

## Απόπτωση, καρκίνος και νέες στοχευμένες θεραπείες

Νομικός Α.<sup>1</sup>, Μυλωνά Ε.<sup>2</sup>, Νακοπούλου Λ.<sup>1</sup>

### *Apoptosis, cancer and novel targeted therapies*

Nomikos A.<sup>1</sup>, Mylona E.<sup>2</sup>, Nakopoulou L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Second Department of Pathology, "Attikon" University Hospital,

<sup>2</sup>First Department of Pathology, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Greece

*Apoptosis refers to a genetically determined, internal, self-destruct mechanism of cell death, which is activated under a variety of circumstances as morphogenesis, the physiological turnover of cells in renewable tissues, immune regulation, deprivation of hormones and other trophic factors, environmental hazards and malignant neoplasms. In the last decade, basic cancer research has produced remarkable advances in understanding of cancer biology and cancer genetics. Among the most important of these advances is the realization that apoptosis and the genes that control it have a profound effect on the malignant phenotype. The understanding of apoptosis has provided the basis for novel targeted therapies that can induce death in cancer cells or sensitize them to established cytotoxic agents and radiation therapy. These novel agents include those targeting the extrinsic pathway of apoptosis and those targeting the intrinsic. This article reviews the current bibliography of the apoptotic pathways.*

**Key words:** Apoptosis, cancer, therapy

Ο όρος απόπτωση αναφέρεται σε έναν γενετικά προκαθορισμένο εσωτερικό αυτοκαταστροφικό μηχανισμό, ο οποίος ενεργοποιείται κάτω από διάφορες καταστάσεις όπως η μορφογένεση, η φυσιολογική ανανέωση κυττάρων σε ιστούς που ανανεώνονται, η ανοσολογική ρύθμιση, η αποστέρηση ορμονών και άλλων τροφικών παραγόντων, οι περιβαλλοντικοί κίνδυνοι και τα κακοήθη νεοπλασμάτα. Την τελευταία δεκαετία η βασική έρευνα για τον καρκίνο έχει να επιδείξει αξιοσημείωτες προόδους στην κατανόηση της βιολογίας και της γενετικής του καρκίνου. Ένα από τα πιο σπουδαία επιτεύγματα είναι η συνειδητοποίηση πως η απόπτωση και τα γονίδια που την ελέγχουν έχουν σημαντική επίδραση στον

<sup>1</sup>Τμήμα Παθολογικής Ανατομικής, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο "ΑΤΤΙΚΟΝ", <sup>2</sup>Τμήμα Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

*κακοήθη φαινότυπο. Η κατανόηση της απόπτωσης έχει εξασφαλίσει τη βάση για νέες στοχευμένες θεραπείες που επάγουν το θάνατο των καρκινικών κυττάρων ή τα καθιστούν ευαίσθητα στους καθιερωμένους κυτταροτοξικούς παράγοντες και την ακτινοθεραπεία. Αυτοί οι νέοι παράγοντες περιλαμβάνουν αυτούς που στοχεύουν το εξωγενές μονοπάτι της απόπτωσης και αυτούς που στοχεύουν το ενδογενές. Το άρθρο αυτό ανασκοπεί την τρέχουσα βιβλιογραφία όσον αφορά την κατανόηση των μονοπατιών της απόπτωσης.*

*Λέξεις κλειδιά: Απόπτωση, καρκίνος, θεραπεία*

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο κυτταρικός θάνατος διακρίνεται σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με τους μηχανισμούς που ευθύνονται για την απώλεια βιωσιμότητας, τη νέκρωση και την απόπτωση. Η νέκρωση είναι μια τυχαία ή παθολογική παθητική διαδικασία που έχει σαν αποτέλεσμα την προοδευτική διάλυση των κυτταρικών δομών. Συμβαίνει μετά από μη αναστρέψιμη βλάβη που οφείλεται σε περιβαλλοντικές αλλαγές, όπως η απότομη και σοβαρή ισχαιμία, οι ακραίες θερμοκρασίες και τα μηχανικά τραύματα, διακρίνεται δε στην ημικρυσταλλική, τη ρευστοποιοί, την ινιδιοειδή, την τυροειδή και τη λιπονέκρωση.

Η απόπτωση (ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) αποτελεί ένα ενδογενές πρόγραμμα κυτταρικής αυτοκτονίας απαραίτητο για την εξάλειψη ανεπιθύμητων κυττάρων και για τη διατήρηση της ομοιόστασης των ιστών. Η απόπτωση εμπλέκεται σε διάφορες καταστάσεις όπως φυσιολογική ανανέωση κυττάρων, μορφογένεση των εμβρυϊκών ιστών, ανοσολογική ρύθμιση (εξάλειψη των αυτοαντιδραστικών Τ λεμφοκυττάρων του θύμου αδένος κατά την ανάπτυξη), αποστέρηση ορμονών και άλλων τροφικών παραγόντων, περιβαλλοντικούς παράγοντες (όπως έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία, τοξική κυτταρική βλάβη, ιογενείς λοιμώξεις) ή κακοήθη νεοπλασμάτα<sup>1,2,5,7</sup>. Συνοπτικά τα παραπάνω απεικονίζονται στην Εικόνα 1.

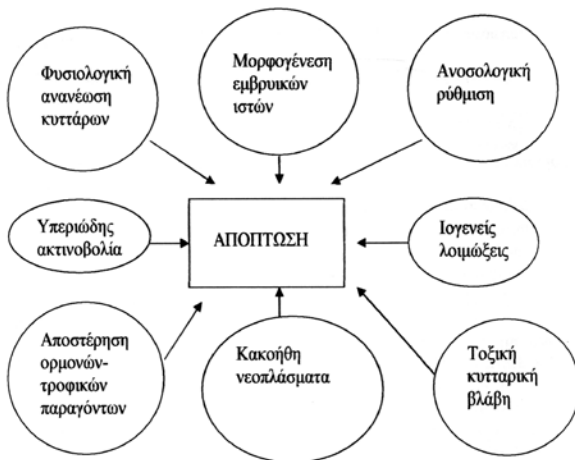
Επίσης, μετά την αποκόλληση των κυττάρων από την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, όπως συχνά συμβαίνει στα επιθήλια, πραγματοποιείται η εξάλειψή τους μέσω προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Ο ιδιαίτερος αυτός τύπος της απόπτωσης είναι γνωστός στη διεθνή βιβλιογραφία με τον όρο «anoikis»<sup>11</sup>. Τα αποπτωτικά κύτταρα είναι συρρικνωμένα και αποκολλημένα από τα γειτονικά τους. Υπό το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο η απόπτωση χα-

ρακτηρίζεται από πυρηνική πύκνωση, διαχωρισμό των κυτταροπλασματικών οργανιδίων σε διάφορες περιοχές και κατακερματισμό του νεκρού κυττάρου σε σωματίδια περιβαλλόμενα από μεμβράνη, που μπορεί να περιέχουν ή όχι πυρηνικά συστατικά. Τελικά τα σχηματιζόμενα αποπτωτικά σωματίδια εγκολλώνονται από μακροφάγα<sup>10</sup>.

