

STRESZCZENIE

Terminem „rak jajnika” określa się zmiany nowotworowe, które wywodzą się z komórek nabłonka powierzchniowego tego narządu (ang. *ovarian surface epithelium*, OSE). Choroba ta jest jedną z najczęstszych (a wśród nowotworów układu płciowego najczęstszą) przyczyną zgonów kobiet. W Polsce, w roku 2015 rak jajnika był piątym co do częstości występowania nowotworem u kobiet, natomiast pod względem liczby zgonów ustępował tylko rakowi płuca, piersi i okrężnicy. Do najczęściej występujących typów raka jajnika należą: surowiczny, śluzowy, endometrialny i jasnokomórkowy, zaś inne typy guzów (np. płaskonabłonkowe, niezróżnicowane, mieszane) diagnozowane są znacznie rzadziej.

Układ dopełniacza jest nie tylko istotnym elementem odporności przeciwwakaźnej lecz uczestniczy także w procesach regeneracji tkanek, usuwania kompleksów immunologicznych, komórek ulegających apoptozie i nekrozie, może wzmacniać proliferację komórek a także aktywować protoonkogeny. Może być on aktywowany na drogach klasycznej, alternatywnej oraz lektynowej, której charakterystyczne składniki (niektóre kolektyny, fikoliny, proteazy MASP) stanowią istotne czynniki odporności wrodzonej. Niedobór lektyny wiążącej mannozę (ang. *mannose-binding lectin*, MBL) uważany jest za najpowszechniejsze zaburzenie odporności u człowieka.

Rak jajnika, ze względu na brak specyficznych objawów we wczesnym etapie choroby, bardzo często zostaje rozpoznany w bardzo zaawansowanym stadium, z niekorzystnymi rokowaniami. Od lat, podstawowym markerem raka jajnika jest glikoproteina CA-125, której jednak stężenie nie przekracza normy aż w 50% przypadków choroby stopnia I (wg Światowej Organizacji Ginekologii i Położnictwa, FIGO). Od dawna prowadzone są zatem badania w celu uzyskania idealnego markera tego nowotworu, który mógłby być szybko wykryty w łatwo dostępnym materiale jakim jest np. krew. Mimo znaczących osiągnięć i wprowadzeniu testów takich jak ROMA, Ova1 czy Overa, nadal „...godnym pożałowania jest to, że wciąż poszukujemy efektywnych metod wczesnej diagnozy raka...” [za: Ueland, F.R., *A Perspective on Ovarian Cancer Biomarkers: Past, Present and Yet-To-Come*. Diagnostics (Basel), 2017. 7(1)].

Celem przedstawionej pracy była ocena znaczenia wybranych czynników odporności wrodzonej związanych z aktywacją dopełniacza na drodze lektynowej: lektyny wiążącej mannozę, fikoliny-2, fikoliny-3 i proteazy serynowej MASP-2 w nowotworach jajnika.

