

# Μοριακή σταδιοποίηση: το παράδειγμα του καρκίνου του προστάτη

Μιχάλης Κουτσιλιέρης

*Αναπλ. Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας,  
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών*



Θέλω να ξεκινήσω την ομιλία μου ευχαριστώντας πρώτα τον καθηγητή κ. Σέκερη για την ευγενική του πρόσκληση να βρίσκομαι ανάμεσά σας και να παρουσιάσω τη δουλειά των συνεργατών μου στο Εργαστήριο Πειραματικής Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής, γύρω από ένα θέμα εξαιρετικού ενδιαφέροντος για την ερευνητική μου ομάδα: το θέμα της ανάπτυξης και εφαρμογής της τεχνικής της μοριακής σταδιοποίησης στον καρκίνο του προστάτη. Θέλω επίσης να συγχαρώ το Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών και τους χορηγούς της εκδήλωσης αυτής, τη φαρμακευτική εταιρεία Novartis για την εξαιρετική πρωτοβουλία και τη συμπαράστασή τους σε δραστηριότητες που επιτρέπουν την επαφή των επιστημόνων με το ευρύ κοινό.

Ο προηγούμενος ομιλητής παρουσίασε γλαφυρά τους μηχανισμούς και τα μοριακά μονοπάτια που οδηγούν ένα κύτταρο να παρεκκλίνει της βιολογικής του συμπεριφοράς και να αποκτή βιολογική συμπεριφορά που χαρακτηρίζεται

από την αυτόματη αναπροσαρμογή στο κέρδος, την απρόσφορη και περιττή αύξηση του πολλαπλασιασμού και την «απρεπή» συμπεριφορά του απέναντι σε άλλα κύτταρα και βιολογικά συστήματα του οργανισμού μέσω της αποδιαφοροποίησης. Όλα τα παραπάνω είναι οι βιολογικοί μηχανισμοί που χαρακτηρίζουν τη βιολογία του καρκίνου ως κακοήθη συμπεριφορά.

Εάν κάποιος όμως θέλει να εξετάσει τη βιολογία του καρκίνου (καρκινική συμπεριφορά) σε ένα στάδιο μεταγενέστερο της καρκινογένεσης, οφείλει να δεχθεί ότι η φυσική εξέλιξη της βιολογίας του όγκου σηματοδοτείται από ένα χρονικά κρίσιμο σημείο, το οποίο σχετίζεται με την ανάπτυξη νέων αγγείων (νέο-αγγειογένεση) γύρω από τον όγκο. Στο συγκεκριμένο χρονικό σημείο, τα νέα αγγεία προμηθεύουν τον όγκο με σωρεία αυξητικών παραγόντων και τροφικών μηνυμάτων, σηματοδοτώντας μια νέα περίοδο της φυσικής του ιστορίας κατά την οποία ο όγκος αναπτύσσεται εκθετικά. Η αγγειογένεση είναι το αποτέλεσμα μιας καλά ενορχηστρωμένης δράσης των καρκινικών κυττάρων μέσω βιοχημικών παραγόντων προς τα φυσιολογικά κύτταρα, η οποία δημιουργεί τις συνθήκες ώστε τα φυσιολογικά κύτταρα να φτιάξουν στον όγκο τα νέα αγγεία και μάλιστα να τα κατευθύνουν προς τα καρκινικά κύτταρα του όγκου με χημειοτακτισμό.

Αυτό είναι το πιο χαρακτηριστικό γεγονός στη φυσική ιστορία της ανάπτυξης του όγκου. Όμως, με αναφορά στην κλινική πορεία της νόσου, το πλέον σημαντικό σημείο της είναι η στιγμή κατά την οποία ο όγκος μετατρέπεται από τοπική σε συστηματική νόσο. Όταν δηλαδή τα καρκινικά κύτταρα φεύγουν από τον πρωτοπαθή όγκο και –μέσω της κυκλοφορίας ή της λέμφου– μεταναστεύουν σε άλλα ζωικά όργανα μακριά από την αρχική τους εντόπιση, δημιουργώντας έτσι μακρινές αποικίες, τις μεταστάσεις.

