυτές δεν είναι γνωστές εκ των προτέρων. Προκειμένου να προσδιοριστεί αυτή η ομοιότητα, οι τεχνικές ομαδοποίησης βασίζονται σε κατάλληλα μέτρα απόστασης. Οι κανόνες σύνδεσης δεν αποσκοπούν στην πρόβλεψη των αξιών, αλλά στην αναζήτηση σχέσεων και εξαρτήσεων μεταξύ των δεδομένων.

Συγκεκριμένα, ένας κανόνας σύνδεσης μπορεί να οριστεί ως η σχέση μεταξύ δύο συνόλων αντικειμένων (δηλ., δυαδικών χαρακτηριστικών) X-Y με την έννοια ότι εάν συμβεί το X, είναι πιθανό να συμβεί και το Y. Ένα σημαντικό ζήτημα της εξόρυξης δεδομένων είναι η κατάλληλη επιλογή ενός ή συνδυασμού αυτών των τεχνικών προκειμένου να βρεθεί μια αποτελεσματική και αξιόπιστη λύση σε ένα συγκεκριμένο πρόβλημα.

Τα τελευταία χρόνια, η προγνωστική εξόρυξη δεδομένων έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στη βιοπληροφορική και βρίσκει εφαρμογή στη γενωμική και τη πρωτεομική για προβλήματα πρόβλεψης αλληλεπίδρασης πρωτεΐνης-πρωτεΐνης (Hood L *et al.*, 2011, Haider S *et al.*, 2015, Zhang SW *et al.*, 2010), πρόβλεψη δομής πρωτεϊνών (Fayech S *et al.*, 2013), αναγνώριση μοτίβου σε βιολογικά δεδομένα (Qader N *et al.*, 2014), εύρεση γονιδίων και αναγνώριση περιοχών κωδικοποίησης κλπ.

Επιλογή Χαρακτηριστικών

Μέχρι στιγμής, οι διαδικασίες εξόρυξης δεδομένων και μηχανικής μάθησης παρουσιάστηκαν χωρίς να ληφθούν περαιτέρω υπόψη οι διαστάσεις του συνόλου δεδομένων και ο αριθμός των χαρακτηριστικών σε ένα σύνολο δεδομένων. Ωστόσο, είναι σαφές ότι μερικές μεταβλητές μπορεί να είναι σημαντικές για την κατασκευή ενός μοντέλου, ενώ άλλες ίσως όχι. Η επιλογή χαρακτηριστικών είναι η διαδικασία με την οποία επιλέγεται ένα υποσύνολο χαρακτηριστικών που θεωρείται σχετικό κατά την κατασκευή ενός μοντέλου.



Οι Dash M *et al.*, (1997), υποδιαιρούν τη διαδικασία επιλογής χαρακτηριστικών σε 4 φάσεις: παραγωγή υποομάδων, αξιολόγηση υποομάδων, κριτήριο στάσης και την επικύρωση των αποτελεσμάτων.

Το πρώτο βήμα βασίζεται σε ένα κριτήριο αναζήτησης που μπορεί να είναι πλήρες, διαδοχικό ή τυχαίο. Είναι απαραίτητο να υπογραμμιστεί ότι σε ένα χώρο χαρακτηριστικών n -διαστάσεων, οι μέθοδοι επιλογής χαρακτηριστικών προσπαθούν να βρουν το καλύτερο υποσύνολο μεταξύ των 2^n υποψήφιων υποσυνόλων και επομένως το πρόβλημα έχει εκθετική πολυπλοκότητα σε σχέση με τις διαστάσεις των δεδομένων. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος έχουν αναπτυχθεί αρκετές ευρετικές (heuristic) στρατηγικές. Οι Guyon I *et al.*, (2002) πρότειναν μια επαναλαμβανόμενη λειτουργία εξάλειψης [Recursive Elimination Function, (RFE)] η οποία εκτελεί διαγραφή προς τα πίσω, με στόχο την κατάργηση των άσχετων χαρακτηριστικών με διαδοχικό και επαναληπτικό τρόπο, μέχρι να παραμείνει μόνο ένα υποσύνολο δεδομένης διάστασης, σύμφωνα με ορισμένα κριτήρια στάσης.