Τα γονίδια που ελέγχουν την απόπτωση έχουν προσδιοριστεί στο νηματοειδή σκώληκα *Caenorhabditis elegans*. Ονομάζονται γονίδια ced (cell death, γονίδια κυτταρικού θανάτου). Τα γονίδια ced 3 και ced 4, προάγουν τον κυτταρικό θάνατο, ενώ το γονίδιο ced 9, τον αποτρέπει. Η ρύθμιση της απόπτωσης είναι εξαιρετικά πολύπλοκη και πλήθος γονιδίων συμμετέχουν σε αυτή. Τα γονίδια αυτά διακρίνονται σε εκείνα που προάγουν την απόπτωση (όπως p53, c-myc, E2F, Fas, Bax, Bad, Bak, Bcl-Xs) και σε εκείνα που την αναστέλλουν (όπως Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, MCL-1, A-I, crmA, p35)<sup>1-3,5</sup>.

## 2. ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ

Αναγνωρίζονται δύο βασικά μονοπάτια διαμέσου των οποίων το κύτταρο οδηγείται σε θάνατο στα πλαίσια της απόπτωσης. Το πρώτο (εξωγενές ή κυτταροπλασματικό ή εξαρτώμενο από τους υποδοχείς θανάτου) ενεργοποιείται διαμέσου του υποδοχέα θανάτου Fas (CD 95), ο οποίος είναι μέλος της υπερ-οικογένειας υποδοχέων του TNF (παράγοντας νέκρωσης όγκων). Το εξωγενές μονοπάτι περιλαμβάνει μεταξύ άλλων τους υποδοχείς θανάτου DR3, DR4, DR5, DR6, το σύμπλεγμα Fas και τις κασπάσες 8 και 10 που τελικά ενεργοποιούν τις υπόλοιπες κασπάσες οδηγώντας στην απόπτωση. Ο πιο αναλυτικά μελετημένος υποδοχέας θανάτου είναι ο Fas όπως αντίστοιχα και ο

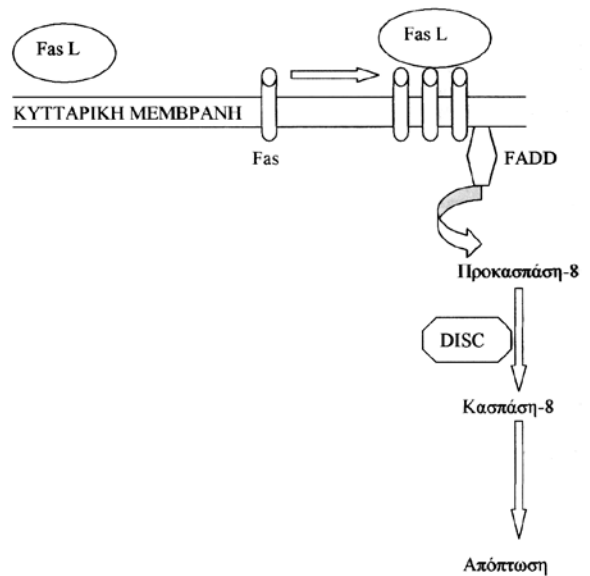


**Εικόνα 1.** Καταστάσεις που σχετίζονται με την απόπτωση.

ρόλος του στην ενεργοποίηση του εξωγενούς μονοπατιού της απόπτωσης.

Συγκεκριμένα, όταν ο Fas είναι προσδεμένος με τον συνδέτη του FasL (CD 95L), τρία ή περισσότερα μόρια Fas συμπλησιάζουν δημιουργώντας μια θέση σύνδεσης για μια πρωτεΐνη που ονομάζεται FADD (Fas-associated death domain protein). Η πρωτεΐνη αυτή εν συνεχεία δεσμεύει την προκασπάση 8 και το τελικό αποτέλεσμα είναι η ενεργοποίηση της τελευταίας δια μέσου ενός συστήματος πρωτεϊνών που καλείται DISC (death-inducing signaling complex)<sup>4,10</sup>. Το μονοπάτι που περιγράφηκε προηγουμένως αναστέλλεται από μια ομάδα πρωτεϊνών που ονομάζονται FLIP (Fas-associated death domain-like interleukin-1beta-converting enzyme-inhibitory protein) και οι οποίες συνδέονται με την προκασπάση 8, αλλά αδυνατούν να οδηγήσουν σε ενεργοποίησή της. Διάφοροι ιοί παράγουν τις πρωτεΐνες αυτές και μέσω αυτού του μηχανισμού τα κύτταρα που προσβάλλονται από τους συγκεκριμένους ιούς δεν υφίστανται απόπτωση<sup>4,10,19,32-34</sup>. Τα παραπάνω φαίνονται στην Εικόνα 2, όπου απεικονίζεται η ενεργοποίηση του εξωγενούς μονοπατιού της απόπτωσης και ο ρόλος του Fas.

Η σηματοδότηση από τον Fas διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των εξαλλαγέντων κυττάρων ή των μολυσμένων από κάποιο ιό και τη μεταφορά των αυτο-αντιδραστικών λεμφοκυττάρων και για αυτό το λόγο ελαττώματα σε αυτό το μονοπάτι εμπλέκονται σε πολλά κακοήθη και αυτοάνοσα νοσήματα.



**Εικόνα 2.** Ενεργοποίηση του εξωγενούς μονοπατιού της απόπτωσης και ο ρόλος των Fas, FADD, DISC (Τροποποίηση από Robbins και Cotran 2003).

