

**Lek. dent. Dorota Łyko- Morawska**

**Ekspresja podjednostki katalitycznej telomerazy (*hTERT*) w  
raku płaskonabłonkowym jamy ustnej**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

**Promotor: prof. dr hab. n. med. Iwona Niedzielska**  
**Promotor pomocniczy: dr n. med. Marzena Zalewska- Ziob**

**Katedra Chirurgii Czaszkowo – Szczękowo - Twarzowej  
i Chirurgii Stomatologicznej**

**Kierownik Katedry: prof. dr hab. n. med. Iwona Niedzielska**

**Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze  
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach**

**Zabrze 2018**

## Streszczenie:

**Wstęp:** Istotą sukcesu terapeutycznego w leczeniu raka jamy ustnej jest likwidacja czynników kancerogennych już w okresie okołoperacyjnym i poznanie ich molekularnej natury, bowiem tylko uszkodzony materiał genetyczny pod wpływem czynników kancerogennych może wpływać na inicjację, progresję i wznowę choroby. Istotne są zatem wszelkie badania na poziomie molekularnym, które pozwolą zgłębić patomechanizm nowotworzenia.

**Cel:** Ocena poziomu ekspresji względnej genu *hTERT* w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej i tkance makroskopowo niezmienionej w aspekcie poszukiwania czynnika prognostycznego ognisk syn- i metachronicznych oraz ryzyka zgonu.

**Materiał i Metodyka:** Do prospektywnego badania włączono 28 pacjentów leczonych w Klinice Chirurgii Szczękowo- Twarzowej z powodu raka jamy ustnej w latach 2014-2015. Materiał do badań molekularnych stanowiły biotyty pobrane z tkanki raka oraz homogennej błony śluzowej makroskopowo niezmienionej oddalonej o co najmniej 2 cm. W dalszych etapach, wyizolowano RNA, które przepisano następnie na cDNA i wykorzystano w reakcji Q-RT-PCR dla genów *hTERT* i *GAPDH* (jako kontroli endogennej). Do analizy statystycznej wykorzystano wartości ekspresji względnej wyznaczone metodą  $\Delta\text{Ct}$ , którą odniesiono do wielu parametrów klinicznych oraz ponad dwuletniego okresu obserwacji.

**Wyniki:** Nie stwierdzono istotnej różnicy w poziomie ekspresji względnej genu *hTERT* pomiędzy tkanką raka, a tkanką makroskopowo niezmienioną ( $p=0.69$ ) w badanej grupie. Wykazano istotną różnicę

w poziomie ekspresji *hTERT* badanych tkanek tylko w IV stadium zaawansowania klinicznego nowotworu ( $p=0.000625$ ). Istotne różnice poziomów ekspresji względnej genu *hTERT* dotyczyły błony śluzowej makroskopowo niezmienionej w odniesieniu do wieku, lokalizacji pierwotnej raka jamy ustnej, typu błony śluzowej oraz zgonów w okresie obserwacji.

**Wnioski:** Istotne różnice w poziomie ekspresji względnej genu *hTERT* między tkanką makroskopowo niezmienioną, a nowotworową, wskazuje na znaczny stopień zaawansowania raka jamy ustnej, nie tylko kliniczny, ale w tym przypadku również molekularny. Poziom ekspresji względnej genu *hTERT* w tkance makroskopowo niezmienionej w przebiegu raka może prognozować ryzyko wczesnego zgonu. Na podstawie przeprowadzonej analizy poziom ekspresji *hTERT* nie może być wyznacznikiem powstawania nowych ognisk syn- i metachronicznych w przebiegu raka jamy ustnej.

**Słowa kluczowe:** *hTERT*, aktywność telomerazy, rak jamy ustnej

## **Streszczenie w języku angielskim:**

**Introduction:** The main goal of therapeutic success in the treatment of oral cancer is the elimination of carcinogenic factors in the postoperative period and understanding the molecular nature of cancer, because damaged genetic material under the influence of risk factors affects the initiation, progression and recurrence of the cancer. Therefore, all research at the molecular level is essential, which will allow the exploration of its pathomechanism.

**Aim:** Evaluation of the level of relative expression of the *hTERT* gene in squamous cell carcinoma of the oral cavity and macroscopically unchanged tissue in the aspect of seeking the prognostic factor for early cancer recurrence and death risk.

**Material and Methods:** A prospective study included 28 patients treated in the Oral and Maxillofacial Surgery for oral cancer in 2014-2015. Molecular tissue samples were taken from the cancer and the macroscopically unchanged homogeneous oral mucosa distant by at least 2 cm. In subsequent stages, RNA was isolated, which was then transcribed into cDNA and used in the Q-RT-PCR for the *hTERT* and *GAPDH* genes (as an endogenous control). For statistical analysis, the relative expression values determined by the  $\Delta\text{Ct}$  method, which were derived from clinical parameters and over a two-year observation period, were used.

**Results:** There was no significant difference in the level of relative expression of the *hTERT* gene between the cancer tissue and the macroscopically unchanged tissue ( $p = 0.69$ ) in the study group. There were significant differences in the level of *hTERT* expression of the tissues examined in stage IV of the tumor ( $p = 0.000625$ ). Significant differences in the expression levels of the relative *hTERT* gene expression, were related to the macroscopically unchanged oral mucosa due to age, location of the primary carcinoma, type of mucosa and deaths during the observation period.

**Conclusions:** Significant differences in the level of relative expression of the *hTERT* gene due to clinical parameters between the macroscopically and tumor tissue indicate a relevant degree of advancement of oral cancer, not only clinical, but also molecular. The level of relative expression of the *hTERT* gene in macroscopically unchanged tissue may predict the risk of early death. Based on the analysis, the level of *hTERT* expression cannot be a determinant of new cancer' foci.

**Key words:** hTERT, telomerase activity, oral cancer