Όπως συμβαίνει στην ιστορία της ανθρωπότητας, έτσι και στις μεταστάσεις του καρκίνου οι μεταναστευτικοί πληθυσμοί οφείλουν να έχουν εκ των πραγμάτων ιδιαίτερα αυξημένες προσαρμοστικές ικανότητες, ώστε να αντεπεξέλθουν στις απαιτήσεις που επιβάλλει η διαδικασία μιας επιτυχημένης προσπάθειας μετανάστευσης, ιδιαίτερα μάλιστα όταν πρόκειται για παράνομη μετανάστευση. Δηλαδή τα καρκινικά κύτταρα οφείλουν να λύουν τη συνέχεια του

καρκινικού ιστού αποκτώντας ευκινησία, να διηθούν τους αυλούς των αγγείων και να μπαίνουν μέσα στα τριχοειδή αγγεία κοντά στον όγκο, να επιζήσουν κατά τη διάρκεια του μεταναστευτικού ταξιδιού τους στην κυκλοφορία ή μέσα στη λέμφο και τελικά να «ξεμπαρκάρουν» σε συγκεκριμένα «λιμάνια», δηλαδή σε ιστούς δεκτικούς σε «μετανάστες» είτε σε μη καλά φυλασσομένους ιστούς, όπου πρέπει αρχικά να επιζήσουν στο νέο περιβάλλον και στη συνέχεια να προσαρμοστούν και να προοδεύσουν στους νέους κανόνες και συνθήκες διαβίωσης. Τα μεταστατικά κύτταρα έχουν πλαστικότητα-δυνατότητα προσαρμογής πολύ μεγαλύτερη κι από εκείνη των κυττάρων που παραμένουν στον πρωτοπαθή όγκο. Μόνο καρκινικά κύτταρα με παρόμοιες ικανότητες μπορούν να γεννούν μεταστάσεις. Πρόκειται λοιπόν για ιδιαίτερα επιλεγμένες υπό-ομάδες καρκινικών κυττάρων. Γι' αυτό και η επιθετικότητά τους είναι πολύ μεγαλύτερη.

Τέτοια κύτταρα εξαιρετικών βιολογικών δυνατοτήτων θα ήταν λογικό να τα αντιμετωπίζαμε άμεσα και χωρίς καμία καθυστέρηση, δηλαδή με την ταυτόχρονη παρουσία τους στο περιφερικό αίμα. Η ανενόχλητη εγκατάστασή τους στα σημεία μετανάστευσης δημιουργεί συνθήκες στις οποίες ο οργανισμός αδυνατεί να αντιδράσει και τελικά υποκύπτει. Σήμερα κάνουμε διάγνωση του καρκίνου είτε με βάση τα κλινικά συμπτώματα της νόσου είτε, στην καλύτερη των περιπτώσεων, όταν σε ασυμπτωματικό ασθενή γίνεται κατάδειξη της παρουσίας ενός όγκου, εφόσον βέβαια είναι ορατός με κάποια απεικονιστική μέθοδο –π.χ. ακτινογραφία, σπινθηρογράφημα, αξονική ή μαγνητική τομογραφία. Το ίδιο ισχύει και για τη διαπίστωση των μεταστάσεων, δηλαδή μετά την αρχική διάγνωση του όγκου αναζητούμε σε απεικονιστικές μεθόδους ή σπινθηρογραφήματα και αξονικές τομογραφίες ευρήματα της παρουσίας των μεταστατικών εστιών σε όργανα με γνωστή ικανότητα να δέχονται εύκολα την εγκατάσταση μεταστάσεων από τον συγκεκριμένο πρωτοπαθή όγκο.

