

AUTOREFERAT

I. Imię i nazwisko: Marcin Oplawski

II. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

1997 - uzyskanie tytułu zawodowego lekarza, Wydział Lekarski w Katowicach, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach

2001 - uzyskanie pierwszego stopnia specjalizacji z położnictwa i ginekologii

2006 - uzyskanie tytułu specjalisty położnictwa i ginekologii, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

2009 - uzyskanie stopnia doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy:
„Znaczenie terapeutyczno-prognostyczne występowania przerzutów w węzłach chłonnych miednicy małej w operacyjnym raku endometrium.”

Wydział Lekarski, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Antoni Basta

Katedra Ginekologii i Położnictwa, Klinika Ginekologii i Onkologii

Recenzenci: Prof. dr hab. n. med. Romana Tomaszewska

Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

Prof. dr hab. n. med. Marek Spaczyński

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

2014 - uzyskanie tytułu specjalisty ginekologii onkologicznej, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

- 1998 – 2002 studia doktoranckie oraz młodszy asystent w Katedrze i Klinice Ginekologii i Onkologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
- 2002-2010 asystent w Katedrze Ginekologii i Położnictwa, Klinika Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
- 2010 – 2013 asystent w Oddziale Klinicznym Ginekologii Onkologicznej Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy, Katedra Onkologii, Radioterapii i Ginekologii Onkologicznej Collegium Medicum w Bydgoszczy
- 2013 – nadal ordynator Oddziału Ginekologii i Położnictwa z Ginekologią Onkologiczną Szpitala Specjalistycznego im. L. Rydygiera w Krakowie
- 2016 – nadal wykładowca Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa w Opolu

IV. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2013r. O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595 ze zm.):

Wskazane osiągnięcie jest cyklem **4 oryginalnych** prac, opublikowanych w recenzowanych czasopismach, znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports (JCR)*, których **sumaryczny IF** wynosi 7,379 (punktacja MNiSW: 95 pkt)

a. tytuł osiągnięcia naukowego

Jednotematyczny cykl publikacji:

Cykl prac stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe zrealizowane w obszarze badawczym:

„Białka uczestniczące w procesie angiogenezy w gruczolakoraku endometrium kobiet.”

b. autorzy, tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa

1. **Oplawski M**, Michalski M, Witek A, Michalski B, Zmarzły N, Jęda-Golonka A, Styblińska M, Gola J, Kasprzyk-Żyszczyńska M, Mazurek U, Plewka A: Identification of a gene expression profile associated with the regulation of angiogenesis in endometrial cancer. *Mol. Med. Rep.* 2017; 16: 2547-2555. **IF 1,922; MNiSW -20pkt**
doi: 10.3892/mmr.2017.6868.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji projektu, analizie i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa, współredakcji manuskryptu, zapewnieniu integralności całego badania. Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na 80%

2. **Oplawski M**, Dziobek K, Adwent I, Dąbrus D, Grabarek B, Zmarzły N, Plewka A, Boroń D: Expression profile of endoglin in different grades of endometrial cancer. Curr. Pharm. Biotechnol. 2018; 19: 990-995. **IF 1,819; MNiSW -25pkt**
doi: 10.2174/1389201020666181127152605.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji projektu, analizie i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa, współredakcji manuskryptu, zapewnieniu integralności całego badania. Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na 80%

3. **Oplawski M**, Dziobek K, Grabarek B, Zmarzły N, Dąbrus D, Januszyk P, Brus R, Tomala B, Boroń D: Expression of NRP-1 and NRP-2 in endometrial cancer. Curr. Pharm. Biotechnol. 2019; 20(1): 1-7. **IF 1,819; MNiSW -25pkt**
doi: 10.2174/1389201020666190219121602.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji projektu, przeglądzie piśmiennictwa, współredakcji manuskryptu, zapewnieniu integralności całego badania. Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na 75%

4. **Oplawski M**, Dziobek K, Zmarzły N, Grabarek B, Tomala B, Leśniak E, Adwent I, Januszyk P, Januszyk K, Dąbrus D, Boroń D: Evaluation of changes in the expression pattern of EDIL3 in different grades of endometrial cancer: EDIL3 in endometrial cancer. Curr. Pharm. Biotechnol. 2019; 20(3): 254-260. **IF 1,819; MNiSW -25pkt**
doi: 10.2174/1389201020666190408112822.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji projektu, analizie i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa, współredakcji manuskryptu, zapewnieniu integralności całego badania. Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na 80%

IF: 7,379

Punkty MNiS: 95

W załączeniu:

–kopie powyższych prac

–oświadczenia współautorów o indywidualnym wkładzie autorskim (załącznik nr 5)

–potwierdzenie IF z poświadczeniem przez Bibliotekę Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (załącznik nr 6)

c. omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ew. wykorzystania

Uzasadnienie podjęcia tematu badawczego

Rak endometrium stanowi jedną z najbardziej powszechnych form nowotworów

ginekologicznych u kobiet. Wcześnie wykryty charakteryzuje się stosunkowo dobrym rokowaniem. Zaawansowane stadium choroby wiąże się jednak ze słabym wynikiem leczenia. Współczesne terapie stosowane w przypadku zaawansowanego raka endometrioidnego obejmują zabiegi chirurgiczne, chemoterapię, radioterapię i terapię hormonalną. Pozytywna odpowiedź na powyższe metody leczenia bywa zróżnicowana. Angiogeneza odgrywa zasadniczą rolę zarówno w prawidłowej jak i patologicznej fizjologii ludzkiego endometrium. Tak jak w przypadku wielu innych rodzajów nowotworów, tworzenie nowych naczyń krwionośnych zaopatrujących rozrastający się guz, występuje również w przypadku raka endometrioidnego. W niniejszej pracy koncentruję się na roli angiogenezy oraz jej modyfikacji w patofizjologii i leczeniu raka endometrioidnego.

Opublikowanie sekwencji genomu ludzkiego wytycza wyraźny kierunek poszukiwania nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Połączenie metod morfologicznych z dobrze poznaną biologią zmian przednowotworowych i inwazyjnych z technikami biologii molekularnej, umożliwiającymi jednorazową ocenę ekspresji kilkuset genów, a nawet kilku tysięcy genów, znacznie zwiększa precyzję diagnostyki i terapii oraz stanowi klucz do zastosowania terapii molekularnie ukierunkowanej (terapia celowana) u chorych. Możliwość użycia kryteriów molekularnych do doboru właściwej terapii dla danego pacjenta spowodowało gwałtowny rozwój medycyny spersonalizowanej, zwłaszcza w onkologii. Indywidualizacja leczenia polegałaby na dostosowywaniu metod terapii do indywidualnych cech chorego i jego choroby. W ramach określonej jednostki chorobowej, dla chorych, dobierano by odpowiednią, skuteczną i bezpieczną terapię. Powoduje to, że techniki biologii molekularnej stają się, coraz powszechniejszym narzędziem diagnostycznym w praktyce klinicznej. Zaletą diagnostyki molekularnej jest to, że umożliwia wykrywanie zmian nowotworowych u osób wysokiego ryzyka już w początkowym etapie choroby, ponieważ zmiany na poziomie molekularnym wyprzedzają zmiany na poziomie fenotypowym. Dodatkowo umożliwia wykrywanie lekooporności, zwiększając precyzję strategii leczenia.

Wiele mechanizmów związanych jest z odmiennym profilem ekspresji genów uczestniczących w regulacji aktywności angiogenezy. Poznanie tych różnic, może mieć istotne znaczenie zarówno w diagnostyce jak i w terapii. Obecnie jedną z metod skutecznej terapii przeciwnowotworowej, jest antyangiogenna terapia celowana na produkty ekspresji genów uczestniczących w regulacji angiogenezy. Terapia ta daje pozytywne efekty w przypadku leczenia wielu nowotworów, jednakże w miarę wydłużania czasu leczenia, często pojawia się lekooporność. Utrzymując terapię antyangiogenną zmienia się lek, a czasami także lek i cel molekularny. W

konsekwencji, ciągle trwają poszukiwania nowych celów terapeutycznych w leczeniu molekularnie ukierunkowanym.

Przesłanką do podjęcia badań była hipoteza zakładająca, że profil ekspresji genów związanych z regulacją aktywności angiogenezy może być markerem diagnostycznym, prognostycznym, a także celem terapeutycznym raka endometrium. Celem przedstawionych badań jest typowanie genów uczestniczących w regulacji angiogenezy, zmieniających swoją aktywność transkrypcyjną w zależności od stopnia zróżnicowania histopatologicznego gruczolaka endometrium, które mogłyby stanowić uzupełniający marker diagnostyczny, prognostyczny, a także cel terapeutyczny.

Profile stężeń mRNA w wycinkach endometrium o różnym stopniu zróżnicowania histopatologicznego gruczolaka, wyznaczono metodą mikromacierzy ekspresyjnych, z zastosowaniem płytek HG-U133A (Affymetrix). Ocenę zróżnicowania grup badanych transkryptomów, rozpoczęto od normalizacji otrzymanych wyników za pomocą programu RMA Express. W kolejnym etapie badań, przeprowadzono grupowanie hierarchiczne danych, umożliwiające wstępną ocenę podobieństwa profilu stężeń mRNA w badanych wycinkach endometrium. Otrzymane wyniki wskazują, że profil stężenia mRNA genów uczestniczących w regulacji angiogenezy, zmienia się w zależności od stopnia zróżnicowania histopatologicznego gruczolaka. Najmniejsze różnice w odniesieniu do grupy referencyjnej obserwowano w gruczolaku w stopniu zróżnicowania histopatologicznego G1, podczas gdy transkrypty gruczolaka endometrium w stopniu G2 i G3 stanowiły odrębną podgrupę. Podobne wnioski można wyciągnąć na podstawie statystyk opisowych charakteryzujących profil stężenia 691 mRNA związanych z regulacją angiogenezy w badanych grupach wycinków gruczolaka endometrium (te i inne informacje są zawarte w **pracy nr 1**).

