

AUTOREFERAT

Dr n. med. Jarosław Szefel

Zakład Propedeutyki Onkologii
Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i
Tropikalnej
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk 2016

Spis treści

I. Życiorys.....	1
1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne	1
2. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych.....	1
Praca zawodowa	1
Praca dydaktyczna.....	2
II. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):.....	2
A. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego	2
B. Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa:.....	3
C. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	5
Piśmiennictwo.....	11

I. Życiorys

Imię i nazwisko: Jarosław Szefel

1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskie:

1982 r. – uzyskanie dyplomu lekarza, Akademia Medyczna w Gdańsku, Wydział Lekarski

1986 r. – uzyskanie tytułu specjalisty I^o w dziedzinie chirurgii ogólnej,

1997 r. – uzyskanie tytułu specjalisty II^o w dziedzinie chirurgii ogólnej,

2002 r. – uzyskanie tytułu specjalisty w dziedzinie chirurgii onkologicznej,

2011 r. – certyfikat umiejętności z zakresu leczenia żywieniowego i metabolizmu wydany przez Polską Szkołę Żywienia i Metabolizmu przy Polskim Towarzystwie Żywienia Pozajelitowego, Dojelitowego i Metabolizmu,

2012 r. – uzyskanie stopnia doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy: „Karnityna, a niedożywienie w przebiegu choroby nowotworowej”, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny.

2. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych **Praca zawodowa**

1982 – 2001 r. – Praca na pełnym etacie w Zakładzie Opieki Zdrowotnej w Gdyni na stanowiskach: młodszy asystent, asystent, a następnie starszy asystent Oddziału Chirurgicznego Szpitala Miejskiego im. J. Brudzińskiego w Gdyni.

1982-1985 – pełnienie dyżurów lekarskich na Oddziale Ginekologii i Położnictwa Szpitala Miejskiego w Gdyni.

1987 – 1999 pełnienie dyżurów w ambulatorium chirurgicznym Miejskiej Stacji Pogotowia Ratunkowego w Gdyni.

1999– 2005 – pełnienie samodzielnych dyżurów w Oddziale Urologicznym Szpitala Miejskiego w Gdyni.

2002 - 2003 r. – praca na pełnym etacie jako specjalista chirurg w Portowym Zakładzie Opieki Zdrowotnej w Gdyni.

2004 - 2006 r. – Praca na stanowisku zastępcy ordynatora Oddziału Chirurgii Ogólnej Szpitala im. Franciszka Żaczka w Pucku.

Od 01.09.2004 r. do chwili obecnej – starszy asystent Oddziału Chirurgii Onkologicznej Gdynskiego Centrum Onkologii, Szpitala Wojewódzkie, Sp. z o.o. w Gdyni.

Od 01.02.2013 r. do chwili obecnej pracownik naukowo - dydaktyczny na etacie adiunkta w Zakładzie Propedeutyki Onkologii Wydziału Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Praca dydaktyczna

Prowadzenie wykładów, seminariów i ćwiczeń z propedeutyki chirurgii ze studentami kierunku Ratownictwo Medyczne, ćwiczeń z Żywienia Klinicznego w Chirurgii ze studentami kierunku Dietetyka, oraz ćwiczeń z chirurgii ze studentami Wydziału Lekarskiego.

Kierownik naukowy kursów „Podstawy leczenia żywieniowego” Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego obowiązujących lekarzy objętych programem modułu podstawowego specjalizujących się w dziedzinach chirurgii: ogólnej, onkologicznej, dziecięcej, klatki piersiowej, naczyniowej, plastycznej.

Wykładowca Polskiej Szkoły Żywienia i Metabolizmu działającej przy Polskim Towarzystwie Żywienia Pozajelitowego, Dojelitowego i Metabolizmu (POLSPEN) w latach 2012 i 2013. Wykłady z "Metabolizmu białka, węglowodanów i kwasów tłuszczowych".

Przewodniczący Komitetu Żywieniowego Szpitala Morskiego w Gdyni wchodzącego w skład Szpitala Wojewódzkie w Gdyni, sp. z o.o.). Organizator cyklicznych szkoleń dla członków zespołów żywieniowych na temat terapii żywieniowej.

II. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

* w przypadku, gdy osiągnięciem tym jest praca/ prace wspólne, należy przedstawić oświadczenia wszystkich jej współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie

A. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego.

Przedstawiony do oceny cykl 5 prac opublikowanych w latach 2012-2015 nosi tytuł **"Zaburzenia transportu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w kacheksji nowotworowej oraz udział ich metabolitów w inicjacji i progresji nowotworów złośliwych"**.

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem pięciu prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach, znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports (JCR)*. Jestem pierwszym autorem trzech i autorem do korespondencji czterech prac ujętych w wykazie.

B. Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa:

1. **Szefel J**, Kruszewski WJ, Ciesielski M, Szajewski M, Kawecki K, Aleksandrowicz-Wrona E, Jankun J, Lysiak-Szydłowska W: L-carnitine and cancer cachexia. I. L-carnitine distribution and metabolic disorders in cancer cachexia. *Oncol Rep* 28: 319-323, 2012. DOI: 10.3892/or.2012.1804

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu hipotezy badawczej, naborze pacjentów do badania, uzyskaniu zgody na udział w badaniu, pobieraniu materiału biologicznego i przekazywaniu go do laboratorium, analizie statystycznej wyników, wyciągnięciu wniosków, opracowaniu tabel i rysunków, napisaniu manuskryptu, oraz korespondencji z redakcją wydawnictwa związaną z przygotowaniem manuskryptu do publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na – 80%

Punktacja IF: 2.297

Punktacja ministerstwa: 20

2. **Szefel J**, Kruszewski WJ, Ciesielski M, Szajewski M, Kawecki K, Jankun J, Lysiak-Szydłowska W: L-carnitine and cancer cachexia. II. Effects of lipid emulsion used in total parenteral nutrition on parameters of hemostasis and inflammatory state in L-carnitine deficiency in myocytes. *Oncol Rep* 28: 324-329, 2012. DOI: 10.3892/or.2012.1805

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu doświadczeń, doborze zespołu osób do współpracy przy realizacji projektu, znaczącym udziale w pozyskaniu funduszy na realizację projektu, udziale w naborze pacjentów i uzyskaniu od nich zgody na udział w badaniu, pobieraniu materiału biologicznego, analizie statystycznej wyników, wyciągnięciu wniosków, opracowaniu tabel i rysunków, napisaniu manuskryptu, oraz korespondencji z redakcją wydawnictwa związaną z przygotowaniem manuskryptu do publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na – 80%

Punktacja IF: 2.297

Punktacja ministerstwa: 20

3. Piotrowska M, **Szefel J**, Skrzypczak-Jankun E, Lysiak-Szydłowska W, Szajewski M, Aleksandrowicz-Wrona E, Jankun J.: The concentration of 12-lipoxygenase in platelet rich plasma as an indication of cancer of the prostate. *Contemp Oncol (Pozn)* 17: 389-393, 2013. DOI: 10.5114/wo.2013.37221

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale przy opracowaniu hipotezy badawczej, zaprojektowaniu badania, analizie wyników, wyciągnięciu wniosków, opracowaniu tabel i rysunków oraz współpracy z redakcją wydawnictwa przy przygotowaniu manuskryptu do publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na	– 30%
Punktacja IF:	0.215
Punktacja ministerstwa:	15

4. Gondek T, Szajewski M, **Szefel J**, Aleksandrowicz-Wrona E, Skrzypczak-Jankun E, Jankun J, Łysiak-Szydłowska W: Evaluation of 12-lipoxygenase (12-LOX) and plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) as prognostic markers in prostate cancer. *Biomed Res Int* 2014: 102478, 2014. DOI: 10.1155/2015/690692

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale przy opracowaniu projektu badania, analizie i interpretacji wyników, wyciąganiu wniosków, opracowaniu tabel i rysunków, przygotowaniu manuskryptu do publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na	– 30%
Punktacja IF (Impact Factor):	1.579
Punktacja ministerstwa:	30

5. **Szefel J**, Kruszewski WJ, Sobczak E: Factors Influencing the eicosanoids synthesis in vivo. *BioMed Research International* 2015: 6, 2015. DOI: 10.1155/2015/690692

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu projektu pracy, wyszukaniu i analizie treści artykułów związanych z głównym tematem, opracowaniu wniosków o czynnikach wpływających na syntezę metabolitów PUFAs: kwasu eikozapentaenowego, dokozaheksaenowego i arachidonowego, zaprojektowaniu i wykonaniu rysunków, napisaniu manuskryptu we współpracy z współautorami.