Το δεύτερο μονοπάτι (ενδογενές ή μιτοχονδριακό) ενεργοποιούμενο οδηγεί στην αποδέσμευση του κυτοχρώματος-c από τα μιτοχόνδρια. Η οικογένεια πρωτεϊνών Bcl-2, κατέχει πολύ σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του ενδογενούς μονοπατιού της απόπτωσης. Μέχρι σήμερα 15 μέλη της οικογένειας αυτής έχουν ταυτοποιηθεί στα κύτταρα των θηλαστικών. Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει προαποπτωτικά μέλη (όπως Bax, Bak, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik, Bim, Hrk) και αντιαποπτωτικά μέλη (όπως Bcl-2, Bcl-X<sub>L</sub>, Bcl-W, Bfl-1, και Mcl-1). Τα αντιαποπτωτικά μέλη δρουν ως καταστολείς της απόπτωσης αναστέλλοντας την αποδέσμευση του κυτοχρώματος-c, ενώ αντίθετα τα προαποπτωτικά μέλη προάγουν την απόπτωση συντελώντας στην αποδέσμευση του κυτοχρώματος-c από τα μιτοχόνδρια<sup>3,5,12,15,20</sup>.

Τόσο το πρώτο όσο και το δεύτερο μονοπάτι καταλήγουν σε ένα τελικό κοινό μονοπάτι που εμπλέκεται στην ενεργοποίηση ενός καταρράκτη πρωτεασών που ονομάζονται κασπάσες με τελικό αποτέλεσμα τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Οι κασπάσες αποτελούνται από ετεροδιμερή των 10 και 20 kilodaltons, τα οποία συσσωρεύονται προς σχηματισμό ενός τετραμερούς. Έχουν ταυτοποιηθεί 14 μέλη της οικογένειας των κασπασών εκ των οποίων 7 συντελούν στη διαδικασία της απόπτωσης. Οι

κασπάσες που θεωρείται πως διαδραματίζουν ρόλο στη διαδικασία της απόπτωσης είναι οι κασπάσες 2, 3, 6, 7, 8, 9 και 10 σε αντιδιαστολή με τις κασπάσες 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14 που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις<sup>3,5,14</sup>.

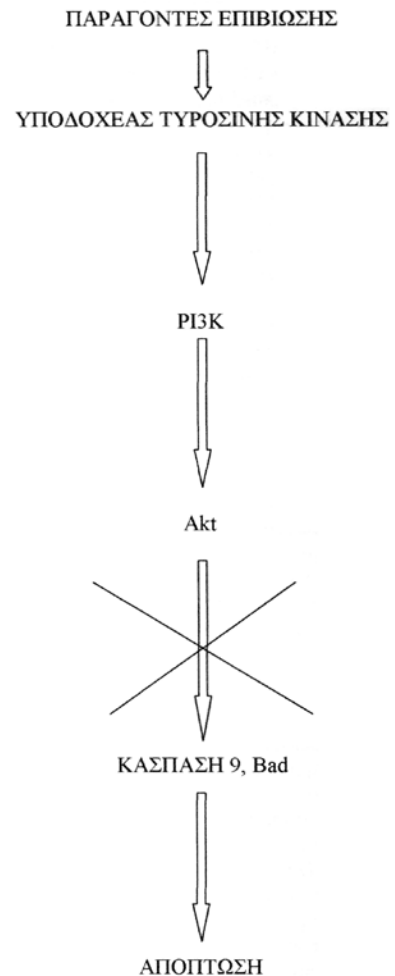
Σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της απόπτωσης κατέχουν το γονίδιο p53, ο παράγοντας NFκB και η κινάση PI3K. Το γονίδιο p53 βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 και το πρωτεϊνικό του προϊόν είναι παρόν σε όλους σχεδόν τους φυσιολογικούς ιστούς. Στα φυσιολογικά κύτταρα το p53 ρυθμίζει την κυτταρική διαίρεση. Συγκεκριμένα, σε αντίδραση στη βλάβη του DNA, τα επίπεδα του αυξάνουν και εμποδίζουν το κύτταρο να εισέλθει στη φάση S του κυτταρικού κύκλου, παρέχοντας έτσι αρκετό χρόνο ώστε να πραγματοποιηθεί η διόρθωση του DNA. Με αυτόν τον τρόπο το p53 δρα περιορίζοντας τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η απώλεια του p53 οδηγεί σε αναστολή της απόπτωσης, με έναν μηχανισμό που δεν είναι πλήρως αντιληπτός. Ο NFκB είναι ένας πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει την έκφραση ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων και εμπλέκεται στη ρύθμιση της απόπτωσης, την καρκινογένεση, τη φλεγμονή, ενώ διαδραματίζει ρόλο σε πολλά αυτοάνοσα νοσήματα. Πιστεύεται πως έχει τόσο αντι-αποπτωτική όσο και προ-αποπτωτική δράση, εξαρτώμενη από τη φύση του ερεθίσματος παρά από την προέλευση του ιστού. Η κινάση PI3K κατέχει σημαντικό ρόλο στη σηματοδότηση μονοπατιών θεμελιωδών για την κυτταρική επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό, την κυτταρική κίνηση και τη νεοαγγείωση. Ο ρόλος της στη ρύθμιση της απόπτωσης φαίνεται στην Εικόνα 3. Συγκεκριμένα, παράγοντες επιβίωσης ενεργοποιούν τον διαμεμβρανικό υποδοχέα τυροσίνης κινάσης. Η ενεργοποίηση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της κινάσης PI3K. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της κινάσης σερίνης-θρεονίνης Akt. Η τελευταία φωσφορυλιώνει και απενεργοποιεί την προ-αποπτωτική πρωτεΐνη Bad και την κασπάση 9. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η αναστολή της απόπτωσης<sup>3,21-24</sup>.

Τέλος, τόσο το ενδογενές όσο και το εξωγενές μονοπάτι της απόπτωσης υπόκεινται σε καταστολή από μια οικογένεια αναστολέων της απόπτωσης γνωστή με το όνομα IAP (Inhibitors of Apoptosis, αναστολείς της απόπτωσης). Τα μέλη της μπορούν να αναστείλουν

άμεσα ή έμμεσα τις κασπάσες. Διάφορα μέλη της οικογένειας IAP έχουν αναγνωρισθεί στον άνθρωπο όπως οι αναστολείς XIAP, c-IAP-1, c-IAP-2 οι οποίοι αναστέλουν άμεσα τις κασπάσες 3,7,9. Η πρωτεΐνη Smac/Diablo συνδεόμενη με τα μέλη της οικογένειας IAP οδηγεί στην αναστολή τους με αποτέλεσμα την επαγωγή της απόπτωσης<sup>13</sup>.

