Zakład Kliniczno-Badawczy Chirurgii Transplantacyjnej

 Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk

Mgr inż. Katarzyna Gardian

WYBRANE ELEMENTY MIKROŚRODOWISKA RAKA TRZUSTKI JAKO UZUPEŁNIENIE KLINICZNEJ OCENY ZAAWANSOWANIA CHOROBY.

Praca doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Marek Durlik, prof. IMDiK

Warszawa 2015

# Streszczenie

Rak trzustki jest czwartym co do częstości nowotworem występującym zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Tylko 10% przypadków nowotworów trzustki występuje u osób poniżej 55 roku życia, średni wiek diagnozy to 71 lat. W Polsce w ciągu ostatnich dziesięciu lat liczba zgonów spowodowanych rakiem trzustki zwiększyła się o 29%.Według najnowszej analizy przeprowadzonej przez WHO rak trzustki jest jedynym z dwóch nowotworów, w przypadku których śmiertelność będzie w najbliższych latach wzrastać. Prowadzone dotychczas badania wyjaśniły wiele procesów związanych z tym nowotworem, jednak nadal brak wiarygodnych markerów, które umożliwiłyby monitorowanie rozwoju tego nowotworu. Taki marker pozwalałby także na określenie dokładnego stopnia zaawansowania choroby i właściwego doboru terapii, a w przypadku guzów o granicznej resekcyjności wskazywałyby także na zasadność zabiegów chirurgicznych.

W stosowanej obecnie ocenie histopatologicznej nowotworu trzustki biologia guza jest określana za pomocą stopnia zróżnicowania histologicznego G, jednak nie oddaje on właściwego obrazu procesów zachodzących między komórkami nowotworowymi a ich otoczeniem.

 W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się badaniom mikrośrodowiska guzów litych. Obserwacje te pozwoliły wyjaśnić wiele procesów zachodzących w czasie rozwoju nowotworu. Zmiany zachodzące w takim mikrośrodowisku powodują, że może to być bogate źródło informacji zarówno diagnostycznych jak i prognostycznych.

Celem pracy była ocena następujących elementów mikrośrodowiska raka trzustki: wytwarzania czynników wzrostu, komórek nacieku zapalnego, lokalnej aktywności enzymatycznej a także procesu limfangiogenezy. Następnie określono zależność kliniczno-patologicznego stopnia zaawansowania nowotworu od ocenianych czynników.

Materiał do badań stanowiły fragmenty ogniska pierwotnego raka przewodowego trzustki (Adenocarcinoma ductale) pobrane od 36 pacjentów. Grupa chorych składała się z 14 kobiet i 22 mężczyzn, średni wiek wynosił 66 lat ( przedział wiekowy 48-85 lat).

Ekspresję czynników wzrostu oraz nacieki komórek odpowiedzi zapalnej badano z użyciem immunohistochemii. Aktywność metaloproteinaz 2 i 9 określono za pomocą zymografii żelatynowej: *in situ* i na żelu poliakrylamidowym z dodatkiem żelatyny. Aby zbadać proces limfangiogenezy oznaczono immunohistochemicznie markery śródbłonka limfatycznego: LYVE-1, Prox1 i podoplaninę. Wykonano również mikrolimfangiografię nastrzykując guzy zawiesiną barwnika Paris Blue w chloroformie.

Nasze badania wykazały wysoką ekspresję badanych czynników wzrostu i ich receptorów: EGF i EGFR, FGF2, FGF7, IGF1 i IGF-IR, PDGF-BB, HGFα i c-Met. Jedynie w przypadku receptora c-Met wykazano, że poziom jego ekspresji zależy od stopnia zróżnicowania guza i wzrasta wraz ze zmniejszającą się dojrzałością histologiczną tkanki (p<0,05).

W badanych guzach można było zaobserwować liczne nacieki limfocytów oraz makrofagów. Obecne były również neutrofile, natomiast brak było komórek NK. Analiza wykazała, że obecność makrofagów jest zwiększona w guzach dających przerzuty do węzłów chłonnych a także w przypadku występowania inwazji komórek nowotworowych do pni nerwowych.

Za pomocą zymografii żelowej i zymografii in situ określono aktywność metaloproteinazy 2 i 9. Aktywność tych enzymów zwiększa się w guzach o większej złośliwości, a także w guzach dających przerzuty do węzłów chłonnych. Metaloproteinaza 2 uczestniczy w rozwoju nowotworu od wczesnych etapów jego rozwoju, jej wysoka aktywność wiąże się z większą agresywnością nowotworu (p<0,05). Również aktywność metaloproteinazy 9 wiąże się z bardziej zaawansowanym procesem choroby.

Wewnątrz guzów trzustki nie można stwierdzić obecności prawidłowych naczyń limfatycznych. Pomimo ekspresji czynników związanych z procesem limfangiogenezy silna reakcja desmoplastyczna uniemożliwia prawidłowe wykształcenie naczyń. Pojedyncze prawidłowe naczynia można obserwować jedynie na obrzeżu guza.

Na podstawie naszych badań można stwierdzić, że obserwacja mikrośrodowiska raka trzustki stanowi cenne uzupełnienie oceny kliniczno-patologicznej. Szczególnie takie elementy jak poziom ekspresji receptora c-Met, liczba naciekających makrofagów czy aktywność metaloproteinazy 2 mogą być użyteczne w określeniu agresywności nowotworu i jego potencjału inwazyjnego.