Mój udział procentowy szacuję na	– 80%
Punktacja IF:	2.134
Punktacja ministerstwa:	20

Wymienione prace są konsekwentną kontynuacją moich wcześniejszych zainteresowań związanych z szerszą problematyką wciąż słabo poznanych mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój wyniszczenia nowotworowego, oraz nad rolą eikozanoidów w tych procesach.

Sumaryczna punktacja *impact factor* za jednotematyczny cykl publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 8,522 a punktacja ministerstwa 105.

C. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Tkanka nowotworowa wytwarza wiele substancji które zaburzają metabolizm i homeostazę organizmu. Prowadzą one do pojawiania się coraz to nowych dysfunkcji narządowych typowych dla wyniszczenia nowotworowego (CC, *Cancer Cachexia*). Wielokierunkowe zaburzenia metaboliczne leżące u ich podstaw w sposób interaktywny pogarszają stan pacjenta. Ich złożoność jest głównym powodem, dla którego nie udało się opracować skutecznej metody leczenia CC.

Reakcja zapalna jest istotnym elementem patomechanizmu CC. W zaawansowanych stadiach CC zwiększa się synteza wolnych rodników tlenowych, nitrozylowych, oraz różnych produktów peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFAs, *Polyunsaturated Fatty Acids*) nazywanych eikozanoidami.

Z badań naukowych wynika, że głównymi substratami do syntezy eikozanoidów są PUFAs uwolnione z glicerofosfolipidów błonowych przez fosfolipazę A₂ (EC 3.1.1.4). Synteza eikozanoidów jest katalizowana przez: cyklooksygenazy (COX, EC 1.14.99.1), lipooksygenazy (LOX, EC 1.13.11) i cytochrom P450 (CYP). Mogą też powstawać w reakcjach nieenzymatycznych - wolnorodnikowych.

Ilość i profil syntetyzowanych eikozanoidów jest w znacznym stopniu uzależniona od dostępności substratów, czyli PUFAs w diecie. Kwasy tłuszczowe (FAs, *Fatty Acids*) występują w komórce w formie wolnej i w postaci estrów. Aktywacja FAs wymaga energii równoważnej 1 cząsteczce ATP (*Adenosine Triphosphate*). Ta reakcja polega na wymianie grupy hydroksylowej na CoA i jest katalizowana przez syntetazę acylo-CoA (EC 6.2.1.3)

Eikozanoidy pełnią rolę wtórnych przekaźników sygnałów. Są one wydzielane na drodze auto lub parakrynej a zasięg ich działania jest ograniczony do niewielkiej przestrzeni. Z tego powodu bywają niekiedy nazywane "*lokalnymi hormonami*". Synteza eikozanoidów zachodzi głównie w: leukocytach jedno i wielojądrzastych, płytkach krwi, makrofagach i komórkach śródbłonna naczyniowego.

W licznych badaniach wykazano, że wzrost ekspresji genów LOX, COX i CYP towarzyszy karcynogenezie, wzrostowi guza i rozwojowi przerzutów raka. Te zmiany prowadzą do wzrostu

syntezy eikozanoidów, głównie pochodnych dominującego we współczesnej diecie AA (*Arachidonic Acid*).

Z hipotezy o zapalnym podłożu CC wynika podejście terapeutyczne zmierzające do zredukowania reakcji zapalnej. Polega ono między innymi na stosowaniu naturalnych i syntetycznych substancji mających właściwości przeciwzapalne i antyoksydacyjne. Współcześnie wiedza o eikozanoidach jest coraz szerzej wykorzystywana w profilaktyce i terapii wielu chorób, w tym chorób nowotworowych. Wiele aktualnych informacji na ten temat przedstawiono w publikacji p.t. „Eicosanoids in prevention and management of diseases” (Szefel, Piotrowska et al. 2011). Treść tej ważnej w moim dorobku naukowym publikacji najlepiej obrazuje źródło moich inspiracji do badań nad mechanizmami CC od początku mojej pracy naukowej. Nie umieściłem jej w wykazie, ponieważ została opublikowana przed obroną doktoratu.