### 3. ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Το έτος 2000, διαγνώστηκαν δέκα εκατομ-



**Εικόνα 3.** Παράγοντες επιβίωσης ενεργοποιούν τον υποδοχέα της τυροσίνης κινάσης, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της PI3K. Η ενεργοποίηση της PI3K οδηγεί στην ενεργοποίηση της κινάσης σερίνης-θρεονίνης Akt, με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση της κασπάσης 9 και της πρωτεΐνης Bad και τελικό επακόλουθο την αναστολή της απόπτωσης (Τροποποίηση από Ghobrial I et al 2005).

μύρια νέες περιπτώσεις καρκίνου, ενώ έξι εκατομμύρια θάνατοι είχαν ως αιτία τον καρκίνο παγκοσμίως. Στις Η.Π.Α κάθε χρόνο ενάμιση εκατομμύρια άτομα πληροφορούνται πως πάσχουν από κάποια μορφή καρκίνου<sup>4</sup>. Η καρκινογένεση είναι μια διαδικασία πολλαπλών βημάτων τόσο σε γενετικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο φαινοτύπου. Τα κακοήθη νεοπλασμάτα έχουν διάφορα χαρακτηριστικά όπως η ανεξέλεγκτη αύξηση, η ικανότητα να διηθούν παρακείμενους ιστούς και να μεθίστανται σε απομακρυσμένες περιοχές. Η ανεξέλεγκτη αύξηση των καρκινικών κυττάρων προέρχεται από τη σταδιακή απόκτηση μεταλλάξεων στα γονίδια που ελέγχουν την κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση ή που ελέγχουν την απόπτωση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ικανότητα των νεοπλασματικών κυττάρων να πολλαπλασιάζονται χωρίς τους φυσιολογικούς περιορισμούς.

Στην παθογένεια του καρκίνου εμπλέκονται τρεις κατηγορίες γονιδίων. Τα ογκογονίδια είναι τροποποιημένες μορφές των φυσιολογικών γονιδίων που ονομάζονται πρωτοογκογονίδια και ρυθμίζουν τη φυσιολογική κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι γονίδια των οποίων τα προϊόντα αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τέλος, τα μεταλλακτικά γονίδια διατηρούν την ακεραιότητα του γονιδιώματος και την πιστότητα της αντιγραφής του DNA<sup>2,11</sup>.

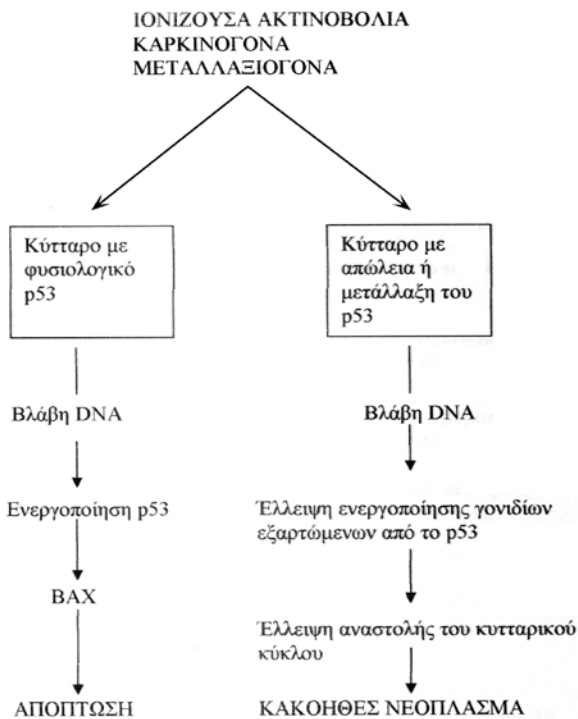
Η συσσώρευση τόσο πολλών κυττάρων στον καρκίνο είναι αποτέλεσμα της ανεξέλεγκτης αύξησης του αριθμού των κυττάρων ή/και της ελαττωμένης απόπτωσης. Τόσο οι μεταλλάξεις που οδηγούν σε αδρανοποίηση των προαποπτωτικών γονιδίων όσο και αυτές που έχουν ως αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών, οδηγούν τελικά σε ελαττωμένη απόπτωση. Κάτω από αυτό το πρίσμα οι μεταλλάξεις στο προαποπτωτικό γονίδιο p53 και οι αλλαγές στην έκφραση των πρωτεϊνών της οικογένειας Bcl-2, αποτελούν αντικείμενο ευρείας μελέτης όσον αφορά το ρόλο τους στη βιολογία του καρκίνου<sup>6,7</sup>.

Το γονίδιο p53 έχει ογκοκατασταλτική δράση, κατέχοντας ιδιαίτερο ρόλο στην αναστολή του κυτταρικού κύκλου. Η τελευταία δράση του προκαλείται κυρίως διαμέσου της πρωτεΐνης p21 (η οποία ανήκει σε μία οικογένεια κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών που δεσμεύουν τη διφωσφορική και την τριφωσφορική γουανωσίνη). Εξάλλου, είναι απαραίτητο

στο σημείο ελέγχου μεταξύ G<sub>1</sub>/S φάσης του κυτταρικού κύκλου και είναι κύριο συστατικό του σημείου ελέγχου μεταξύ G<sub>2</sub>/M φάσης. Το γονίδιο p53 διαδραματίζει, επίσης, σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της απόπτωσης. Αν και ο μηχανισμός δια μέσου του οποίου συμβαίνει αυτό δεν είναι πλήρως κατανοητός έχει πρόσφατα διαπιστωθεί ότι το p53 συντελεί στην ενεργοποίηση της προαποπτωτικής πρωτεΐνης Bax. Σε μετάλλαξη του p53 παρατηρείται μείωση της μεταγραφής του Bax, ελάττωση της απόπτωσης και της ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία. Ακόμη, σε μελέτες σε ποντίκια έχει δείχτει ότι το προαποπτωτικό μέλος της οικογένειας του Bcl-2, Bid, επίσης ρυθμίζεται από το p53 και ενδεχομένως να συντελεί στην αύξηση του κυτταρικού θανάτου των καρκινικών κυττάρων κατά την χημειοθεραπεία. Μετάλλαξη του γονιδίου p53 έχει επίσης ως αποτέλεσμα την αναιρέση της κατασταλτικής δραστηριότητάς του στην αύξηση του όγκου<sup>4,7,25</sup>. Το γονίδιο p53 εξαλείφεται ή μεταλλάσσεται στο 70-80% των καρκινωμάτων του παχέος εντέρου και συχνά στο μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονος, το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και σε άλλους όγκους. Εξάλλου, οι μεταλλάξεις του p53 στα κακοήθη νεοπλασμάτα συχνά συσχετίζονται με προχωρημένο στάδιο και πτωχή πρόγνωση<sup>15,35,36</sup>. Τέλος, τα άτομα με σύνδρομο Li-Fraumeni έχοντας μεταλλάξεις του γονιδίου p53 είναι προδιαθετειμένα σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθειας, κυρίως καρκίνου του μαστού και σαρκώματος<sup>5</sup>.