Poszukując odpowiedzi na pytanie, które z obserwowanych różnic poziomu mRNA są statystycznie znamienne, przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA, umożliwiającą porównanie kilku średnich bez przeprowadzania kilku testów t. Otrzymany wynik wskazuje, że w grupie 691 mRNA, liczba mRNA różnicujących grupy wycinków gruczolaka endometrium, zmienia się w zależności od siły różnicowania. Przy wartości $p < 0,05$ lub $p < 0,001$ liczba mRNA wynosi od 203 mRNA do 45 mRNA.

Kontynuując analizę wariancji metodą wielokrotnych porównań - każdej średniej z każdą, z zastosowaniem testu post-hoc Tukeya, uzyskano bardziej szczegółowe informacje, dotyczące różnic stężenia mRNA pomiędzy poszczególnymi grupami transkryptomów. Otrzymany wynik wskazuje, że liczba mRNA różnicujących G1 vs K = 27 mRNA, G2 vs K = 113 mRNA oraz G3 vs K = 81

mRNA przy założeniu, że wartość $p < 0.05$.

Specyficzność mRNA w różnicowaniu poszczególnych grup pomiędzy sobą, oceniono na podstawie diagramu Venna. Otrzymane wyniki wskazują, że 6 mRNA zawsze różnicowało grupy wycinków gruczolaka endometrium od kontroli, niezależnie od stopnia zróżnicowania histopatologicznego, podczas gdy liczba specyficznych mRNA dla różnicowania tylko G1 vs K = 15, G2 vs K = 43 oraz G3 vs K = 15 mRNA.

Ten etap analizy zakończono testem nadreprezentatywności w programie Panther - Gene List Analysis, umożliwiającym wytypowanie spośród mRNA różnicujących te cząsteczki, które mają istotne znaczenie dla angiogenezy nowotworowej. Otrzymane wyniki wskazują, że dla gruczolaka endometrium w stopniu zróżnicowania G1, są to cząsteczki mRNA trzech genów: *ENG* (TGFBR3), *EDIL3* oraz *NRP2*, charakteryzujące się istotnym wzrostem stężenia w odniesieniu do grupy porównawczej. Wzrost stężenia mRNA obserwowano również w gruczolaku endometrium w stopniu zróżnicowania histopatologicznego G2 dla mRNA genu *SEMA3B* (semaforyna 3B), i stopniu zróżnicowania G3 dla mRNA genu *SEMA3F*.

Wszystkie pozostałe cząsteczki mRNA wytypowane w teście nadreprezentatywności jako znaczące dla angiogenezy nowotworowej występowały w gruczolaku w stopniu G2 i G3 w stężeniu znacznie mniejszym niż w kontroli. Cechą charakterystyczną było to, że zmniejszenie poziomu mRNA stopniowo zwiększało się, wraz ze wzrostem stopnia zróżnicowania histopatologicznego gruczolaka endometrium. Do tej grupy mRNA zaliczono jedną z izoform mRNA *ENG* (TGFBR3) powstającą w wyniku modyfikacji potranskrypcyjnej, mRNA *TEK* oraz mRNA *VEGFC*. Pulę wyciszanych genów, które stwierdziliśmy w naszym badaniu uzupełniają mRNA *SEMA5A* oraz mRNA *HOXA5*.

Test nadreprezentatywności wskazuje brak mRNA różnicujących gruczolaka od kontroli, które byłyby charakterystyczne dla wszystkich stadiów zróżnicowania histopatologicznego (G1 vs K; G2 vs K oraz G3 vs K). Podobnie nie wykazano mRNA istotnych dla angiogenezy nowotworowej wspólnych dla G1 vs K, G2 vs K oraz G1 vs K i G3 vs K.

Profil stężenia mRNA genów uczestniczących w regulacji angiogenezy może stanowić marker diagnostyczny w różnicowaniu gruczolaka w niskim i wysokim stopniu zaawansowania gruczolaka endometrium.

Z neoangiogenezą związana jest natomiast ekspresja markerów tego procesu, między innymi czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), endogliny (CD105), transbłonowej glikoproteiny, która jest receptorem transformującego czynnika wzrostu, TGF-?, oraz neuropiliny (NRP), ko-receptora dla VEGF. Konwencjonalnie prognozowanie przebiegu choroby nowotworowej i leczenia

opiera się głównie na dokładnym określeniu stopnia zaawansowania klinicznego. Zrozumienie komórkowych procesów odpowiedzialnych za rozsiew nowotworów i poznanie molekularnych markerów inwazyjności może być użyteczne nie tylko do udoskonalania diagnostyki i prognozowania przebiegu choroby, ale także do opracowania leków “celowanych”, skierowanych wybiórczo w stosunku do czynników odpowiedzialnych za inwazyjność nowotworów, oraz do opracowania nowych schematów terapeutycznych, pozwalających na zastosowanie takich leków.

Wykazano, że inhibicja endogliny pobudza indukowany przez TGF- β 1 wzrost oraz hamuje migrację komórkową. Z drugiej strony, endoglina zidentyfikowana została jako składnik szlaku śródbłonkowej syntazy tlenu azotu, który moduluje aktywność cyklooksyzgenazy-2. Wydaje się, iż endoglina moduluje przejście od komórek progenitorowych śródbłonka do czynnych komórek śródbłonkowych.

Angiogeneza ma zasadnicze znaczenie w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych, w tym w progresji choroby nowotworowej. Unaczynienie konieczne jest dla wzrostu nowotworu oraz metastazy. W przypadku niewystarczającego ukrwienia komórki nowotworowe ulegają apoptozie/martwicy. Z jednej strony biorąc pod uwagę wyraźną dystrybucję endogliny w tkankach, a z drugiej udowodnioną integrację czynnościową z TGF- β , nie jest zaskoczeniem, że uczestniczy ona w angiogenezie. Udział endogliny w angiogenezie potwierdza zaobserwowana śmierć myszy w wyniku wad rozwojowych naczyń, u których stwierdzono brak endogliny. Zaobserwowano wyraźną korelację pomiędzy poziomami endogliny, a markerami proliferacji komórek, takimi jak Ki-67. Wykorzystując techniki immunohistochemiczne zaobserwowano wyższą ekspresję endogliny na komórkach śródbłonka ulegających czynnej angiogenezie, w tym komórki śródbłonka nowotworu, w porównaniu do prawidłowego śródbłonka.

Ekspresję neuropilin obserwuje się w zdrowym dojrzałym jak i rozwijającym się układzie naczyniowym, zarówno na komórkach śródbłonka, komórkach mięśni gładkich naczyń jak i w śródbłonku naczyniowym raka. Jest to ważna obserwacja dotycząca ich roli w promowaniu angiogenezy w chorobach nowotworowych.

Przeprowadzone badania sugerują, że neuropiliny z jednej strony są mediatorami proangiogennymi poprzez wiązanie z VEGF, a z drugiej antyangiogennymi poprzez interakcję z semaforinami klasy 3, gdzie jak się sądzi, konkurują o wiązanie z VEGF. Istnieje wiele dowodów wskazujących, że SEMA uczestniczą w regulacji apoptozy, migracji komórkowej, wzrostu nowotworu czy angiogenezy. SEMA3 wywierają szczególnie wpływ na komórki śródbłonka. NRP2 preferencyjnie wiąże się z SEMA3B, 3C, 3D i 3F. Blokując interakcję VEGF-NRP, izoforma SEMA3F hamuje zależną od VEGF proliferację i migrację komórek.

SEMA3F jest inhibitorem adhezji i migracji komórek. Po części wynika to ze zmian sygnalizacyjnych, które mają wpływ na aktywację, bądź też stabilizację powierzchniowych integrin. Inhibicja integriny przez SEMA3F może wyjaśniać blokowanie migracji zarówno komórek śródbłonna jak i rakowych, co prowadzi do ograniczenia angiogenezy i metastazy.

Sądzi się, że przynajmniej dwa białka z rodziny semaforyn klasy 3 wykazują działanie antyangiogenne, w którym uczestniczą neuropiliny, w tym na pewno bierze udział SEMA3F. Analiza z udziałem mikromacierzy wykazała, że w naszym badaniu dwa geny z rodziny semaforyn klasy 3 uległy nadekspresji, tj. *SEMA3B* oraz *SEMA3F*. *SEMA3B* jest genem nadreprezentatywnym w różnicowaniu G2 vs K, zaś SEMA3F różnicuje stopień G3 z kontrolą. Nadekspresja SEMA 3F może hamować migrację komórkową, czego efektem może być negatywny wpływ na angiogenezę. Według mnie, jest to ważne spostrzeżenie.

Wykazano na przykład, że SEMA3F hamowało indukowaną przez VEGF oraz przez zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów angiogenezę, proliferację oraz przeżycie komórek. Brak bFGF wiążącego neuropiliny, w połączeniu z faktem, że SEMA3F nie hamuje wiązania zasadowego czynnika wzrostu fibroblastów z jego receptorem, sugeruje, że SEMA3F oddziałuje poprzez NRP-2. W innych badaniach wykazano, że SEMA3F hamuje angiogenezę nowotworu *in vivo*. Badania sugerują, iż działając poprzez NRP-2, VEGF promuje angiogenezę, podczas gdy SEMA3F jest inhibitorem tego procesu angiogenezy. Te cechy szczególne NRP i SEMA3 powodują, iż mogą one być potencjalnym celem terapii anty-angiogennych.