Με βάση το δεύτερο βήμα, οι Yu L *et al.*, (2003) υποδιαιρούν τα κριτήρια επιλογής χαρακτηριστικών σε εξαρτώμενα και ανεξάρτητα από τον αλγόριθμο εξόρυξης. Μεταξύ των πιο κοινών κριτηρίων στάσης, διακρίνουν τα εξής: α) η αναζήτηση είναι πλήρης, έχει επιτευχθεί δεσμός (για παράδειγμα ένας συγκεκριμένος αριθμός επαναλήψεων), β) η προσθήκη ή η εξάλειψη ενός χαρακτηριστικού δεν παράγει ένα καλύτερο υποσύνολο.

Οι αλγόριθμοι επιλογής χαρακτηριστικών μπορούν να χωριστούν σε τρεις γενικές κατηγορίες: μέθοδοι φίλτρων, μέθοδοι καλύμματος (wrapper methods) και μέθοδοι ενσωμάτωσης. Οι μέθοδοι φίλτρων επιλέγουν ένα υποσύνολο μεταβλητών κατά την προεπεξεργασία, λαμβάνοντας υπόψη μόνο το περιεχόμενο των πληροφοριών και τις εγγενείς ιδιότητες των δεδομένων χωρίς να λαμβάνεται υπόψη ο χρησιμοποιούμενος αλγόριθμος εξόρυξης. Συγκεκριμένα, οι μέθοδοι φίλτρου εφαρμόζουν στατιστικά μέτρα τα οποία ταξινομούν τα χαρακτηριστικά προσδίδοντας ένα "σκορ" για καθένα από αυτά. Επιπλέον, αυτές οι στατιστικές μέθοδοι είναι συχνά μη μεταβλητές και εξετάζουν χαρακτηριστικά ανεξάρτητα το ένα από το άλλο ή σε σχέση με μια εξαρτημένη μεταβλητή. Ορισμένες μέθοδοι φιλτραρίσματος είναι: Pearson Correlation, Mutual Information, Chi Square, Fisher Score. Peter Y *et al.*, Jennrich R I *et al.*, (1976).

Οι μέθοδοι καλύμματος εξετάζουν την επιλογή ενός υποσυνόλου χαρακτηριστικών ανάλογα με αυτό που δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα με βάση έναν επιλεγμένο αλγόριθμο μάθησης. Έτσι, ο αλγόριθμος μάθησης χρησιμοποιείται ως μέρος της διαδικασίας πρόβλεψης του υποσυνόλου, που καθορίζει διάφορους συνδυασμούς του συνόλου χαρακτηριστικών, τους αξιολογεί σύμφωνα με τον αλγόριθμο εκμάθησης και τους ταξινομεί ως προς την ακρίβεια. Το υποσύνολο που επιτυγχάνει το δείκτη υψηλότερης ακρίβειας επιλέγεται ως το τελικό υποσύνολο. Γενικά, οι μέθοδοι καλύμματος είναι ανώτερες από τις μεθόδους φίλτρων όσον αφορά την απόδοση, αλλά είναι πιο αργές και υπολογιστικά ακριβότερες.

Στις μεθόδους ενσωμάτωσης, η επιλογή των μεταβλητών πραγματοποιείται στο πλαίσιο της διαδικασίας κατάρτισης, καθιστώντας την αποτελεσματικότερη από τις μεθόδους



καλύμματος εξαιτίας του γεγονότος ότι ενσωματώνουν την μεταβλητή επιλογής μέσα στη διαδικασία εκπαίδευσης.

