

8. Streszczenie:

Wstęp:

Leukoplakia jamy ustnej jako jednostka kliniczna została zakwalifikowana do zmian przednowotworowych jamy ustnej. Znanych jest wiele czynników ryzyka wpływających na potencjalną progresję tej patologii, takich jak palenie papierosów, czy zakażenie drożdżakiem *Candida albicans*. Zmiana ta może przybierać różnorodne formy morfologiczne na błonie śluzowej, stąd pojawia się trudność w prawidłowym jej sklasyfikowaniu jak również ustaleniu zrozumiałego dla każdego klinicysty systemu oceny tej patologii. Diagnostyka powinna opierać się na ocenie histopatologicznej wycinka pobranego ze zmienionej błony śluzowej. Ze względu na mnogość systemów klasyfikacji zmian nabłonka wielowarstwowego płaskiego błony śluzowej jamy ustnej, ujednoczenie wyników stosowanych później w trakcie leczenia jest podstawą zrozumienia klinicysty i patomorfologa.

Białko SPARC bierze udział w progresji nowotworowej co potwierdza większe jego występowanie w nowotworach złośliwych. Osteonektyna uznawana jest za białko indukujące w tych procesach angiogenezę. Zwiększona ekspresja genu kodującego białko SPARC została potwierdzona m.in. w rakach języka.

Materiał:

Materiał badany stanowiły bloczki parafinowe zawierające wycinki błony śluzowej jamy ustnej, pochodzące od dwóch grup pacjentów:

1. Grupa zasadnicza/badana - 31 pacjentów z klinicznym rozpoznaniem leukoplakii,
2. Grupa porównawcza - 29 pacjentów z rozpoznaniem raka.

Metody:

1. Biologia molekularna:
 - a. izolacja DNA z bloczków parafinowych,
 - b. opracowanie techniki end-point PCR w kierunku oceny obecności DNA *Candida albicans*.
2. Histopatologia: ocena mikroskopowa zmian błony śluzowej w różnych systemach klasyfikacyjnych.
3. Immunohistochemia: barwienie immunohistochemiczne trójstopniową metodą ABC (awidyna-biotynylowana peroksydaza) w celu wykrycia ekspresji białka SPARC.
4. Analiza statystyczna uzyskanych wyników, korelacja badanych parametrów z uzyskanymi danymi kliniczno – patologicznymi.

Wyniki:

1. Porównano i usystematyzowano klasyfikacje histopatologiczne poszczególnych systemów oceny zmian nabłonkowych błony śluzowej jamy ustnej i za system najbardziej kompatybilny z wymogami systemu WHO uznano klasyfikację OIN.
2. Przeprowadzono ocenę immunopatomorfologiczną ekspresji białka SPARC w różnych stadiach zmian patologicznych nabłonka wielowarstwowego płaskiego błony śluzowej jamy ustnej i wykazano wzrost ekspresji białka w miarę progresji zmian patomorfologicznych.
3. Porównano dwie metody izolacji DNA z bloczków parafinowych oraz wybrano kolumnkową metodę izolacji DNA zestawem FFPE QiaAmp firmy Qiagen jako bardziej wydajną pod względem ilości DNA wyizolowanego z badanego materiału.
4. Opracowano skuteczną metodę detekcji DNA *C. albicans*, wyizolowanego z kolonii klinicznych szczepów drożdżaka, przy użyciu techniki PCR. Metodę zastosowano w ocenie obecności DNA drożdżaka w bloczkach parafinowych.

Wnioski:

1. Stopień zaawansowania zmiany patologicznej błony śluzowej jamy ustnej wg klasyfikacji OIN jest systemem pewnym i porównywalnym z klasyfikacją WHO i w związku z tym może stanowić cenne uzupełnienie rutynowego rozpoznania histopatologicznego.
2. Wzrost ekspresji białka SPARC koreluje ze wzrostem zaawansowania zmian histopatologicznych w nabłonku wielowarstwowym płaskim błony śluzowej jamy ustnej.
3. Bloczki parafinowe zawierające wycinki błony śluzowej jamy ustnej są wymagającym materiałem w badaniach z wykorzystaniem technik molekularnych. Materiał ten ze względu na sposób przygotowania ma zastosowanie w patomorfologii, jednak ze względu na sposób przygotowania bloczków parafinowych i użyte w tym celu odczynniki, wykazuje trudności w zastosowaniu ze złożonymi metodami z kategorii technik molekularnych.
4. Dalsze badania muszą być przeprowadzone celem potwierdzenia czy istnieje możliwość diagnostyki *C. albicans* z wykorzystaniem bardziej dokładnych technik molekularnych celujących w rejony genomu *C. albicans* mniejszych niż 161 par zasad.
5. Miejscami anatomicznymi, w których zaobserwowano częstszy rozwój leukoplakii była błona śluzowa policzka, natomiast raka częściej dotyczył języka.

Słowa kluczowe: Leukoplakia, *Carcinoma planoepitheliale*, *Candida albicans*, OIN, Lublana, SPARC, technika PCR