

Titolo: "Espressione di GHRH-R, un biomcatore potenzialmente bersaglio, nel carcinoma mammario triplo negativo - Expression of GHRH-R, a Potentially Targetable biomarker, in Triple-negative Breast Cancer"

Codice: GHRH01

Autore: Khanlari et al.

Data: 2018

Rivista: *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology* 26(1):1-5

Argomento: GHRH

Accesso libero: no

URL/DOI: <https://doi.org/10.1097/pai.0000000000000622>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2025/03/14/ghrh01-khanlari-et-al-2018>

Parole chiave: cancro al seno triplo negativo, TNBC, GHRH, GHRH-R, GHRH-R antagonisti, tipi istologici di tumore al seno triplo negativo Tumore: tumore al seno triplo negativo

Traduzione: l'articolo è stato tradotto tutto ma con semplificazioni soprattutto nella sezione "Materiali e Metodi", e in parte anche nella sezione "Discussione".

**Punti di interesse:** Il carcinoma mammario triplo negativo (TNBC) è un gruppo eterogeneo di tumori mammari che non presentano l'espressione del recettore degli estrogeni (ER), del recettore del progesterone (PR) e del recettore 2 del fattore epidermico (HER2). Il TNBC ha un comportamento clinico più aggressivo con un rischio più elevato di recidiva locale e a distanza. Il GHRH, l'ormone di rilascio dell'ormone della crescita, è secreto dall'ipotalamo e regola il rilascio dell'ormone della crescita (GH) dalla ghiandola pituitaria anteriore. Oltre a questo ruolo endocrino, è stato dimostrato che il GHRH agisce come fattore di crescita in un gruppo eterogeneo di neoplasie maligne. Il GHRH può essere prodotto dalle cellule tumorali e agire in modo autocrino/paracrino. L'attività del GHRH può essere efficacemente bloccata da antagonisti sintetici del suo recettore, il GHRH-R, che è presente in numerosi tessuti neoplastici. È possibile che, nel tumore al seno, così come in altre neoplasie, il GHRH locale e il suo recettore formino un loop mitogenico autocrino che partecipa al controllo della crescita delle cellule maligne. L'esistenza di tale loop autocrino è stata suggerita anche nei TNBC. È stato dimostrato che gli antagonisti del GHRH-R sopprimono la crescita del cancro mammario, e in questo lavoro è stata valutata l'espressione di questo marcatore biomolecolare come potenziale bersaglio terapeutico in pazienti con TNBC. In sintesi, l'espressione di GHRH-R varia notevolmente tra i vari tipi istologici di TNBC. È stata osservata un'espressione positiva di GHRH-R nella membrana citoplasmatica e/o nel citoplasma di 77 (57%) tumori tripli negativi. L'espressione positiva di GHRH-R è stata osservata in 36 (72%) dei tumori ormonali e/o HER2-positivi. I carcinomi metaplastici e midollari sono negativi per GHRH-R. È quindi fondamentale testare i pazienti con TNBC per l'espressione di GHRH-R per stabilire correttamente la loro possibile candidatura per un trattamento mirato efficace con antagonisti di GHRH-R.

Traduzione articolo

## Riassunto

**Scopo:** È stato dimostrato che l'ormone di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH)

**modifica il comportamento di crescita di molti tumori, incluso il seno. Il GHRH è prodotto dalle cellule tumorali, agisce in modo autocrino/paracrino e richiede la presenza del recettore del GHRH (GHRH-R) sulle cellule tumorali per esercitare i suoi effetti. L'attività del GHRH può essere efficacemente bloccata da antagonisti sintetici del suo recettore e, quindi, l'espressione del GHRH-R da parte delle cellule tumorali potrebbe funzionare da predittore della risposta alla terapia antagonista del GHRH-R. In questo studio, abbiamo studiato l'espressione del GHRH-R nei tumori al seno tripli negativi (TNBC). Poiché i TNBC sono morfologicamente e immunofenotipicamente eterogenei, i risultati della colorazione sono stati correlati anche con i sottotipi istologici di questi tumori.**

**Materiali e metodi:** Sulla base dell'istomorfologia e dell'immunofenotipo, 134 casi di TNBC primari sono stati ulteriormente suddivisi in carcinomi midollari, metaplastici, apocrini e duttali invasivi senza tipo speciale (IDC-NST). L'immunoistochimica per GHRH-R è stata eseguita su sezioni di paraffina e i risultati della colorazione sono stati valutati semiquantitativamente come negativi, a bassa espressione, moderati e ad alta espressione.

**Risultati:** Dei 134 TNBC, 85 sono stati classificati come IDC-NST, 25 come metaplastici, 16 come midollari e 8 come carcinomi apocrini. Nel complesso, è stata osservata una reazione positiva per GHRH-R in 77 (57%) tumori, inclusi 66 (77,6%) di IDC-NST. Tutti i carcinomi midollari erano negativi per GHRH-R e, ad eccezione di 1 caso con bassa espressione, nessuno dei carcinomi metaplastici esprimeva GHRH-R ( $P < 0,005$ ).

