

Η ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΤΙΝΖΑΡΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΠΑΡΕΧΕΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

Σαράντης Παναγιώτης¹, Μπόκας Αλέξανδρος^{1,2}, Παπαδημητροπούλου Ανδριάννα³, Κούστας Ευάγγελος¹, Θεοχάρης Σταμάτιος⁴, Παπακοτούλας Παύλος², Σχίζας Δημήτριος⁵, Παπαλάμπρος Αλέξανδρος⁵, Φελέκουρας Ευάγγελος⁵, Παπαβασιλείου Γ. Αθανάσιος¹, Καραμούζης Μιχάλης¹

1 Εργαστήριο Μοριακής Ογκολογίας, Τμήμα Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 11527 Αθήνα, Ελλάδα 2 Κλινική Παθολογικής Ογκολογίας, Θεαγένειο Αντικαρκινικό Νοσοκομείο, 54639 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα 3 Κέντρο Βασικής Έρευνας, Ίδρυμα Βιοϊατρικής Έρευνας της Ακαδημίας Αθηνών, 11527 Αθήνα, Ελλάδα 4 Παθολογο-ανατομικό Εργαστήριο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 11527 Αθήνα, Ελλάδα 5 Α΄ Χειρουργική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 11527 Αθήνα, Ελλάδα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Ο καρκίνος του παγκρέατος αναγνωρίζεται ως ένας πολύ θρομβογόνος όγκος, με πάνω από το 20% των ασθενών να υποφέρουν από φλεβικό θρομβοεμβολισμό κατά τη διάρκεια της νόσου. Επομένως, ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH) όπως η Τινζαρίνη χρησιμοποιείται συνήθως για αυτούς τους ασθενείς. Μέθοδοι: Οι καρκινικές κυτταρικές σειρές PANC-1 και MIA PaCa-2 επώαστηκαν μόνες τους ή σε συνδυασμό με Τινζαρίνη, Nab-πακλιταξέλης και γεμισταμίνης. In vivo αξιολόγηση αυτών των θεραπειών πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια NOD / SCID όπου εγχύθηκαν με PANC-1 (ετερότοπα ξενομοσχεύματα). Οι πρωτεΐνες ανιχνεύθηκαν με ανοσοϊστοχημεία και μέσω ανοσοφθορισμού με συνθεσιακή μικροσκοπία.

Σκοπός: Με βάση την προσέγγιση συνδυαστικής θεραπείας για την αντιμετώπιση εξαιρετικά κακοθών και ανθεκτικών καρκίνων όπως ο παγκρεατικός καρκίνος, υποθέτουμε ότι η Τινζαρίνη μπορεί να αυξήσει την αποτελεσματικότητα των παραδοσιακών χημειοθεραπευτικών φαρμάκων και να προκαλέσει αποτελεσματική αντικαρκινική δράση.

Αποτελέσματα: Η τινζαρίνη ενισχύει την αντικαρκινική δράση της Nab-πακλιταξέλης και της γεμισταμίνης σε κυτταρικές σειρές mtKRAS παγκρεατικού καρκίνου μέσω απόπτωσης σε in vitro πειράματα. Ο τριπλός συνδυασμός δρα μέσω επαγωγής της απόπτωσης, της μείωσης του πολλαπλασιαστικού δυναμικού και της αγγειογένεσης, συμβάλλοντας έτσι στη μείωση του μεγέθους του όγκου που παρατηρήθηκε in vivo. Η μείωση του όγκου που παρατηρήθηκε σε ποντίκια που έλαβαν τριπλή συνδυαστική χημειοθεραπεία, ήταν 74,5% σε σύγκριση με τα κοντρόλ. Η τινζαρίνη από μόνη της δεν εμφάνισε σημαντικό αποτέλεσμα, αλλά η συμπερίληψη στο τριπλό σχήμα έδωσε επιπλέον 8,2% και 24,3% μείωση όγκου σε σύγκριση με τον μάρτυρα και το διπλό συνδυασμό (γεμισταμίνη συν Nab-πακλιταξέλη) αντίστοιχα.