Πλατφόρμες εξόρυξης δεδομένων

Παρακάτω περιγράφονται εν συντομία πλατφόρμες Εξόρυξης Δεδομένων και Μηχανικής Μάθησης καθώς και περιβάλλοντα προγραμματισμού τα οποία επί του παρόντος είναι και τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα τόσο για εφαρμογές βιοπληροφορικής όσο και για γενικές εφαρμογές .

WEKA

Ένα από τα πιο γνωστά λογισμικά Data Mining είναι το WEKA, (Waikato Environment for Knowledge Analysis) και αναπτύχθηκε από το Πανεπιστήμιο του Waikato στη Νέα Ζηλανδία (Witten IH *et al.*, 2016, Hall M *et al.*, 2009). Πρόκειται για ένα περιβάλλον ελεύθερου λογισμικού για μηχανική μάθηση γραμμένο σε Java, το οποίο είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση <https://www.cs.waikato.ac.nz/ml/weka/>. Η δημοτικότητα του Weka έγκειται στο γεγονός ότι όχι μόνο περιέχει μια τεράστια συλλογή εργαλείων για την προεπεξεργασία και μοντελοποίηση δεδομένων μαζί με τους πιο χρησιμοποιημένους αλγόριθμους εξόρυξης δεδομένων, αλλά επιτρέπει επίσης την εύκολη πρόσβαση σε αυτές τις λειτουργίες, μέσω μιας φιλικής προς το χρήστη γραφικής διεπαφής που επιτρέπει τη χρήση και για μη-ειδικούς της γλώσσας προγραμματισμού Java. Από την άλλη πλευρά, για τους προγραμματιστές Java, είναι δυνατό να ενσωματωθεί ο αλγόριθμος Weka σε μια εφαρμογή Java.

KNIME

Το KNIME, (Konstanz Information Miner, Berthold MR *et al.*, 2009, <https://www.knime.com/>), είναι μια πλατφόρμα ανοιχτού κώδικα για την ανάλυση, την αναφορά, την ενσωμάτωση, το χειρισμό και την απεικόνιση δεδομένων με ένα εύκολο στη χρήση περιβάλλον εργασίας. Το KNIME ενσωματώνει διάφορα στοιχεία της μηχανικής μάθησης και της εξόρυξης δεδομένων και επιτρέπει την προσθήκη δεδομένων σε μια ροή εργασιών. Το γραφικό περιβάλλον εργασίας [Graphical User Interface, (GUI)] διευκολύνει τη συναρμολόγηση κόμβων για την προεπεξεργασία δεδομένων και τη διαδικασία ETL (Extraction, Transformation, Loading) για μοντελοποίηση, ανάλυση δεδομένων και απεικόνιση. Είναι γραμμένο σε Java και βασίζεται στο Eclipse και δίνει τη δυνατότητα ανάπτυξης και προσθήκης συνδέσεων (plugins) που παρέχουν πρόσθετες λειτουργίες. Το KNIME θεωρείται πρωτεργάτης για πλατφόρμες ανάλυσης δεδομένων, υπολογίζοντας μεταξύ των πλεονεκτημάτων του τη διαθεσιμότητα προηγμένων χαρακτηριστικών για την επεξεργασία δεδομένων, όπως μετασχηματισμό και συσσωμάτωση.



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Rapid Miner

Το RapidMiner, (<https://rapidminer.com/>) παρέχει ένα ολοκληρωμένο περιβάλλον για την επιστήμη των δεδομένων, υποστηρίζοντας όλες τις φάσεις της διαδικασίας εκμάθησης μηχανών, συμπεριλαμβανομένης της προετοιμασίας δεδομένων, της απεικόνισης των αποτελεσμάτων, της επικύρωσης του μοντέλου και της βελτιστοποίησης μαζί με τη φιλικότητα προς το χρήστη και την προσαρμοστικότητα. Στην πραγματικότητα το Rapid miner προσφέρει διαφορετικές λειτουργίες για διαφορετικούς τύπους χρηστών. Συγκεκριμένα, τα πλαίσια που βασίζονται σε πρότυπα παρέχουν τη δυνατότητα ανάπτυξης κατευθυνόμενων μοντέλων χωρίς την ανάγκη κωδικοποίησης και αυτό είναι χρήσιμο για χρήστες που δεν έχουν εμπιστοσύνη στις γλώσσες προγραμματισμού, ενώ για τους ειδικούς σε θέματα πληροφορικής είναι δυνατή η πρόσβαση σε προηγμένα εργαλεία ανάλυσης.

