



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Τα miRNAs αντιπροσωπεύουν έναν υποτύπο non-coding RNA που αναστέλλει την έκφραση γονιδίων σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο. Η ανώμαλη έκφραση και λειτουργία τους συσχετίζονται με πολλά νεοπλασμάτα, όπως ο μεταστατικός καρκίνος παχέος εντέρου (mCRC). Ο mCRC αποτελεί την 2η αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως και παρά την εισαγωγή νέων θεραπευτικών επιλογών, η χημειοθεραπεία παραμένει ο ακρογωνιαίος λίθος της αντιμετώπισής του.

Σκοπός: Η διερεύνηση της διακύμανσης των προφίλ έκφρασης των κυκλοφορούντων microRNAs εν συγκρίσει με την ανταπόκριση στη θεραπεία με βάση την ιρινοτεκάνη στον mCRC και η μελέτη πιθανών γονιδίων-στόχων και μοριακών λειτουργιών μέσω της ανάλυσης γονιδιακής οντολογίας (gene ontology analysis).

Μέθοδοι: Εξετάστηκαν δείγματα περιφερικού αίματος από 95 ασθενείς με mCRC που είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με ιρινοτεκάνη. Η έκφραση των microRNAs αξιολογήθηκε με το NucleoSpin miRNA kit (Machnery-Nagel, Germany) και στη συνέχεια εφαρμόστηκαν προσεγγίσεις μηχανικής μάθησης.

Αποτελέσματα: Τα 10 miRNAs που εμφανίζουν αυξημένη έκφραση στην ομάδα των ασθενών που δεν ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με ιρινοτεκάνη ήταν τα hsa-miR-181b-5p, hsa-miR-10b-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-301a-3p, hsa-miR-92a-3p, hsa-miR-155-5p, hsa-miR-30c-5p και hsa-let-7i-5p. Αντίθετα, τα 10 miRNAs που παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση ήταν τα hsa-let-7d-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-miR-215-5p, hsa-miR-143-3p, hsa-let-7a-5p, hsa- miR-10a-5p, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-148a-3p, hsa-miR-122-5p και hsa-miR-17-5p. Η ανάλυση γονιδιακής οντολογίας στη μελέτη μας εντόπισε μοριακές λειτουργίες που σχετίζονται με γονίδια-στόχους όπως η δέσμευση καντχερίνης, η διαμόρφωση των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης (CAMs) και η συν-ρύθμιση της μεταγραφής που πιθανώς επεξηγούν τους μηχανισμούς αντίστασης στην ιρινοτεκάνη στον mCRC.

Συμπεράσματα: Η ανοδική ρύθμιση των microRNAs στην οικογένεια miR-181 και η προς τα κάτω ρύθμιση της οικογένειας let-7 φαίνεται να σχετίζονται προγνωστικά με τη μη ανταπόκριση στη θεραπεία με ιρινοτεκάνη. Τα αποτελέσματά μας είναι σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία που υποστηρίζει ότι η εκτροπή του επιγενετικού μηχανισμού σχετίζεται με αντίσταση στη θεραπεία. Η επιβεβαίωση των ανωτέρω ευρημάτων θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί μελλοντικά στην εφαρμογή ιατρικής ακριβείας στο κλινικό περιβάλλον.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΦΙΛ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ miRNAS ΚΑΙ ΜΟΝΤΕΛΑ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΙΡΙΝΟΤΕΚΑΝΗ ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Πλιάκου Ε.¹, Λαμπροπούλου Δ.Ι.², Παπαδημητρίου Χ.³, Βεζάκης Α.⁴, Αραβαντινός Γ.⁵, Γαζούλη Μ.⁶

