

الآية

بسم الله الرحمن الرحيم

قال تعالى:

سُنُّرِيهِمْ آيَاتِنَا فِي الْآفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ
الْحَقُّ أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ ﴿٥٣﴾

صدق الله العظيم

سورة فصلت الآية (53)

Dedication

This humble work and effort is dedicated

To those very precious who gave and still giving me the light to light my way through my life, those who stood and still standing by me in every step that I go.

To my garden, my paradise in this life

My dear mother my dear father

To my dear brothers and sisters.

Acknowledgement

First of all I'm very thankful for Allah the all-powerful for giving me the ability to do all this work and for giving me everything.

Special thanks to **Dr. AbuElgasimAbassAwadElkareem** for his endless support, his patience to follow up and for his invaluable guidance and directions

Tongue fails to thank for his great assistance.

Also great thanks to **Mr. HushamAbdalrahman** for his great effort and wonderful technical support.

Thanks to **total lab care medical laboratories** for laboratory facilities.

Thanks to all those helpful people who proved their loyalty by kind standing and support.

Abstract

This is a descriptive, retrospective case study was conducted at Total Lab Care medical laboratories (TLC), department of histopathology and immunohistochemistry during the period from May 2016 to October 2016.

The study aimed to detect the HPV16 infection in head and neck cancers (HNCs) among Sudanese patients by detecting the viral DNA using PCR technique. Seventy five formalin fixed paraffin embedded tissue blocks of different head and neck cancer types were collected. From tissue blocks 20 μ were cut by rotary microtome for DNA extraction and then the viral DNA was detected using PCR and agarose gel electrophoresis. The data was analyzed using SPSS program version 16.

Frequencies, means and Chi-square test values were calculated.

The study included 40 (53.3%) males and 35 (46.7%) females. The ages of patients were ranged between 18 to 80 years with mean age 49 ± 11 . Most of patients were more than 40 years representing 57 (76%) and the remaining were less than 40 years representing 18 (24%).

The histopathological diagnosis of cases revealed 20 (26.7%) esophageal squamous cell carcinoma (SCC), 15 (20%) nasopharyngeal carcinoma, 9 (12%) tongue SCC, 9 (12%) conjunctival SCC, 3 (4%) mucoepidermoid carcinoma, 3 (4%) adenoid cystic carcinoma, 3 (4%) malignant myoepithelioma, 4 (5.3%) lip SCC, 6 (8%) laryngeal SCC, and 3 (4%) from tonsillar SCC. HPV16 DNA was positive in 13 (17.3%) of samples and negative in 62 (82.7%) samples. The DNA of HPV16 was detected in males (7/40) and in females (6/35), these results were found to be statistically insignificant (P. value = 0.606). HPV16 DNA was detected in 5 (6.7%) in age group less than 40 and 8 (10.7%) in age group more than 40. These results were statistically insignificant (P. value = 0.179). Also HPV16 was detected in 7 (35%) out of 20 of esophageal SCC, 2 (22.3%) out of 9 of tongue SCC, 1 out of 3 of adenoid

cystic carcinoma (33.4%), and 3 out of 6 (50%) of laryngeal carcinoma. The HPV16 DNA was not detected in nasopharyngeal carcinoma, conjunctival SCC, mucoepidermoid carcinoma, malignant myoepithelioma, lip SCC and tonsillar SCC. These results are shown to be statistically significant (P value = 0.010).

From the data presented in current study we concluded that HPV16 infection plays a potential role in the initiation of head and neck cancers.

المستخلص

أُجريت هذه الدراسة الوصفية الإسترجاعية للحالة في مختبرات توتال لاب كيرالطبية، قسم أمراض الأنسجة والكيمياء المناعية للأنسجة خلال الفترة من مايو 2016 إلى أكتوبر 2016.

هدفت الدراسة إلى تحديد الارتباط بين عدوى فيروس الورم الحليمي البشري 16 وسرطانات الرأس والعنق بين المرضى السودانيين من خلال الكشف عن الحمض النووي الفيروسي باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل. تم جمع 75 عينة نسيج محفوظة بالفورمالين ومثبتة في قوالب شمع البارافين من مختلف أنواع سرطان الرأس والعنق.

تم قطع 20 مايكرون من قوالب الأنسجة بواسطة المشراح الدوار لإستخراج الحمض النووي ومن ثم تم الكشف عن الحمض النووي الفيروسي باستخدام جهاز تنوير تفاعل البلمرة المتسلسل وطريقة الفرز الكهربائي على هلام الأغاروز. تم تحليل البيانات باستخدام برنامج الحزمة الإحصائية للعلوم الإجتماعية 16. تم حساب الترددات، المتوسطات وقيم إختبار مربع كاي.

شملت الدراسة 40 (53.3%) من الذكور و 35 (46.7%) من الإناث. تراوحت أعمار المرضى بين 18 إلى 80 سنة مع متوسط العمر 49 ± 11 . معظم المرضى كانت أعمارهم أكثر من 40 عاماً ويمثلون 57 (76%)، والباقي منهم كانوا أقل من 40 عاماً ويمثلون 18 (24%).

كشفت التشخيص التشريحي للحالات عن 20 (26.7%) حالة سرطان مريء، 15 (20%) حالة سرطان بلعوم، 9 (12%) حالة سرطان لسان، 9 (12%) حالة سرطان ملتحمة، 3 (4%) حالة سرطان إببيديري مخاطي، 3 (4%) حالة سرطان الكيسيا الغداني، 3 (4%) حالة ورم عضلي ظهاري خبيث، 4 (5.3%) حالة سرطان شفاه، 6 (8%) حالة سرطان حنجرة، و 3 (4%) حالة سرطان لوزي.