W badaniach analizowano rolę NRP-2 w pierwotnych komórkach śródbłonna u ludzi. Wykazano, że NRP-2 wchodzi w interakcję zarówno z VEGFR-2 jak i VEGFR-3. Oceniając nadekspresję bądź hamowanie funkcji NRP-2, wykazano zasadnicze znaczenie NRP-2 dla przeżycia i migracji komórek śródbłonkowych, indukowanych przez VEGF-A oraz VEGF-C. Stwierdzono również, że NRP-2 spełnia rolę ko-receptora dla VEGFR. Jako, że VEGFR-2 jest zawsze obecny w komórkach śródbłonkowych, gdzie następuje ekspresja VEGFR-3 wykazali, że NRP2 wchodzi w interakcję nie tylko z VEGFR-3, lecz również z VEGFR-2. Jeśli interakcja pomiędzy VEGFR i NRP2 ulega wzmocnieniu poprzez ko-ligand, to można przyjąć, że NRP2 spełnia funkcję ko-receptora obu tych VEGFR. Uzyskane przez nich wyniki wykazują, że NRP2 pełni funkcję ko-receptora dla VEGFR w odpowiedzi na VEGF-C. W naszej analizie wykazałem, że VEGF-C jako gen z nadekspresją w stadium G2 i G3 podlegał bardzo silnemu wyciszeniu. Skutkiem tego może być równie silny spadek stężenie swoistego mRNA, co w istotny sposób wpłynie na spadek przeżycia i migracji komórek śródbłonkowych.

SEMA5A jest molekułą, która wykazuje w różnych rakach, działanie zarówno onkogenne

jak i supresyjne. Wysoki poziom ekspresji SEMA5A oraz jego receptora, pleksyny-B3, wiąże się z agresywnością raka trzustki oraz raka prostaty. Stwierdzono, że ich ekspresja stanowi główną siłę napędową uczestniczącą w inwazji, migracji, proliferacji i wzroście tych nowotworów. W badaniach *in vitro* wykazano, że ekspresja SEMA5A prowadzi między innymi do spadku poziomu apoptozy w komórkach śródbłonna. Ponadto, down-regulację SEMA5A obserwowano w próbkach raka płuc, co wiązano z ogólnie niskim poziomem przeżycia, zarówno na poziomie transkrypcyjnym jak i translacyjnym. Możliwe jest istnienie warunkowego mechanizmu odpowiedzialnego z regulację kaskad sygnalizacyjnych.

Zastosowanie przez nas mikromacierzy wykazało, że w gruczolakoraku endometrium SEMA5A ulega bardzo silnemu wyciszeniu w stadium G2 i G3. Na podstawie powyższego można przyjąć, że w badanym przez nas nowotworze SEMA5A nie wpływa na wysoką agresywność raka. Jest to korzystne dla pacjentów spostrzeżenie.

Według naszej wiedzy jeszcze jedno białko zasługuje na uwagę, mianowicie EDIL 3 zwany też DEL-1. Jest białkiem macierzy pozakomórkowej, które jako jedno z pierwszych scharakteryzowano w morfogenezie naczyń. EDIL 3 był intensywnie badany wykazując silne działanie angiogenne i jest związane z regulacją angiogenezy oraz adhezji komórkowej. Jest to embrionalne białko komórek endotelialnych i nie ulega ekspresji po urodzeniu, jednak ulega ekspresji w wielu typach nowotworów. W naszych badaniach wykazaliśmy, że EDIL 3 ulega silnej nadekspresji. Nadekspresja EDIL3 może zmniejszyć apoptozę komórek nowotworowych i doprowadzić do wzrostu unaczynienia guza, co sprzyja wzrostowi guza. Możliwość EDIL 3 w modulowaniu unaczynienia guza sprawiają, że może być one potencjalnym celem antyangiogennej terapii raka.

Podsumowując, wyniki badań wskazują na istotną rolę NRP2 w czynnościach komórek śródbłonna, łącznie z VEGF i być może również pleksynami i integrynami. Pozostaje kwestia w jaki sposób wymienione białka współdziałają ze sobą, a jej wyjaśnienie pozwoli na lepsze zrozumienie mechanizmów leżących u podłoża angiogenezy. W tym świetle, wyniki moich badań sugerują zdecydowanie, że NRP-2 może być interesującym celem badań farmakologicznych.

Endogлина odgrywa ważną rolę w progresji nowotworu oddziałując na procesy angiogenezy, migracji i przerzutowania. Występuje na powierzchni komórek śródbłonkowych nowotworowych naczyń krwionośnych jak i na niektórych typach komórek nowotworowych. Endogлина jest pomocniczym koreceptorem dla TGF- β , odpowiedzialnym za proliferację, różnicowanie, migrację i adhezję komórek. Wiadomo, iż TGF- β 1 spełnia rolę czynnika tłumiącego rozwój nowotworu. Co więcej, indukuje on również stan zapalny i uwalnia czynniki angiogenne z komórek zapalnych *in*

vivo.

Endogлина (CD105) jest swoistym markerem proliferujących, aktywnych komórek śródbłonkowych naczyń krwionośnych. Białko to jest obecne w naczyniach guzów litych i ma prognostyczne znaczenie w terapii przeciwnowotworowej. Ekspresja CD105 wiąże się ze słabym rokowaniem w szeregu rodzajach choroby nowotworowej. Proangiogenna rola endogliny sugeruje, iż wykrycie endogliny mogłoby zostać wykorzystywane jako marker pozwalający na analizę angiogenezy oraz gęstości mikronaczyń guza. Wykazano, że przeciwciała endogliny mogą stanowić znacznie przydatniejsze markery gęstości mikronaczyń guza niż powszechnie stosowane białka śródbłonka.

Endogлина towarzyszy receptorowi TGF- β . Reguluje on ważne procesy komórkowe, takie jak, proliferacja, migracja, apoptoza, adhezja, organizacja cytoszkieletu czy modyfikacja macierzy pozakomórkowej. Wykazano, iż TGF- β 1 spełnia rolę czynnika tłumiącego rozwój nowotworu, przy czym indukuje on również stan zapalny i uwalnia czynniki angiogenne z komórek zapalnych *in vivo*.

Endogлина jest homodimerem, składającym się z dwóch podjednostek (95 kDa), połączonych mostkiem disiarczkowym. Występuje w dwóch izoformach, różniących się długością domeny cytoplazmatycznej. Forma długa zawiera 46, a krótka 14 reszt aminokwasowych. Nie ma funkcjonalnych różnic pomiędzy tymi izoformami.

Wykazano, że inhibicja endogliny pobudza indukowany przez TGF- β 1 wzrost oraz hamuje migrację. Wyniki sugerują, że endogлина moduluje działanie TGF- β 1 jako części kompleksu TGF- β R. Z drugiej strony, endogлина zidentyfikowana została jako składnik szlaku śródbłonkowej syntazy tlenku azotu, który moduluje aktywność cyklooksigenazy-2 (COX-2). Wydaje się, iż w fazie rozwoju, endogлина moduluje przejście z fazy progenitorowej śródbłonkowego do czynnych komórek śródbłonka.

Endogлина występuje na komórkach śródbłonkowych naczyń uczestniczących w procesie angiogenezy. W ludzkich komórkach prawidłowych CD105 występuje w niskim stężeniu. W wielu nowotworach, endogлина obecna jest zarówno w naczyniach peryferyjnych, jak i w naczyniach zlokalizowanych wewnątrz guzów nowotworowych. W angiogenezie nowotworowej endogлина bierze udział w aktywowaniu antyapoptotycznych sygnałów w niedotlenionych regionach guza. Endogлина ulega nadekspresji w aktywnej tkance śródbłonka naczyniowego w trakcie angiogenezy guza.

Angiogeneza ma zasadnicze znaczenie w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych, w tym w progresji choroby nowotworowej. Angiogeneza guza odgrywa istotną rolę we wzroście

nowotworu, przy czym uważa się, że ma również związek z metastazą. Rak endometrioidalny stanowi najbardziej powszechną formę złośliwego nowotworu kobiecego układu rozrodczego, w krajach rozwiniętych. Stwierdzono, że sygnalizacja TGF- β odgrywa istotną rolę w transformacji rakowej ludzkich komórek. Jego wpływ na raka jest dwuznaczny, bowiem TGF- β zapobiegają rozwojowi guza we wczesnym etapie kancerogenezy, natomiast w stadium zaawansowanym stają się promotorem metastazy. Sugeruje się, iż endogлина jest zasadniczym czynnikiem rozwoju różnych rodzajów raka. Up-regulacja endogliny w raku endometrioidalnym została wykazana za pomocą barwienia immunohistochemicznego. Wcześniejsze badania składników kanonicznego szlaku sygnałowego TGF- β , wykazały przerwanie ścieżki w pierwotnym raku endometrioidalnym. Z jednej strony biorąc pod uwagę wyraźną dystrybucję endogliny w tkankach, a z drugiej integrację czynnościową z układem TGF- β , nie jest zaskoczeniem, że uczestniczy ona w angiogenezie.

W wyniku przeprowadzonych badań wykazałem, że ekspresja tego białka była dobrze wyrażona w próbach stanowiących kontrolę w tym badaniu. Reakcja na ten enzym była widoczna tylko w komórkach śródbłonna.