Συμπεράσματα: Η συνδυαστική στρατηγική μπορεί να δημιουργήσει νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη θεραπεία ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος, επιτυγχάνοντας ένα καλύτερο κλινικό αποτέλεσμα και παρατεταμένη επιβίωση.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ

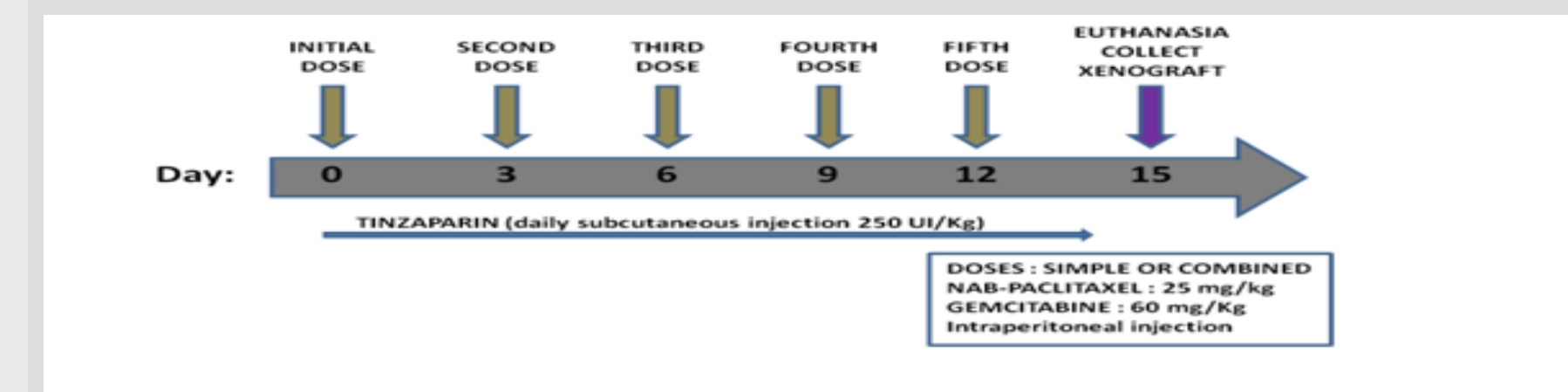
Όνοματεπώνυμο: Δρ. Μιχάλης Καραμούζης
Τηλ.: 6944290909
E-mail: mkaramouz@med.uoa.gr

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καρκίνος του παγκρέατος (PC) αναγνωρίζεται ως ένας πολύ θρομβογόνος όγκος, με πάνω από το 20% των ασθενών να υποφέρουν από φλεβικό θρομβοεμβολισμό κατά τη διάρκεια της νόσου. Έτσι, ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH) όπως η Τινζαρίνη χρησιμοποιείται συνήθως για ασθενείς με PC. Με βάση την προσέγγιση συνδυαστικής θεραπείας για τη θεραπεία εξαιρετικά κακοθών και ανθεκτικών καρκίνων όπως ο PC, υποθέσαμε ότι η Τινζαρίνη μπορεί να αυξήσει την αποτελεσματικότητα των παραδοσιακών χημειοθεραπευτικών φαρμάκων και να προκαλέσει αποτελεσματική αντικαρκινική δράση.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Καλλιεργήθηκαν ανθρώπινες κυτταρικές σειρές καρκίνου του παγκρέατος, PANC-1 και MIA PaCa-2. Όλα τα in vivo πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ποντικούς NOD / SCID ηλικίας μεταξύ 6 και 8 εβδομάδων. Τα ποντίκια χωρίστηκαν τυχαία σε ομάδες (n = 5 ανά ομάδα) για κάθε θεραπεία.



