STRESZCZENIE

Wstęp

Rak płaskonabłonkowy jest najczęściej występującym nowotworem w obrębie górnego odcinka układu pokarmowego. Rozwój choroby zależy od wielu czynników. Najczęściej dotyczy osób po 6. dekadzie życia oraz narażonych na kontakt z licznymi czynnikami kancerogennymi. Do najlepiej poznanych należy wpływ palenia tytoniu, nadużywania alkoholu, zaniedbania higieniczne drażniące błonę śluzową, dieta uboga w składniki odżywcze oraz zaburzenia genetyczne. Potwierdzono również wpływ infekcji wirusami EBV i HPV na rozwój nowotworów. Markerem obecności infekcji wirusami EBV i HPV może być obecność białek LMP1 i p16.

Działania przeciw chorobie nowotworowej opierają się na kilku elementach, do których zalicza się: profilaktykę przeciwnowotworową, wczesne zdiagnozowanie nowotworu oraz odpowiednio zastosowaną terapię. Dowiedziono, że leczenie nowotworów z pozytywnych kierunku HPV ma lepsze rokowanie i daje możliwość zastosowania metod mniej inwazyjnych.

Cele

Celem projektu badawczego była ocena częstości występowania wirusów EBV i HPV u pacjentów chorujących na OSCC oraz ocena ekspresji białka wirusowego LMP1 w kierunku infekcji EBV i białka p16 w kierunku infekcji HPV. Oceniono również zależność między wiekiem, płcią, paleniem tytoniu, spożyciem alkoholu, jakością higieny jamy ustnej, miejscem zamieszkania pacjentów oraz lokalizacją nowotworu w jamie ustnej, a występowaniem infekcji wirusowej u pacjentów chorujących na raka płaskonabłonkowego.

Materiał i metody

Materiał wykorzystany do badań stanowiły tkanki guza pobrane od 51 pacjentów leczonych w latach 2013 – 2017, w Klinice Chirurgii Szczękowo – Twarzowej i Plastycznej, archiwizowane w akademickim Ośrodku Diagnostyki Patomorfologicznej i Genetyki Molekularnej UMB w postaci bloczków parafinowych, przeznaczone do badania histopatologicznego. Z dokumentacji medycznej pacjentów pozyskano informacje dotyczące wieku, płci, miejsca zamieszkania oraz kontaktów z potencjalnymi czynnikami ryzyka wystąpienia nowotworu takimi jak tytoń, alkohol, niski poziom higieny jamy ustnej. Izolację DNA przeprowadzono z użyciem zestawu do izolacji DNA z materiału utrwalonego w formalinie i przechowywanego

w postaci bloczków parafinowych. Zdolność wyizolowanego DNA do dalszych badań sprawdzono poprzez amplifikację genu komórkowego β-globiny. Częstotliwość występowania wirusa EBV i HPV oceniono przy pomocy łańcuchowej reakcji polimeryzacji – PCR. Ekspresję białek p16 oraz LMP1 uwidoczniono przy pomocy metody immunohistochemicznej z przeciwciałami specyficznymi anty-p16 oraz anty-LMP, w stężeniu przygotowanym przez producenta.

