



ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ TLR4 ΚΑΙ pSTAT3 ΣΤΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Παπαδάκη Α Μαρία¹, Μοναστηριώτη Αλεξία¹, Αποστολοπούλου Α Χριστίνα¹, Αγγουράκη Δέσποινα¹, Μαλά Αναστασία², Καλαττανίδα Δέσποινα², Παπαδάκη Χαρά¹, Μιχαηλίδου Κλείτα¹, Μαυρουδής Δημήτριος^{1,2}, Αγγελάκη Σοφία^{1,2}

¹Εργαστήριο Μεταφραστικής Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Ελλάδα; ²Παθολογική-Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου, Κρήτη, Ελλάδα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Τα μόρια toll-like receptor 4 (TLR4) και phosphorylated signal transducer and activator of transcription protein 3 (pSTAT3) έχουν σημαντικό ρόλο στην φλεγμονή και την ανοσοδιαφυγή του όγκου, ωστόσο ο ρόλος τους στην περιφερική ανοσολογική απάντηση χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

Μέθοδοι: Περιφερικό αίμα (ΠΑ) ελήφθη από ασθενείς με πρώιμο (n=99) και μεταστατικό καρκίνο μαστού (ΚΜ) (n=100), πριν την επικουρική και πρώτης γραμμής θεραπεία, αντίστοιχα. Η έκφραση των TLR4 και pSTAT3 στα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (ΚΚΚ) και στα μονοπύρνα κύτταρα περιφερικού αίματος (ΜΚΠΑ) αξιολογήθηκε μέσω τριπλού ανοσοφθορισμού για κυτταροκερατίνες, TLR4 και pSTAT3 με μικροσκοπία Ariol.

Σκοπός: Η διερεύνηση της έκφρασης TLR4 και pSTAT3 σε κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα και ανοσοκύτταρα στον ΚΜ.

Αποτελέσματα: ΚΚΚ ανιχνεύθηκαν στο 6,1% και 19% των ασθενών με πρώιμο και μεταστατικό ΚΜ, αντίστοιχα (p=0,006). Η συχνότητα των TLR4+ ΚΚΚ ήταν μεγαλύτερη στον μεταστατικό συγκριτικά με τον πρώιμο ΚΜ (53,6% έναντι 7,7% των ΚΚΚ, 13% έναντι 3% των ασθενών, p = 0,016). Ομοίως, pSTAT3+ ΚΚΚ ανιχνεύθηκαν συχνότερα στον μεταστατικό ΚΜ (60,7% έναντι 10,3% των ΚΚΚ, 14% έναντι 5,1% των ασθενών, p=0,032). Στους μεταστατικούς ασθενείς, η ανίχνευση ΚΚΚ συσχετίστηκε με μειωμένη συνολική επιβίωση (διάμεση τιμή: 24,9 έναντι 36,5 μήνες, p=0,042, Kaplan Meier), ενώ η ανίχνευση TLR4+ ΚΚΚ συσχετίστηκε με μειωμένη επιβίωση χωρίς πρόοδο νόσου (διάμεση τιμή: 11,4 έναντι 12,6 μήνες, p=0,036). Επιπλέον, η συχνότητα των TLR4+ ΜΚΠΑ ήταν μεγαλύτερη στον μεταστατικό (34% έναντι 20,2% των ασθενών, p=0,029), ενώ των pSTAT3+ ΜΚΠΑ στον πρώιμο ΚΜ (89,9% έναντι 77% των ασθενών, p=0,014). Η ανίχνευση TLR4+ ΜΚΠΑ σε ασθενείς με πρώιμη νόσο συσχετίστηκε με μειωμένο διάστημα ελεύθερο νόσου (p=0,007) και μειωμένη συνολική επιβίωση (p=0,028) (διάμεση τιμή δεν επιτεύχθηκε).

Συμπεράσματα: Η σηματοδότηση μέσω των TLR4 και pSTAT3 στην περιφέρεια πιθανά σχετίζεται με την μεταστατική εξέλιξη του ΚΜ. Η αξιολόγησή τους στο ΠΑ παρέχει σημαντική προγνωστική πληροφορία για τους ασθενείς με ΚΜ.

ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ

Μαρία Παπαδάκη
Εργαστήριο Μεταφραστικής Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης
Email: papadaki_maria1@yahoo.gr
Phone: 2810394712

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ανίχνευση κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (ΚΚΚ) σε ασθενείς με καρκίνο μαστού (ΚΜ) σχετίζεται με μεταστατική διασπορά και αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και θανάτου (1). Τα μόρια toll-like receptor 4 (TLR4) και phosphorylated signal transducer and activator of transcription protein 3 (pSTAT3) έχουν σημαντικό ρόλο στην φλεγμονή και την ανοσοδιαφυγή του όγκου (2,3). Ο ρόλος τους στην περιφερική ανοσολογική απάντηση χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

ΣΚΟΠΟΣ

Η διερεύνηση της έκφρασης των TLR4 και pSTAT3 στα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (ΚΚΚ) και στα ανοσοκύτταρα ασθενών με πρώιμο και μεταστατικό καρκίνο μαστού (ΚΜ).

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

- Περιφερικό αίμα ελήφθη από ασθενείς με πρώιμο (n = 99) και μεταστατικό καρκίνο μαστού (ΚΜ) (n = 100), πριν την επικουρική και πρώτης γραμμής θεραπεία, αντίστοιχα.
- Ακολούθησε απομόνωση των μονοπύρνων κυττάρων περιφερικού αίματος (ΜΚΠΑ) μέσω φυγοκέντρησης διαβαθμισμένης πυκνότητας φικόλης.
- Η έκφραση των TLR4 και pSTAT3 αξιολογήθηκε στα ΚΚΚ και ΜΚΠΑ μέσω τριπλού ανοσοφθορισμού για κυτταροκερατίνες (δείκτης ΚΚΚ), TLR4 και pSTAT3, και με τη χρήση της μικροσκοπίας Ariol.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

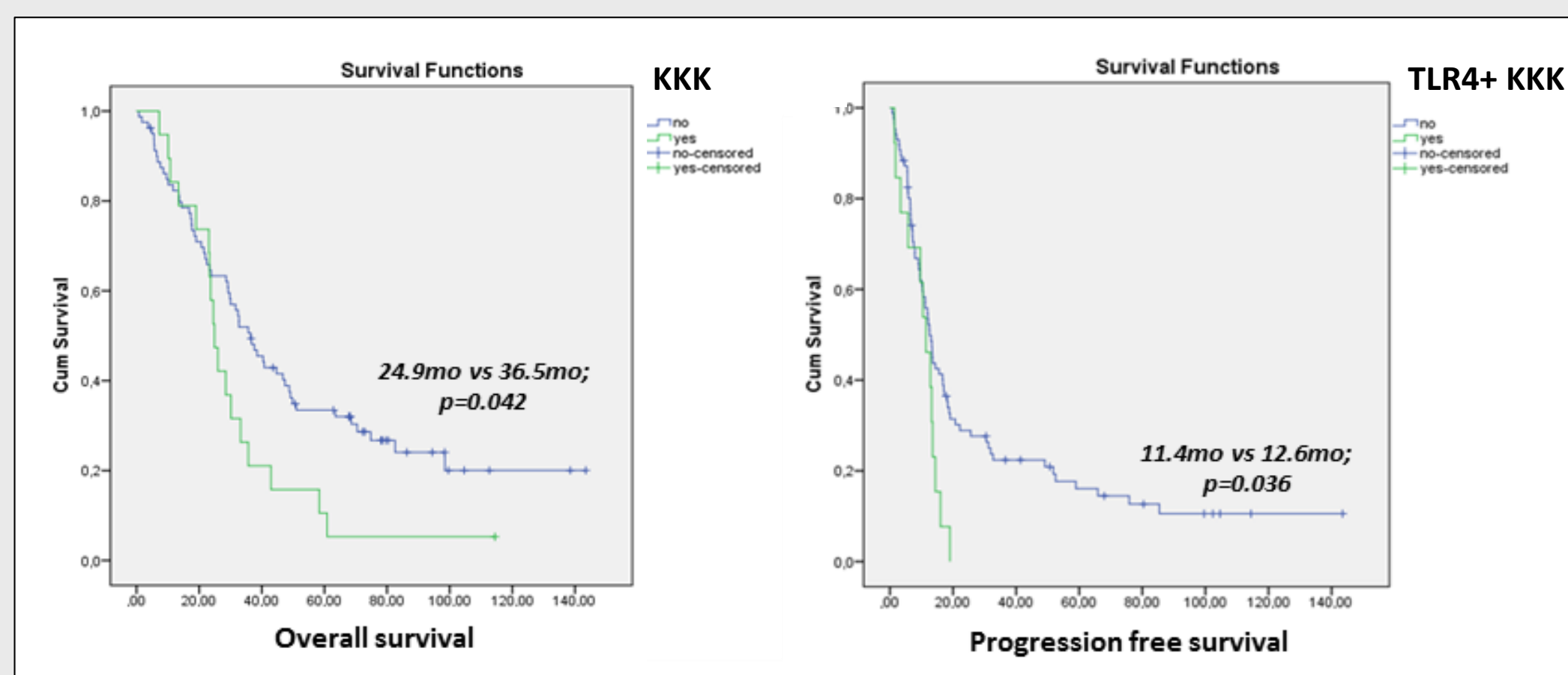
Η σηματοδότηση μέσω των TLR4 και pSTAT3 στην περιφέρεια πιθανά σχετίζεται με την μεταστατική εξέλιξη του καρκίνου του μαστού.