Πραγματοποιήθηκαν, ανοσοϊστοχημεία, ανοσοφθορισμός, ανοσοαποτύπωση κατά Western με αντισώματα έναντι του PCNA, VEGFR2, Κασπάσης-3, ακτίνης-β, PARP-1. Η αξιολόγηση του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος πραγματοποιήθηκε με τον προσδιορισμό κατά ΧΤΤ.

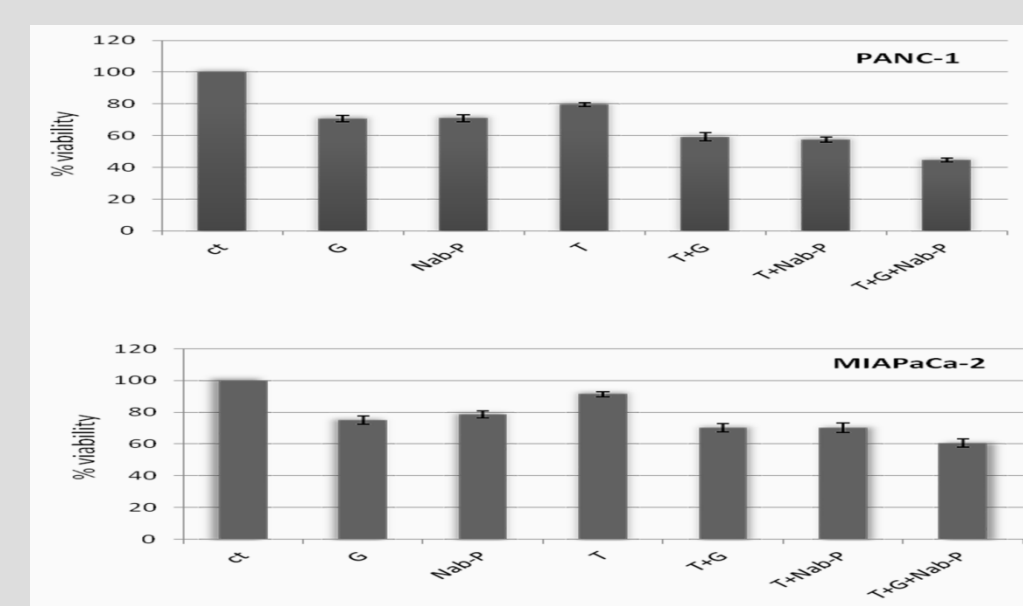
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Η τινζαρίνη ενισχύει την αντικαρκινική δράση της Nab-paclitaxel και της gemcitabine σε κυτταρικές σειρές mtKRAS PC

Στη μελέτη μας, εξετάσαμε την επίδραση της συν-θεραπείας με Nab-paclitaxel (Nab-P), gemcitabine (G), Tinzaparin (T) σε κυτταρικές σειρές PC, PANC-1 και MIA PaCa-2. Στην κυτταρική σειρά PANC-1, η τινζαρίνη μείωσε την κυτταρική βιωσιμότητα περίπου 20% ενώ ο συνδυασμός T + G και T + Nab-P μείωσε την κυτταρική βιωσιμότητα κατά 41% και 42,5% αντίστοιχα. Στο τριπλό συνδυαστικό σχήμα (Nab-P + T + G), η κυτταρική βιωσιμότητα του PANC-1 μειώθηκε κατά 55% μετά από 48 ώρες.

