

ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Μελέτη ανάδειξης του ρόλου της υπερθερμίας στην επίδραση ενίσχυσης της στοχευμένης θεραπείας του καρκίνου του παχέος εντέρου σε *in vitro* ανθρώπινα κυτταρικά συστήματα»

Υποψήφιος Διδάκτορας: Πετράκης Γεώργιος

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Η υπερθερμία αποτελεί μια μέθοδο για τη θεραπεία του καρκίνου η χρήση της οποίας έχει αναφερθεί εδώ και πάρα πολλά χρόνια. Κλινικά η υπερθερμία ορίζεται ως η ανύψωση της θερμοκρασίας τοπικά (42<sup>0</sup>C-45<sup>0</sup>C) ή συστηματικά (σε όλο το σώμα σε εύρος 41<sup>0</sup>C-42<sup>0</sup>C) χωρίς να προκαλεί σοβαρά τοξικά φαινόμενα. Από την άλλη μεριά, η στοχευμένη θεραπεία που χρησιμοποιείται στον καρκίνο του παχέος εντέρου περιλαμβάνει τα μονοκλωνικά αντισώματα μπεβασιζουμάμπη (Avastin), κετουξιμάμπη (Erbix) και πεμπρολιζουμάμπη (Keytruda). Αυτού του είδους η θεραπευτική αγωγή, έχει συγκεκριμένες αντενδείξεις αλλά και ενδείξεις και χρησιμοποιείται, στην κλινική πράξη, για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου του παχέος εντέρου.

Πιο συγκεκριμένα, η μπεβασιζουμάμπη (bevacizumab) συνδέεται με τον αυξητικό παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου VEGF (vascular endothelial growth factor) και ως εκ τούτου αναστέλλει τη σύνδεση του VEGF με τους υποδοχείς του: Fit 1 (VEGFR 1) και KDR (VEGFR 2), στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η εξουδετέρωση της βιολογικής δραστηριότητας του VEGF μειώνει την αγγειοποίηση των όγκων και ως εκ τούτου αναστέλλει την ανάπτυξη των όγκων.

Από την άλλη μεριά, η κετουξιμάμπη (cetuximab) δεσμεύεται στον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor receptor, EGFR) και ως αποτέλεσμα αυτής της δέσμευσης, το κύτταρο όγκου δεν μπορεί πλέον να λάβει τα μηνύματα που χρειάζεται για ανάπτυξη, εξέλιξη και μετάσταση.

Τέλος, η πεμπρολιζουμάμπη (pembrolizumab) προσκολλάται και κατά συνέπεια αποκλείει τον υποδοχέα πρωτεΐνης προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου-1 (PD-1), ο οποίος αδρανοποιεί τα T κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Μέσω της αναστολής του υποδοχέα PD-1, η πεμπρολιζουμάμπη εμποδίζει την αδρανοποίηση των εν λόγω ανοσοποιητικών κυττάρων, αυξάνοντας συνεπώς την ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να εξοντώνει τα καρκινικά κύτταρα.

Στην παρούσα προτεινόμενη μελέτη θα χρησιμοποιηθούν ανθρώπινες κυτταρικές σειρές καρκίνου (Caco-2 και HT-29) καθώς και υγιή επιθηλιακών κυττάρων (FHC) του παχέος εντέρου. Πιο συγκεκριμένα, θα αναδειχθούν οι βέλτιστες συνθήκες επώασης με υπερθερμία (χρόνος και θερμοκρασία) καθώς και των αντιστοιχών με μπεβασιζουμάμπη, κετουξιμάμπη και πεμπρολιζουμάμπη (χρόνος και συγκέντρωση) κατόπιν πειραμάτων τοξικοκινητικής.

