

**1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές**  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

## **Ο ρόλος της γήρανσης στον καρκίνο του προστάτη**

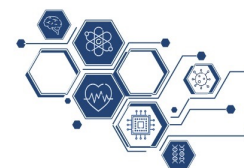
Ιωάννα Μουρκιώτη<sup>1</sup>, Άγγελος Παπασπυρόπουλος<sup>1</sup>, Βασίλειος Γοργούλης<sup>1</sup>, Νεφέλη Λαγοπάτη<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Ιατρική Σχολή Αθηνών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο, Αθήνα, Ελλάδα

Διοργανωτές



# 1. Εισαγωγή-Σκοπός



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

Ο καρκίνος του προστάτη είναι η δεύτερη κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο στους άνδρες στις ΗΠΑ και η κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας από καρκίνο παγκοσμίως. Η θεραπεία στέρησης ανδρογόνων (ADT) έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στο πρώιμο στάδιο νόσου όταν ακόμα υπάρχει ευαισθησία στα ανδρογόνα.

Παρόλα αυτά ο καρκίνος του προστάτη στη συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών εξελίσσεται σταδιακά σε μεταστατική κατάσταση ανθεκτική στα ανδρογόνα.

Η ακτινοθεραπεία και μια ποικιλία αντικαρκινικών παραγόντων έχει αποδειχθεί ότι μεταβάλλουν τις κυτταρικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της πρόκλησης γήρανσης, στα καρκινικά κύτταρα και στο μικροπεριβάλλον του όγκου.

Σύμφωνα με το επαγόμενο από ογκογονίδιο μοντέλο καρκινογένεσης του εργαστηρίου μας, η γήρανση είναι ένας σημαντικός φραγμός εξέλιξης του όγκου.

Ωστόσο, το εάν η γήρανση εμπλέκεται στην εξέλιξη του πρώιμου σταδίου, του ευαίσθητου στα ανδρογόνα, καρκίνου του προστάτη σε εξαιρετικά επιθετικό ανθεκτικό στον ευνουχισμό (CRPC) χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να αποσαφηνιστεί ο ρόλος της κυτταρικής γήρανσης στην αντίσταση στη θεραπεία του καρκίνου του προστάτη και η γνώση αυτή να συμβάλει στην ανάπτυξη θεραπειών που βασίζονται σε δείκτες.

## Estimated New Cancer Cases in the US in 2023

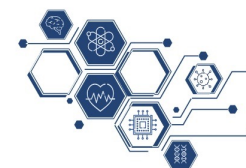
Male			Female		
Prostate	288,300	29%	Breast	297,790	31%
Lung & bronchus	117,550	12%	Lung & bronchus	120,790	13%
Colon & rectum	81,860	8%	Colon & rectum	71,160	8%
Urinary bladder	62,420	6%	Uterine corpus	66,200	7%
Melanoma of the skin	58,120	6%	Melanoma of the skin	39,490	4%

## Estimated Cancer Deaths in the US in 2023

Male			Female		
Lung & bronchus	67,160	21%	Lung & bronchus	59,910	21%
Prostate	34,700	11%	Breast	43,170	15%
Colon & rectum	28,470	9%	Colon & rectum	24,080	8%
Pancreas	26,620	8%	Pancreas	23,930	8%
Liver & intrahepatic bile duct	19,000	6%	Ovary	13,270	5%

## Cancer Statistics, 2023

## 2. Μέθοδοι και Υλικά

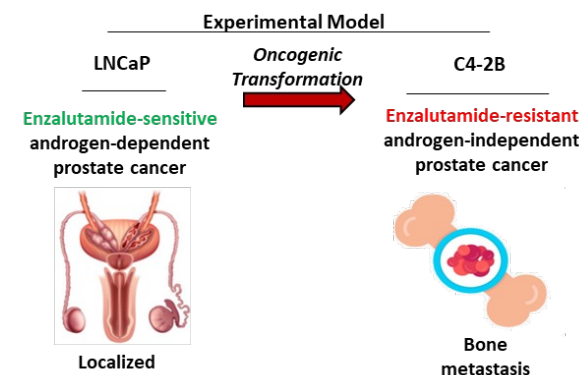


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

Για το σκοπό της παρούσας εργασίας θα επάγουμε γήρανση στις κυτταρικές σειρές προστάτη LNCaP και C4-2B, με αναστολή για 5 ημέρες της σηματοδότησης μέσω του υποδοχέα των ανδρογόνων (AR signaling pathway) με χρήση Ενζαλουταμίδης (enzalutamide).

