

# ZASTOSOWANIE OCENY STOPNIA MINERALIZACJI JAWNEJ BADANEJ PRZY UŻYCIU MIKROSKOPU SKANINGOWEGO W DIAGNOSTYCE NOWOTWORÓW ZŁOŚLIWYCH JAMY USTNEJ

TADEUSZ CIEŚLIK\*, TOMASZ J. MĘCIK\*, ZBIGNIEW SZCZUREK\*\*, DANIEL SABAT\*\*

\* I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W ZABRZU;

\*\* I KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W ZABRZU;

## Streszczenie

Rokowanie w chorobie nowotworowej zależy głównie od wczesnego rozpoznania. Etiopatogeneza raka płaskonabłonkowego jamy ustnej jest przedmiotem badań i pozostaje nadal niewyjaśniona. Wprowadzenie do diagnostyki medycznej mikroskopii skaningowej może przybliżyć obraz zmian jakie zachodzą w tkankach objętych procesem nowotworowym. Analizie poddano 62 preparaty pochodzące od osób obojga płci z rozpoznanym histopatologicznie nowotworem płaskonabłonkowym zlokalizowanym w różnych miejscach jamy ustnej. Autorzy potwierdzili pełną przydatność metody w badaniach nowotworów złośliwych jamy ustnej.

**Słowa kluczowe:** rak płaskonabłonkowy, diagnostyka, mikroskop elektronowy, mineralizacja jawną,

## Wstęp

Nowotwory jamy ustnej stanowią na świecie około 3% ogółu nowotworów złośliwych [1]. W Polsce odsetki te wynoszą średnio około 2.5% [2]. Przeważająca część z nich to rak płaskonabłonkowy (RP) o różnym stopniu zróżnicowania. Wartości procentowe udziału raka płaskonabłonkowego w ogólnej ilości nowotworów jamy ustnej są zależne od czynników geograficznych, etnicznych i socjalno-ekonomicznych [3].

Pomimo znacznego rozwoju metod leczniczych RP jamy ustnej w dalszym ciągu obserwuje się znaczną śmiertelność. Stąd duża część świata nauki skupiła się nad udoskonalaniem różnorodnych metod obrazowania nowotworów. Jedną z nich jest obrazowanie tkanek zmienionych chorobowo przy pomocy mikroskopu skaningowego.

Mikroskopia skaningowa jest odmianą mikroskopu elektronowego, w którym wiązka elektronów o średnicy do 1000 Å bombarduje powierzchnię badanego preparatu, omiatając ją w sposób liniowy - skanując. Padające na powierzchnie próbki elektrony powodują emisję elektro-

# APPLICATION OF SCANNING ELECTRON MICROSCOPY IN THE EVALUATION OF EVIDENT MINERALIZATION DEGREE IN THE DIAGNOSTICS OF ORAL CAVITY CARCINOMAS

...?...

TADEUSZ CIEŚLIK\*, TOMASZ J. MĘCIK\*, ZBIGNIEW SZCZUREK\*\*, DANIEL SABAT\*\*

\* I DEPARTMENT OF MAXILLOFACIAL SURGERY SILESIA ACADEMY OF MEDICINE IN ZABRZE

\*\* I DEPARTMENT OF PATHOMORFOLOGY SILESIA ACADEMY OF MEDICINE IN ZABRZE

## Summary

*Prognosis in carcinoma depends mainly on early diagnosis. Etiopathogenesis of squamous oral epithelium carcinoma is continually under investigation and remains unclear. The introduction of scanning electron microscopy (SEM) into medical diagnostics may clear up the picture of lesions taking place in carcinous tissue. 62 preparations from patients of both sexes with histopathologically confirmed squamous cell carcinoma located in oral cavity were analysed. The authors confirmed the usefulness of the method in the study of squamous oral epithelium carcinomas.*

**Key words:** squamous cell carcinoma, diagnostics, electron microscopy, evident mineralization

## Introduction

Oral cavity carcinomas make up about 3% of all carcinomas [1]. In Poland, the percentage is about 2.5% [2]. Most of them are squamous cell carcinomas (SCC) with various differentiation degree. The percentage of squamous cell carcinomas in the total amount of carcinomas depends on geographic, ethnic, social and economical factors [3].