U pacjentek z rozpoznaniem pierwotnym rakiem jajnika (OC, n=128) oraz pacjentek zakwalifikowanych do grupy kontrolnej (C) [obejmującej pacjentki, u których rozpoznano zmiany łagodne (BT, n=123) oraz takie, u których nie stwierdzono zmian nowotworowych (NO, n=74)] oznaczano stężenia i/lub aktywności wymienionych czynników, a także badano wybrane polimorfizmy kodujących je genów. Oceniano nie tylko różnice poziomu białek w surowicy pomiędzy poszczególnymi grupami ale również częstości występowania niskich i wysokich stężeń w tych grupach oraz zależności tych wartości od genotypów. Ponadto badano ekspresję genów *MBL2*, *FCN2*, *FCN3* oraz *MASP2* w wybranych narządach żeńskiego układu rozrodczego, na poziomie mRNA oraz dokonano względnej oceny ilości badanych białek w preparatach mikroskopowych wycinków pobranych z jajników niezmiennych i zmienionych nowotworowo. Badano także ekspresję analizowanych białek w komórkach linii nowotworowych jajnika i wątroby. Wykazano, że mediany stężenia fikoliny-2 i fikoliny-3 w surowicy były znacząco wyższe w grupie kobiet, u których rozpoznano pierwotnego raka jajnika niż w grupach odniesienia, istotnych różnic nie zaobserwowano natomiast w przypadku MBL i MASP-2, a także aktywności kompleksów MBL-MASP-2. Częstość występowania genotypów związanych z niedoborem MBL (LXA/O lub O/O) była znacznie wyższa w grupie kobiet chorych na raka jajnika. Wynik ten sugeruje, że niedobór lektyny wiążącej mannozę może być czynnikiem ryzyka rozwoju złośliwych zmian tego narządu. Analiza ROC wykazała jednak, że niedobór taki sprzyja lepszym rokowaniom dla chorych, co może być związane z częściowym osłabieniem odpowiedzi zapalnej, która mogłaby promować progresję nowotworu. U kobiet chorych na raka, u których występowało takie zaburzenie odporności, prawdopodobieństwo trzyletniego przeżycia okazało się wyższe o 30% niż u pacjentek o genotypach innych niż LXA/O i O/O. Wśród homozygot A/A (genotyp związany z syntezą w pełni aktywnej MBL), mediany stężenia tej lektyny oraz aktywności jej kompleksów z MASP-2 w surowicy pacjentek z rozpoznaniem raka jajnika były znacząco wyższe niż u kobiet zakwalifikowanych do grupy kontrolnej. Może to świadczyć o wpływie aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej na proces nowotworzenia lub, z drugiej strony, na wzrost stężenia MBL w odpowiedzi na rozwój guza złośliwego.

Uzyskane wyniki wskazują, że badane polimorfizmy genów: *FCN2* (oznaczane za pomocą metod opracowanych we własnym zakresie), *FCN3*, *MASP2* nie mają znaczącego wpływu na ryzyko rozwoju raka jajnika czy rokowania dla pacjentek.

Intensywność immunobarwienia preparatów histologicznych pochodzących z jajników ze zmianami złośliwymi, była oceniana jako wysoka znacznie częściej niż w przypadku wycinków

narządów ze zmianami łagodnymi oraz niezmiennych. Obserwacja ta dotyczyła również pozostałych badanych białek. Zarówno w jajnikach zmienionych, jak i niezmiennych nowotworowo stwierdzono ekspresję badanych genów na poziomie mRNA. Ekspresja genów *MBL2*, i *MASP2* była wyższa, natomiast *FCN2* i *FCN3* – niższa w próbach otrzymanych z guzów złośliwych, niż w próbach pochodzących z jajników bez zmian nowotworowych i/lub ze zmianami łagodnymi. Zaobserwowano także, że poziom ekspresji genu *FCN3* na poziomie mRNA badany w wycinkach jajnika mógłby być rozpatrywany jako potencjalnie użyteczny w rozpoznaniu raka tego narządu (w odróżnieniu od poziomu ekspresji genów *MBL2*, *MASP2* czy *FCN2*). Jednak, aby wyniki nawet znacznie rozszerzonych badań mogły uzyskać aspekt praktyczny, konieczna byłaby możliwość wykonywania testów materiale pozyskiwanym w sposób nieinwazyjny. Obecność badanych białek wykazano w komórkach linii nowotworowych jajnika i wątroby, zarówno za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej (fikolina -2, -3, MBL) jak i cytometrii przepływowej (fikolina-2, -3, MASP-2). Otrzymane wyniki sugerują zasadność kontynuacji prac i rozszerzenia ich zakresu o inne czynniki aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej, takie jak fikolina-1, kolektyna-10 i -11 czy pozostałe, enzymatyczne i nieenzymatyczne białka rodziny MASP.