Οι LNCaP και το C4-2B είναι δύο καρκινικές κυτταρικές σειρές που αντιπροσωπεύουν διαφορετική κατάσταση της νόσου ασθένειας. Τόσο η LNCaP όσο και η C4-2B αντικατοπτρίζουν πρώιμη ασθένεια ευαίσθητη στα ανδρογόνα. Η C4-2B είναι μια μεταστατική οστική κυτταρική σειρά που έχει προέλθει από την LNCaP.

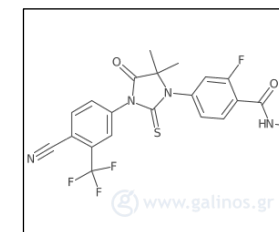
Μετά την αναστολή της οδού σηματοδότησης AR για 5 ημέρες, θα αναζητήσουμε φαινοτυπικά και μοριακά χαρακτηριστικά της γήρανσης. Η επαγωγή γήρανσης και στις δύο κυτταρικές σειρές θα αντιμετωπιστεί με δοκιμασία κυτταρικού πολλαπλασιασμού, ανάλυση κυτταρικού κύκλου, στύπωμα Western, χρώση SenTraGor και προσδιορισμό αλληλουχίας RNA.



*Mourkioti et al. J Exp Clin Cancer Res (2023)*

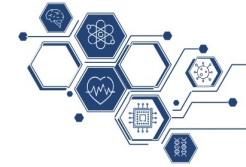


Αναστολή της σηματοδότησης μέσω του υποδοχέα των ανδρογόνων (AR signaling pathway) για 5 ημέρες με χρήση Ενζαλουταμίδης (Enzalutamide)



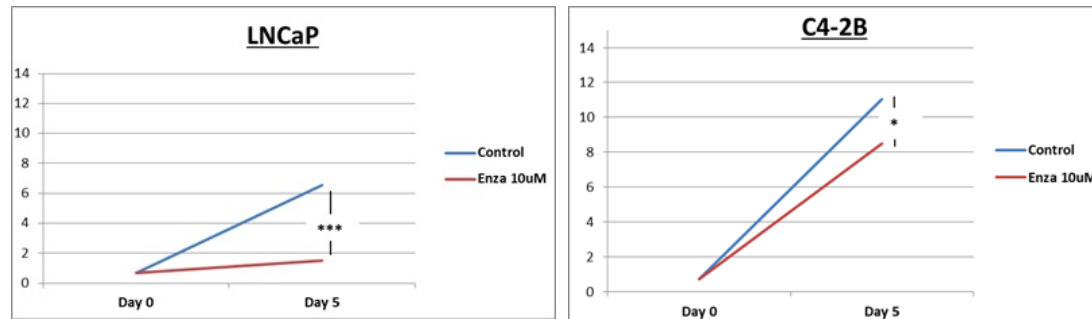
Ενζαλουταμίδη  
Χημικός τύπος:  
 $C_{21}H_{16}F_4N_4O_2S$

### 3. Αποτελέσματα (I)



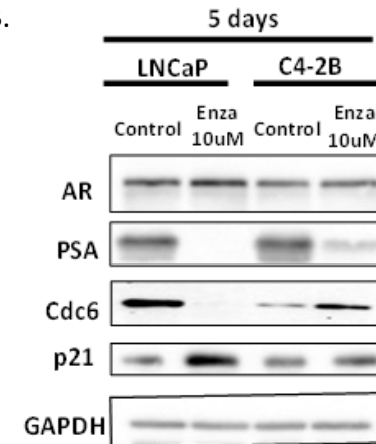
1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

A.