Despite considerable improvement of treatment methods of squamous oral epithelium carcinoma, a significant number of deaths is observed. Therefore, the scientists around the world concentrate on different methods of picturing the carcinoma. One of them is picturing the infected tissue by scanning electron microscopy.

Scanning electron microscopy is an analytical method in which an electron beam, diameter of up to 1000 Å, sweeps or scans the surface of a preparation. This induces emission of electrons from the sample in the range of X-radiation. The scanning electron microscope having a big depth of field enables observation of samples with

nów z samej próbki i wywołują jej emisję w zakresie promieniowania rentgenowskiego. Mikroskop skaningowy posiadając dużą głębie ostrości umożliwia uzyskiwanie obrazu z powierzchni próbek o znacznie zróżnicowanej morfologii. Celem badań była ocena przydatności mikroskopii skaningowej SEM w diagnostyce nowotworów złośliwych jamy ustnej - w oparciu o występowanie mineralizacji jawnej nowotworu.

## Material i metody

Materiał do badań stanowiły 62 bloczki paraplastowe pochodzące od pacjentów w wieku od 40 - 79 roku życia z rozpoznaniem histopatologicznie RP jamy ustnej. Kostki paraplastowe pochodziły w całości z archiwum Zakładu Patomorfologii Śl.A.M. w Zabrze. Grupę kontrolną stanowiły fragmenty błony śluzowej jamy ustnej pobrane od 20 osób w trakcie chirurgicznego opracowania ran u pacjentów leczonych operacyjnie w Klinice z powodu przetok ustno-zatokowych po ekstrakcjach zębów przedtrzonowych w szczęce oraz zębów zatrzymanych w szczęce i zuchwie\*. Badania drobnowidowe zostały przeprowadzone przy pomocy mikroskopu skaningowego JEOL JSM 5400\*\*. Analizowano mikroskopowe struktury tkanek oraz ich budowę wewnętrzną, oceniając głównie centralną i brzeżną część preparatów histopatologicznych. Obserwacje obejmujące analizę wewnętrzną struktury tkanek wykonano przy powiększeniach 500 oraz 5000 razy. Materiał tkankowy przygotowywano w sposób typowy - zgodnie z zasadami obowiązującymi w mikroskopii skaningowej - i napyłano go 24 karatowym złotem. Wyniki udokumentowano mikrografiami analizowanych obszarów.

\* Uzyskano zgodę komisji ds. wykonywania Badań na Ludziach przy Śl.A.M.

\*\* Badania wykonano w Pracowni Biomineralogii A.G.H. w Krakowie - Kierownik - Prof. dr hab. inż. Maciej Pawlikowski

## Wyniki

W analizowanej grupie preparatów pochodzących od osób chorych stwierdzono występowanie ziarnistych form substancji mineralnych. Grupowały się one w strefach najbliższych komórkom nowotworowym. W badanym materiale większość ziaren mineralnych charakteryzowała się występowaniem niedojrzałych form kulistych o trudnej do zdefiniowania strukturze (RYS. 1). Miejscami również zauważono formy dojrzałe, które charakteryzowały się ostrymi obrysami, przypominającymi swoją budową kryształy (RYS. 2). Dokładna analiza preparatów wykazała także moment przejścia mineralizacji jawnej niedojrzałej w dojrzałą (RYS. 3). W grupie porównawczej nie obserwowano żadnych form mineralizacji jawnej. Wyjątek stanowiły próbki tkankowe pacjentów w grupie wiekowej powyżej 70 roku życia u których stwierdzono występowanie mineralizacji jawnej niedojrzałej (RYS. 4).

## Dyskusja

Nasze badania wykazały jak istotna jest obserwacja mineralizacji wtórnej - patologicznej organizmu człowieka żyjącego. Jest ona efektem zaburzeń funkcjonalnych tkanek i narządów.

Nie spotkaliśmy doniesień traktujących o występowaniu mineralizacji jawnej w RP. Pawlikowski wspomina jednak o występowaniu ziaren mineralnych w mięsaku tkanki łącznej, o charakterze mineralizacji niedojrzałej [4]. Ten

much different morphology. The aim of this study was to evaluate the usefulness of scanning electron microscopy in the diagnostics of squamous oral epithelium carcinomas based on evident mineralization of the carcinoma.

