

Lek. Kaja Michalczyk

STRESZCZENIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Wstęp

Rak trzonu macicy jest najczęściej rozpoznawalnym nowotworem ginekologicznym w Polsce, jak i na Świecie. Częstość występowania raka błony śluzowej trzonu macicy wzrasta w krajach Europy Środkowo-Wschodniej, w tym w Polsce. Co roku zostaje zdiagnozowanych ponad 5 tys. Polek. Rak trzonu macicy, mimo, iż zazwyczaj wykrywany jest we wczesnym stadium zaawansowania, w skutek objawów alarmowych m.in. nieprawidłowego krwawienia pomenapauzalnego, wciąż jest przyczyną wielu zgonów. Zidentyfikowano szereg czynników zwiększających częstość występowania raka trzonu macicy, w tym otyłość, podeszły wiek, późny początek menopauzy, niższy wiek menarche, przewlekły brak owulacji, zespół policystycznych jajników (PCOS), zastosowanie terapii estrogenowej przy braku progesteronu, terapię tamoksyfenem oraz zespół Lyncha. Poszukiwane są czynniki, które pomogą odnaleźć grupę pacjentów ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na raka trzonu macicy oraz które pomogą go wcześniej zdiagnozować. Wykazano, że poziom metali m.in. miedzi i cynku, oraz ich wzajemny stosunek mają znaczenie kliniczne w patogenezie oraz przebiegu chorób zwyrodnieniowych, degeneracyjnych, stresie oksydacyjnym czy stanach zapalnych, które mogą wpływać na proces kancerogenezy. Zauważono potencjalną relację między poziomem niektórych metali ciężkich w surowicy i tkankach pacjentek z różnymi nowotworami, m. in. rakiem płuc, piersi czy trzonu macicy. Rosnące zainteresowanie środowiska naukowego nad wpływem stężeń metali śladowych a ich rolą w nowotworach zaowocowało stworzeniem cyklu publikacji dotyczącej roli mikroelementów, metali ciężkich oraz białek związanych z ich transportem w nowotworach ginekologicznych, a dokładniej w raku trzonu macicy.

Materialy i metody

Badanie prospektywne zostało przeprowadzone wśród 140 pacjentek Kliniki Ginekologii Operacyjnej i Onkologii Ginekologicznej Dorosłych i Dziewcząt Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego. W grupie badanej znalazło się 21 pacjentek z potwierdzonym histopatologicznie rozpoznaniem raka endometrium (uzyskanym w trakcie abrazji lub histeroskopii), które następnie zostały zakwalifikowane do leczenia operacyjnego. Grupa kontrolna obejmowała 119 pacjentek, u których wykonano abrazje lub histeroskopie, a w ich wyniku rozpoznano polipy endometrium/ normotypowe endometrium oraz pacjentki po

leczeniu operacyjnym laparotomii/ laparoskopii z powodu mięśniaków macicy. Z badania wyłączone były pacjentki z historią leczenia innych chorób onkologicznych, dysfunkcją wątroby, chorobami nerek, z aktywnym procesem zapalnym lub niepełnymi danymi. W surowicy oraz krwi pełnej pacjentek z rakiem trzonu macicy i grupy kontrolnej zebranej w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Onkologii Ginekologicznej Dorosłych i Dziewcząt PUM został określony poziom metali (Zn, Cu, Mn, Fe, Cd, Pb, Co, P, Cr, Sr, Mg, Ni). Analiza pierwiastków została wykonana w próbach zmineralizowanych mikrofalowo z wykorzystaniem techniki ICP-OES (Optyczna Spektrometria Emisyjna ze wzбудzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej) przy użyciu aparatu iCAP 7400, Thermo Fisher Scientific. Następnie w materiale tkankowym pochodzącym z wyskrobin endometrium lub materiału uzyskanego w trakcie zabiegu operacyjnego oznaczony został poziom metallothioneiny 2 (MT2) z użyciem standaryzowanych zestawów odczynników wykorzystujących technikę immunofluorescencji ELISA w technologii Luminex. Z krwi pełnej zostało wyizolowane DNA z użyciem komercyjnego zestawu do izolacji DNA. Następnie oznaczono polimorfizmy genów z użyciem gotowych zestawów do genotypowania polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) za pomocą testów genotypowania PCR w czasie rzeczywistym Taq Man. Zbadano występowanie polimorfizmów w genach GSTP1, SLC11A2, MT1A, MT2A i MT1L. Oprócz wyników przeprowadzonych badań, w bazie danych zostały zebrane informacje takie jak: wynik badania histopatologicznego materiału (w przypadku nowotworu informacja o stadiu i gradingu), wiek pacjentki, masa ciała, wzrost, status menopauzalny, choroby współistniejące oraz informacja dotycząca palenia papierosów. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Jako próg istotności statystycznej przyjęto wartość $p < 0,05$. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą Statistica 10, StataSoft, Polska oraz oprogramowania R Statistical Analysis Software, R Foundation for Statistical Computing, Wiedeń, Austria.