Η πιο ευαίσθητη εργαστηριακή μέθοδος σήμερα (σπινθηρογράφημα οστών) καθιστά δυνατή τη διαπίστωση της παρουσίας μερικών εκατοντάδων χιλιάδων μεταστατικών κυττάρων, τα οποία έχουν σχηματίσει μια αποικία πριν από αρκετό καιρό, πιθανώς και χρόνια. Τούτο σημαίνει ότι η χρονική περίοδος

που αφορίζεται από τη φάση της αγγειογένεσης στον πρωτοπαθή όγκο έως ότου διαπιστωθεί η παρουσία των μεταστάσεων, δηλαδή της παρουσίας μερικών εκατοντάδων χιλιάδων μεταναστευτικών κυττάρων σε νέες εστίες, όλη αυτή η περίοδος σήμερα αποτελεί ένα μαύρο κουτί, όπου κανείς δεν μπορεί να παρακολουθήσει τα διαδραματιζόμενα. Αγνοούμε πότε και αν τα καρκινικά κύτταρα ξεκίνησαν το μεταναστευτικό τους ταξίδι, πώς αρμενίζουν, ποιο «καράβι» τα μεταφέρει και προς τα πού κατευθύνονται. Το μόνο που περιμένουμε είναι πότε αυτά θα εγκατασταθούν και θα αυξηθούν τόσο (εκατοντάδες χιλιάδες κύτταρα) ώστε να γίνουν αντιληπτά και να δώσουν συμπτώματα ή ευρήματα απεικονιστικά προκειμένου να ασχοληθούμε μαζί τους θεραπευτικά.

Εδώ έρχεται η εξέλιξη της μοριακής βιολογίας, στην οποία οφείλουμε πάρα πολλά και πρέπει να το τονίζουμε πάντα οι κλινικοί ιατροί που σήμερα κάνουμε χρήση αυτών των νέων και σημαντικών τεχνικών της διαγνωστικής και θεραπευτικής ιατρικής, της λεγόμενης μοριακής ιατρικής. Σήμερα, λοιπόν, έχουμε τις τεχνικές να πάρουμε μια εικόνα για το τι συμβαίνει σε όλη εκείνη τη χρονική περίοδο πριν από την εγκατάσταση των μεταστάσεων, η οποία μέχρι τώρα δεν ήταν αντιληπτή.

Θα χρησιμοποιήσουμε λοιπόν το παράδειγμα των οστικών μεταστάσεων από καρκίνο του προστάτη, επειδή σε αυτό το πεδίο υπάρχει ιδιαίτερη πρόοδος σε σχέση με την πρώιμη διαπίστωση των μεταστάσεων και μάλιστα αποτελεί το αντικείμενο της ερευνητικής μας εργασίας.

Οι οστικές μεταστάσεις είναι οι πλέον συχνές και σηματοδοτούν την κατάληξη των ασθενών που πάσχουν από καρκίνο. Στα οστά, τα μεταστατικά κύτταρα φθάνουν πρώτα στον μυελό. Ο μυελός είναι ένας ιστός υψηλής ανοσολογικής επαγρύπνησης, εκεί δηλαδή υπάρχει η πιο ισχυρή άμυνα του οργανισμού μας για την καταπολέμηση των καρκινικών κυττάρων και την καταστροφή τους. Όταν τα καρκινικά κύτταρα φθάνουν στον μυελό πρέπει γρήγορα να τον εγκαταλείψουν, εάν θέλουν να πετύχουν τον σκοπό τους, και να εισχωρήσουν στον οστίτη ιστό. Με αυτόν τον τρόπο θα αποφύγουν την ανοσολογική επαγρύπνηση του μυελού και θα αποκτήσουν νέες, φιλικές σχέσεις επικοινωνίας με κύτταρα του οστίτη ιστού, τα οποία είναι κατ' εξοχήν αγαθά κύτταρα και βοηθούν