## Materials and methods

The experimental material included 62 paraplast blocks from the patients, age from 40 to 79, with histopathologically diagnosed SCC of oral cavity. The paraplast blocks were received from the archives of Pathomorphology Department, Silesian Medical University in Zabrze. The control group consisted of fragments of oral mucosa taken from 20 people during the debridement of wounds on surgical treatment connected with the oro-antral fistula formed after extractions of the premolar teeth in maxilla and unerupted teeth remaining in maxilla and mandible. The examinations were performed with a scanning electron microscope JEOL JSM 5400. The microscopic tissue structures and their internal constitution were analysed; mainly marginal and central part of the preparations were evaluated. The observations including internal structure of the tissue were made at magnifications 500 and 5000. The tissue material was prepared in a standard way. Prior to analysis a thin film of 24 carat gold was deposited on its surface. The results were recorded as microphotographs of the analysed areas.

## Results

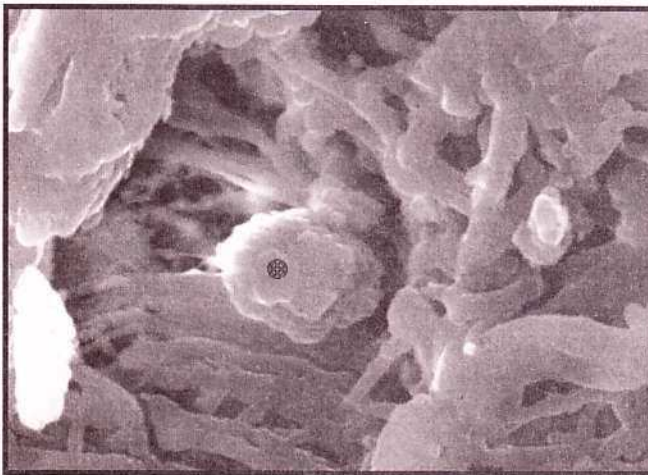
In the analysed group of preparations from ill people, some grainy forms of mineral substances were found. They accumulated in the zones closest to carcinous cells. In our experimental material, most of the mineral grains were characterised by immature spherical forms having a structure difficult to define (FIG. 1). In some areas there were also mature forms characterised by sharp outlines, resembling a crystalline structure (FIG. 2). The detailed analysis of preparations showed a transition from immature evident mineralization into a mature one (FIG. 3). No forms of evident mineralization were observed in the control group, with some exceptions of the preparations from patients at the age group over 70, where immature evident mineralization was found (FIG. 4).

## Discussion

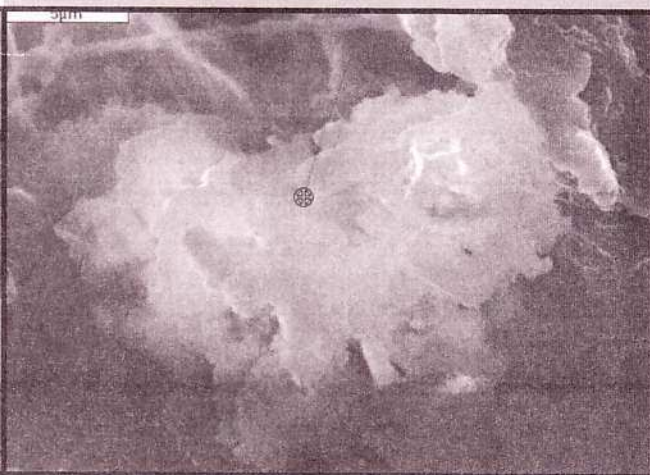
Our study showed how important is the observation of secondary pathologic mineralization for a living human body. It is an effect of functional disorders of tissues and organs. We have not encountered any articles in the literature concerning evident mineralization in SCC. However, Pawlikowski mentions mineral grains located in a connective tissue sarcoma, having the character of immature mineralization (4). The same author also states that it is mostly hidden mineralization that occurs in carcinous tumours. This might result from the fact that the hidden mineralization has not got enough time to transform into the evident mineralization, since a patient usually dies before the phase of evident mineralization is reached (5). This statement is consistent with our results because most of the patients apply for diagnosing and treatment at the stage of high differentiation of carcinoma (G-1).

