

**lek. Katarzyna Baranowska-Kempisty**

**Ocena ekspresji markera komórek macierzystych TAZ w raku  
płaskonabłonkowym krtani**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Kazimierz Niemczyk  
Promotor pomocniczy: dr n. med. Wojciech Domka

Katedra i Klinika Otorynolaryngologii, Chirurgii Głowy i Szyi  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Klinika Otorynolaryngologii, Otorynolaryngologii Dziecięcej i Onkologii  
Laryngologicznej  
Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 w Rzeszowie



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022



## WSTĘP

Rak krtani jest jednym z najczęściej występujących nowotworów w obrębie głowy i szyi. W patomechanizmie choroby, oprócz od dawna poznanych czynników ryzyka takich jak papierosy czy alkohol, coraz częściej zwraca się uwagę na rolę mutacji genetycznych oraz zaburzeń biochemicznych szlaków sygnałowych. Dotychczasowe leczenie, które opiera się głównie na chirurgii i/lub radioterapii jest niewystarczające. Leki wykorzystujące działanie przeciwciał monoklonalnych, stosowane są wyłącznie jako terapia II rzutu. Pomimo prowadzenia wielu badań naukowych dotyczących zaburzeń szlaków sygnałowych w raku krtani, na razie nie ma leków dopuszczonych do stosowania w codziennej praktyce klinicznej. Nie ma również żadnego biomarkera służącego wykrywaniu czy kontrolowaniu progresji choroby, który mógłby znacząco zmienić postępowanie terapeutyczne i związane z nim przeżycie.

TAZ wykryty w 2000 roku jest białkiem, które uczestniczy w homeostazie komórek organizmu. Wspólnie ze swoim paralogiem – białkiem YAP - uczestniczą w szlaku sygnałowym Hippo odpowiadającym za proliferację, odnawianie, różnicowanie, przeżycie, cytoskielet oraz apoptozę komórki. Pod wpływem rozregulowania działania TAZ dochodzi do rozwoju wielu chorób, np. włóknienie narządów, schorzeń z grupy autoagresji czy nowotworów. Wyniki badań prowadzonych w ostatnich latach, wykazują korelację pomiędzy ilością białka TAZ, a wielkością guza, stopniem zróżnicowania komórek nowotworowych, a także z przerzutami odległymi i nawrotem choroby. Dzięki tym odkryciom, a także dalszemu poszerzaniu wiedzy na temat TAZ, w przyszłości może on stać się biomarkerem nowotworowym, pozwalającym na wczesne wykrywanie nawrotu choroby. Udowodniono, że TAZ w komórkach raka powoduje nadmierną proliferację, pobudza nowotworowe komórki macierzyste, przejście epitelialno-mezenchymalne oraz angiogenezę. Dzięki temu jest on obiecującym punktem uchwytu leków przeciwnowotworowych.



## **CEL PRACY**

Głównym celem pracy było pogłębienie wiedzy na temat roli białka TAZ w patomechanizmie regulatorowym, odpowiedzialnym za powstawanie i progresję raka płaskonabłonkowego krtani.

Cele szczegółowe obejmowały następujące zagadnienia:

1. Ocena korelacji ekspresji białka TAZ w raku płaskonabłonkowym krtani w porównaniu ze zmianami nierakowymi w krtani.
2. Ocena korelacji ekspresji białka TAZ ze stopniem zaawansowania raka krtani.
3. Ocena korelacji ekspresji białka TAZ u pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym krtani o etiologii związanej i niezwiązanej z HPV.

## **MATERIAŁ I METODY**

Badaniami objęto 82 pacjentów (68 mężczyzn i 14 kobiet) hospitalizowanych i diagnozowanych w Klinice Otorynolaryngologii Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 w Rzeszowie w latach 2019-2020. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Okręgowej Izby Lekarskiej w Rzeszowie (7/2019/B). Materiał do badań stanowiły utrwalone bloczki parafinowe, wykonane z tkanek pobranych podczas zabiegów operacyjnych. Przygotowane preparaty szkiełkowe zostały ocenione histopatologicznie przez patomorfologa i zakwalifikowane do grupy badanej (rak krtani) i grupy kontrolnej (zmiany nierakowe krtani). Preparaty raka krtani zostały poddane barwieniu immunohistochemicznemu z oceną ekspresji białka p16. Następnie wykonano barwienie immunohistochemiczne wszystkich preparatów z wykorzystaniem białka TAZ [(Clone: 1F1), (Santa Cruz Biotechnology, TX, USA)]. Preparaty z grupy badanej i kontrolnej zostały ocenione przez patomorfologa z Kliniki Patomorfologii Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 w Rzeszowie. Oceniano niezależnie ekspresję jądrową i cytoplazmatyczną. Do analizy statystycznej wykorzystano program Statistica v.13.0 (StatSoft). Do zbierania danych oraz wspomaganie analiz statystycznych zastosowano program MS Excel 2010 (Microsoft).



## WYNIKI

Wyniki badań wykazały istotną statystycznie zależność pomiędzy poziomem ekspresji białka TAZ, zarówno w cytoplazmie jak i w jądrze komórkowym, a występowaniem raka płaskonabłonkowego krtani. Wykazano również zwiększoną ilość białka TAZ w jądrze komórkowym u kobiet z rakiem krtani w stosunku do mężczyzn. Stwierdzono ponadto korelację ekspresji jądrowej TAZ ze stopniem zróżnicowania histopatologicznego raka krtani oraz korelację ekspresji cytoplazmatycznej z wielkością guza nowotworowego. Nie wykazano istotności statystycznej pomiędzy występowaniem białka p16 a ilością TAZ. Ustalono również, że ilość białka TAZ jest zmniejszona u pacjentów z rakiem krtani przyjmujących statyny. Cukrzyca i przyjmowanie metforminy powodowały zwiększenie ilości TAZ u pacjentów w grupie kontrolnej.

## WNIOSKI

1. Ekspresja białka TAZ w cytoplazmie i jądrze komórek raka płaskonabłonkowego krtani w stosunku do zmian nierakowych jest podwyższona, co może potwierdzać udział TAZ w patologicznych mechanizmach regulatorowych odpowiedzialnych za rozwój raka.
2. Podwyższona ekspresja białka TAZ w cytoplazmie koreluje z wielkością guza pierwotnego raka krtani w skali TNM.
3. Podwyższona ekspresja białka TAZ w jądrze komórkowym, koreluje ze stopniem zróżnicowania raka krtani.
4. Przyjmowanie statyn przez pacjentów z rakiem krtani, powoduje zmniejszenie ekspresji białka TAZ w komórkach nowotworowych.
5. Występowanie cukrzycy i przyjmowanie metforminy, koreluje ze zwiększoną ekspresją białka TAZ u pacjentów w grupie kontrolnej.
6. Dalsze prace nad ekspresją TAZ, zwłaszcza na większej liczbie przypadków, są potrzebne do ustalenia praktycznego zastosowania badań tego białka, jako tkankowego markera wpływającego na przebieg i rokowanie w raku krtani.