Krytyczny przegląd piśmiennictwa został przeprowadzony poprzez analizę publikacji. Na potrzeby przeglądu przeszukana została literatura dostępna w bazach danych Pubmed, Web of Science i Cochrane Library. W skład przeglądu zostały włączone informacje zawarte w artykułach opublikowanych w języku angielskim.

Wyniki

Przegląd literaturowy wykazał współzależności pomiędzy stężeniem cynku (Zn) i miedzi (Cu) a funkcją mechanizmów kompensacyjnych regulujących ich homeostazę w tym

transporterów, importerów oraz metalotionein. Analiza literatury wykazała, iż cynk i miedź wydają się odgrywać ważną rolę w onkogenezie ze względu na ich rolę w procesach zapalnych i antyoksydacyjnych. Niezrównoważony poziom mikroelementów w organizmie człowieka może powodować zmiany w wielu ważnych procesach, w tym we wzroście, podziale i apoptozie komórek. Utrzymanie homeostazy metali śladowych stanowi potencjalny sposób zmniejszenia szans na powstawanie nowotworów. W publikacji opisano także metalotioneiny jako białka, które potencjalnie mogą znaleźć zastosowanie w procesach diagnostycznych, a także prognozowaniu różnych nowotworów złośliwych, w tym nowotworów ginekologicznych. W drugim przeglądzie literaturowym ukazano znaczenie kliniczne oraz możliwości zastosowania metaloproteinaz (MMP) w diagnostyce i leczeniu pacjentek z rakiem endometrium. MMP wraz z ich inhibitorami odgrywają rolę w regulacji ważnych szlaków metabolicznych i komórkowych, a zaburzenia ich homeostazy mogą prowadzić do procesów związanych z kancerogenezą. W publikacji stwierdzono, że poziomy MMP są regulowane przez wiele czynników, w tym stan hormonalny i wagę pacjentów.

W części badawczej, w pracy „Ocena stężenia Zn, Cu, Mn i Fe w surowicy kobiet z rakiem endometrium i różnymi patologiami endometrium.” zbadano poziomy cynku, miedzi, żelaza i manganu w surowicy krwi pacjentek oraz oceniono ich korelację z czynnikami ryzyka dla raka endometrium. Oceniając różnice między stężeniami metali śladowych w surowicy, ukazano istotne różnice w rozkładzie Mn ($p < 0,001$) i Fe ($p = 0,034$). Stwierdzono również istotną różnicę w stosunku Cu/Zn pomiędzy analizowanymi grupami ($p = 0,002$). Wykazano, iż BMI pacjentów wpływa na stężenie Cu, przy czym otyli pacjenci mają wyższe średnie stężenie miedzi ($p = 0,006$). Także pacjentki po menopauzie miały istotnie wyższy poziom miedzi w surowicy krwi ($p = 0,001$). Analiza regresji logistycznej nie potwierdziła jednak, aby którykolwiek z mikroelementów istotnie wpływał na ryzyko zachorowania na raka endometrium.