كان الكشف عن الحمض النووي لفيروس الورم الحليمي 16 إيجابياً في 13 (17.3%) عيناً وسلبياً في 62 (82.7%) عينة. تم الكشف عن الحمض النووي لفيروس الورم الحليمي البشري 16 في (40/7) من الذكور وفي (35/6) من الإناث، وجد أن هذه النتائج ليست ذات دلالة إحصائية (القيمة الاحتمالية = 0.606).

تم الكشف عن الحمض النووي الفيروسي في 5 (6.7%) من الفئة العمرية أقل من 40 سنة و 8 (10.7%) من الفئة العمرية أكثر من 40 سنة. أظهرت النتائج عدم وجود علاقة إحصائية (القيمة الاحتمالية = 0.179). الكشف عن فيروس الورم الحليمي البشري 16 كان موجباً في 7 (35%) من أصل 20 من سرطان المريء، 2 (22.3%) من أصل 9 سرطان اللسان، 1 (33.4%) من أصل 3 من سرطان الكيسيا الغداني و 3 من أصل 6 (50%) من سرطان الحنجرة. وتبين أن هذه النتائج ذات دلالة إحصائية (القيمة الاحتمالية =

0.010). الكشف عن فيروس الورم الحليمي البشري 16 كان سالباً في حالات سرطان البلعوم، سرطان
الملتحة، سرطان الشفة، السرطان البشرية المخاطي، سرطان الغدة اللعابية العضلي الظهاري، سرطان اللوز،
من البيانات المقدمة في الدراسة الحالية خلصنا إلى أن العدوى بفيروس الورم الحليمي البشري 16 تلعب دوراً
محتملاً في بدء سرطان الرأس والعنق.

List of contents

Contents	Page
الإيـة	I
Dedication	II
Acknowledgement	III
Abstract (English)	IV
Abstract (Arabic)	VI
List of contents	VIII
List of tables	XI
List of photographs	XII
List of abbreviations	XIII
Chapter one - Introduction	
1.1 Introduction	1
1.2 Objectives	2
Chapter two – Literature review	
2.1 Structure of head and neck	3
2.2. Head and neck diseases	4
2.2.1 Infections	4
2.2.2 Pre-cancerous lesions	4
2.2.2.1 Leukoplakia	4
2.2.2.2 Erythroplakia	4
2.2.2.3 Lichen planus	5
2.2.2.4 Oral submucosal fibrosis (OSMF)	5

2.2.3 Head and neck cancers	5
2.2.3.1 Squamous cell carcinoma	5
2.2.3.2 Plasmablastic lymphoma	5
2.2.3.3 Other head and neck cancers	6
2.2.3.3.1 Conjunctival SCC	6
2.2.3.3.2 Eyelid SCC	6
2.2.3.3.3 Lip SCC	6
2.2.3.3.4 Adenoid cystic carcinoma	6
2.2.3.3.5 Mucoepidermoid carcinoma	7
2.2.3.3.6 Pleomorphic adenoma	7
2.2.3.3.7 Nasopharyngeal carcinoma	7
2.2.3.3.8 Laryngeal carcinoma	7
2.2.3.3.9 Scalp carcinoma	7
2.3 Risk factors of head and neck cancers	8
2.4 Diagnosis of head and neck cancer	9
2.5 Human papilloma virus (HPV)	10
2.6 Previous studies	11
Chapter three – Materials and methods	
3.1 Materials	13
3.2 Methods	13
3.2.1 Study design	13
3.2.2 Study area	13
3.2.3 Study sample	13
3.2.4 Study duration	13

3.2.5 Preparation of paraffin-embedded tissue for DNA extraction	13
3.2.6 DNA extraction	14
3.2.7 Assessment of DNA quality	14
3.2.8 Polymerase chain reaction (PCR)	14
3.2.9 Molecular identification by polymerase chain reaction	15
3.2.10 Statistical analysis	15
3.2.11 Ethical consideration	15
Chapter four - Results	
Results	16
Chapter five - Discussion	
Discussion	26
Chapter six – Conclusion and Recommendations	
6.1. Conclusion	28
6.2. Recommendations	29
References	30
Appendices	38

List of tables

Table No.	Title	Page
Table (4.1)	Distribution of sex among the study sample	18
Table (4.2)	Distribution of age group among the study sample	19
Table (4.3)	Distribution of HNC types among the study sample	20
Table (4.4)	Frequency of HPV16 infection among the study sample	21
Table (4.5)	Correlation between HPV16 infection and sex	22
Table (4.6)	Correlation between HPV16 infection and age group	23
Table (4.7)	Correlation between the type of HNC and HPV16 infection	24

List of photographs

Photograph No.	Title	Page
Photograph (4.1)	A gel photo for PCR product for HPV16	25

List of abbreviations

Abbreviations	Meanings
HNC	Head and neck cancer
SCC	Squamous cell carcinoma
HNSCC	Head and neck squamous cell carcinoma
ESCC	Esophageal squamous cell carcinoma
NPC	Nasopharyngeal carcinoma
OPC	Oropharyngeal carcinoma
PCR	Polymerasechain reaction
HPV	Human papilloma virus
HSV	Herpes simplex virus
EBV	Episten-barr virus
OSMF	Oral submucosal fibrosis
HIV	Human immunodeficiency virus
PBL	Plasmablastic lymphoma
MEC	Mucoepidermoid carcinoma
UV	Ultra violet
CT	Computed tomography
PET	Positron emission tomography
US	Ultrasound
MFI	Median fluorescence intensity
ISH	In situ hybridization
MRI	Magnetic resonance imaging