Στην Εικόνα 4 παρουσιάζεται συνοπτικά ο ρόλος του p53 στην απόπτωση και οι συνέπειες της έλλειψης ή της μετάλλαξης του στην καρκινογένεση. Συγκεκριμένα όπως έχει ήδη αναφερθεί στα κύτταρα με φυσιολογικό p53, ύστερα από επίδραση καρκινογόνου, μεταλλαξιόγόνου ή ιονίζουσας ακτινοβολίας η προκληθείσα βλάβη του DNA ακολουθείται από την ενεργοποίηση του p53, με επακόλουθο την ενεργοποίηση του BAX και τελικό αποτέλεσμα τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Αντίθετα σε έλλειψη ή μετάλλαξη του p53, δεν ενεργοποιούνται τα εξαρτώμενα από αυτό γονίδια (κυρίως το p21) με αποτέλεσμα την έλλειψη αναστολής του κυτταρικού κύκλου. Με τον τρόπο αυτό φαίνεται η σημασία του p53 στην καρκινογένεση.

Το αντιαποπτωτικό γονίδιο Bcl-2, έχει μελετηθεί ιδιαίτερα λόγω της χρωμοσωμικής μετάθεσης t(14;18), που παρατηρείται σε δια-



**Εικόνα 4.** Ο ρόλος του p53 στην απόπτωση και οι συνέπειες της έλλειψης ή της μετάλλαξης του στην καρκινογένεση (Τροποποίηση από Robbins και Cotran 2003).

φόρους τύπους λεμφωμάτων και στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία και στις οποίες το γονίδιο Bcl-2 του χρωμοσώματος 18 φέρεται κάτω από τον έλεγχο του γονιδιακού επαγωγέα της ελαφράς αλύσου της ανοσοσφαιρίνης, με αποτέλεσμα την υπερέκφραση του Bcl-2<sup>2,4</sup>. Εξάλλου, το Bcl-2, το οποίο αναστέλλει την απόπτωση των κακοήθων Β λεμφοκυττάρων, υπερεκφράζεται στα λεμφώματα και τις οξείες λευχαιμίες. Η υπερέκφραση αυτή επιταχύνει την επαγόμενη από το c-Myc λεμφματογένεση και σχετίζεται με φτωχή πρόγνωση. Υπερέκφραση ενός άλλου μέλους της οικογένειας Bcl-2, του αντιαποπτωτικού μέλους Mcl-1, παρατηρείται σε οξείες λευχαιμίες, ενώ αύξηση της έκφρασης του επίσης αντιαποπτωτικού μέλους της ίδιας οικογένειας Bcl-X<sub>L</sub> εμφανίζεται στη χρόνια μυελοειδή λευχαιμία και το πολλαπλό μύελωμα. Ανεπαρκής έκφραση των προαποπτωτικών μελών της οικογένειας Bcl-2, Bax και Bak, έχει διαπιστωθεί στον καρκίνο του παχέος εντέρου και σε αιματολογικές κακοήθειες. Αύξηση του πηλίκου Bcl-2 προς Bax συσχετίζεται με πτωχή πρόγνωση στην οξεία

μυελοειδή λευχαιμία.

Μεταλλάξεις σε άλλους ρυθμιστές της απόπτωσης έχουν επίσης παρατηρηθεί σε διάφορα κακοήθη νοσήματα. Μεταλλάξεις του Fas έχουν περιγραφεί στο μύελωμα, την Τ λεμφοβλαστική λευχαιμία και την ανθρώπινη Τ λευχαιμία/λέμφωμα του ιού τύπου 1 (HTLV-1). Τέλος, μεταλλάξεις στο γονίδιο της προ-κασπάσης 10, έχουν αναγνωρισθεί σε ασθενείς με αυτοάνοσο λεμφουπερπλαστικό σύνδρομο (ALPS)<sup>2,6-8,15</sup>. Ακόμη, τα μέλη της οικογένειας IAP που οδηγούν σε αναστολή της απόπτωσης σχετίζονται με κακοήθη νεοπλασμάτα. Σε ασθενείς με οξεία μυελοειδή λευχαιμία και χαμηλά επίπεδα του αναστολέα της απόπτωσης XIAP, παρατηρείται μεγαλύτερη επιβίωση, χρωμοσωμικές μεταθέσεις που αφορούν το γονίδιο c-IAP-2, έχουν παρατηρηθεί σε MALT λεμφώματα<sup>5</sup>.

Το πρωτοογκογονίδιο c-Myc αποδείχθηκε πως κατέχει κεντρική θέση στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, το μεταβολισμό, την απόπτωση, τη διαφοροποίηση και την καρκινογένεση. Συμμετέχει επίσης και στη ρύθμιση της ομοιόστασης του αιμοποιητικού συστήματος<sup>17</sup>. Το c-Myc, έχει έναν διττό ρόλο, αφενός μεν προάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (διαμέσου των κυκλινών A και E και άλλων παραγόντων), αφετέρου δε επάγοντας την απόπτωση. Το c-Myc επάγει την απόπτωση διαμέσου p 53 εξαρτώμενων και p 53 ανεξάρτητων μονοπατιών. Τόσο τα p 53 εξαρτώμενα όσο και τα p 53 ανεξάρτητα μονοπάτια διευκολύνουν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια<sup>15,16</sup>. Το c-Myc και το Bcl-2 μπορεί να συνεργάζονται στην ογκογένεση. Συγκεκριμένα το c-Myc προάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ενώ το Bcl-2 αποτρέπει τον κυτταρικό θάνατο. Αυτό είναι ένα από τα πολλά παραδείγματα συνεργασίας μεταξύ δύο ή περισσότερων ογκογονιδίων στην καρκινογένεση<sup>15-17</sup>.