Metabolity kwasu eikozapentaenowego (*EPA, Eicosapentaenoic acid*) i dokozaheksaenowego (*DHA- docosahexaenoic acid*) są znane z działania przeciwzapalnego, a metabolity AA z prozapalnego. Ostatnio odkryte pochodne AA tzw. Lipoksyny nie tylko hamują, ale ponadto aktywnie wygaszają ostry proces zapalny, co dowodzi, że ta opinia nie do końca jest prawdziwa.

Wobec tego zaskakujące jest, że większość badań klinicznych nie potwierdza wyników badań podstawowych, z których wynika, że suplementacja oleju rybiego jest korzystna dla zdrowia. Nie spotkaliśmy w bazach danych artykułów wyjaśniających co jest przyczyną tych rozbieżności. Wyniki analizy tego problemu opisano w publikacji nr. 5 pt. "Factors influencing the eicosanoids synthesis in vivo". Zebrane w niej informacje mogą być wykorzystane przez naukowców planujących badania kliniczne związane z suplementacją oleju rybiego.

Pośród wielu czynników modulujących profil i ilość syntetyzowanych eikozanoidów na szczególną uwagę zasługują leki. Wiele z nich hamuje aktywność enzymów katalizujących różne etapy syntezy eikozanoidów. Dla przykładu powszechnie wiadomo, że COX 1 i 2 acetylowane przez kwas acetylosalicylowy tracą zdolność do syntezy prostanoidów. Jednak mniej znane jest, że te enzymy po acetylacji nabierają zdolności do syntezy: epi-lipoksyn, resolwin, protektyn i innych mediatorów lipidowych. Te ciągle mało znane pochodne PUFAs wywołują bardzo silne działanie przeciwzapalne i prowygaszeniowe już w nanogramowych ilościach. Tak więc przeciwzapalny mechanizm działania aspiryny ma złożony charakter. Polega on na hamowaniu syntezy prozapalnych i pobudzaniu syntezy przeciwzapalnych eikozanoidów.

W badaniach klinicznych zaobserwowano, że suplementacja L-karnityny poprawia jakość życia pacjentów z CC, funkcjonowanie układu immunologicznego i krzepnięcia, zmniejsza stres oksydacyjny (Mantovani, Maccio et al. 2010; Shakeri, Tabibi et al. 2010). Dotychczas nie wyjaśniono, w jaki sposób L-karnityna wywołuje te efekty.

Najprawdopodobniej poziom L-karnityny w surowicy krwi ma istotny wpływ na tempo syntezy eikozanoidów. Wskazują na to wyniki badania przeprowadzonego przez Arduiniego i współpracowników. Wykazali oni, że pod wpływem L-karnityny maleje tempo obrotu AA w fosfolipidach błonowych (Arduini, Mancinelli et al. 1992; Arduini, Dottori et al. 1995). Podobnej obserwacji dokonał Pignatelli i wsp. (Pignatelli, Lenti et al. 2003). Analiza wyników tych badań wskazuje, że L-karnityna buforuje nadmiar PUFAs co skutkuje zmniejszeniem syntezy eikozanoidów. W miarę wzrostu stężenia kompleksów PUFAs-karnityna maleje stężenie PUFAs-CoA - substratu dla acylotransferazy lizofosfolipidowej (*LPLAT*, *Lysophospholipid Acyltransferase*, *EC:2.3.1.*). W rezultacie tempo reacylacji lizofosfolipidów błonowych w cyklu Landsa maleje. Badanie poświęcone ocenie słuszności tej hipotezy mogłoby wyjaśnić dlaczego niski poziom L-karnityny prowadzi do pogorszenia sprawności układu immunologicznego i hemostazy.