1. Παθολογική- Ογκολογική Κλινική, Γ.Ο.Ν.Κ. «Οι Άγιοι Ανάργυροι», 2. ECONCARE, Health Research and Consulting, 3. Ογκολογική Μονάδα, Β' Χειρουργική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, 4.Μονάδα Ενδοσκοπήσεων, Β' Χειρουργική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, 5. Ογκολογική Κλινική, Ευρωκλινική Αθηνών, 6. Τμήμα Βασικών Ιατρικών Επιστημών, Εργαστήριο Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο mCRC αποτελεί την 2η αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως και παρά την εισαγωγή νέων θεραπευτικών επιλογών, η χημειοθεραπεία (σχήματα με βάση τη φθοροπυριμιδίνη, συμπεριλαμβανομένης της ιρινοτεκάνης και της οξαλιπλατίνης) παραμένει ο ακρογωνιαίος λίθος της αντιμετώπισής του. Σε αυτό το πλαίσιο, παρά την ανακάλυψη και την προσθήκη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων, μεταξύ των οποίων οι παράγοντες anti-VEGF και anti-EGFR, που έχουν βελτιώσει περαιτέρω τα ποσοστά απόκρισης (RR), την επιβίωση χωρίς εξέλιξη (PFS) και τη συνολική επιβίωση (OS), η ανάπτυξη φαρμακευτικής αντίστασης παραμένει σημαντικό εμπόδιο στη μάχη κατά του mCRC.

Τα miRNAs αντιπροσωπεύουν έναν υποτύπο non-coding RNA που αναστέλλει την έκφραση γονιδίων σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο. Η ανώμαλη έκφραση και λειτουργία τους σχετίζονται με την ανάπτυξη πολλών νεοπλασμάτων, μεταξύ των οποίων και ο καρκίνος παχέος εντέρου, καθώς και με την εμφάνιση φαρμακευτικής αντοχής.

Τα τελευταία χρόνια υφίσταται διαρκώς αυξανόμενη ανάγκη για νέα μοριακά εργαλεία που θα χρησιμοποιηθούν μεταξύ άλλων στην επιλογή εξατομικευμένων θεραπειών. Ωστόσο, ο άνευ προηγουμένου όγκος των μεγάλων κλίμακας προφίλ έκφρασης miRNA περιλαμβάνει και πιθανές παγίδες όσον αφορά την εξαγωγή κλινικά σημαντικών αποτελεσμάτων. Για να ξεπεραστεί αυτή η πρόκληση, αναπτύχθηκε και εφαρμόστηκε ο κλάδος της βιοπληροφορικής που συνδυάζει βασικά εργαλεία της τεχνολογίας των υπολογιστών προκειμένου να συλλάβει, να αναλύσει και να ερμηνεύσει με ακρίβεια, μαζικά και πολύπλοκα, σύνολα βιολογικών δεδομένων και πληροφοριών.