τους «μετανάστες» στην πρώτη τους εγκατάσταση. Έτσι, έχουμε τη φάση της μικρό-μετάστασης, δηλαδή της αρχικής παρουσίας των μεταστατικών κυττάρων στο αίμα και την άφιξή τους στον μυελό των οστών. Στην παραπάνω φάση δεν δημιουργείται ακόμη μετάσταση και τούτο είναι σημαντικό διότι ο οργανισμός μπορεί να χτυπήσει και να εξουδετερώσει την αρχική αυτή διείσδυση των καρκινικών κυττάρων στον μυελό των οστών. Αυτό φαίνεται σε πειράματα όπου όταν κάνουμε ενέσεις με καρκινικά κύτταρα στην κυκλοφορία, βλέπουμε ότι πρέπει να δώσουμε στο ζώο ένα μεγάλο αριθμό κυττάρων για να αρχίσει να αποκτά οστικές μεταστάσεις. Δηλαδή υπάρχει ένας ουδός αριθμού κυττάρων που πρέπει να χορηγήσουμε στο ζώο για να συμβεί η εγκατάσταση στις μεταστάσεις. Τούτο συμβαίνει εξαιτίας της άμυνας του οργανισμού που εκδηλώνεται κυρίως στον μυελό των οστών.

Τα καρκινικά κύτταρα όμως θέλουν σύντομα να αποφύγουν αυτό το στάδιο κι έτσι δραστηριοποιούνται ώστε να εισχωρήσουν το συντομότερο στον οστίτη ιστό. Πώς το κάνουν αυτό; Το οστό είναι ένας ιστός που αναγεννάται συνεχώς και οι οστικές δοκίδες του ανακατασκευάζονται σε τακτά χρονικά διαστήματα (κύκλος ανακατασκευής): αυτό τον μηχανισμό εκμεταλλεύεται το καρκινικό κύτταρο στο έπακρο. Μπαίνει δηλαδή στον μυελό και «κουρνιάζει» για λίγο, 3-6 μήνες, προσπαθώντας απλώς να αποφύγει την ανοσολογική επίθεση του οργανισμού και τον θάνατό του. Δεδομένου δε ότι ο μηχανισμός της οστικής αναδόμησης λαμβάνει χώρα κατά τακτά χρονικά διαστήματα, περίπου κάθε 3 με 6 μήνες, μόλις ξεκινήσει ο μηχανισμός της οστικής αναδόμησης περνά μέσα στον κρημό που δημιουργείται κατά την οστική απορρόφηση, εγκαταλείποντας πια το καρκινικό κύτταρο στον μυελό των οστών και εισερχόμενο εντός του οστίτη ιστού. Υπάρχουν οι καρκίνοι εκείνοι –π.χ. του μαστού και του πνεύμονα– των οποίων τα μεταστατικά κύτταρα διαγείρουν συνεχώς τους οστεοκλάστες, που είναι τα υπεύθυνα κύτταρα για την οστική απορρόφηση, προκαλώντας τις λεγόμενες οστεολυτικού τύπου μεταστάσεις. Υπάρχει επίσης ένας άλλος τύπος καρκίνου –π.χ. ο καρκίνος του προστάτη–, όπου τα μεταστατικά κύτταρα διαγείρουν τους οστεοβλάστες και λιγότερο τους οστεοκλάστες, προκαλώντας τις λεγόμενες οστεοβλαστικού τύπου μεταστάσεις. Έτσι έχουμε τους

δύο τύπους μεταστάσεων (αλλά και μικτούς τύπους). Η διαδικασία της τελικής ανάπτυξης της μετάστασης στα οστά διαρκεί έως και χρόνια, εάν υπολογίσουμε τον χρόνο που χρειάζεται από τη στιγμή που τα μεταστατικά κύτταρα μπαίνουν στο αίμα, φτάνουν αρχικά στον μυελό και μπαίνουν τελικά στον οστίτη ιστό για να ξεφύγουν από την ανοσολογική επαγρύπνηση του οργανισμού και να αρχίσουν πλέον να πολλαπλασιάζονται και να δημιουργούν τη νέα αποικία. Αξίζει λοιπόν να αναπτυχθούν οι τεχνικές εκείνες που θα αποσαφηνίσουν τα παραπάνω στάδια που θα μας δώσουν τη δυνατότητα νέων θεραπευτικών παρεμβάσεων κατά τη χρονική περίοδο που γεννώνται οι μεταστάσεις.

