

Μελέτη της έκφρασης των HDAC2 και HDAC6 μετά τη χορήγηση του παν- HDAC αναστολέα Panobinostat σε μοντέλα ξενομοσχευμάτων επιθετικού καρκίνου του προστάτη

KONTOGIANNH Ευθαλία, ΠΑΠΑΜΙΧΑΗΛ Ευαγγελία, ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ Χριστίνα, ΤΖΕΛΕΠΗ Βασιλική, ΛΟΓΟΘΕΤΗ Σουζάνα

*Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
thaliakontogiani@gmail.com*

*Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
evapml190@gmail.com*

*Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
chritrian@gmail.com*

*Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
btzelepi@upatras.gr*

*Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
souzana_logotheti@hotmail.com*

Περίληψη

Ο καρκίνος προστάτη χαρακτηρίζεται από σημαντική ετερογένεια και επιγενετική απορρύθμιση, ιδιαίτερα στις επιθετικές παραλλαγές του. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η αντικαρκινική δράση του αναστολέα αποακετυλασών Panobinostat, χρησιμοποιώντας το μοντέλο ξενομοσχεύματος ασθενούς (patient-derived xenograft, PDX) επιθετικού καρκίνου προστάτη MDA PCa 177-B σε ανοσοκατεσταλμένους (Severe Combined Immunodeficient, SCID) μύες. Η χορήγηση Panobinostat οδήγησε σε σημαντικά βραδύτερη αύξηση του όγκου, χωρίς εμφανείς μεταβολές στη μορφολογία και τα χαρακτηριστικά του όγκου. Οι υπό εξέλιξη μοριακές αναλύσεις των HDAC2, HDAC6 και AR αναμένεται να διερευνήσουν την μεταβολή έκφρασής τους και να συμβάλουν στην αξιολόγηση νέων, πιθανών επιγενετικών θεραπευτικών στρατηγικών.

Λέξεις κλειδιά

Prostate cancer, Epigenetics, Patient Derived Xenografts, HDAC, Panobinostat

Εισαγωγή

Ο καρκίνος του προστάτη (Prostate Cancer, PCa) αποτελεί τη δεύτερη σε συχνότητα αιτία θνησιμότητας από σπλαχνικό καρκίνο στους άνδρες και χαρακτηρίζεται από σημαντική μοριακή και κλινική ετερογένεια (Constâncio et al., 2025). Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι η επιγενετική απορρύθμιση, συμπεριλαμβανομένων των μεταβολών στη μεθυλίωση του DNA και στις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών (πχ ακετυλίωση), διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην έναρξη και εξέλιξη της νόσου, καθώς και στην ανάπτυξη θεραπευτικής αντοχής στον καρκίνο προστάτη (Logotheti et al., 2023). Οι αποακετυλάσες ιστονών (histone deacetylases, HDACs), οι οποίες αποτελούν βασικούς ρυθμιστές της ακετυλίωσης των ιστονών και της γονιδιακής έκφρασης, έχουν συσχετιστεί με την επιγενετική ρύθμιση διεργασιών που σχετίζονται με την ανάπτυξη και εξέλιξη διάφορων μορφών καρκίνου. Οι επιθετικές παραλλαγές του καρκίνου του προστάτη (Aggressive Variants of Prostate Cancer, AVPC) αποτελούν μια κλινικά και βιολογικά διακριτή μορφή της νόσου, η οποία είναι ανεξάρτητη του υποδοχέα ανδρογόνων (AR). Η υπόθεση της παρούσας εργασίας είναι ότι η χορήγηση του επιγενετικού αναστολέα Panobinostat επηρεάζει τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών οδηγώντας σε αναστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων. Σκοπός της εργασίας είναι η ανάδειξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων μέσω τροποποίησης του επιγενετικού προφίλ σε όγκους καρκίνου προστάτη.