Επίσης θα προσδιοριστεί ο βιολογικός χαρακτηρισμός του ρόλου της υπερθερμίας στην επίδραση ενίσχυσης των μπεβασιζουμάμπη, κετουξιμάμπη και πεμπρολιζουμάμπη στην θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου μέσω ταυτοποίησης δεικτών κυτταροτοξικότητας όπως αυτών της απόπτωσης, νέκρωσης και οξειδωτικού στρες.

Τέλος, θα προσδιοριστεί ο ρόλος της απόπτωσης ως διαδικασία προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και παράλληλα ανάδειξης της συμβαλλόμενης από την υπερθερμία επίδρασης ενίσχυσης των προαναφερόμενων δραστικών ουσιών στοχευμένης θεραπείας. Κατά αυτόν τον τρόπο επιθυμούμε να αναδείξουμε πειραματικές συνθήκες βελτίωσης και ενίσχυσης της θεραπείας του καρκίνου του παχέος εντέρου με προοπτικές μεταφοράς στην κλινική πράξη.

#### **Η τριμελής επιτροπή:**

Επίκουρος Καθηγητής κ. Σωτήριος Μποταΐτης

Καθηγητής κ. Νικόλαος Λυρατζόπουλος

Καθηγητής κ. Μιχαήλ Κουκουράκης

---

DEMOCRITUS UNIVERSITY OF THRACE

MEDICAL DEPARTMENT

DOCTORAL THESIS

**«The role of hyperthermia in potentiating the therapeutic effectiveness of targeted drugs in an in vitro model of human colon carcinoma»**

PhD Candidate: **Petrakis Georgios**

**SUMMARY**

Throughout the years, hyperthermia has been considered as a cancer treatment modality. Clinically, hyperthermia is defined as an increase in temperature either locally (42<sup>o</sup>C-45<sup>o</sup>C) or systemically (41<sup>o</sup>C-42<sup>o</sup>C) without causing significant cytotoxic side effects.

On the other hand, a targeted therapeutic approach, against colon carcinoma, often involves drug compounds like Bevacizumab (Avastin), Cetuximab (Erbix) and Pembrolizumab (Keytruda) all of which are utilized in the clinical setting for the treatment of the metastatic form of this type of cancer.

Specifically, Bevacizumab binds to VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) and consequently does not allow its binding to Fit 1 (VEGFR 1) and KDR (VEGFR 2) receptors thus inhibiting the process of angiogenesis and ultimately the growth of tumour cells.

On the other hand, Cetuximab binds to EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) and consequently stops all intracellular signalling towards tumour growth and metastasis.

Finally, Pembrolizumab binds to the receptor of PD-1 (Programmed Death-1) a protein responsible for stopping the activation of T-lymphocytes. This way, Pembrolizumab stops the action of PD-1 thus causing the activation of T-lymphocytes, stimulation of an immune response and consequently the killing of cancer cells.

In our proposed study, human colon carcinoma (Caco-2) and immortalized, normal epithelial colon (HT-29) cell lines will be utilized. Specifically, optimal experimental conditions of exposure to hyperthermia (e.g. time and temperature) together with those of Bevacizumab, Cetuximab and Pembrolizumab (e.g. time and concentration) will be determined by means of toxicokinetic analyses.

To this end, the role of hyperthermia in potentiating the therapeutic effectiveness of these drug compounds will be determined by means of examining levels of apoptosis, necrosis and oxidative stress as key toxicokinetic end-points.

Finally, the role of apoptosis will be further determined as a critical biological process entirely responsible for accounting towards any potentiating effect of hyperthermia's therapeutic effectiveness in combination with the above-mentioned drug compounds.

Ultimately, we aim to determine the optimal experimental conditions by which the therapeutic effectiveness of current targeted therapeutic approaches, in colon carcinoma, can be potentiated and ultimately been capable of transferred to the clinical setting,

**The three-member committee:**

Assistant Professor Mr. Sotirios Botaitis

Professor Mr. Nikolaos Lyratzopoulos

Professor Mr. Michael Koukourakis