Oceniając ekspresję endogliny w śródbłonku naczyniowym w stadium G1 w badanych strukturach zmienionego nowotworowo endometrium wykazałem, że gęstość optyczna produktu reakcji immunohistochemicznej na ten parametr była wysoka, osiągając 145% kontroli. Analizując poziom endogliny w stadium G2 w badanych strukturach wykazałem, że ogólna gęstość optyczna produktu reakcji immunohistochemicznej na to białko w śródbłonku osiągała poziom niższy niż w stadium G1, stanowiąc 75% jej poziomu. Oceniając poziom endogliny w stadium G3 w badanych strukturach tkankowych wykazałem, że ogólna gęstość optyczna produktu reakcji immunohistochemicznej na ten enzym była najwyższa ze wszystkich badanych grup. Osiągała ona prawie 160% poziomu grupy kontrolnej.

Analiza ekspresji endogliny w raku endometrium wykazała, że ogólna gęstość optyczna produktu reakcji immunohistochemicznej na to białko w stadium G2 była niewiele wyższa niż w kontroli. Stwierdzono, że stanowiła ona 110% kontroli. W stadium G1 i G3 ekspresja ta była wysoka i stanowiła około 150% kontroli. Nie ujawniono różnic znamienne statystycznych między tymi stadiami.

W stadium G1 ekspresję na endoglinę ujawniono również w zmienionych nowotworowo komórkach. Poziom tej ekspresji był bardzo niski. Stanowił on około 45% wartości ujawnionej w śródbłonku grupy kontrolnej. Ekspresję endogliny wykazano również w stadium G2 badanego nowotworu, ale ujawniała się ona na niskim poziomie, stanowiąc około 125% poziomu stadium G1. W stadium G3 stwierdzono wysoki poziom ekspresji endogliny. Była ona porównywalna do

wartości ujawnionej w śródbłonku grupy kontrolnej. Stanowiła ponad 2-krotną wartość poziomu stadium G1 (dodatkowe informacje na ten temat znajdują się w **pracy nr 2**).

Aby zainicjować neowaskularyzację, guz musi przestawić się na fenotyp angiogeny. Wyniki badań sugerują, że dzieje się to we wczesnej fazie rozwoju nowotworu. Co więcej, uważa się, że ogranicza on tempo progresji guza. Rola angiogenezy wewnątrz guza u pacjentów z rakiem endometrioidalnym została już dość dobrze udokumentowana w literaturze.

Jak już wiadomo, endogлина ulega preferencyjnej ekspresji w angiogenym śródbłonku guza. Ekspresja endogliny na śródbłonki guza może mieć zatem wartość diagnostyczną, o ile zostanie opracowana możliwość obrazowania tej ekspresji *in vivo*. Jeśli obrazowanie z wykorzystaniem endogliny pozwala na szczegółową identyfikację unaczynienia guza *in vivo*, to być może komórki odpowiadające za ekspresję endogliny staną się również celem terapeutycznym.

Komórki śródbłonka w prawidłowym, nieaktywnym śródbłonku są stabilne i wykazują bardzo niski wskaźnik obrotu. Dla kontrastu, śródbłonek angiogeny charakteryzuje się szybkim obrotem i określany jest jako „aktywowany”. Jednym z potencjalnych markerów aktywowanego śródbłonka jest endogлина. W tkankach zdrowych, ekspresja endogliny prawie w ogóle nie występuje. Jest ona wysoce selektywna w stosunku do neoangiogenezy, jednego z podstawowych czynników warunkujących metastazę. Według mojej wiedzy nie istnieją badania, które można by porównać z naszymi wynikami. Prawdopodobnie to pierwsze doniesienie, w którym oceniano poziomy endogliny w tkance pacjentów z rakiem endometrioidalnym w różnym stopniu zróżnicowania komórkowego (G1 - G3).

W naszej ocenie z wykorzystaniem mikromacierzy oraz programu Panther wykazałem, że gen endogliny ujawnia się jako różnicujący ze zmianą ekspresji w dwóch kompozycjach. W układzie G1 vs K gen ten ulega wyraźnej nadekspresji. Można więc przyjąć, że wzrost stężenia mRNA dla *ENG* będzie prowadził do hamowania wzrostu komórek, a tym samym będzie pełnić rolę czynnika hamującego wzrost nowotworu.

Z grupy transkryptomów G2 vs K oraz G3 vs K program Panther wskazał również na endoglinę, jako gen różnicujący. Tym razem jednak ujawniono wyciszenie genu, a co za tym idzie spadek stężenia mRNA. Konsekwencją tego stanu rzeczy będzie pobudzenie indukowanego przez czynnik TGF-? wzrostu komórek, a zatem wzrośnie prawdopodobieństwo progresji nowotworu.

Wiadomo, że sygnalizacja TGF- β odgrywa istotną rolę w transformacji rakowej ludzkich komórek. Jednak jego wpływ na raka jest dwuznaczny, bowiem jak się sądzi, TGF- β zapobiegają rozwojowi guza we wczesnym etapie kancerogenezy, natomiast w stadium zaawansowanym staje

się promotorem metastazy. Sugeruje się także, iż endogлина jest zasadniczym czynnikiem rozwoju różnych rodzajów raka. Up-regulacja endogliny w raku endometrioidnym została wykazana za pomocą barwienia immunohistochemicznego (IHC). Wcześniejsze badania składników kanonicznego szlaku sygnałowego TGF- β , wykazały przerwanie ścieżki w pierwotnym raku endometrioidnym.

Stosując technikę IHC wykazano podwyższony poziom endogliny w raku endometrioidnym. W naszych badaniach, ekspresję endogliny analizowaliśmy zarówno na poziomie mRNA jak i białka, chcąc wykazać czy obserwowany wzrost poziomu białka jest wynikiem up-regulacji mRNA. Nie stwierdzono istotnej zmiany *ENG* mRNA, natomiast poziom białka uległ statystycznemu wzrostowi w badanych próbkach, w porównaniu do tkanki zdrowej, co jest zgodne z wynikami IHC.

Analizowano schematy ekspresji endogliny jako markera w pierwotnym gruczolakoraku jelita grubego oraz w zdrowej błonie śluzowej jelita. O ile przeciwciała CD31 barwiły naczynia krwionośne w takim samym stopniu w jelicie prawidłowym, jak i rakowym, to ekspresję endogliny obserwowano głównie w zmianach rakowych, przy niewielkiej ekspresji lub całkowitym jej braku w naczyniach wolnej od nowotworu błony śluzowej. W innych badaniach również wykazano, iż ekspresja endogliny może służyć jako lepszy marker prognostyczny wyniku leczenia niż tradycyjne markery naczyniowe. W innym badaniu porównywano wartości ekspresji endogliny i antygeny związane z czynnikiem VIII. Analiza wielowariantowa wykazała, że endogлина stanowi niezależny czynnik prognostyczny przeżycia, w przeciwieństwie do antygeny związane z czynnikiem VIII. Oczywiście jest, że u pacjentów z rakiem endometrioidnym endogлина stanowi bardziej swoisty i istotniejszy prognostyk przeżycia, co potwierdzają wyniki innych badań w tym zakresie. Autorzy doszli do wniosku, że endogлина jest lepszym markerem angiogenezy. Te i inne badania sugerują, że endogлина może zostać uznana za wiarygodny marker wyniku choroby. Ponadto, stwierdzono, że endogлина stanowi bardziej swoisty i czulszy antygen w porównaniu do innych markerów angiogenezy nowotworowej.

W wielu badanych rodzajach raka, ekspresja endogliny, określona metodą barwienia immunohistochemicznego, była ściśle związana z niższym wskaźnikiem przeżycia pacjenta. Nie jest to niespodzianką, bowiem zwiększone unaczynienie guza stanowi uznany marker słabej prognozy. Co więcej, w nowotworach żołądkowo-jelitowych, piersi, prostaty i innych, ekspresja endogliny wiązała się z obecnością odległych przerzutów. Tak więc, ekspresja endogliny wydaje się posiadać wartość prognostyczną w wielu rodzajach guzów litych.

Co więcej, stwierdzono iż niektóre czynniki prognostyczne, jak głębokość nacieczenia

miometrium, stopień złośliwości oraz obszar nacieczenia naczyń limfatycznych, związane są z gęstością unaczynienia. Pacjenci z większą liczbą mikronaczyń wykazywali gorszy wskaźnik przeżycia, zarówno w analizie jedno- i wielowariantowej. Zaobserwowano także, że pacjenci z niską gęstością unaczynienia wykazywali średni wskaźnik przeżycia 123 miesiące w porównaniu do 75 miesięcy u pacjentów z wysoką gęstością unaczynienia guza.

Podsumowując, endogлина poprzez stopień unaczynienia jest istotnie związana ze stadiem choroby według FIGO, proliferacją nowotworu oraz prognozą w raku endometrioidnym. Wykazano również tendencję w kierunku wyższego wskaźnika przeżycia po radioterapii u pacjentów z wysoką gęstością mikronaczyniową.

Bezpośredni wpływ VEGF na komórki śródbłoka jest od dawna znany, natomiast rola NRP w tym kontekście jest aktualnie badana. Działanie angiogenne za pośrednictwem wiązania VEGF z NRP-2 zostało scharakteryzowane w mniejszym stopniu i wydaje się, że jego regulacja przebiega w sposób odmienny od NRP-1.