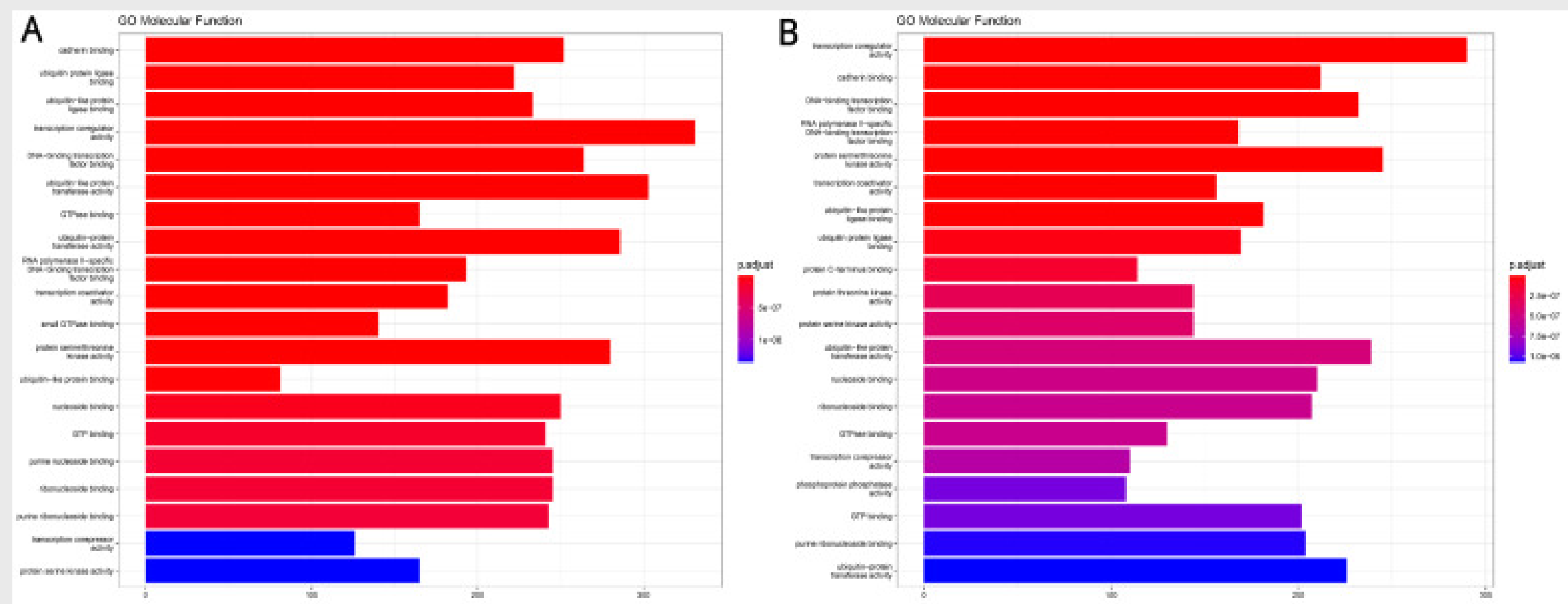
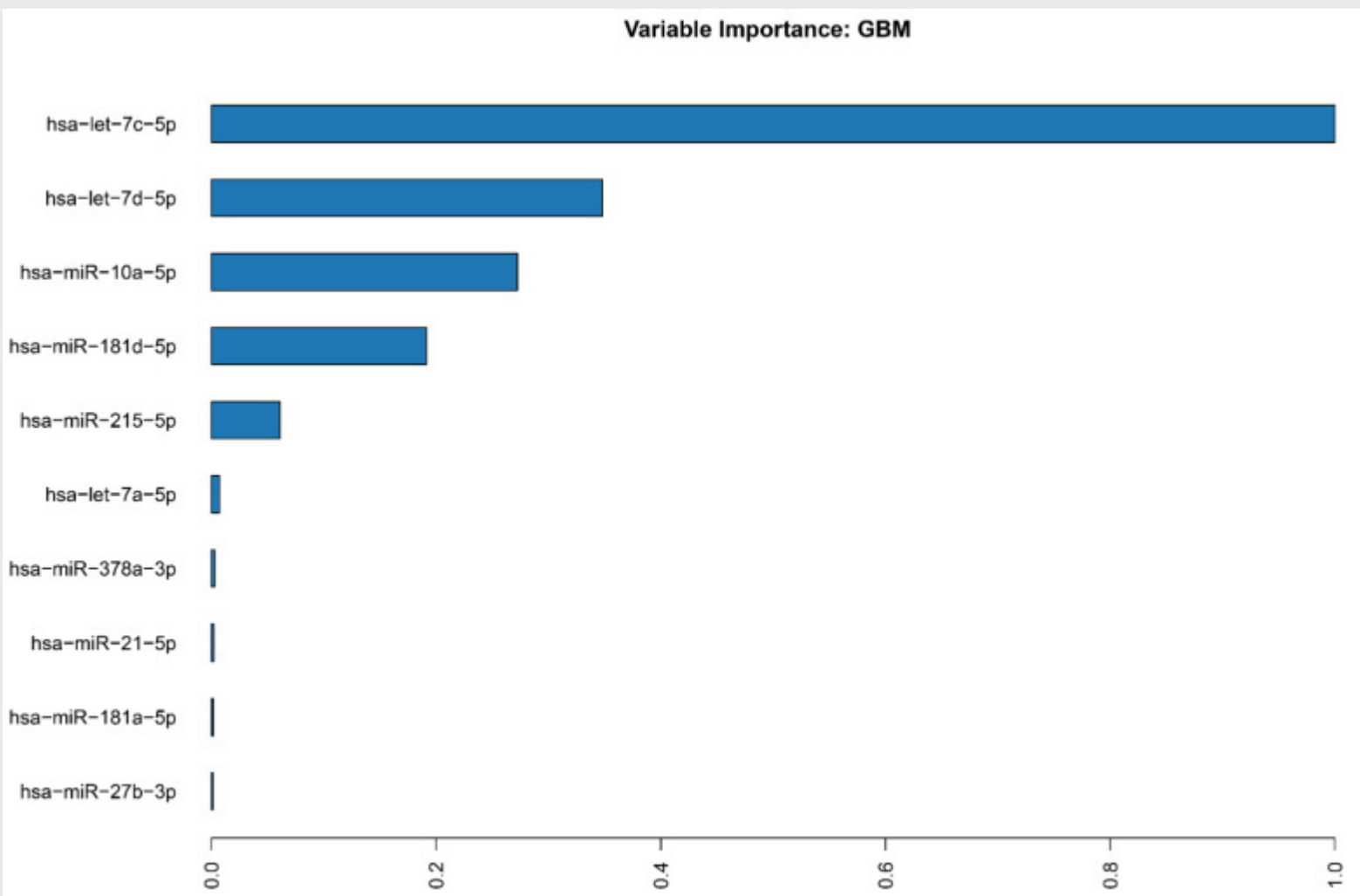
Gender	Male	58
	Female	37
Surgery on primary	Yes	83
	No	12
Primary Location	Cecum	9
	Ascending colon	5
	Ascending/Transverse colon	1
	Transverse colon	3
	Splenic Flexure	3
	Descending colon	3
	Descending colon/Rectum	1
	Sigmoid	26
	Rectosigmoid	21
	Rectum	23
Metastasis site	Lung	23
	Liver	37
	Peritoneum	7
	Adrenal gland	1
	Multiple sites	20
	Local Recurrence	7
Therapeutics	Panitumumab, irinotecan and 5-FU	10
	Panitumumab, irinotecan and capecitabine	8
	Bevacizumab, irinotecan and 5-FU	21
	Bevacizumab, irinotecan and capecitabine	27
	Aflibercept, irinotecan and 5-FU	3
	Cetuximab, irinotecan and 5-FU	4
	Bevacizumab, irinotecan, 5-FU and oxaliplatin	1
	Bevacizumab, irinotecan, capecitabine and oxaliplatin	1
	Bevacizumab, irinotecan and oxaliplatin	1
	Capecitabine and irinotecan	10
	Oxaliplatin and irinotecan	3
	Irinotecan and 5-FU	5
	Panitumumab and irinotecan	1
Response status	Stable Disease (SD)	47
	Progressive Disease (PD)	48