Η αξιολόγησή των TLR4 και pSTAT3 στο περιφερικό αίμα παρέχει σημαντική προγνωστική πληροφορία για τους ασθενείς με καρκίνο μαστού.

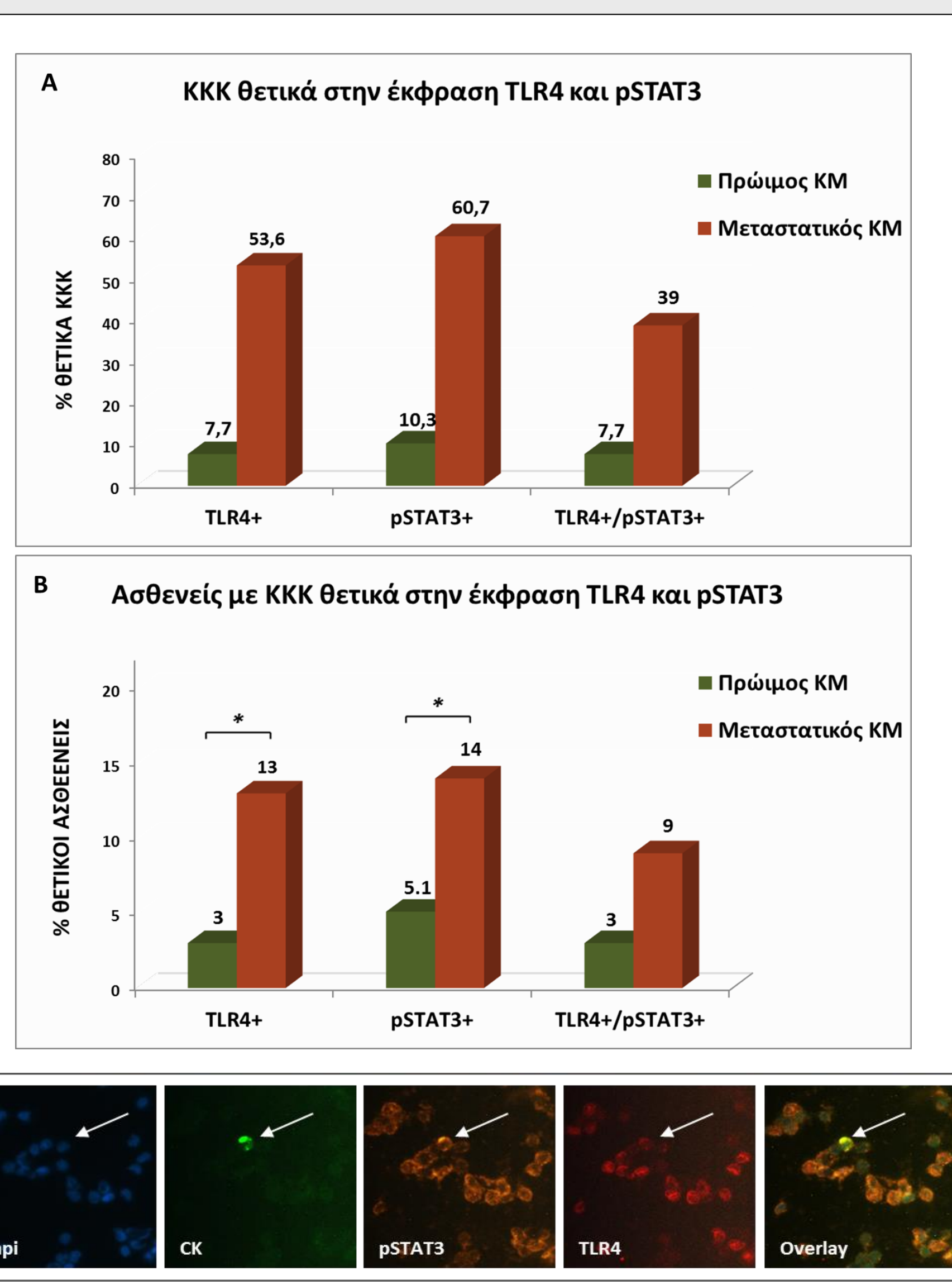
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΕΚΦΡΑΣΗ TLR4 ΚΑΙ pSTAT3 ΣΤΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (ΚΚΚ)