Pierwotnie neuropiliny zidentyfikowano jako neuronalne receptory a właściwie ko-receptory dla semaforyn klasy 3 odpowiedzialnych za wzrost aksonów (axon guidance) i działających w okresie rozwoju układu nerwowego. Funkcjonują one przede wszystkim jako ko-receptory ponieważ brak im wewnętrznej zdolności sygnalizacyjnej. W neuronach i innych typach komórek tworzą kompleks ze specyficznymi pleksynami tworząc funkcjonalne receptory semaforyn. Badania wykazały, że neuropiliny są również ko-receptorami dla śródbłonkowo naczyniowego czynnika wzrostu (VEGF), a tym samym zaangażowane są w procesach angiogenezy. Neuropilina 1 (NRP-1) współdziała między innymi z VEGF-A oraz z jego receptorem 2 (VEGFR-2) nasilając angiogenezę. Neuropilina-2 (NRP-2) jest ko-receptorem dla VEGF C i D oraz współdziała z VEGFR 3 angażując się w procesy limfogenezy. Jej ekspresję obserwuje się przede wszystkim na powierzchni komórek śródbłoka naczyń limfatycznych, ale też żylnych. Ekspresję NRP wykazano również na regulatorowych limfocytach T i komórkach dendrytycznych co wskazuje na ich udział w procesach odpornościowych. I w tym przypadku wywierają głównie efekt hamujący.

Ekspresję neuropilin wykazano w wielu nowotworach: raku jajników, trzustki czy prostaty a także w komórkach astocytozy czy też melanomy i wielu innych co można wiązać głównie ze wzrostem angiogenezy i zwiększoną przeżywalnością komórek guza. Ekspresja neuropilin w guzach wiąże się nie tylko z obecnością tych białek na powierzchni komórek śródbłoka, ale też na powierzchni i cytoplazmie komórek guza. Funkcja VEGF a tym samym NRP nie ogranicza się jedynie do angiogenezy i przepuszczalności naczyń. VEGF wpływa na funkcję komórek odpornościowych obecnych w mikrośrodowisku guza co z kolei wpływa na odpowiedź gospodarz

na guza. Receptory VEGF regulują również aktywność fibroblastów w zrębie guza.

NRP przypisuje się główną rolę w sygnalizacji z powodu ich zdolności do interakcji z i oddziaływania na funkcję wielu receptorów sprzężonych z kinazą tyrozynową i integryn. Obecnie wiadomo, że neuropiliny wchodzi w reakcję z na przykład transformującym czynnikiem wzrostu (TGF- β), czynnikiem wzrostu hepatocytów (HGF) czy płytko pochodnym czynnikiem wzrostu (PDGF). Reagując z receptorem MET (receptorem czynnika wzrostu hepatocytów,) zwiększającym zdolność HGF do stymulacji inwazji komórek raka trzustki do inwazji, jak również proliferacji i przeżycia glejaków. Reagując z receptorami TGF-? mogą wzmacniać sygnalizację a konsekwencją może być przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT).

Udowodniono, że zwiększona ekspresja NRP-1 koreluje ze zwiększoną inwazyjnością i skróceniem czasu przeżycia pacjenta a NRP-2 ze spadkiem apoptozy i szybszym wzrostem guza. Sądzi się, że neuropiliny mogą wpływać na proliferację, migrację, inwazyjność, przyleganie czy zdolność do tworzenia przerzutów. Nowe techniki leczenia nowotworów opierają się na próbach inaktywacji, blokowania określonych białek specyficznych dla komórek endotelialnych guza lub komórek guza. W ten sposób można znacznie ograniczyć skutki uboczne w leczeniu nowotworów. W tym celu należy skupić się na identyfikacji białek swoistych dla guza.

Kliniczne testy z udziałem pacjentów z zaawansowanym rakiem żołądka i piersi wskazują, że wysoka ekspresja NRP-1 jest prognostykiem słabej odpowiedzi na bevacizumab. Wskazuje to, że należy stosować terapię mieszaną uwzględniając też leki celowane w NPR. Badania przedkliniczne wskazują, że leki skierowane do NPR powinny być stosowane w terapii walki z rakiem. Ekspresja NPR jest minimalna w większości dojrzałych tkanek, co redukuje możliwość zaburzenia funkcji normalnych tkanek. Badania na myszach wskazują na minimalne efekty uboczne. Zastosowanie przeciwciał specyficznych do NPR-1 lub NRP-2 hamowało wzrost guza i przerzuty

Rak endometrioidny macicy mimo, że jest jednym z najczęściej diagnozowanych raków żeńskiego układu płciowego, głównie występującym u kobiet po menopauzie, pod względem ekspresji neuropilin nie został przebadany. We wcześniejszej naszej pracy wykazaliśmy na podstawie badań profilu ekspresji genów, że NRP-2 może być ważnym czynnikiem w diagnostyce i leczeniu raka endometrioidnego. Założeniem obecnej pracy jest potwierdzenie tego faktu na poziomie białka.

Badając gęstość optyczną neuropiliny 1 nie stwierdziłem ekspresji NPR-1 w zdrowym endometrium stanowiącym materiał kontrolny. W stadium G1 ekspresję NRP-1 ujawniono tylko w komórkach guza. Poziom tej ekspresji był niski. Odczyn lokalizował się tylko w cytoplazmie. Ekspresja NRP-1 w stadium G2 raka była wyższa niż w stadium G1 i stanowiła około 190%

poziomu stadium G1. W komórkach guza ujawniliśmy odczyn cytoplazmatyczny. W stadium G3 ekspresja NRP-1 był porównywalna ze stadium G2. Była to zmiana statystycznie znamienne w stosunku do grupy G1. Stanowiła ponad 180% wartość poziomu stadium G1. Podobnie jak w poprzednich stadiach obserwowaliśmy odczyn cytoplazmatyczny.

Podobnie jak w przypadku NRP1 nie zaobserwowaliśmy ekspresji NPR2 w materiale kontrolnym. W materiale pobranym z guzów odczyn był widoczny w śródbłonku naczyniowym oraz komórkach guza. W śródbłonku naczyniowym ekspresja NRP-2 w stadium G1 i G2 była na tym samym poziomie. W stadium G3 ekspresja była wyższa, ale nie był to wzrost znamieny statystycznie.

W komórkach nowotworowych w stadium G1 poziom ekspresji NRP-2 ujawniony w tym stadium był niski i stanowił 50% ekspresji komórek śródbłonka. Odczyn był zlokalizowany tylko w cytoplazmie. Ekspresja NRP-2 obserwowana w stadium G2, była wyższym w porównaniu ze stadium G1 i stanowiła około 120% poziomu stadium G1. W komórkach guza stwierdzono odczyn cytoplazmatyczny, a w części komórek również silny odczyn błonowy. W stadium G3 ekspresja NRP-2 była najwyższa. Zmiana była statystycznie znamienne zarówno w stosunku do stadium G1 jak i G2. Stanowiła ponad 140% wartość poziomu stadium G1. W komórkach guza ujawniliśmy odczyn cytoplazmatyczny. W preparatach występowały wyspy komórek z bardzo silnym odczynem błonowym. Ilość ich była znacznie większa niż w G2 (więcej informacji zawarto w **pracy nr 3**).

Rak endometrioidny macicy jest jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów ginekologicznym. Zgodnie z WHO klasyfikowany jest na 3 histologiczne typy różniące się stopniem zróżnicowania komórek: G1, G2 i G3). Częstość występowania, duża śmiertelność zmusza do ciągłego poszukiwania nowych terapii o większej skuteczności i mniejszych skutkach ubocznych, wydłużających przeżycie, poprawiających komfort życia pacjenta. Jednocześnie trwają poszukiwania markerów pozwalających na wczesne wykrycie zmian nowotworowych.

Wykrycie ekspresji neuropilin na powierzchni komórek śródbłonka, ale przede wszystkim komórek guza wskazuje, że są one szczególnie ważne w biologii nowotworów. Te wielofunkcyjne, transbłonowe glikoproteiny, ważne w procesie rozwoju układu nerwowego, procesach angiogenezy czy limfangiogenezy oraz odporności zapewniają nowotworom szybki rozwój. Reagując z różnymi czynnikami białkowymi: VEGF, HCG, FGF, TGF- β czy też semaforinami a także integrinami, zapewniają nie tylko rozwój naczyń zarówno krwionośnych jak i limfatycznych, ale poprzez działanie antyapoptotyczne, wpływ na aktywność limfocytów T_{reg} uniemożliwiają samoobronę gospodarza. Udział w EMT zapewnia migrację i tworzenie przerzutów.

Ekspresję lub nadekspresję neuropilin przede wszystkim NRP-2 wykazano jak dotąd w komórkach wielu nowotworów. Wiąże się ze wzrostem ilości naczyń i słabą prognozą przeżycia (w osteosarkomie i w niedrobnokomórkowym raku płuc), przerzutami do węzłów (w raku piersi). Ekspresja NRP-2 jest up-regulowana zarówno we wczesnych, jak i zaawansowanych stadiach neuroblastoma. Wpływ nadekspresji neuropiliny na pierwotne komórki śródbłonka u człowieka nie został jak dotąd zbadany. Przebadano pod tym względem wiele raków jednak nadal niewiele wiadomo o ekspresji neuropilin w raku endometrioidalnym. W moich wcześniejszych badaniach wykazałem, że z genów mogących mieć wpływ na procesy angiogenezy w obrębie raka endometrioidalnego wyraźne zmiany w ekspresji mRNA cechują między innymi *NRP-2*, wskazując, że NRP-2 może być ważnym celem farmakologicznym w leczeniu tego raka. Obecne badania miały na celu stwierdzenie czy zmiana ekspresji mRNA ma swoje przełożenie na zmiany ekspresji białek NRP-1 i NRP-2.

