IX. STRESZCZENIE

Najczęściej spotykanym typem histologicznym nowotworu pęcherza moczowego jest rak przejściowokomórkowy. Stanowi on ponad 90% raków pęcherza i jest przyczyną ponad 3000 zgonów rocznie. Najbardziej skuteczną metodą leczenia jest jego chirurgiczne usunięcie.

W procesach nowotworowych dochodzi do wzrostu aktywności wielu enzymów, takich jak metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej czy katepsyny, co sprzyja przebudowie tkanek, a także nadaje komórkom nowotworowym zdolność do tworzenia przerzutów.

Poznanie mechanizmów wpływających na specyfikę metabolizmu i rozwój raka pęcherza moczowego może stworzyć nowe podstawy skutecznych metod terapeutycznych i przyczynić się do wyboru skutecznej metody i poprawy wyników leczenia.

Celem mojej pracy było oznaczenie stężenia katepsyny B i D w osoczu krwi i moczu, aktywności wymienionych katepsyn oraz stężenia i aktywność cystatyny C – naturalnego inhibitora katepsyny B. Ocenionazostała korelacja stężenia i aktywności badanych katepsyn z cechami klinicznymi nowotworu przed i po 6 tygodniach od zabiegu. Ponadto oceniono wartości predykcyjne wybranych parametrów za pomocą krzywych ROC oraz regresji logistycznej.

Badaniem objęci zostali pacjenci leczeni w Oddziale Urologii Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego w Białymstoku w latach 2010-2013. Pacjenci z powierzchownym nowotworem poddani zostali leczeniu metodą przezcewkowej resekcji zmiany pęcherza moczowego – TURBT, natomiast pacjenci z rozpoznanym inwazyjnym guzem zostali poddani cystektomii lub cystoprostatektomii. Grupę kontrolną stanowili pacjenci hospitalizowani na oddziale, bez rozpoznanej choroby nowotworowej lub procesu zapalnego. Od wszystkich badanych pobierano krew oraz mocz przed zabiegiem oraz 6 tygodni po zabiegu. Krew pobierano do próbówki z antykoagulantem (EDTA).

Aktywność katepsyny D oznaczano spektrofotometrycznie przy użyciu 6% hemoglobiny zdenaturowanej kwasem solnym, aktywność katepyny B oznaczano spektrofotometrycznie przy użyciu syntetycznego, chromogennego substratu. Zdolność cystatyny C do hamowania aktywności proteolitycznej oceniano przy użyciu papainy i kazeiny. Stężenia aktywnych form obu katepsynoraz cystatyny C oznaczano w oparciu o biosensory SPRI (surface plasmon resonance imaging) - metoda pomiaru rezonansu plazmonów powierzchniowych.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej stosując test Wilcoxona dla zmiennych zależnych oraz U-Manna Whitneya dla zmiennych niezależnych. Jako narzędzie do oceny wartości diagnostycznych testu (oceny poprawności klasyfikatora) zastosowano krzywe ROC. Dodatkowym narzędziem zastosowanym w badaniu, a stosowanym w wielowymiarowej analizie statystycznej, była regresja logistyczna.

Stwierdzono, iż stężenie oraz aktywność katepsyny B, D i cystatyny C w osoczu krwi i moczu są istotnie wyższe u pacjentów z nowotworem pęcherza moczowego w porównaniu do grupy kontrolnej. Po 6 tygodniach od zabiegu maleje stężenie i aktywność enzymów oraz inhibitora. Wyższa aktywność katepsyny D w osoczu krwi związana jest z większą średnicą guza nowotworowego, a wyższe stężenie katepsyny D w moczu związane jest z większym zaawansowaniem nowotworu, większą agresywnością oraz wielkością zmiany nowotworowej. Przed upływem roku od zabiegu wykazano, że progresja procesu nowotworowego związana jest z wyższym stężeniem katepsyny D w moczu, natomiast wznowa procesu nowotworowego z wyższą aktywnością katepsyny D w moczu.

Uzyskane wyniki wskazują, iż analiza stężenia i aktywności katepsyny D w osoczu krwi i moczu może znaleźć zastosowanie we wczesnym wykrywaniu oraz monitorowaniu pacjentów z nowotworem pęcherza moczowego.

X. SUMMARY

Transitional Cell Carcinoma is the most common histological form of bladder tumours. It accounts for over 90 % of bladder cancers and is responsible for more than 3000 deaths a year. Surgical removal of the tumor mass remains the most effective treatment method.

In Carcinogenesis it comes up to the activation of many enzymes, such as metaloproteinases of extracellular matrix or Cathepsins,that fosters tissue rebuilding and enables tumor cells to metastazise.

Understanding the mechanisms impacting the specific metabolism and development of Transitional Cell Carcinoma of the bladder may provide novel theoretical basis for more effective therapeutic methods and contribute to ameliorate treatment results.

The aim of this study was to determine concentration and activity of Cathepsin B,D and Cystatin C,a natural inhibitor of Cathepsin B, in plasma and urine samples. The correlation between above mentioned enzymes and clinicotathological features was assessed. Furthermore, ROC curves and logistic regression were used to eveluate the predictive value of the choosen parameters.

Patients treated in the Urology Department at J.Sniadecki Provincial Hospital of Bialystok in the period of 2010-2013 were included the study. In the case of superficial cancer the transurethral resection of bladder mass and a more invasive tumors cystectomy or cystoprostatectomy were performed. The control group was recruited from patients hospitalized in the Urology Department, who were not diagnosed with cancer or inflammation. Blood and urine samples were obtained precedingthe procedure and six weeks after the procedure. Blood was collected in probes containing the (EDTA) anticoagulant .

The Cathepsin D activity was determined spectrofotometrically by the use of 6% hemoglobin denaturated by salt acid, while Cathepsin B activity was determined spectrofotometrically by the use of chromogenic synthetic substrate. The ability of Cystatine C to inhibit proteolitic activity was determined by SPRI (Surface Plasmon Resonance Imaging) biosensors method .

Obtained results were analized statistically by the Wilcoxon Test for dependent variables and the U-Mann Whitney Test for independent variables. ROC analysis was used as a tool to evaluate preductive value of the parameters.

It was found that the concentration and activity of Cathepsin B, D and Cystain C in the plasma and urine were significantly higer in comparison to the control group. Six weeks after the operation procedure the concentration and activity of the enzymes and inhibitor decreased.The higer activity of Cathepsin D in plasma is related to a larger size tumor and the higer concentration of the Cathepsin D in the urine is related to a more invasive, agresive and larger tumor lesions. In a one-year observation period it has occured that tumor progression was related to elevated cathepsine D concentration in urine while the tumor reccurence was correlated to an elevated Cathepsin D activity in urine.

The obtained results indicate that analysis of the concentration and activity of Cathepsine D in plasma and urine may be used in early detection and monitoring of the patients with Transitional Cell Carcinoma of the bladder.