



UNIwersytet Medyczny w Łodzi
Wydział Wojskowo-Lekarski

lek. med. Kinga Książkowska-Łakoma

**Wpływ mutacji mtDNA na system oksydacyjnej fosforylacji
w procesie powstawania raka błony śluzowej macicy**

PROMOTOR
prof. dr hab. n. med. Jacek R. Wilczyński

Łódź 2015

Streszczenie

Wstęp

Według danych epidemiologicznych rak endometrium w krajach o wysokim poziomie rozwoju cywilizacyjnego stał się jednym z częstszych nowotworów złośliwych narządu rodniczego u kobiet. Od 1980 roku w Polsce wzrosła zachorowalność i śmiertelność spowodowana rakiem endometrium.

Rak błony śluzowej macicy najczęściej rozpoznawany jest w wieku około- i pomenopauzalnym. Uważa się, że takie czynniki jak otyłość, cukrzyca, zespół metaboliczny, nadciśnienie tętnicze, zaawansowany wiek, wczesna menarche, późna menopauza, niska rodność, nieregularność cykli miesięczkowych zwiększają ryzyko zachorowania na raka endometroidalnego. Wpływ na rozwój nowotworu trzonu macicy mają również uwarunkowania rodzinne oraz mutacje w obrębie genomu mitochondrialnego i jądrowego.

Dotychczas ukazały się jedynie nieliczne publikacje dotyczące wpływu mutacji genów szlaku fosforylacji oksydacyjnej w mtDNA na promocję rozwoju raka trzonu macicy. Niniejsza praca stanowi próbę uzupełnienia wiedzy dotyczącej znaczenia zaburzeń mtDNA w patogenezie raka endometrium oraz potencjalnego znaczenia wariantów genów *MT-CO* dla rokowania u chorych z tym nowotworem.

Cel pracy

1. Ocena danych klinicznych jako czynnika predysponującego do zachorowania na raka endometrium.
2. Analiza przeżycia w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego wg klasyfikacji FIGO, stopnia zróżnicowania histopatologicznego G1-G3 oraz występowania innych czynników prognostycznych w raku endometrium.
3. Ocena mutacji A5935G, G5949A, G6081A, G6267A w genie *MT-CO1* i T9540C w genie *MT-CO3* oraz wariantów wykrytych podczas analizy fragmentów genów *MT-CO1* i *MT-CO3* w grupie badanej i kontrolnej.
4. Ocena zależności między zmianami występującymi w genach *MT-CO1* i *MT-CO3* a częstością występowania raka endometrium.
5. Ocena zależności pomiędzy tymi parametrami a cechami klinicznymi badanej grupy.
6. Określenie wartości rokowniczej wykrytych wariantów w genach *MT-CO1* i *MT-CO3*.

Material i metody

Do badanej populacji włączono pacjentki wyłącznie pochodzenia europejskiego z rozpoznanym rakiem endometrioidalnym w różnym stopniu zaawansowania wg FIGO i o różnym stopniu złośliwości.

Materiał do badania stanowiły:

- wycinki raka endometrium (*adenocarcinoma endometrioides*) uzyskane podczas histerektomii przezbrzuszej, utrwalone w formalinie i przechowywane w postaci bloczków parafinowych w Zakładzie Patomorfologii Klinicznej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi. Badane wycinki pobrano od 100 kobiet operowanych z powodu raka endometrium w Klinice Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej ICZMP w Łodzi w latach 2007–2014 (grupa badana),
- preparaty histopatologiczne niezłośliwych rozrostów endometrium, utrwalone w formalinie i przechowywane w postaci bloczków parafinowych w zakładzie Patomorfologii Klinicznej ICZMP, pobrane od 25 pacjentek z rozpoznanym nieprawidłowym krwawieniem z dróg rodnych, poddanych diagnostycznemu zabiegowi wyłyżeczkowania kanału szyjki macicy i jamy macicy w Klinice Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej ICZMP w latach 2011–2012 (grupa kontrolna).