Περιβάλλον προγραμμάτων για εξόρυξη δεδομένων

Σε αυτή την ενότητα συζητείται μια γρήγορη επισκόπηση τριών από τις σημαντικότερες ποσοτικές γλώσσες προγραμματισμού λογισμικού, MATLAB, Python και R.

MATLAB

Το MATLAB (MATrix LABoratory, <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>) είναι μια ιδιόκτητη γλώσσα προγραμματισμού που αναπτύχθηκε από το MathWorks και είναι μία από τις πιο εύχρηστες γλώσσες όταν ασχολείται με αντικείμενα που αντιπροσωπεύονται ως αριθμητική μήτρα. Εκτός από αυτό, το MATLAB επιτρέπει τον εντοπισμό λειτουργιών και δεδομένων, την εφαρμογή αλγορίθμων, και υποστηρίζει το περιβάλλον εργασίας με προγράμματα γραμμένα σε άλλες γλώσσες. Δημοφιλές τόσο στους μηχανικούς όσο και στους ειδικούς επεξεργασίας εικόνας, το MATLAB προσφέρει μια σειρά από επεκτάσεις προγραμμάτων και βιβλιοθήκες, που ονομάζονται κιβώτια εργαλείων, ενσωματωμένα στην κύρια διεπαφή MATLAB. Το εργαλείο Στατιστικής και Εκμάθησης Μηχανών παρέχει στατιστικές λειτουργίες και αλγόριθμους μηχανικής μάθησης για ανάλυση και μοντελοποίηση δεδομένων. Συγκεκριμένα, το παραπάνω εργαλείο παρέχει περιγραφικά στατιστικά στοιχεία, γραφικά εργαλεία και αλγόριθμους ομαδοποίησης για την διεξαγωγή διερευνητικής ανάλυσης δεδομένων, μετασχηματισμού χαρακτηριστικών και αλγορίθμων επιλογής χαρακτηριστικών για τη μείωση των διαστάσεων

Python και R

Οι Python και R είναι και οι δύο δημοφιλείς γλώσσες προγραμματισμού, που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη στατιστικής υπολογιστικής και μηχανικής μάθησης. Ενώ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

η R (Lafaye de Micheaux P *et al.*, 2013), αναπτύχθηκε με στόχο την παροχή ενός καλύτερου και πιο φιλικού προς το χρήστη εργαλείου για την ανάλυση δεδομένων και τη δημιουργία στατιστικών και γραφικών μοντέλων, η Python (Zelle, JM., 2004) είναι μια γενική γλώσσα προγραμματισμού με στόχο την έμφαση στην αναγνωσιμότητα του κώδικα.

Η R χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάπτυξη στατιστικών λογισμικών και αλγορίθμων ανάλυσης δεδομένων. Τα πακέτα οπτικοποίησης, μεταξύ των οποίων ένα παράδειγμα είναι το περίφημο ggplot2, επιτρέπουν τη λήψη κομψών και ενημερωτικών γραφικών που επιτρέπουν την κατανόηση των δεδομένων με πιο αποτελεσματικό τρόπο. Η Python είναι επίσης πολύ δημοφιλής για εφαρμογές ανάλυσης και εξόρυξης δεδομένων, χάρη στην απλότητα της, την αξιοπιστία του γραπτού κώδικα, την παρουσία ενός ολοκληρωμένου δοκιμαστικού πλαισίου και τη μεγαλύτερη ευελιξία χρήσης. Ωστόσο, σε σχέση με την R, η Python υφίσταται τη σύγκριση τόσο στην οπτικοποίηση δεδομένων που είναι λιγότερο κομψή από την R, όσο και στον αριθμό των πακέτων που προτείνονται για την ανάλυση δεδομένων.