W materiale kontrolnym nie stwierdzono ekspresji żadnego z białek natomiast były w ilości wykrywalnej w tkance guzów. Ekspresja obu białek rosła wraz ze spadkiem stopnia zróżnicowania komórek guza. NRP-1 stwierdziliśmy tylko w komórkach nowotworu, natomiast NRP-2 zarówno w śródbłonku naczyń jak i w komórkach rakowych. Należy podkreślić narastającą w kierunku G1-G3 ekspresję NRP-2 w błonie komórkowej. Narastająca ekspresja obu białek w komórkach guza stwarza idealne warunki do jego rozwoju. Ekspresja NRP2 na powierzchni komórek śródbłonka umożliwia rozwój naczyń, szczególnie limfatycznych. Istnieją dowody potwierdzające, iż neuropiliny są również mediatorami angiogenezy, na przykład w chorobie nowotworowej. Wchodząc również w interakcję i modulują funkcję VEGFR1 oraz VEGFR2. Badania sugerują, iż działając poprzez NRP-2, VEGF promuje angiogenezę, podczas gdy w tym samym czasie SEMA3F jest inhibitorem angiogenezy.

Poprzez regulację integrzyn sygnalizacja VEGF/NRP wpływa na stopień zróżnicowania tego nowotworu. Szczególnie interesują nas pojawiające się koncepcje iż sygnalizacja VEGF/NRP w komórkach nowotworowych promuje zachowania agresywne oraz, że mediatorem takiego działania jest w części, zdolność NRP do modulowania funkcji integryny. Neuropiliny mogą również spełniać rolę receptorów dla VEGF i ulegają ekspresji na powierzchni komórek śródbłonkowych i nowotworowych. Postulowano również rolę neuropilin w szeregu kluczowych etapach procesu neowaskularyzacji u osobników dorosłych. Przeprowadzone badania sugerują, że neuropiliny są mediatorami działania proangiogenego, poprzez wiązanie z VEGF oraz antyangiogenego poprzez interakcję z semaforinami klasy 3, gdzie jak się sądzi, konkurują o wiązanie VEGF. Wiemy już na przykład, że ekspresja NRP-2 w raku piersi i prostaty skorelowana jest z chorobą agresywną.

Ekspresja NRP1 powoduje również podwyższoną angiogenezę i wzrost guza.

Ponieważ jak już wspomniano NRP-2 jest zaangażowana w wiele procesów związanych z rozwojem nowotworów (angiogeneza, limfangiogeneza, metastaza), a więc detekcja NRP-2 może stanowić narzędzie diagnostyczne i prognostyczne we wielu guzach w tym również raku endometrioidalnym macicy. Z danych literaturowych wynika, że ekspresja neuropilin w komórkach nowotworów złośliwych, przy niewielkiej ich ekspresji w zdrowych, dojrzałych tkankach stwarza możliwość zastosowania NRP-2, ale również NRP-1 jako celów nowych terapii w walce z tymi nowotworami i w ten sposób zahamować lub spowolnić rozwój guzów. W tym świetle, wyniki naszych badań sugerują zdecydowanie, że NRP-1 a szczególnie NRP-2 mogą być interesującym celem badań farmakologicznych.

Białka macierzy pozakomórkowej (ECM) są głównymi pozakomórkowymi składnikami mikrośrodowiska guza. Niektóre doniesienia sugerują, iż zmiany mikrośrodowiska spowodowane przez zmiany ekspresji białek pozakomórkowych, mogą wpływać na wzrost komórek, naciekanie, migrację, anoikis czy metastazę. Tak więc, ukierunkowanie na białka ECM może posiadać wartość terapeutyczną.

Białkiem takim jest między innymi EDIL3, znanym również jako DEL-1. EDIL-3, znany jako locus śródbłonna lub DEL-1 jest związany z macierzą zewnątrzkomórkową, glikoproteiną uwalnianą z komórek śródbłonna. Jest ono wydzielanym białkiem ECM, które zostało po raz pierwszy scharakteryzowane w morfogenezie naczyniowej.

Białko to jest ligandem integryny. Odgrywa ważną rolę w pośredniczeniu w angiogenezie i może odgrywać ważną rolę w przebudowie i rozwoju ściany naczynia. Wpływa także na zachowanie komórek śródbłonna.

EDIL3 jest pozakomórkowym białkiem macierzy i podlega rozwojowej regulacji i ekspresji podczas embriogenezy. EDIL3 wykrywany jest w angioblastach i wczesnych komórkach śródbłonna w rozwijających się narządach, w tym w sercu, płucach czy nerkach. Ponadto, EDIL3 wpływa na endocytozę, apoptozę, migrację komórek lub ich kombinację.

EDIL3 był intensywnie badany w waskularyzacji, wykazując silne działanie angiogenne lub waskularyzacyjne poprzez integrację $\alpha\beta 3$ integryny. Co więcej, białko to odgrywa rolę w modulowaniu adhezji immunocytów poprzez interakcje z integrynami specyficznymi dla leukocytów. EDIL-3 ulega nadekspresji w wielu chorobach nowotworowych, jak rak wątrobowokomórkowy i może pełnić rolę czynnika prognostycznego w złym rokowaniu. Rola EDIL3 w nowotworach ujawnia się także w kilku nowotworach złośliwych. Na przykład, w przypadku raka trzustki, EDIL3 jest jednym z czynników zrębowych, które wskazują na złe

rokowanie. Inne badanie koncentrujące się na kancerogenezie wrzodziejącego raka jelita grubego związanego z zapaleniem jelita grubego sugeruje, że EDIL3 może ułatwiać ten proces. EDIL3 można również wykryć w ekzosomach komórek raka pęcherza moczowego, ułatwiając progresję nowotworu.

Na przykład, w przypadku HCC, dane genomyczne sugerują podwyższony poziom EDIL3 w porównaniu z normalną wątrobą, a analizy kliniczne ujawniły, iż EDIL3 może wpływać na prognozę w HCC.

W obecnej pracy (**pozycja nr 4 w cyklu**), koncentrujemy się na udziale EDIL3 w raku endometrium, wykazując, iż EDIL3 może charakteryzować się wysokim poziomem ekspresji u pacjentek z rakiem endometrium. Celem badań była ocena ekspresji białek EDIL3 w wycinkach endometrium, z zastosowaniem analizy immunohistochemicznej. Według mojej wiedzy jest to pierwsza praca, w której podjęto próbę skorelowania ekspresji białka EDIL3 z analizą mikromacierzową, którą opublikowaliśmy wcześniej.

EDIL3 po raz pierwszy zidentyfikowano jako białko macierzy pozakomórkowej. Jego ekspresja następowała w komórkach śródbłonna w embrionalnym okresie rozwoju naczyń. Co więcej, okazało się, że ekspresja EDIL3 utrzymuje się na niskim poziomie w zdrowej tkance mózgowej i wzrasta wraz z niedotlenieniem mózgu. To sugeruje, że białko to może uczestniczyć w indukowanej przez niedotlenienie angiogenezie.

Wykazano, że EDIL3 posiada zdolność wzmacniania angiogenezy nowotworu poprzez stymulację proliferacji spoczynkowych komórek śródbłonkowych, co wskazuje, iż EDIL3 może stanowić nowy cel terapii antyangiogennej i odgrywa istotną rolę w patogenezie guza.

Wykazano, iż EDIL3 jest białkiem macierzy, promującym adhezję komórek śródbłonna poprzez interakcję z receptorem integrynowym $v3$ oraz hamującym tworzenie struktur naczyniopodobnych. Wcześniejsze badania wykazały, że EDIL3 odgrywa istotną rolę w mediacji angiogenezy i może być istotnym czynnikiem przebudowy i rozwoju ścian naczyń. Wykazano na przykład, że zmniejszenie ekspresji EDIL3 hamowało wzrost komórek rakowych jelita grubego. Nadekspresja EDIL3 przyspiesza wzrost guza poprzez wzmocnienie formowania się naczyń, co sugeruje, iż peptyd ten jest potencjalnym celem czynników anty-angiogennych.

Angiogeneza odgrywa istotną rolę w rozwoju i progresji nowotworu, co stanowi wypadkową działania szeregu czynników angiogennych i antyangiogennych, zarówno samego guza jak i komórek gospodarza. Białko EDIL3 uczestniczy w adhezji komórek i inicjuje angiogenezę poprzez wiązanie z $\alpha\beta3$ i $\alpha\beta5$. W pracach naukowych potwierdzono, że poziom ekspresji $\alpha\beta3$ i $\alpha\beta5$ jest wyższy w komórkach śródbłonkowych guza niż w zdrowych sinusoidalnych komórkach śródbłonna.

Sugeruje to, że komórki nowotworowe z wysokim poziomem ekspresji EDIL3 potrafią stymulować wzrost komórek naczyń śródbłonka i promować angiogenezę w HCC. Co więcej, wykazano, że EDIL3 jest w stanie wydłużyć okres przeżycia komórek śródbłonka poprzez zdolność promowania angiogenezy w wyniku hamowania apoptozy w komórkach śródbłonka.

Wcześniejsze badania wykazały, że ekspresja EDIL3 była indukowana przez pochodzące z guza czynniki VEGF. Na przykład, mimo zasadniczej roli VEGF i częstej mutacji p53 w raku trzustki, konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań w celu określenia czy ten typ modulacji ma wpływ na podwyższony poziom EDIL3.

Aktualne badania koncentrowały się na EDIL3, białku komórkowym, którego znaczenie kliniczne i funkcje biologiczne w raku endometrium pozostają nieznane. Obserwowaliśmy wzrost poziomu EDIL3 w próbkach klinicznych, w porównaniu do zdrowych osobników kontrolnych. Uzyskane przez nas aktualne wyniki badań wskazują, że szlak związany z EDIL3 odgrywa istotną rolę w progresji ludzkiego raka endometrium. Obserwacje te potwierdzono w badaniach, gdzie EDIL3 wykazywało dodatnią ekspresję u większości pacjentów z HCC, co według tych autorów wskazuje, iż ludzkie komórki raka wątroby posiadają zdolność wydzielania EDIL3, uczestniczącego w angiogenezie HCC.

