



**WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**  
**WYDZIAŁ LEKARSKO-DENTYSTYCZNY**

---

*lek.dent. Piotr Wesółowski*

**WYBRANE BIOMARKERY RAKA  
PŁASKONABŁONKOWEGO GŁOWY I SZYI W ŚLINIE  
CZŁOWIEKA I ICH ZNACZENIE WE WCZESNEJ  
DIAGNOSTYCE**

*Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych*

Promotor pracy:  
*dr hab. n. med. Izabela Strużycka*

Promotor pomocniczy:  
*dr n. med. Stanisław Starościak*

**Warszawa 2014**

# STRESZCZENIE

Rak płaskonabłonkowy stanowi 40% wszystkich nowotworów złośliwych w obrębie głowy i szyi, a 90% w przypadku nowotworów jamy ustnej. Jest również najczęstszym rozpoznaniem histopatologicznym w nowotworach złośliwych krtani. Raki płaskonabłonkowe wywodzą się z nabłonka wielowarstwowego płaskiego lub gruczołowego, który uległ metaplastji. Nikotynizm, nadużywanie alkoholu, zła higiena jamy ustnej, infekcje wirusowe, nieprawidłowa dieta i predyspozycje genetyczne należą do udokumentowanych czynników etiologicznych, zwiększających ryzyko zachorowania. Największa zachorowalność dotyczy mężczyzn powyżej 50 roku życia, z tendencją do obniżania tej granicy wieku w ostatnich latach.

Rak płaskonabłonkowy wykryty w bardzo wczesnym stadium daje współczynnik przeżywalności na poziomie 80-90%. Niestety wczesne objawy raka mogą być niezauważone, z powodu braku dolegliwości. Głównym problemem we wczesnym rozpoznawaniu nowych zachorowań jest czas po jakim pacjenci zgłaszają się do lekarza z objawami oraz brak testów przesiewowych. Według Krajowego Rejestru Nowotworów Centrum Onkologii w Warszawie liczba zdiagnozowanych raków *in situ* jamy ustnej, przełyku i żołądka w latach 1999-2011 wynosiła zaledwie 123 przypadki.

Stworzenie szybkich i bezinwazyjnych testów skriningowych z wykorzystaniem śliny wydaje się być optymalnym celem przyszłych badań oraz źródłem doskonalenia diagnostyki obszaru głowy i szyi. Profilaktyka wtórna oparta na wczesnym wykrywaniu zmian za pomocą testów przesiewowych może przyczynić się do zmniejszenia umieralności i wydłużyć okres pięcioletnich przeżyć.

Ślina przestała być rozpatrywana tylko jako wydzielina trawienna. Zawiera ona całe spektrum danych mogących służyć jako potencjalne biomarkery do zastosowania

klinicznego. Badanie śliny jest bezinwazyjne, bezbolesne, proste, wygodne, wiąże się z niskim kosztem, a sama metoda obarczona jest mniejszym ryzykiem kontaminacji niż w przypadku pobierania krwi.

Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem próbek śliny. Pochodziły one od 30 pacjentów z histopatologicznie potwierdzonym pierwotnym, nieleczonym rakiem płaskonabłonkowym w obrębie jamy ustnej i krtani, a także od 30 ogólnie zdrowych osób, u których na podstawie indywidualnego badania wykluczono zmiany nowotworowe i zapalne w obrębie jamy ustnej, gardła środkowego oraz krtani. W obu analizowanych grupach średnia wieku u kobiet wyniosła 58 lat, u mężczyzn 57 lat.

Próbki śliny całkowitej zbierano metodą wypluwania zgodnie z przyjętym protokołem postępowania. Diagnostykę zmian nowotworowych przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi zasadami postępowania. W celu weryfikacji wstępnego, klinicznego rozpoznania zmian nowotworowych pobierano wycinek tkankowy do oceny histopatologicznej według ogólnie przyjętej procedury chirurgicznej.

Badania interleukiny 1 $\beta$  oraz interleukiny 8 wykonano przy użyciu zestawu odczynników ELISA. Technikę wystandaryzowano zgodnie z instrukcją producenta. Pomiar wartości ORAC<sub>FL</sub> przeprowadzono na spektrometrze luminescencyjno-fluorescencyjnym. Wyniki zostały zgrupowane w arkuszu kalkulacyjnym MS Office Excel, a następnie opracowane statystycznie za pomocą programu IBM SPSS Statistics wersja 19.

Wartości IL-1 $\beta$  były oceniane w dwóch przedziałach: do 413,375 pg/ml i powyżej 413,375 pg/ml. Otrzymane wartości IL-8 również oceniano w dwóch przedziałach: do 893,425 pg/ml oraz powyżej 893,425 pg/ml. Zastosowane podziały wynikały z doboru optymalnych punktów maksymalizujących czułość i swoistość dla poszczególnych wartości IL-1 $\beta$  oraz IL-8. Wartość całkowitej pojemności antyoksydacyjnej śliny wyrażono w  $\mu\text{mol TE/l}$  przy użyciu metody ORAC<sub>FL</sub>.

Czułość interleukiny 1 $\beta$  na poziomie 60% oraz swoistość na poziomie 86,7%, a także statystycznie znamienne różnice w rozkładach procentowych w grupie kontrolnej i badawczej ( $p < 0,001$ ), przemawiają potencjalnym znaczeniem IL-1 $\beta$  jako biomarkera raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i krtani obecnego w ślinie. Brak istotnego oznaczenia czułości i swoistości interleukiny 8, przy stwierdzonej statystycznie znamiennej różnicy w rozkładach procentowych w grupie badawczej i kontrolnej ( $p < 0,016$ ), może świadczyć o mniejszym znaczeniu IL-8 jako potencjalnego biomarkera raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i krtani obecnego w ślinie.

W analizowanym materiale średnie wartości ORAC<sub>FL</sub> w grupie pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym były wyższe niż w grupie kontrolnej. Przeprowadzony test na różnicę średnich wykazał istotną statystycznie zależność w grupie badawczej w porównaniu z grupą kontrolną ( $p < 0,033$ ), co oznacza zwiększoną pojemność antyoksydacyjną śliny pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym. Otrzymany wynik może przemawiać za mechanizmem kompensacyjnym w odpowiedzi na nasilony miejscowy stres oksydacyjny.

Na obecnym etapie badań klinicznych i laboratoryjnych istnieje potrzeba prowadzenia dalszych zaawansowanych badań, na dużej populacji, które zaowocują wykryciem wysoce czułych i swoistych markerów. Prawdziwą wartość diagnostyczną będą miały biomarkery pozwalające na wczesne wykrywanie zmian nieuchwytnych klinicznie i raka *in situ*, a nie będące odzwierciedleniem już toczącego się zaawansowanego procesu nowotworowego. Podejmowanie badań w tym kierunku wydaje się być sprawą priorytetową, zwłaszcza w odniesieniu do obecnej małej liczby wczesnych wykryć raka płaskonabłonkowego w obrębie głowy i szyi.