

РОЛЯТА НА RIP3 ПРИ ПРОСТАТЕН КАРЦИНОМ

Калин Калчев

Катедра по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология,
Факултет по медицина, Медицински университет – Варна

THE ROLE OF RIP3 IN PROSTATE CANCER

Kalin Kalchev

Department of General and Clinical Pathology, Forensic Medicine and Deontology,
Faculty of Medicine, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Процесът на некроптоза и неговата роля при тумори с различни локализации се проучва детайлно през последните години. За значението ѝ за простатния карцином обаче все още не се знае много, може би защото некрозата е рядък морфологичен феномен в тази локализация. При това проучване сме оценили количествено експресията на маркера за некроптоза RIP3 в туморни и нетуморни жлези при случаи на простатен карцином и сме анализирали връзката ѝ с някои морфологични показатели и преживяемостта на пациентите.

Ключови думи: RIP3, некроптоза, простатен карцином

ABSTRACT

The process of necroptosis and its role in tumors with different locations have been studied in detail in the last few years. However, not much is known about its significance for prostate cancer, perhaps because necrosis is a rare morphological phenomenon in the prostate. In this study, we quantify the expression of the necroptosis marker RIP3 in tumor and non-tumor glands in cases of prostate cancer and analyze its correlation to some morphological parameters and patients' survival rate.

Keywords: RIP3, necroptosis, prostate cancer

ВЪВЕДЕНИЕ

Ролята на апоптозата като естествена защита срещу появата и растежа на злокачествените тумори е добре известна. Тя представлява генетично програмиран механизъм на клетъчна смърт при многоклетъчните еукариоти и играе важна роля в развитието им и в поддържането на хомеостазата при възрастни организми (3). При нея единични увредени клетки се свиват в малко, трудно забележимо апоптотично телце, разпадат се и биват изконсумирани от околните клетки (6). От друга страна, ролята на некрозата е по-слабо проучена, въпреки че се среща често при солидни злокачествени тумори. За разлика от апоптозата, при нея клетките се увреждат масо-

во, като се подуват, разкъсват се и изливат съдържимото си в междуклетъчното пространство (6). Некрозата се смята за случайно събитие на хаотичен, неконтролиран клетъчен разпад, но при някои обстоятелства тя, по подобие на апоптозата, се подчинява на определени регулаторни механизми (5). Некроптозата е такъв тип клетъчна смърт, който съчетава характеристиките на апоптозата и некрозата.

Процесът на некроптоза протича в регулирани условия, като се характеризира със същата морфологична характеристика като нерегулираната некротична смърт на клетките. (3). Некрозата е характерна за много напреднали солидни злокачествени тумори, въпреки това понякога е спорно

дали ефектът ѝ е полезен или вреден при злокачествените заболявания (6). Едно от предизвикателствата в клиничната терапия на карциномите е резистентността на злокачествените заболявания към апоптоза. Тъй като много противотуморни лекарства са индуктори на апоптоза, индуцирането на RIP3-зависима некроза е иновативна стратегия за заобикаляне на апоптозна резистентност на раковите клетки. В допълнение към ДНК алкилиращи агенти, които индуцират некроза по PARP-зависим път (13,4,10), се съобщава, че, при определени състояния, някои лекарства предизвикват RIP3-зависима некроза (11,2,1). Тъй като некрозата също улеснява възпалението, нейният ефект върху възпалението в туморната микросреда трябва да бъде внимателно обмислен (7). Това налага необходимостта от бъдещи изследвания, за да се разбере как може да се използва механизмът на RIP3-зависимата некроза в терапията на злокачествените заболявания.

ЦЕЛ

Целта на настоящото изследване е да се проучи и сравни имунохистохимичната експресия на RIP3 в туморни жлези, жлези с простатна интраепителна неоплазия III ст. (PIN III) и нетуморни жлези без дисплазия при пациенти с простатен карцином и доброкачествена простатна хиперплазия във връзка с клинично-морфологичните параметри.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследвана е ядрената експресия на анти тялото за некроптоза RIP3 в биопсични материали от 74 пациенти с карцином на простатната жлеза и контролна група от 10 пациента с доброкачествена простатна хиперплазия. Експресията на анти тялото в туморните, диспластичните и нетуморните жлези е оценена чрез H-score, като се разпредели в три групи – лека експресия (1+), умерена експресия (2+) и изразена експресия (3+), измерена в проценти. H-score се определи по формулата: $1x(1+)\% + 2x(2+)\% + 3x(3+)\%$, при

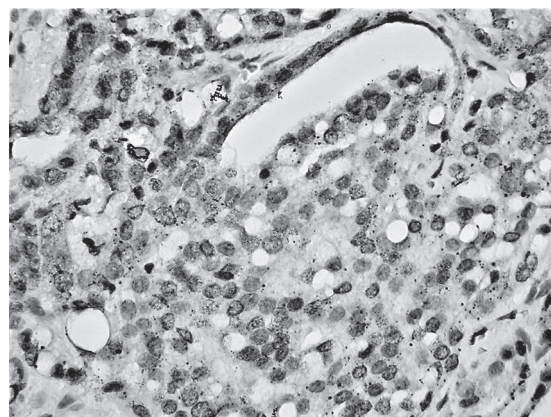
което стойностите на H-score варират в диапазон от 0 до 300.