Według naszej wiedzy białko EDIL3 zasługuje na szczególną uwagę. EDIL3 był intensywnie badany wykazując silne działanie angiogenne i jest związane z regulacją angiogenezy oraz adhezji komórkowej. Jest to embrionalne białko komórek endotelialnych i nie ulega ekspresji po urodzeniu, jednak ulega ekspresji w wielu typach nowotworów. W naszych badaniach wykazaliśmy, że EDIL3 ulega silnej nadekspresji ($FC = (+)1,7940$). W stadium G1 nadekspresja EDIL3 może zmniejszyć apoptozę komórek nowotworowych i doprowadzić do wzrostu unaczynienia guza, co sprzyja wzrostowi guza. Możliwości EDIL3 w modulowaniu unaczynienia guza sprawiają, że może być one potencjalnym celem antyangiogennej terapii raka.

Badając szereg linii komórkowych HCC oraz prawidłowe linie komórkowe, zaobserwowano ekspresję EDIL3 zarówno w zdrowych jak i rakowych liniach komórkowych. To może sugerować, że EDIL3 może nie być bezpośrednio związane z kancerogennością linii komórkowych guza. Co ciekawe, wykazaliśmy, że wewnątrzkomórkowy poziom białka EDIL3 rośnie wraz ze spadkiem zróżnicowania komórkowego guza. pomimo dużych różnic w transkrypcji. Ta niespójność w transkrypcji i tłumaczeniu została wyjaśniona różnicą w wydzielanym EDIL3. Co więcej, nadmierna ekspresja lub obniżenie poziomu transkrypcji EDIL3 wpłynęło tylko na wydzielany EDIL3. Na podstawie tych obserwacji w liniach komórkowych i próbkach ludzkich, postulujemy, że EDIL3 jest utrzymywany w stanie gotowości przez wiele typów komórek.

Przyczyna podwyższenia poziomu EDIL3 w raku endometrium nie jest jak dotąd jasna. Istnieją na przykład sugestie sugerujące, że VEGF indukuje ekspresję EDIL3, przynajmniej w komórkach złośliwych, być może na zasadzie synergizmu w tworzeniu nowych naczyń krwionośnych. Niewykluczony jest udział niektórych cytokin zapalnych, przynajmniej w śródbłonku.

Nasze badanie sugeruje, że wysoki poziom autokrynnego EDIL3 może przyczyniać się do wspomaganie progresji komórek rakowych, co może prowadzi do niekorzystnych efektów klinicznych. Przerwanie kontaktu EDIL3 z integrzynami, na przykład za pomocą inhibitorów u pacjentów z wysokim poziomem EDIL3 może mieć potencjalną wartość terapeutyczną.

Stwierdziłem zaskakującą lokalizację ekspresji EDIL3 wyłącznie w komórkach zmienionych nowotworowo w grupach badanych. W fazie G1 ujawniono wysoki poziom ekspresji tego białka, po czym w G2 i G3 stwierdzono dalszy, wyraźny wzrost. Równocześnie nie ujawniono ekspresji EDIL3 w grupie kontrolnej.

Sugerujemy, że badany EDIL3 może być uznana za wiarygodny marker zmian chorobowych w endometrium.

V. Podsumowanie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych:

- 8** prac oryginalnych opublikowanych w recenzowanych czasopismach posiadających IF
- 13** prac oryginalnych opublikowanych w recenzowanych czasopismach nie posiadających IF

- 1** praca pogładowa opublikowana w recenzowanym czasopiśmie posiadającym IF
- 5** prac pogładowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach nie posiadających IF

- 1** opis przypadku opublikowany w recenzowanym czasopiśmie posiadającym IF

Całkowity Impact Factor pozostałego dorobku naukowego zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 7,866. Łącznie z cyklem prac 15.245

Łączna punktacja MNiSW: 328

Liczba cytowań: 77 (Web of Since) / 131 (Scopus)

Index Hirscha: 4 (Web of Since) / 7 (Scopus)

Pozostałe:

- 1 praca oryginalna w suplemencie czasopisma posiadającego IF (IF=0,352; MNiSW=13)
- 1 praca oryginalna w suplemencie czasopisma nie posiadającego IF (MNiSW=9)
- 33 streszczenia ze zjazdów międzynarodowych (18) i krajowych (15)

Tematyka prac badawczych pozostałego dorobku naukowego:

Moje zainteresowania naukowe obejmują zagadnienia dotyczące zarówno badań doświadczalnych jak i klinicznych. Ze względu na obrane specjalizacje, czyli ginekologia i położnictwo oraz ginekologia onkologiczna, badania dotyczą szeroko pojętej oceny zdrowia kobiet, często narażonych na leczenie chirurgiczne (zabiegi ginekologiczne i położnicze, zabiegi z zakresu ginekologii onkologicznej, uroginekologii, chorób piersi), a także leczenie uzupełniające nowotworów żeńskiego narządu rodno i gruczołu piersiowego jak chemioterapia i radioterapia.

Od początku mojej pracy zawodowej i naukowej związany byłem z ośrodkami zajmującymi się ginekologią onkologiczną. Pierwszym miejscem mojej pracy była Klinika Ginekologii i Onkologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, następnie Klinika Ginekologii Onkologicznej Centrum Onkologii im. Łukaszczyka w Bydgoszczy, a obecnie Oddział Ginekologii i Położnictwa z Ginekologią Onkologiczną Szpitala Specjalistycznego im. Rydygiera w Krakowie.

W pracy zawodowej i naukowej, moje zainteresowania dotyczą leczenia operacyjnego, głównie w zakresie ginekologii onkologicznej i uroginekologii z uwzględnieniem technik małoinwazyjnych.

Od początku pracy lekarza skupiałem się na ocenie wartości rokowniczej przerzutów w węzłach chłonnych w nowotworach ginekologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem najczęstszego obecnie nowotworu dolnego odcinka narządu rodno kobiet, czyli raka endometrium. Praca doktorska obroniona w 2009 roku na Uniwersytecie Jagiellońskim, pod kierownictwem Pana prof. dr hab. med. Antoniego Basty dotyczyła właśnie tego nowotworu, w leczeniu którego, pomimo wprowadzenia klasyfikacji chirurgiczno-patomorfologicznej stopnia zaawansowania, wielu autorów podważała konieczność usuwania węzłów chłonnych, podczas pierwotnej operacji ginekologiczno-onkologicznej. W naszych wynikach potwierdziliśmy

konieczność usuwania węzłów chłonnych wzdłuż naczyń biodrowych miednicy małej [1,2]. W kolejnym etapie badań nad optymalizacją leczenia raka endometrium badaliśmy występowanie przerzutów w węzłach okołoaortalnych i potwierdziliśmy, że mogą występować w nich przerzuty niezależnie od zajęcia węzłów chłonnych miednicy. Takie wyniki, są zgodne z obecnie zmienioną najnowszą klasyfikacją stopnia zaawansowania FIGO (The International Federation of Gynecology and Obstetrics), gdzie w III stopniu zaawansowania nowotworu ujęto osobno obecność przerzutów w węzłach chłonnych miednicy lub/i węzłach okołoaortalnych (stopnie IIIa, IIIb, IIIc) [3]. W raku endometrium ocenialiśmy również ryzyko wystąpienia powikłań śródoperacyjnych poszerzonego zabiegu, w naszych wynikach przy doświadczonym zespole operacyjnym ryzyko to było nieistotne statystycznie. We wnioskach zaproponowaliśmy obligatoryjne usuwanie węzłów miednicy oraz okołoaortalnych, co korzystnie wpływa na prawidłową ocenę czynników prognostycznych dotyczących dalszego leczenia raka endometrium. Pełna informacja i prawidłowa ocena stopnia zaawansowania pozwala na ograniczenie stosowania radioterapii (w tym brachyterapii) wśród pacjentek w niskim stopniu zaawansowania, a w przypadku wyższego stopnia prowadzi do prawidłowego zastosowania terapii uzupełniającej (radioterapia, chemioterapia, radiochemioterapia). Takie postępowanie poprawia wyniki leczenia, ułatwia też do niego dostęp oraz zmniejsza ilość powikłań terapii uzupełniającej, jednak wymaga dobrze funkcjonującego na różnych poziomach wyspecjalizowanego ośrodka onkologicznego[4].

1. Basta A, Pityński K, **Oplawski M**, Peszek W, Przeszlakowski D, Basta P.
Patomorfologiczne cechy raka endometrium, a obecność przerzutów w węzłach chłonnych miedniczych. Pathological parameters of endometrial cancer and presence of metastases in pelvic lymph nodes. *Prz. Lek.* 2001; 58(9): 836-838
2. **Oplawski M.** promotor Basta A. - praca doktorska
Znaczenie terapeutyczno-prognostyczne występowania przerzutów w węzłach chłonnych miednicy małej w operacyjnym raku endometrium. Kraków 2009, 104 k. : il., bibliogr. k. 77-89, Praca doktorska. Uniwersytet Jagielloński. Collegium Medicum. Wydział Lekarski.
3. **Oplawski M**, Kojs Z, Kosobucki R, Smoczyńska M.
Limfadenektomia miednicza i okołoaortalna w przypadku raka endometrium. Pelvic and periaortic lymphadenectomy in the treatment of endometrial cancer. *Curr. Gynecol. Oncol.* 2013; 11(2): 151–158

4. **Oplawski M**, Tomasz Bieda, Marcin Zarawski, Zbigniew Kojs.