Πίνακας 1. Κλινικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά του υπό εξέταση πληθυσμού (N=95).

ΜΕΘΟΔΟΙ

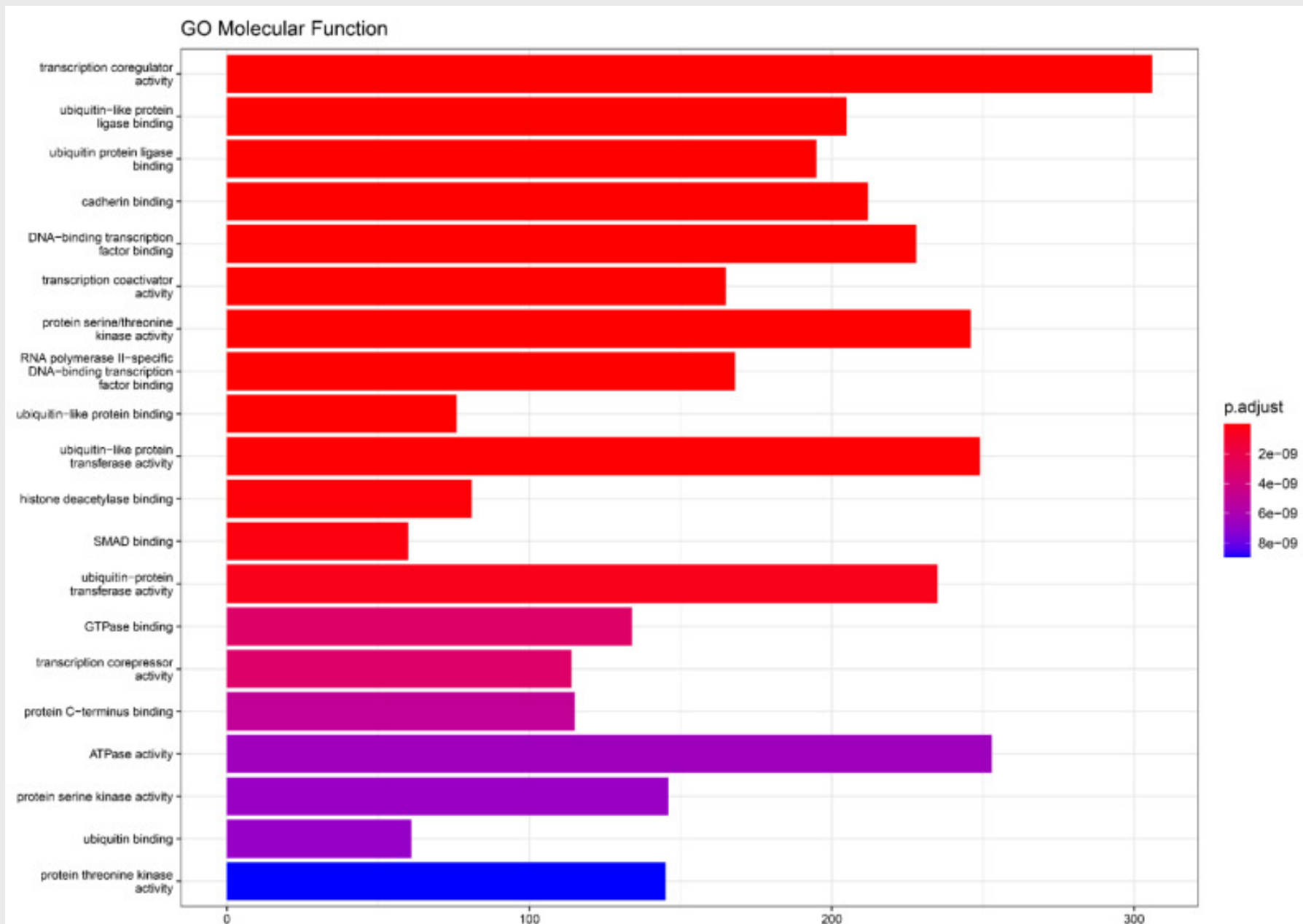
Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η περιγραφή των προφίλ έκφρασης των κυκλοφορούντων miRNAs, σε συνδυασμό με την ανταπόκριση στη θεραπεία με βάση την ιρινοτεκάνη, σε μια μελέτη κοόρτης που περιελάμβανε 95 Καυκάσιους ασθενείς με mCRC. Επιπλέον, μέσω μοντέλων μηχανικής μάθησης ML επιχειρείται η αναγνώριση των miRNA που θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως προγνωστικοί παράγοντες στη θεραπεία με βάση την ιρινοτεκάνη στο mCRC με τελικό στόχο μια αρχική αξιολόγηση για μελλοντικές εφαρμογές ιατρικής ακριβείας στο κλινικό περιβάλλον. Για τους ανωτέρω λόγους, εξετάστηκαν δείγματα περιφερικού αίματος από 95 ασθενείς με mCRC που είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με ιρινοτεκάνη (Πίνακας 1). Η έκφραση των microRNAs αξιολογήθηκε με το NucleoSpin miRNA kit (Machnery-Nagel, Germany) και στη συνέχεια εφαρμόστηκαν προσεγγίσεις μηχανικής μάθησης. Τέλος, εντοπίστηκαν βασικές μοριακές οδοί που σχετίζονται με γονίδια-στόχους (μέσω ανάλυσης γονιδιακής οντολογίας), προκειμένου να κατανοήσουμε καλύτερα τους μηχανισμούς που εμπλέκονται μεταξύ της διαφορικής έκφρασης των κυκλοφορούντων miRNAs και της απόκρισης στη θεραπεία με βάση την ιρινοτεκάνη.