Πλατφόρμες εξόρυξης δεδομένων για τη βιοπληροφορική

MS-Analyzer

Ο MS Analyzer είναι ένα εργαλείο για την ανάλυση των πρωτεομικών δεδομένων φασματομετρίας μάζας, (Cannataro M *et al.*, 2007). Μία από τις σημαντικότερες προκλήσεις της ανάλυσης πρωτεομικών δεδομένων φασματομετρίας μάζας είναι η ανάγκη ενός συνδυασμού μεγάλων συστημάτων αποθήκευσης, τεχνικών προεπεξεργασίας και εργαλείων απεικόνισης και εξόρυξης δεδομένων. Η συλλογή, η αποθήκευση και η ανάλυση τεράστιων φασμάτων μάζας που παράγονται σε διαφορετικά εργαστήρια μπορούν να αξιοποιήσουν τις υπηρεσίες υπολογιστικών δικτύων που προσφέρουν αποδοτικά πρωτόκολλα μεταφοράς δεδομένων, αποτελεσματική διαχείριση μεγάλων αποθηκευτικών χώρων και μεγάλη υπολογιστική ισχύ.

Dmet-Miner

Το DMET-Miner, (Agarito G *et al.*, 2015) είναι ένα εργαλείο εξόρυξης δεδομένων που είναι σε θέση να εξάγει τους Κανόνες Σύνδεσης (Association Rules) από τα σύνολα δεδομένων DMET (Drug Metabolism Enzymes and Transporters). Χρησιμοποιεί μια αποδοτική δομή δεδομένων και εφαρμόζει μια βελτιστοποιημένη στρατηγική αναζήτησης που μειώνει τον χώρο αναζήτησης και τον χρόνο εκτέλεσης. Η πλατφόρμα Affymetrix DMET microarray επιτρέπει τον προσδιορισμό των παραλλαγών του γονιδίου ADME [drug Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion, (ADME)] ενός ασθενούς και τη συσχέτισή τους με γεγονότα εξάρτησης από τα ναρκωτικά. Η πλατφόρμα Affymetrix DMET επιτρέπει την ταυτόχρονη διερεύνηση όλων των γονιδίων που σχετίζονται με την απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό και την απέκκριση φαρμάκων.



Bioconductor

Ο Bioconductor είναι ένα ανοιχτό πρόγραμμα ανάπτυξης λογισμικού για την υπολογιστική Βιολογία με βάση τη γλώσσα προγραμματισμού R. Συγκεκριμένα, ο Bioconductor λειτουργεί με υψηλής απόδοσης γενωμικά δεδομένα από αλληλουχία DNA, μικροσυστοιχίες, πρωτεομική και έναν αριθμό άλλων τύπων δεδομένων (Gentleman R *et al.*, 2006). Μετά την πολιτική απελευθέρωσης της γλώσσας R, ο Bioconductor παρέχει γενικά δύο εκδόσεις ανά έτος. Τα περισσότερα από τα διαθέσιμα πακέτα είναι πακέτα λογισμικού που εκτελούν κάποιο αναλυτικό υπολογισμό. Λόγω του ανοιχτού χαρακτήρα της ανάπτυξης του προγράμματος, δίδεται ιδιαίτερη σημασία στην τεκμηρίωση και πιο συγκεκριμένα η πολιτική του Bioconductor προβλέπει ότι για κάθε πακέτο θα πρέπει να υπάρχει τουλάχιστον ένα έγγραφο σε μορφή PDF ή HTML το οποίο γενικά περιλαμβάνει περιγραφικό κείμενο, αριθμούς και βιβλιογραφικές αναφορές.