**Conclusioni:** un numero considerevole di TNBC è positivo per GHRH-R come predittore di potenziale risposta al trattamento anti-GHRH-R. Questa espressione, tuttavia, varia notevolmente tra i sottotipi istologici dei carcinomi mammari tripli negativi. Sebbene la maggior parte dei carcinomi midollari e metaplastici non esprima GHRH-R, tre quarti degli IDC-NST mostrano una reazione positiva. È quindi consigliabile testare l'espressione di GHRH-R se si sta prendendo in considerazione la terapia anti-GHRH-R.

## INTRODUZIONE

Il carcinoma mammario triplo negativo (TNBC) è un gruppo eterogeneo di tumori mammari che non hanno l'espressione del recettore degli estrogeni (ER), del recettore del progesterone (PR) e del recettore 2 del fattore epidermico (HER2). Come gruppo, hanno un comportamento clinico più aggressivo con un rischio più elevato di recidiva locale e a distanza. Chirurgia e chemioterapia rimangono il pilastro del trattamento, sebbene una serie di nuovi farmaci mirati abbiano mostrato risultati promettenti. Poiché è stato dimostrato che gli antagonisti del recettore dell'ormone di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH-R) sopprimono la crescita del cancro mammario, abbiamo valutato l'espressione di questo marcatore biomolecolare come potenziale bersaglio terapeutico in una coorte di TNBC. Inoltre, poiché queste neoplasie sono morfologicamente e immunofenotipicamente diverse, i risultati dell'espressione del GHRH-R sono stati correlati con i sottotipi istologici di ciascun tumore.

## MATERIALI E METODI

Biopsie escissionali di 134 casi consecutivi di carcinomi mammari tripli negativi (TNBC) non trattati provenienti dagli archivi del Dipartimento di Patologia, University of Miami/Jackson Memorial Medical Center e Sylvester Cancer Center sono state valutate per l'espressione immunoistochimica di GHRH-R. Tutti i campioni erano stati precedentemente analizzati per ER, PR e HER2.

La diagnosi di carcinoma mammario triplo negativo è stata confermata in tutti i casi. Sezioni da 4  $\mu\text{m}$  fissate in formalina e incluse in paraffina sono state utilizzate per l'immunoistochimica. Sulla base della percentuale di cellule positive e dell'intensità della reazione, la reazione immunoistochimica per GHRH-R è stata calcolata dall'H-Score. I punteggi semiquantitativi

variavano da 0 (nessuna colorazione), a 1+ (bassa espressione), 2+ (espressione moderata) e 3+ (alta espressione). Per fare un confronto, altri 50 esempi di carcinomi mammari primari che erano ormono-positivi e/o HER2-positivi sono stati colorati in modo simile per GHRH-R.

## RISULTATI

Dei 134 casi di TNBC, 25 (18%) sono stati classificati come metaplastici, 16 (12%) come midollari, 8 (6%) come apocrini e 85 (63%) come carcinomi duttali filtranti senza tipo speciale (IDC-NST). Nel complesso, è stata osservata un'espressione positiva di GHRH-R nella membrana citoplasmatica e/o nel citoplasma di 77 (57%) tumori tripli negativi (Tabella 2). Degli 85 IDC-NST, 66 (76,7%) hanno mostrato l'espressione di GHRH-R, 37 o il 56% dei quali hanno mostrato un'espressione da moderata ad alta (Fig. 1). Sei (75%) dei carcinomi apocrini hanno mostrato un'espressione da moderata ad alta di GHRH-R, mentre tutti i carcinomi midollari erano negativi per GHRH-R (Fig. 1) e, ad eccezione di 1 caso con bassa espressione, nessuno dei carcinomi metaplastici ha espresso GHRH-R ( $P < 0,005$ ). L'espressione positiva di GHRH-R è stata osservata in 36 (72%) dei tumori ormonali e/o HER2-positivi ( $P = 0,36$  rispetto a IDC-NST).

## DISCUSSIONE

I carcinomi mammari tripli negativi non esprimono ER, PR o HER2. Rappresentano circa il 12%-15% dei tumori al seno con caratteristiche cliniche distintive e comportamento aggressivo (1-4). I TNBC si verificano più comunemente nelle donne più giovani e in quelle con anomalia del gene BRCA-1 (5). Come gruppo, i TNBC hanno un rischio più elevato di recidiva locale e metastasi a distanza (6). Al momento, la chirurgia e la chemioterapia citotossica rimangono il pilastro della gestione per queste pazienti. Sebbene non vi sia una modalità di trattamento standard corrente universalmente concordata, una serie di approcci terapeutici mirati hanno mostrato risultati promettenti (7). Questi includono vari inibitori della poli ADP ribosio polimerasi (8), antagonisti del recettore degli androgeni (9,10), antagonisti del recettore dei glucocorticoidi (11) e inibitori del checkpoint immunitario come anti-PD-1/PD-L1 (12).