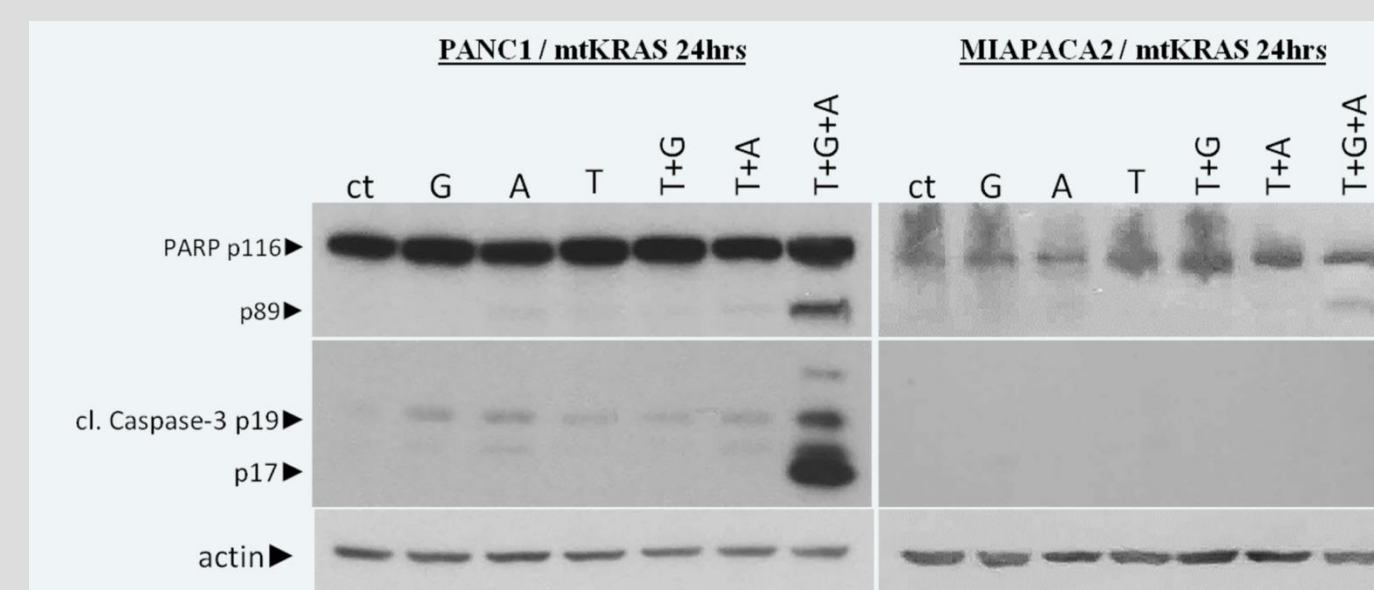
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην κυτταρική σειρά MIA PaCa-2, το Nab-P μείωσε τη βιωσιμότητα των κυττάρων κατά 21,5% και ο συνδυασμός T + Nab-P και T + G οδήγησε σε μια επιπλέον μείωση 8,5%. Το τριπλό σχήμα T + G + Nab-P είχε ως αποτέλεσμα μια σημαντική μείωση της συνολικής βιωσιμότητας των κυττάρων μετά από 48 ώρες κατά 40%.



2. Η μειωμένη επιβίωση των κυττάρων είναι το αποτέλεσμα της διέγερσης αποπτωτικών μηχανισμών

Ο διπλός συνδυασμός T + G ή T + Nab-P αύξησε ελαφρώς την αποσπασμένη κασπάση-3 και PARP και στις δύο κυτταρικές γραμμές. Το τριπλό συνδυαστικό σχήμα του T + G + Nab-P στο PANC1 και το MIA PaCa-2 είχε ως αποτέλεσμα τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο. Η παρουσία αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου επιβεβαιώθηκε με την ανίχνευση της διάσπασης PARP-1 και της διασπασμένης κασπάσης-3

