

## **STRESZCZENIE:**

Rak głowy i szyi to nazwa zbiorcza dla wszystkich nowotworów złośliwych zlokalizowanych w obszarze głowy oraz szyi (z wyjątkiem mózgu). W ujęciu histologicznym najczęściej jest to rak płaskonabłonkowy – co stanowi 92-95% rozpoznań. Pomimo możliwości relatywnie łatwego rozpoznania, 60% pacjentów z tej grupy umiera w ciągu 5 lat. Głównym powodem takiej sytuacji epidemiologicznej jest utrzymująca się ekspozycja na czynniki ryzyka - wysoka częstość palenia tytoniu, potęgowana spożyciem alkoholu. Inną, ważną przyczyną takiego stanu jest niska skuteczność programów wczesnej diagnostyki i leczenia raka głowy i szyi. Pomimo różnych koncepcji w zakresie leczenia chirurgicznego i adjuwantowego, w ostatnich latach, nie osiągnięto znaczącego wydłużenia okresu przeżycia całkowitego ani wolnego od nawrotu choroby. Poznanie czynników zaangażowanych w rozwój SCC jamy ustnej i gardła umożliwiłoby poszerzenie aktualnej wiedzy dotyczącej tego raka a co za tym idzie zrozumienie jego mechanizmów i być może pozwoliłoby na udoskonalenie jego leczenia, a być może także zapobiegania rozwojowi tej choroby.

Przedmiotem moich badań przedstawionych w niniejszej rozprawie jest ocena częstości współwystępowania infekcji wirusów HPV i EBV u pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej i gardła w regionie Polski północno – wschodniej. Ponadto ocena ekspresji białek proliferacji (Ki-67, białka p53), receptorów komórek zapalnych mikrośrodowiska guza (CD3, CD20, CD138) oraz cząstek CTLA-4 i PD-L1 w tych zmianach oraz korelacja wyników z danymi histoklinicznymi (stopień zróżnicowania raka, zaawansowania zmiany, oraz czynnikami ryzyka rozwoju SCC).

Do badania zostali zakwalifikowani pacjenci, u których rozpoznano raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i gardła, poddani leczeniu w Klinice i Poradni Chirurgii Szczękowo- Twarzowej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku w latach 2010-2020.

Badany materiał to materiał tkankowy archiwalny (bloki parafinowe) wycinków pobranych od 105 pacjentów. Materiał został oceniony wg protokołu z uwzględnieniem stopnia zróżnicowania (G) oraz stopnia zaawansowania pTNM badanych zmian wg AJCC. W badaniu oceniono ekspresję białka Ki-67, p53, PD-L1, CTLA-4, a także markery zapalenia CD3, CD4, CD8, CD20, CD138. Ocena preparatów została wykonana pod mikroskopem świetlnym (przy powiększeniu 100x) w 10 reprezentatywnych polach widzenia. Badanie na obecność infekcji wirusem HPV przeprowadzono metodą pośrednią, tj. immunohistochemiczną- oceniając

ekspresję białka p16 oraz poprzez ocenę genomu wirusa z zastosowaniem metody PCR. Obecność infekcji EBV wykazano metodą immunohistochemii poprzez ocenę ekspresji białka LMP-1. Do badania włączono parametry kliniczne: wiek, płeć, lokalizacja zmiany, stopień zaawansowania choroby oraz czas 5-letniego przeżycia całkowitego. Dane patomorfologiczne skorelowano z danymi klinicznymi, uzyskanymi w trakcie obserwacji pacjentów wynikającymi z okresowych badań kontrolnych.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, a istotność statystyczną określono na poziomie  $p < 0,05$ . Wyniki badania wykazały, iż w badanym materiale dominowali starsi pacjenci (ok. 70 r.ż.) w III i IV stopniu zaawansowania choroby, palący papierosy oraz nadużywający alkoholu. Ekspresja białka p53 występowała u wszystkich badanych pacjentów z SCC, podobnie jak ekspresja białka Ki-67, Stopień ekspresji był zależny od stopnia zróżnicowania i zaawansowania zmian. Ekspresja białka p16 jest dobrym wskaźnikiem pośrednim infekcji wirusem HPV. Odczyn białka p16 korelował z obecnością wirusa HPV (ocenioną metodą PCR). Ekspresja białka p16 oraz obecność infekcji HPV były zależne od stopnia zróżnicowania SCC i stopniem zaawansowania SCC. Obecność komórek zapalnych w mikrośrodowisku guza badanych zmian jest znamienna, szczególnie liczne były komórki plazmatyczne z ekspresją CD138. Ich obecność korelowała ze stopniem zróżnicowania SCC. Infekcja wirusem EBV nie jest częsta w badanych zmianach i wynosiła 23,8% zmian. Ekspresja białka CTLA-4 w badanych zmianach nie korelowała ze stopniem zróżnicowania i zaawansowania SCC. Ekspresja Białka PD-L1 występowała zarówno w komórkach inwazyjnego raka płaskonabłonkowego jak i w komórkach zapalnych mikrośrodowiska guza. Ekspresja PD-L1 występowała głównie z zmianach u pacjentów w III i IV stopniu zaawansowania choroby.

Uzyskane wyniki wskazują na konieczność kontynuowania badań dotyczących zależności HPV, EBV, CD138, PD-L1, CTLA-4, p16 i p53 w HNSCC. Rozbieżności piśmiennictwa ujawniają jak niezbędne jest ustandaryzowanie i ujednolicenie metod diagnostycznych. Niemniej wskazane jest dalsze prowadzenie badań celem ustalenie predykcyjnych i prognostycznych czynników ryzyka, co być może pozwoli na stworzenie i zastosowanie algorytmu diagnostyczno- terapeutycznego indywidualnie do każdego przypadku raka płaskonabłonkowego regionu głowy i szyi w celu uzyskania możliwie optymalnych korzyści terapeutycznych.