

Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie
"George Emil Palade" Tîrgu Mureș
Școala de Studii Doctorale

***Importanța Arilsulfatazei A și B, corelată cu alți markeri moleculari,
în evoluția și prognosticul carcinomului colorectal***

Rezumat

Doctorand: Kovács Zsolt

Conducător de doctorat: Prof. dr. Jung Ioan

Tîrgu Mureș

2019

Arilsulfatazele sunt enzime lizozomale care catalizează reacția de desulfatare a unui fenol sulfat. Arilsulfatazele cele mai cunoscute sunt arilsulfataza A (ARSA – cerebrozid-sulfatază), arilsulfataza B (ARSB – N-acetilgalactozamin-4-sulfatază) și arilsulfataza C (ARSC – steroid sulfataza). La începutul anilor 1990, s-a început investigarea expresiei ARSA în cancerele de tract gastrointestinal, mamă, pulmonar, renal, ale sistemului nervos central și ale tractului genital feminin. S-a observat că ARSA și ARSB pot juca roluri cheie în carcinogeneză și în potențialul metastatic al celulelor tumorale. Întrucât, în condiții normale, metabolismul ARSB necesită oxigen, în transformarea malignă, este descrisă reducerea expresiei ARSB, fapt care sugerează glicoliză anaerobă intensă în celulele maligne.

În lucrarea de față ne-am propus examinarea aspectelor clinicopatologice și moleculare ale CCR, din perspectivă prognostică și predictivă, cu accent pe rolul ARSA și ARSB în evoluția și prognosticul acestui tip de cancer.

Pentru că examinarea moleculară necesită standardizarea tehnicii de lucru, primul pas a fost validarea și optimizarea extracției de ADN din țesuturi incluse în parafină, respectiv a extracției de ARN din sângele pacienților cu CCR. Astfel, în capitolul 3 al Părții de Cercetare Personală, am prezentat modul de optimizare a izolării ADN-ului din țesutul de CCR inclus în parafină. Am urmărit stabilirea unui protocol de lucru, utilizabil în practica zilnică, pentru extracția de ADN cu puritate adecvată (OD: 1.8-2.0). În capitolul 4, am prezentat modul de optimizare a izolării ARN-ului din sânge, respectiv de cuantificare a expresiei genei *ARSB* în sânge. După optimizarea, în cadrul tezei, aceste tehnici sunt utilizate în mod curent în Laboratorul de Oncopatologie Moleculară al Serviciului de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic Județean de Urgență (SCJU) Târgu Mureș, unde au fost efectuate determinările, după obținerea acordului Comisiei de Etică a SCJU și a Universității de Medicină și Farmacie din Târgu Mureș, pentru prelucrarea retro- și prospectivă a cazurilor incluse în studiu.

În capitolul 4, am detaliat tehnicile de examinare a profilului molecular și imunohistochimic (IHC) ale CCR, concentrându-ne asupra unui mecanism mai puțin înțeles al invazivității și metastazării tumorale, respectiv posibilul rol al arilsulfatazelor în evoluția și prognosticul CCR. Am ipotezat că ARSA și ARSB ar putea fi implicate în evoluția CCR și am încercat identificarea mecanismului de influențare a comportamentului celulelor tumorale de către aceste proteine. Am examinat, ulterior, relația dintre expresia genică din sânge și expresia proteică din țesutul tumoral al ARSB.

În capitolul 5, identificând, în practica clinică, un subtip rar dar agresiv al carcinomului gastrointestinal, cu arhitectură plasmocitoidă, am ipotezat că arilsulfatazele ar putea juca un rol în TEM a celulelor tumorale și ar putea fi responsabile de agresivitatea acestui tip de carcinom. Pentru a dovedi ipoteza formulată, am efectuat, într-o serie de cazuri, imunoprofilul detaliat al celulelor tumorale, discutând importanța aspectelor evidențiate IHC, raportate la datele din literatură.

Având în vedere numărul relativ restrâns al publicațiilor care se referă la rolul arilsulfatazelor în geneza și evoluția CCR, teza are valoare științifică remarcabilă, fiind inclus un studiu original, în care am corelat expresia IHC a ARSA și ARSB cu expresia genică a ARSB, în sângele pacienților cu CCR.

Pentru prima dată în literatură, am încercat stabilirea unei corelații între tranziția epitelialo-mezenchimală (TEM) a celulelor tumorale, expresia ARSA/ARSB și expresia Maspinului, cu rezultate cu valoare științifică, care e necesar a fi confirmate pe cohorte însemnate de pacienți.

O notă de originalitate o aduce și includerea seriei de cazuri de carcinoame gastrointestinale cu fenotip plasmocitoid. Rezultatele pun în evidență posibilele interacțiuni ale TEM cu calea Wnt și ARSA/ARSB, căi demonstrate a avea rol în dediferențierea tumorală. Așadar, aspectul original constă în evidențierea unui subtip particular, aberant al TEM, al cărui rezultat este apariția fenotipului plasmocitoid.

În urma rezultatelor obținute, am încercat sintetizarea unor ipoteze care dau o nouă interpretării TEM evidențiate în CCR, ipoteză legată pentru prima dată în literatură de ARSA și ARSB.

În ceea ce privește partea tehnică, aspectul important este legat de optimizarea protocoalelor de izolare și cuantificare a ADN-ului extras din blocuri de parafină, prin modificarea dozelor soluțiilor de digestie și purificare a materialului genetic extras.

Aceste aspecte dovedesc originalitatea cercetărilor dar și aspectul clinic, practic, al acesteia, respectiv potențialul continuării explorării CCR prin examinări de biologie moleculară, efectuate deja în cadrul departamentului nostru.

Așadar, pe baza ipotezelor formulate, a obiectivelor atinse și a protocoalelor de lucru standardizate, prezenta teză de doctorat are un evident caracter de originalitate și importanță practică.