Резултатите са обработени статистически с помощта на програмата SPSS v. 20.0, като са използвани вариационен, сравнителен и корелационен анализи. За статистически значима разлика се прие $p < 0.05$.

РЕЗУЛТАТИ

От изследваните 74 мъже с простатен карцином, на средна възраст $68.6 \text{ г.} \pm 8.5 \text{ г.}$ (45-87 г.), 46 (54.8%) са с ранен, неметастатичен простатен карцином, а 38 (45.20%) са с напреднал простатен карцином с далечни метастази. Изследвана е експресията на RIP3 в туморни жлези, в доброкачествени жлези и жлези с тежка дисплазия – т.нар. простатна интраепителна неоплазия III степен (PIN III) и експресия в доброкачествени жлези без дисплазия. Експресията на RIP3 се отчете като използвахме H-score (Фиг. 1).

Разликата между експресията на RIP3 в туморните жлези, жлезите с PIN III и нетуморните жлези се изследва при пациентите, при които и трите компонента присъстват на един препарат. За контролна група е използван биопсичен материал от 10-те пациенти с доброкачествена простатна хиперплазия, с PIN III и без PIN III. За целите на статистическата

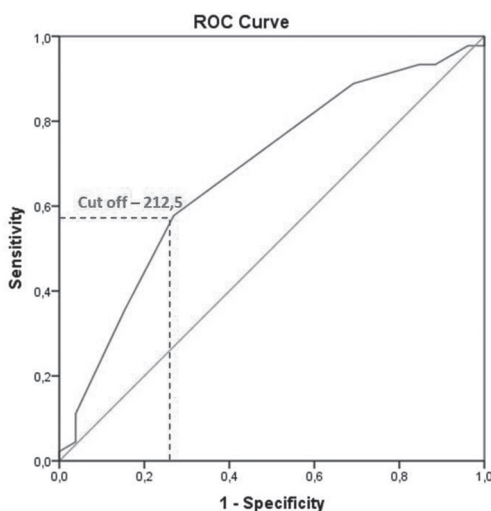


Фиг. 1. Ядрена експресия на RIP3 в простатен карцином със степен на диференциация по Gleason 4. На образа е показана разликата в експресията на анти тялото в различните ядра

обработка бяха определени възрастта на пациентите по време на взимане на биопсията, хистологичният тип на тумора, степента на диференциация на туморите по Gleason (Gleason score), наличието или липсата на PIN III, на перинеурална инвазия (PNI), на туморна некроза, на далечни метастази (нодални, костни, органни), на остро и хронично възпаление, стойностите на PSA, стадият на тумора по последната актуална TNM класификация.

Резултатите от анализите показват, че има съществена разлика между ядрената експресия на RIP3 в туморни, диспластични и недиспластични жлези по разглежданите от нас показатели ($p > 0.05$). Най-висока е експресията на RIP3 в туморните жлези с H-score 210.98 ± 15.39 , като постепенно намалява при жлезите с PIN III с H-score 199.56 ± 6.38 , с пренебрежима разлика с нетуморните жлези с H-score 199.0 ± 6.36 .

За да анализираме преживяемостта на пациентите в зависимост от експресията на RIP3 и да оценим риска от летален изход, се направи ROC curve анализ за определяне на cut-off за ниска и висока стойност на H-score за RIP3, която е 212.5 (Фиг. 2).



Фиг. 2. ROC curve анализ за определяне на cut-off стойност на експресията на RIP3 (AUC=0.679 (0.550–0.809) P=0.012)

С ниска експресия са 39 (53.43%) от изследваните лица, а с висока са 34 (46.57%) пациенти.

Съществена разлика в експресията на RIP3 в трите групи жлези по отношение на клинично-морфологичните показатели не беше намерена, с изключение на T-стадия и хистологичния тип при експресията на маркера в туморната тъкан.

Интересен е резултатът, че експресията на RIP3 в туморните жлези намалява с увеличаване на T-стадия ($p = 0.031$), като най-висока е в T1 стадия (H-score 220), а най-ниска в стадий T4 (H-score 190.0). Установена е слаба обратнопропорционална зависимост между T-стадия и експресията на RIP3 ($r = -0.228$; $p = 0.05$). Установена е слаба обратнопропорционална зависимост между туморния стадий T и експресията на RIP3 ($r = -0.228$; $p = 0.05$).