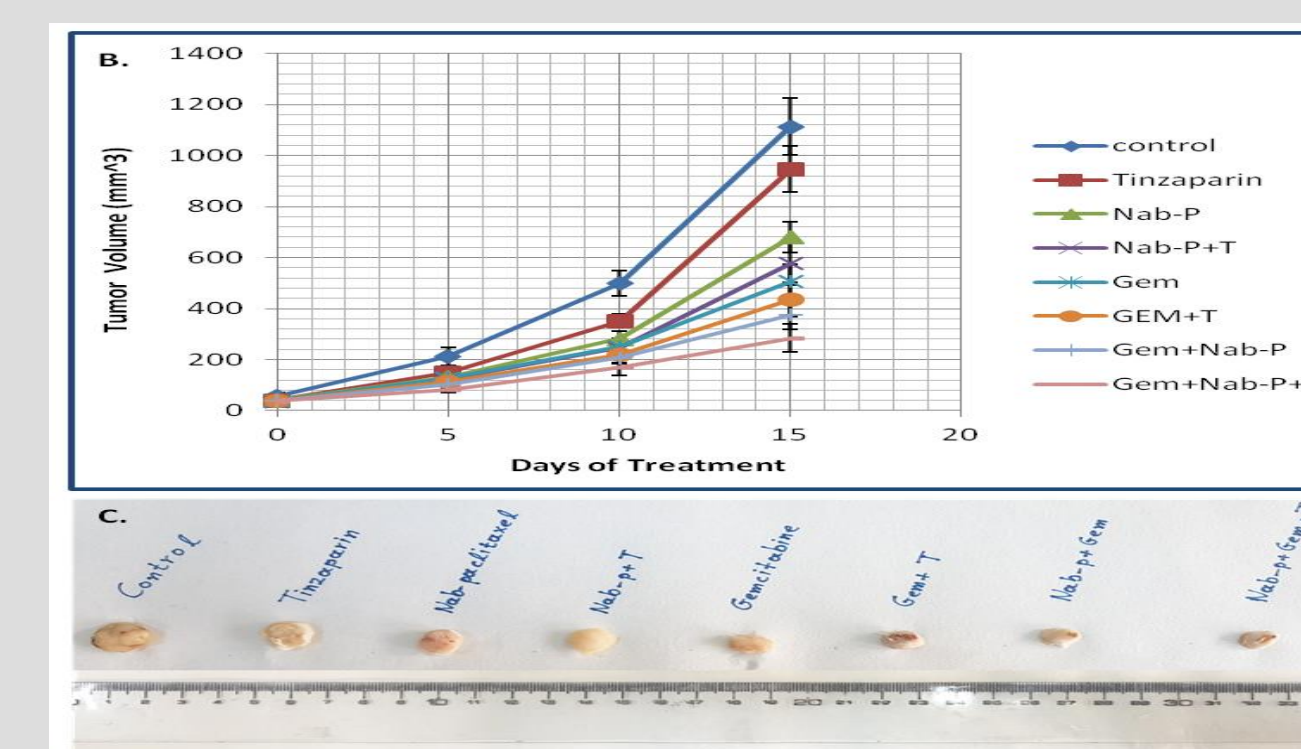


3. In vivo πειράματα με το μοντέλο ποντικού ξενομοσχεύματος NOD / SCID δείχνει ότι η χορήγηση του Tinzaparin δρα συνεργικά με χημειοθεραπευτικά φάρμακα και παρέχει σημαντική μείωση του όγκου

Η μείωση του όγκου που παρατηρήθηκε σε ποντίκια που έλαβαν χημειοθεραπεία τριπλού συνδυασμού, η μείωση του όγκου ήταν 74,5% σε σύγκριση με τον έλεγχο. Η συμπερίληψη του Tinzaparin στο τριπλό σχήμα σε σύγκριση με τον διπλό συνδυασμό παρείχε επιπλέον 8,2% και 24,3% μείωση του όγκου σε σύγκριση με τον μάρτυρα και τον διπλό συνδυασμό (gemcitabine συν Nab-paclitaxel) αντίστοιχα. Παρόμοια τάση παρατηρήθηκε μετά τη χορήγηση Nab-paclitaxel συν Tinzaparin σε σύγκριση με τον έλεγχο (επιπλέον μείωση 6,3%) και σε σύγκριση με το Nab-paclitaxel μόνο (επιπλέον μείωση όγκου περίπου 16,1%).