Wyniki

Na podstawie wyników nie wykazano jednoznacznej zależności między wiekiem pacjentów, a wzrostem wrażliwości na infekcję wirusową. Infekcja wirusem HPV występowała częściej w grupie pacjentów poniżej 45 roku życia. W przypadku infekcji wirusem EBV nieco wyższą liczbę chorych zakażonych wirusem stwierdzono wśród pacjentów z kategorii wiekowej 45 – 90 lat. W przypadku wirusa HPV uzyskano wyższy wynik zakażeń w grupie mężczyzn w porównaniu z grupą kobiet. Infekcja EBV występowała częściej u kobiet. Wykazano, że OSCC u pacjentów niepalących był w większości inicjowany przez wirusy HPV i EBV, natomiast u pacjentów palących w niskim odsetku. Uzyskane wyniki były istotne statystycznie. Pacjenci chorzy na raka płaskonabłonkowego jamy ustnej spożywający alkohol w dużych ilościach w większości byli zainfekowani wirusami HPV lub EBV. Wśród pacjentów niepijących alkoholu infekcja wirusami występowała w połowie przypadków. Zauważono wzrost ryzyka rozwoju raka płaskonabłonkowego u pacjentów ze złą higieną jamy ustnej, niezależnie od infekcji wirusami HPV lub EBV. Infekcję wirusami HPV lub EBV wykazano u nieco ponad połowy pacjentów ze złą higieną, natomiast wszyscy pacjenci z higieną dobrą byli zainfekowani wirusami. U pacjentów mieszkających w małym mieście nie stwierdzono infekcji wirusowej. Wynik ten był jednakowy w grupie badanej i kontrolnej. Pacjenci ze średniego miasta byli w większości zainfekowani wirusami HPV lub EBV. Potwierdzeniem jest uzyskanie istotności między miejscem zamieszkania, a dodatnim wynikiem w kierunku HPV lub EBV. Wykazano, że najczęstszą lokalizacją raka płaskonabłonkowego w jamie ustnej są język oraz dno jamy ustnej. Zaobserwowano również wzrost zakażenia wirusami w powyższych lokalizacjach w porównaniu z pozostałymi obszarami jamy ustnej z OSCC. Oceniono białka onkogenne, wykazując, że białko p16 to ważny marker w ocenie wystąpienia HPV, a białko LMP1 w przypadku obecności EBV. Nie wykazano związku z wiekiem oraz płcią chorych, a występowaniem powyższych białek. Większość niepalących pacjentów posiadała białko p16 lub białko LMP1. Badani palący wykazywali obecność białek w niewielkim odsetku. Wynik

był istotny statystycznie. Nie stwierdzono zależności między jakością higieny jamy ustnej, a obecnością białek p16 i LMP1. Podobnie jak w przypadku infekcji wirusowej, obecności białek nie stwierdzono wśród mieszkańców małego miasta. Wykazano istotność pomiędzy występowaniem białek p16 i LMP1, a miejscem zamieszkania. Ponad połowa badanych ze średniego miasta wykazywała ekspresję białka p16, a ok 36% białka LMP1. Nie stwierdzono związku między obecnością białek, a lokalizacją nowotworu w jamie ustnej.

Wnioski

Wirusy EBV i HPV mogą stanowić ważny czynnik inicjujący proces onkogenezy.
Białka LMP 1 i p16 mogą stanowić marker obecności infekcji wirusowej EBV i HPV.
Mężczyźni poniżej 45 roku życia, chorzy na OSCC są częściej zainfekowani wirusem HPV. Wirus EBV może przyczynić się do rozwoju raka wśród pacjentów po 5. dekadzie życia, występując nieco częściej u chorych kobiet. Częstość zakażenia wirusem EBV lub HPV jest większa u chorych na OSCC niepalących. Nadmierne spożycie alkoholu zwiększa ryzyko rozwoju nowotworu oraz ryzyko zakażenia wirusami. Przewlekły stan zapalny błony śluzowej będący następstwem niewłaściwej higieny jamy ustnej jest jedną z przyczyn inicjacji procesu kancerogenezy. Pacjenci chorzy na OSCC z dobrą higieną częściej wykazują zakażenie HPV lub EBV. Styl życia chorych z rakiem ze średnich i dużych miast sprzyja narażeniu na infekcję wirusami HPV lub EBV. Najczęstszą lokalizacją OSCC oraz największym skupiskiem wirusów EBV i HPV w jamie ustnej jest język oraz dno jamy ustnej. Białka onkogenne p16 i LMP 1 potwierdzające infekcję wirusową, mogą przyczynić się do rozwoju nowotworu szczególnie u pacjentów niepalących. Nie wykazano zależności pomiędzy obecnością białek, a pozostałymi badanymi cechami.