



REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

IMPACTUL MOLECULELOR IMUNOSUPRESIVE PD-L1 ȘI SIGLEC-15 ASUPRA TILs ASOCIAT ONCOGENEZEI GASTRICE

Doctorand: Andreea-Raluca Cozac-Szőke

Conducător de doctorat: Prof. univ. dr. abil. Ovidiu S. Cotoi

Introducere

În ciuda progreselor importante ale tehnicilor diagnostice și instrumentelor terapeutice, prognosticul cancerului gastric (CG) în stadiile avansate rămâne nefavorabil din cauza depistării tardive, heterogenității tumorale și eficacității limitate a terapiilor sistemice. Această realitate clinică subliniază necesitatea identificării a noi biomarkeri implicați în mecanismele moleculare ale CG, precum și noi ținte terapeutice care să îmbunătățească stratificarea pacienților și managementul terapeutic.

Obiective generale

Această teză de doctorat a dorit să contribuie la o înțelegere mai profundă a arhitecturii imuno-oncologice a CG prin caracterizarea modelelor de expresie imunohistochimică ale infiltratului limfocitar tumoral (TILs), ligandului-1 al morții programate (PD-L1) și lectina 15 de tipul imunoglobulinelor cu afinitate pentru acidul sialic (Siglec-15). Expresiile acestora au fost corelate cu date clinicopatologice și parametrii de agresivitate în adenocarcinomul gastric (ACG). Astfel, prin identificarea căilor de evadare imună complementare sau alternative, cum este Siglec-15, putem contribui la dezvoltarea unor noi terapii combinate sau strategii de selecție a pacienților, îndreptându-ne către abordări cât mai personalizate și mai eficiente în imunoterapia CG.

Metodologie generală

Cele patru studii cuprinse în teza de doctorat au inclus 133 de pacienți diagnosticați cu ACG în perioada 2020 și 2021 în cadrul Departamentului de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic Județean din Târgu Mureș, România. Fragmentele tisulare prelevate din piesele de rezecție gastrică au fost colorate cu hematoxină-eozină și imunohistochimic (IHC) prin intermediul imunostainerelor automate BechMark GX (Ventana Medical Systems Inc., Tucson, AZ, SUA), respectiv Dako Autostainer Link 48 (Agilent Technologies, Glostrup, Danemarca). Toate colorațiile și reacțiile IHC au fost efectuate conform protocoalelor producătorilor. Pentru morfometria digitală, lamele analizate au fost scanate folosind scannerul Leica Aperio AT2 (Leica Biosystems, Wetzlar, Germania). Ulterior, pentru aprecierea numărului/densității celulelor imune s-a utilizat programul de morfometrie digitală QuPath (versiunea 0.5.0) dezvoltat de Institute of Cancer Research, Irlanda de Nord. Analiza statistică a fost realizată cu GraphPad Prism, versiunea 10.4.1 (GraphPad Software, Boston, SUA) și Microsoft Excel (Microsoft Office 365, versiunea 2408, Washington, SUA).

Studiul nr. 1. Valoarea prognostică și implicațiile histopatologice ale scorului Klintrup-Mäkinen (KM) în adenocarcinoamele gastrice

Scopul: Studiul a analizat fezabilitatea utilizării scorului KM ca metodă semicantitativă de apreciere a infiltratului imun peritumoral în practica histopatologică de rutină a ACG.



În plan secundar, a fost evaluată semnificația prognostică a scorului KM, prin corelația cu parametrii clinico-patologici: clasificarea pTNM, gradul de diferențiere histologică, statusul nodulilor limfatici, prezența invaziei limfovaskulare și perineurale. Prin această abordare, cercetarea și-a propus să contribuie la creșterea preciziei prognostice și la identificarea unor subgrupuri de pacienți care ar putea beneficia de protocoale terapeutice personalizate, în funcție de răspunsul imun peritumoral.

Concluzii: Scorul KM redus a fost asociat cu un comportament biologic mai agresiv, fiind mai frecvent raportat în ACG slab diferențiate și stadiile avansate, cu invazii limfovaskulare și perineurale. Deși nu înlocuiește testele IHC sau moleculare, poate îmbunătăți acuratețea prognosticului pacienților cu ACG. Integrarea scorului KM în evaluarea histopatologică ar putea facilita identificarea pacienților eligibili pentru imunoterapie și să contribuie la un management personalizat al ACG.

Studiul nr. 2. Evaluarea expresiei și impactului prognostic al biomarkerilor Siglec-15 și PD-L1 în adenocarcinoamele gastrice

Scop: Acest studiu a evaluat expresia tumorală a moleculei SIGLEC-15 în ACG și a analizat corelațiile acesteia cu parametrii clinico-patologici și influența sa asupra supraviețuirii pacienților. În paralel, a fost investigată expresia PD-L1 cu scopul de a explora o posibilă asociere între cei doi biomarkeri imunologici în ACG. Prin urmare, o înțelegere aprofundată a interacțiunii acestora ar putea contribui la o stratificare prognostică mai precisă și constitui baza unor noi abordări terapeutice imunomodulatoare.