Είναι αξιοσημείωτο ότι για να αντιληφθούμε σήμερα την παρουσία μιας μετάστασης στα οστά με ακτινογραφικό έλεγχο πρέπει να έχει καταστραφεί το 50% του συμπαγούς οστού. Απαιτείται λοιπόν μια πιο ευαίσθητη μέθοδος, χρειάζεται δηλαδή να προχωρήσουμε διαγνωστικά στα στάδια της φυσικής ιστορίας της εγκατάστασης μιας μετάστασης. Το σπινθηρογράφημα οστών αποτέλεσε σημαντική πρόοδο προς αυτή την κατεύθυνση, καθώς μπορεί να διαπιστώνει μια μετάσταση ακόμη και έναν χρόνο νωρίτερα από ό,τι γίνεται με τον ακτινογραφικό έλεγχο. Και πάλι όμως βρισκόμαστε μπροστά σε μια μετάσταση που αποτελείται από εκατοντάδες χιλιάδες κύτταρα ανά εστία.

Η ανάπτυξη της μοριακής σταδιοποίησης για πρώτη φορά μας δίνει την ευκαιρία ενός διαγνωστικού παράθυρου αντιληψης όσων διαδραματίζονται στα αρχικά στάδια της οστικής μετάστασης, καθώς για πρώτη φορά αντιλαμβανόμαστε την παρουσία ενός μεταστατικού κυττάρου προσάτη όταν αυτό υπάρχει ανάμεσα σε 1.000.000 κύτταρα μυελού ή περιφερικού αίματος. Πρόκειται για μια τεχνική τεράστιας κλινικής σημασίας, την οποία όμως μπορούμε να αξιοποιήσουμε σωστά μόνο όταν γνωρίζουμε και επιλύουμε τα προβλήματα των ορίων αξιοπιστίας που εμφανίζονται, επειδή ακριβώς είναι πολύ ευαίσθητη.

Η παραπάνω τεχνική στηρίζεται στο γεγονός ότι για την παραγωγή μιας πρωτεΐνης ειδικής για έναν καρκίνο (καρκινικός δείκτης) τα καρκινικά κύτταρα περιέχουν το μοριακό «πατρών» της κατασκευής του (αγγελιαφόρο RNA). Μπορούμε λοιπόν, αφού εκχυλίσουμε το RNA των κυττάρων από το περιφερει-

κό αίμα και βιοψίας του μυελού των οστών, να εντοπίσουμε την παρουσία του μοριακού «πατρών» δεικτών που παράγονται μόνο από τα καρκινικά κύτταρα κι άρα να πιστοποιήσουμε την παρουσία των συγκεκριμένων καρκινικών κυττάρων στο αίμα ή τον μυελό των οστών.

Ενώ λοιπόν για τους περισσότερους καρκίνους δεν έχουμε ειδικούς δείκτες, για τον καρκίνο του προστάτη έχουμε δύο δείκτες που είναι μάλιστα ειδικοί. Ο ένας είναι το PSA ο άλλος το PSNA. Πρόκειται για το ειδικό προστατικό αντιγόνο και το ειδικό προστατικό αντιγόνο μεμβράνης. Έχουμε λοιπόν τη δυνατότητα ελέγχου της παρουσίας δύο μοριακών «πατρών» που προσδιορίζουν την παρουσία καρκινικών κυττάρων του προστάτη στον μυελό και στο αίμα. Τα όρια αξιοπιστίας της μεθόδου κάτω από τις συγκεκριμένες εργαστηριακές συνθήκες είναι κλινικά σημαντικά και επί θετικού αλλά και επί αρνητικού αποτελέσματος.