Metody:

1. izolowanie DNA,
2. reakcja PCR,
3. sekwencjonowanie.

Metody badawcze wykonano zgodnie z zaleceniami producenta.

Wyniki

W badanej populacji analizowano mutacje A5935G, G5949A, G6081A, G6267A w genie *MT-CO1* i T9540C w genie *MT-CO3* występujące w raku prostaty, raku piersi, trzustki, jelita grubego oraz wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego. Wykryto mutacje T9540C u jednej pacjentki z grupy badanej. Pozostałych mutacji nie wykryto. Można przypuszczać, że obecność zmian w genach *MT-CO1* i *MT-CO3*, charakterystycznych dla innych typów nowotworów, nie jest czynnikiem ryzyka dla raka endometrium.

Analizując fragmenty genów *MT-CO1* i *MT-CO3* celem wykrycia innych zmian, stwierdzono: 6 wariantów w genie *MT-CO1* oraz 4 w genie *MT-CO3*. Wykryte zmiany obecne były u 10% grupy badanej i 8% grupy kontrolnej. Poszczególne zmiany występowały sporadycznie w badanej populacji, z częstością 1–2% (1/100, 2/100) w grupie badanej oraz 4% (1/25) w grupie kontrolnej. Ze względu na zbyt niską częstość występowania powyższych zmian nie można dokonać oceny statystycznej otrzymanych wyników. Analiza ta byłaby niewiarygodna.

Wśród wykrytych mutacji są takie, które opisano w innych nowotworach: w raku prostaty i zażniadzie groniastym, trzustki i glejaku wielopostaciowym, raku jajnika i tarczycy, rakach głowy i szyi pochodzenia nabłonkowego. Pozostałych pięć zmian zostało opisanych po raz pierwszy w niniejszej pracy doktorskiej.

W prezentowanej pracy zawarliśmy również ocenę danych z wywiadu jako czynników predysponujących lub zmniejszających ryzyko zachorowania na raka endometrium. W badanej populacji wykazaliśmy obecność 5 czynników predysponujących do zachorowania na raka endometrium oraz jednego zmniejszającego to ryzyko.

Są nimi:

1. wiek pacjentki w momencie rozpoznania choroby (OR 1,18),
2. data ostatniej miesiączki (OR 1,14),
3. nadwaga (OR 1,74),
4. otyłość (OR 3,03),
5. nadciśnienie tętnicze (OR 3,5).

1. Palenie papierosów zmniejsza ryzyko zachorowania na raka endometrium (OR 0,16).

Przeprowadzona jednoczynnikowa analiza przeżycia w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego wg klasyfikacji FIGO, stopnia zróżnicowania histopatologicznego G1-G3 oraz występowania innych czynników prognostycznych w raku endometrium wyłoniła 3 istotne statystycznie czynniki prognostyczne:

1. najwyższy odsetek 5-letnich przeżyć (84%) wykazano u pacjentek z rozpoznaniem I wg FIGO względem pozostałych stopni zaawansowania nowotworu,
2. wyższy odsetek 5-letnich przeżyć (85%) u pacjentek z rozpoznaniem nowotworu wysoko- lub średnizróżnicowanego względem chorych z niskozróżnicowanym rakiem,
3. zależność pomiędzy wartością BMI a przeżyciem (kobiety z nadwagą żyją dłużej).

Czynniki te poddano analizie wieloczynnikowej, wykazując obecność niezależnych czynników prognostycznych w raku endometrium, takich jak: wartość BMI oraz stopień zaawansowania wg FIGO.

Słowa kluczowe: mutacje mtDNA, zmiany w genie *MT-COI*, zmiany w genie *MT-CO3*, rak endometrium, czynniki ryzyka dla raka endometrium, wskaźniki przeżycia w raku endometrium.