#### 4. ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι διάφορες μορφές θεραπείας του καρκίνου (χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία, ορμονοθεραπεία) είναι σε θέση, κάτω από ορισμένες συνθήκες, να προάγουν την απόπτωση. Στόχος αυτών είναι αφενός μεν, η αύξηση του αυτόματου κυτταρικού θανάτου στα κύτταρα του όγκου και αφετέρου, η μείωση της αντοχής

των νεοπλασματικών κυττάρων στις διάφορες μορφές θεραπείας<sup>1</sup>. Εξάλλου, ορισμένα νεοπλάσματα ανταποκρίνονται γρήγορα στη θεραπεία πρώτης γραμμής προφανώς λόγω επαγωγής της απόπτωσης, ενώ αντίθετα συμπαγείς όγκοι συνήθως ανταποκρίνονται πιο αργά και σε μικρότερο βαθμό. Η μειωμένη αυτή ανταπόκριση συσχετίζεται με την απορρύθμιση κάποιου μονοπατιού της απόπτωσης<sup>9,26</sup>.

### **Παράγοντες που στοχεύουν το εξωγενές μονοπάτι**

Στους παράγοντες που στοχεύουν το εξωγενές μονοπάτι ανήκουν ο TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor), τα μονοκλωνικά αντισώματα HGS-ETR1, HGS-ETR2 και HGS-TR2J και το ATRA (all trans retinoic acid).

Ο TRAIL, (ή APO2L), επάγει την απόπτωση σε διάφορους τύπους καρκινικών κυττάρων και καταστέλλει την ανάπτυξη των ξеноμοσχευμάτων του παχέος εντέρου και του μαστού. Επίσης έχει βρεθεί ότι έχει συνεργική δράση με τη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Ο TRAIL επάγει την απόπτωση στα ανθρώπινα ηπατοκύτταρα και τα εγκεφαλικά κύτταρα *in vitro*, όμως δεν οδηγεί σε απόπτωση σε κύτταρα του εγκεφάλου ζώων σε προκλινικές δοκιμές. Προκλινικές δοκιμές σε συνδυασμό με συμβατικά χημειοθεραπευτικά όπως η δοξουμπισίνη, έχουν δείξει σημαντικά αποτελέσματα στην αναστολή της αύξησης του καρκίνου του προστάτη *in vivo*.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα (HGS-ETR1, HGS-ETR2 και HGS-TR2J) επάγουν επίσης την απόπτωση, ενώ το πλεονέκτημα τους σε σχέση με τον TRAIL, είναι ο μεγαλύτερος χρόνος ημίσειας ζωής τους. Χορηγούνται σε προκλινικές δοκιμές σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου, μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα και non-Hodgkin λέμφωμα.

Το ATRA, είναι ένα από τα πρώτα παραδείγματα στοχευμένης θεραπείας στη θεραπεία του καρκίνου. Έχει κλινική χρήση στην αντιμετώπιση της οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας<sup>3,27,37-43</sup>.

### **Παράγοντες που στοχεύουν το ενδογενές μονοπάτι**

Στους παράγοντες που στοχεύουν το ενδογενές μονοπάτι ανήκουν παράγοντες που δρουν άμεσα στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου, παράγοντες που ανταγωνίζο-

νται τα αντιαποπτωτικά μέλη της οικογένειας Bcl-2 και παράγοντες που αυξάνουν τη δραστηριότητα των προαποπτωτικών μελών της οικογένειας Bcl-2, όπως της Bax.

Το τριοξείδιο του αρσενικού επάγει την απόπτωση στα λευχαιμικά κύτταρα ενεργώντας άμεσα επί της εσωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου, εξαλείφοντας το δυναμικό αυτής και οδηγώντας στην αναστολή της έκφρασης του Bcl-2 και την αύξηση της έκφρασης της κασπάσης-3. Χορηγείται για την αντιμετώπιση της οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας. Ακόμη δοκιμάζεται κλινικά για την αντιμετώπιση του πολλαπλού μυελώματος, της T λευχαιμίας/λεμφώματος των ενηλίκων και του νεφροκυτταρικού καρκινώματος (NKK). Τέλος, διεξάγονται μελέτες για τη χρησιμότητά του σε μη μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα, γλοιώματα και καρκινώματα μαστού και οισοφάγου.

Το γονίδιο Bcl-2 υπερεκφράζεται μεταξύ άλλων σε διάφορους τύπους B λεμφώματος (όπως στο B λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα όπου υπερεκφράζεται σε ποσοστό 25% των περιπτώσεων), τον καρκίνο του προστάτη, του μαστού, το μη μικροκυτταρικό και το μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα και το μελάνωμα. Επίσης, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία, την ακτινοθεραπεία και την ορμονοθεραπεία

Χαρακτηριστικό παράδειγμα παράγοντα που σχετίζεται με το Bcl-2 είναι το ολιγονουκλεοτίδιο G3139, που προκαλεί αναστολή της έκφρασης της πρωτεΐνης Bcl-2. Χορηγείται στα πλαίσια κλινικών δοκιμών για την αντιμετώπιση του μελανώματος και της χρόνιας λεμφογενούς λευχαιμίας (ΧΛΛ)<sup>3,28,31,44-47</sup>.

### **Παράγοντες που στοχεύουν το κοινό μονοπάτι**

Οι ενεργοποιητές των κασπασών αποτελούν παράγοντες που ανήκουν στη συγκεκριμένη κατηγορία. Η δράση τους συνίσταται στην ενεργοποίηση των κασπασών και χρησιμοποιούνται σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές<sup>3</sup>.

### **Παράγοντες που στοχεύουν τους ρυθμιστές της απόπτωσης**

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν παράγοντες όπως αναστολείς του NFκB και του p53. Προκλινικές δοκιμές έχουν δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα για τη χορήγηση του NFκB

αναστολέα PS-1,145 στην αντιμετώπιση του πολλαπλού μυελώματος. Αντίστοιχα, κλινικές δοκιμές πραγματοποιούνται και για τον p53 αναστολέα ONYX-015 προκειμένου να αποδειχτεί η χρησιμότητά του στην αντιμετώπιση καρκινωμάτων της περιοχής κεφαλής-τραχήλου και του παγκρέατος<sup>3</sup>. Η ικανότητα του p53 να ρυθμίζει την απόπτωση σε απάντηση σε βλάβες του DNA έχει σπουδαίες θεραπευτικές εφαρμογές. Οι όγκοι που διατηρούν φυσιολογικό p53 έχουν περισσότερες πιθανότητες να ανταποκριθούν στην ακτινοθεραπεία και τη χημειοθεραπεία σε σχέση με όγκους που χαρακτηρίζονται από μετάλλαξη του p53. Παραδείγματα καρκινωμάτων με συχνή αντίσταση στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία είναι τα καρκινώματα του πνεύμονα και του παχέος εντέρου, όπου συχνά παρατηρείται μετάλλαξη του p53. Μέσα στις ποικίλες θεραπευτικές στρατηγικές που έχουν αναπτυχθεί είναι και η στόχευση του γονιδίου MDM2. Το γονίδιο MDM2, κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ρυθμίζει την έκφραση του p53<sup>18</sup>.