Μέθοδοι

Το MDA PCa 177-B (AR-αρνητικό χαμηλής διαφοροποίησης αδενοκαρκίνωμα) αποτελεί ένα PDX μοντέλο επιθετικού καρκίνου προστάτη το οποίο αρχικά αναπτύχθηκε στο MD Anderson Cancer Center και σήμερα έχει εγκατασταθεί στο Πανεπιστήμιο Πατρών (Anselmino et al., 2024). Διερευνήθηκε η επίδραση του αναστολέα αποακετυλασών Panobinostat ως μια δυναμική επιγενετική θεραπευτική στρατηγική. Για την προσομοίωση της ανθρώπινης νόσου, αρσενικοί C.B-17 SCID μύες ηλικίας περίπου 5 εβδομάδων υποβλήθηκαν σε εμφύτευση $\sim 65\text{mm}^3$ όγκου προερχόμενου από ασθενή, ακολουθούμενη από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση του φαρμάκου, όταν ο όγκος έφτανε σε όγκο ίσο ή μεγαλύτερο των 250mm^3 . Συμπεριλήφθηκε επίσης ομάδα ελέγχου, στην οποία χορηγήθηκε σχήμα placebo. Ακολουθήθηκαν δύο πειραματικά πρωτόκολλα, με στόχο τη διερεύνηση τόσο της θεραπευτικής απόκρισης, όσο και των χρονικά εξαρτώμενων μοριακών επιδράσεων του αναστολέα. Και στα δύο πρωτόκολλα, το Panobinostat χορηγήθηκε σε δόση 10mg/kg , τρεις φορές την εβδομάδα για δύο εβδομάδες. Στο πρώτο πρωτόκολλο, οι διαστάσεις των όγκων μετρούνταν τρεις φορές την εβδομάδα κατά τη διάρκεια της εβδομάδας που ακολουθούσε τις χορηγήσεις του φαρμάκου, και στη συνέχεια οι όγκοι αφαιρούνταν για τη συλλογή των ιστών. Στο δεύτερο πρωτόκολλο, οι όγκοι αφαιρούνταν την επόμενη ημέρα από την τελευταία χορήγηση του φαρμάκου, με σκοπό την αξιολόγηση των μοριακών επιδράσεων του Panobinostat σε πρώιμο χρονικό σημείο μετά τη θεραπεία και σε σχέση με τη φαρμακοκινητική του περίοδο ημίσειας ζωής. Η έκφραση των μορίων HDAC2 (1:500, κλώνος CSB-RA949799A0HU), HDAC6 (1:100, κλώνος ab133493) και AR (1:60, κλώνος AR441) μελετήθηκε με ανοσοϊστοχημική μέθοδο δύο σταδίων, κι έπειτα πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση με τη μέθοδο του Immunohistochemical Score (IHC score) και ελήφθησαν αντιπροσωπευτικές εικόνες με τη χρήση σαρωτή πλακιδίων 3DHISTECH.

Αποτελέσματα

Η χορήγηση του επιγενετικού φαρμάκου Panobinostat είχε ως αποτέλεσμα στατιστικά σημαντική επιβράδυνση της αύξησης του όγκου σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου, χωρίς να παρατηρηθούν εμφανείς μεταβολές στη μορφολογία των κυττάρων ή στην έκφραση καθιερωμένων ανοσοϊστοχημικών δεικτών (PSA, συναπτοφυσίνη). Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση των αποακετυλασών HDAC2, HDAC6 και του υποδοχέα ανδρογόνων (AR) ανέδειξε μεταβολή της έκφρασής τους στις ομάδες φαρμάκου σε σχέση με τις ομάδες ελέγχου, ενώ περαιτέρω αναλύσεις βρίσκονται σε εξέλιξη, με στόχο τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που υποκρύπτουν τις επιδράσεις του Panobinostat.

Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας υποδεικνύουν ότι η χορήγηση του επιγενετικού φαρμάκου Panobinostat φαίνεται να επιδρά στο ρυθμό ανάπτυξης των νεοπλασμάτων και στην έκφραση επιγενετικών δεικτών, συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου. Περαιτέρω μελέτες με τη χρήση επιπλέον επιγενετικών φαρμάκων ή/και το συνδυασμό τους με καθιερωμένες θεραπείες κλινικής πρακτικής θα διερευνηθούν ως προς την αποτελεσματικότητα αυτών των παρεμβάσεων στην αναστολή της νεοπλασματικής ανάπτυξης, καθώς και τη δυνατότητα ενίσχυσης της αντικαρκινικής τους δράσης μέσω συνδυαστικών θεραπευτικών σχημάτων. Παράλληλα, η περαιτέρω διερεύνηση των υποκείμενων μοριακών και επιγενετικών μηχανισμών έχει ως στόχο τη συμβολή στην καλύτερη κατανόηση της δράσης των συγκεκριμένων φαρμάκων και στην αξιολόγηση της προοπτικής αξιοποίησής τους ως συμπληρωματικών θεραπευτικών στρατηγικών στον καρκίνο του προστάτη.

Βιβλιογραφία

- Anselmino, N., Labanca, E., Shepherd, P. D. A., Dong, J., Yang, J., Song, X., Nandakumar, S., Kundra, R., Lee, C., Schultz, N., Zhang, J., Araujo, J. C., Aparicio, A. M., Subudhi, S. K., Corn, P. G., Pisters, L. L., Ward, J. F., Davis, J. W., Vazquez, E. S., ... Navone, N. M. (2024). Integrative Molecular Analyses of the MD Anderson Prostate Cancer Patient-derived Xenograft (MDA PCa PDX) Series. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 30(10), 2272–2285. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-23-2438>
- Constâncio, V., Lobo, J., Sequeira, J. P., Henrique, R., & Jerónimo, C. (2025). Prostate cancer epigenetics — from pathophysiology to clinical application. *Nature Reviews Urology* 2025 22:7, 22(7), 447–469. <https://doi.org/10.1038/s41585-024-00991-8>
- Logotheti, S., Papadaki, E., Zolota, V., Logothetis, C., Vrahatis, A. G., Soundararajan, R., & Tzelepi, V. (2023). Lineage Plasticity and Stemness Phenotypes in Prostate Cancer: Harnessing the Power of Integrated “Omics” Approaches to Explore Measurable Metrics. *Cancers*, 15(17). <https://doi.org/10.3390/CANCERS15174357>