

1. Streszczenie

Wstęp:

Nowotwory ślinianek tworzą heterogenną grupę guzów, co wynika z faktu złożonej embriogenezy gruczołów ślinowych. Dzielą się na guzy łagodne i złośliwe. Nowotwory łagodne stanowią ok 80% guzów ślinianek. Do najczęstszych łagodnych nowotworów zaliczamy gruczolaki: gruczolak wielopostaciowy (tumor mixtus, guz mieszany), gruczolak jednopostaciowy (guz Warthina, gruczolakotorbielak brodawczakowaty limfatyczny). Gruczolak wielopostaciowy charakteryzuje się obecnością komórek przewodów ślinowych, komórek nabłonkowych i mięśniowonabłonkowych oraz macierzy mezenchymalnej. Guz przebiega wypustkami pseudotorebkę. Opisywane w literaturze ryzyko transformacji w nowotwór złośliwy (złośliwy guz mieszany) wynosi pomiędzy 3-5% a 2-26%. Guz Warthina rozwija się z fragmentów przewodów ślinowych, które w życiu płodowym zostały zaimplantowane do węzłów chłonnych. Obecne w guzie komórki nabłonka i limfocyty mają poliklonalne pochodzenie. Uważa się, iż w rozwoju guza mogą uczestniczyć bliżej nieokreślone wirusy. Złośliwe nowotwory stanowią ok 25-30% guzów ślinianek. Zgodnie z danymi Krajowego Rejestru Nowotworów, w ciągu ostatnich lat nowotwory głowy i szyi stanowią od 5,5 do 6,2% wszystkich nowotworów złośliwych. Na podstawie Polskiego Rejestru Nowotworów Niezłośliwych Dużych Gruczołów Ślinowych (RGŚ) obserwuje się wzrost zachorowalności na nowotwory gruczołów ślinowych. Wśród rozpoznań histopatologicznych dominują gruczolaki wielopostaciowe (58,5%), na drugim miejscu występują guzy Warthina (37,1%). Wpływ na rozwój nowotworów ma wiele czynników, w tym m.in. zmiany biologii komórki. W pracy zbadano ekspresję wybranych genów: forkhead box O3 (*FOXO3*) oraz kinazę aktywowaną mitogenami 1 (*MAPK1*) w nowotworach gruczołów ślinowych.

Założeniem pracy była ocena wpływu genów forkhead box O3 (*FOXO3*) oraz kinazy aktywowanej mitogenami 1 (*MAPK1*) na rozwój łagodnych nowotworów

gruczołów ślinowych oraz analiza pacjentów pod kątem ryzyka rozwoju chorób nowotworowych głowy i szyi.

Do realizacji założenia wyznaczono cele szczegółowe:

1. Analiza czynników ryzyka rozwoju nowotworów głowy i szyi u pacjentów z nowotworami łagodnymi gruczołów ślinowych
2. Analiza ekspresji genów *FOXO3* i *MAPK1* oraz ich wpływ na rozwój guzów Warthina i gruczolaków wielopostaciowych
3. Analiza czy wybrane geny mają wpływ na cechy kliniczne guzów ślinianek

Materiały i Metody:

Materiał do badań pochodził od pacjentów leczonych w Klinice Otolaryngologii, Onkologii Laryngologicznej, Audiologii i Foniatrii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. WAM w Łodzi, którzy wyrazili świadomą i dobrowolną zgodę na zabieg oraz udział w badaniu. Na przeprowadzenie badań wyraziła zgodę Komisja Bioetyczna (RNN/222/17/KE, KE/402/19; KE/408/20).

Pacjenci wypełniali ankietę dotyczącą ryzyka wystąpienia chorób rozrostowych w obrębie głowy i szyi. Do badań biologii molekularnej użyto RNA z tkanek stabilizowanych roztworem RNeasy Lysis Solution, który izolowano przy użyciu zestawu RNeasy Mini Kit (Qiagen). Reakcja łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (qPCR) została przeprowadzona za pomocą komercyjnych zestawów TaqMan® Gene Expression Assay. Następnie przeprowadzono analizę statystyczną wyników przy użyciu programu Statistica 8.1. oraz 12.0 (StatSoft Polska, Kraków, Polska). Zastosowano następujące testy: test Shapiro–Wilka, test Levene’a, test Grubbsa, test Wilcoxon, test niezależny chi², test t-studenta, lub test U Manny – Whitney, test eta-kwadrat korelacji oraz oszacowano współczynnik rang Spearmana. Za istotne statystycznie przyjęto wartości $p < 0,05$.