	Number of cells ( $\times 10^6$ )	
	Day 0	Day 5
LNCaP control	0,7	6,9
LNCaP enza 10uM	0,7	1,83
C4-2B control	0,7	11,03
C4-2B enza 10uM	0,7	8,5

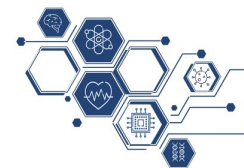
B.



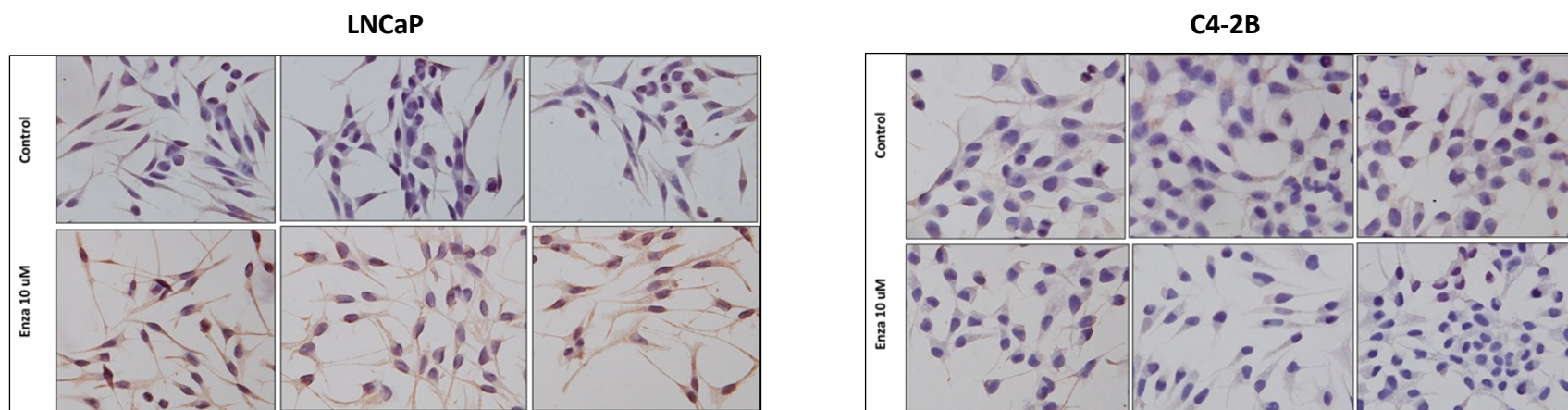
A. Η αναστολή σηματοδότησης του AR για 5 ημέρες με χρήση Ενζαλουταμίδης, μειώνει αισθητά τον πολλαπλασιασμό των LNCaP κυττάρων αλλά δεν επηρεάζει εξίσου τον πολλαπλασιασμό των C4-2B.

B. Η αναστολή σηματοδότησης του AR για 5 ημέρες με χρήση Ενζαλουταμίδης, μειώνει τα επίπεδα έκφρασης του CDC6 και αυξάνει του p21 στα LNCaP, ενώ στα C4-2B προκύπτει αύξηση των επιπέδων έκφρασης του CDC6, ενώ τα επίπεδα του p21 παραμένουν σταθερά.