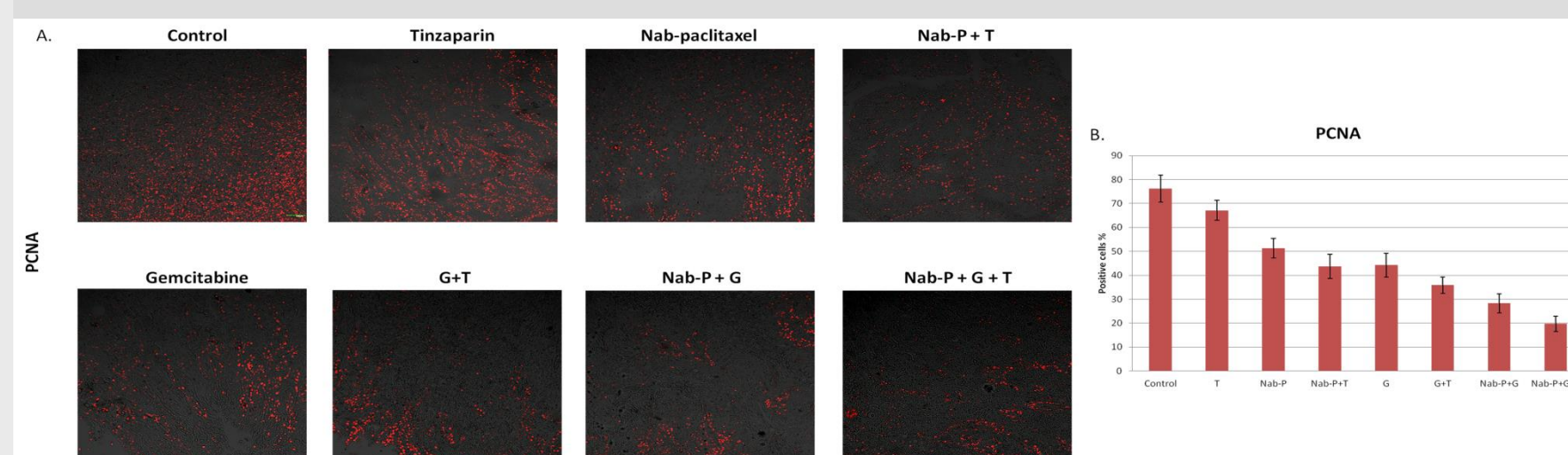
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Επίσης, ο συνδυασμός tinzaparin με gemcitabine οδήγησε σε μείωση 11,8% σε σύγκριση με τον μάρτυρα και 13,9% σε σύγκριση με τη γεμισταμίνη μόνο.



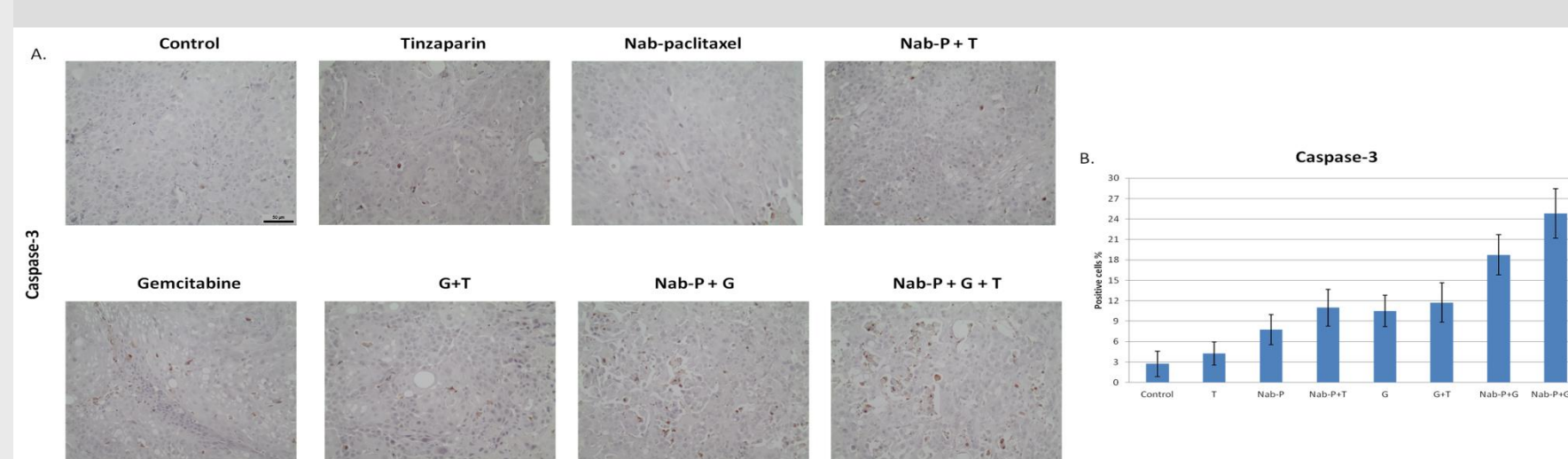
4. Ο ανοσοφθορισμός με PCNA δείχνει ότι ο τριπλός συνδυασμός έχει σημαντική μείωση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων σε ξενομοσχεύματα ποντικού

