

STRESZCZENIE

Rak brodawkowaty tarczycy jest najczęstszą złośliwą zmianą pierwotną gruczołu. Stanowi około 90% wszystkich przypadków raka tarczycy. Cechuje się dobrym rokowaniem i w większości przypadków są to zmiany o wysokim stopniu zróżnicowania. Temat etiologii raka brodawkowego tarczycy jest szeroko dyskutowany w literaturze. Do bardzo ważnych czynników modyfikujących zarówno rozwój raka brodawkowego tarczycy, jak i wpływających na jego rokowanie należy wiek pacjenta. Ponieważ jest on uważany za jeden z najważniejszych czynników rokowniczych w przebiegu raka brodawkowego tarczycy, wpływ starzenia się tkanek może odgrywać kluczową rolę w przebiegu choroby nowotworowej.

Starzeniem nazywamy postępujący proces utraty funkcji oraz zdolności adaptacyjnych. U wielu gatunków organizmów starzenie wywołuje choroby degeneracyjne związane z upośledzeniem czynności na poziomie narządów, tkanek i komórek. Ponadto starzenie stymuluje patologiczne zmiany proliferacyjne, wśród których najbardziej niebezpieczną jest nowotwór złośliwy. Starzenie komórkowe jest inicjowane przez zaburzenia genetyczne lub epigenetyczne, które aktywują odpowiedź na uszkodzenie DNA. Utrzymująca się odpowiedź na uszkodzone DNA indukuje, między innymi, powstawanie komórek o fenotypie sekrecyjnym towarzyszącym starzeniu komórkowemu czyli tak zwany fenotyp SASP (ang. *Senescence Associated Secretory Phenotype*), który jest odpowiedzialny za zdolność do wydzielania wielu czynników uczestniczących w przekaźnictwie międzykomórkowym.

Istotne znaczenie w biologii raka brodawkowego tarczycy mogą mieć relacje między komórkami guza, a otaczającym śródmiąszcem. Wiele przeprowadzonych badań udowodniło kluczową rolę starzejących się fibroblastów o cechach wydzielniczych typu SASP w rozwoju zmian nowotworowych pochodzenia nabłonkowego. Uważa się, że wzrost ryzyka zachorowania na raka w związku z wiekiem może być skutkiem obecności starzejących się komórek w podścielisku danego narządu. Niezależnie od typu nowotworu największą pulę komórek podścieliska stanowią fibroblasty. Obecność starzejących się fibroblastów wpływa na proliferację komórek nabłonka, zarówno niezmiennego, jak i o cechach nowotworowych.

Badania doświadczalne dowiodły, że na rozwój zdolności wydzielniczych komórek podścieliska, które stymulują proliferację komórek raka, wpływa uszkodzenie materiału genetycznego. Komórki z uszkodzonym materiałem genetycznym, między innymi starzejące się, cechuje występowanie określonych markerów, pozwalających na ich identyfikację. Zwykle

wykrywa się obecność dwóch białek, to znaczy ufosforylowanej formy histonu H2A (wariant γ H2A.X) oraz białka 53BP1.

Założeniem mojego badania była ocena uszkodzenia DNA komórek podścieliska raka brodawkowatego tarczycy. Ustalenie wpływu zaburzeń DNA komórek podścieliska na rozwój nowotworu może pomóc w ocenie rokowania lub doprowadzić do stworzenia nowych, bardziej skutecznych sposobów leczenia. Ocena poziomu aktywności, uszkodzenia komórek podścieliska i ich zaangażowania w procesie rozwoju raka brodawkowatego tarczycy może w znaczący sposób zmienić podejście do tego nowotworu. Z uwagi na brak w dostępnym piśmiennictwie danych dotyczących udziału komórek podścieliska w progresji RBT postanowiłem dokonać analizy ekspresji markerów uszkodzenia DNA w zrębie tarczycy poza guzem i w zrębie nowotworu. Szczegółowe cele to:

1. Porównanie ekspresji markerów uszkodzenia DNA w komórkach zrębu tarczycy poza nowotworem i w komórkach podścieliska raka.
2. Ustalenie czy istnieją różnice w nasileniu ekspresji markerów uszkodzenia DNA (γ H2A.X oraz 53BP1) w komórkach zrębu tarczycy poza nowotworem i w komórkach podścieliska RBT w zależności od wybranych cech morfologicznych.
3. Odniesienie uzyskanych danych do obserwacji klinicznych (wiek, płeć, rodzaj zabiegu, czas obserwacji) dla sprawdzenia czy istnieją różnice w przebiegu klinicznym w zależności od ekspresji markerów uszkodzenia DNA.
4. Określenie korelacji między ekspresją γ H2A.X oraz 53BP1 w komórkach zrębu tarczycy poza nowotworem i w komórkach podścieliska RBT.

Przedmiotem analizy były wyniki badań morfologicznych świetlno-mikroskopowych i immunohistochemicznych materiału operacyjnego pochodzącego od pięćdziesięciu pacjentów, u których wykonano tyreoidectomię. Oceniano następujące cechy: wielkość guza, stosunek do torebki tarczycy, obecność rozsiewu w obrębie miększu tarczycy lub inwazji naczyń, liczbę ognisk w całym materiale, obecność dodatkowych zmian w miększu tarczycy, stan węzłów chłonnych oraz stopień zaawansowania wg systemu pTNM. W pracy uwzględniono dane kliniczne dotyczące płci i wieku pacjentów, wykonania biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, rodzaju zabiegu operacyjnego, podejrzenia zajęcia węzłów chłonnych przez przerzuty, obecności lub braku nawrotu choroby podstawowej, pojawienia się przerzutów w węzłach chłonnych lub przerzutów odległych w czasie obserwacji klinicznej oraz czasu obserwacji klinicznej.

W badanej przeze mnie grupie uzyskano statystycznie istotne różnice w ekspresji 53BP1 zarówno w komórkach podścieliska guza, jak i w komórkach zrębu poza nowotworem, w zależności od rozmiarów guza. Udało się uzyskać statystycznie istotne zależności między ekspresją obu markerów uszkodzenia DNA a obecnością dwu lub więcej ognisk nowotworowych. Nie uzyskano istotnych statystycznie różnic pomiędzy wynikami oceny ekspresji γ H2A.X oraz 53BP1 względem wieku pacjentów. Odnotowano natomiast tym przypadku dodatnią korelację o niskiej sile. W całej badanej grupie stwierdzono wysoką korelację pomiędzy wynikami oceny ekspresji obu zastosowanych markerów 53BP1 i γ H2A.X. Powyższe dane świadczą o dużej swoistości i zgodności ekspresji obu markerów, są one związane ze współdziałaniem białek w procesie uszkodzenia DNA. Moje wyniki potwierdzają, że można stosować zamiennie obydwie markery. Stwierdzono także korelację między nasileniem ekspresji 53BP1 w komórkach zrębu gruczołu poza nowotworem oraz w komórkach podścieliska RBT. Podobne wyniki uzyskano również w odniesieniu do γ H2A.X. Świadczyć to może o równomiernym uszkodzeniu komórek podścieliska.

W przypadku analizowanych kolejnych czynników rokowniczych (to znaczy naciek torebki tarczycy, obecność przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych zarówno w momencie tyreoidektomii, jak i w czasie obserwacji po zabiegu oraz indeks proliferacyjny Ki67) nie udało się uzyskać statystycznie istotnych różnic w stosunku do nasilenia ekspresji γ H2A.X i 53BP1 w komórkach podścieliska guza oraz tarczycy niezmięnionej nowotworowo.

Uzyskane wyniki pozwoliły na ustalenie, że stopień uszkodzenia komórek podścieliska raka brodawkowego tarczycy oraz tarczycy niezmięnionej nowotworowo ma związek z takimi czynnikami rokowniczymi jak wymiar guza czy liczba ognisk nowotworu. Nasilenie uszkodzenia komórek podścieliska raka brodawkowego oraz tarczycy niezmięnionej nowotworowo jest skorelowane z wiekiem chorych. Ze względu na zbliżoną charakterystykę ekspresji obu zastosowanych markerów, ocena immunohistochemiczna uszkodzonego DNA komórek jest możliwa przy użyciu jednego z nich. Proces uszkodzenia DNA w komórkach podścieliska zachodzi równomiernie w obrębie raka brodawkowego tarczycy oraz tarczycy niezmięnionej nowotworowo. Zastosowanie markerów uszkodzenia komórek podścieliska raka brodawkowego oraz tarczycy niezmięnionej nowotworowo może być przydatne w rutynowej ocenie rokowania raka brodawkowego tarczycy.