### 3. Αποτελέσματα (II)

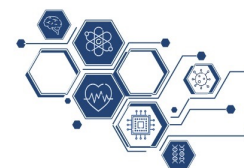


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

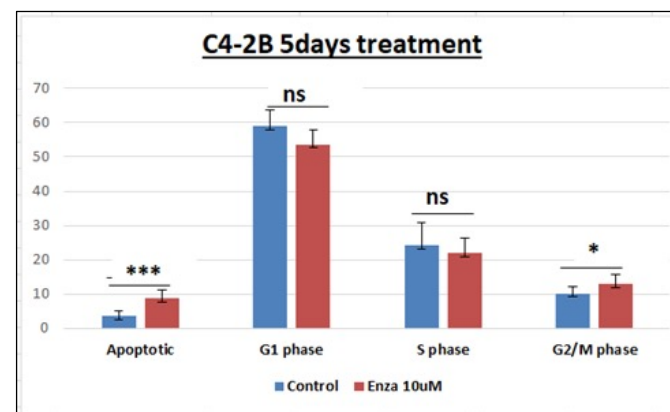
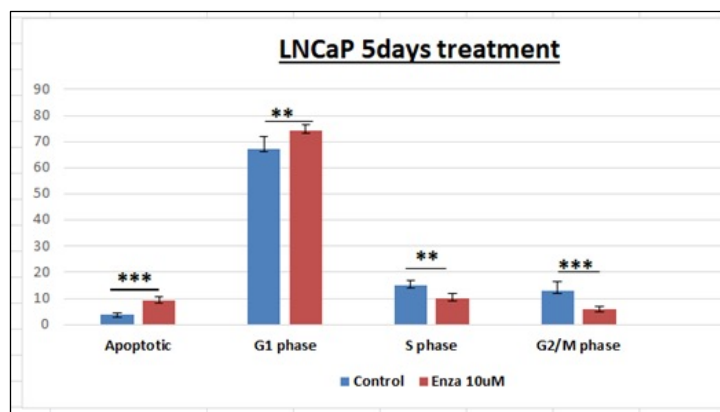


Μετά τη χρώση με GL13 των LNCaP κυττάρων πριν και μετά τη χρήση Ενζαλουταμίδης, παρατηρήθηκε συσσώρευση λιποφουσκίνης στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με Ενζαλουταμίδα (Καφέ χρωστική στο κυτταρόπλασμα), οδηγώντας μας στο συμπέρασμα ότι η θεραπεία με Ενζαλουταμίδα για 5 ημέρες προάγει την εμφάνιση φαινοτύπου γήρανσης στα LNCaP κύτταρα, σε αντίθεση με τα C4-2B στα οποία δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη συσσώρευση λιποφουσκίνης πριν και μετά τη χρήση Ενζαλουταμίδης.

### 3. Αποτελέσματα (III)



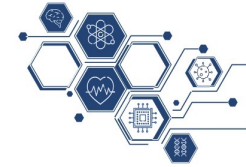
1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023



Η ανάλυση κυτταρικού κύκλου έδειξε ότι η Ενζαλουταμίδη προκαλεί στατιστικά σημαντική διακοπή της φάσης G1 και μείωση της φάσης S των κυττάρων LNCaP. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τα προηγούμενα αποτελέσματά μας που έδειξαν αυξημένα επίπεδα έκφρασης του p21 στα και μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στα LNCaP κύτταρα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με Ενζαλουταμίδη για 5 ημέρες.

Αντίθετα στα C4-2B οι αλλαγές στις G1 και S του κυτταρικού κύκλου είναι μη στατιστικά σημαντικές. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται να επιβεβαιώσουν τα προηγούμενα αποτελέσματά μας που έδειξαν μη αλλαγή στα επίπεδα έκφρασης του p21 και μικρή αλλαγή στον πολλαπλασιασμό των C4-2B μετά τη θεραπεία με Ενζαλουταμίδη.

## 4. Συμπεράσματα

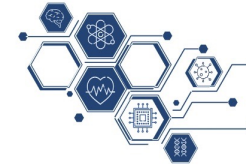


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

Τα αποτελέσματά της παρούσας εργασίας δείχνουν ότι η αναστολή της σηματοδότησης μέσω του υποδοχέα ανδρογόνων AR για 5 ημέρες με χρήση Ενζαλουταμίδης έχει διαφορετικό αντίκτυπο στις δύο κυτταρικές σειρές που μελετήσαμε.