- ΚΚΚ ανιχνεύθηκαν στο 6,1% και 19% των ασθενών με πρώιμο και μεταστατικό ΚΜ, αντίστοιχα (p=0,006).
- Η συχνότητα των TLR4+ ΚΚΚ ήταν μεγαλύτερη στον μεταστατικό συγκριτικά με τον πρώιμο ΚΜ (53,6% έναντι 7,7% των ΚΚΚ, 13% έναντι 3% των ασθενών, p = 0,016) (Εικόνα 1).
- Ομοίως, pSTAT3+ ΚΚΚ ανιχνεύθηκαν συχνότερα στον μεταστατικό ΚΜ (60,7% έναντι 10,3% των ΚΚΚ, 14% έναντι 5,1% των ασθενών, p=0,032) (Εικόνα 1).
- Η συνέκφραση TLR4 και pSTAT3 στο ίδιο κύτταρο ήταν επίσης συχνότερη στο μεταστατικό στάδιο (Εικόνα 1).
- Στους ασθενείς με μεταστατικό ΚΜ, η ανίχνευση ΚΚΚ συσχετίστηκε με μειωμένη συνολική επιβίωση (p=0,042), ενώ η ανίχνευση TLR4+ ΚΚΚ συσχετίστηκε με μειωμένη επιβίωση χωρίς πρόοδο νόσου (p=0,036) (Εικόνα 2).



Εικόνα 2: Kaplan Meier καμπύλες επιβίωσης των ασθενών με μεταστατικό ΚΜ (N=100) ανάλογα με την ανίχνευση ΚΚΚ και TLR4+ ΚΚΚ

