



Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 21002 – Конкурсна сесия 2021:
„Предиктивна и прогностична роля на имунохистохимичната експресия на
апоптозо-индуциращ фактор и RIPK3, маркер за некроптоза при
бъбречноклетъчен карцином“
Ръководител: Проф. д-р Мария Ангелова Цанева, дм

По данни на GLOBOCAN за 2020 г., бъбречноклетъчният карцином е около 2% от злокачествените тумори в света и около 2% като причина за смърт сред малигнените неоплазми.

Апоптозата е процес на програмирана клетъчна смърт, която се активира от външен апоптозен път чрез рецепторите на смъртта върху клетъчната мембрана и вътрешен път, които се задейства на нивото на митохондриите в резултат на вътрешни увреди. Тя се иницира чрез активиране на няколко каспази. Започва с активиране на каспаза 8 и 9, които генерират сигнален път, потенциращ клетъчна смърт. Съществува и друг сигнален път за активиране на апоптозата, независим от каспазите, който се медира от апоптозо-индуциращ фактор (AIF). При туморите често се наблюдават дефекти в механизма на програмираната клетъчна смърт на неопластичните клетки и това води до повишаване на устойчивостта им към различните конвенционални противотуморни терапии. Насочването към алтернативни пътища на клетъчна смърт е привлекателна стратегия за подобряване на антитуморната терапия. Некроптозата е сравнително нова форма на клетъчна смърт, която се стимулира чрез класическите рецептори на клетъчната смърт, идентични с тези на външния път на апоптозата. Тя обединява морфологичните характеристики на некрозата и част от молекулярните регулаторни механизми на апоптозата. Медирана е от фамилията на рецептор взаимодействиящата протеин киназа (RIPK): RIPK1 и RIPK3.

Анализът на двата маркера, на апоптоза и некроптоза във връзка с хистологичната характеристика, диференциация и туморния стадий би допринесло за прогнозиране на хода на заболяването, а от друга страна дава възможност за откриване на нови сигнални пътища за терапевтично повлияване.

Цел на настоящото изследване е проучване на имунохистохимичната експресия на маркера за апоптоза, апоптозо-индуциращ фактор (AIF) и маркера за некроптоза, Receptor-interacting protein kinase 3 (RIPK3) при пациенти с бъбречноклетъчен карцином и се определи прогностичната им и предиктивна стойност.

За осъществяване на поставената цел са формулирани следните задачи:

1. Проучване на клинично-морфологичните характеристики и преживяемостта на пациентите с карцином на бъбрека;
2. Оценка на полуколичествено имунохистохимичната експресия на AIF и RIPK3 в туморната тъкан на бъбречноклетъчен карцином и се сравни със съседната нетуморна тъкан;
3. Изследване на имунохистохимичната експресия на AIF и RIPK3 във връзка с клинично-патологичните характеристики на пациентите с бъбречноклетъчен карцином: стадий на тумора, хистологичен вид, степен на диференциация, туморни некрози;
4. Осъществяване на комплексен анализ на апоптозата и некроптоза във връзка с клинично-морфологичните показатели и преживяемостта на пациентите и да се определи прогностичната им и предиктивна роля при бъбречния карцином.

За изпълнение на поставените задачи ще бъдат подбрани подходящи парафинови блокчета от пациенти с карцином на бъбрек. Ще се определи хистологичния вариант, стадия по TNM класификацията и преживяемостта на пациентите. Имунохистохимично ще се определи експресия на AIF и RIPK3 чрез H score. Ще бъдат използвани различни статистически методи за сравнителен анализ на показателите и получените резултати ще бъдат публикувани.

Бъбречният карцином е резистентен на химиотерапия и 5-годишната преживяемост при метастатично заболяване е между 5 и 15%. Много химиотерапевтици действат чрез индукция на апоптоза и апоптотичният дефицит може да бъде причина за лекарствена резистентност. Некроптозата е друга форма на регулирана клетъчна смърт, която се наблюдава в клетки, в които апоптозата е потисната.

Обект на проучването са 80 пациента с БКК.

Анализирани са следните клинично-морфологични показатели: пол, локализация на тумора, хистологичен тип, TNM стадий, степен на диференциация, площ на некроза, туморинфилтриращи лимфоцити (TILs), съдова инвазия и преживяемост на пациентите. Имунохистохимичната експресия на RIPK3 и AIF е оценена полуколичествено чрез използване на H-score (histo-score) върху тъканни проби. Използвани са следните статистически методи: дескриптивен анализ, вариационен анализ, проверка за нормалност на разпределението на данните, t-критерий на Student, t-test, дисперсионен анализ, корелационен анализ на Пийрсън, метод на Каплан-Майер, χ^2 – критерий.

Постигнати резултати:

- ❖ В туморната тъкан на бъбречноклетъчния карцином средната цитоплазмена експресия на AIF е 168.3 (SD=36.88), като минималната стойност е 95, а

максималната – 250, докато ядрената е 2.1 (SD=10.57), като минималната стойност е 0, а максималната – 85.

- ❖ Липсва разлика в цитоплазмената експресия на AIF в туморната и нетуморна тъкан на бъбречноклетъчния карцином и между първичния тумор и метастазите.
- ❖ Интензивността на експресия на AIF в цитоплазмата на туморните клетки на бъбречноклетъчния карцином не корелира с пола, хистологичния тип, степента на диференциация, TILs, площта на туморната некроза и преживяемостта на пациентите.
- ❖ Цитоплазмената експресия на AIF е по-висока при липса на съдова инвазия в сравнение с пациентите, при които има туморни емболи.
- ❖ Статистически значима разлика в цитоплазмената експресия на AIF има само между два стадия: T1 и T3.
- ❖ Нуклеарната експресия на AIF при бъбречноклетъчен карцином не корелира с никой от изследваните клиничко-морфологични показатели.
- ❖ Средната цитоплазмена експресия на RIPK3 в туморната тъкан на бъбречния карцином е 137.1 (SD=43.96), като минималната стойност е 0, а максималната – 285, докато ядрената е 27.9 (SD=46.89) като минималната стойност е 0, а максималната – 195.
- ❖ Цитоплазмената експресия на RIPK3 в туморната тъкан е по-ниска в сравнение със съседната нетуморна тъкан. Липсва зависимост между интензивността на цитоплазмената експресия на RIPK3 и клиничко-морфологични показатели: пол, хистологичен тип, T стадий, TILs, площ на некрозата и преживяемост на пациентите. Липсва разлика между интензивността на цитоплазмената експресия на RIPK3 в първичния тумор и метастазите. По-високата цитоплазмена експресия на RIPK3 в туморната тъкан корелира с по-добра диференциация на бъбречния карцином и с липсата на съдова инвазия.
- ❖ Нуклеарната експресия на RIPK3 в туморната тъкан на бъбречноклетъчния карцином не корелира с никой от изследваните клиничко-морфологични показатели.
- ❖ Получените резултати показват, че в туморната тъкан на бъбречноклетъчен карцином некроптозата е потисната при запазен апоптотичен сигнален път на клетъчна смърт.