### Παράγοντες που στοχεύουν τους αναστολείς της απόπτωσης

Οι αναστολείς της απόπτωσης (IAPs), που δρουν αναστέλλοντας άμεσα ή έμμεσα τις κασπάσες βρέθηκε πρόσφατα πως υπερεκφράζονται σε προστατικά καρκινώματα. Η χρήση ολιγονουκλεοτιδίων με αλληλουχία αντίθετης φοράς (antisense) για την αναστολή της γονιδιακής έκφρασης έχει δείξει ότι οδηγεί σε ελάττωση της έκφρασης των (IAPs) και αύξηση της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων στην επαγωγή της απόπτωσης. Η πλήρης κατανόηση του μηχανισμού της απόπτωσης και της ρύθμισής του στον καρκίνο του προστάτη μπορεί να οδηγήσει σε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις<sup>13</sup>. Συνοπτικά οι παράγοντες που σχετίζονται με την απόπτωση και ενδεχομένως έχουν θεραπευτική εφαρμογή παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η απόπτωση σχετίζεται με ένα ευρύ φάσμα

**Πίνακας 1.** Παράγοντες με πιθανή θεραπευτική χρήση που σχετίζονται με την απόπτωση

Κατηγορία	Ονομασία	Φάση
Παράγοντες που στοχεύουν το εξωγενές μονοπάτι	Trial	Προκλινικό στάδιο
	HGS-ETR1, HGS-ETR2 προκλινικό στάδιο και HGS-TR2J	
Παράγοντες που στοχεύουν το ενδογενές μονοπάτι	ATRA	Κλινική χράση
	Τριοξειδίο του αρσενικού	Κλινική χρήση για την οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία
Παραγοντές που στοχεύουν το κοινό μονοπάτι	G3139	Κλινικές δοκιμές για μελάνωμα-ΧΛΛ <sup>2</sup>
	Ενεργοποιητές των κασπασών	Προκλινικό και κλινικό στάδιο
Παράγοντες που στοχεύουν τους ρυθμιστές της απόπτωσης	Αναστολείς του NFB (Όπως ο PS-1,145)	Προκλινικό στάδιο για πολλαπλού μυέλωμα
	Αναστολείς του p53 (Όπως ο ONYX-015)	Κλινικές δοκιμές για καρκινώματα Κεφαλής-Τραχήλου Παγκρέατος
Παράγοντες που στοχεύουν τους αναστολείς της απόπτωσης (IAPs)	Ολιγονουκλεοτίδια με αλληλουχία αντίθετης φοράς (antisense)	Σχεδιασμός για μελλοντική χρήση

<sup>1</sup>NKK= Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, <sup>2</sup>ΧΛΛ= Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία

ερεθισμάτων φυσιολογικών και παθολογικών. Απόπτωση συναντάται στα περισσότερα κακοήγη νεοπλάσματα και υψηλός αποπτωτικός δείκτης έχει παρατηρηθεί σε ταχέως αναπτυσσόμενους όγκους.

Τα τελευταία χρόνια με την κατανόηση σημαντικού μέρους των μηχανισμών της απόπτωσης ανοίγονται νέοι δρόμοι στη θεραπεία του καρκίνου. Παρόλο που υπάρχουν ακόμη πολλοί μηχανισμοί που δεν είναι πλήρως κατανοητοί, οι θεραπευτικές στρατηγικές που έχουν ως στόχο αφενός μεν την παρέμβαση στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, αφετέρου δε την παρέμβαση στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, υπόσχονται μεγαλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα σε συνδυασμό με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Νακοπούλου Α, Μιχαλοπούλου Α. Απόπτωση, καρκίνος και θεραπεία. Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής 11:6-14, 1997.
2. Rubin E, Farber J. Pathology, 3rd ed, Lipincott-Raven, Philadelphia, 2000:25-27.
3. Ghobrial I, Witzig T, Adjei A. Targeting Apoptosis Pathways in Cancer Therapy. CA Cancer J Clin 55:178-194, 2005.
4. Robbins and Cotran: Pathologic Basis of Disease, 7th ed, Elsevier, New York, 2003: 26-32.
5. Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer. Ann Hematol 84:627-639, 2005.
6. Sellers W, Fisher D. Apoptosis and cancer drug targeting. J Clin Invest 104: 1655-1661, 1999.
7. Fadeel B, Orrenius S. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. J Intern Med 258:479-517, 2005.
8. Ong YL, McMullin MF, Bailie KE, Lappin TR, Jones FG, Irvine AE. High bax expression is a good prognostic indicator in acute myeloid leukaemia. Br J Haematol 111:182-189, 2000.
9. Viktorsson K, Lewensohn R, Zhivotovsky B. Apoptotic pathways and therapy resistance in human malignancies. Adv Cancer Res 94:143-196, 2005.
10. Krueger A, Schmitz I, Baumann S, Krammer PH, Kirchhoff S. Cellular FLICE-inhibitory protein splice variants inhibit different steps of caspase-8 activation at the CD95 death-inducing signaling complex. J Biol Chem 276:20633-20640, 2001.
11. Κουλούκουσα Μ, Χαβάκη Σ, Κίττας Χ, Μαρίνος Ε. Ο ρόλος της πρωτεϊνικής κινάσης C στον καρκίνο του μαστού. Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής 17:55-66, 2003.
12. Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. Cell 116:205-219, 2004.
13. Watson RW, Fitzpatrick JM. Targeting apoptosis in prostate cancer: focus on caspases and inhibitors of apoptosis proteins. BJU Int 96(Suppl 2):30-34, 2005.
14. Voutsadakis I. Apoptosis and Pathogenesis of lymphoma. Acta Oncologica 39:151-156, 2000.
15. Lowe S, Lin A. Apoptosis in cancer. Carcinogenesis 21:485-495, 2000.
16. Dang C. c-Myc target genes involved in cell growth, apoptosis, and metabolism. Molecular and Cellular Biology 19:1-11, 1999.
17. Hoffman B, Amanullah A, Shafarenko M, Liebermann DA. The proto-oncogene c-myc in hematopoietic development and leukemogenesis. Oncogene 21:3414-3421, 2002.
18. Copson ER, White HE, Blaydes JP, Robinson DO, Johnson PW, Eccles DM. Influence of the MDM2 single nucleotide polymorphism SNP309 on tumour development in BRCA1 mutation carriers. BMC Cancer 24:80, 2006.
19. Broker LE, Kruyt FA, Giaccone G. Cell death independent of caspases: a review. Clin Cancer Res 11:3155-3162, 2005.
20. Reed J. Apoptosis mechanisms: implications for cancer drug discovery. Oncology (Williston Park) 13 Suppl:11-20, 2004.
21. Benchimol S. p53-dependent pathways of apoptosis. Cell Death Differ 8:1049-1051, 2001.
22. Yu J, Wang Z, Kinzler KW, et al. PUMA mediates the apoptotic response to p53 in colorectal cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA 100:1931-1936, 2003.
23. Maldonado V, Melendez-Zajgla J, Ortega A. Modulation of NF-kappa B, and Bcl-2 in apoptosis induced by cisplatin in HeLa cells. Mut Res 381: 67-75, 1997.
24. Kuhnel F, Zender L, Paul Y, et al. NFkappaB mediates apoptosis through transcriptional activation of Fas (CD95) in adenoviral hepatitis. J Biol Chem 275: 6421-6427, 2000.
25. Wyllie AH, Bellamy CO, Bubb VJ, Clarke AR, Corbet S, Curtis L, et al. Apoptosis and carcinogenesis. Br J Cancer 80(Suppl 1):34-37, 1999.
26. Shi-Yong Sun, Numsen H Jr, Reuben L. Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. J Nat Cancer Inst 96:662-672, 2004.
27. O'Kane HF, Watson CJ, Johnston SR, Petak I, Watson RW, Williamson KE. Targeting death receptors in bladder, prostate and renal cancer. J Urol 175:432-438, 2006.
28. Fulda S, Debatin KM. Apoptosis signaling in tumor therapy. Ann NY Acad Sci 1028:150-156, 2004.
29. Klein S, McCormick F, Levitzki A. Killing time for cancer cells. Nat Rev Cancer 5:573-580, 2005.
30. Brown JM, Attardi LD. The role of apoptosis in

