

VII. STRESZCZENIE

Rak endometrium, czyli rak trzonu macicy jest drugim, po raku szyjki macicy, pod względem częstości występowania nowotworem kobiecych narządów płciowych. Największy wpływ na jego rozwój mają czynniki hormonalne oraz związane ze stylem życia. Endometrialny rak endometrium (EEC) rozwija się, kiedy zawodzą biologiczne mechanizmy kontroli, na skutek niekontrolowanego rozrostu błony śluzowej. W komórkach tego guza zidentyfikowano obecność receptorów hormonów płciowych, co wskazuje na hormonozależność EEC. Etiologia tego nowotworu jest ściśle powiązana z oddziaływaniem estrogenów, stymulujących podziały komórkowe. Hormony te działają na komórki poprzez receptory estrogenowe (ER α i ER β). W błonie śluzowej trzonu macicy występuje głównie receptor ER α . Antagonistycznie do estrogenów działa progesteron, który poprzez zmniejszenie liczby receptorów ER α i ER β hamuje podziały komórek endometrium. Działanie progesteronu odbywa się poprzez receptory progesteronowe A i B. Na rozwój nowotworu endometrium może mieć wpływ zaburzenie stanu równowagi hormonalnej i/lub ekspresji poszczególnych izoform receptorów. Jednym z biomarkerów powszechnie ocenianych w nowotworach jest chromogranina A. Jest to kwaśne białko, produkowane i magazynowane w ziarnistościach komórek neuroendokrynowych.

Celem niniejszej pracy jest identyfikacja, lokalizacja, ocena immunoreaktywności chromograniny A, receptorów estrogenowych (α i β), progesteronowych (A i B) oraz ekspresji genów *CHGA*, *ESR1*, *ESR2*, *PRG* w endometrium z nowotworem trzonu macicy i zdrowych kobiet.

Materiał do badań stanowiły wycinki pobrane od 50 pacjentek z nowotworem endometrium i 20 zdrowych kobiet. Po utrwaleniu w zbuforowanej formalinie materiał przeprowadzono w rutynowy sposób do bloczków parafinowych.

Do ogólnej oceny histologicznej skrawki barwiono H+E. W celu identyfikacji chromograniny A, receptorów estrogenowych alfa i beta i progesteronowych A i B przeprowadzono reakcje immunohistochemiczne z zastosowaniem specyficznych przeciwciał, skierowanych przeciwko badanym białkom. Wyniki barwień oceniono w mikroskopie świetlnym połączonym z komputerem, wyposażonym w oprogramowanie do badań morfometrycznych – NIS-Elements Advanced Research (NIKON). Wykorzystując metodę RT-qPCR oceniono ekspresję genów: *CHGA*, *ESR1*, *ESR2*, *PRG* w endometrium badanych kobiet. Wyniki uzyskane w reakcji PCR zostały znormalizowane do *GAPDH* (gen referencyjny), ekspresja genów wyliczona przy użyciu metody $\Delta\Delta Ct$.

We wszystkich uzyskanych wynikach wyliczono średnią ($\bar{x}$) oraz błąd standardowy (SE). Analizę porównawczą wykonano za pomocą parametrycznego testu t-Studenta przy użyciu pakietu statystycznego STATISTICA 13.1 PL. Za poziom istotności statystycznej przyjęto wartość $p < 0,05$.

Analiza densytometryczna wykazała znamienny statystycznie wzrost reakcji immunohistochemicznych wykazujących CgA i receptory progesteronowe, natomiast w przypadku receptorów estrogenowych zaobserwowano istotny statystycznie spadek intensywności reakcji u pacjentek z rakiem endometrium w porównaniu do kobiet grupy kontrolnej.

W badaniach ekspresji genów, u kobiet z nowotworem odnotowano istotnie statystyczny wzrost ekspresji genu *CHGA*, podczas gdy ekspresja genów

kodujących receptory estrogenowe α (*ESR1*) i receptory progesteronowe (*PRG*) była znamienne statystycznie niższa. W przypadku genu *ESR2* zaobserwowano spadek ekspresji, bez różnicy istotnej statystycznie.

Uzyskane wyniki badań dowodzą, że rak błony śluzowej trzonu macicy powoduje istotne zmiany w ekspresji chromograniny A oraz receptorów estrogenowych i progesteronowych. Diagnostyka nowotworu endometrium jest niedoskonała, dlatego rak ten wykrywany jest w zaawansowanym stadium. Ciągłe poszukuje się nowych markerów, które umożliwiłyby wczesną wykrywalność tego nowotworu. Wyjaśnienie zależności i roli chromograniny A oraz receptorów żeńskich hormonów płciowych (estrogenów i progesteronu) w procesach nowotworzenia wymaga przeprowadzenia dalszych badań.