Οι όγκοι σε ποντικούς που δεν υποβλήθηκαν σε θεραπεία είχαν, όπως αναμενόταν, αυξημένο δυναμικό πολλαπλασιασμού (76,25% ± 5,68% θετικά κύτταρα), αλλά όταν υποβλήθηκαν σε αγωγή με τον τριπλό συνδυασμό είχαν 3,86 φορές λιγότερη ικανότητα πολλαπλασιασμού (P <0,0001). Όταν ο τριπλός συνδυασμός σε σύγκριση με το Nab-P + G σημειώθηκε μείωση των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων κατά 30,01% (P <0,0001).



5. Η διέγερση της απόπτωσης είναι ένας από τους μηχανισμούς που οδηγούν στη μείωση του όγκου in vivo.

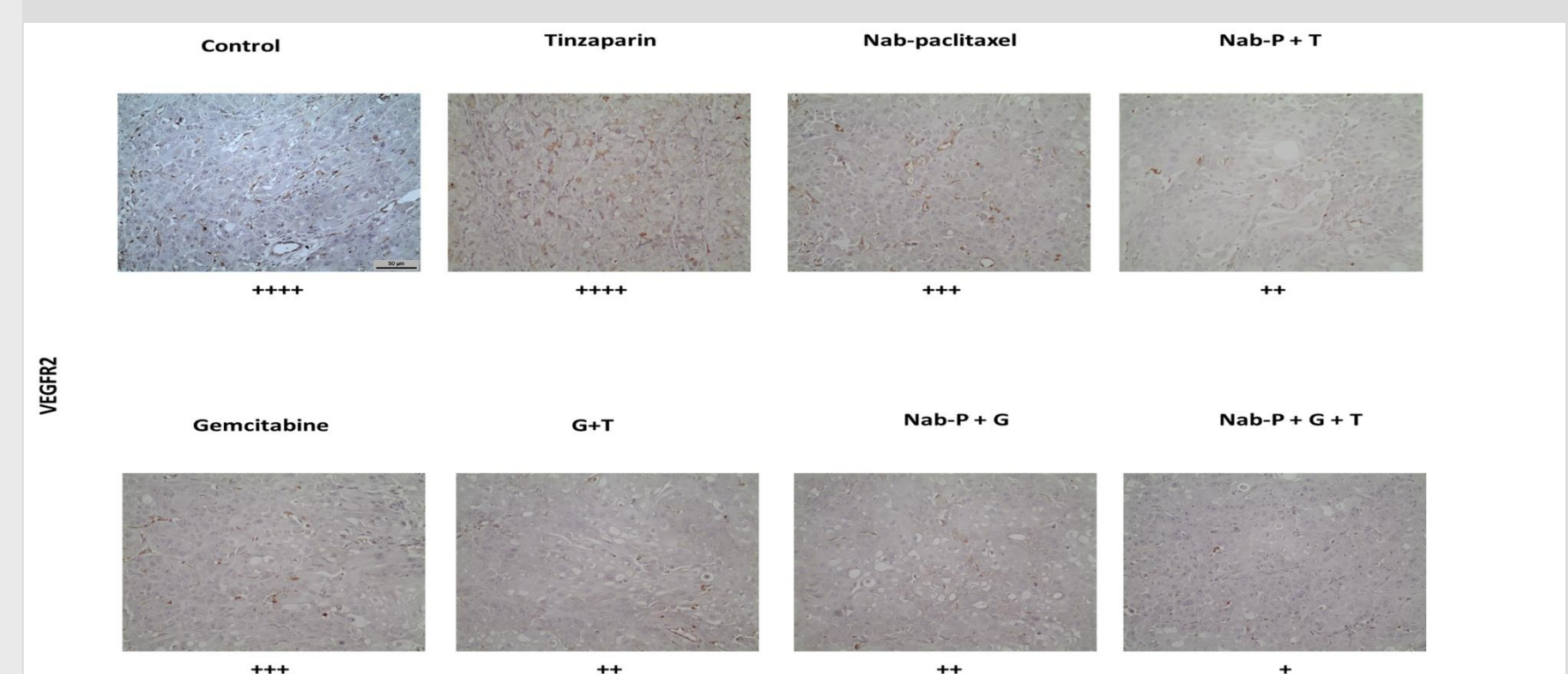
Το ποσοστό των αποπτωτικών κυττάρων στον τριπλό συνδυασμό ήταν 24,83% ± 3,63% ενώ του ελέγχου ήταν 2,75% ± 1,84%, σημαντική αύξηση 9,03 φορές (P <0,0001). Παρόμοια σημαντική αύξηση της απόπτωσης παρατηρήθηκε (24,89%, P = 0,0007) όταν ο τριπλός συνδυασμός συγκρίνεται με το διπλό, αποκαλύπτοντας το σημαντικό συνεργιστικό αποτέλεσμα της Τινζαρίνης.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6. Ο τριπλός συνδυασμός φαρμάκων επηρεάζει αρνητικά τη νεοαγγειογένεση του όγκου