L-Karnityna pełni kluczową rolę w metabolizmie i wewnątrzkomórkowym transporcie reszt acylowych do mitochondriów a reszt acetylowych do cytoplazmy. Długolącuchowe FA (*LCFA*, *Long-chain fatty acids*) mogą przekraczać wewnętrzną błonę mitochondrialną jedynie w kompleksie z L-karnityną. Syntezę kompleksów acylo-karnityny katalizuje acylotransferaza karnitynowa I (*CPT-I*, *Carnitine palmitoyltransferase-I*; *EC 2.3.1.21*) a reakcję ich rozpadu na acylo-CoA i wolną L-karnitynę acylotransferaza karnitynowa II (*CPT-II*). Ekspresja *CPT-I* i *CPT-II* w przebiegu niektórych nowotworów jest mniejsza niż w tkance zdrowej (Mazzarelli, Pucci et al. 2007; Liu, Wu et al. 2011). Pula L-karnityny zgromadzonej w mięśniach pacjentów z CC stopniowo maleje z powodu ograniczenia jej podaży z diety i ciągłej utraty z wydalaniem moczem. Teoretycznie, oba wymienione wyżej zaburzenia powinny zmniejszać wydajność β -oksydacji LCFAs, natomiast suplementacja L-karnityny powinna usprawnić ten proces .

W publikacji nr. 1 „L-carnitine and cancer cachexia. I. L-carnitine distribution and metabolic disorders in cancer cachexia” przedstawiono wyniki badania klinicznego pacjentów w stadium znacznego, nieodwracalnego wyniszczenia nowotworowego z współistniejącą dysfagią lub afagią. Tym pacjentom wdrożono całkowite żywienie pozajelitowe (*TPN*, *Total Parenteral Nutrition*) z powodu braku możliwości pokrycia zapotrzebowania białkowo- kalorycznego drogą dojelitową. Podzielono ich losowo na dwie grupy. Jednej grupie podawano TPN z dodatkiem emulsji tłuszczowych MCT/LCT (*MCT-medium chain triglycerides*, *LCT-long chain triglycerides*) a drugiej tylko LCT. Przed wdrożeniem TPN stężenia L-karnityny wolnej w surowicy pacjentów z BMI < 19 kg/m² (*BMI- Body Mass Index*) były istotnie niższe niż pacjentów z BMI > 19 kg/m² (p < 0.041) . Okazało się, że BMI \approx 19 kg/m² było wartością graniczną poniżej której stężenie L-karnityny przestawało spadać.

Można przypuszczać, że straty L-karnityny z moczem były szybko uzupełniane z mięśni, które przechowują aż około 98% tej substancji w całym ciele. Dla przykładu ilość L-karnityny w mięśniach zdrowego mężczyzny o masie 70 kg wynosi około 100 mmoli. Teoretycznie ta ilość powinna wystarczyć na wyrównanie utraty L-karnityny z moczem przez około 660 dni, to jest okres czasu znacznie dłuższy niż wynosi przeżycie pacjentów w stadium nieodwracalnej kacheksji, który jest szacowany na około 90 dni.

Publikacja **nr. 2** "L-carnitine and cancer cachexia. II. Effects of lipid emulsion used in total parenteral nutrition on parameters of hemostasis and inflammatory state in L-carnitine deficiency in myocytes" porównuje wpływ TPN emulsjami MCT/LCT versus LCT na markery stanu zapalnego, układu krzepnięcia i fibrylizacji krwi pacjentów z CC. Stwierdzono, że stężenie białka C-reaktywnego (*CRP- C Reactive Protein*) wzrosło bardziej w grupie MCT/LCT niż grupie LCT. Jest to wynik zaskakujący, gdyż w emulsjach LCT jest 2 razy więcej AA niż w emulsjach MCT/LCT (50:50). Komórki układu immunologicznego nie gromadzą L-karnityny, lecz pobierają ją w miarę potrzeb z surowicy krwi. Niski poziom L-karnityny w surowicy ogranicza jej transport przez błony do cytoplazmy elementów morfotycznych krwi. W konsekwencji spada tempo β -oksydacji LCFA, gromadzą się cząsteczki acylo-CoA i ulega redukcji ilości wolnego CoA. Mała dostępność CoA ogranicza syntezę acetylo-CoA i wytwarzanie energii w cyklu kwasów trójkarboksylowych (Łysiak, Lilly et al. 1988). Wyniki pokazują, że niski poziom L-karnityny, może być odpowiedzialny za zmniejszenie produkcji energii niezbędnej komórkom układu immunologicznego do odpowiedniej reakcji na szkodliwe bodźce.