Concluzii: Studiul prezent a evidențiat semnificația clinică a expresiei SIGLEC-15 în ACG. Expresia crescută a SIGLEC-15 a fost asociată cu invazia limfatică, vasculară și perineurală, precum și cu reducerea semnificativă a supraviețuirii globale. Mai mult decât atât, pacienții cu supraexpresia ambilor markeri (SIGLEC-15 și PD-L1-1) au avut cea mai redusă rată de supraviețuire. Aceste elemente sugerează că SIGLEC-15 reflectă nu doar comportamentul biologic agresiv al CG, ci adaugă și valoare prognostică atunci când este evaluat împreună cu PD-L1. Această abordare duală poate îmbunătăți stratificarea prognostică a pacienților și susține dezvoltarea strategiilor combinate de inhibare a punctelor de control imun în ACG.

Studiul nr. 3. Cuantificarea digitală a limfocitelor CD4⁺ și CD8⁺ și corelația cu expresia PD-L1 în adenocarcinoamele gastrice

Obiective: Scopul principal al studiului a fost reprezentat de cuantificarea prin morfometrie digitală a densității limfocitelor T CD8⁺ și CD4⁺, cu determinarea raportului CD8⁺/CD4⁺, în asociere cu parametrii de agresivitate histopatologică și supraviețuirea globală în ACG. În plan secundar a fost analizată relația dintre limfocitele T CD8⁺ și PD-L1, în încercarea de a răspunde la incertitudinea valorii prognostice a PD-L1 ca biomarker singular în ACG rezecabil.

Concluzii: În studiul prezentat densitatea crescută a infiltratului limfocitar CD8⁺ cuantificat prin morfometrie digitală nu a fost asociat cu parametri histopatologici tumoral de agresivitate. Pe de altă parte, pacienții cu un infiltrat limfocitar CD8⁺ bogat au prezentat supraviețuire globală mai mare. Toate aceste aspecte subliniază potențialul rol al CD8 ca marker prognostic în ACG. Raportul CD8⁺/CD4⁺ a urmat același model statistic, însă cu rezultate semnificative mai reduse. În contrast, densitatea infiltratului limfocitar CD8⁺ nu s-a corelat cu scorul CPS. În concluzie, rezultatele studiului au susținut integrarea TILs în modelele prognostice viitoare și au oferit o bază biologică pentru cercetările care vor investiga strategiile imunomodulatoare la pacienții cu ACG rezecabil.



Studiul nr. 4 Evaluarea digitală a macrofagelor și relația cu expresia SIGLEC-15 în micromediul tumoral al adenocarcinoamelor gastrice

Scop: Acest studiu a investigat relația dintre macrofagele CD68⁺ cuantificate prin morfometrie digitală, factorii de agresivitate histopatologică (dimensiunea tumorii, pT3–4/pN1–3, invaziile limfatice/vasculare/perineurale) și supraviețuirea globală în ACG rezecat. În plan secundar, a fost analizată corelația dintre macrofagele CD68⁺ și expresia SIGLEC-15 în micromediul tumoral al ACG.

Concluzii: Rezultatele studiului au demonstrat că ACG bogate în macrofage au fost mai agresive și au avut supraviețuire globală semnificativ mai redusă. Corelația puternică observată între densitatea macrofagelor și expresia SIGLEC-15 a evidențiat un fenotip distinct de ACG, potențial independent de profilul imun clasic indus de PD-L1. Împreună, aceste rezultate au subliniat relevanța prognostică a macrofagelor și au sugerat că utilizarea imunoterapiilor combinate ar putea îmbunătăți stratificarea și prognosticul pacienților cu ACG operabil.

Concluzii generale

Expresia crescută a SIGLEC-15 și coexpresia SIGLEC-15 și PD-L1 s-au asociat cu stadii histopatologice avansate de ACG și cu o supraviețuire globală redusă. Densitatea macrofagelor a prezentat o corelație puternică cu expresia SIGLEC-15. Pacienții cu ACG și micromediu tumoral bogat în macrofage au prezentat un comportament biologic mai agresiv, cu reducerea semnificativă a supraviețuirii globale. Prezența limfocitelor CD8⁺ în TILs din stroma intra- și peritumorală s-a asociat cu un comportament tumoral mai puțin agresiv. Expresia limfocitelor CD8⁺ nu s-a corelat semnificativ cu PD-L1. Raportul CD8⁺/CD4⁺ a prezentat o asociere inferioară cu parametrii de agresivitate, iar evaluarea independentă a CD8⁺ a fost suficientă pentru estimarea prognosticului în ACG. Scorul Klintrup–Mäkinen (KM) redus s-a asociat cu tipurile slab diferențiate, cu stadiile pT-3 și cu prezența invaziilor limfovaskulare și perineurale.