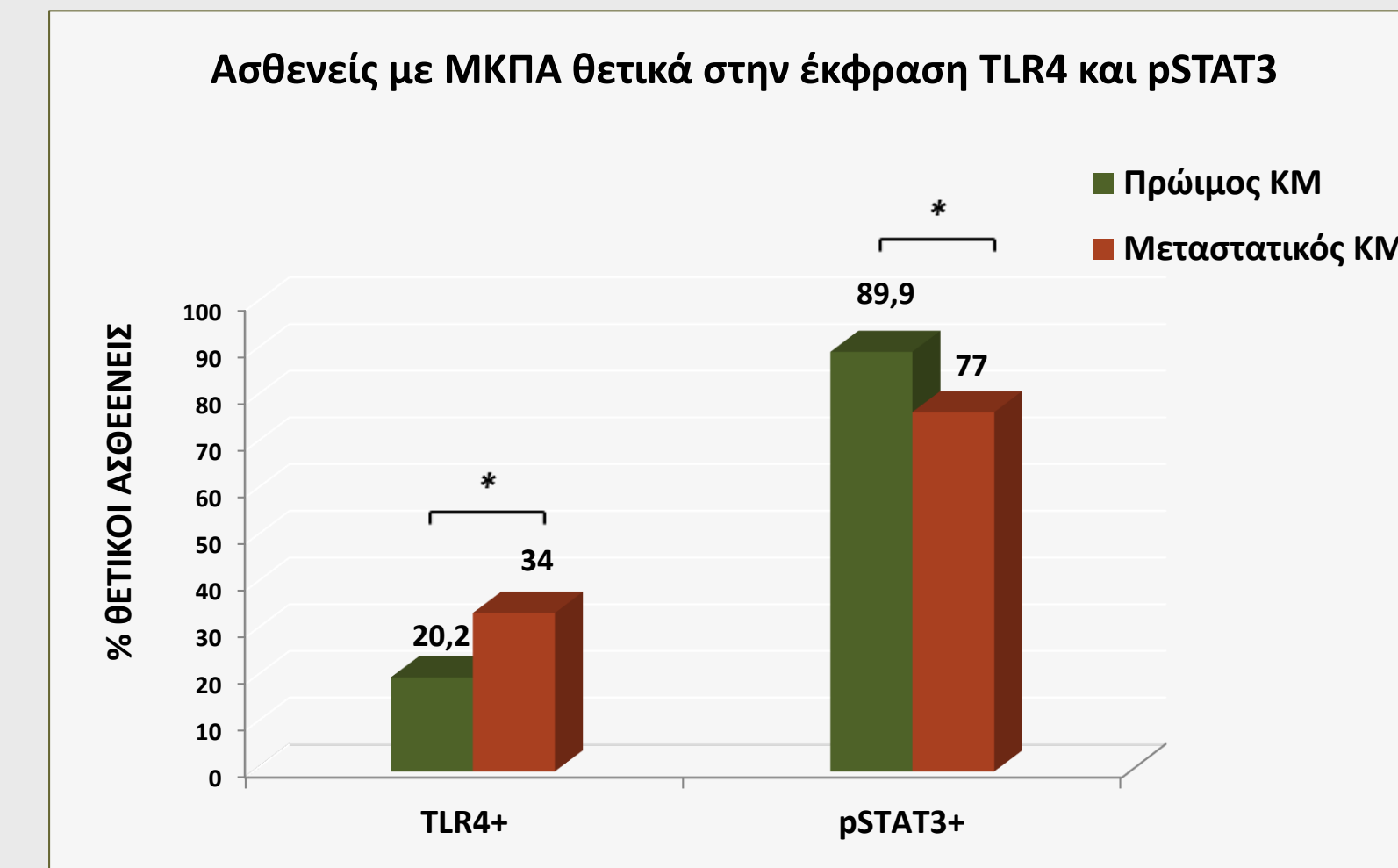


Εικόνα 1. Συχνότητα έκφρασης των TLR4 και pSTAT3 στα ΚΚΚ ασθενών με πρώιμο και μεταστατικό ΚΜ. Α) Ποσοστό θετικών ΚΚΚ, Β) Ποσοστό θετικών ασθενών, Γ) Συνέκφραση TLR4 and pSTAT3 σε ένα ΚΚΚ ασθενούς (σημαίνεται με βέλος, Ariol system, 400X).