Publikacja „Ocena stężenia kadmu (Cd) i ołowiu (Pb) we krwi a ryzyko raka endometrium.” ukazała istotną różnicę w stosunku Cd i Cd/Pb pomiędzy różnymi grupami pacjentek ($p = 0,002$), przy czym mediana stężenia Cd była wyższa wśród pacjentek z rakiem endometrium. Różnice w stężeniu Pb pomiędzy badanymi grupami pacjentek nie były istotne statystycznie ($p = 0,717$). Nie stwierdzono również różnic w stężeniach Cd i Pb w zależności od statusu menopauzalnego pacjentek ani wskaźnika BMI. Jednoczynnikowa regresja logistyczna wykazała, że stężenie kadmu we krwi powyżej mediany zwiększa ryzyko

zachorowania na raka endometrium (OR 5,25; 95% CI 1,56; 17,72). W badaniu nie zaobserwowano istotnych związków między stężeniem Pb lub stosunkiem Cd/Pb a ryzykiem raka endometrium.

W badaniu „Zależności pomiędzy metaloestrogenami, polimorfizmem GSTP1 i SLC11A2 a ryzykiem raka endometrium.” ukazano wysoki poziom Cd (OR 1,49; 95% CI 1,31–1,63) i niski poziom Co (OR 0,76; 95% CI 0,53–0,59) jako niezależne czynniki ryzyka zachorowania na raka trzonu macicy. Żaden z badanych polimorfizmów w genach GSTP1 oraz SLC11A2 nie był związany z ryzykiem EC. Wysokie poziomy Cd (OR 1,21, 95% CI 1,15–1,29) i Ni (OR 1,07, 95% CI 1,05–1,18) w surowicy były istotnie związane z genotypem SLC1A2 TG, a wysokie poziomy Cd z GSTP1 (OR 1,05, 95 % CI 1,01–1,13).

Publikacja „Ocena polimorfizmów genów MT1A (rs11076161), MT2A (rs28366003) i MT1L (rs10636) oraz stężenia MT2 u kobiet z patologiami endometrium.” nie wykazała istotnie statystycznej różnicy pomiędzy tkankowym stężeniem MT2 u pacjentek z rakiem trzonu macicy a prawidłową tkanką endometrium ($p=0,579$). Natomiast, stężenie MT2 w tkankach różniło się istotnie między próbkami tkanek pacjentek z mięśniakami macicy a tkankami histopatologicznie prawidłowego endometrium ($p=0,019$). Status menopauzalny nie wpływał na tkankowe stężenie MT2 ($p=0,282$). Nie stwierdzono również istotnych związków między występowaniem polimorfizmów MT1A, MT2A i MT1L a stężeniem MT2.

Wnioski

W cyklu publikacji wykazano poszczególne mechanizmy związane z rolą pierwiastków śladowych oraz ich transporterów w różnych patologiach endometrium, ze szczególnym uwzględnieniem ich roli w etiopatogenezie raka trzonu macicy. W pracach badawczych wykazano istotne różnice w stężeniach poszczególnych metali śladowych w surowicy krwi pacjentek zdiagnozowanych z różnymi patologiami endometrium. Ukazano dodatnią korelację stężenia miedzi z czynnikami ryzyka dla raka endometrium i.e. statusem postmenopauzalnym i otyłością. W badaniach wykazano korelację pomiędzy poziomem kadmu i kobaltu a ryzykiem zachorowania na raka trzonu macicy. Analiza polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) transporterów w genach GSTP1 oraz SLC11A2 nie wykazała zależności pomiędzy poszczególnymi genotypami a ryzykiem EC. Wysokie poziomy kadmu i niklu były obserwowane wśród pacjentów z genotypem SLC1A2 TG. W analizie nie wykazano istotnie

statystycznej różnicy pomiędzy tkankowym stężeniem MT2 pacjentek z rakiem trzonu macicy a prawidłową tkanką endometrium. Nie wykazano także istotnych statystycznie różnic w stężeniu MT2 pomiędzy pacjentkami przed ani po menopauzie. Nie stwierdzono również istotnych związków między występowaniem polimorfizmów MT1A, MT2A i MT1L a stężeniem MT2.