Παρατηρήθηκε ένας μεγάλος αριθμός αγγείων στο δείγμα ελέγχου, αλλά αυτό το φαινόμενο αντιστράφηκε με τη χρήση του Tinzaparin, ειδικά στον τριπλό συνδυασμό όπου λιγότερα από 3 αγγεία μετρήθηκαν σε κάθε πεδίο μέτρησης.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο καρκίνος του παγκρέατος παραμένει μια σημαντική πρόκληση όσον αφορά τη θεραπεία του, αν και το προσδόκιμο ζωής έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια με τη χορήγηση συνδυασμών φαρμάκων, απαιτείται περαιτέρω βελτίωση προκειμένου να βρεθούν πιο αποτελεσματικές θεραπείες. Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, πιστεύουμε ότι η χορήγηση τινζαρίνης σε ασθενείς με καρκίνο του παγκρέατος που φέρουν τη μετάλλαξη KRAS είναι μια γραμμή θεραπείας μετά από αυτήν την κατεύθυνση. Πιο συγκεκριμένα, η συγχρόνηση με Nab-paclitaxel και gemcitabine σε πειράματα ποντικών NOD / SCID δείχνει περαιτέρω μείωση του όγκου μέσω απόπτωσης, μείωση του αγγειακού όγκου και πιθανώς εξασθένηση της δεσμοπλασίας με αποτέλεσμα μεγαλύτερη διείσδυση των άλλων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bokas A, Papakotoulas P, Sarantis P, et al. Mechanisms of the antitumor activity of low molecular weight heparins in pancreatic adenocarcinomas. *Cancers*; 12. Epub ahead of print 1 February 2020. DOI: 10.3390/cancers12020432
- Sarantis P, Koustas E, Papadimitropoulou A, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: Treatment hurdles, tumor microenvironment and immunotherapy. *World J Gastrointest Oncol* 2020; 12: 173–181.
- Dimakakos EP, Vathiotis I, Syrigos K. The Role of Tinzaparin in Oncology. DOI: 10.1177/1076029617729215.