



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Lek. Aneta Kowal

Asystent

Katedra i Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

**„Związek polimorfizmu genu HLA-G z niedrobnokomórkowym rakiem płuca,
jego stopniem zaawansowania i odpowiedzią na leczenie”**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych w zakresie medycyny

Promotor: **Prof. dr hab. n. med. Renata Jankowska**

Recenzenci:

Prof. dr hab. n. med. Halina Batura – Gabryel

Kierownik Katedry i Kliniki Pulmonologii, Alergologii i Onkologii
Pulmonologicznej

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Prof. dr hab. n. med. Janusz Milanowski

Kierownik Katedry i Kliniki Pneumonologii, Onkologii i Alergologii
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wrocław, 06.06.2014

Cirriculum Vitae

Ur. 27.08.1975 we Wrocławiu

Wykształcenie:

2000 - Dyplom Lekarza na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej we Wrocławiu;
2005 – dyplom studiów podyplomowych Menedżer Ochrony Zdrowia na Wydziale Lekarskim Kształcenia Podyplomowego Akademii Medycznej we Wrocławiu;
2010 – dyplom specjalisty Chorób Wewnętrznych;
2013 - dyplom specjalisty Chorób Płuc;

Doświadczenie zawodowe:

2000 – 2002 - staż podyplomowy w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym przy ul. Kamieńskiego, a następnie w 4 Wojskowym Szpitalu Klinicznym we Wrocławiu;
2003 - asystent w Studium Medycyny Społecznej i Zdrowia Publicznego AM we Wrocławiu;
2003 – 2009 - rezydent w Klinice Chorób Wewnętrznych i Alergologii Akademickiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu;
od 2010 – asystent w Katedrze i Klinice Pulmonologii i Nowotworów Płuc UM we Wrocławiu, starszy asystent w Dolnośląskim Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu;

Dorobek naukowy:

Autorka/współautorka 5 opublikowanych prac oraz 8 doniesień zjazdowych

A. Kowal, B. Panaszek, W. Barg, A. Obojski.: The use of magnesium in bronchial asthma: a new approach to an old problem. Arch.Immunol.Ther.Exp. 2007 Vol.55 no.1; s.35-39

A. Kowal, W. Barg, A. Obojski, M. Zalesska-Kręcicka, T. Kręcicki, B. Panaszek.: Dysfunkcja strun głosowych u 51-letniej kobiety z podejrzeniem astmy oskrzelowej = Vocal cords dysfunction in a 51-year-old-woman suspected of asthma. Pneumonol.Allergy Cases 2008 Vol.2 nr 1; s.76-81

A. Kowal, W. Barg.: Pacjent atopowy - dlaczego i kiedy odczuwać?. Fam.Med.Prim.Care Rev. 2009 Vol.11 no.4; s.923-929

A. Bielous, P. Babel, M. Nittner-Marszalska, **A. Kowal**, M. Sobieszcańska, W. Pilecki, B. Panaszek.: Personality pattern in two different atopic populations. Allergy 2010 Vol.65 suppl.92; s.756 poz.2056 XXIX Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. London, UK, 5-9 June 2010.

A.Kowal, B.Panaszek, A. M. Fal.: Siarczan magnezu w zwiększonej dawce podawany dożylnie u pacjentów z zaostrzeniem astmy oskrzelowej - wyniki badania. Współcz.Alergol.Info 2010 T.5 nr 1; s.30-34

M. Nittner-Marszalska, **A. Kowal**, M. Wujczyk, M. Gilert, A. Ryba, W. Barg, Ł. Strożecki, B. Panaszek.: Cutaneous late allergic reaction - characteristics and clinical usefulness in insect venom allergy. Allergy 2011 Vol.66 suppl.94; s.308-309 poz.783. XXX Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Istanbul, Turkey, June 11-15, 2011

M. Nittner-Marszalska, M. Ejma, M. Wujczyk, **A. Kowal**, P. Szewczyk, B. Panaszek.: Wasp venom immunotherapy in a patient with multiple sclerosis. Allergy 2011 Vol.66 suppl.94; s.439 poz.1141. XXX Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Istanbul, Turkey, June 11-15, 2011