Rozległość limfadenektomii w raku endometrium oraz jej wpływ na utratę krwi i czas trwania zabiegu. The extent of lymphadenectomy in endometrial cancer and its effect on blood loss and procedure duration. *Curr. Gynecol. Oncol.* 2015; 13(2): 99–105

Na przełomie XX i XXI wieku pojawiły się doniesienia dotyczące oceny tzw. węzła wartowniczego (sentinel node). Uznaliśmy, że wprowadzenie tego badania do ginekologii onkologicznej może umożliwić zastosowanie małoinwazyjnych technik operacyjnych. Uczestniczyłem w badaniach możliwości oznaczania węzła wartowniczego, przeprowadzanych przez zespół Kliniki Ginekologii i Onkologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Nasze badania dotyczyły oceny węzła wartowniczego w nowotworach sromu, szyjki macicy, endometrium. W badaniach używano znacznika radioaktywnego oraz barwnikowego, znacznik radioaktywny podawano 24-12 godzin przed zabiegiem, następnie wykonywano badanie scyntygraficzne oraz ocenę śródoperacyjną gamma kamerą, natomiast znacznik barwnikowy podawano przed rozpoczęciem zabiegu. Wyniki wykazały istotną statystycznie korelację pomiędzy wskazanym jako wartowniczy węzłem chłonnym (SN), a dodatkim badaniem patomorfologicznym w raku sromu, oraz raku szyjki macicy. W przypadku tych nowotworów złośliwych podanie znacznika jest łatwo dostępne i nie budzi kontrowersji. W przypadku raka endometrium ze względu na ograniczone możliwości podania znacznika nie wykazano takiej korelacji, co wg mnie potwierdza tezę o konieczności wykonywania systemowej limfadenektomii w tym nowotworze [1,2,3]. Ze względu na to, że Klinika Ginekologii i Onkologii CMUJ zajmowała się także, w tamtym okresie, leczeniem raka piersi to przeprowadziliśmy badanie mające ocenić korelację pomiędzy wielkością pierwotnego nowotworu piersi, a skutecznością tej metody diagnostycznej i stwierdziliśmy taki związek [4]. Pierwsze badania nad węzłem wartowniczym na świecie dotyczyły m.in. czerniaka, dlatego ocenialiśmy również możliwości diagnostyczne tej metody w przypadku bardzo rzadkiego schorzenia jakim jest czerniak sromu, wyniki naszych badań wykazały korzyści płynące z diagnostyki węzła wartowniczego w tym nowotworze [5]. Obecnie technika detekcji węzła wartowniczego jest szeroko stosowana w ginekologii onkologicznej, chirurgii onkologicznej, dermatologii oraz leczeniu raka gruczołu piersiowego.

1. Pityński K, Basta A, **Oplawski M**, Przeszlakowski D, Hubalewska-Hoła A, Krysztopowicz W. Znakowanie węzłów limfatycznych i poszukiwanie węzła wartowniczego w raku szyjki macicy, raku endometrium i raku sromu. Lymph node mapping and sentinel node detection in carcinoma

of the cervix, endometrium and vulva. *Ginekol. Pol.* 2003; 74(9):.830-835

2. Hubalewska-Hoła A, Sowa-Staszczak A, Huszno B, Markocka A, Pityński K, Basta A, **Oplawski M**, Basta P. Use of Tc99m-nanocolloid for sentinel node identification in cervical cancer. *Nucl. Med. Rev.* 2003; 6(2): 127-130

3. Basta A, Pityński K, Basta P, Hubalewska-Hoła A, **Marcin Oplawski**, Przeszlakowski D. Sentinel node in gynaecological oncology. *Rep. Pract. Oncol. Radiother.* 2005; 10(2): 48-51

4. Basta P, Tomaszewska R, Pityński K, **Oplawski M**, Basta A. Biopsja węzła wartowniczego w raku sutka a wielkość guza. Sentinel node biopsy in breast cancer and primary tumor dimension. *Ginekol. Pol.* 2003; 74(9): 666-670

5. Pityński K, **Oplawski M**, Banaś T, Okoń K, Wicherek Ł, Basta A. Wyniki biopsji węzła wartowniczego w czerniaku sromu. Outcomes of sentinel lymph node procedure in vulvar melanoma. *Ginekol. Pol.* 2005; 76 supl. 3: 36-40

Uczestniczyłem również w pracy zespołu Katedry Ginekologii i Położnictwa CMUJ badającym białka uczestniczące w apoptozie i proliferacji RCAS1 i MT w raku endometrium. W badaniu stwierdziliśmy zwiększoną ekspresję RCAS1 i nieistotny wzrost MT porównywalny do fazy wydzielniczej cyklu miesięczkowego, natomiast liczba komórek CD56 znacznie się obniżyła. W wyniku tych badań stwierdzono, że zdolność endometrium do określania aktywności cytotoksycznej (zmiany ekspresji RCAS1) i wysokiej ochrony przed uszkodzeniem DNA (ekspresja MT) wraz z towarzyszącymi zmianami liczby komórek odpornościowych i ich aktywności, obserwowanymi w prawidłowym endometrium podczas faz cyklu, wydaje się mieć istotne znaczenie dla rozwoju gruczolakoraka endometrium [1].

W przypadku raka szyjki macicy uczestniczyłem w badaniach nad ekspresją białek RCAS1 i B7H4 obecnych w makrofagach i fibroblastach guza nowotworowego. W badaniu stwierdziliśmy korelację pomiędzy większą immunoreaktywnością RCAS1 oraz B7H4, a wyższym stopniem zaawansowania nowotworu dotyczącym zarówno miejscowego zaawansowania jak i przerzutów odległych [2].

1. Wicherek L, Popiela TJ, Gałązka K, Dutsch-Wicherek M, **Oplawski M**, Basta A, Klimek M. Metallothionein and RCAS1 expression in comparison to immunological cells activity in endometriosis, endometrial adenocarcinoma and endometrium according to menstrual cycle changes. *Gynecol. Oncol.* 2005; 99(3): 622-630
2. Gałązka K, **Oplawski M**, Windorska W, Skret-Magierlo J, Koper K, Basta P, Mach P, Dutch-Wicherek M, Mazur A, Wicherek L. The immunohistochemical analysis of antigens such as RCAS1 and B7H4 in the cervical cancer nest and within the fibroblasts and macrophages infiltrating the cancer microenvironment. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2012; 68(1): 85-93

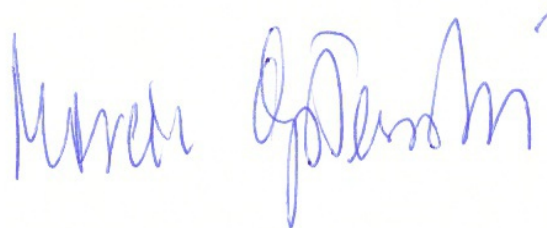
W trakcie pracy zawodowej często obserwujemy, że skojarzone leczenie nowotworów może powodować skutki uboczne, dotyczące układu krwionośnego, układu pokarmowego czy układu moczowego. W związku z tym porównaliśmy grupę pacjentek leczonych operacyjnie – usunięcie macicy z powodów nieonkologicznych z grupami pacjentek, uznanych za wyleczone, z powodu raka endometrium (usunięcie macicy wraz z brachyterapią) oraz leczone z powodu raka jajnika (usunięcie macicy z chemioterapią) pod kątem zaburzeń w układzie moczowym oraz jakości życia [1,2]. Badania wykazały istotnie statystycznie większy odsetek kobiet z problemami dotyczącymi układu moczowego (wysiłkowe nietrzymanie moczu, pęcherz nadreaktywny, mieszane postacie nietrzymania moczu) u pacjentek po uzupełniającej radioterapii zarówno jako powikłanie wczesne i późne. Jakość życia była oceniana, jako statystycznie istotnie gorsza u pacjentek po uzupełniającej radioterapii jak również w przypadku uzupełniającej chemioterapii. Wydaje się, że w przypadku pacjentek z nowotworami złośliwymi, zmiany w komforcie życia, nie są związane tylko z zaburzeniami w obrębie dolnego odcinka przewodu moczowego, ale również ze świadomością ryzyka nawrotu choroby podstawowej.

1. **Oplawski M**, Kojs-Pasińska E, Smoczyńska M, Kwiatkowski M, Jaszczyński J, Kojs Z. Wpływ skojarzonego leczenia raka jajnika na funkcje układu moczowego. The impact of combination therapy for ovarian carcinoma on the urinary tract. *Curr Gynecol Oncol* 2015; 13(4): 217–223
2. **Oplawski M**, Kosobudzki R, Kwiatkowski M, Kojs Z. Ocena funkcji układu moczowego oraz komfortu życia kobiet po skojarzonym leczeniu raka endometrium. An assessment of the

urinary function and the comfort of life in patients after endometrial cancer combined treatment.
Curr Gynecol Oncol 2015; 13(2): 78–84

Podsumowując, mój łączny dorobek naukowy obejmuje 30 publikacji pełnotekstowych oryginalnych o współczynniku oddziaływania $IF=15,245$ (KBN/MNiSW=328). W 9 publikacjach jestem pierwszym autorem.

W oparciu o listę *Journal Citation Reports* liczba cytowań (bez autocytowań) moich publikacji według bazy *Web of Science* wynosi 77, Index Hirscha 4. Natomiast według bazy Scopus liczba cytowań wynosi 131, a indeks Hirscha 7

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Marek Górecki'.