Според хистологичния тип, най-висока експресия на RIP3 се наблюдава при пациенти с муцинозен карцином (H-score 220,91), докато пациентите с ацинарен и невроендокринен карцином са по-ниски и имат приблизително еднаква експресия на маркера, съответно с H-score 206.53 ± 8.61 и 206.54 ± 28.82 . Разликата при муцинозния карцином е статистически значима ($p = 0.001$). При пациентите с висока експресия на RIP3, най-малка преживяемост имат пациентите с невроендокринна туморна компонента (69.3 месеца), следвани от тези с муцинозна туморна компонента (71.0 месеца). Най-висока преживяемост имат пациентите с класическия ацинарен карцином (82.6 месеца) (long rank $p < 0.001$).

ДИСКУСИЯ

При анализа на прогностичната стойност на RIP3 като самостоятелен показател за ниска преживяемост не установихме съществена разлика между починалите и преживелите пациенти по отношение на клинично-морфологичните показатели ($p > 0.05$). Според нас, експресията на RIP3 не може да се използва като самостоятелен показател за ниска преживяемост, а само като допълнение към класическите прогностични показатели: T-стадий и Gleason

score. При корелационния анализ на данните не се установи статистически значима разлика между експресията на RIP3 в доброкачествените простатни жлези, жлезите с PIN III и туморните жлези при конвенционалния дребноацинарен простатен карцином. Установи се обаче слаба статистически значима разлика в експресията на RIP3 при карциномите с невроендокринна диференциация и дори по-изразена статистически значима разлика в експресията при карциномите с муцинозна компонента – слузообразуващи и пръстеновидноклетъчни карциноми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Некроптоза-базираната таргетна противотуморна терапия би имала слаб или никакъв ефект в общия случай при лечение на конвенционалния дребноацинарен простатен карцином. Повишената експресия на RIP3 в простатни злокачествени тумори с невроендокринна диференциация и слузообразуване обаче показва, че такъв вид лечение би имало по-добър ефект при тях. Ето защо не бива да се изоставят изследванията на ролята на некроптозата при тези хистологични типове простатен карцином и евентуалното им лечение с таква противотуморни агенти.

ЛИТЕРАТУРА

- Basit F, Cristofanon S, Fulda S. Obatoclax (GX15-070) triggers necroptosis by promoting the assembly of the necrosome on autophagosomal membranes. *Cell Death Differ*. 2013. doi: 10.1038/cdd.2013.45
- Bray K, Mathew R, Lau A, Kamphorst JJ, Fan J, Chen J, Chen HY, Ghavami A, Stein M, DiPaola RS, et al. Autophagy suppresses RIP kinase-dependent necrosis enabling survival to mTOR inhibition. *PLoS ONE*. 2012. 7: e41831
- Degterev A, Hitomi J, Gemscheidl M, Ch'en IL, Korkinal O, Teng X, Abbott D, Cuny GD, Yuan C, Wagner G, Hedrick SM, Gerber SA, Lugovskoy A, Yuan J. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins. *Nature chemical biology*, 2008, 4/5: 313-321
- Fu D, Jordan JJ, Samson LD. Human ALKBH7 is required for alkylation and oxidation-induced programmed necrosis. *Genes Dev*. 2013. 27: 1089–1100
- Galuzzi L, Kroemer G. Necroptosis: A Specialized Pathway of Programmed Necrosis. *Cell*, 2008. 135: 1161-1163
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 2011, 144: 646–674
- Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*, 2008. 454: 436–444
- Moriwaki K, Ka-Ming Chan F. RIP3: a molecular switch for necrosis and inflammation. *Genes & Development*. 2014. 27:1640–1649
- Pfeffer C, Singh A. Apoptosis: A Target for Anticancer. *Therapy Int. J. Mol. Sci*. 2018. 19, 448
- Sosna J, Voigt S, Mathieu S, Lange A, Thon L, Davarnia P, Herdegen T, Linkermann A, Rittger A, Chan FK, et al. TNF-induced necroptosis and PARP-1-mediated necrosis represent distinct routes to programmed necrotic cell death. *Cell Mol Life Sci*. 2013. doi: 10.1007/s00018-013-1381-6
- Tenev T, Bianchi K, Darding M, Broemer M, Langlais C, Wallberg F, Zachariou A, Lopez J, MacFarlane M, Cain K, et al. The Ripoptosome, a signaling platform that assembles in response to genotoxic stress and loss of IAPs. *Mol Cell*. 2011. 43: 432–448
- Vanlangenakker N, Vanden Berghe T, Vandenabeele P. Many stimuli pull the necrotic trigger, an overview. *Cell Death and Differentiation*. 2012. 19, 75–86
- Zong WX, Ditsworth D, Bauer DE, Wang ZQ, Thompson CB. Alkylating DNA damage stimulates a regulated form of necrotic cell death. *Genes Dev* (2004) 18: 1272–1282

Адрес за кореспонденция:

Калин Калчев
Факултет по медицина
Медицински университет – Варна
ул. Марин Дринов 55
9002 Варна
e-mail: kalinkalch@gmail.com