## Conclusions

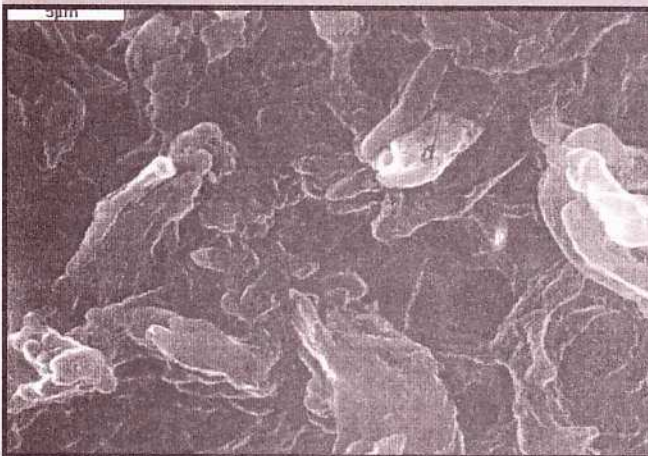
1. Despite the fact that evident mineralization was found in the studied preparations, it cannot be stated that it is a



**RYS. 1.** Kobieta z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej. Mineralizacja jawna - niedojrzała (SEM 5000x).  
**FIG. 1.** Woman with cancer located in the oral cavity. Immature evident mineralization (SEM 5000x).



**RYS. 2.** Mężczyzna z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej. Mineralizacja jawna - dojrzała, przybierająca formę kryształu (SEM 5000x).  
**FIG. 2.** Man with cancer located in the oral cavity. Mature evident mineralization resembling a crystalline form (SEM 5000x).



**RYS. 3.** Mężczyzna z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej. Przemiana mineralizacji jawnej z formy niedojrzałej w dojrzałą (SEM 5000x).  
**FIG. 3.** Man with cancer located in the oral cavity. Transformation of evident mineralization from the immature to mature one (SEM 5000x).



**RYS. 4.** Mężczyzna z grupy kontrolnej. Mineralizacja jawna - niedojrzała dziąsła (SEM 5000x).  
**FIG. 4.** Man from the control group of healthy people with immature evident mineralization (SEM 5000x).

sam autor w innej pracy stwierdza, że w guzach nowotworowych na ogół występuje mineralizacja ukryta. Wynika to prawdopodobnie stąd, iż mineralizacja ukryta nie ma wystarczająco dużo czasu, by przekształcić się w mineralizację jawną, albowiem zazwyczaj przed osiągnięciem fazy mineralizacji jawnej pacjent umiera [5]. Stwierdzenie to zgadza się z otrzymanymi przez nas wynikami badań - gdyż przeważająca grupa pacjentów zgłaszała się celem podjęcia diagnostyki i leczenia w stadium wysokiego zróżnicowania nowotworu (G - 1).

## Wnioski

1. Pomimo występowania mineralizacji jawnej w badanych preparatach nie można ostatecznie stwierdzić, że warunkuje ona występowanie nowotworu.
2. Przeprowadzona analiza za pomocą mikroskopu skaningowego w pełni dowodzi ogromnej przydatności mikroskopii skaningowej w badaniu różnych typów mineralizacji jawnej nowotworów złośliwych jamy ustnej.

necessary condition for the occurrence of carcinoma.

2. The analysis performed in the present study proves the usefulness of scanning electron microscopy in examining different types of evident mineralization of oral cavity carcinomas.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Chiodo G.T., Einger T., Rosenstein D.J.: Oral cancer detection. The importance of routine screening for prolongation of survival. Postgraduate Med., 1986, 80, 2, 231 - 236.
- [2] Juszczak-Popowska B.: Analiza zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce. Czas. Stomat., 1994, 37, 1, 45 - 48
- [3] Johanson N.W., Walnakalasurija K.A.: Epidemiology and ethiology of oral cancer in the United Kingdom. Com.Dent.Heal., 1993, 10, 13 - 29.
- [4] Pawlikowski M.: Kryształy w organizmie człowieka. SECESJA, Kraków, 1993, 120 - 125.
- [5] Pawlikowski M.: Sekrety mineralizacji tkanek. P.A.N., Kraków, 1995, 51 - 54.