Tuttavia, è noto che i TNBC sono un gruppo eterogeneo di tumori con diversa istomorfologia, immunofenotipo, impronte molecolari e, soprattutto, comportamento clinico (13-16). Variano da tipi relativamente indolenti, come i tumori simili alle ghiandole salivari (17,18), a tipi midollari meno aggressivi, a carcinomi metaplastici altamente maligni (19-22). È stato anche dimostrato che i sottotipi istologici di TNBC variano notevolmente nell'espressione dei target biomolecolari della terapia (23). Di conseguenza, un approccio "taglia unica" alla terapia mirata può portare a risultati deludenti in vari studi clinici. Nello studio attuale l'espressione di GHRH-R, un biomarcatore potenzialmente targetizzabile, è stata valutata in relazione ai tipi istologici di TNBC confermati immunoistochimicamente.

Il GHRH è secreto dall'ipotalamo e regola il rilascio dell'ormone della crescita dalla ghiandola pituitaria anteriore (24). Oltre a questo ruolo endocrino presunto e nominale, è stato dimostrato che il GHRH agisce come fattore di crescita in un gruppo eterogeneo di neoplasie maligne. Richiede, tuttavia, la presenza del suo recettore, GHRH-R, per esercitare il suo effetto sulle cellule neoplastiche (24,25). Il GHRH-R e la sua variante di splicing biologicamente attiva, SV-1, sono presenti in numerosi tessuti neoplastici; possono anche esibire la loro attività indipendentemente dal legame del ligando (25,26). È stato dimostrato sperimentalmente che gli antagonisti del GHRH-R inibiscono la crescita di numerosi tumori umani in vitro, inclusi vari tipi di cancro al seno (27-32). Inoltre, la presenza di GHRH e recettori GHRH è stata segnalata anche in linee cellulari di cancro al seno umano, suggerendo che in alcuni tumori al seno umano, il GHRH locale e il suo recettore potrebbero formare un loop mitogenico autocrino che potrebbe partecipare al controllo della crescita delle cellule maligne (26,32,33). L'esistenza di tale loop autocrino è stata suggerita anche nei TNBC (34). Studi in vitro hanno dimostrato che il targeting dei recettori GHRH da parte di

antagonisti peptidici da soli o in combinazione con chemioterapia convenzionale inibisce efficacemente la crescita delle linee cellulari TNBC (31,34,35). È stato anche dimostrato che il trattamento in vivo di topi nudi portatori di xenografie TNBC con antagonisti GHRH sopprime la crescita di questi tumori (31,35).

Per nostra conoscenza, questo è il primo studio che ha dimostrato l'espressione di GHRH-R in campioni clinici di TNBC. Inoltre, abbiamo dimostrato che l'espressione di GHRH-R in questi tumori varia notevolmente e dipende molto dai tipi istologici di TNBC. È stato stabilito che sulla base dei profili di espressione genica, un certo numero di TNBC mostra un genotipo basale (36,37). Tradizionalmente, le citocheratine basali/mioepiteliali sono state sostenute come marcatori immunoistochimici surrogati per questi genotipi basali (38-40). Studi più recenti, tuttavia, hanno messo in discussione l'uso del profilo molecolare come "gold standard" in generale e l'immunoistochimica delle citocheratine basali per i genotipi basali, in particolare (41-43). Pertanto, in questo studio, ci siamo concentrati su tipi di TNBC morfologicamente e immunofenotipicamente distinti, in quanto potevano essere caratterizzati oggettivamente dalle loro caratteristiche istologiche e immunoistochimiche. Ad eccezione di 1 caso con colorazione debole, nessuno dei carcinomi metaplastici nel nostro studio esprimeva GHRH-R. Tutti i nostri esempi di carcinoma midollare tipico erano negativi per GHRH-R.

La maggior parte dei carcinomi mammari apocrini è tripla negativa (52) e nella nostra analisi il 75% dei carcinomi apocrini esprimeva GHRH-R. Questo studio mostra anche che il tasso di espressione di GHRH-R nel carcinoma duttale triplo negativo senza tipo speciale è paragonabile a quello dei tumori ormonali e/o HER2-positivi. In sintesi, l'espressione di GHRH-R varia notevolmente tra i vari tipi istologici di TNBC. In particolare, i carcinomi metaplastici e midollari sono negativi per GHRH-R, mentre reazioni positive si osservano in circa il 77% degli altri tipi. È quindi fondamentale testare i pazienti con TNBC per l'espressione di GHRH-R per stabilire correttamente la loro possibile candidatura per un trattamento mirato efficace con antagonisti di GHRH-R.