**Slajd1**

Wariant 1(BSz)Szanowna komisji, szanowni państwo, nazywam się Bartosz Szmyd. Reprezentuję Zakład Biomedycyny i Genetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W swojej pracy postaram się odpowiedzieć na pytanie Czy stan zapalny ma wpływ na raka płuca? I jak możemy te związki wykorzystać w praktyce klinicznej.  
Wariant 2(MGK)  
Szanowna komisji, szanowni państwo, nazywam się Bartosz Szmyd. Reprezentuję Zakład Biomedycyny i Genetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W naszej pracy badaliśmy zależności pomiędzy rakiem płuca i stanem zapalnym oraz staraliśmy się opracować sposób ich wykorzystania w praktyce klicznicznej.

**Slajd 2**

Wariant BSzPunktem wyjścia naszych badań są poczynione przez Virchowa ponad 150 lat temu obserwacje:

* komórki układu odpornościowego występują w guzie
* zmiany nowotworowe mają tendencję do pojawiania się na miejscu toczącego się zapalenia

Badania epidemiologiczne potwierdzają te wnioski i wskazują, że przewlekły stan zapalny powoduje nawet 25% wszystkich nowotworów. Odpowiedź układu odpornościowego może promować zarówno rozwój jak i supresję nowotworu. Poziom ekspresji cytokin oraz miRNA je kontrolującego mogą stanowić narzędzie oceny delikatnego punktu równowagi między tymi dwoma skrajnymi efektami reakcji układu odpornościowego.

Wariant MGk

Podwaliny pod naszą pracę położył Virchow około 150 lat temu, zauważając, że:

* komórki układu odpornościowego występują w guzie
* zmiany nowotworowe mają tendencję do pojawiania się na miejscu toczącego się zapalenia

Badania epidemiologiczne potwierdzają te wnioski i wskazują, że przewlekły stan zapalny może być przyczyną nawet 25% wszystkich nowotworów. Odpowiedź układu odpornościowego może być zarówno promotorem jak i supresorem procesu nowotworowego, a poziom ekspresji cytokin oraz miRNA je kontrolującego mogą stanowić narzędzie oceny delikatnego punktu równowagi między tymi dwoma skrajnymi efektami reakcji układu odpornościowego.

**Slajd 3**W celu weryfikacji tej tezy oceniliśmy ekspresję Il-1b, Il-6 oraz miR-9 a uzyskane wyniki zestawiliśmy z danymi klinicznymi pacjentów.

**Slajd 4**Badaniem objęto 39 pacjentów z histopatologicznie potwierdzonym niedrobnokomórkowym rakiem płuca. Grupa składała się z 20 mężczyzn i 19 kobiet. Wywiad genetyczny był dodatni u 12, ujemny w pozostałych przypadkach. Większość, 28, miało płaskonabłonkowego raka płuca. Stopień w skali AJCC i pTNM przedstawiamy na przeźroczu (MGK: slajdzie).

**Slajd 5**RNA do oceny ekspresji genów zostało wyizolowane z fragmentu tkanki płuca pobranego podczas lobektomii, bądź pulmonektomii. Natomiast RNA do badań miRNA uzyskano z egzosomów z surowicy krwi obwodowej. Krew pobierano odpowiednio 3 dni przed i 7 po zabiegu operacyjnym.

**Slajd 6**Wyizolowane RNA przepisano na cDNA w procesie odwrotnej transkrypcji. Poziom ekspresji genów oznaczono w qPCR względem β-aktyny z użyciem metody 2-ΔΔCt . Ocena ekspresji miRNA odbywała się z wykorzystaniem strategii global normalization. Do analizy statystycznej wykorzystano program Statistica 13.1.

**Slajd 7**

Wariant BSzW badaniu wykorzystano jedynie wysokiej jakości odczynniki, z pracy z którymi mamy dobre doświadczenie.

Wariant MGK   
W badaniu wykorzystano jedynie wysokiej jakości odczynniki, pomyślnie stosowane w wielu poprzednich projektach.

**Slajd 9**Zaobserwowaliśmy *znamiennie* (MGK: istotnie statystycznie) wyższy poziom ekspresji obu interleukin w obrębie tkanki makroskopowo niezmienionej niż w zmianach nowotworowych.

**Slajd 10**Zaobserwowaliśmy silną, ujemną, istotną statystycznie korelacje między liczbą paczkolat a odpowiednio poziomem ekspresji IL-1b i IL-6 w tkance zmienionej nowotworowo.

**Slajd 11**Analiza statystyczna wykazała ponadto na znamienną różnicę w poziomie ekspresji miR-9 pobranego przed operacją pomiędzy grupą pacjentów z nowtoworem stopnia I i II wg skali AJCC.

**Slajd 12**Uzyskane różnice poziomów ekspresji IL-1b i IL-6 między tkanką makroskopowo niezmienopną a zmienioną nowotworowo sugerują wpływ indukowanego paleniem papierosów stanu zapalnego na etiopatogenezę niedrobnokomórkowego raka płuca. Ponadto wykazaliśmy, że miR-9 jest potencjalnym biomarkerem różnicującym stopień zaawansowania zmian w tym typie raka.

**Slajd 13**Obniżony poziom ekspresji cytokin prozapalnych w obrębie guza może początkowo wydawać się zaskakujący. Mechanizm tych zmian **może być** następujący. Długotrwałe palenie papierosów nie tylko indukuje proces zapalny, ale także per se działa podobnie do niego. Dochodzi do wzmożonego powstawania wolnych rodników: anionorodnika ponadtlenkowego i NO. Tlenek azotu oddziałując na deacetylazę histonową prowadząc do jej ubikwitynacji i kierowaniu do proteasomu. Spadek dostępności deacetylaz prowadzi do wzrostu acetylacji genów prozapalnych w prawidłowej tkance, a więc do ich zwiększonej ekspresji.

**Slajd 14**

Wersja BSzZupełnie inaczej rzecz się ma w nieprawidłowych tkankach. Tutaj stan zapalny prowadzi do zwiększonej ekspresji metylotransferaz DNA, która pociąga za sobą zwiększoną metylację genomu, obejmującą także promotory genów prozapalnych. W tym scenariuszu dochodzi do ich wyciszenia, co dodatkowo zwiększa różnicę ekspresji między tkanką nowotworową a makroskopowo niezmienioną.

Wersja MGK

Zupełnie inne procesy zachodzą w nieprawidłowych tkankach. Tutaj stan zapalny prowadzi do zwiększonej ekspresji metylotransferaz DNA, która pociąga za sobą zwiększoną metylację genomu, obejmującą także promotory genów prozapalnych. W tym scenariuszu dochodzi do ich wyciszenia, co dodatkowo zwiększa różnicę ekspresji między tkanką nowotworową a makroskopowo niezmienioną.