Istotny udział eikozanoidów w genezie i rozwoju raka został potwierdzony w licznych doświadczeniach na zwierzętach, badaniach populacyjnych i badaniach klinicznych. W raku prostaty, piersi, jelita grubego płuc i innych nowotworach zaobserwowano wzrost ekspresji 12-LOX i COX-2 . Wykazano, że kwas 12(S)-hydroksy-eikozatetraenowy (*12(S)-HETE, 12-Hydroxyeicosatetraenoic acid*) powstający z AA w reakcji katalizowanej przez 12-LOX nasila syntezę niektórych białek sygnalizacyjnych jak np.: naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (*VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor*) i czynnika indukowanego hipoksją 1 (*HIF-1, Hypoxia-inducible factors*). Wysokie stężenia tych białek nasilają angiogenezę i inicjują przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej. Powstające w ten sposób mikrośrodowisko sprzyja miejscowemu wzrostowi guza i migracji komórek raka. Ostatnio Keqin Tang and all. wykazali, że 12-LOX pod wpływem integryny $\beta 4$ przemieszcza się w pobliże błony komórkowej. Ta zmiana zwiększa dostępność AA dla 12-LOX i podnosi produkcję 12(S)- HETE (Tang, Cai et al. 2015).

Cox i inni wykazali, że LOX przyspiesza resorpcję kości przez indukowanie translokacji do jądra czynnika transkrypcji (*NFATc1, Nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1*), głównego regulatora

produkcji osteoklastów (Cox, Rumney et al. 2015). Pod ich wpływem powstają nisze, które sprzyjają implantacji przerzutów raka piersi szczególnie z ujemnymi receptorami estrogenowymi (ER^- , *Estrogen Receptor*⁻). Jednocześnie Cox et al. zaobserwowali wzrost liczby przerzutów do płuc, wątroby i mózgu.

Oprócz badań mających na celu opracowanie nowych metod leczenia nowotworów, prowadzone są badania mające na celu ich wykrywanie w jak najwcześniejszym stadium zaawansowania. Większość markerów nowotworowych aktualnie wykorzystywanych w praktyce klinicznej to substancje produkowane przez komórki raka w znacząco wyższych ilościach niż przez komórki prawidłowe. Ich stężenia w tkance nowotworowej mają większą wartość diagnostyczną niż w osoczu. Jednak uzyskania tkanki do badania wymaga metod inwazyjnych i jest obarczone stosunkowo wysokim ryzykiem wystąpienia powikłań. W praktyce klinicznej oznaczenia stężeń substancji wydzielanych do surowicy krwi są w praktyce klinicznej bardziej użyteczne niż w tkance nowotworowej. Pobranie krwi do badania jest łatwe i może być wielokrotnie powtarzane. Dotychczas nie odkryto markerów raka prostaty zadowalająco czułych i specyficznych, umożliwiających rozpoznanie go we wczesnym stadium rozwoju. Nawet stężenie antygenu specyficznego dla prostaty (*PSA, Prostate-Specific Antigen*) pomimo wysokiej czułości nie jest wystarczająco specyficzne. Wobec tego postanowiliśmy sprawdzić przydatność 12-LOX jako markera raka gruczołu krokowego. W tym celu przeprowadziliśmy dwa badania kliniczne, w których wykorzystaliśmy test od niedawna dostępny na rynku „Imubind 12-Lipoxygenase ELISA” firmy American Diagnostica GmbH.

Publikacja nr. 3 pt.: "The concentration of 12-lipoxygenase in platelet rich plasma as an indication of cancer of the prostate" przedstawia wyniki badania, polegającego na oznaczaniu stężenia 12(S)-LOX w osoczu bogatopłytkowym mężczyzn z podejrzeniem raka prostaty. Celem tego badania było sprawdzenie czy oznaczenie stężenia 12(S)-LOX w surowicy krwi może znaleźć zastosowanie jako markera raka gruczołu krokowego.