Για τον καρκίνο του προστάτη είχαμε πολλές κλινικές παρατηρήσεις, οι οποίες έδειχναν ότι η σύγχρονη κλινική σταδιοποίηση δεν είναι ακριβής. Στο εργαστήριό μας, σε σύνολο 153 ασθενών με κλινικά εντοπισμένο καρκίνο του προστάτη που υπέστησαν ριζική προστατεκτομή, είχαμε την ευκαιρία να εντοπίσουμε με αυτή τη μέθοδο ένα 20% περίπου που είχαν ήδη τα «πατρών» για τους δύο δείκτες στο αίμα και στον μυελό των οστών. Η ομάδα που ήταν θετική στο αίμα αλλά και στον μυελό και για τους δύο δείκτες σε ποσοστό 100%, όλοι δηλαδή οι ασθενείς μέσα σε 20 μήνες από τη ριζική προστατεκτομή εμφάνισαν βιοχημική υποτροπή της νόσου, δηλαδή παρουσίασαν εκ νέου αύξηση του PSA στο αίμα, σε πλήρη αντίθεση με όσους ήταν αρνητικοί στην ίδια εξέταση, όπου ελάχιστοι παρουσίασαν βιοχημική υποτροπή της νόσου μετά τη ριζική προστατεκτομή. Η βιοχημική υποτροπή είναι προστάδιο της παρουσίας προστατικού ιστού εκτός προστάτη (αφού έχει γίνει ριζική προστατεκτομή στους ασθενείς αυτούς δεν δικαιολογείται η παρουσία του μετρήσιμου PSA στο αίμα). Είναι λοιπόν φανερό η διαφορά στην πρόγνωση στις δύο ομάδες ασθενών με θετική ή αρνητική μοριακή σταδιοποίηση, που σημαίνει ότι πράγματι η μοριακή σταδιοποίηση εντοπίζει ασθενείς με καρκίνο του προστάτη σε στάδιο μετεξέλιξης από την τοπική νόσο στη μεταστατική φάση της νόσου.

Είναι σημαντικό να βρίσκουμε ποιοι θα παρουσιάσουν βιοχημική υποτροπή ή έχουν χειρότερο προσδόκιμο μετά τη ριζική προστατεκτομή, αλλά θα ήταν ακόμα καλύτερο αν μπορούσαμε να διαλέγουμε ποιοι πρέπει να κάνουν ριζική προστατεκτομή, και αν οι θετικοί να θεραπεύονται πιο αποτελεσματικά από το να τους προσφέρεται τοπική θεραπεία. Γι' αυτό και οι ασθενείς που ήταν θετικοί στο αίμα αλλά και στον μυελό και για τους δύο δείκτες υποβλήθηκαν σε ορμονική θεραπεία επί έναν χρόνο και μόνο όταν αρνητικοποιήθηκε η μοριακή σταδιοποίηση υπέστησαν ριζική προστατεκτομή. Τα αποτελέσματα της βιοχημικής υποτροπής σε αυτή την ομάδα ασθενών έδειξαν ότι μπορούμε όχι μόνο να αρνητικοποιήσουμε τη μοριακή σταδιοποίηση αλλά και να αντιστρέψουμε τη δυσμενή πρόγνωση σε αυτούς, προφανώς υποστρέφοντας τη διαδικασία των μεταστάσεων με συστηματική θεραπεία στα αρχικά της στάδια, δηλαδή πριν την τελική εγκατάσταση των μεταστατικών εστιών στα οστά.

Φαίνεται λοιπόν ότι η μοριακή σταδιοποίηση μάς δίνει τη δυνατότητα να μελετήσουμε τους μηχανισμούς και τα γεγονότα που μέχρι σήμερα ήταν αποκρυμμένα, δημιουργώντας τις συνθήκες για αποτελεσματική θεραπευτική παρέμβαση πολύ νωρίτερα από ό,τι μέχρι σήμερα.