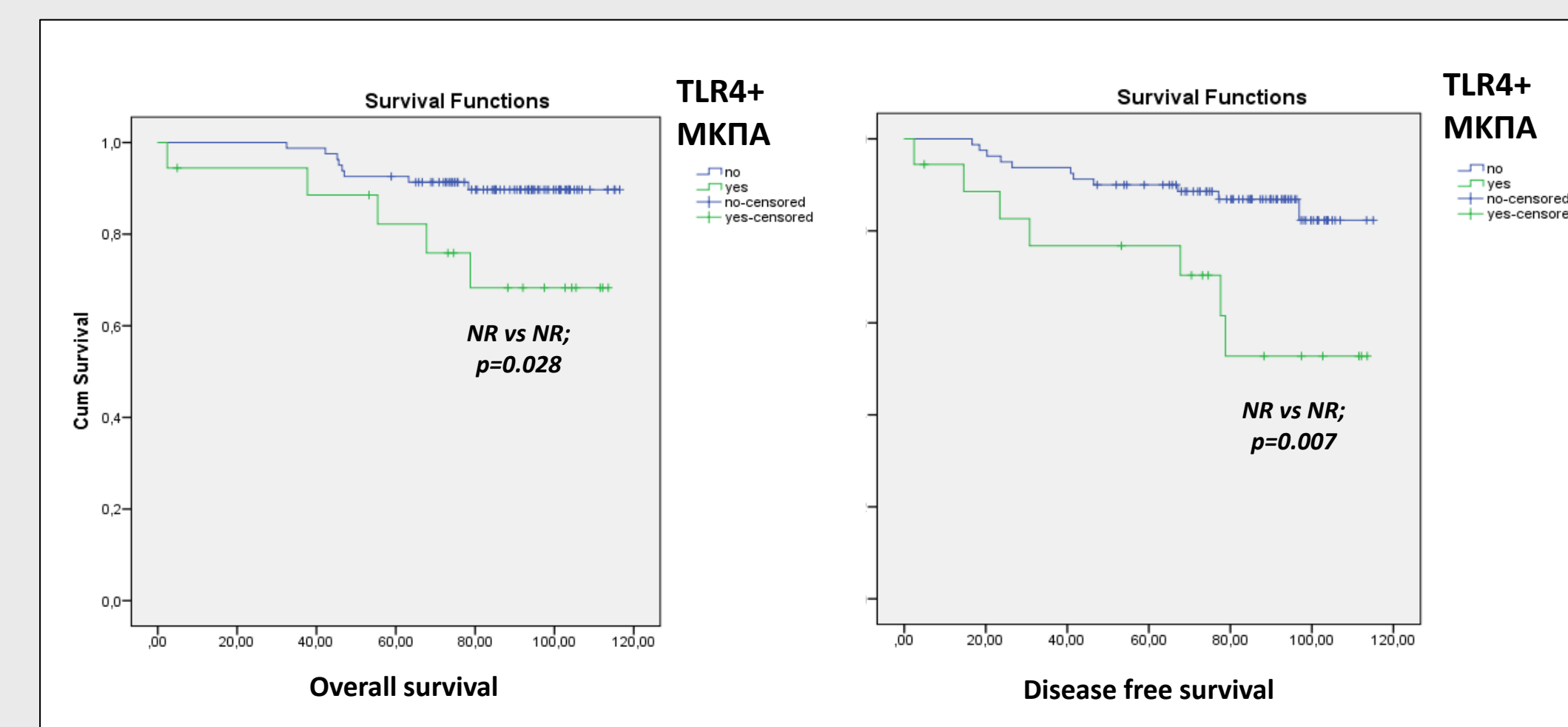
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΕΚΦΡΑΣΗ TLR4 ΚΑΙ pSTAT3 ΣΤΑ ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ (ΜΚΠΑ)

- Η συχνότητα ανίχνευσης TLR4+ ΜΚΠΑ ήταν μεγαλύτερη στον μεταστατικό παρά τον πρώιμο ΚΜ (34% έναντι 20,2% των ασθενών, p=0,029) (Εικόνα 3)
- Αντιθέτως, η συχνότητα ανίχνευσης pSTAT3+ ΜΚΠΑ ήταν αυξημένη στον πρώιμο ΚΜ (89,9% έναντι 77% των ασθενών, p=0,014) (Εικόνα 3)
- Η ανίχνευση TLR4+ ΜΚΠΑ σε ασθενείς με πρώιμη νόσο συσχετίστηκε με μειωμένο διάστημα ελεύθερο νόσου (p=0,007) και μειωμένη συνολική επιβίωση (p=0,028) (Εικόνα 4).



Εικόνα 3. Συχνότητα έκφρασης των TLR4 και pSTAT3 στα ΜΚΠΑ ασθενών με πρώιμο και μεταστατικό ΚΜ.



Εικόνα 4: Kaplan Meier καμπύλες επιβίωσης των ασθενών με πρώιμο ΚΜ (N=99) ανάλογα με την ανίχνευση TLR4+ ΜΚΠΑ (με κατώφλι θετικότητας το μέσο ποσοστό: 5,2%).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ivanova E, Ward A, Wiegman AP and Richard DJ. Circulating Tumor Cells in Metastatic Breast Cancer: From Genome Instability to Metastasis. Front. Mol. Biosci. 2020
2. He W, Liu Q, Wang L, Chen W, Li N, Cao X. TLR4 signaling promotes immune escape of human lung cancer cells by inducing immunosuppressive cytokines and apoptosis resistance. Mol Immunol. 2007
3. Ma, Jh., Qin, L. & Li, X. Role of STAT3 signaling pathway in breast cancer. Cell Commun Signal 18, 33 (2020)