Webmev

Αρχικά αναπτύχθηκε από το TIGR (The Institute for Genomic Research το οποίο το 2006 στο J Craig Venter Institute), το εργαλείο MultiExperiment Viewer (MeV) γεννήθηκε ως μέλος της σουίτας TM4, μιας ανοικτής σουίτας για τη διαχείριση και την ανάλυση των δεδομένων που εξάγονται από πειράματα μικροσυστοιχίας, Howe EA *et al.*, 2011. Ο στόχος της σουίτας TM4 ήταν να καταστήσει την ανάλυση δεδομένων πιο προσιτή και διαθέσιμη για τους ερευνητές που ανήκουν σε διαφορετικούς τομείς και αποτελείται από 4 εργαλεία:

- Τον Διαχειριστή Δεδομένων Μικροσυστοιχειών [Microarray Data Manager, (MADAM)], για τη διαχείριση δεδομένων microarray μέσω MySQL.
- Τον SpotFinder, για επεξεργασία εικόνας,
- Το Σύστημα Ανάλυσης Δεδομένων Μικροσυστοιχειών [Microarray Data Analysis System (MIDAS)] για την ομαλοποίηση και την προεπεξεργασία των πρώτων πειραματικών δεδομένων, για τη δημιουργία μιας κατάλληλης εισόδου για το εργαλείο MeV,
- Το MeV, που εκτελεί ανάλυση δεδομένων για την ταυτοποίηση των μοτίβων γονιδιακής έκφρασης.

Συγκεκριμένα, η MeV αναπτύχθηκε ως ανεξάρτητη εφαρμογή βασισμένη στην Java. Κάποια προβλήματα αυτής της προσέγγισης σχετίζονταν, για παράδειγμα, με την έλλειψη φορητότητας και κλιμάκωσης, με τη μεγάλη εξάρτηση της εφαρμογής από το περιβάλλον του υπολογιστή και με το αίτημα της λήψης συνόλων δεδομένων στο τοπικό μηχάνημα του χρήστη. Για το λόγο αυτό, αναπτύχθηκε πρόσφατα ένα εργαλείο ανοιχτού κώδικα Web Server, το WebMeV (Wang YE *et al.*, 2017), με σκοπό να εκμεταλλευτούν τις σύγχρονες αρχιτεκτονικές cloud, βασιζόμενοι σε έναν διακομιστή υπολογιστών (Web Server) που



αναπτύσσεται στο Amazon Web Service (AWS). Η εφαρμογή WebMeV παρέχει προηγμένες μεθόδους ανάλυσης προσαρμοσμένες από πακέτα Bioconductor και σχετίζονται με την κανονικοποίηση, την ομαδοποίηση, τη στατιστική και τη μέτα-ανάλυση.

Βιβλιογραφία

Agapito, G., Guzzi, P.H., Cannataro, M., 2015. Dmet-miner: Efficient discovery of association rules from pharmacogenomic data. *Journal of Biomedical Informatics* 56, 273–283.

Berthold, M.R., Cebron, N., Dill, F., et al., 2009. Knime-the konstanz information miner: Version 2.0 and beyond. *ACM SIGKDD Explorations Newsletter* 11 (1), 26–31

Cannataro, M., Veltri, P., 2007. Ms-analyzer: Preprocessing and data mining services for proteomics applications on the grid. *Concurrency and Computation: Practice and Experience* 19 (15), 2047–2066.

Dash, M., Liu, H., 1997. Feature selection for classification. *Intelligent Data Analysis* 1 (1–4), 131–156

Fayech, S., Essoussi, N., Limam, M., 2013. Data mining techniques to predict protein secondary structures. In: *Proceedings of the 5th International Conference on IEEE Modeling, Simulation and Applied Optimization (ICMSAO)*, pp. 1–5

Gentleman, R., Carey, V., Huber, W., Irizarry, R., Dudoit, S., 2006. *Bioinformatics and computational biology solutions using R and Bioconductor*. Springer Science & Business Media

Guyon, I., Weston, J., Barnhill, S., Vapnik, V., 2002. Gene selection for cancer classification using support vector machines. *Machine Learning* 46 (1), 389–422.