- ❑ Τα κύτταρα LNCaP φαίνεται να ανταποκρίνονται στην αναστολή της σηματοδότησης μέσω του υποδοχέα ανδρογόνων AR, καθώς μετά τη χρήση Ενζαλουταμίδης αποκτούν χαρακτηριστικά φαινοτύπου γήρανσης όπως μείωση κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διακοπή φάσης G1, μείωση φάσης S, αύξηση των επιπέδων έκφρασης του p21 και αυξημένη συσσώρευση λιποφουσκίνης στο κυτταρόπλασμα τους.
- ❑ Σε αντίθεση με τα κύτταρα LNCaP, η Ενζαλουταμίδη στα κύτταρα C4-2B δεν προάγει τον φαινότυπο της γήρανσης.
- ❑ Το πιο ενδιαφέρον αποτέλεσμα μέχρι τώρα είναι η διαφορά στα επίπεδα έκφρασης του παράγοντα αντιγραφής Cdc6 στα LNCaP έναντι των C4-2B και πώς αυτά τα επίπεδα αλλάζουν με τον αντίθετο τρόπο κατά τη θεραπεία με Ενζαλουταμίδη. Αυτό το αποτέλεσμα πρέπει να εξεταστεί περαιτέρω και είναι επίσης απαραίτητο να διευκρινιστεί εάν η επίδραση της Ενζαλουταμίδης σε αυτές τις δύο κυτταρικές σειρές προκαλείται από Cdc6.

## 5. Βιβλιογραφία



Το Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Gordon RR, Nelson PS. Cellular senescence and cancer chemotherapy resistance. *Drug Resist Updat.* 15(1-2):123-31. doi: 10.1016/j.drup.2012.01.002. Epub 2012 Feb 23., 2012 Feb-Apr.
- Halazonetis TD, Gorgoulis VG, Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science.* 319(5868):1352-5. doi: 10.1126/science.1140735., 2008 Mar 7.
- Haugstetter AM, Loddenkemper C, Lenze D, Gröne J, Standfuss C, Petersen I, Dörken B, Schmitt CA. Cellular senescence predicts treatment outcome in metastasised colorectal cancer. *Br J Cancer,* Vols. 103(4):505-9. doi: 10.1038/sj.bjc.6605784. Epub 2010 Jul 13., 2010 Aug 10.
- Komseli, E.S., Pateras, I.S., Krejsgaard, T., Stawiski, K., Rizou, S.V., Polyzos, A., Roumelioti, F.M., Chiourea, M., Mourkioti, I., Paparouna, E., et al., A prototypical non-malignant epithelial model to study genome dynamics and concurrently monitor micro-RNAs and proteins in situ during oncogene-induced senescence, *BMC Genomics* 2018, 19, 37, doi:10.1186/s12864-017-4375-1
- Mo Z, Zheng S, Lv Z, Zhuang Y, Lan X, Wang F, Lu X, Zhao Y, Zhou S. Senescence marker protein 30 (SMP30) serves as a potential prognostic indicator in hepatocellular carcinoma. *Sci Rep.,* Vol. 6:39376. doi: 10.1038/srep39376. 2016 Dec 19.
- Mourkioti I, Polyzou A, Veroutis D, Theocharous G, Lagopati N, Gentile E, Stravokefalou V, Thanos D-F, Havaki S, Kletsas D, Panaretakis T, Logothetis C.J, Stellas D, Petty R, Blandino G, Papaspyropoulos A and Gorgoulis VG. A GATA2-CDC6 axis modulates androgen receptor blockade-induced senescence in prostate cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2023; 42: 187. doi: 10.1186/s13046-023-02769-z
- Myrianthopoulos V, Evangelou K, Vasileiou PVS, Cooks T, Vassilakopoulos TP, Pangalis GA, Kouloukoussa M, Kittas C, Georgakilas AG, Gorgoulis VG. Senescence and senotherapeutics: a new field in cancer therapy. *Pharmacol Ther.* 193:31-49. doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.08.006. Epub 2018 Aug 16., 2019 Jan.
- Pérez-Mancera PA, Young AR, Narita M. Inside and out: the activities of senescence in cancer. *Nat Rev Cancer.* 14(8):547-58. doi: 10.1038/nrc3773. Epub 2014 Jul 17., 2014 Aug.
- Siegel, R.L.; Miller, K.D.; Fuchs, H.E.; Jemal, A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin* 2022, 72, 7-33, doi:10.3322/caac.21708.