Εικόνα 1. Τα 10 κυριότερα miRNAs που χρησιμοποιήθηκαν ως μεταβλητές για το GBM ML μοντέλο μας.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα 10 miRNAs που εμφανίζουν αυξημένη έκφραση στην ομάδα των ασθενών που δεν ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με ιρινοτεκάνη ήταν τα hsa-miR-181b-5p, hsa-miR-10b-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-301a-3p, hsa-miR-92a-3p, hsa-miR-155-5p, hsa-miR-30c-5p και hsa-let-7i-5p. Αντίθετα, τα 10 miRNAs που παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση ήταν τα hsa-let-7d-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-miR-215-5p, hsa-miR-143-3p, hsa-let-7a-5p, hsa- miR-10a-5p, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-148a-3p, hsa-miR-122-5p και hsa-miR-17-5p. Η ανάλυση γονιδιακής οντολογίας στη μελέτη μας εντόπισε μοριακές λειτουργίες που σχετίζονται με γονίδια-στόχους όπως η δέσμευση καντχερίνης, η διαμόρφωση των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης (CAMs) και η συν-ρύθμιση της μεταγραφής που πιθανώς επεξηγούν τους μηχανισμούς εμφάνισης αντίστασης στην ιρινοτεκάνη στον mCRC. (εικόνες 1,2). Η επίκτητη αντίσταση σχετίζεται άμεσα με τους τύπους καρκίνου καθώς και με τα χορηγούμενα σχήματα. Έτσι, ο μηχανισμός ειδικής αντίστασης μπορεί να είναι μοναδικός, ανάλογα με το άτομο, τον υπότυπο του καρκίνου και την εφαρμοζόμενη θεραπεία. Δυστυχώς, μέχρι τώρα, δεν υπήρχαν εργαλεία που θα μπορούσαν να προβλέψουν με ακρίβεια τις ανταποκρίσεις στα φάρμακα και να υποστηρίξουν περισσότερο μια ογκολογική προσέγγιση ακριβείας. Ωστόσο, οι τεχνολογικές εξελίξεις που συνδυάζουν τη μηχανική μάθηση (ML) και τη βιοϊατρική είναι ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο για την έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου και τη βελτιστοποίηση της θεραπείας. Πράγματι, αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τον ρόλο της ML στην απόκριση στα φάρμακα για τον καρκίνο. Επιπλέον, παρά το γεγονός ότι έχουν αναπτυχθεί αρκετά προγνωστικά μοντέλα τόσο για τη μονοθεραπεία όσο και για τις συνδυαστικές θεραπείες, τα αντίστοιχα κλινικά προγνωστικά μοντέλα εξακολουθούν να είναι δύσκολο να εφαρμοστούν στην καθημερινή κλινική πρακτική.