Wyniki:

Na podstawie analizy czynników ryzyka rozwoju nowotworów głowy i szyi (ankieta) zaobserwowano, iż grupa pacjentów z guzami Warthina miała wyższe BMI, leczyla się z powodu hipercholesterolemii, zgłaszała dolegliwości w obrębie gruczołów ślinowych, suchość w jamie ustnej oraz była uzależniona od nikotyny. Pacjenci z guzami Warthina byli starsi oraz dłużej narażeni na nikotynizm w porównaniu do pacjentów z gruczolakami wielopostaciowymi.

Ekspresję genów: forkhead box O3 (*FOXO3*) oraz kinazy aktywowanej mitogenami 1 (*MAPK1*) zaobserwowano w badanych nowotworach gruczołów ślinowych.

W tkance gruczolaków wielopostaciowych poziom ekspresji genu *FOXO3* i *MAPK1* był niższy niż w tkance guza Warthina i prawidłowej tkance gruczołu ślinowego. Nie zaobserwowano różnic w poziomie ekspresji badanych genów w zależności od cech klinicznych guzów gruczołów ślinowych.

Wnioski:

Główne czynniki ryzyka rozwoju guzów Warthina w badanej grupie to zaawansowany wiek i nikotynizm. Pacjenci z guzami Warthina palili dłużej i większą ilość papierosów w ciągu dnia w porównaniu do pacjentów z gruczolakami wielopostaciowymi. Pacjenci z guzami Warthina charakteryzowali się również wyższym BMI, hipercholesterolemią oraz dolegliwościami w obrębie gruczołów ślinowych a także zgłaszali suchość w jamie ustnej.

Na rozwój gruczolaków wielopostaciowych może mieć wpływ zarówno pojawienie się stanu zapalnego jak i zaburzenie procesu apoptozy.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, iż badane geny mogą stanowić potencjalne zastosowanie w procesie diagnostyki i terapii u chorych z nowotworami gruczołów ślinowych. Niezbędne są jednak dalsze badania obejmujące większą liczbę pacjentów oraz ocenę białek kodowanych przez analizowane geny, aby określić szczegółową rolę tych cząsteczek w rozwoju i cechach klinicznych nowotworów gruczołów ślinowych.

Słowa kluczowe: nowotwory gruczołów ślinowych, guz Warthina, gruczolak wielopostaciowy, gen forkhead box O3 (*FOXO3*), gen kinazy aktywowanej mitogenami 1 (*MAPK1*).

1.1. Abstract

Introduction: Salivary neoplasms form a heterogeneous group of tumors, which results from the complex embryogenesis of salivary glands. They are benign and malignant tumors. The most common benign tumors are adenomas: multiform adenoma (tumor mixtus), monomorph adenoma - Warthin tumor (lymphoid papilloma papilloma). Multiform adenoma is characterized by the presence of salivary duct cells, epithelial and muscular epithelial cells and a mesenchymal matrix. The tumor pierces the insets of the pseudobag. According to the literature, the risk of transformation into a malignant tumor (malignant mixed tumor) is between 2-26%. Lymphoid papilloma (Warthin tumor, papilloma adenoma with lymphoid stroma) develops from fragments of salivary ducts that have been implanted into lymph nodes in utero. Epithelial cells and lymphocytes within the tumor have a polyclonal origin. Unspecified viruses are thought to participate in tumor development. Malignant tumors constitute about 25-30% of salivary gland tumors. According to the National Cancer Registry data, in recent years head and neck cancers have accounted for 5.5 to 6.2% of all malignancies, which translates to about 5,500 to 6,000 new cases yearly. In 2020 a total of 369 new malignancies of the large salivary glands were registered, and 145 men and 88 women died of salivary gland cancer. Based on the Polish Registry of Benign Cancers of the Large Salivary Glands (RGŚ), an increase in the incidence of salivary gland neoplasm has been observed. In histopathological diagnoses, pleomorphic adenomas (58.5%) predominate, followed by Warthin tumors (37.1%). Many factors influence neoplasm development, including changes in cell biology. In our study expression of the selected genes was examined: forkhead box O3 (*FOXO3*) and the mitogen activate protein kinase 1 (*MAPK1*) in salivary gland tumors.

The aim of the study was to evaluate the effect of the selected genes: forkhead box O3 (*FOXO3*), mitogen-activate kinase 1 (*MAPK1*) and their polymorphism on