- cancer development and treatment response. *Nat Rev Cancer* 5:231-237, 2005.
31. Ackermann E, Taylor JK, Narayana R, Bennett FC. The role of antiapoptotic Bcl-2 family members in endothelial apoptosis elucidated with antisense oligonucleotides. *Biol Chem* 274:11245-11252, 1999.
  32. Irmeler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, et al. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Cell* 91:185-195, 1997.
  33. Kataoka T, Budd RC, Holler N, Thome M, Martinon F, Irmeler M, et al. The caspase 8 inhibitor FLIP promotes activation of NF- $\kappa$ B and Erk signaling pathways. *Curr Biol* 10:640-648, 2000.
  34. Kataoka T, Schröter M, Hahne M, Schneider P, Irmeler M, Thome M, et al. FLIP prevents apoptosis induced by death receptors but not by perforin/granzyme B, chemotherapeutic drugs, and gamma irradiation. *J Immunol* 161:3936-3942, 1998.
  35. Wallace-Brodeur RR, Lowe SW. Clinical implications of p53 mutations. *Cell Mol Life Sci* 55:64-75, 1999.
  36. Attardi LD, Jacks T. The role of p53 in tumour suppression: lessons from mouse models. *Cell Mol Life Sci* 55:48-63, 1999.
  37. De Bono J, Attard G, Plummer R, et al. A phase I and pharmacokinetic (PK) study of an agonistic, fully human monoclonal antibody, HGSETR2, to the TNF $\alpha$  related apoptosis inducing ligand receptor 2 (TRAIL R2) in patients with advanced cancer [abstract]. 16th EORTC-NCI-AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics. *Eur J Cancer Suppl* 2: 61, 2004.
  38. Hotte SJ, Oza AM, Le LH, et al. HGS-ETR1, a fully human monoclonal antibody to the tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand death receptor 1 (TRAILR1) in patients with advanced solid cancer: results of a phase I trial [abstract]. 16th EORTC-NCI-AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics. *Eur J Cancer Suppl* 2:64, 2004.
  39. Cohen RB, Meropol NJ, Padavic KM, et al. A phase I clinical trial of HGS-ETR1, an agonist monoclonal antibody to TRAILR1, in patients with advanced solid tumors [abstract]. 16th EORTC-NCI-AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics. *Eur J Cancer Suppl* 2:13, 2004.
  40. Tolcher A. Translation targeting TRAIL receptors to the clinic. 16th EORTC-NCI-AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics *Eur J Cancer Suppl* 2:139-141, 2004.
  41. Altucci L, Rossin A, Raffelsberger W, et al. Retinoic acid-induced apoptosis in leukemia cells is mediated by paracrine action of tumor-selective death ligand TRAIL [comment]. *Nat Med* 7:680-686, 2001.
  42. Chen Z, Wang ZY, Chen SJ. Acute promyelocytic leukemia: cellular and molecular basis of differentiation and apoptosis. *Pharmacol Ther* 76: 141-149, 1997.
  43. Chou WC, Dang CV. Acute promyelocytic leukemia: recent advances in therapy and molecular basis of response to arsenic therapies. *Curr Opin Hematol* 12: 1-6, 2005.
  44. Zhu J, Chen Z, Lallemand-Breitenbach V, de Thé H. How acute promyelocytic leukaemia revived arsenic. *Nat Rev Cancer* 2:705-713, 2002.
  45. Hussein MA, Saleh M, Ravandi F, et al. Phase 2 study of arsenic trioxide in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Br J Haematol* 125:470-476, 2004.
  46. Hermine O, Dombret H, Poupon J, et al. Phase II trial of arsenic trioxide and alpha interferon in patients with relapsed/refractory adult T-cell leukemia/lymphoma. *Hematol J* 5:130-134, 2004.

**Corresponding author:**

L. Nakopoulou

Professor in Pathology, Department of Pathology,  
School of Medicine, National and Kapodistrian  
University of Athens

Mikras Asias 75, Goudi, Athens 115-27

Tel. 210-7462116, Fax. 210-7462157

**Υπεύθυνη αλληλογραφίας:**

Λ. Νακοπούλου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Εργαστήριο  
Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και  
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μικράς Ασίας 75, Γουδή, Αθήνα 115-27

Τηλ. 210-7462116, Fax. 210-7462157