M. Kosacka, P. Piesiak, **A. Kowal**, M. Gołęcki, R. Jankowska.: Galectin-3 and cyclin D1 expression in non-small cell lung cancer J.Exp.Clin.Cancer Res. 2011 Vol.30; poz.101

M. Nittner-Marszalska, A. Teisseyre, B. Jaźwiec, **A. Kowal**, M. Wujczyk, A. Gawlik, M. Krasnowska.: Influence of specific immunotherapy on the activity of human T lymphocyte Kv1.3 voltage-gated potassium channels in insect venom allergic patients. J.Membr.Biol. 2011 Vol.242 no.1; s.23-29

M. Kłapciński, M. Brzostowicz, K. Białowąs, M. Gabrysz, M. Pawelec-Winiarz, **A. Kowal**, A. Brzecka.: Est-ce que les patients presentant un syndrome d'apnees obstructives du sommeil souffrent de depression? Wiad.Lek. 2011 T.66 nr 2; s.153-154. V Polsko-Francuska Konferencja Pneumonologów. Kraków, 8-9 października 2010 r.

A. Kowal, M. Nittner-Marszalska, M. Ciszewska, B. Panaszek.: Wpływ premedykacji lekiem przeciwhistaminowym blokującym receptor H1 na odpowiedź cytokinową w późnej fazie odpowiedzi na alergen u pacjentów poddanych immunoterapii jadem owadów błonkoskrzydłych. Współcz.Alergol.Info 2011 T.6 nr 2; s.53-58

P. Młynarz, S. Deja, W. Barg, A. Ząbek, A. Korzeniewska, **A Kowal**, R. Jankowska, M. Orczyk-Pawłowicz, B. Walczak, M. Daszykowski.: 1H NMR metabolomics analysis of exhaled breath condensate, serum and urine allow to differentiate sleep apnea from obstructive lung disease. W:EUROMAR 2012 - Magnetic Resonance Conference. Dublin, Ireland, 1-5 July 2012; s.187

Streszczenie :

Wstęp

Rak płuca zajmuje pierwsze miejsca wśród statystyk zachorowalności i umieralności z powodu chorób nowotworowych na całym świecie. Ryzyko zachorowania szczególnie wiąże się z nałogiem palenia papierosów. Główną odmianą histologiczną raka płuca jest rak niedrobnokomórkowy. Mimo starań wyniki leczenia oraz przeżycia pacjentów, zwłaszcza w stadiach zaawansowanych są złe. Odsetek 5-letnich przeżyć w tej grupie chorych w Europie wynosi 10,9%.

W patogenezie chorób nowotworowych kluczową rolę odgrywają zaburzenia układu immunologicznego, którego jednym z zadań jest odpowiedź przeciwnowotworowa. Komórki nowotworowe w trakcie procesu zwanego immunoedycją nabywają mechanizmy przystosowawcze, które umożliwiają ucieczkę spod kontroli immunologicznej. Jednym z takich mechanizmów jest ekspresja cząsteczek HLA-G, które poprzez swoje receptory wpływają hamująco na komórki układu immunologicznego (np. komórki NK, limfocyty T). W wielu badaniach nad etiologią różnych nowotworów wykazano udział HLA-G.

Cel pracy

Ocena roli nieklasycznego antygeny HLA-G klasy I w zachorowaniu na niedrobnokomórkowego raka płuca oraz wpływ polimorfizmu genów HLA-G na przebieg choroby.

Material:

143 pacjentów hospitalizowanych w latach 2010 – 2012 w Klinice Pulmonologii i Nowotworów Płuc Uniwersytetu Medycznego oraz w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej UM we Wrocławiu z różnym stopniem zaawansowania niedrobnokomórkowego raka płuca.

Metoda:

Po uzyskaniu świadomej zgody od wszystkich osób włączonych do badania pobrano do monovet na EDTA po 4,9 ml krwi pełnej do dalszych badań molekularnych. W badaniu oceniono dwa pojedyncze polimorfizmy nukleotydowe w regionie promotorowym genu HLA-G: -725C>G>T oraz -716T>G. Badania genetyczne przeprowadzono w Laboratorium Immunogenetyki i Immunologii Tkankowej i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Każdego pacjenta opisano pod względem historii palenia tytoniu, stanu sprawności (skala Zubroda), stopnia zaawansowania raka płuca (klasyfikacja TNM), klasyfikacji histopatologicznej raka płuca, odpowiedzi na leczenie oraz czasu do progresji choroby.