Εικόνα 2. (Α) Οι 20 κυριότερες μοριακές λειτουργίες [GO:MF] που εμπλουτίζονται από τα top10 miRNAs με αυξημένη έκφραση. (Β) Οι 20 κυριότερες GO:MF που εμπλουτίζονται από τα top10 miRNAs με μειωμένη έκφραση. (Γ) Οι 20 κυριότερες GO:MF που εμπλουτίζονται από τα top10 miRNAs συνολικά.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια υφίσταται διαρκώς αυξανόμενη ανάγκη για νέα μοριακά εργαλεία που θα χρησιμοποιηθούν μεταξύ άλλων στην επιλογή εξατομικευμένων θεραπειών. Ωστόσο, ο άνευ προηγουμένου όγκος των προφίλ έκφρασης miRNA μεγάλης κλίμακας περιλαμβάνει και πιθανές παγίδες όσον αφορά την εξαγωγή κλινικά σημαντικών αποτελεσμάτων. Για να ξεπεραστεί αυτή η πρόκληση, αναπτύχθηκε και εφαρμόστηκε ο κλάδος της βιοπληροφορικής που συνδυάζει βασικά εργαλεία της τεχνολογίας των υπολογιστών προκειμένου να συλλάβει, να αναλύσει και να ερμηνεύσει με ακρίβεια μαζικά και πολύπλοκα σύνολα βιολογικών δεδομένων και πληροφοριών.

Η μηχανική μάθηση αναφέρεται σε μια υποκατηγορία της τεχνητής νοημοσύνης (AI) που χρησιμοποιεί αλγόριθμους υπολογιστών για να συμπληρώσει μοντέλα πρόβλεψης που προέρχονται από δεδομένα εκπαίδευσης, ενώ μπορεί επίσης να αυτοπροσαρμόζεται επανειλημμένα για να βελτιώσει την απόδοσή της. Επί του παρόντος, η μηχανική μάθηση έχει αποκτήσει εκτεταμένο επιστημονικό ενδιαφέρον για την ογκολογική έρευνα και πρακτική, και υπάρχουν ενδείξεις ότι οι μέθοδοι ML έχουν συνδεθεί με ευνοϊκά πρότυπα πρόβλεψης, ειδικά όταν αφορά εκτεταμένα σύνολα δεδομένων και μεγάλους αριθμούς μεταβλητών εισόδου. Πράγματι, οι κλασικές στατιστικές προσεγγίσεις μπορεί να επηρεαστούν από την πολυπλοκότητα των εκτεταμένων δεδομένων, ενώ η ML μπορεί να προσφέρει πιο κατάλληλες επιλογές, επιτρέποντας την ανάλυση μεγάλων συνόλων δεδομένων αλληλουχίας RNA και microRNA. Επιπλέον, η ML σε συνδυασμό με την ανάλυση γονιδιακής οντολογίας παρέχει πολύτιμες βιολογικές γνώσεις που σχετίζονται με τον υπό διερεύνηση φαινότυπο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανοδική ρύθμιση των microRNAs στην οικογένεια miR-181 και η προς τα κάτω ρύθμιση της οικογένειας let-7 φαίνεται να σχετίζονται προγνωστικά με τη μη ανταπόκριση στη θεραπεία με ιρινοτεκάνη. Τα αποτελέσματά μας είναι σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία που υποστηρίζει ότι η εκτροπή του επιγενετικού μηχανισμού σχετίζεται με αντίσταση στη θεραπεία. Η επιβεβαίωση των ανωτέρω ευρημάτων θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί μελλοντικά στην εφαρμογή ιατρικής ακριβείας στο κλινικό περιβάλλον.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ismail I., Chan H.K., Aiman S.S., Muhammad Radzi A.H. A 10-year registry-based incidence, mortality, and survival analysis of colorectal cancer in Northern Malaysia. *J. Cancer Res. Ther.* 2022;18:931–938.
- Kopetz S., Chang G.J., Overman M.J., Eng C., Sargent D.J., Larson D.W., Grothey A., Vauthey J.N., Nagorney D.M., McWilliams R.R. Improved survival in metastatic colorectal cancer is associated with adoption of hepatic resection and improved chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2009;27:3677–3683.
- Van Cutsem E., Cervantes A., Adam R., Sobrero A., Van Krieken J.H., Aderka D., Aranda Aguilar E., Bardelli A., Benson A., Bodoky G., et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann. Oncol.* 2016;27:1386–1422.