Okazało się, że stężenia: 12(S)LOX ($p=0,04$), PSA ($p=0,05$) i CRP ($p=0,003$) w osoczu pacjentów z rakiem stercza były niższe u niż w grupie kontrolnej, bez raka. Stwierdzono ujemną korelację między stężeniem 12(S)LOX w osoczu i stopniem zaawansowania raka w skali Gleasona. Stężenia 12(S)LOX w surowicy pacjentów z zaawansowanym rakiem (w stadium rozsiewu) były niższe niż w grupie bez raka. Wyniki badania potwierdziły słusność założenia, według którego odniesienie stężenia 12- LOX w osoczu bogatopłytkowym do stężenia tromboglobuliny (*TGB, Thromboglobulin*) lub do liczby płytek krwi (*PLT, Platelets*) znacząco podniesie czułość testu. Analiza wykazała, że test 12(S)LOX nie spełnia kryteriów markera raka stercza. Jednak nie można

wykluczyć, że test 12(S)LOX znajdzie zastosowanie w ocenie skuteczności leczenia onkologicznego.

Angiogeneza warunkuje rozwój guza nowotworowego i wywiera istotny wpływ na oś urokinaza – plazminogen. W skład tej osi wchodzi: urokinazowy aktywator plazminogenu (*uPA*, *urokinase-type Plasminogen Activator*), receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu (uPAR, *urokinase Plasminogen Activator Receptor*) i inhibitor aktywatora plazminogenu typu – 1 (*PAI-1*, *urokinase-type Plasminogen Activator I Inhibitor*) (Zhang, Sud et al. 2011). Wzrost aktywności uPA koreluje ze zdolnością komórek raka do wzrostu i powstawania przerzutów a jej zmniejszenie hamuje te procesy (Jankun and Skrzypczak-Jankun 1999; Bekes, Deryugina et al. 2011). uPA tworzy aktywne kompleksy z uPAR konwertujące plazminogen do plazminy. Plazmina uczestniczy w przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej ułatwiającej migrację, inwazję i proliferację komórek guza (Duffy 2004; Noh, Hong et al. 2013). Na proteolizę wpływają nie tylko aktywatory plazminogenu ale też ich inhibitory głównie PAI-1, który wygasza aktywność proteolityczną urokinazy i skraca czas jej półtrwania. PAI-1 dezaktywuje uPA-uPAR tworząc z nimi nieaktywne kompleksy. Istotną regulacyjną rolę odgrywają również właściwości PAI-1 niezwiązane z jego aktywnością anty-proteolityczną, lecz z powinowactwem do witronektyny i integryn. PAI-1 blokując interakcję między uPA i uPAR oraz między witronektyną i integrynami hamuje adhezję oraz ruch komórek (Czekay, Aertgeerts et al. 2003).

W zdrowym organizmie panuje równowaga między aktywatorami i inhibitorami angiogenezy. W mikrośrodowisku guza ten stan jest zaburzony. Dla określenia tego stanu Folkman wprowadził pojęcie przełącznika angiogenego. Zasadniczym celem działania czynników pro – i antyangiogennych są komórki śródbłonna a czynnikami regulującymi te procesy są m.in.: PAI-1 i 12-LOX. Interesujące, że w badaniach nad angiogenezą wykazano dwa odmienne efekty działania PAI-1. Otóż jego wysokie stężenie hamuje angiogenezę, podczas gdy jego poziom w zakresie wartości referencyjnych jest niezbędny dla prawidłowego przebiegu angiogenezy. Zjawisko to nazwano „PAI – paradoksem” (Binder and Mihaly 2008).

W publikacji nr. 4 p.t. "Evaluation of 12-Lipoxygenase (12-LOX) and Plasminogen Activator Inhibitor 1 (PAI-1) as Prognostic Markers in Prostate Cancer" przedstawiono wyniki badania, w którym pacjentów podzielono na dwie grupy. Pierwszą grupę stanowili pacjenci z rakiem gruczołu krokowego potwierdzonym w badaniu histopatologicznym wycinków z biopsji gruczołu krokowego a drugą z łagodnym przerostem gruczołu (*BPH*, *Benign prostatic hyperplasia*). Do oznaczanych parametrów włączono 12-LOX i PAI-1.

Przyjęto, że jeżeli zarówno PAI-1 jak i 12-LOX wpływają na angiogenezę i przebudowę mikrośrodowiska nowotworu, to należy sprawdzić, czy u pacjentów z rakiem prostaty, ich stężenie

zmienia się. Uznano, że skoro zarówno PAI-1 jak i 12-LOX wpływają na angiogenezę i przebudowę mikrośrodowiska guza to należy sprawdzić czy u pacjentów z rakiem gruczołu krokowego ich stężenia zmieniają się. Nie stwierdzono korelacji między stężeniem 12-LOX w osoczu bogatopłytkowym i stężeniem PAI-1. Analiza wykazała, że stężenie 12-LOX u chorych na raka gruczołu krokowego było istotnie niższe niż u pacjentów z BPH. Możliwe, że niskie a nie wysokie stężenie 12-LOX wskazuje na wyższe prawdopodobieństwo raka prostaty. Wyjaśnienie tego problemu wymaga przeprowadzenia kolejnych badań.