Wyniki

Nie stwierdzono związku polimorfizmów -725C>G>T oraz -716T>G promotora genu HLA-G z ryzykiem zachorowania na raka płuca, czasem przeżycia, typem histologicznym, zaawansowaniem cechy T, obecnością przerzutów odległych, stopniem sprawności w skali Zubrod. Stwierdzono natomiast, że wraz ze wzrostem liczby alleli C w pozycji -725 wzrasta stopień zaawansowania cechy N. Zaobserwowane tendencje (wpływ na zachorowanie, przeżycie, odpowiedź na chemioterapię czy obecność przerzutów odległych) nie osiągnęły statystycznej znamienności i wymagają dalszych badań i obserwacji większych grup chorych.

Wnioski:

1. Stwierdzono brak związku polimorfizmów -725>C>G>T oraz -716T>G promotora genu HLA-G z ryzykiem zachorowania na raka płuca, czasem przeżycia, typem histologicznym, zaawansowaniem cechy T, obecnością przerzutów odległych, stopniem sprawności w skali Zubrod.
2. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem liczby alleli C w pozycji -725 wzrasta stopień zaawansowania cechy N ($p=0,0319$).
3. Nie wykazano zależności między genotypem -716T>G a rozmiarem przerzutów do węzłów chłonnych.
4. Z uwagi na małe liczebności poszczególnych podgrup nie udało się ustalić istotnego statystycznie wpływu genotypów na czas przeżycia, progresję choroby i odpowiedź na leczenie. Zaobserwowane tendencje wymagają dalszych badań na większych grupach chorych:
 - związek genotypu -725CC z czasem przeżycia;
 - pacjenci nie posiadający w ogóle allelu C w -725>C>G>T, a więc pacjenci: GT i GG mieli ponad dwukrotnie wyższą szansę zachorowania niż pacjenci CC (OR = 2.62), ale nie ma dowodów, że ten wynik nie jest przypadkowym błędem próby.
 - związek alleli -725C z odpowiedzią na chemioterapię systemową: wraz ze wzrostem liczby alleli C w genomie malała częstość częściowej regresji a rosła prawdopodobieństwo stabilizacji i progresji choroby;
 - związek allelu -716T>G z odpowiedzią na chemioterapię systemową: zaobserwowano tendencję do gorszych wyników leczenia wraz ze wzrostem liczby alleli T w genomie (GG<GT<TT);
 - związek homozygot -716GG z obecnością przerzutów odległych: wśród homozygot GG procentowo częściej stwierdzano cechę M1 niż w grupie GT lub TT;
5. Na podstawie obserwacji badanej grupy stwierdzono również, że kobiety palą mniej papierosów niż mężczyźni i są bardziej zróżnicowane w liczbie paczkat w liczbie paczkat niż mężczyźni.
6. Najczęściej stwierdzanym typem histologicznym raka niedrobnokomórkowego płuca był rak gruczołowy.
7. W grupie raków niedrobnokomórkowych wielkokomórkowych dominowało stadium I (42.9%), a stadium IV spotykano się najrzadziej (7.1%).
8. Ryzyko zgonu w badanych grupach rosło:
 - z każdym kolejnym punktem N w skali TNM;
 - z wystąpieniem przerzutów do narządów (M1);
 - z każdym kolejnym punktem na skali Zubroda;
 - z każdym kolejnym paczkorokiem;
9. W badanej grupie pacjenci z chorobą obturacyjną płuc mieli 2.5 razy niższe ryzyko zgonu;
10. Nie wykazano związku z czasem przeżycia dla wieku pacjenta, płci, zaawansowania guza (cecha T), wykonania operacji, wdrożenia chemioterapii, radioterapii, występowania chorób krążenia, cukrzycy.
11. Nie stwierdzono dowodów na zależność między genotypem -725C>G>T lub -716T>G a prawdopodobieństwem wystąpienia niedokrwistości.
12. Nie wykazano związku genotypu -725C>G>T lub -716T>G ze stężeniem dimerów oraz ze stężeniem białka CRP.