Guzzi, P.H., Agapito, G., Di Martino, M.T., et al., 2012. Dmet-analyzer: Automatic analysis of affymetrix dmet data. *BMC Bioinformatics* 13 (1), 258.

Haider, S., Lipinski, Z., Przewloka, M.R., et al., 2015. Dapper: A data-mining resource for protein-protein interactions. *BioData Mining* 8 (1), 30.

Hall, M., Frank, E., Holmes, G., et al., 2009. The weka data mining software: An update. *ACM SIGKDD Explorations Newsletter* 11 (1), 10–18.

Han, J., Pei, J., Kamber, M., 2011. *Data mining: Concepts and Techniques*. Elsevier.

Hood, L., Friend, S.H., 2011. Predictive, personalized, preventive, participatory (p4) cancer medicine. *Nature Reviews Clinical Oncology* 8 (3), 184

Howe, E.A., Sinha, R., Schlauch, D., Quackenbush, J., 2011. Rna-seq analysis in MeV. *Bioinformatics* 27 (22), 3209–3210.

Huang, X., Bruce, B., Buchan, A., et al., 2013. No-boundary thinking in bioinformatics research. *BioData Mining* 6 (1), 19

Jennrich, R. I., & Sampson, P. F. (1976). Newton-Raphson and related algorithms for maximum likelihood variance component estimation. *Technometrics*, 18, 11-17.

Lafaye de Micheaux, P., Drouilhet, R., Liquet, B., 2013. The R software. In: *Proceedings of the Fundamentals of Programming and Statistical Analysis*



Mancilla, G., Oyarzun, I., Artigas, R., et al., 2017. A data mining strategy identifies microrna-15b-5p as a potential bio-marker in non-ischemic heart failure

Peter Y. Chen & Autumn D. Krauss. Pearson's Correlation Coefficient. In: The SAGE Encyclopedia of Social Science Research Methods. Edited by: Michael S. Lewis-Beck, Alan Bryman & Tim Futing Liao. DOI: <http://dx.doi.org/10.4135/9781412950589.n.700>

Qader, N.N., Al-Khafaji, H.K., 2014. Motif discovery and data mining in bioinformatics. International Journal of Advanced Computer Technology 13 (1), 4082–4095

Shu, C., Wang, Q., Yan, X., Wang, J., 2018. Whole-genome expression microarray combined with machine learning to identify prognostic biomarkers for high-grade glioma. Journal of Molecular Neuroscience. 1–10.

Wang, Y.E., Kutnetsov, L., Partensky, A., Farid, J., Quackenbush, J., 2017. Webmev: A cloud platform for analyzing and visualizing cancer genomic data. Cancer Research 77 (21), e11–e14.

Witten, I.H., Frank, E., Hall, M.A., Pal, C.J., 2016. Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques. Morgan Kaufmann

Witten, I.H., Frank, E., Hall, M.A., Pal, C.J., 2016. Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques. Morgan Kaufmann

Yousefi, S., Amrollahi, F., Amgad, M., et al., 2017. Predicting clinical outcomes from large scale cancer genomic profiles with deep survival models. Scientific Reports 7 (1), 11707.

Yu, L., Liu, H., 2003. Feature selection for high-dimensional data: A fast correlation-based filter solution. In: Proceedings of the 20th International Conference on Machine Learning (ICML-03), pp. 856–863.

Zelle, J.M., 2004. Python Programming: An Introduction to Computer Science. Franklin, Beedle & Associates, Inc.

Zhang, S.-W., Li, Y.-J., Xia, L., Pan, Q., 2010. Pplook: An automated data mining tool for protein-protein interaction. BMC bioinformatics 11 (1), 326



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης