

## Ocena rozprawy pt. „Analiza ekspresji genów z rodziny TLR w odniesieniu do aktywacji szlaku VEGFR w procesie angiogenezy nowotworów endometrium” przedstawionej przez lek. med. Łukasza Cwonda na stopień doktora nauk medycznych.

Nowotwory złośliwy trzonu macicy zajmują trzecie miejsce pod względem występowania nowotworów w populacji polskich kobiet, a zarazem są najczęściej występującym nowotworem złośliwym narządu rodnych kobiet. Zarówno w Polsce jak i na świecie ilość zachorowań jak i zgonów z roku na rok wzrasta. W Polsce największą ilość nowych przypadków nowotworu złośliwego błony śluzowej trzonu macicy odnotowano w grupie kobiet w wieku 65-69 lat (1184) oraz w wieku 60-64 lat (1121). Nowotwór ten wyróżnia się częstszym występowaniem w krajach wysoko i średnio rozwiniętych. Największą ilość zachorowań odnotowano w krajach Ameryki Północnej oraz centralnej i wschodniej Europy (odpowiednio 20,5 i 19,0 /100000 kobiet). Do głównych czynników ryzyka należą otyłość związana z podwyższonym stężeniem estrogenów we krwi z racji obwodowej konwersji androgenów do estrogenów w tkance tłuszczowej oraz cukrzyca. W przebiegu cukrzycy dochodzi do przewlekłej hiperinsulinemii, w wyniku czego zmniejsza się synteza globulin wiążących hormony płciowe (SHBG) poprzez zwiększenie biodostępności insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1), prowadząc do wzrostu poziomu estrogenów. Podwyższony poziom IGF-1 może ponadto stymulować proliferację nowotworu złośliwego błony śluzowej trzonu macicy. Głównym objawem u większości chorych, który pozwala postawić rozpoznanie we wczesnym stopniu zaawansowania choroby jest nieprawidłowe krwawienie z dróg rodnych. Krwawienie może być o różnym stopniu nasilenia – od skąpego do bardzo obfitego, zwykle między miesiączkami, bądź po menopauzie. Ocena stopnia zróżnicowania histopatologicznego (*grading*) polega na określeniu proporcji utkania litego, niezróżnicowanego w stosunku do komponentu zróżnicowanego gruczołowo (tworzącego cewki). Określenie stopnia złośliwości

histologicznej obok stopnia zaawansowania klinicznego (*staging*) jest standardowym elementem oceny nowotworu, o dużym znaczeniu terapeutycznym i rokowniczym. Rozpoznanie nowotworu złośliwego błony śluzowej trzonu macicy ustala się na podstawie wyniku badania histopatologicznego. Zabieg chirurgiczny, poza leczeniem, pozwala określić ostatecznie typ nowotworu, jak również stopień zaawansowania klinicznego. Rozbieżności pomiędzy rozpoznaniem wstępnym i ostatecznym mogą być przyczyną podejmowania nie w pełni właściwych decyzji terapeutycznych, co przekłada się niekiedy na niekorzystny przebieg leczenia związany z podejmowaniem zbyt radykalnych bądź niedostatecznie radykalnych zakresów planowanej terapii. Leczenie nowotworu błony śluzowej trzonu macicy obejmuje chirurgię, radioterapię, radiochemioterapię, chemioterapię oraz hormonoterapię. Czynniki warunkującymi wybór metody są m.in. stan ogólny pacjentki, stopień zaawansowania nowotworu i jego postać histopatologiczna, a także możliwości terapeutyczne ośrodka. Główną metodą leczenia jest metoda chirurgiczna, umożliwia ona również określenie stadium zaawansowania choroby, a także wielkość i umiejscowienie nowotworu. Leczenie chirurgiczne według protokołu podstawowego obejmuje wycięcie macicy wraz z przydatkami bez mankietu pochwy i przymacicz (nawet przy zajęciu kanału szyjki). Radioterapia jest najczęściej stosowanym leczeniem uzupełniającym w terapii nowotworu złośliwego błony śluzowej trzonu macicy. Głównymi metodami są: napromienianie wiązką zewnętrzną – EBRT (*External Beam Radiation Therapy*) oraz napromienianie wiązką wewnętrzną – VBT (*Vaginal Brachytherapy*). Chemioterapia w nowotworze złośliwym błony śluzowej trzonu macicy stosowana jest jako leczenie uzupełniające nowotworów endometrioidalnych w wyższych stopniach zaawansowania klinicznego, w przypadku wznów i przerzutów, a także po leczeniu operacyjnym raka nieendometrioidalnego. Leczenie hormonalne nowotworu złośliwego błony śluzowej trzonu macicy można rozważyć jako metodę zachowawczą u kobiet przed menopauzą, planujących rozród. Organizm ludzki stale narażony jest na działanie licznych czynników patogennych, dlatego niezbędne do funkcjonowania są skuteczne mechanizmy obronne przeciwko nim. Jedną z ważniejszych funkcji układu odpornościowego w indukowaniu odpowiedzi wrodzonej, ze względu na konieczność wczesnego wykrycia patogenów oraz uniknięcia groźnej w skutkach autoimmunizacji jest odróżnienie obcych cząsteczek mikroorganizmów od własnych. Funkcję tę pełnią receptory rozpoznające wzorce - PRR (*Pattern Recognition Receptors*). Jedną z klas PRR są receptory TLR (*Toll-like Receptors*), które oprócz rozpoznawania cząstek PAMP (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) i DAMP (*Damage/Danger-Associated Molecular Patterns*), stanowią ogniwo łączące odporność nieswoistą z odpornością swoistą. TLRy umożliwiają obronę przed czynnikami



patogennymi, a także pomagają komórkom układu immunologicznego w odróżnianiu antygenów własnych od antygenów obcych. Receptory TLR obecne są w mikrośrodowisku nowotworu. Ekspresję receptorów TLR potwierdzono dotychczas w przypadku: szpiczaka, białaczki, nerwiaka, czerniaka, raka piersi, żołądka, raka wątrobowokomórkowego, raka jelit, trzustki, jamy ustnej, gardła, raka płaskonabłonkowego głowy i szyi, raka jajnika, błony śluzowej trzonu macicy, szyjki macicy prostaty, kory nadnerczy, krtani, płuca, nerki, raka kolczystomokomórkowego. Receptor czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego jest kluczowym receptorem procesu angiogenezy, niezbędnej w procesie wzrostu guza. VEGF jest jednym z ogniw łączących układ odpornościowy z procesem kancerogenezy, ponieważ komórki układu immunologicznego pobudzone poprzez receptory TLR zwiększają m.in. jego syntezę. Jest także celem wielu terapii antynowotworowych. Poziom ekspresji wybranych genów z rodziny TLR oraz receptora VEGF w nowotworze złośliwym błony śluzowej trzonu macicy skłania do poszukiwania zależności pomiędzy tymi receptorami a czynnikami patologiczno – klinicznymi raka endometrium. Celem ocenianej pracy była próba znalezienia zależności między ekspresją genów z rodziny TLR oraz genów uczestniczących w szlaku sygnalizacji komórkowej poprzez receptor VEGF w nowotworowo zmienionej tkance endometrium, a cechami kliniczno-patologicznymi nowotworu takimi jak: wielkość guza, stopień złośliwości histopatologicznej, zajęcie węzłów chłonnych, stopień zaawansowania klinicznego. Materiał stanowiły 123 pacjentki chore na nowotwór złośliwy błony śluzowej trzonu macicy, zakwalifikowane do leczenia chirurgicznego w Oddziale Klinicznym Ginekologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi), w latach 2016-2018. Wybór leczenia i zakresu operacji dokonywany był na podstawie badania histopatologicznego materiału pobranego z jamy macicy i kwalifikacji dokonywanej przez lekarza prowadzącego, a udział w niniejszym badaniu nie miał żadnego wpływu na tę decyzję. Do przeprowadzenia badania uzyskano zgodę komisji bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi numer: RNN/16/16/KE z dnia 19.01.2016 roku. Wszystkie pacjentki zostały poinformowane o celu badania i wyraziły na nie pisemną zgodę. Grupę kontrolną stanowiło 51 preparatów prawidłowej błony śluzowej trzonu macicy pobranych od pacjentek operowanych z przyczyn nieonkologicznych. Opracowanie statystyczne uzyskanych wyników wykonane zostało przy pomocy programu Prism 8 (GraphPad). Analizy korelacji dokonano przy użyciu testu rang Spearmana. Istotność statystyczną stwierdzano przy  $p < 0,05$ . Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano jasne i czytelne wnioski. Stwierdzono silną zależność między ekspresją genu TLR1 i TLR2 a stopniem złośliwości histologicznej. Niższa

ekspresja genów koreluje z wyższą złośliwością histologiczną. Z kolei poziom ekspresji genów TLR3 i VEGFR zależy od obecności procesu nowotworowego. Tkanki zmienione nowotworowo wykazują niższy poziom ekspresji genu TLR3, natomiast wyższy VEGFR. Nie wykazano zależności pomiędzy cechami kliniczno-patologicznymi guza a ekspresją genów TLR3 i VEGFR. Potwierdzono, że geny TLR2 i VEGFR współdziałają w sposób skorelowany ze sobą w kancerogenezie błony śluzowej trzonu macicy.

Praca zawiera 109 stron maszynopisu podzielonego na 15 rozdziałów zawierających wykaz skrótów, wstęp, cel pracy, materiał, metodykę, wyniki, dyskusję oraz wnioski i streszczenie w języku polskim i angielskim. W pracy ujęto również zgodę komisji bioetycznej, spis tabel, rycin i rysunków. Całość uzupełnia 157 pozycji bardzo aktualnego piśmiennictwa.

Po zapoznaniu się z całością tekstu i wnikliwej analizie stwierdzam, że:

1. Praca autorstwa lek. Łukasza Cwonda jest Jego samodzielnym, niezwykle cennym dorobkiem naukowym, mającym duże implikacje w codziennej pracy klinicysty.
2. Badania zostały przeprowadzone poprawnie pod względem merytorycznym, a wnioski wynikające z analiz zostały prawidłowo sformułowane.
3. Praca ma dużą wartość praktyczną a przedstawiona we wstępie i dyskusji analiza literatury jest cennym kompendium dotychczasowej wiedzy dla lekarzy.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska lek Łukasza Cwonda wykonana została z niezwykłą dbałością, obejmuje bardzo ciekawy materiał badawczy, a szczególną uwagę zwraca staranna edycja, poprawna polszczyzna i nienaganna estetyka pracy. W tym miejscu pozwalam sobie na opinię, że podjęte przez Doktoranta wyzwanie wymagało dużej wiedzy, sprawności i doświadczenia. Wobec powyższego, zwracam się z wnioskiem o wyróżnienie tej pracy.

Zgodnie z art. 16 Ustawy z dnia 14 marca 2003r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (ustawa wraz z późniejszymi zmianami, Dz.U. z 2014 poz 1852) wnoszę do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarza Łukasza Cwonda do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rzeszów, 31.01.2021.

KIEROWNIK KLINIKI  
Ginekologii i Położnictwa  
  
Dr hab. n. med. Tomasz Kluz, Prof. UR