Piśmiennictwo

- Arduini, A., S. Dottori, et al. (1995). "Effect of propionyl-L-carnitine treatment on membrane phospholipid fatty acid turnover in diabetic rat erythrocytes." *Mol Cell Biochem* **152**(1): 31-37.
- Arduini, A., G. Mancinelli, et al. (1992). "Role of carnitine and carnitine palmitoyltransferase as integral components of the pathway for membrane phospholipid fatty acid turnover in intact human erythrocytes." *J Biol Chem* **267**(18): 12673-12681.
- Bekes, E. M., E. I. Deryugina, et al. (2011). "Activation of pro-uPA is critical for initial escape from the primary tumor and hematogenous dissemination of human carcinoma cells." *Neoplasia* **13**(9): 806-821.
- Binder, B. R. and J. Mihaly (2008). "The plasminogen activator inhibitor "paradox" in cancer." *Immunol Lett* **118**(2): 116-124.
- Cox, T. R., R. M. Rumney, et al. (2015). "The hypoxic cancer secretome induces pre-metastatic bone lesions through lysyl oxidase." *Nature* **522**(7554): 106-110.
- Czekay, R. P., K. Aertgeerts, et al. (2003). "Plasminogen activator inhibitor-1 detaches cells from extracellular matrices by inactivating integrins." *J Cell Biol* **160**(5): 781-791.
- Duffy, M. J. (2004). "The urokinase plasminogen activator system: role in malignancy." *Curr Pharm Des* **10**(1): 39-49.
- Jankun, J. and E. Skrzypczak-Jankun (1999). "Molecular basis of specific inhibition of urokinase plasminogen activator by amiloride." *Cancer Biochem Biophys* **17**(1-2): 109-123.
- Liu, S., H. J. Wu, et al. (2011). "L-carnitine ameliorates cancer cachexia in mice by regulating the expression and activity of carnitine palmityl transferase." *Cancer Biol Ther* **12**(2): 125-130.
- Łysiak, W., K. Lilly, et al. (1988). "Effect of concentration of carnitine on acetylcarnitine production by rat heart mitochondria oxidizing pyruvate " *Nutrition* **4**: 215-219.
- Mantovani, G., A. Maccio, et al. (2010). "Randomized phase III clinical trial of five different arms of treatment in 332 patients with cancer cachexia." *Oncologist* **15**(2): 200-211.
- Mazzarelli, P., S. Pucci, et al. (2007). "Carnitine palmitoyltransferase I in human carcinomas: a novel role in histone deacetylation?" *Cancer Biol Ther* **6**(10): 1606-1613.
- Noh, H., S. Hong, et al. (2013). "Role of urokinase receptor in tumor progression and development." *Theranostics* **3**(7): 487-495.
- Pignatelli, P., L. Lenti, et al. (2003). "Carnitine inhibits arachidonic acid turnover, platelet function, and oxidative stress." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **284**(1): H41-48.
- Shakeri, A., H. Tabibi, et al. (2010). "Effects of L-carnitine supplement on serum inflammatory cytokines, C-reactive protein, lipoprotein (a), and oxidative stress in hemodialysis patients with Lp (a) hyperlipoproteinemia." *Hemodial Int* **14**(4): 498-504.

- Szefel, J., M. Piotrowska, et al. (2011). "Eicosanoids in prevention and management of diseases." Curr Mol Med **11**(1): 13-25.
- Tang, K., Y. Cai, et al. (2015). "Convergence of eicosanoid and integrin biology: 12-lipoxygenase seeks a partner." Mol Cancer **14**: 111.
- Zhang, J., S. Sud, et al. (2011). "Activation of urokinase plasminogen activator and its receptor axis is essential for macrophage infiltration in a prostate cancer mouse model." Neoplasia **13**(1): 23-30.

Jacobus Siepe